

**Deniz Ortamında Musilaj/mukus Oluşumunu Denetleyen
Faktörlerin Laboratuvar Koşullarında İncelenmesi**

Proje No: 108Y083

Doç.Dr. S.Çolpan POLAT BEKEN
Dr. A.Vildan TÜFEKÇİ
Başak SÖZER
Doç.Dr. Emel Yıldız
Mustafa Mantıkçı
Hakan Atabay
Doç.Dr. Fatma Telli-Karakoç
Dr. Selda Hoccoğlu
Doç.Dr. Dilek EDİGER
Dr. Leyla Tolun
Dr. Arzu Olgun

**ŞUBAT 2011
GEBZE-KOCAELİ**

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL LİSTESİ	i
TABLO LİSTESİ.....	iii
ÖNSÖZ.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Proje amaç, yaklaşım ve içeriği.....	1
1.2. Musilaj : Genel bilgiler ve Marmara Denizi'ndeki oluşum ve etkileri	2
1.3. İzmit Körfezi ve Marmara Denizi özellikleri.....	3
2. GERÇEKLEŞTİRİLEN DENEYLER VE KULLANILAN YÖNTEMLER.....	4
2.1. Etki Deneyleri.....	4
2.1.1 Deneylerde kullanılan seyrelme suyunun alınması ve korunması	5
2.1.2 İzolasyon aşaması	5
2.1.3 Kültürler için kullanılan besiyerleri	6
2.2. Test organizması olarak seçilen türler.....	8
2.2.1. Skeletonema costatum	8
2.2.2. Cylindrotheca closterium	8
2.2.3. Prorocentrum micans	9
2.2.4. Gonyaulax fragilis	10
2.3. Biyodeneyleerde yapılan ölçüm ve analizler	10
2.3.1 Mikroskopta direkt hücre sayımı	10
2.3.2 Klorofil-a ölçümü.....	11
2.3.3 Kimyasal analizler.....	11
2.3.3.1. Deniz suyunda ve laboratuar deneylerinde besin elementlerinin analizi	11
2.3.3.2. Deniz suyunda ve laboratuar deneylerinde çözünmüş organik karbon ölçümleri.....	11
2.3.3.3 Laboratuar deneylerinde çözünmüş ve partikül maddede karbonhidrat ölçümü	11
2.3.3.4 Laboratuar deneylerinde çözünmüş ve partikül maddede protein ölçümü	11
2.3.3.5 Partikül maddede C ve N ölçümleri.....	12
2.4. Kullanılan mikroskopik teknikler	12
2.4.1. Ters faz kontrast mikroskopu ve epifloresan ataçmanı.....	12
2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM).....	13
2.5 Musilaj/topaklar üzerinde yapılan incelemeler.....	13
2.5.1 Malzemenin toplanması, ön işlemler ve analizlere hazırlanması	13
2.5.2 Malzemenin kimyasal içeriğinin incelenmesi	14
2.5.2.1. Frouier Transform Infra Red Spektroskopisi	14
2.5.2.2. Organik C, N yüzdeleri	14
2.6. Saha çalışmaları	14
2.6.1 Yerde ölçümler.....	14
2.6.2 Fitoplankton	14
2.6.3 Sınırlayıcı besin Elementi Biyodeneyle çalışması	14
3. BULGULAR VE DEĞERLENDİRME	15
3.1. Meteorolojik verilerin olayın oluşmasındaki etkisinin incelenmesi	15
3.2 Proje paralelinde yürütülen saha çalışmaları	16
3.2.1 İzmit Körfezi oşinografik koşulları	16

3.2.2 Ortamın su kalitesindeki durum	17
3.2.2.1 Besin tuzlarındaki değişim	17
3.2.2.2 Seki disk görünürlüğü ve klorofil-a	19
3.2.2.3. Fitoplankton yoğunluğundaki değişimler	20
3.3. Baskılar: İnsan aktiviteleri	25
3.4. Fitoplankton türleri üzerinde gerçekleştirilen kontrollü- kesikli laboratuvar deneyleri	26
3.5. Oluşan musilaj formları üzerindeki kimyasal incelemeler	38
3.5.1. Deniz ortamından toplanan musilajın C, N % değerleri	38
3.5.2. Laboratuvar koşullarında oluşan topakların C, N % değerleri	39
3.5.2.1 Kesikli deneylerde elde edilen malzeme	39
3.5.2.2 Deniz suyunun laboratuvar koşullarında inkubasyonu ile elde edilen malzeme.....	39
3.5.2.3 Laboratuvar deneylerinde süzme ile elde edilen partikül madde	40
3.5.3. FTIR ile kimyasal içeriklerin incelenmesi	41
3.5.3.1. Laboratuvarda tasarlanan deneylerden elde edilen sonuçlar	41
3.5.3.2. Denizden alınan ve laboratuvar koşullarında bekleme sırasında oluşan musilaj topaklarından elde edilen sonuçlar.....	44
3.5.3.3. Deniz ortamından elde edilen musilaja ait spektralar.....	47
3.5.3.4. Jelimsi zooplankton (Deniz anası) FTIR spektrumu	48
3.6. Sınırlayıcı Besin Elementi çalışmaları	50
4. SONUÇLAR	58
5. REFERANSLAR	60
EK-1	65
EK-2	65
EK-3A.....	66
EK-3B.....	68

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Fitoplankton kültürlerin izolasyon aşamaları

Şekil 2. *Skeletonema costatum*'un genel görünüşü

Şekil 3. *Cylindrotheca closterium*'un genel görünüşü

Şekil 4. *Prorocentrum micans*'ın genel görünüşü

Şekil 5. *Gonyaulax fragilis*'in farklı mikroskopik tekniklerle elde edilen görüntüleri

Şekil 6. 1985-2008 döneminde DMGM-TUMAS veri kaynağından elde edilen sürekli MET veri değerlendirmelerinde örnekler (Analizlerin tümü 2. Ara Rapor-Ek1'de yer almaktadır)

Şekil 7. MAM önü ölçüm/örnekleme istasyonunda yüzey tuzluluk, sıcaklık ve ara tabaka derinliği değişimleri

Şekil 8. Örnekleme yapılan tarihlerde besin tuzlarının ($\text{NO}_3+\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, o-PO_4 ve Si) değişimi

Şekil 9. MAM önü istasyonunda TIN/P oranı

Şekil 10. MAM önü istasyonunda Seki Disk ve klorofil-a'nın değişimi

Şekil 11. Türlerin taksonomik gruplara göre dağılımı

Şekil 12 . (a) Diatom ve Dinoflagellat gruplarının değişimi ve (b) türlerin mevsimsel dağılımı

Şekil 13. Musilaj/Mukus oluşumu öncesi ve sonrasında fitoplankton değişimi

Şekil 14. Laboratuvar şartlarında deniz suyu ortamında oluşturulan ve deniz ortamında oluşan musilaj görüntüleri

Şekil 15 a. *P.micans*-İK'in farklı N/P besin koşullarında oluşturduğu CH ve ÇOK birikimleri

Şekil 15 b. *C.closterium* İK ve hazır suşunun N/P=24(kontrol) koşullarında oluşturduğu CH ve ÇOK birikimleri

Şekil 15 c. *S.costatum* İK ve hazır suşunun N/P=24, 4, 73 koşullarında oluşturduğu ÇOK ve CH birikimleri

Şekil 16 *P. Micans* İ.K. besin maddesi eklemeli ve eklemesiz deneylerde hücre gelişimleri, CH ve DOC konsantrasyonları

Şekil 17. Bakterili ve bakterisiz ortamda karbonhidrat ve çözünmüş organik karbon değişimi

Şekil 18. Bakterili ortamda metal eklemeli ve eklemesiz deneylerde CH ve DOC değişimleri

Şekil 19. Düşük besin yüklemeli *S.costatum* ve *C.closterium* deneyleri

Şekil 20. *C. closterium* ile yapılan uzun dönemli deneyde ÇOK ve CH in değişimleri

Şekil 21a. "01/07/2009 (I) musilaj N:P 73 *P.micans* " müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu

Şekil 21b. "02/07/2009 (II) musilaj N:P-146 *P.micans*" müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu

Şekil 21c. "03/07/2009 (III) musilaj N:P 24(kontrol) *P.micans*" müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu

Şekil 21d. "08/07/2009 (IV) N:P 8.1 *P.micans*" müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu

Şekil 21e. "07/10/2009 ekimli *P.micans* saf kültürüne ait FTIR Spektrumu

Şekil 22a. 28.12.2009 yüzey örneği içinde var olan musilaj malzemesine ait FTIR

Şekil 22b. 28.12. 2010, 0-10 m çekiminden elde edilen musilaj malzemesine ait FTIR

Şekil 22c. 07.01.2010 plankton kepçesi ile yüzeyden çekilen örneğin laboratuvar koşullarında 1 hafta bekletilmesi sırasında oluşan musilaj malzemesinin 13.01.2010 'de toplanan örneğine ait FTIR

Şekil 22d. 07.01.2010 plankton kepçesi ile yüzeyden çekilen örneğin laboratuvar koşullarında 2 hafta bekletilmesi sırasında oluşan musilaj malzemesinin 18.01.2010 'de toplanan örneğine ait FTIR

Şekil 23a. 10/2008 Karamürsel müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu

Şekil 23b. 01/2008 İzmit müsilağ örneğinin FTIR Spektrumu

Şekil 24. *Aurela aurata*'nın farklı birey ve bölgelerine ait FTIR spektrumları

Şekil 25. Musilaj örneği ile deniz anasına ait FTIR 'ın karşılaştırması

Şekil 26. İzmit Körfezi'nde Eylül 2010'da SBE durumu

Şekil 27. SBE'nin 2010 yılı kış, ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde Dış, Orta ve İç körfezdeki değişimleri

Şekil 27. Dış Körfez’de (Batı) 1997-1998 yılları ile 2008-2010 yıllarında mevsimsel olarak sınırlayıcı besin elementinin karşılaştırılması.

Şekil 28. Orta Körfez’de 1997-1998 yılları ile 2008-2010 yıllarında mevsimsel olarak sınırlayıcı besin elementinin karşılaştırılması

Şekil 30. İç Körfez’de (Doğu) 1997-1998 yılları ile 2008-2010 yıllarında mevsimsel olarak sınırlayıcı besin elementinin karşılaştırılması

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Projede gerçekleştirilen kesikli-kontrollü deneylerin listesi ve içerikleri

Tablo 2. f2 + Si besi ortamının içeriği

Tablo 3. K minimum besi ortamının içeriği

Tablo 4. 1975-2007 arasında Ağustos-Ekim aylarına ait hava sıcaklığı değişimleri (DMGM web)

Tablo 5a. Deniz ortamından (İzmit Körfezi) toplanan musilaj yumaklarının % C ve %N içerikleri

Tablo 5b. Jelimsi zooplanktonun % C ve N içerikleri

Tablo 6. Laboratuvar deneyinde elde edilen jelimsi malzemenin C ve N yüzdesi

Tablo 7. 07.01.2010 tarihinde MAM önü istasyon örneğinin laboratuvar koşullarında inkubasyonu ile elde edilen toprakların C,N içerikleri

Tablo 8. Laboratuvar deneyleri sırasında süzme ile toplanan partikül maddenin %C ve N içerikleri

Tablo 9. İzmit Körfezi Sınırlayıcı Besin elementi çalışma zamanları ve örnekleme noktaları

ÖNSÖZ

Denizler ve okyanuslar canlı ve cansız kaynak rezervleridir ve insanların sosyo-ekonomik refah seviyesinin yüksek olmasına direk ve dolaylı (iklim düzenleyicisi olarak) katkıda bulunurlar. Ancak, kara, orman, göl vd. ekosistemlerden daha az anlaşılmışlar ve önemsenmişlerdir. İnsanlar ancak balıkların ve diğer ekonomik getiri sağlayan unsurların azalması/bozulması karşısında denizleri anlama, değişimleri tahmin etme ve koruma ihtiyacı duymuşlardır.

Denizler ve okyanusların tüm insan baskılarına karşı tepkisi, uzun dönemler içinde oluşmakta ve bu süre içinde deniz ekosisteminde uyarıcı önemli değişiklikler kaydedilmemektedir. Kıyı ve yarı kapalı iç denizlerde bile olumsuz etkilerin izlenmesi zaman almaktadır. Denizlerin bu özellikleri baskıları kontrol altında tutabilecek yönetici ve karar alıcıları yanıltmıştır. Dengesi bozulmuş ekosistemlerin rehabilitasyonu da benzer şekilde uzun zaman (10-300 yıl) almakta bu sebeple iyileştirme amaçlı yatırımlar yapıldıkları dönemler için kayıp olarak değerlendirilmektedir.

2007 yılı sonbahar mevsiminde Marmara Denizi'nde görülen ve denizin kullanıcıları için birebir ekonomik kayıp olarak yaşanan yoğun köpüklenme-kaykay (bilimsel adı ile musilaj) olayı Marmara Denizi ekosisteminin her türlü dış baskıya karşı verdiği etkin bir tepkidir. Bu olay zaman zaman 2010 yılı başlarına kadar tekrarlanmıştır ve gelecekte de yaşanması olasıdır. Farklı denizlerde yapışkan/kaygan topaklanmalar/ makro öbekler ve hatta okyanuslarda "deniz karı" olarak oluşan bu yapıların Marmara Denizi'ndeki kütleli ve dikkat çekici oluşumu oldukça yeni bir olgu olmasına karşın, bu etkiye neden olan sebeplerin uzun dönemden beri yaşandığını varsaymak yanlış değildir. Ancak varsayımlar ve diğer denizlerde edinilen bilimsel gerçeklere rağmen olayın Marmara Denizi için araştırılması gerekli bulunmuştur. Bu sebeple MAM-Çevre Enstitüsü Deniz ve İç Sular Grubu, 2007 ve daha sonra devam edeceği öngörüsünde bulunduğu olayların sebeplerini anlamaya yönelik laboratuvar ölçekli ve deniz çalışmaları ile desteklenen projeyi tasarlayarak vakit kaybetmeden destek arayışına girmiş ve 2008 başlangıç yılı olarak TUBITAK 1001 Programından 2.5 yıl süre ile desteklenmiştir. Biz konunun uzmanları ve araştırmacılar olarak Projeyi destekleyen TUBITAK – ARDEB'e ve Projeyi değerlendiren ÇAYDAG ve TBAG Yürütme Komitesi Sekreterlikleri ile üniversite temsilcilerinden oluşan Panel üyelerine teşekkür ediyoruz.

Oldukça karmaşık bir ekosistem işleyiş mekanizmasının anlaşılmasını gerektiren bilimsel çalışmaların sürekliliğinin sağlanması, bu ve benzeri (HAB oluşumları, jelimsi zooplankton patlamaları, balık stoklarında yaşanan dengesizlikler vs) ekosistem bozulmalarının önceden tahminine yönelik çalışmaların geliştirilmesi ve tüm paydaşlar tarafından sahiplenilmesi denizlerimizin ve refah seviyemizin gelecek garantisi olarak değerlendirilmelidir. Bu bağlamda, Marmara Denizi için kamu kurum ve kuruluşları ile sivil toplumun her kesiminin işbirliği içinde bilgi temelli, doğru saptanmış ortak acil önlemleri alması ve ortak uygulaması için çalışması gerekmektedir. Çok aktörlü farkındalık ve sahiplenme, bilimsel çalışmaları da destekler nitelikte olmalıdır. Konuyu anlamak ve gerekli önlemleri almak için çalışmaya ilgi gösteren ve çalışmanın sonuçlarını yakından takip eden Kocaeli Büyükşehir Belediyesi- Çevre Koruma Dairesi'ne, Tarım ve Köyşleri Bakanlığı –Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü'ne, Çevre ve Orman Bakanlığı – Çevre Yönetimi Dairesi 'ne teşekkür ediyoruz.

Son olarak, amatör katkıları ile çalışmaya destek olmuş Erdek'li deniz severlere ve Erdek'li deniz bilimcilere teşekkür ediyoruz. Ayrıca, çalışmamız sırasında bizlerle sürekli temas halinde olan amatör sporcu derneklerine, balıkçı kooperatifleri ve derneklerine teşekkür ediyoruz. Bu çalışmanın sonuçlarının bu kesimlere en doğru şekilde aktarılmasındaki rolümüzün bilincini taşıyor ve bu çabalarımızın süreceğini bildiriyoruz.

ÖZET

Marmara Denizi'nde 2007 yılında saptanan musilaj olayının nedenlerinin araştırılmasına yönelik olarak düşünülen bu Proje, TUBITAK ARDEB tarafından 1001 programı kapsamında Temmuz 2008-Aralık 2010 dönemi içinde desteklenmiştir. Projenin temel amacı, musilaj olayına plankton kökenli hücre içi organik sıvıların ortama yoğun olarak salgılanmasının katkısının olduğunu kuvvetli delillerle ortaya koymaktır. Ayrıca, bu olaya katkısı olduğu düşünülen diğer dış etkenlerin de araştırma kapsamında yer alması hedeflenmiştir. Çalışma sırasında karşılaşılan diğer bilimsel hipotezler de dikkatle değerlendirilmiştir.

Çalışmalar, dört hedef fitoplankton türü ile sıcaklık, ışık ve besin kontrollü kesikli laboratuvar deneyleri gerçekleştirme; deniz ortamında sürekli izleme ve sınırlayıcı besin koşullarını belirleme; deniz ve laboratuvar ortamında oluşan doğal ve yapay oluşumların kimyasal olarak incelenmesi; meteorolojik parametrelerin etkisi ve insan kaynaklı baskıların irdelenmesi olarak organize edilmiştir.

Laboratuvar ölçekli çalışmalar, ortamın değişen besin koşullarına ve türe göre organik madde salınımının önemli değişkenlikler gösterdiğini ortaya koymuştur. Ortamda hangi besin elementlerinin sınırlayıcı etkiye sahip olduğuna bağlı olarak dışarıdan yapılan besin yüklemeleri (deniz ortamında yeni birincil üretime yol açan karasal girdiler, alt sudan ışıklı tabakaya besin taşınım gibi) organik madde üretimini hızla arttırmıştır. Farklı materyaller üzerinde yapılan kimyasal içeriğe yönelik incelemeler, deniz ortamında toplanan musilaj ile laboratuvar ölçeğinde elde edilen topaklanmaların benzer yapıda olduklarını ve karbonhidrat ile polisakkarit bantlarının baskın olduğunu göstermiştir. Buna karşın, musilaj malzemesinin içeriği ile jelimsi zooplankton içeriği arasındaki önemli bir fark ikincisinin protein yapısında olduğudur. Akdeniz ve Marmara Denizi'ne ait uzun dönemli meteorolojik bulguların Proje kapsamında ve farklı literatürde oşinografik koşullarla birlikte değerlendirilmesi sonucunda ise Akdeniz'deki değişen iklimsel özelliklerin musilaj olaylarını yakından ilgilendirdiğini göstermektedir. Örneğin, 2006-2007 yılları ve oluşan musilaj olayları, Akdeniz ve Marmara Denizi'nde son otuz yılın en sıcak geçen dönemlerini içermesi açısından dikkate değerdir. Ayrıca, Marmara Denizi besin maddesi durumunu direk olarak etkileyen insan aktivitelerinin yoğunluğu da olayları tetikleyen faktörler arasında değerlendirilmiştir.

ABSTRACT

This Project was prepared to investigate the factors that could play key role in the musilage event first occurred in 2007 in the Sea of Marmara and supported by TUBITAK ARDEB during July 2008-December 2010 in the framework of TRA -1001 Programme. The main objective of the Project is, to look for strong evidences to support the hypothesis that the extracellular dissolved organic compounds of phytoplankton played a key role in the formation of aggregates. In addition, other possible external factors were also kept within the research plan. Different hypthesis of other research groups were also considered.

The investigations might be grouped in four categories as; performance of batch culture experiments under light, temperature and nutrient controlled conditions; performance of chemical techniques for the qualitative and quantitative speciation of natural and artificial aggregates; continuous monitoring of sea water and the limiting nutrient conditions of the Izmit Bay; analysis of long-term meteorological data and human pressures.

Laboratory experiments with phytoplankton native cultures have shown that the organic matter excretion is considerably changing with respect to the specie and the nutritive conditions. The external nutrient pulses under limiting conditions have caused the increase of dissolved organic carbon and carbohydrate accumulation in the flasks. Chemical investigations made with FTIR and CHN analysis have revealed that natural musilage aggregates obtained from marine environment and the aggregates obtained in laboratory experiments with phytoplankton have similar structure showing strong carbohydrate and polisaccaride peaks. In opposite to this, the jelly-fish FTIR have shown pronounced protein structure.

When the long term meteorological conditions in the Marmara Sea are analyzed and evaluated together with the recent literature findings for the Mediterranean Sea, it would not be wrong to say that the climatological factors also have played a key role in the formation of mucilage events during 2006 and 2007 in the Mediterranean and the Marmara Sea. For example, 2007 summer was the hottest of the last 30 years in the region. In addition to this pressure, human forcings on the nutrient conditions of the Sea of Marmara through various human activities (discharges, dredging and dumping operation etc) might have played role on triggering the mucilage events.

1.GİRİŞ

1.1. Proje amaç, yaklaşım ve içeriği

Projenin sunumu ile amaçlanan İzmit Körfezi ve Marmara Denizi'nde Eylül-Ekim 2007 aylarında oluşan beyaz-sarımsı renkte ve fitoplankton orijinli olduğu tahmin edilen maddenin (salyamsı, kaygan topraklar) içeriği ve oluşma koşulları hakkında bilimsel verilere ulaşmak ve bu yolla ilgili kurum, ilgili sektör yetkilileri ve kullanıcıları ile sivil toplumu en doğru şekilde bilgilendirmektir. Olayın oluşumunu takiben saha ve laboratuvar çalışmaları hızla başlatıldı, yerel yönetim ve diğer yetkililer farklı kanallarla bilgilendirildi ve olayın öncesindeki saha koşullarının bilinmiyor olmasının yarattığı bilgi boşluğunun önemi anlatıldı. Bu ön bilimsel araştırma ve bilgilendirme sürecini takiben, 108Y083 nolu 1001 projesinin sunumu Ocak 2008 döneminde gerçekleştirildi. Projenin dayandığı hipotez, bu makro ölçekli "musilaj" topraklarının oluşmasında, fitoplanktonun organik maddece - özellikle polisakkarit ve karbonhidratlarca- zengin iç sıvılarının uygun ortam ve çevre koşullarındaki birikiminin kritik rol ve önemi olduğu idi. Bu hipotez, Proje süresince diğer araştırma kurumlarının saha verileri ile kısmen destekledikleri farklı bir hipotez –malzemenin jelimsi zooplankton "denizanası" yoğunluğundan kaynaklandığı- ile birlikte değerlendirildi.

Bu amaçla, farklı türlerdeki fitoplankton kültürleri üzerinde kontrollü laboratuvar deneyleri düşünüldü ve karbonhidrat birikimleri ile toplam organik madde birikimleri farklı biyolojik ve kimyasal değişkenlerle birlikte takip edildi. Laboratuvar koşullarında oluşan maddenin kimyasal içeriği incelendi ve deniz ortamından toplanan musilaj topraklarının kimyasal içeriği ile karşılaştırıldı. Proje süresince, laboratuvar çalışmalarını desteklemek ve ortamdaki değişimleri takip edebilmek için MAM olanakları kullanılarak MAM önünde sabit bir istasyonda düzenli izleme çalışmaları yürütüldü (Eylül2008-Aralık2010). Bu genel kapsam altında yürütülen çalışmaların içeriği özetle şöyledir.

Laboratuvar çalışmaları:

- Seçilmiş dört fitoplankton türü ile sıcaklık, ışık ve besin kontrollü ve steril/doğal ortamlarda kesikli, 3-7 haftalık deneylerde, farklı değişimlerin (besin yüklemesi, metal ilavesi vb.) etkilerinin takibi
- Bu deneylerde ortam biyolojik ve kimyasal parametreleri ile çözünmüş organik madde ve karbonhidrat birikiminin zamana karşı değişiminin takibi
- Deneylerde oluşan toprakların, partikül maddenin ve saf fitoplanktonun kimyasal yapılarının incelenmesi
- Deniz ortamından toplanan musilaj yumaklarının kimyasal yapılarının ve biyolojik içeriklerinin incelenmesi
- Deniz ortamındaki kaygan yumakları oluşturduğu savlanan jelimsi zooplanktonun kimyasal yapısının incelenmesi (proje hipotezine karşı tez)
- Laboratuvar ve deniz ortamından elde edilen malzemelerin elde edilen bulgular yardımı ile karşılaştırılması
- Denizlerimizde tekrarlanması kuvvetle tahmin edilen bu oluşumlar sırasında başvurulacak örnekleme ve analiz protokollerinin derlenerek kullanıcılara sunulması
- Yerel-saf (ortamdan izole edilmiş) fitoplankton kültürlerinin sağlıklı olarak devamlılığının sağlanması ve bu yolla ileride yapılabilecek deneysel çalışmalara uygun alt yapının aktarılması

Saha çalışmaları:

- Proje süresince; Eylül 2008 ile Aralık 2010 arasında MAM önü (Dış Körfezi temsil eder noktada) sabit istasyonunda 1-4 hafta aralıklı izleme çalışması: Bu çalışmalar iki amaçlı değerlendirilmiştir. Birinci olarak yerel türlerin izolasyonu için örnek toplanmıştır. İkinci olarak da, 2007 'de belirgin olarak kaydedilmeye başlanan ve daha sonraki dönemlerde de oluşması beklenen kütleli topaklanmaların

öncesi-oluşum süreci ve sonrasındaki ortam özelliklerinin bilinmemesinin yol açtığı bilgi eksikliğinin giderilmesidir.

- Kasım 2007'den itibaren MAM ve Kocaeli BB desteği ile İzmit Körfezi'nde yürütülen, kesintisiz-aylık izleme çalışmaları ve mevsimlik karasal girdilere yönelik çalışmalar: Bu çalışmanın raporlarından gerektiği ölçüde ve özellikle oşinografik özelliklerin takibine yönelik olarak faydalanılması hedeflenmiştir.
- Marmara Denizi'nin diğer bir alanını temsilen Erdek Körfezi'nde musilaj malzemesinin toplanması
- Erdek Körfezi'nde çalışma dönemine rastlayan musilaj olaylarına ait su altı video kayıtları

Meteorolojik koşullar:

- Çalışma döneminin ilk yarısını da kapsayacak şekilde son 20-30 yıla ait meteorolojik değişimlerin analizi
- Marmara Denizi ekosistem bozulmasını tetikleyen baskı ve aktivitelerin değerlendirilmesi

1.2. Musilaj : Genel bilgiler ve Marmara Denizi'ndeki oluşum ve etkileri

Musilaj olayı deniz suyunda (yüzey ve su kolonunda) dönem dönem oluşan jelatin yapısında organik bir malzemedir (Mingazzini ve Thake, 1995). Bu organik partiküller şekil ve boyut olarak farklılıklar gösterir (Precali vd. 2005). Özellikle, su kolonundaki piknoklin yapısı musilajın birikiminde önemli rol oynar, hava ve denizin durumu olayın gelişimini ve yayılımını direk olarak etkiler. Örneğin, yüksek deniz suyu sıcaklığı, rüzgarsız ve sakin hava koşulları oluşumu etkileyen önemli faktörler arasındadır. Musilajın daha çok Temmuz-Eylül dönemlerinde olduğu da bilinmektedir (Penna vd. 2003). Son yıllarda, oluşan musilaj olayları ile meteorolojik ve oşinografik veri ve bilginin birlikte değerlendirilmesi sonucunda da sıcaklık, rüzgar durumu, özellikle yaz aylarında üst su kolonunda artan yoğunluk ayrışması gibi sebeplerin önemli etken olduğu savlanmıştır (DeLazzari vd., 2008; Martin vd., 2010). Ayrıca Akdeniz'de son 10 yılda giderek artan musilaj olayları, Akdeniz'in iklimsel özelliklerindeki değişimlerle de ilişkilendirilmiştir (Davanaro vd., 2009).

Musilaj oluşumunda meteorolojik ve oşinografik faktörler tetikleyici oldukları gibi oluşan malzemenin yayılması ve öbeklenmesinde de etkilidir. Ancak, malzemenin yoğun organik maddeden oluştuğu ve bunun da mikroskopik canlıların polimer yapısındaki hücre içi sıvılarından kaynaklandığı bilinmektedir. Bu sıvılar, sağlıklı planktonik organizmaların doğal metabolizmalarının ürünü olup denizlerdeki çözünmüş organik madde havuzunun önemli bölümünü oluşturur, yapışkan ve bağlayıcı yapısı ile bünyesinde ölü/canlı organizmaları ve diğer çözünmüş/partikül maddeyi hapseder. Fiziksel koşulların varlığı ile de bu malzemeler belirli tabakalarda birikime uğrayıp olumsuz görsel ve ekonomik etki yaratacak musilaj kütlelerine ulaşabilir (Mingazzini vd., 1995; MacKenzie vd., 2002; Pompei vd., 2003; Precali vd., 2005; Sampedro vd., 2007;....vb) ya da oşinografların yakından tanıdığı "marine snow" (deniz karı) yapısı ile alt derinliklere çöker (Simon vd. 2002; ...vb). Bu malzeme bakteriler (heterotroflar) için geri dönüştürülecek yapıda olduklarından her durumda çevreleri bu organizmalar tarafından yoğun olarak kuşatılır, bu da özellikle üst sularda biriken musilaj topaklarının insan sağlığına zarar verebileceğinin işaretidir (Davanaro vd., 2009). Bu açıdan sorun yaratabilecek diğer bir konu da, toksik madde üreten türlerin ve toksinlerin bu madde içinde yoğunlaşma riskidir ki insan sağlığı açısından önemli her iki konu da henüz tam olarak araştırılmış değildir.

Marmara Denizi'nde 2007-sonbahar, 2008-kış ve sonbahar ile 2009-2010 kış döneminde gözlenen musilaj oluşumları, en yoğun olarak 2007 ve 2008 yıllarında kaydedilmiştir. Bu dönemde, her türlü balıkçılık aktivitesinin neredeyse tamamen çökmesi nedeniyle Tarım ve Köyşleri Bakanlığı ve balıkçılık kooperatifleri konu ile yakından ilgilenmişler, TKB /FAO işbirliği ile gerçekleştirilen bir proje kapsamında FAO danışmaları Türk uzmanları ile çalışarak kapsamlı bir rapor hazırlamışlardır (Reguera ve Nayak, 2009). Akdeniz Balıkçılık Komisyonu'nun da devreye girmesi ile TKB/FAO/GFCM birlikte 6-8 Ekim 2010 tarihinde İstanbul'da konu ile ilgili "Algal and Jellyfish

Blooms in the Mediterranean and the Black Sea” çalıştayını düzenlemişlerdir ve kapsamlı bir rapor yayınlamışlardır (GFCM/FAO, 2010). Her iki raporda da, Projemizin teklifinde ve sunulan ara raporlarında değinildiği üzere, musilajın oldukça karmaşık bir mekanizmaya sahip olduğu ve tek bir sebebinin olmadığı vurgulanmıştır. Bu oluşum, artan doğal (iklimsel) ve insan kaynaklı (besin maddelerinin girdilerindeki artış ve dengesizlikler) baskıların sonucunda biyolojik yaşamın verdiği tepki ve fizikokimyasal reaksiyonların sonucudur. Her iki rapor da kapsamlı olarak musilaj oluşum mekanizmaları, önceden tahminin gerekliliği ve alınabilecek ekosistem seviyesindeki önlemler konusunda oldukça önemli ve net öneriler getirmişlerdir. GFCM/FAO, 2010 raporu, Proje Final Raporu eki olarak sunulmuştur (**EK 1**).

Marmara Denizi’nde 2007-Eylül/Ekim, 2008-Ocak ve 2008-Ekim dönemlerinde oluşan 3 musilaj vakasının su altındaki oluşumları ve etkileri vido kayıtları ile de saptanmış ve projeyi desteklemek amacı ile **EK 2**’de sunulmuştur. Bu kayıtlarda, musilajın su altında ve özellikle ara tabakadaki yoğunluğu görülmektedir. Ayrıca, musilajın deniz tabanı üzerindeki etkileri de bu kayıtlarda yer almaktadır. Bu çekimlerden elde edilen fotoğralar ile su yüzeyindeki musilaj oluşumlarının fotoğrafları 1.Ara Rapor’da sunulmuş ve bu görüntüler literatürde yayınlanan benzer bulgularla karşılaştırılarak musilaj yapılarının tanımlaması mümkün olmuştur. Ayrıca, bu kayıtlar konunun paydaşlarını bilgilendirme amaçlı olarak da kullanılmıştır.

1.3. İzmit Körfezi ve Marmara Denizi özellikleri

Marmara Denizi, diğer denizlerle bağlantısını sağlayan Boğazlar ve Körfezleri ile birlikte coğrafik olarak tümüyle ve tüm yıl boyu iki tabakalı bir yapıya sahiptir. Bu yapıyı daha çok tuzluluk tabakalaşması neden olmakta, sıcaklık ancak yaz dönemlerde yüzey suyunun çok ısınmasına sebep olduğundan tabakalaşmayı etkilemektedir. Göreceli olarak daha sığ alanları içeren körfezler ve güney sığlığı gibi ırmak girdilerinin etkisi altındaki alanlarda ise meteorolojik koşullara bağlı olarak dikey karışımlar sonucunda tabakalı yapının keskinliği farklılık göstermektedir. Bu yapıdaki ve tatlı su girdilerindeki (ve Karadeniz girdilerindeki) değişimler ise musilaj oluşumlarının başlaması, yayılması ve birikiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Marmara Denizi’nin oşinografik özellikleri ve çevresel durumu 1986-1996 arasını kapsayan 10 yıllık bir dönemde yürütülen Ulusal Deniz Araştırmaları Programı çerçevesinde Polat ve Tuğrul (1995, 1996) tarafından kapsamlı olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler, Marmara Denizi ara ve alt tabaka sularında oksijen eksikliği bulunduğu ve yüzey sularından önemli miktarda organik maddenin çökeltme yolu ile bu iki tabakada birikerek oksijen fakirliğine sebep olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarda ve daha sonra yürütülen farklı kurumların çalışmalarında Marmara Denizi’ne Karadeniz’den taşınan besin elementleri ve organik madde girdilerinin yıl içinde aylık, hatta anlık olarak önemli düzeylerde değiştiği belirlenmiştir. Karadeniz girdilerinin yanı sıra İstanbul metropolitan bölgesinden Doğu Marmara basenine karasal girdilerin önemi de vurgulanmıştır (Orhon ve diğ., 1994, Tuğrul ve Polat, 1995; Polat-Beken vd., 2000). 1999 yılında İSKİ tarafından onaylanan Mastır Plan çerçevesinde başlatılan çalışmalar içerisinde özellikle İstanbul metropolitan bölgesinden kaynaklı kirlenici girdilerinin kritik önem taşıması nedeni ile bu bölgede arıtım ve deniz deşarjlarında yapılacak yeni düzenlemeler (özellikle arıtım seviyelerinin üçüncü aşamaya kadar yükseltilmesi) öngörülmüş ve bu çalışmalar paralelinde düzenli deniz izleme çalışmaları da gerçekleştirilmiştir (Okuş ve diğ., 2008). Bu konudaki güncel değerlendirmeler Bölüm 3.3’te verilmiştir.

İzmit Körfezi’ndeki, iki tabakalı yapı 15-20 m arasında ayrılır ve üst tabakanın kalınlığı mevsimsel olarak, bölgedeki akıntı sistemine, rüzgar ve sıcaklık değişimleri ile düşey karışımlara bağlı olarak değişir. Körfezin doğu bölgesi küçük ve sığdır. Bu nedenle alt tabaka özellikleri bu bölgede değişkendir (Tuğrul ve diğ., 1989). Az tuzlu

üst tabaka suları organik maddece ve oksijence zengindir. Alt tabaka suları genelde Marmara dip suları özelliğini taşımaktadır; oksijence çok fakir, fakat besin elementlerince zengindir. Ara tabakada önemli düzeyde oksijen düşüşü olur ve zaman zaman oksijensiz koşullar oluşabilmektedir (Tuğrul ve diğ., 1989). Oksijen eksikliği orta Körfez'in derin sularında da mevcuttur (Balkis vd., 2003). İzmit Körfezi'nde biyolojik üretkenliğin zamana ve bölgelere bağlı olarak değişimler gösterdiği daha önce yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Tuğrul ve diğ., 1989). İlk çalışmalar göre, İzmit Körfezi'nde algal kompozisyonunun önemli bir bölümünü diatom türleri oluşturmaktadır. Bu grubun daha çok ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde önemli artış gösterdiği gözlenmiştir.

İzmit Körfezi'nin üst sularında inorganik besin elementleri ilkbahar-sonbahar arasında tüketim nedeniyle oldukça düşük olup, Marmara ve Karadeniz değerlerine yakındır. Alt sulardaki azot, fosfor ve silikat değerleri kış aylarında suların yenilenmesi nedeniyle azalmaktadır. İlkbahardan başlayarak artmakta olan nitrat, fosfat ve silikat değerleri sırasıyla, 14, 1.34, 42 μM düzeyine ulaşmaktadır (Morkoç, 1991). Ortalama S:N:P oranı alt sularda 31:10:1 olarak hesaplanmıştır. N/P oranı yüzey sularında 7 ve 7'den daha az bulunmuştur (Okay, 1986). Ancak bu hesaplamalarda kullanılan azotlu bileşikler oksitlenmiş anorganik bileşikler (NO_3+NO_2) dir ve amonyak (NH_4) ölçülmediği için göz ardı edilmiştir. Oysa ki bu bileşik fitoplankton üretiminde çok önemlidir ve karasal girdilerin yoğun olduğu bölgelerde ortama yüksek miktarlarda girişleri mevcuttur.

Ortam şartlarına bağlı olarak fitoplankton üretimini kontrol eden besin element(ler)i zaman içerisinde değişebilmektedir. Bu kapsamda İzmit Körfezi'nde daha önce yapılan çalışmalarda sınırlayıcı besin elementinin 20 yıl içerisinde tamamen değiştiğini göstermiştir (Morkoç ve diğ., 1988; Tüfekçi ve diğ., 1998). Ancak 1997-1998 periyodunda yapılan biyodeneysel çalışmaları sonucunda, İzmit Körfezi'ndeki sınırlayıcı besin elementi azot olarak bulunmuş ve N/P oranının da 0.45-1.8 arasında olduğunu tespit edilmiştir. Aynı dönemde baskın olan fitoplankton grubunun dinoflagellatlar olduğu açıklanmıştır (*Prorocentrum micans*, *Noctilica scintillans* ve bazı *Gonyaulax* sp.) (Tüfekçi ve diğ., 1998).

1990-2000 (Aktan vd., 2005) ve 2001-2002 (Tolun vd., 2002) yılları arasında İzmit Körfezi'nde yapılan başka bir çalışmada tür ve birey sayısı bakımından dinoflagellatların dominant olduğu, diatomların daha çok kış aylarında baskın oldukları bulunmuştur. Özellikle iç Körfezde birey sayısının dış körfeze göre daha fazla olduğu da belirtilmiştir. Toplam fitoplanktonun yaklaşık %85-95'ini dinoflagellat grubunun oluşturduğu tespit edilmiştir.

Nisan 2008 ile Aralık 2010 arasında İzmit Körfezi'nde yapılan çalışmalarda elde edilen fitoplankton bulguları eski yıllarda gerçekleştirilen fitoplankton çalışmaları ile karşılaştırma yapıldığında Körfezin her 3 baseninde de fitoplankton birey sayısındaki artış dikkat çekicidir (Ediger vd. 2010, Şekil 30).

2. Gerçekleştirilen Deneyler ve Kullanılan Yöntemler

2.1. Etki Deneyleri

İzmit Körfezi'nin (İK) yüzey tabakasından hedeflenen 4 türden 3'ü alınmış deniz suyu örneklerinden izole edilen fitoplankton türlerinin ve Dunstaffnage Deniz Laboratuvarı'ndan (CCAP) alınan saf kültürlerin (*Prorocentrum micans*, *Skeletonema costatum* ve *Cylindrotecha closterium*) laboratuvar ortamında çeşitli N/P oranlarında büyümeleri üzerine olan etkileri ve bu etki sonucunda suda oluşan değişiklikler 20-30 gün süren etki denemeleri ile belirlenmiştir. Böylece farklı ortamlarda yetişen aynı türün davranışının izlenmesi amaçlanmıştır. Hedeflen 4. tür olan dinoflagellatlardan *Gonyaulax fragilis*'in laboratuvar ortamındaki üremesi devam ettirilemediği ve yurt dışına verilen üç siparişin de transferleri sırasında hücreler canlılıklarını yitirdikleri için bu tür ile etki deneyleri yapılamamıştır.

Tasarlanan laboratuvar deneyleri Ocak 2009'dan itibaren hayata geçirilmiştir. 2. altı aylık periyotta yapılan biyodeneysel, azot ve fosfor gibi besin tuzlarının türlerin gelişimleri üzerine etkilerini izlemek amacıyla farklı N/P oranlarının kullanıldığı ortamlarda çalışılmıştır. Deneylere ilk olarak yurtdışından sipariş edilen aynı türlerin suşları

ile başlanmış ve daha sonraki setlerde yine aynı türlerin İzmit Körfezi'nden izole edilip kültüre alınmış suşlarının kullanılmasıyla aralarındaki benzerlik ve farklılıklar da ortaya konmuştur. *P. micans* türü ile amonyum ve fosfat eklemeli bir biyodeneş tasarlanmıştır. Öte yandan, bakteri-fitoplankton etkileşmelerinin müsilaş oluşumuna ne gibi etkileri olduğunun araştırılması amacıyla ortam bakterili deneyler ile kalsiyum, magnezyum, kurşun ve bakır gibi metallerin oluşum üzerine etkilerinin saptanması amacıyla da, *P. micans* türü için yine bakterili ortamda metal eklemeli bir biyodeneş gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen deneylerin tümü **Tablo 1**'de verilmiştir.

Tablo 1. Projede gerçekleştirilen kesikli-kontrollü deneylerin listesi ve içerikleri

Nr.	Çalışılan türler	Deney zaman aralığı	Test edilen N/P Oranları	Deney ortamının özellikleri
1	<i>P. micans</i> CCAP	01.01.2009-26.01.2009	24 – 1,2 – 4 – 8,1 – 73 – 146 – 485	Steril ortam
2	<i>S. costatum</i> CCAP	09.02.2009-02.03.2009	24 – 1,2 – 4 – 8,1 – 73 – 146 – 485	Steril ortam
3	<i>P. micans</i> İ.K.	30.03.2009-29.04.2009	24 – 1,2 – 4 – 8,1 – 73 – 146 – 485	Steril ortam
4	<i>S. costatum</i> İ.K.	13.04.2009-13.05.2009	24 – 1,2 – 4 – 8,1 – 73 – 146 – 485	Steril ortam
5	<i>C. closterium</i> CCAP	12.05.2009-08.06.2009	24 – 1,2 – 4 – 8,1 – 73 – 146	Steril ortam
6	<i>C. closterium</i> İ.K.	11.08.2009-08.09.2009	24 – 1,2 – 4 – 8,1 – 73 – 146	Steril ortam
7	<i>P. micans</i> İ.K.	26.08.2009-18.09.2009	24 – 1,2 – 4 – 15,6 – 73 – 485	NH ₄ eklemesi
8	<i>P. micans</i> İ.K.	19.10.2009-09.11.2009	24 – 4 – 73	Steril edilmemiş ortam
9	<i>C. closterium</i> İ.K.	09.11.2009-12.01.2010	24 – 4 – 73	Steril edilmemiş ortam
10	<i>S. costatum</i> İ.K.	09.11.2009-12.01.2010	24 – 4 – 73	Steril edilmemiş ortam
11	<i>P. micans</i> İ.K.	08.12.2009-04.01.2010	24 + MgCl ₂ +CaCl ₂ 24 + CuCl ₂ +PbCl ₂	Metal eklemeli Steril edilmemiş ortam
12	<i>S. costatum</i> İ.K.	03.02.2010-24.02.2010	24 – 4	Steril edilmemiş ortam Düşük besin yüklemesi
13	<i>C. closterium</i> İ.K.	03.02.2010-24.02.2010	24 – 4	Steril edilmemiş ortam Düşük besin yüklemesi
14	<i>G. fragilis</i> İ.K	10.03.2010-30.03.2010	24 – 4 – 73	Steril edilmemiş ortam
15	<i>C. closterium</i> İ.K.	15.04.2010-09.06.2010	24 – 4 – 73	Steril edilmemiş ortam / Uzun dönemli deney
16	<i>S. costatum</i> İ.K.	31.08.2010-15.10.2010	24 – 4 – 73	Steril edilmemiş ortam / Uzun dönemli deney

2.1.1 Deneylerde kullanılan seyrelme suyunun alınması ve korunması

Deneylerde kullanılan su örneği İzmit Körfezi' nin batı kesiminde TÜBİTAK-MAM açıklarından yüzey tabakasından tek noktadan alınmıştır. Laboratuvara getirilen deniz suyu, içinde bulunan doğal türlerden arındırılması amacıyla önce 1,2 µm göz açıklığındaki filtreden, daha sonra 0,2 µm veya 0,45 µm göz açıklığındaki membran filtreden geçirilmiştir. Süzülen deniz suyu daha sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiş, uygun polietilen kaplar içerisinde deney zamanlarına kadar -18 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

2.1.2 İzolasyon aşaması

Alg izolasyonu için gereken su örnekleri İzmit Körfezi'nden TÜBİTAK-MAM 'ın bulunduğu bölgenin yaklaşık 500 m açıklığından ve 10 m derinlikten yüzeye doğru, 55 mikron göz açıklığına sahip plankton kepçesi yardımıyla alınmıştır. Laboratuvara getirilen örnekler, fitoplankton popülasyonunun zooplanktondan korunup muhafaza

edilebilmesi ve sağlıklı bir izolasyon yapılabilmesi amacıyla 200 mikron göz açıklığına sahip elekten geçirilmiştir. Elekten geçirilen numuneye, türlerin yaşamsal aktivitelerini sürdürmelerine ve doğal ortamdan laboratuvar ortamına adaptasyonuna yardımcı olmak amacıyla nitrat ve fosfor gibi ana besin tuzları ilave edilmiştir. Numune inverted mikroskop altında incelenmiş ve istenilen fitoplankton türlerinin tespiti yapılmıştır. Pasteur pipetiyle stereomikroskop altında izole edilen (Belcher ve diğ., 1982) türler, f/2 ve K minimum besiyerlerini (Tablo 2 ve Tablo 3) içeren elisa plaklarının kuyucuklarına ekilmiştir. *S. costatum* için f/2 besiyeri (Tablo 2), *P. micans* içinse K min besiyeri (Tablo 3) kullanılmıştır. 250 µl'lik ELISA plağı kuyucuklarında bulunan kültürler TÜBİTAK MAM Çevre Enstitüsü kültür odasında büyümeye alınmıştır.

Plaklara ekilmiş kültürler yaklaşık 7 - 10 günlük zaman aralığında harici kontroller yapılmış, kültürlerin renk verip vermediğine bakılmıştır (Kullanılan türler stereomikroskop altında incelenerek üreyip üremedikleri kontrol edilmiştir). En az 7 - 10 günlük bu ilk üreme süreci takibinden sonra, kuyucuklarında artış görülen türler daha büyük hacimlerdeki erlenlere alınmıştır. Erlenlerdeki kültürler yine yaklaşık 7 - 10 günlük harici gözlem sürecinden geçtikten sonra otomatik pipetler yardımıyla kültürlerden alınan küçük hacimlerde örneklerin inverted mikroskop altında artışları incelenmiştir. Artış görülen erlenlerdeki kültürler bu kez daha büyük hacimlerde erlenlerde kültüre alınmıştır. 100 ml' lik erlenlerde yaklaşık 50 ml besiyeri ve 2-5 ml örnek içeren bu yeni kültürlerin devamlılığı yine aynı yöntemlerle sağlanmıştır. 7-10 günlük periyotlarda kültürler kontrol edilerek taze besiyeri içeren ortamlara yeni ekimler yapılmıştır (**Şekil 9**).



ELISA plaklarındaki kültürler



100/500 ml'lik erlenlerdeki kültürler

Şekil 9. Fitoplankton kültürlerin izolasyon aşamaları

2.1.3 Kültürler için kullanılan besiyerleri

f/2 + Si Ortamı

Skeletonema costatum türü için kullanılan besiyeri olan f/2+Si ortamının içeriği **Tablo 2'** de özetlenmiştir.

Tablo 2. f2 + Si besi ortamının içeriği

STOKLAR	(/L)
(1) İz elementler	
Na2 EDTA	4.16 g
FeCl3.6H2O	3.15 g
CuSO4.5H2O	0.01 g
ZnSO4.7H2O	0.022 g
CoCL2.6H2O	0.01 g

MnCl ₂ .4H ₂ O	0.18 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.006 g
(2) Vitamin karışımı	
Cyanocobalamin (Vitamin B12)	0.0005 g
Thiamin HCl (Vitamin B1)	0.1 g
Biotin	0.0005 g
(3) Sodyummetasilikat	
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	30.0 g
MEDYUM	(/L)
NaNO ₃	0.075 g
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	0.00565 g
Trace element stock solutiin (1)	1.0 ml
Vitamin mix stock solution (2)	1.0 ml
Sodyum metasilikat stock solution (3)	1.0 ml

K Minimum Ortamı

Prorocentrum micans türü için kullanılan besiyeri olan K Minimum ortamının içeriği **Tablo 3**'de özetlenmiştir.

Tablo 3. K minimum besi ortamının içeriği

STOKLAR	(/L)
(1) İz elementler	
Na ₂ EDTA	4.36 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	3.15 g
ZnSo ₄ .7.H ₂ O	0.022 g
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.01 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.18 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.006 g
(2) Vitamin karışımı	
Cyanocobalamin (Vitamin B12)	0.0005 g
Thiamine HCl (Vitamin B1)	0.1 g
Biotin	0.0005 g
(3) Na₂SeO₃	0.002 g
MEDYUM	(/L)
NaNO ₃	0.075 g
NaH ₂ Po ₄ .2H ₂ O	0.00565 g
Trace elements stock solution (1)	1.0 ml
Vitamin mix stock solution (2)	1.0 ml
Na ₂ SeO ₃ stock solution (3)	1.0 ml

Seyrelme suyu ile yukarıdaki tariflere uygun olarak hazırlanan besiyerlerinin pH 'sı 1M NaOH veya HCl ilaveleriyle 7.8- 8.0 olacak şekilde ayarlandı.pH' sı ayarlanmış besiyerleri 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

2.2. Test organizması olarak seçilen türler

2.2.1. Skeletonema costatum

Skeletonema costatum aşırı üremesiyle ekosisteme zarar veren, diatome türleri için karakteristik olan nitrat redüktaz enzimine sahip denizel fitoplankton komünitelerini oluştururlar (Stearn, 1973). Kutup denizleri hariç dünyanın tüm denizlerinin kıyısız bölgelerinde kozmopolit bir türdür. Kıyısız bölgelerde genelde ilkbahar aşırı artışlarından sorumludurlar (Berrard Therriault ve diğ., 1999). Pelajik formda, bir başka canlıya veya yüzeye tutunmuş şekilde yaşayabilirler, aşırı üremeleri ekosistemde ciddi zararlara neden olur (Zingone ve diğ., 2005) (Şekil 10).

Phylum : Bacillariophyta
Classis : Coscinodiscophyceae
Ordo : Thalassiosirales
Familia : Skeletonemataceae
Genus : *Skeletonema*
Species : *Skeletonema costatum*



Şekil 10. *Skeletonema costatum*'un genel görünüşü

2.2.2. Cylindrotheca closterium

Yine Bacillariophyta grubuna ait bir diatom türü olan *C. closterium* özellikle ilkbahardan yazıya kadar sularda dominant haldedir. Hücre büyüklükleri 30-400 µm arasında değişmektedir. 2 adet kloroplastları mevcuttur. Oligohaline ve polihalın organizmalar olup, aşırı çoğalmaları nedeniyle zararlı mikroalg türleri arasında kaydedilmişlerdir (Hasle, G. R. vd., 1996) (Şekil 11).

Phylum :	Bacillariophyta
Class :	Bacillariophyceae
Ordo :	Bacillariales
Family :	Bacillariaceae
Genus :	<i>Cylindrotheca</i>
Species :	<i>Cylindrotheca closterium</i>



Şekil 11. *Cylindrotheca closterium*'un genel görünüşü

2.2.3. Prorocentrum micans

Zırhlı, denizel planktonik ve aşırı artış yapabilen, soğuk ve ılık sulardan tropik sulara kadar dünyanın tüm denizlerinde bulunan (Dodge, 1975), kozmopolit bir türdür. Hücreleri şekil ve boyut olarak oldukça değişkendir. Damla şeklinde, kalp şeklinde veya yuvarlak olabilir. Sol valvdeki iyi gelişmiş apikal iğneyle (10 µm uzunluğunda) yassılaşılmaktadır. Hücreler orta büyüklüktedir (35-70 µm uzunluk, 20-25 µm genişlik). Radial düzenle dizilmiş çeşitli sayıda tübüler trikosist gözenekleri vardır. Periflagelar alan nispeten küçük ve dardır. *Prorocentrum* genusunun en çok görülen ve en çeşitlilik gösteren türüdür. Dünyanın bir çok bölgesinde büyük red-tide'lara sebep olurlar (Fukuyo ve diğ., 1990). Geniş çaplı bloomlara yol açsa da genelde zararsız olarak değerlendirirler (Taylor ve Seliger, 1979; Anderson ve diğ., 1985; Graneli ve diğ., 1998). Diatome gelişimini engelleyen maddeler salgılayabilir, fakat bunların herhangi bir şekilde besin zincirine girdiği veya daha yüksek seviyedeki organizmaları etkilediği görülmemiştir (Uchida, 1977) ancak Portekiz ve Güney Afrika'daki kabuklu deniz hayvanlarının ölümüne yol açtığına dair çalışmalar da yayınlanmıştır (Horstman, 1981). Türün toksisitesine dair daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır (**Şekil 12**).

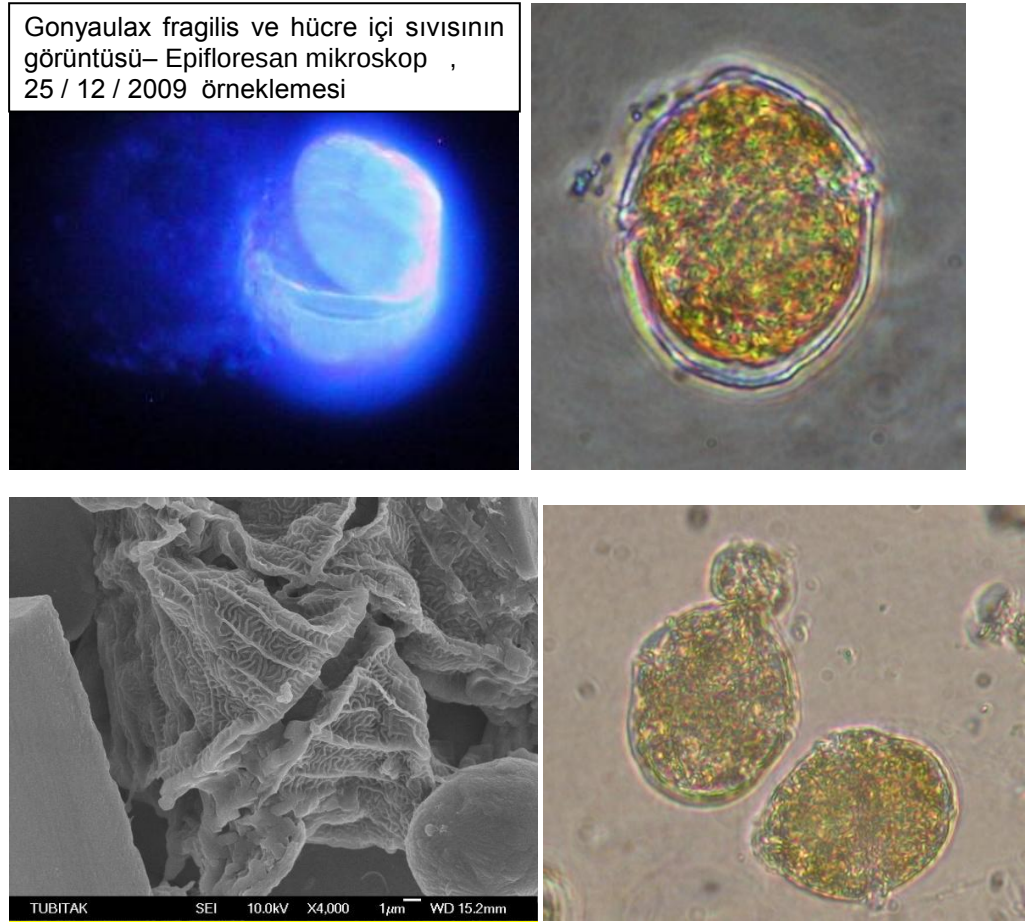
Phylum	: Dinomastigota
Classis	: Dinophyceae
Ordo	: Prorocentrales
Familia	: Prorocentraceae
Genus	: <i>Prorocentrum</i>
Species	: <i>Prorocentrum micans</i>



Şekil 12. *Prorocentrum micans*'in genel görünüşü

2.2.4. *Gonyaulax fragilis*

Karakteristik olarak klorofil a ve c, beta-karoten , fukoksantin, peridinin, neoperidinin, dinoksantin, neodinoksantin ve diatoksantini içeren çeşitli ksantofil pigmentlerini içerir. Histonları yoktur. Besin rezervleri nişasta ve yağdır. Teka veya hücre duvarı mevcutsa selülozdan oluşmaktadır. Pirenoidleri ve benekleri de olabilir. Kromozomları genelde nukleus zarına bağlıdır ve zar mitoz esnasında bozulmadan kalır. Tipik olarak tek hücreli, serbest yüzen biflagellatlardır. Çoğu fotosentetik, bazıları saprofitik, simbiyotik veya holozoik olarak yaşarlar. Hareketli hücrelerin kamçıları bağımsız vuruş modelleri nedeniyle oldukça ayırt edicidir. Bölünmek suretiyle aseksüel ürerler. Seksüel üreme çok nadir rapor edilmiştir (**Şekil 13**).



Şekil 13. *Gonyaulax fragilis*'in farklı mikroskopik tekniklerle elde edilen görüntüleri

2.3. Biyodeneyleerde yapılan ölçüm ve analizler

Analizler fitoplanktonun gelişim eğrisine denk gelecek şekilde ilk 5-7 gün arası hemen hemen hergün daha sonraki günlerde 10., 14., 20. , 25. ve 30. günlerde veya kültürlerde meydana gelmeye başlayan ve gözle izlenebilen bir takım değişiklerin gözlenmeye başladığı anda yapılmıştır. Tasarlanan deney setleri için 3 şekilde ölçüm ve analiz metodu uygulanmıştır.

2.3.1 Mikroskopta direkt hücre sayımı

Her gün aynı saatte aynı deney tüplerine iyice çalkalanmış süspansiyon numunenin her birinden 5'er ml alınıp içine 50 µl formaldehit ilave edilerek hücreler fikse edilmiştir. Daha sonra da ışık mikroskobu altında Neubauer sayım kamerası kullanılarak doğrudan sayım yapılmış ve milimetredeki hücre adedi hesaplanmıştır (AWWA, WPCF, 1989).

2.3.2 Klorofil-a ölçümü

- **Direkt süspansiyonda ölçüm**

Klorofillerin floresan özelliklerinin yalnız ekstraktlarda değil, yaşayan hücrelerde de olması su örneklerinde direkt ölçüm yapılabilmesine olanak sağlar. Bu ölçüm sonucu “in vivo” floresan olarak adlandırılır. Bu özelliği ile fitoplankton türleri içeren örneklerin floresan şiddetleri (rölatif olarak) hiçbir ön işleme tabi tutulmaksızın floresan spektrofotometresinde emisyon (emilme) dalga boyu=663, Eksitasyon (uyarılma) dalga boyu= 430'da okunmuştur.

- **Ekstraksiyon metodu**

Biyodenej kaplarından belirlenen günlerde alınan 50 ml hacminde su örnekleri GF/F (glass-fiber) filitre kağıdından süzülerek aseton ekstraksiyon metoduna göre analiz edilerek klorofil-a miktarı belirlenmiştir. Örnekler, 750, 663, 645, 630 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur. 750 nm'de okunan değer düzeltme değeri olup, bulanıklıktan meydana gelebilecek hataların giderilebilmesi için, bu dalga boyunda okunan değer, diğer okunan değerlerden çıkarılmıştır. Sonuçlar mg/m³ klorofil-a olarak hesaplanmıştır (APHA, AWWA, WPCF, 1989).

2.3.3 Kimyasal analizler

2.3.3.1. Deniz suyunda ve laboratuvar deneylerinde besin elementlerinin analizi

Besin elementleri tayini (nitrat+nitrit azotu, amonyum azotu, fosfat, silikat) iki kanallı Skalar marka otoanalizör kullanılarak yapılmıştır. Strickland ve Parsons (1972), Grosshoff vd. (1983), Standard Methods (APHA, AWWA, WPCF) 1989, ASTM, 1990 'de tanımlanmış bu analizler kolorimetrik olarak ölçülmüştür.

Tüm deney setlerinde GF/F filtreden süzölmüş deniz-deney suyunda ölçömler yapılmış, ölçüm süresine kadar örnekler -20 C 'de saklanmışlardır.

2.3.3.2. Deniz suyunda ve laboratuvar deneylerinde çözönmüş organik karbon ölçömleri

ÇOK ölçömleri Deniz ve İşsular Laboratuvarında bulunan Elementar marka TOC analizörü ile gerçekleştirilmiştir. Proje döneminde iki kez uluslararası interkalibrasyon çalışmasına katılmıştır. Bunlar, 2009 yılında Exercise 824 – R56 ve Exercise 853 – R58 QUASIMEME testleridir ve sonuçları Rapor 3-Ek 2'de verilmiştir. Alınan sonuçlar tam olarak güvenilir aralıklardadır.

Tüm deney setlerinde, hücre sayımı, floresan ölçömleri yapılan günlerde 25 mm GF/F filitre kullanılarak süzölen suda yüksek sıcaklıkta oksidasyon yöntemi ile ÇOK analizleri yapılmıştır. Deneyler sırasında toplanan örnekler analize kadar -20 C'de dondurularak korunmuşlardır.

2.3.3.3 Laboratuvar deneylerinde çözönmüş ve partiköl maddede karbonhidrat ölçümü

Süzölmüş deniz suyunda karbonhidrat ölçümü hidroliz yönteminin kullanıldığı Myklestad (1997)'e göre yapılmıştır. Partiköl madde için de bazı ön işlemler sonrasında aynı yöntem kullanılmıştır. Bu analizlere ait işlemler EK-3'te verilmiştir.

2.3.3.4 Laboratuvar deneylerinde çözönmüş ve partiköl maddede protein ölçümü

Yönteme ilişkin denemeler proje kapsamında gerçekleştirilmiş ve EK-3'de sunulmuştur. Ancak deney hacimlerinin düşük ve deneylerin kesikli (batch) olması sebepleri ile yeterli miktarda örnek toplanamaması ölçölecek parametrelerde önceliklendirme yapılmasını zorunlu kılmıştır. Bu sebeple, deneylerde protein takibi yapılmamıştır.

2.3.3.5 Partikül maddede C ve N ölçümleri

Deneylerde filtre kağıdı üzerinde toplanan malzemede organik C ve N ölçümleri Deniz ve İç Sular laboratuvarında bulunan Thermofinnigan CHN Element analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Ancak analizler örnek yetersizliğinden (her örneklemede tek bir filtre toplanması ve bu filtrenin farklı parametreler için ihtiyaca yönelik kullanılması) dolayı rutin olarak yapılamamıştır.

Analizler öncesinde, düşük sıcaklıkta kurutulan filtreler konsantre HCl buharında 2 saat desikatör içinde tutularak, inorganik karbondan arındırılmış daha sonra tekrar kurutularak analiz edilmişlerdir.

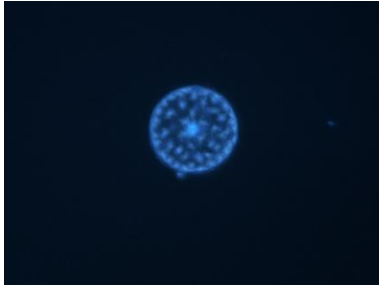
2.4. Kullanılan mikroskopik teknikler

2.4.1. Ters faz kontrast mikroskopu ve epifloresan ataçmanı

Proje kapsamında yapılan mikroskopik incelemelerin tümünde (hücre etki deneylerinde, haftalık zaman serisi istasyonda fitoplankton tür teşhisi ve hücre sayımlarında) Deniz ve İç Sular Laboratuvarında bulunan NIKON TE 2000 marka ters (inverted) faz kontrast mikroskopu kullanılmıştır. Tür teşhislerinin yapılabilmesi amacı ile proje kapsamında epifloresan ataçmanı alınmıştır. Ters faz kontrast mikroskobuna takılan epifloresan ataçmanı ile invert mikroskop epifloresan mikroskop olarak da kullanılmıştır.

Dinoflagellat hücrelerinin epifloresan mikroskop altında incelenmesi esnasında hücrelerin direk sayım kamarası üzerine tüp içinde sulandırılmış Calcofluor boyası kullanılarak boyanması sağlanmıştır (Fritz and Triemer, 1985).

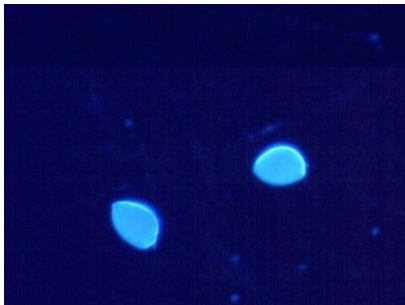
Proje kapsamında hedef türlerin İzmit Körfezi'nden izolasyonu sırasında deniz suyunda hedef tür takibi için sayısız incelemeler yapılmıştır. Ayrıca zaman serisi istasyonda 45 kez fitoplankton örnekleme yapılmış ve bunların tür teşhisleri ve hücre sayımları epifloresan mikroskop ile yapılarak bazı türlerin teşhisi için zaman zaman görüntülerin fotoğrafları çekilmiştir. Ayrıca musilaj zamanlarında musilaj agregat incelemeleri de epifloresan ile yapılmıştır.



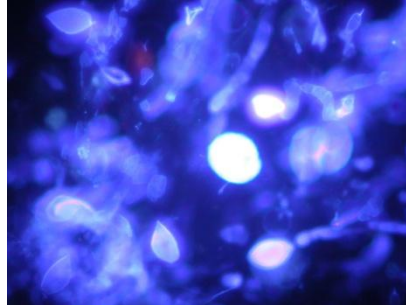
Diatom hücresi (Thalassiosira sp.)



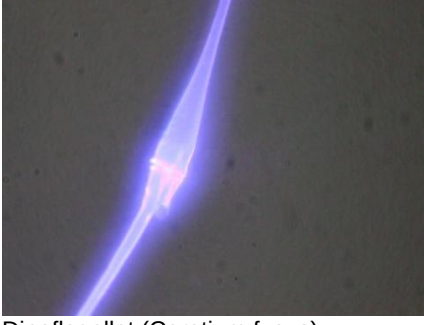
Dinoflagellat (Gonyaulax fragilis)



Dinoflagellat (P. micans)



Agregat içindeki türler



Dinoflagellat (Ceratum fusus)

2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Bazı örnekler JEOL/JSM-6335F (Taramalı Elektron Mikroskobu) kullanılarak MAM- Malzeme Enstitüsü Laboratuvarlarında incelenmiştir.

Dinoflagellat hücrelerinin SEM mikroskopta incelemelerinde dinoflagellat hücreleri öncelikle tekalarının üzerindeki tuz kalıntısından arındırılmak üzere birkaç kez su ile yıkanıp düşük devirde santrifüjle çöktürülmesi sağlanmıştır. Daha sonra dehidrasyonun hızlı olması ve organik içeriklerinden arındırılması amacıyla seyreltik etanol ile yıkanarak küçük cam plakalar (lameller) üzerinde hava ile temasla kurutulmuştur. Lamellerle birlikte alüminyum stuplara yerleştirilerek üzerleri, Sputter kaplama cihazında, elektroliz yöntemiyle altın plaka ile kaplanmış ve daha sonra örnekler JEOL/JSM-6335F (Taramalı Elektron Mikroskobu) kullanılarak incelenmiştir (Taylor, 1978)

Görüntü örneklerinden *G. fragilis*'e ait olan bir tanesi Şekil 5'te yer almaktadır.

2.5 Musilaj/topaklar üzerinde yapılan incelemeler

Marmara Denizi'nde oluşan musilaj dönemlerinde toplanan malzeme ile laboratuvar koşullarında etki deneyleri sırasında ve gene laboratuvar koşullarında bekletilen deniz suyunda biriken malzemede benzer incelemeler yapılmıştır. Bu incelemelerden özellikle kimyasal içeriğe yönelik olanları oldukça aydınlatıcı nitelikte olmuştur. Bunun yanısıra, bu malzemeler mikroskopik teknikler ile de incelenmiştir.

2.5.1 Malzemenin toplanması, ön işlemler ve analizlere hazırlanması

Kaygan yapıdaki ve su içeriği yoğun olan topakların örnekleme, ortamdan ayrıştırılması, tuzundan arındırılması ve kurutulması aşamalarının detayları EK-3 de verilmiş ve tüm çalışmalarda ön işlemler için kılavuz niteliğinde kullanılmıştır.

2.5.2 Malzemenin kimyasal içeriğinin incelenmesi

2.5.2.1. Frouier Transform Infra Red Spektroskopisi

FTIR Spektrofotometrik yöntemi, müsilağ örneklerinin kimsayağ içeriklerinin niteliksel olarak tanımlanmasına yönelik olarak kullanılmıştır. Bu analizler, MAM, Kimya Enstitüsü laboratuvarlarında Perkin Elmer Spectrum One FTIR cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

2.5.2.2. Organik C, N yüzdeleri

Ultrafiltrasyon ile tuzundan arındırılan ve FD de kurutulan (EK 3) müsilağ örnekleri ayrıca asit buharına tutularak inorganik karbondan arındırılmaya çalışılmış ancak tuzdan arındırma işleminin büyük oranda inorganik karbon kaynağından kurtulmayı da sağladığı görülmüştür. Asitlemenin organik azot kaybına da yol açtığı bilindiğinden UF ile tuzsuzlaştırılan örneklerin asit buharına tutulmasına gerek görülmemiştir. Analizler CHN element analizörü ile gerçekleştirilmiştir.

2.6. Saha çalışmaları

2.6.1 Yerinde ölçümler

Sıcaklık ölçümü yerinde, YSI Model CTD probunun sıcaklık sensörü ile gerçekleştirilmiştir. İletkenlik ve tuzluluk ölçümü yerinde, YSI Model CTD probunun iletkenlik sensörü ile yapılmıştır. Işık geçirgenliğinin bir fonksiyonu olan seki disk derinliği (görünürlüğü) 20 cm çapındaki siyah-beyaz boyalı disk yardımıyla gözden kaybolduğu derinlik olarak ölçülmüştür .

pH yerinde YSI Model CTD probunun pH sensörü ile ölçülmüştür. Su örneklerinin çözünmüş oksijen içeriği Iodometrik Winkler test metoduyla laboratuvarında ölçülmüştür.

2.6.2 Fitoplankton

Plankton örnekleri yüzeyden (0,5 m) 1L deniz suyu örneği alınarak gerçekleştirildi. Organizmaların fizyolojik aktivitelerini durdurmak amacıyla alınan deniz suyu içine organizma yoğunluğuna bağlı olarak 2-3 ml % 4 lük formaldehit solüsyonu ilave edilerek örnekler tespit edildi (Thorondsen, 1978). Daha sonra örnekler Utermol tekniğine (Utermöhl,1931) uygun olarak 1-2 gün çökelmeye bırakıldı. Bunların üzerindeki su sifonlama yöntemiyle az miktarda örnek (10-15 ml) konsantre oluncaya kadar fazla boşaltıldı (Sukhanova, 1978). Konsantre edilen örnekler sayım anına kadar oda sıcaklığında karanlıkta saklandı. Örnekler daha sonra ters (inverted) mikroskop altında Sedgwick-Rafter sayım kamerası kullanılarak sayıldı (Semina 1978; Guillard, 1981).

2.6.3 Sınırlayıcı besin Elementi Biyodeney çalışması

Fitoplankton üretimini sınırlayan besin element(leri)' nin bulunabilmesi amacı ile Körfez'de belirlenen noktalardan (İç Körfez-Doğu, Orta Körfez ve Dış-Batı Körfez) alınan yüzey deniz suyu örneklerine besin elementleri (azot, fosfor, silikat ve eser metaller) tek tek ve çeşitli kombinasyonlar halinde ilave edilerek, fitoplankton üremesini sınırlayan besin elementi TÜBİTAK-MAM laboratuvarlarında sıcaklık ve ışık kontrollü odada gerçekleştirilmiştir. Doğal ortam fitoplanktonunun eklenen besin elementlerine tepkileri (fotosentez hızları) ¹⁴C izotopu kullanım hızı biyo-deney tekniği kullanılarak belirlenmiştir (Maestrini vd., 1984). ¹⁴C kullanım hızları her set için başlangıç (t₀), anından itibaren 18. saat (t₂) sonunda alınan örneklerde ölçülmüştür. Eklenen besin elementlerinin fitoplankton çoğalmasını sınırlama dereceleri, kontrol numunesine (hiçbir elementin ilave edilmediği) göre göreceli olarak değerlendirilerek bulunmuştur.

3. BULGULAR ve DEĞERLENDİRME

3.1. Meteorolojik verilerin olayın oluşmasındaki etkisinin incelenmesi

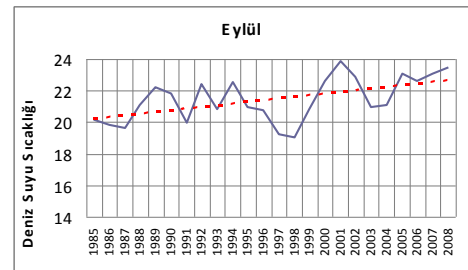
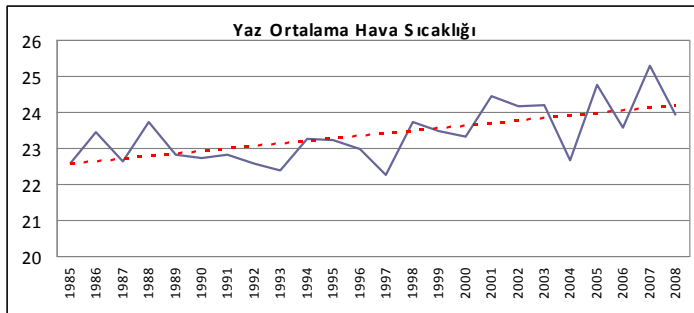
Musilaj olaylarının meteorolojik koşullarla ilişkilendirilmesi gerekliliği konu ile ilgili ilk literatür incelemelerinde anlaşılmıştır. MAM tarafından yapılan ilk araştırmaların sonuçları Kocaeli Büyükşehir Belediyesine sunulmuş (Mart 2008) ve bu rapor Proje 1. Ara Rapor Ek-1 de verilmişti. Uzun dönemli hava sıcaklığındaki (Tablo 4) değişimleri 2007-musilaj döneminin son 30 yılın en sıcak yaz-sonbahar dönemi olduğunu işaret etmektedir.

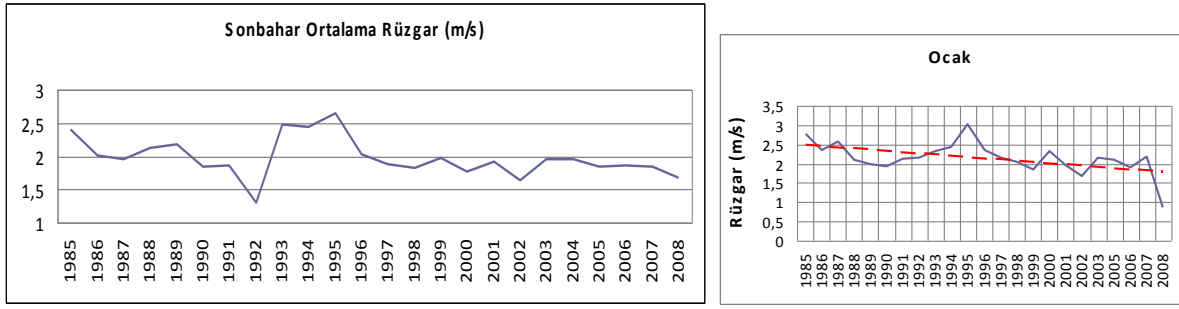
Tablo 4. 1975-2007 arasında Ağustos-Ekim aylarına ait hava sıcaklığı değişimleri (DMGM web)

	1975-2006	2000-2007	2007
Ağustos	23.3	24.8	26.0
Eylül	20.1	20.8	21.4
Ekim	15.8	16.5	17.0

Meteorolojik verilerin daha detaylı olarak incelenmesi 2. Ara Rapor döneminde, Devlet Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Türkiye Meteorolojik Veri Arşiv Sistemi (TÜMAS) kapsamında veri tabanında yer alan, hava sıcaklığı, rüzgar hızı, deniz suyu sıcaklığı, yağmur parametrelerinin günlük ortalama değerleri ve günlük toplam yağış değerleri klimatolojik değişimleri analiz edilmiş, bunun için İzmit Körfezi ve Marmara Denizi meteoroloji gözlem istasyonlarına ait yaklaşık 29 yıllık (1985-2008) veri seti kullanılmıştır. İzmit Körfezi kıyılarında yer alan, Kocaeli Merkez, Gebze klima, Gölcük ve Yalova istasyonları ile ek olarak Florya istasyonu verileri kullanılmıştır.

Bu verilerin yıllık, mevsimlik ve aylık değişimleri grafiksel olarak ayrı ayrı 2. Ara Rapor ve ilgili Ek-1'de değerlendirilmiştir. **Şekil 6**, özellikle musilajın ilk gözlemlendiği yıl olan 2007 yılında son otuz yılın en sıcak yaz döneminin gözlemlendiğini, diğer sonbahar aylarına benzer olarak Eylül ayı deniz suyu sıcaklıklarının 1985'den bu yana giderek arttığını vurgulamaktadır. Ayrıca, 2007 ve 2008 sonbahar ayları ile 2008 kış döneminde gözlenen musilaj olayları sırasında oldukça sakin (rüzgarsız) hava koşullarının da olduğu anlaşılmaktadır. Giriş bölümünde de değinildiği gibi benzer ilişkiler DeLazzari vd., 2008; Martin vd, 2010 tarafından da ortaya konmuştur.





Şekil 6. 1985-2008 döneminde DMGM-TUMAS veri kaynağından elde edilen sürekli MET veri değerlendirmelerinde örnekler (Analizlerin tümü 2. Ara Rapor-Ek1'de yer almaktadır)

Aylık toplam yağmur değerleri Mart ayında artan bir eğilim gösterirken Ekim ayında düşen bir eğilim izlemektedir. Bütün bu bulgular bölgemizde iklimsel değişim eğilimleri olduğunu işaret etmektedir. Benzer değerlendirmeler, musilaj oluşumları ile ilişkilendirilerek Adriyatik Denizi için yapılmıştır (Danavaro vd. 2009). Bu çalışmada da incelenen 30 yıllık veri setleri 2006-2007 yılının Adriyatik'te son 30 yılın en sıcak kış dönemi olduğunu ve aynı yıl tüm kıyılar boyunca yoğun musilaj oluşumları meydana geldiği belirtilmiştir. Ayrıca, IPCC (2007) raporuna dayandırılarak, Akdeniz'in giderek ısındığı ve buna bağlı olarak musilaj olaylarının sıklıklarının oligotrofik bölgelerde bile artacağı savlanmıştır.

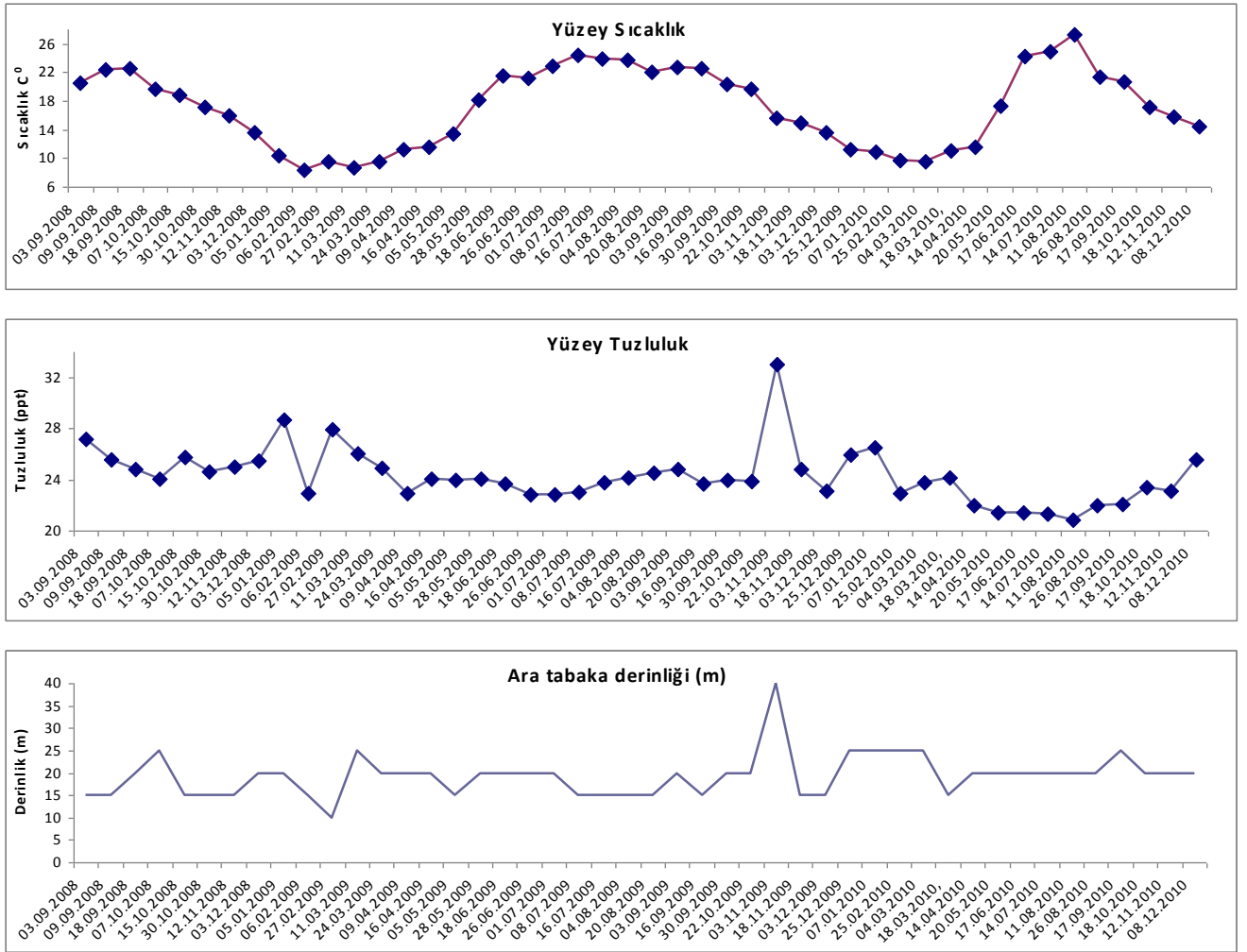
Bu bulgular, musilaj oluşumlarının bazı meteorolojik indikatörlerinin (uyaranlarının) olduğunu düşündürmektedir.

3.2 Proje paralelinde yürütülen saha çalışmaları

3.2.1 İzmit Körfezi oşinografik koşulları

Giriş bölümünde de değinildiği gibi ortamın oşinografik özellikleri; özellikle yoğunluk farklılıklarının olduğu kesitlerin varlığı ve kesitlerin yıl içinde hareketlilikleri musilaj oluşumlarını tetikleyen faktörler olabilmektedir. Bu nedenle öncelikle üst tabaka kalınlığındaki değişimlerin önemli olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, üst tabaka tuzluluğunun arttığı dönemlerde karışımın etkisi ile üst suya “yeni planktonik” üretime neden olabilecek besin elementlerinin de taşındığı ve bu yolla daha fazla organik madde üretimi olacağı savlanabilir.

Proje amaçlı Eylül 2008'de başlatılan MAM-önü ölçüm istasyonunda (27,720'E) sık aralıklı (1-3 hafta) toplam 46 deniz çalışması yapılmıştır. **Şekil 7** bu çalışmada elde edilen tuzluluk ve sıcaklık yüzey değişimleri ile ara tabaka derinliklerini göstermektedir. 3. musilaj dönemini olan Eylül-Ekim 2008 tuzluluk değerine baktığımızda Eylül ayı başında yüzey suyunun tuzluluğunun oldukça fazla olduğu görülmektedir. Bu da alt sudan besin maddesi taşınımını artırarak birincil üretimin artmasına ve ortamın özellikle azotlu bileşilerle zenginleşerek sıcaklık faktörünün de etkisiyle dinoflagellatların çoğalmasına neden olmuştur (Şekil 12, 13). Benzer bir etki, 4. Musilaj olayının geliştiği Aralık 2009-Ocak 2010 dönemi için söylemek mümkündür. Kasım 2009 başında artan yüzey tuzluluğu ile beraber artan besin miktarı, özellikle diatomların çoğalmasına sebep olmuş, hemen ardından da tekrar zenginleşen (Ocak 2010, Ediger vd. 2010) yüzey suları dinoflagellatların baskın hale geçmesine sebep olmuştur (Şekil 12, 13). Musilaj başlangıcına veya kütleli olarak birikimine neden olabilecek ara tabaka derinliği çalışma dönemi boyunca 10-40 m arasında değişmiştir (ortama yaklaşık olarak 20 m). 3. ve 4. musilaj dönemlerinde bu derinliğin ortalamanın üstünde seyrettiği gözükmektedir.



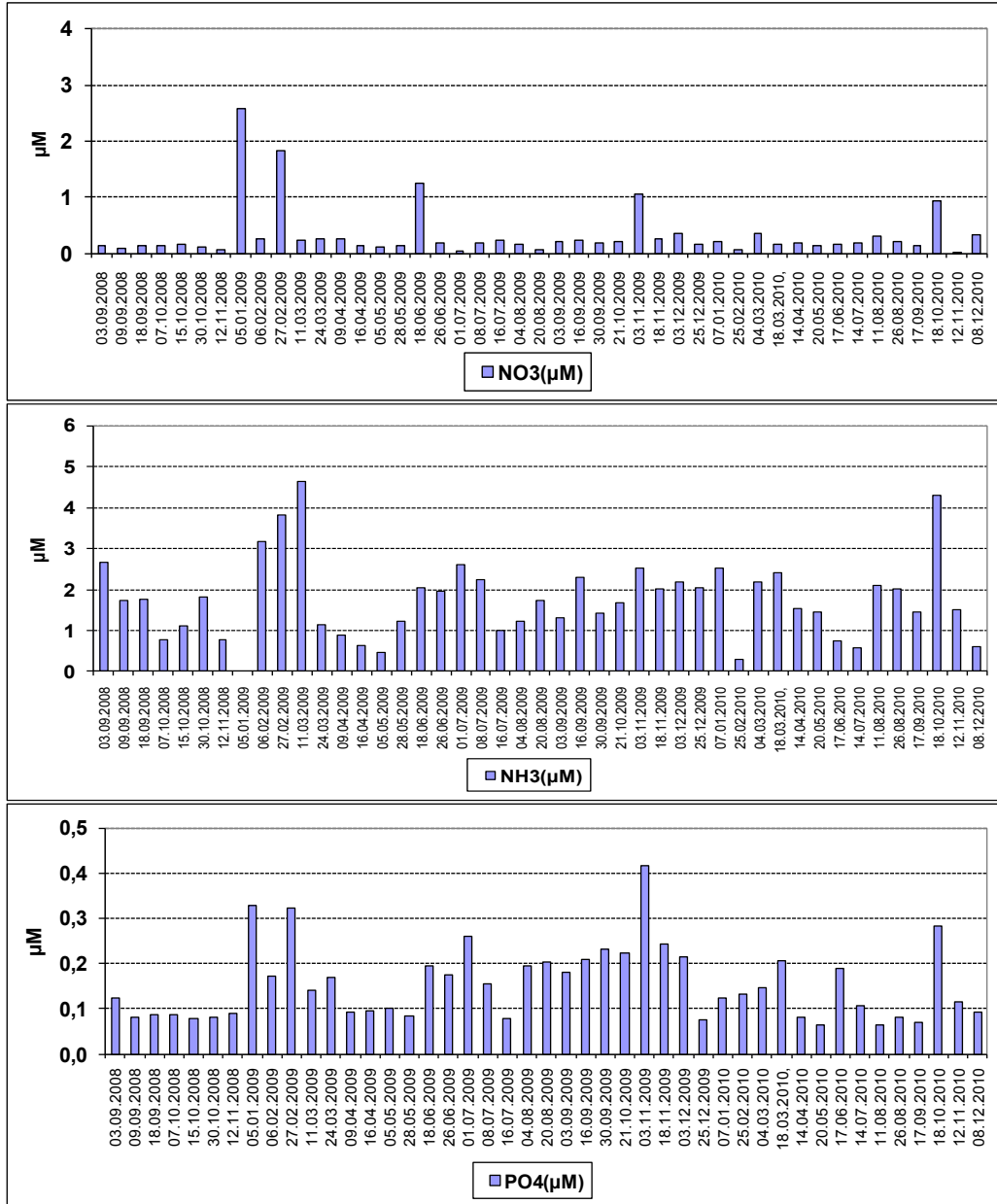
Şekil 7. MAM önü ölçüm/örnekleme istasyonunda yüzey tuzluluk, sıcaklık ve ara tabaka derinliği değişimleri

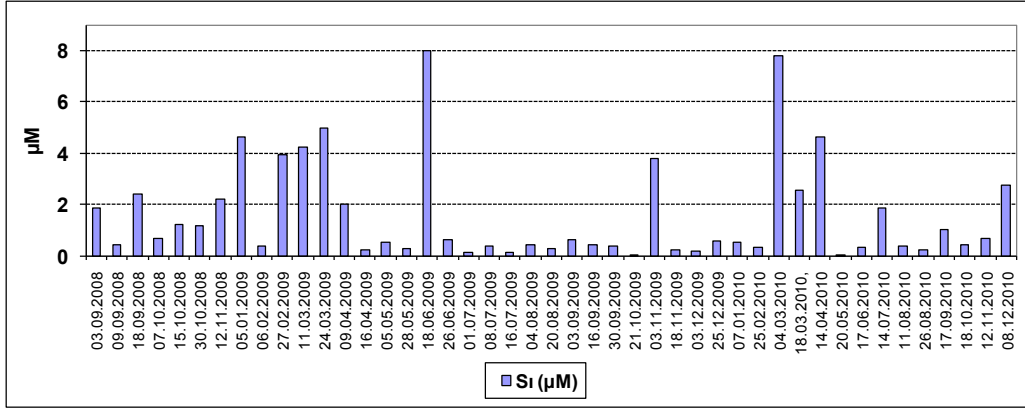
3.2.2 Ortamın su kalitesindeki durum

3.2.2.1 Besin tuzlarındaki değişim

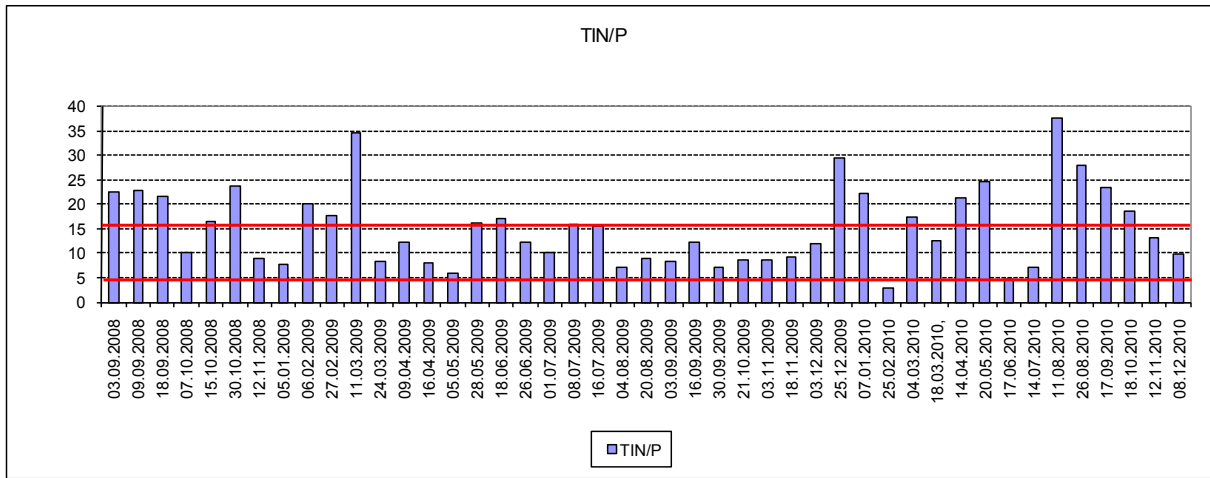
Besin tuzlarının değişimi **Şekil 8'**de gösterilmiştir. Ortalama 0,33 μM olan **Nitrat+nitrit**-azotunun kış, sonbahar ve yaz mevsimlerinde birer ölçüm haricinde genellikle aynı seviyelerde seyrettiği görülmüştür. En düşük değer yazın 0,02 μM ile 12/11/2010 ölçüm zamanında bulunurken, en yüksek değer kış ayında 2,7 μM olarak 05/01/2009 ölçüm zamanında tespit edilmiştir. 18/10/2010 tarihinde fitoplanktonun yüksek seviyelere ulaşması ortamdaki besinin tükenmesine neden olmuştur. **Amonyum** azotunda ise nitrat azotuna göre farklılıklar gözlenmiştir. Ortalamanın 1,8 μM olduğu amonyum azotunda özellikle evsel girdilerle ortamda konsantrasyonu yükselen amonyum azotunda aynı zamanlara denk gelmemekle beraber sistemli bir artış ve azalış gözlenmiştir. En yüksek 4,64 μM bulunurken en düşük 0,28 μM amonyum azotu ölçülmüştür. En düşük seviyenin ölçüldüğü ve toplam inorganik azotun orta fosfata oranının (**Şekli 9**) en düşük seviyede olduğu Şubat 2010 dönemi, Aralık 2009-Ocak 2010 4. musilaj dönemi ve yoğun *G. fragilis* üreme dönemini göstermesi açısından ilginçtir. **Orto-fosfat** diğer besin tuzlarına göre oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunan bir besin tuzudur. Fosfat konsantrasyonu 15 aylık bir periyotta 0,08-0,42 μM arasında seyretmiştir. Ortalamanın 0,15 μM olduğu fosfatta kış aylarında özellikle

Ocak, Şubat ve Kasım aylarında yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. **Silikat** kış aylarında özellikle yüzeysel sularda yağışların etkisiyle karasal sürüklenmelerle konsantrasyonları genellikle yüksek bulunmaktadır. Yaz ve sonbahar mevsimlerinde ise konsantrasyonları oldukça düşük seviyelere düşmektedir. Zaman serisi örnekleme istasyonunda Si 0,02-8,1 μM arasında değişim göstermiştir.





Şekil 8. Örnekleme yapılan tarihlerde besin tuzlarının (NO₃+NO₂-N, NH₄-N, o-PO₄ ve Si) değişimi



Şekil 9. MAM önü istasyonunda TIN/P oranı

TIN/P oranının 2-37 arasında değişim gösterdiği yaz mevsimi hariç genelde oranların yüksek olması genelde P'nin sınırlayıcı element olduğunu göstermektedir (Şekil 9). Yapılan biyodeneysel çalışmaları sonucunda da dış ve orta körfezde Eylül-Ekim aylarında genellikle fosfatın, yaz aylarında ise N'un bazı durumlarda N ve P'nin birlikte ilavelerinde sınırlayıcı olduğu tespit edilmiştir. Doğal su ortamlarında Redfield (1963) oranı olarak bilinen N/P oranı sularda 16/1 (atomik ağırlık) oranlarında bulunur. Fitoplankton çoğalması sırasında sulardaki besin elementleri bu oranlarda kullanılır. Alıcı ortama giren azot, fosfor, ve karbon bileşiklerinin ne kadarının fitoplankton gelişiminde rol oynayacağı ve buna bağlı olarak ötrofikasyon probleminin önlenmesi sınırlayıcı besin elementinin tespiti ile mümkündür. Sucul ortamlarda azot ve fosforun hangisinin sınırlayıcı olduğu hakkında kesin bir sayı olmamakla birlikte N/P 5 olduğunda N ve P birlikte sınırlayıcı, N/P < 5 olduğu durumlarda N'nin sınırlayıcı besin elementi olduğu yani azot kontrollü sistemleri yansıttığı, N/P > 16 olduğunda ise P'nin sınırlayıcı besin elementi olduğu yani P kontrollü sistemleri yansıttığı bilinmektedir (Coveney vd., 1995). Havens vd. (2003) nin yaptığı çalışmada düşük N/P oranının mavi-yeşil alglerin aşırı üreme gösterdiği dönemlerde olduğunu ve bu dönemlerde bu türler tarafından azot fiksasyonunun fazla olduğu belirlenmiştir.

3.2.2.2 Seki disk görünürlüğü ve klorofil-a

Su kolonunda ışık geçirgenliğinin bir fonksiyonu olan seki disk derinliği (görünürlüğü) 30 cm çapındaki beyaz boyalı disk yardımıyla gözden kaybolduğu derinlik olarak ölçülmüştür. Ölçüm ve örnekleme zamanlarında seki disk görünürlüğü 2,25-11 m arasında değiştiği tespit edilmiştir. En yüksek ölçüm derinlikleri Eylül aylarında

(Eylül 2009 ve Eylül 2010) en düşük seki disk ölçümleri ise Haziran ve Temmuz aylarında tespit edilmiştir (**Şekil 10**).



Şekil 10. MAM önü istasyonunda Seki Disk ve klorofil-a'nın değişimi

Denizlerde besin zincirinin ilk basamağında bulunan mikroskobik fitoplanktonik tek hücreli mikroorganizmaların biyokütle göstergesi olan klorofil-a diğer parametrelerde olduğu gibi 2008-2010 arasında düzenli olarak ölçülmüştür. Fitoplankton aktivitesinin bir göstergesi olan klorofil-a düzeyinde de seki disk görünürlüğününe benzer periyodik değişimlerin olduğu görülmektedir. Yüzey suyu klorofil-a değişimi $2,68-7,77 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında değişmiştir (**Şekil 10**). Yaz aylarında genellikle düşük değerler gözlenirken fitoplanktonun artış yaptığı dönemlerde yüksek değerler gözlenmiştir.

3.2.2.3. Fitoplankton yoğunluğundaki değişimler

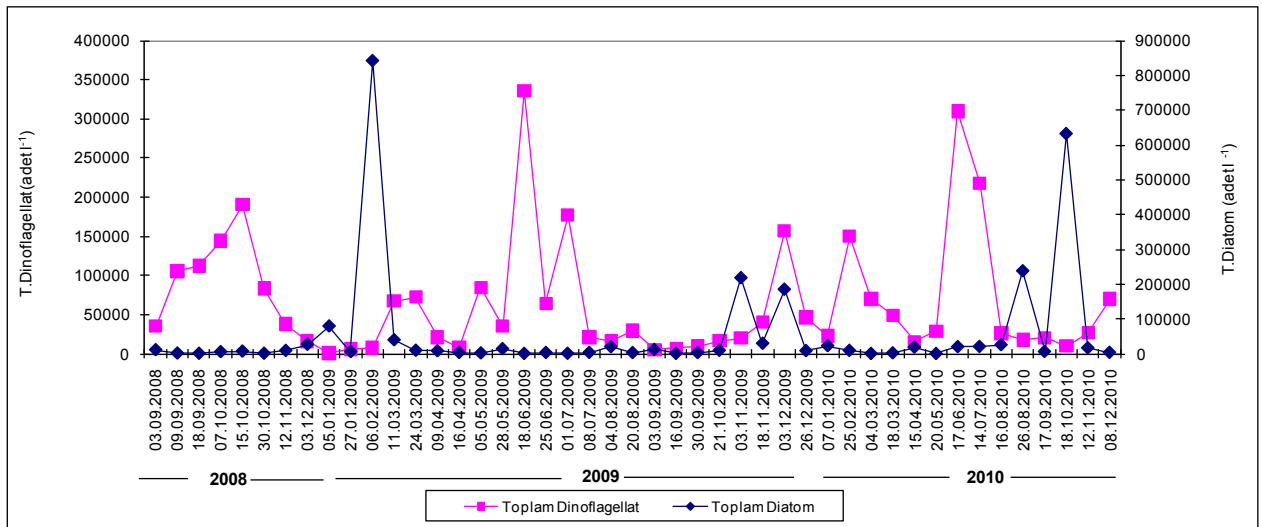
Eylül 2008-Aralık 2010 arasında yapılan TÜBİTAK-MAM açıklarında yüzey suyu yapılarındaki 45 örnekleme sonucunda fitoplankton kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Tespit edilen türler ve bu türlere ait kantitatif bulgular ve türlerin toplam fitoplankton içerisinde bulunma oranları **EK 4**'de verilmiştir.



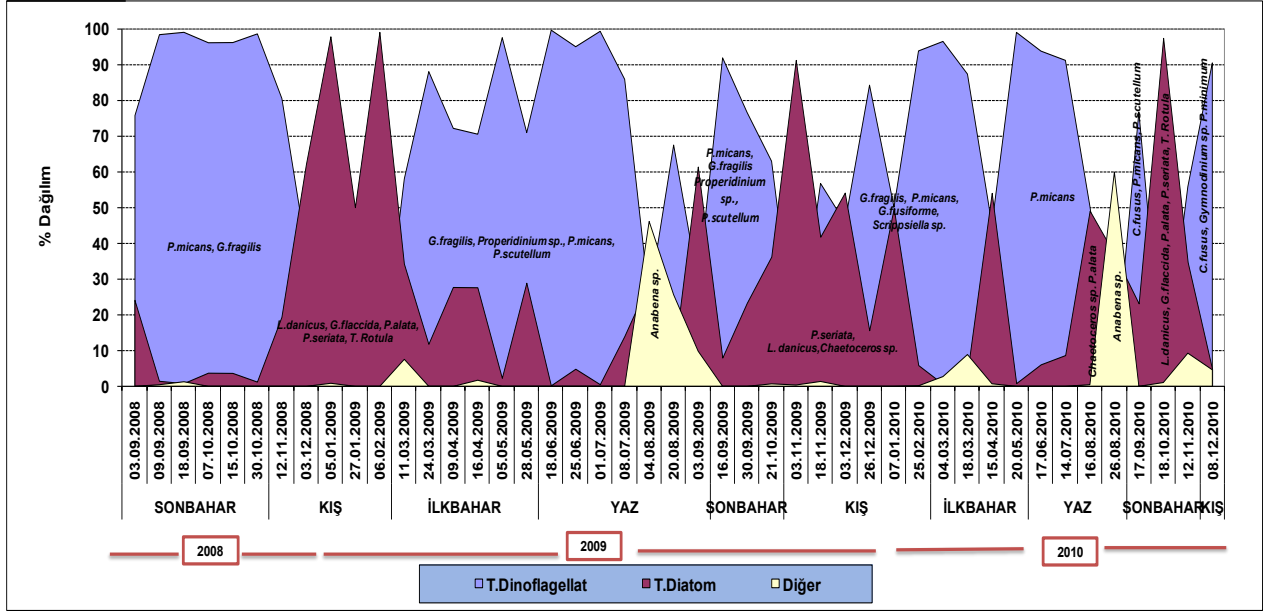
Şekil 11. Türlerin taksonomik gruplara göre dağılımı

Zaman serisi örnekleme noktasında Eylül 2008-Aralık 2010 örnekleme döneminde 5 taksonomik fitoplanktonik organizmasından 46 genus'a ait toplam 92 species (tür) tayin edilmiştir. Bu taksonomik gruplar içinde kalitatif bazda (tür çeşitliliği bakımından) genel olarak en zengin gruplar sırasıyla % 61 oran ile Dinophyceae, % 34 oran ile Bacillariophyceae, % 3 oran ile Dictyochophyceae, %1 ile Euglenophyceae ve Cyanophyceae grupları olmuştur (Şekil 11).

Zaman serisi değişimde fitoplanktonun 06.02.2009 tarihinde 840.000 adet L^{-1} ile en yüksek hücre sayısını gösterdiği ve %99 oranla diatom baskınlığı gözlenmiştir. Şubat ayında diatomun maks. pik yaptığı 06/02/2009 ölçüm zamanında *Pseudo-nitzschia*'nın toplam fitoplanktonun %97'sini (823200 adet L^{-1}) oluşturduğu bulunmuştur. Fitoplanktonda 2009'daki diğer yüksek birey sayıları 18/06/2009 (335.000 adet L^{-1}) ve 03/12/2009 (341.000 adet L^{-1}) örnekleme zamanlarında tespit edilmiştir. Haziran ve Temmuz aylarında baskın grup dinoflagellat türleri olurken Kasım sonu ile Aralık ayı örnekleme zamanlarında diatom ve dinoflagellat türleri aynı oranlarda üreme göstermişlerdir (Şekil 12 a). Dinoflagellatların baskın olduğu dönemlerde en yaygın görülen türler arasında *G.fragilis*, *Properidinium sp.*, *P.micans*, *P.scutellum* yer alırken diatomların baskın olduğu dönemlerde ise *P.serriata*, *L. danicus*, *Chaetoceros sp.*, *G.flaccida*, *P.alata*, *T. Rotula* en çok bulunan diatomlardandır. 2009 ve 2010 yılları Ağustos ayı ölçümlerinde Cyanaobakteri grubundan *Anabaena sp.* (04/08/2009, 20/08/2009, 03/09/2009 ve 26/08/2010) yüksek sayılara ulaştığı ve fitoplanktonun sırasıyla %46, %25 %10 ve %62'sini oluşturduğu görülmüştür (Şekil 12 b).



(a)

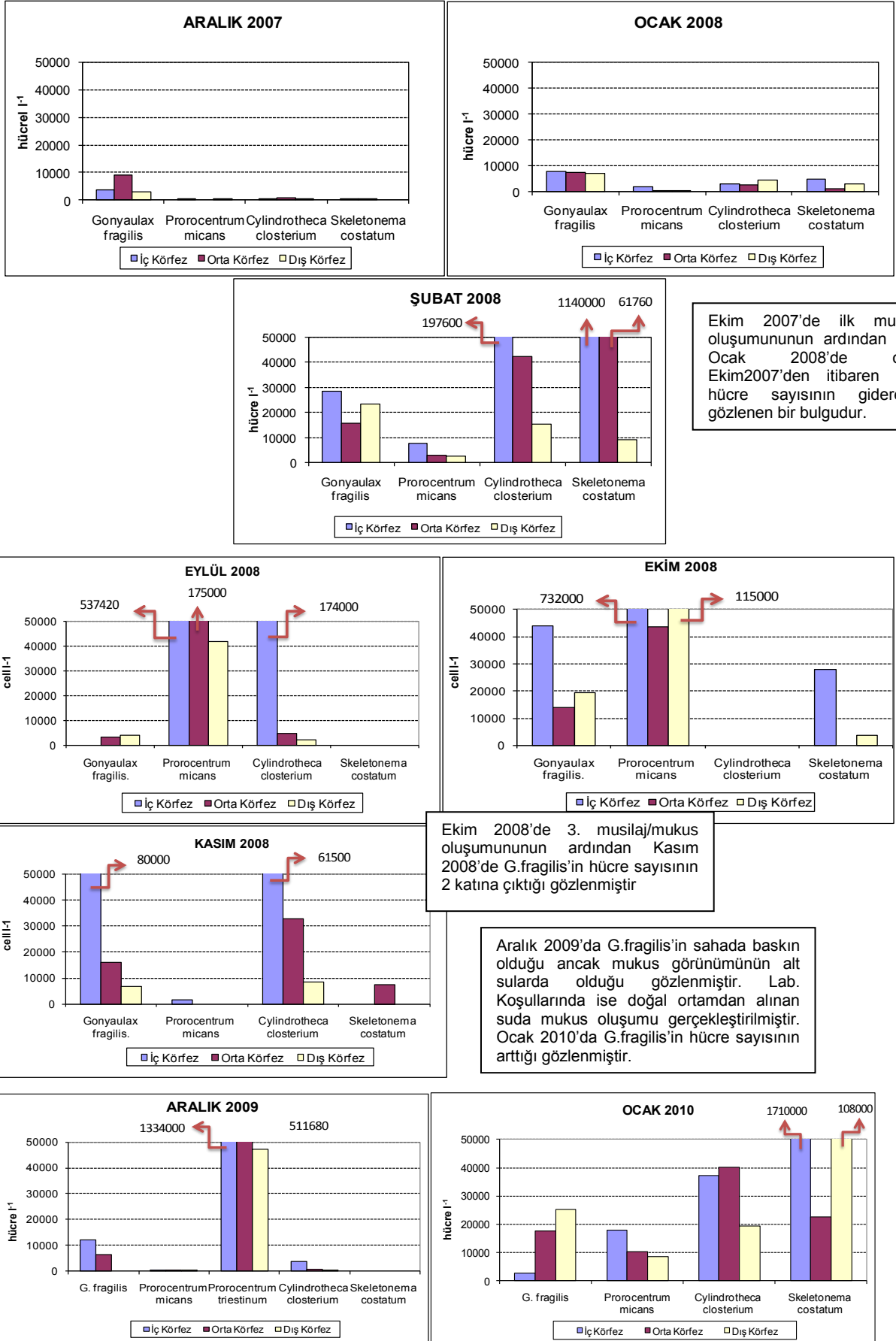


(b)

Şekil 12 . (a) Diatom ve Dinoflagellat gruplarının değişimi ve (b) türlerin mevsimsel dağılımı

2007 yılından beri İzmit Körfezi ve Marmara Denizi'nde 4 büyük musilaj/mukus oluşumu gözlenmiştir. Bunlar; Ekim 2007, Ocak 2008, Eylül-Ekim 2008 ve Aralık 2009-Ocak 2010'dur. 2007 yılından beri fiziksel, kimyasal biyolojik ve meteorolojik koşulların beraber takip edildiği saha çalışmalarında karşılaşılan musilaj/mukus oluşumlarında, dinoflagellates ya bol ya da diatom ile karşılaştırılabilir sayılardaydı. Farklı musilaj/mukus oluşumu zamanlarında çoğunlukla *Gonyaulax fragilis*'in baskın olduğu ancak Eylül-Ekim 2008 dönemindeki oluşumda ise *Prorocentrum micans* (dinoflagellat) ve *Cylindrotheca closterium* (diatom) baskın oldukları gözlenmiştir. Musilaj/mukus oluşumu dönemleri öncesi ve sonrasında gözlenen türler ve baskınlık durumları Şekil 13'de gösterilmiştir.

2007-2008 döneminde İzmit Körfezi'nde jelimsi musilaj oluşumunda *Gonyaulax fragilis*'in Kasım ayının 2. yarısından sonra görülmeye başlamıştır. Ekim 2008 örnekleme zamanında musilajın 2. oluşum gösterdiği dönemde, *Gonyaulax fragilis*'in özellikle Doğu Körfez'de yüzey suyunda 44.000 adet/l hücre konsantrasyonunda olduğu, Kasım 2008'de ise 80.360 adet/l (%40) hücre sayısına ulaştığı tespit edilmiştir. Kasım 2007 yılında musilaj olayının Marmara Denizi ve İzmit Körfezi'nde başladığı dönemde de *G. fragilis*'in büyük katkısı olduğu, İzmit Körfezi'nde Kasım 2007-Ocak 2008 arasında %70-95 oranında bu türün gözlemlendiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Balkıs vd., 2010 ve Tüfekçi vd.,2010.).*Gonyaulax fragilis* hemen hemen tüm zamanlarda hem su kolonunda hem de oluşan agregat (mukus) içinde görülmüştür. Aralık 2009'da saha çalışmalarında *Gonyaulax fragilis*'in ortamda baskın olduğu tespit edilmiş ve bu dönemde yüzeyde gözle çok görülmeyen mukus/musilaj agregatlarının alt suda var olduğu çeşitli kaynaklardan edinilmiştir. Bu dönemde *Gonyaulax fragilis*'in laboratuvar şartlarında bekletildiği kap içerisinde mukus yapının oluştuğu hem gözlemsel (Şekil 14) hem de yapılan kimyasal analizlerle ispatlanmıştır.

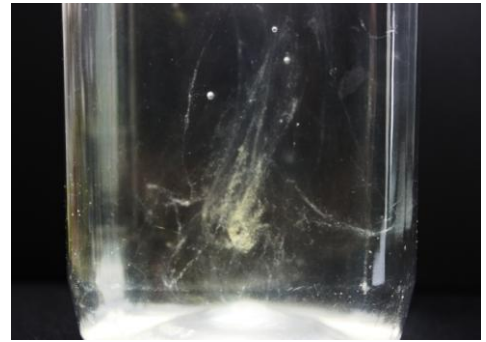
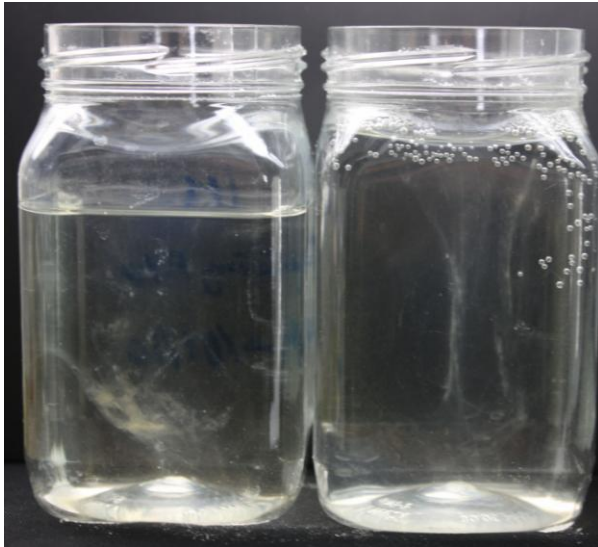


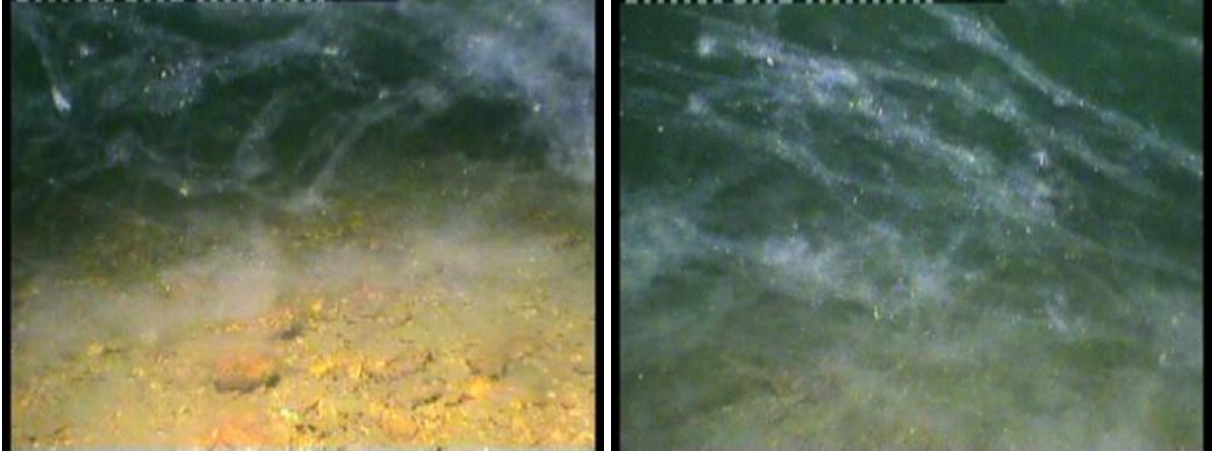
Şekil 13. Musılaj/Mukus oluşumu öncesi ve sonrasında fitoplankton değişimi.

2007-2008 döneminde İzmit Körfezi'nde jelimsi musilaj oluşumunda rol oynayan Dinoflagellat türlerinden olan *Gonyaulax fragilis*'in kasım ayının 2. yarısından sonra görülmeye başlandığı ve İç Körfez'de yaklaşık 14.000 adet/l hücre sayılarına ulaştığı gözlenmiştir. 2008-2009 arasında yapılan çalışmada *Gonyaulax fragilis*'in (Ekim 2008 örnekleme zamanında musilajın 2. oluşum gösterdiği dönemde), özellikle İç Körfez yüzey suyunda 44.000 adet/l hücre yoğunluğunda olduğu, Kasım 2008'de ise 80.360 adet/l (toplam fitoplankton içindeki oranı %40) hücre sayısına ulaştığı tespit edilmiştir. Bu çalışma döneminde ise sayısal olarak daha az görülmüştür. Kasım 2007 yılında musilaj olayının Marmara Denizi ve İzmit Körfezi'nde başladığı dönemde de *G. fragilis*'in büyük katkısı olduğu, İzmit Körfezi'nde Kasım 2007-Ocak 2008 arasında %70-95 oranında bu türün gözlemlendiği yapılan çalışmalarla belirtilmiştir (Tüfekçi vd.,2010, Balkıs vd., 2010).

İzmit Körfezi izleme çalışmalarında elde edilen 2008-2010 verilerinin istatistiksel değerlendirmesi (Spearman rank correlation, $n>250$ veri) sonucunda toplam fitoplankton ve gruplarının üst sudaki tuzluluk, oksijen, besin tuzları ve klorofil-a değişimleri ile güçlü bir ilişki gösterdiği bulunmuştur (Ediger vd., 2010). Aynı yöntemle analiz edilen MAM-önü istasyonu verileri ($n=45$) arasında ise benzer ilişkiler saptanmamıştır. Bunun nedeninin veri sayısının yeterli olmayışı ve sık yapılan ölçümlerdeki salınımların fazla olmasına bağlanmıştır. Bu nedenle, bu tür çalışmaların uzun süreli zaman serisi şeklinde düşünülmesi gereklidir.

Aralık 2009-Ocak 2010 MAM önü çalışmasında örnekleterek laboratuara getirilen örneklerde ilk 7-10 gün içerisinde rastlana bulutsu, ipliksi topaklanmalar ile Ocak 2008'de Erdek'te elde edilen su altı musilaj topakları





Şekil 14. Laboratuvar şartlarında deniz suyu ortamında oluşturulan ve deniz ortamında oluşan musilaj görüntüleri

3.3. Baskılar: İnsan aktiviteleri

Marmara Denizi farklı insan baskıları altında ekosistem bozulmasına maruz kalan bir iç deniz durumundadır. Bu baskılar, Karadeniz girdileri, karasal girdiler (evsel, endüstriyel) ve bölgede denizde yürütülen insan aktiviteleridir (taşımacılık, kazı ve boşaltım işleri vb.)

1990'lı yıllarda yapılan deniz bilimleri ağırlıklı çalışmaların çıktılarında Karadeniz'den taşınan azot, fosfor ve organik madde yükleri Marmara Denizi için en önemli girdiler olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda, ikincil öneme sahip girdiler olarak İstanbul Metropolitan bölgesinden kaynaklanan arıtım seviyeleri yetersiz girdiler ile Marmara Denizi havzalarından taşınan diğer noktasal ve yayılı kaynaklar gösterilmiştir. Bu çalışmalar, tüm Marmara Denizi için geliştirilen tuz ve madde bütçelerinden yola çıkarak hesaplanmıştır (Polat ve Tuğrul, 1995; Tuğrul ve Polat, 1995; Polat-Beken vd., 2000; Okuş vd. 2008).

Marmara Denizi için ikinci önemli baskı unsuru, kıyı bölgelerden denize verilen evsel atıksu girdileridir. Marmara Denizi genelinde evsel atıksu girdilerinin bertarafı için kullanılan yöntem genel olarak birinci seviye (fiziksel) arıtım sonrası derin deniz deşarjı (DDD) şeklindedir. İstanbul ili içinde buna örnek oluşturan kapasitesi en geniş tesisler Kadıköy, Üsküdar, Yenikapı, Beykoz ve Sarıyer atıksu toplama-ön arıtım-deşarj tesisleridir. DDD yapan tesislerden sadece bir tanesinde (Tuzla) biyolojik arıtım mevcuttur. İstanbul genelinde ise sadece üç noktada daha biyolojik arıtım yapılmakta, ileri seviye arıtma ise sadece bir noktada yapılmaktadır. Bu tesis, ne yazık ki Marmara Denizi için de ileri arıtma yapan tek tesis durumundadır. Arıtım yapılan durumda ise, Marmara Denizi genelinde ikincil arıtım daha çok tercih edilen bir durumdur. Örneğin bu durum Kocaeli için tercih edilmiş bir yöntemdir. Ancak bu ilimizde de halen arıtım olmayan ilçe/beldeler mevcuttur (Gebze ve Dilovası gibi). Halen yürümekte olan 106G124 kodlu TARAL 1007 projesi (SINHA) kapsamında farklı kaynaklardan elde edilen bu verilerin detaylı değerlendirmeleri adı geçen proje kapsamında yapılmaktadır. Marmara Denizi genelindeki arıtım ve deşarj operasyonlarındaki yetersizlik ve sorunlar, bu denizimizi ve körfezlerini giderek daha da ötrofik hale getirmekte, fitoplankton yıllık/mevsimlik üreme ve çoğalma periyotlarını etkilemekte ve besin yönünden sürekli değişim gösterebilme özelliği taşıyan girdiler ile bu düzensizlikler ve patlamalar sıkça yaşanmaktadır.

Bunun yanı sıra, tamamen denizde yürütülen bazı faaliyetler sonucunda da ortamın ekstra baskı altına girmesine sebebiyet verilmektedir. Bunun en önemli örneği yapılan kazı çalışmaları (örn. Marmaray Projesi kapsamında yapılan çalışmalar) tonlarca deniz çökelinein tekrar su ortamına karışmasına neden olmaktadır.

3.4. Fitoplankton türleri üzerinde gerçekleştirilen kontrollü- kesikli laboratuvar deneyleri

Tablo 1'de özetlenen kontrollü etki deneylerinden elde edilen detaylı sonuçlar 2., 3., ve 4., Ara Raporlarda sunulmuştur. Burada bu deneylere ait önemi bulunan sonuçlar özet olarak verilecektir. Bu deneylerde düzenli olarak izlenen değişkenler; fitoplankton sayımları, floresans ölçümleri, çözünmüş organik karbon (ÇOK) ve çözünmüş karbon hidrat (CH) ölçümleri (GF/F; 0.7 µm) , besin elementleri (NO₃+NO₂, PO₄, Si)dir. Her bir örnek için toplanan tek filtre kağıdın da ise klorofil-a, partikül organik karbon (POC) ve azot (PON) ile partikül karbonhidrat ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca toplanan malzemeler toplanarak, gerekli ön işlemler sonrası FTIR, ve POC/PON analizlerine tabi tutulmuştur.

Diğer araştırmacılar tarafından sahada ve laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda musilajın kimyasal yapısının daha çok heteropolisakkaritlerden ve lipidlerden oluştuğu (Myklestad, 1995, Kovac vd., 1998, Kovac vd. 2003, Penna vd., 2003.), N/P dengesi bozulmuş ortamlarda bazı fitoplankton türlerinin çok fazla miktarlarda polisakkarit ürettikleri ve ortama salgıladıkları ortaya konmuştur (Pompei 2003, Penna vd. 2003). Sistemdeki denge dışarıdan giren besin maddeleri ile değiştiğinde (örn: çoğalan ırmak girdileri, karasal girdileri veya ortamda rejenere üretimin artması sonucu) algal tür dağılımı ve büyüme hızlarında değişimler olur ve bu canlıların metabolik aktiviteleri fazla organik madde sentezleme ve ortama bu maddelerin salınması şeklinde değişimler gösterir. Bazı denizlerde bu olay tek bir fitoplankton türü (örn *Gonyaulax sp.*) ile ilişkilendirilirken (Mackenzie 2002, Pompei vd 2003, Sampedro vd. 2007) Adriatik denizinde çalışan farklı gruplar daha çok farklı diatom türlerinin musilaj oluşturdıkları üzerinde durmuşlardır (Degobbis 1995, Najdek vd. 2005, vb.). Yeni çalışmalarda daha çok dinoflagellatların ve özellikle de *Gonyaulax sp.* türlerinin musilaj oluşumundaki yeri araştırılmıştır.

Fitoplankton hücreleri büyümelerinin her aşamasında ortama organik madde salgılarlar. Bazı durumlarda karbonhidratlar, özellikle de polisakkaritlerin, fitoplankton hücre dışı salgılarının %80-90'nını oluşturduğu, ileri ölçüde N veya P sınırlaması durumunda da hücrelerin karbonhidratları dışarı attıkları bilinmektedir (Myklestad, 1995). Bu yolla çözünmüş organik madde birikimini fitoplankton türü, büyüme evreleri ve çevre koşulları kontrol eder (Urbani vd 2005). Fosfor veya azotun sınırlayıcı olduğu durumlarda, ortamda hücre dışı sıvılar karbonhidratlar, amino asitler vb olarak birikebilir (Myklestad 1995, Granum vd 2002). Ayrıca, kalsiyumun fitoplankton orijinli musilaj/mukus oluşumuna katkısı da araştırılmıştır (Thornton vd 1999, MacKenzie vd.,2002).

Skeletonema costatum üzerinde yapılan laboratuvar deneylerinde bu türün kültür ortamındaki büyüme hızının musilaj oluşumunu etkilediği, yavaş büyüme hızlarının musilajı arttırdığı saptanmıştır (Thornton vd. 1999). Büyümenin (*S. costatum*) sabitlendiği dönemlerde ise yapışkanlığın arttığı tespit edilmiştir (Kiorbe 1990, Malej ve Haris 1993). Türe bağlı olarak hücre-hücre tutunmasını sağlayan yapışkanlığın yanısıra hücre salgılarının yarattığı yapışkanlık da tespit edilmiştir (Kiorbe ve Hansen, 1993).

Deney No: 1 - 6: Farklı N/P, 3 tür (hazır suş ve İzmit Körfezi izolasyonu)

Tablo 1'de detayları verilen ilk 6 deneyde (1. ve 2. Ara Raporlar) *P. micans*, *C. clostreim* ve *S. costatum*'un hazır ve İzmit Körfezi'nden izole edilen lokal türleri ile denemeler yapılmıştır. Bu deneylerde, besin elementleri, floresan yoğunluğu ve hücre sayıları, çözünmüş organik karbon ve çözünmüş karbonhidratlar rutin olarak ölçülmüştür. Her örneklemeden elde edilen tek bir filtre ise daha ziyade klorofil-a ölçümleri yapılmak üzere kullanılmıştır.

P. micans ile yapılan deneylerde N/P konsantrasyonu ve azot sınırlamasının yapıldığı örneklerde azotun, fosfor sınırlamasının yapıldığı örneklerde fosforun neredeyse aynı zamanda tüketilmesi, bu türün her iki besin tuzunu da tercih ettiğini göstermektedir, Ancak hücre sayılarına bakıldığında *P. Micans* İ.K. ile yapılan deneyde fosforun

düşük olduğu örneklerdeki hücre sayısının düşük azota sahip örneklerinkinden yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu görülmektedir, ki bu da türün azotu daha çok tercih ettiğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, Fosfor sınırlamasının olduğu N/P oranları 73 ve 146 olduğu durumda hücre gelişimi en yüksek düzeydeyken azotun kullanılması da paralel olarak devam etmiştir. Azotun yaklaşık olarak başlangıç konsantrasyonundan % 75 oranında kullanıldığı bulunmuştur. Hücre sayılarının eksponansiyel artışta olması, az miktarda fosforun 10 gün boyunca tükenmemesi ve azotun yarısından fazlasının kullanılmış olması da bu durumu desteklemektedir. *P. micans* ile yapılan biyodeneyle sonuçunda azot sınırlamasının yapıldığı N/P oranlarında azotun 4.-7. Günler arasında tükendiği, bu andan itibaren fosforun kullanılmaya başladığı ve kullanımın 14. Güne kadar devam ettiği bulunmuştur. İ.K. türünde ise benzer durum görülmesinin yanında 7. Günde azotun ortamdan kaybolması ve fosforun kullanılmaya başlaması, fakat kullanımın biraz daha yavaş gerçekleştiği ve 25. Güne kadar devam ettiği görülmüştür. Böylece *P. Micans*'ın azotun ortamdan çekildiği zamanlarda fosfora yöneldiği ancak fosforu tükenene kadar kullanmadığı anlaşılmıştır. Eker-Develi ve diğ., (2006) yaptığı çalışmada *P. Micans* türünün floresan değerlerinin azot ve fosfor sınırlaması yapıldığı durumlarda farklılık göstermediği ortaya konurken, bu çalışmada *P. Micans* ile yapılan deneylerin floresan ölçümlerinde azot sınırlaması yapılan örneklerin fosfor sınırlaması yapılanlara göre daha düşük değerler verdiği kaydedilmiştir.

Her iki *P. micans* kültürü ile yapılan deneylerde, ÇOK ve CH birikiminin birinci hafta sonunda başlayarak kayda değer biçimde artarak deney sonunda başlangıç seviyelerinin yaklaşık 20 katına çıktıkları gözlenmiştir. Çözünmüş CH-karbonu, deney sonunda toplam çözünmüş organik karbonun yaklaşık yarısı seviyesine ulaşmıştır. Deney süresinin 1 aya ulaştığı *P. micans* İK (**Şekil 15a**) deneyinde son hafta org-K birikiminin özellikle CH'da maksimuma ulaşarak bu seviyede sabitlendiği gözlenmiştir. Göreceli olarak daha düşük karbon birikimi N/P 1,2 ve 485 de gözlenmiştir. Bu da aşırı N veya P sınırlamasında türün CH birikiminin azaldığını göstermektedir.

S. costatum ile yapılan biyodeneyle sonuçunda türün azot kullanım hızının *P. micans* türüne göre daha yavaş ve düşük olduğu anlaşılmıştır. *P. micans* türünde azot öncelikli tercih edilirken *S. costatum*'da azot ve fosfor birlikte tercih edilmiş ancak azotun düşük konsantrasyonları tür tarafından öncelikle kabul edilmiştir. Azotun tükenmesinden sonra fosfor kullanımının daha hızlandığı yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. N/P'nin 8,1 olduğu durumda başlangıçta 294 µM olan azot konsantrasyonunun 73 µM'e kadar kullanıldığı, 4. günden sonra (bu da türün lag fazının sona erdiği ve eksponansiyel faza geçtiği döneme denk gelmektedir) fosfor kullanımının başladığı ve 36 µM değerinden 6 µM değerine kadar kullanıldığı tespit edilmiştir. Azotun en düşük konsantrasyonda ilave edildiği N/P 1,2 oranında 7. Günden sonra azotun tükenmesiyle fosfor kullanımı hızlanmış ve 1µM seviyelerine inmiştir. İzmit Körfezi'nden izole *S. Costatum* ile yapılan deneyde de benzer sonuçlar bulunmuştur. En fazla hücre gelişimi azot sınırlamasının yapıldığı N/P oranlarında görülmüştür. İzmit Körfezi *S. Costatum*'unda, *S. Costatum* CCAP1077/1B türüne göre aynı N/P oranında (N/P=8,1) oranında daha fazla azot kullanımı gerçekleşmiştir. Azotun başlangıçta 294 µM olduğu deney setinde (N/P=8,1) azot konsantrasyonu 0,21 µM'e kadar kullanılmıştır. Aynı N/P oranında fosfor kullanımının da benzer olduğu görülmüştür. Bu durum bir diatom olması itibarıyla *S. Costatum*'un fosfora daha çok ihtiyaç duyduğu düşüncesiyle örtüşmektedir (Guerrini ve diğ., 2000).

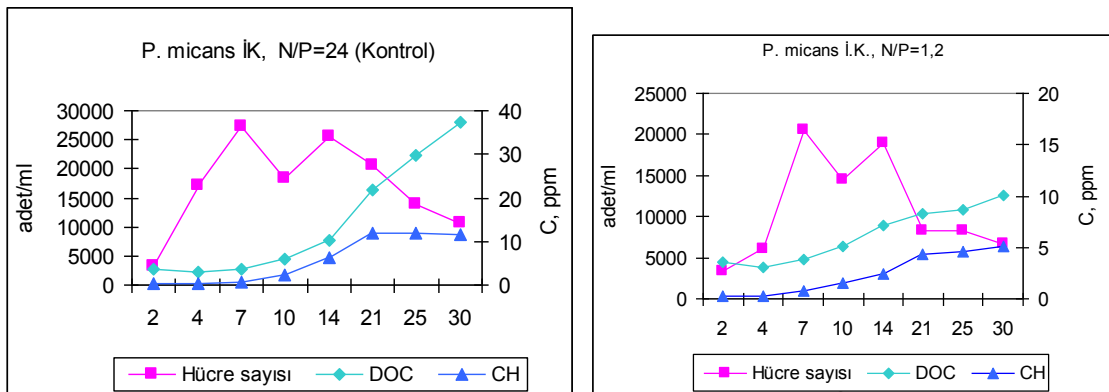
S. costatum CCAP kültürü ile yapılan besin elementi etki deneyinde ÇOK ve CH birikimi *P. micans* ile yapılan deneyin oldukça altında kalmıştır. *S. costatum*_İK ile tekrarlanan ÇOK ölçülerinde de benzer özelliklik görülmüş olmakla beraber İK türündeki birikim daha yüksektir (**Şekil 15c**) Tasarlanan deneyde Si 'in sınırlayıcı olması durumu test edilmemiştir, dolayısı ile bu koşulun CH ve ÇOK birikimini ne şekilde etkileyeceği belli değildir.

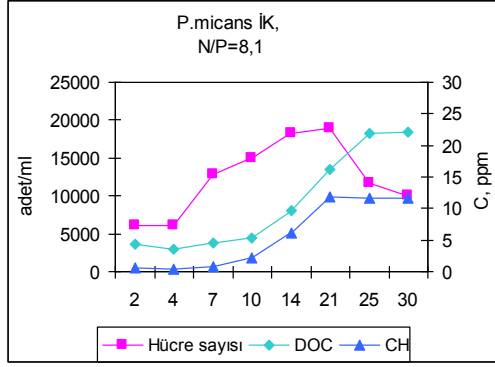
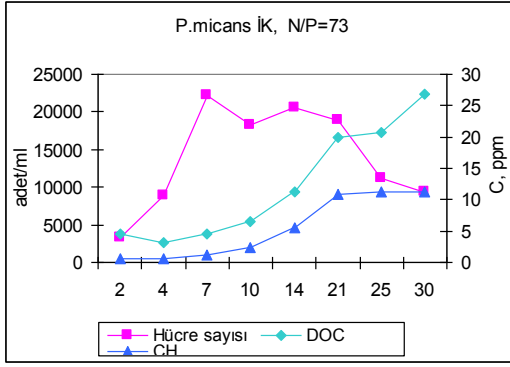
C. closterium ile yapılan biyodeneyler sonucunda ise türün hücre sayılarına göre eksponansiyel artış fazına ilk haftanın sonunda girdiği kaydedilmiştir. Bu esnada besin tuzlarının da kullanımda olduğu gözlenmiştir. Ancak azotun az miktarlardaki konsantrasyonlarında bile uzun bir süre tükenmemesinin sebebinin, türün bir diatom olması itibarıyla azotu değil fosforu öncelikli besin tuzu olarak kullanması olduğu düşünülmektedir. Gelişim süreci fosforun neredeyse tüm örneklerde hemen hemen tamamının tüketilmesinden sonra son haftalık periyotta tekrar artmasının sebebi olarak ise hücrelerin, fosforun kullanılabilir konsantrasyonlarda bulunduğu zamanlarda ve kendilerinin gelişim süreçlerinde besin elementinin ihtiyaç duyduklarından fazlasını bünyelerine depoladıkları ve fosforun ortamda kalmadığı durumlarda depo ettikleri bu fosforu kullandıkları ve deneyin sonuna doğru ölüm fazına geçtiklerinde bünyelerindeki ihtiyaçtan fazla bu fosforu dışarı vermeleri olarak düşünülmektedir.

C. closterium hazır suşu ve İK türlerinin ÇOK ve CH birikimi (**Şekil 15b**) incelendiğinde, İK türündeki birikimin göreceli olarak daha düşük seviyede olduğudur. Ayrıca, diğer diatom türü *S.costatum*'a göre de daha az ÇOK birikimi gerçekleşmiştir.

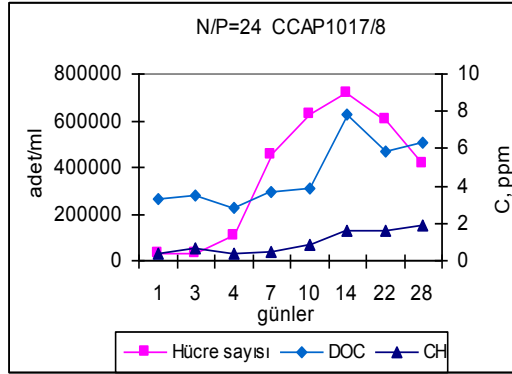
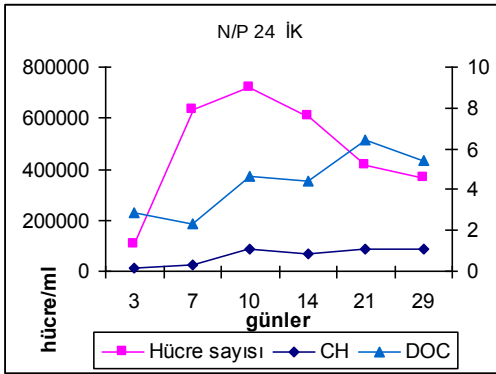
Bu çalışmada *P. Micans* türleriyle yapılan deneylerde eksponansiyel hücre artış süreçleri de dahil olmak üzere en az hücre sayısına sahip olan örnekler azot sınırlaması (N/P=1.2, N/P=4, N/P=8.1) ve en yoğun oranda fosfor sınırlaması (N/P=485) yapılanlar olmuştur. *S. Costatum* türleri ile yapılan deneylerde de benzer oranlarda eksponansiyel hücre artışı süreçleri de dahil olmak üzere en az hücre sayısı değerleri tespit edilmiştir. *P. Micans* türünün hücre sayısının bir dinoflagellat olarak azot sınırlamasında düşmesi beklenen bir durum olarak kabul edilebilir. Ancak *S. Costatum* 'un bir diatom türü olması itibarıyla fosfor sınırlaması yapılan örneklerde daha az hücre sayısına sahip olması beklenirken, azot sınırlamasının yapıldığı örneklerde bu durumla daha çok karşılaşıldığı görülmüştür. Bunun sebebinin ise türün ortamda severek kullanabileceği bir başka besin tuzu olan silisin var olması olabileceği düşünülmektedir.

S.costatum ile yapılan biyodeney setlerinde silis miktarındaki düşüşün ekponansiyel artış sürecine denk geldiği görülmekte ve hücre sayısının artmasıyla ortamda biriken silis miktarının da artması dikkat çekmektedir. Örneğin, *S. Costatum* CCAP1077/1B türü ile yapılan deneylerde tüm konsantrasyonlarda ilk 7 gün boyunca silis miktarındaki azalmayı hücre sayılarındaki artışların takip etmesi türün çoğalma süresince silisi kullandığının bir göstergesidir. Bununla beraber, fosfor sınırlamasının yapıldığı, N/P konsantrasyonu en yüksek olan iki örnekteki (N/P=146, 485) silika miktarının 7. günden deneyin sonuna kadar artan bir seyir göstermesinin sebebinin de ortamda artan diatom hücrelerine bağlı olarak içerdikleri silis ile beraber artan silis konsantrasyonu olabileceği düşünülmektedir. *S. Costatum* İ.K. türünde silis kullanımı daha yavaş ve az miktarda olmuştur.

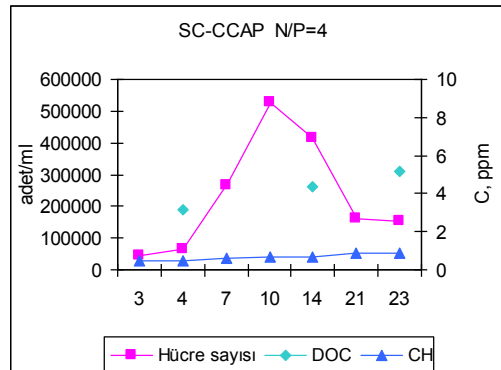
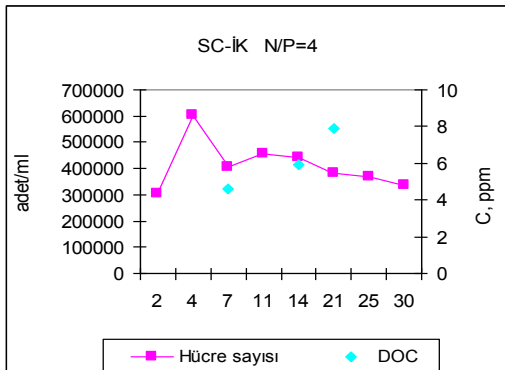
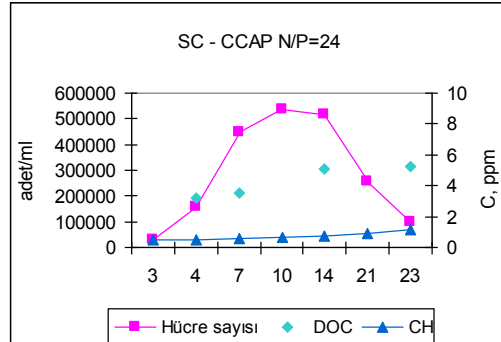
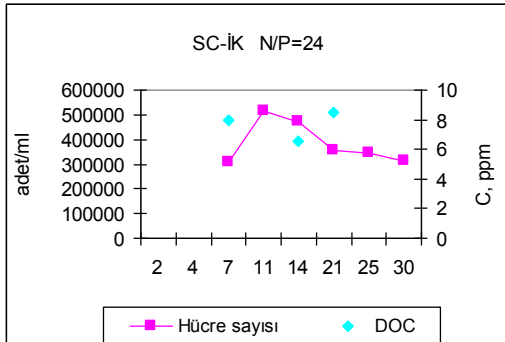


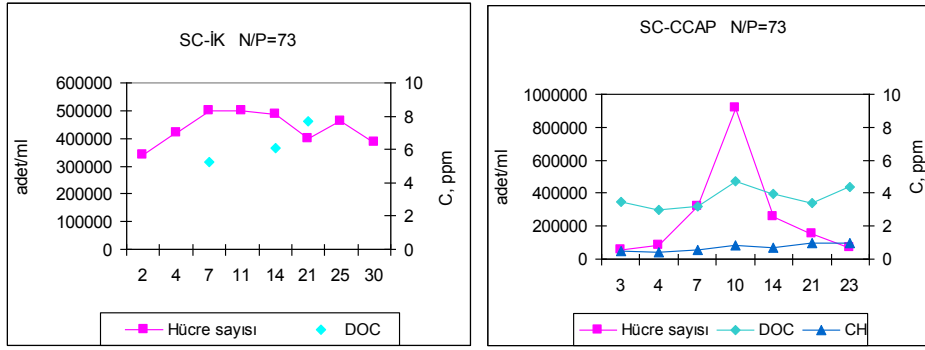


Şekil 15 a. *P.micans*-İK'ın farklı N/P besin koşullarında oluşturduğu CH ve ÇOK birikimleri



Şekil 15 b. *C.closterium* İK ve hazır suşunun N/P=24(kontrol) koşullarında oluşturduğu CH ve ÇOK birikimleri



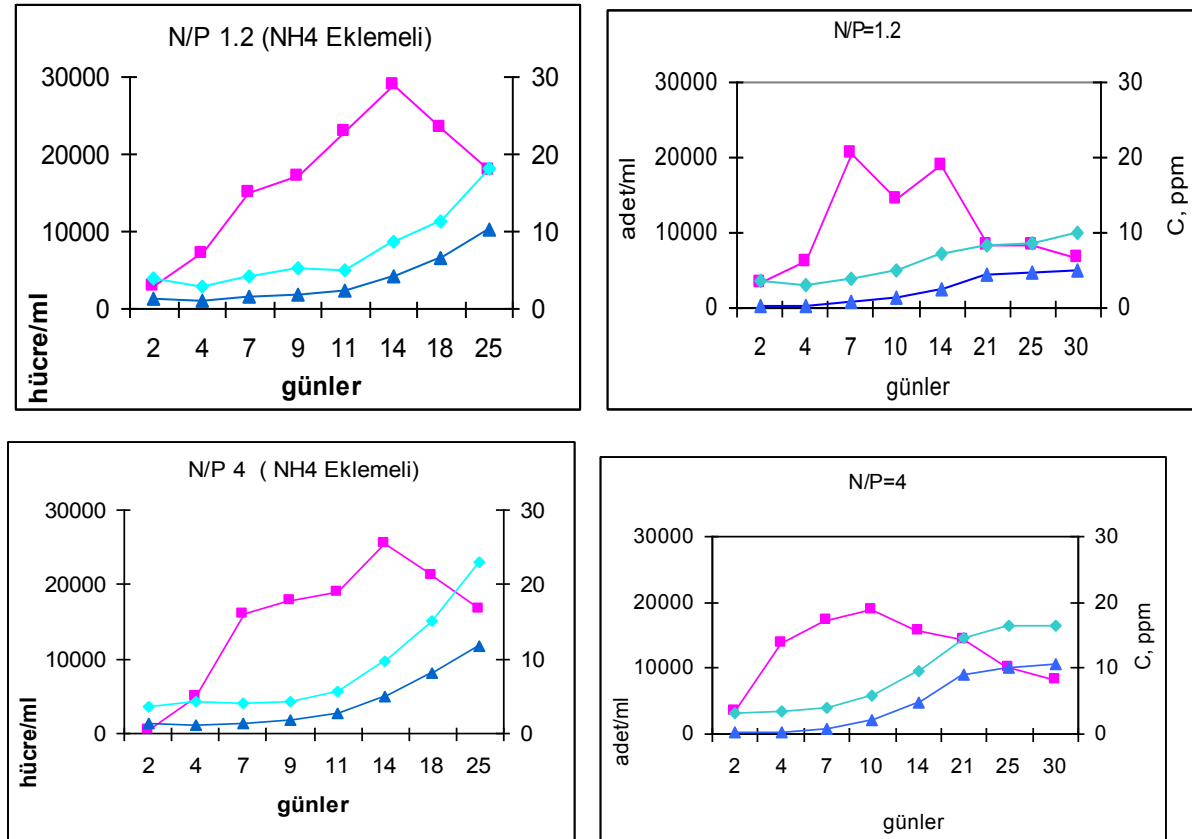


Şekil 15 c. *S.costatum* İK ve hazır suşunun N/P=24, 4, 73 koşullarında oluşturduğu ÇOK ve CH birikimleri

Deney No 7: N ve P nin sınırlı olduğu N/P ortamlarda dışarıdan besin eklemesi, *P.micans*

Amonyum eklemeli deney sadece İ.K. *P.micans* türü ile steril ortamda gerçekleştirilmiştir. N/P= 1.2 ve 4 oranlarındaki FI ve hücre artışları eklemesiz *P. micans*-İK ya göre daha yüksek seviyelere ulaşmıştır.

NH₄ eklenen azot sınırlı deneyler (N/P=1.2 ve 4), ekleme yapılmayan önceki deneyin hücre sayısı artışı, zamana yayılışı ve CH ile DOC üretimi ile karşılaştırıldığında (Şekil 16) ekleme yapılan deneylerde hücre sayılarının artmış olduğu ve CH ile DOC miktarlarında artış olduğu açıkça görülmektedir. Bu da özellikle azotun sınırlayıcı olduğu bir dönemde deniz ortamına dışarıdan yeni bir amonyak (veya azot) yükü geldiğinde, ortamda fitoplankton artışına bunun da daha fazla CH salınımına neden olacağına işaret etmektedir.



Şekil 16 *P. Micans* İ.K. besin maddesi eklemeli ve eklemesiz deneylerde hücre gelişimleri, CH ve DOC konsantrasyonları

Deney No 8, 9,10 : Bakterili ortam deneyleri, 3 tür

Musilaj / organik madde topaklarının oluşumlarında rol oynayan farklı etkenlerin arasında bakterilerin katkısı da pek çok bilimsel araştırmada irdelenmiştir (Azam vs, 1999; Grossart vd., 2005; SAME 11, 2009). Edinilen bu yeni bilgiler ışığında ortam bakterili çalışmalar izolasyonu yapılmış 3 tür ile çalışılmış ve sonuçları 3. Ara Rapor'da sunulmuştur. Bu çalışmalar, bakteri tür tayini ve sayımlarını içermeyip sadece bakterili ortamda proje kapsamında izlenen parametrelerin bu ortamla etkileşimlerini inceleme yönünde olmuştur.

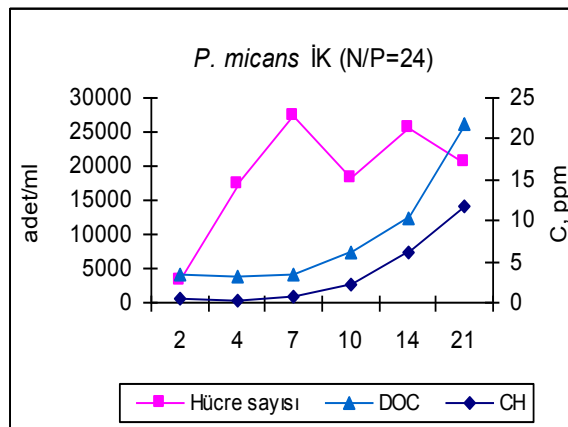
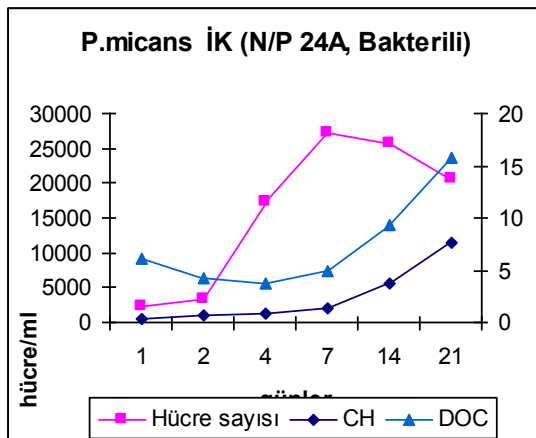
Bakterili ortamda ortamdaki besin tuzlarının bakterisiz ortama göre daha hızlı tükendiği gözlenmiştir. Bakterisiz ortamda, sınırlı besin tuzlarının 7. günde, bakterili ortamda ise 4. günde tükendiği tespit edilmiştir. Bu da bakteriler tarafından da besin tuzlarının kullanıldığını işaret etmektedir.

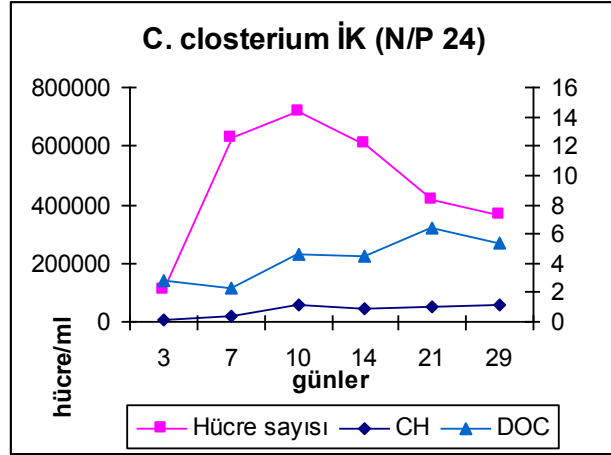
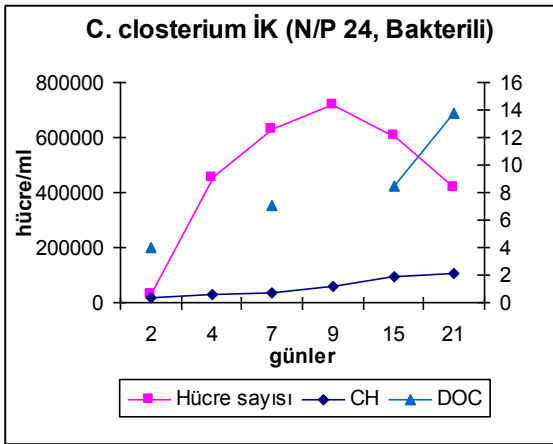
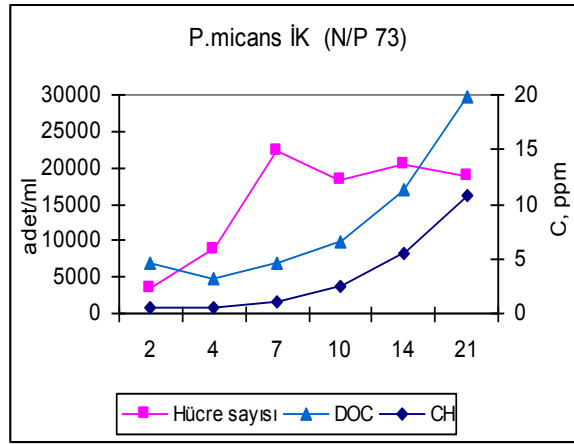
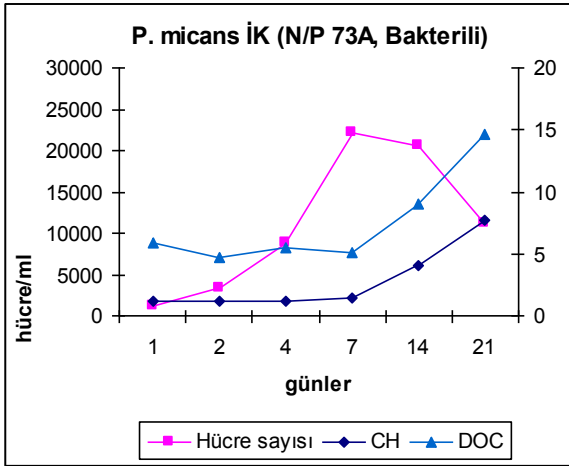
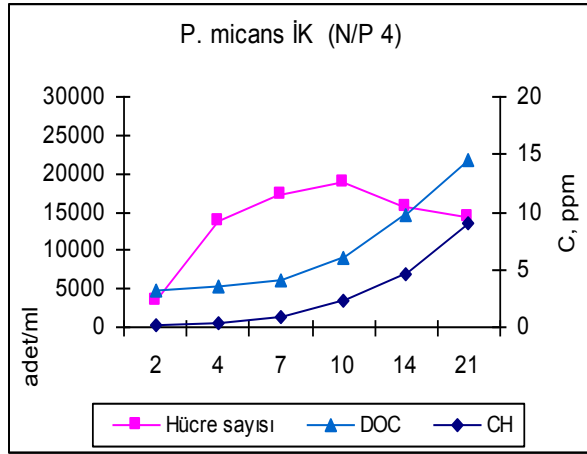
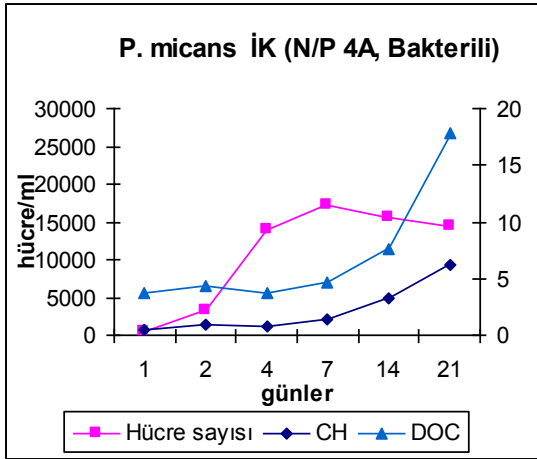
P.micans İK türü ile 21 gün süre ile takip edilen her iki deneydeki önemli bir fark deneyin 7.gününden sonra bakterili ortamda hücre sayılarının N/P= 24 ve 73 'te belirgin bir düşüş göstermesi, ancak bakterisiz ortamda 7. günden itibaren hücre artışının yavaşlamasına karşılık devam etmesidir.

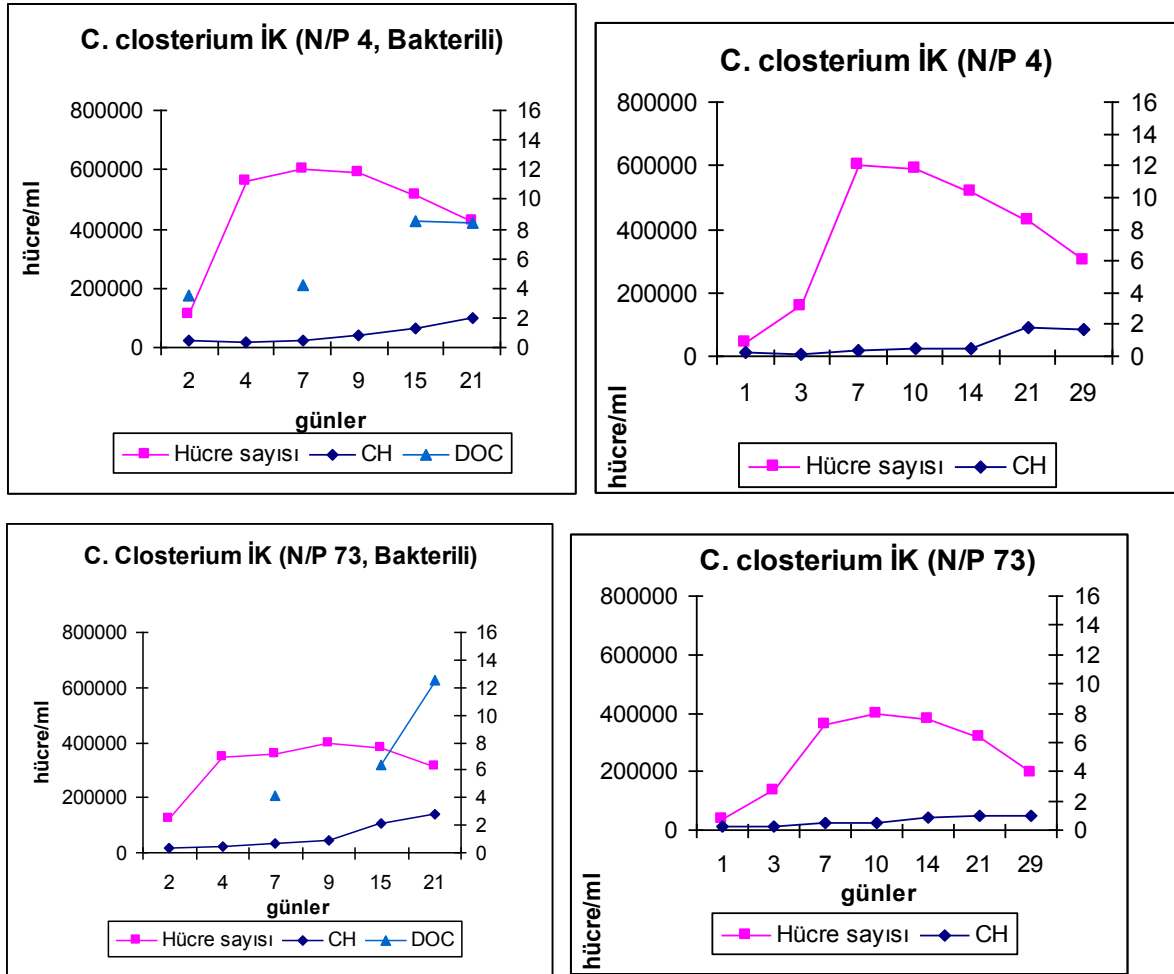
C. closterium İK türü ile 21 gün süreli, ortam bakterili ve bakterisiz deneylerdeki belirgin fark her üç N/P oranında da deneyin son haftasında ulaşılan floresan şiddetlerinin bakterili ortamda diğerine göre belirgin olarak fazla olduğudur. Hücre sayılarında N veya P sınırlı olan deneylerde belirgin bir fark gözükmemiş, ancak N/P=24 setinde bakterili ortamda hücre artışı daha fazla olmuştur.

S. costatum İK bakterili deneyde N/P= 24 ve 73 'te hücre artışları bakterisiz ortama göre daha fazla olmuştur. Bu durum özellikle 9. ve 10. günlerdeki değerler karşılaştırıldığında açıkça kaydedilmiştir (3. Ara Rapor, Şekil 12). Her iki diatom türü için gerçekleşen bu durum, P-sınırlı ortamda bakteriyel aktivite ile hızlıca ortama katılan inorganik fosforun kullanılarak hücre sayılarının artmış olduğudur.

P. micans İK ile yapılan N/P 24 ve 73 bakterili deneylerin son haftalarında CH ve ÇOK birikimleri bakterisiz deneyeye göre daha az miktarda olmuştur. Bu da organik maddenin bakterilerce tüketildiğini düşündürmektedir. Aynı dönemde, bu mekanizmaya (organik maddenin ayrıştırılması) bağlı olarak besin maddelerinde artışlar ya da durağanlık beklenebilir ki bu da bakterili ortamdaki besin elementlerindeki kısmi artışlar ile doğrulanmıştır (3. Ara Rapor). *C. closterium* da ise ÇOK ve CH birikimleri özellikle duğaran ve ölüm fazında bakterisiz ortama göre daha fazla olmuştur (Şekil 17).







Şekil 17. Bakterili ve bakterisiz ortamda karbonhidrat ve çözünmüş organik karbon değişimi

Deney No 11 : Metal eklemeli ve bakterili ortam deneyleri, *P.micans*

Metal eklemeleri, literatürde metallerin CH ve benzeri çözünmüş organik maddeyi ve ipliksi oluşumları bir araya getirme ve dengede tutma özelliği nedeni ile denenmiştir (Mecozzi vd. 2008; MacKenzie, vd., 2002; Leppard, 1995; Wang vd., 1995).

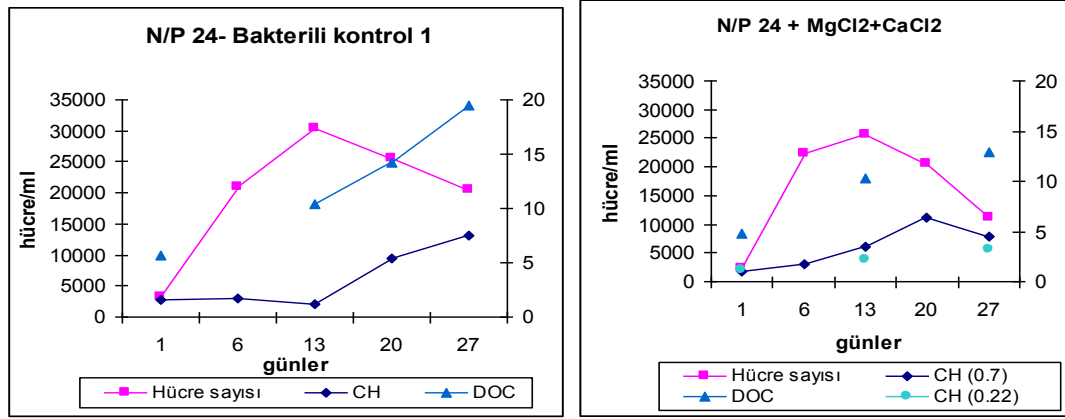
İzmit Körfez suyu 0,45 µ göz açıklığı olan selüloz nitrat filtreden süzülerek ve steril edilmeden kullanılmıştır. Bu deney *P.micans* İK ile düşünülmüş ve Mg, Ca, Cu ve Pb'nin musilaj oluşumuna olası etkilerini izleyebilmek için sadece kontrol grubuna (N/P=24) $MgCl_2+CaCl_2$ ve $CuCl_2+PbCl_2$ kombinasyonlarında metal ilaveleri yapılmıştır.

4. Ara Rapor'da detayları sunulan deneylerde, floresan şiddeti değerlerinin $MgCl_2+CaCl_2$ kombinasyonunun ilavesinde ortam harici dışarıdan başka bir metal ilavesinin olmadığı Kontrol (KA ve KB) grubu ile aynı performansda olduğu hücre sayısı değerlerinde ise kontrol grubundan biraz daha düşük sayıda seyrettiği gözlenmiştir. $MgCl_2+CaCl_2$ kombinasyonu ile kontrol grubunda ise besin tuzlarındaki kullanım 13-14. güne kadar düşük hızda devam etmiş bu zamandan sonra kullanım durmuştur. Metal eklemeli ve eklemesiz deneylerin 3. haftalarının sonunda, metal eklemesiz ortamda besin maddesi kullanımının daha fazla olduğu gözükmemektedir.

Metal eklemeli deneylerden Ca ve Mg eklenen settaki, CH ve ÇOK birikimleri bakterili kontrol deneylerine göre daha düşük seviyelerde ölçülmüştür (**Şekil 18**). Bu da bir miktar ÇOK'un metal ile etkileşimi sonucunda partikül

yapıya geçtiğini düşündürebilir. Ayrıca, eklenen metal konsantrasyonlarının organizma üzerinde büyümeyi durdurucu etkisi de söz konusu olabilir. Metal eklemeli deneydeki göreceli düşük sayımlar ve besin kullanımındaki düşüşler de bunu destekler niteliktedir. Pb ve Cu eklemesi yapılan deneylerde bu metal dozlarının toksik etki yarattığı net olarak saptanmıştır (4. Ara Rapor).

Bakteri biyokütlesi kaynaklı CH ile *P. micans* ve bakteri salgılarından kaynaklanan CH 'ı ayırt edebilmek için 0.7 mikrondan süzülen örnekler ayrıca 0.22 mikrondan da süzülerek her iki süzüntüde karbonhidrat analizi yapılmıştır. Bu analizler, ölçülen CH'nin neredeyse tümünün hücre içi sıvılardan kaynaklandığını doğrular niteliktedir. Bu örneklerde, partikül maddede organik karbon ve CH ölçümünün özellikle metal eklemesinin partikül miktarını artırıp artırmadığını anlamak açısından faydalı olacağı kaydedilmiştir. Ancak deney kaplarında gözle görülür belirgin bir topaklaşma da kaydedilmemiştir.

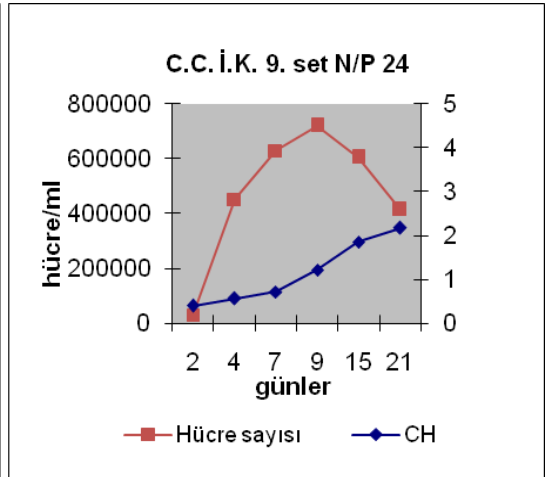
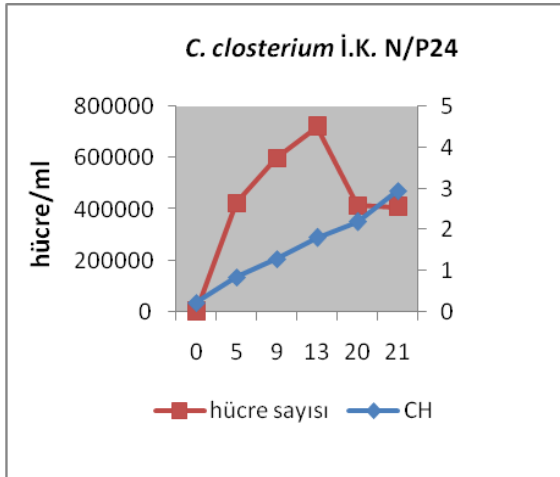
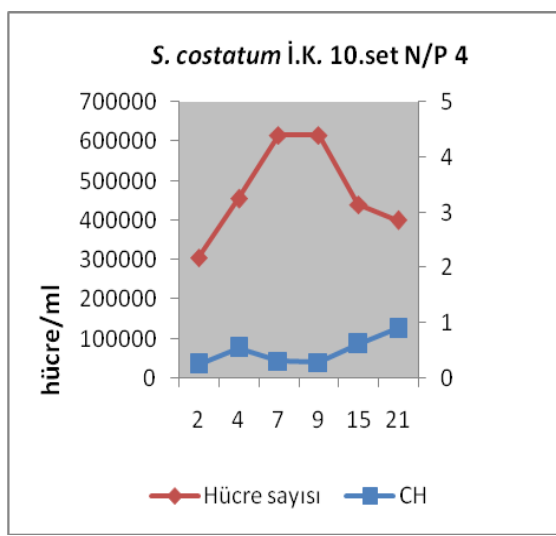
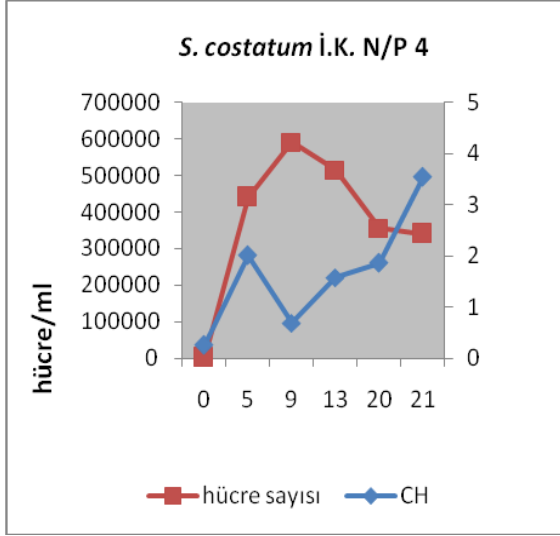
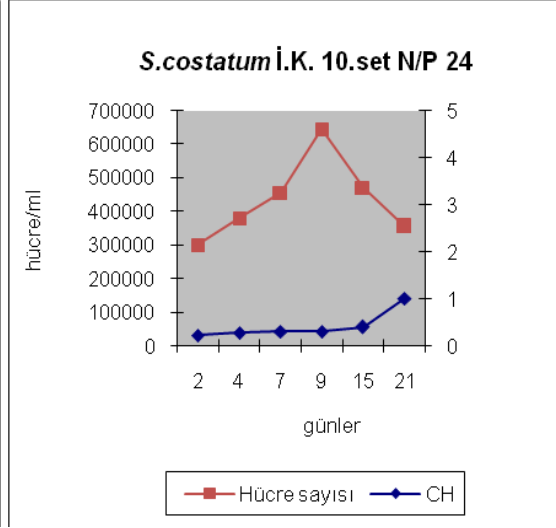
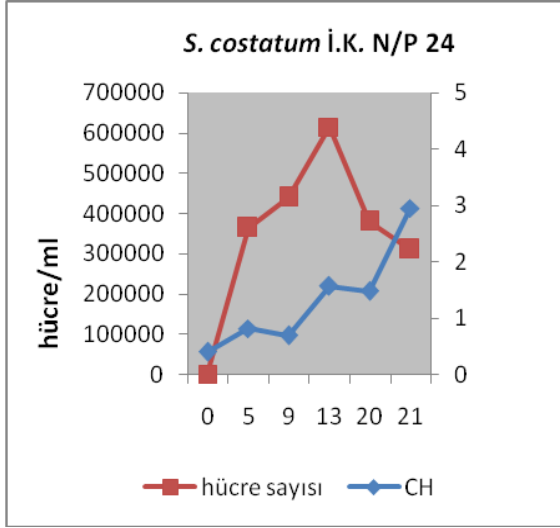


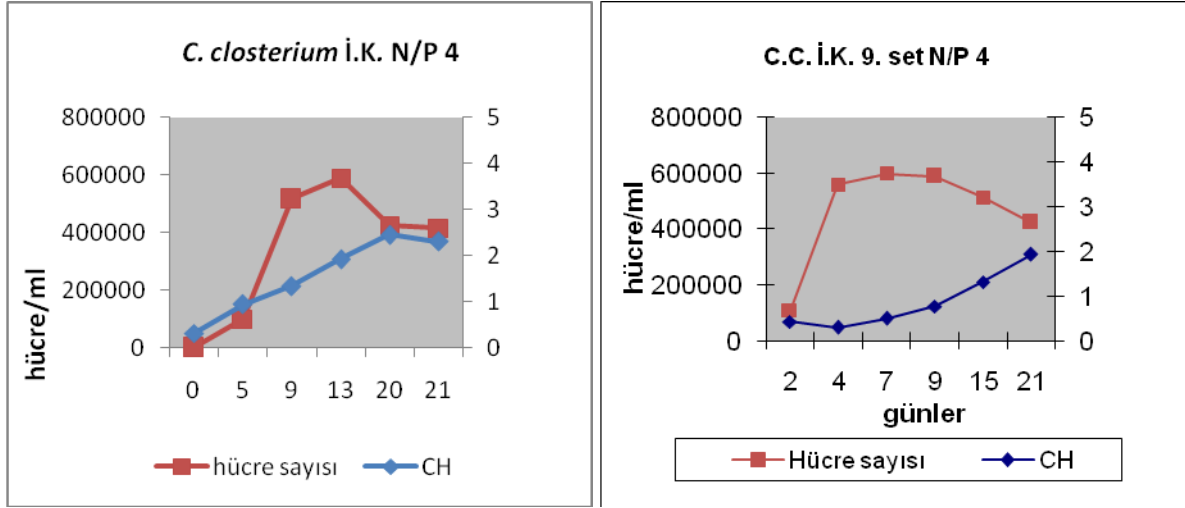
Şekil 18. Bakterili ortamda metal eklemeli ve eklemesiz deneylerde CH ve DOC değişimleri

Deney No 12 , 13: *S. costatum* ve *C.closterium* ile düşük besin yüklemeli deneyler

Bu bakterili ortam deneylerinde, hücre sayılarının eşit seyrine karşılık (4. Ara Rapor) CH ve DOC birikimlerinde farklılıklar göze çarpmaktadır. Bu dönemde, N/P oranı 24 olan numunede CH ölçümleri 3 mg/l seviyesine çıkmışken, bir önceki dönem *S. costatum* deneylerinde (10.set) sonuçların en fazla 1 mg/l civarında seyrettiği kaydedilmiştir (Şekil 19). Benzer durum N/P oranı 4 için de geçerlidir. Ayrıca *C. closterium* için de durum aynıdır. Bu durumun bir nedeni, kültürlerde kullanılan deniz suyunun farklılığı olabilir. Yeni dönem deneyde Mart ayına ait deniz suyu kullanılmışken, bir önceki dönemde kullanılan su Kasım ayına aittir. Dolayısıyla, suyun farklı bakteri yüküne sahip olabilme ihtimaline bağlı olarak CH birikim miktarının da farklılık göstermesi beklenebilir. Her iki deneyde de hücrelerin ölüm fazına geçmesiyle bünyelerindeki organik maddeleri saldıkları ve buna bağlı olarak sudaki organik maddenin de arttığı göze çarpmaktadır. N/P oranı 4 olan kültürde maksimum büyüme fazındaki artışa karşılık CH miktarında bir düşüş kaydedilmiştir. Bunun sebebininse, bu süreçte ortamdaki bakteri popülasyonunun gelişim fazında olması ve organik maddeyi kullanması olduğu düşünülmektedir.

12. ve 13. set deneylerde 9. ve 10. setlere (Şekil 19) göre oldukça yüksek CH birikimlerine rasatlanmasındaki en önemli etkenin düşük besin (1000 kat daha düşük N, P eklemesi ile) yüklemesinin olduğu düşünülmüştür. Bu olay, N, P açısından fakirleşen ortamda kaynak yaratmak amacı ile canlı hücrelerin hücre içi sıvılarını salgılaması olarak düşünülebilir. Bu bulgunun yeni bir deney seti ile tekrarlanması hedeflenmişse de başlatılan deney laboratuvarında yaşanan bir aksilik nedeni ile başlanamamış, ikinci bir tekrara da proje süresi yeterli olmamıştır.





Şekil 19. Düşük besin yüklemeli S.costatum ve C.closterium deneyleri

Deney No 14: G. fargilis İK ile denemeler

Çalışmanın 4. hedef türü olarak belirlenmiş olan G.fragilis'in musilaj dönemlerinde deniz ortamında da bulunduğu ve bu dönemler dışında –diğer hedef türlerin tersine- ortamda çekildiği saptanmıştı (Şekil 12 ve 13). Bu bulgunun laboratuarda incelenmesi için Proje süresince yoğun çaba sarf edilmiş (türün ortamda saptandığı her dönemde izolasyon denemeleri yapılmış, ayrıca benzer bir türünün hazır kültürünün Yeni Zellanda'da bir laboratuardan üç kez teminine karşın) olmasına karşın bu türün tam anlamıyla saflaştırılması mümkün olamamıştır. Ancak 3. izolasyon denemesinde saflaştırmanın mümkün olduğu mikroskopik olarak teşhis edildiğinde 14.set kesikli/kontrollü deney seti kurulmuştur. Ancak deneyin 1. haftasından sonra *P. micans* ve *C. closterium* un da ortamda görünmesi denemenin karışık kültür ortamda devam ettirilmesini gerektirmiştir. Ancak elde edilen sonuçlardan G.fragilis'in neden olduğu ÇOK ve CH birikimlerine ilişkin sağlıklı sonuç edinmek mümkün olmamıştır.

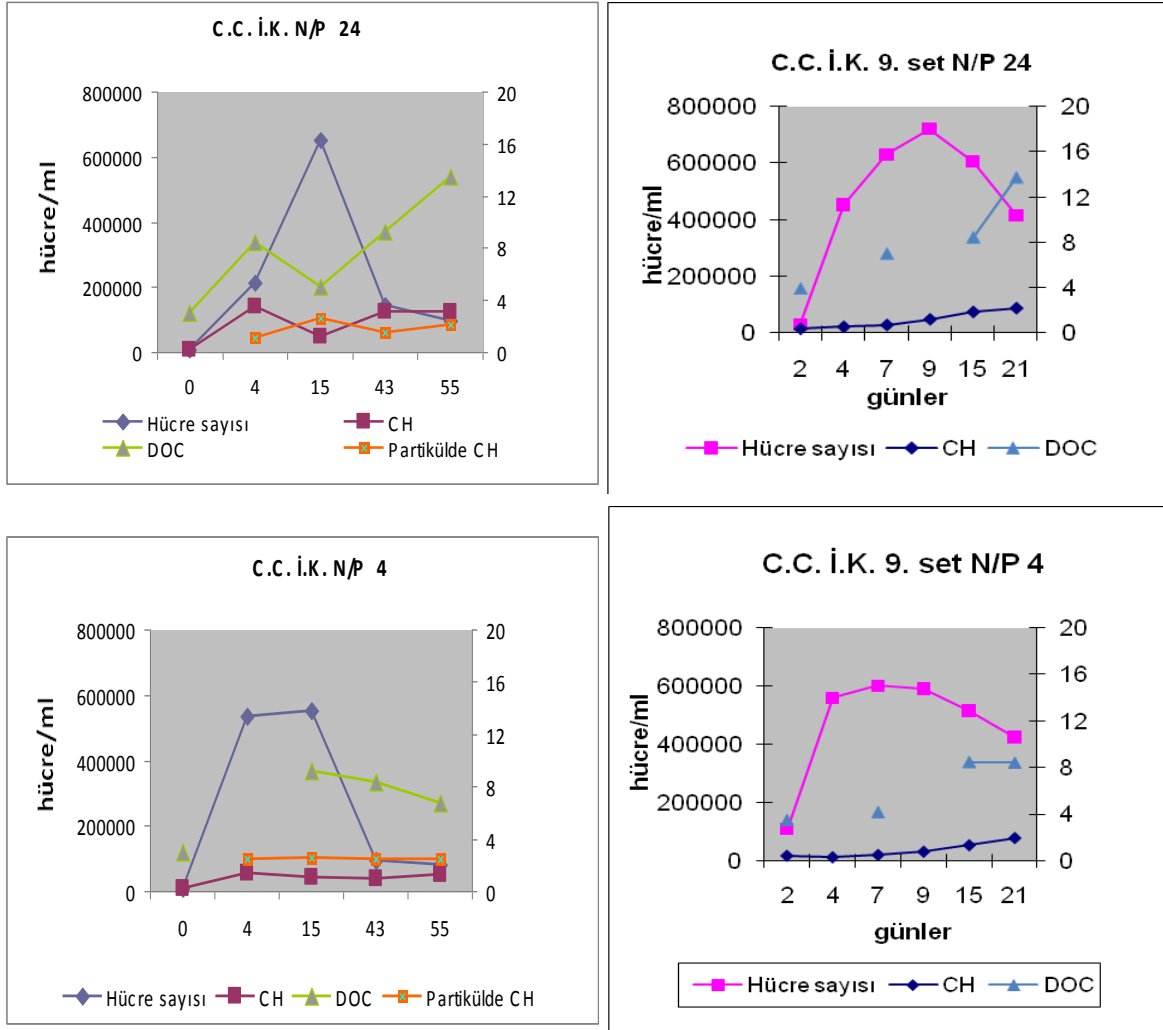
Deney No 15: C. closterium ile uzun dönemli deney

C. closterium türünün İzmit Körfezi'nden izole edilmiş ve 3. gelişme raporunda sonuçları detaylı olarak verilmiş deney seti ile 4. dönemde yine İzmit Körfezi'nden izole edilmiş bu türe ait deney aynı şartlarda uzun dönemli olarak gerçekleştirilmiştir. Bu raporda her iki deneye –bakterili ortamda kısa: set 9 ve uzun dönem deneyleri: set 15- ait sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. *C. closterium* ile yapılan önceki dönemlere ait deneylerde karbonhidrat (CH) ve çözünmüş organik karbonun (DOC) deney süresince artan birikiminin *P.micans* 'a göre oldukça düşük seviyelerde kalması C.C. ile daha uzun dönemli deneyler organize etme fikrini doğurmuştur.

İK. *C. closterium* ile yapılan 55 günlük biyodeneş çalışmasında bir önceki dönem deneyine benzer olarak ilk 4 günlük adaptasyon sürecinde floresans şiddetlerinin sabit değerlerde kaldığı gözlenmiştir. İlk haftadan itibaren gözlenmeye başlayan artışların ardından daha uzun süren bu deneyde son haftalarda hücre ölümlerine bağlı olarak düşüşler kaydedilmiştir. Her iki deneyde de uzun bir lag faz izlenmiş olup 14. günden sonra artış başlamıştır. Uzun dönemli deneyde, FI şiddetindeki artışın 40. günlere kadar devam ettiği kaydedilmiştir. 43. günden sonra ise hücrelerin ölüm fazına geçmesiyle beraber düşüşler gözlenmiş ve deney sonunda da sifıra yaklaştığı kaydedilmiştir. FI değerleri her iki deneyde de hemen hemen aynı sonuçlarda seyretmiştir. Ancak süresi

daha uzun olan bu deneyde değerlerin diğerinden farklı olarak FI'n 10'a yaklaştığı görülmüştür. Her iki deneyde de kontrol grubu olarak nitelendirilen N/P 24 oranında en yüksek değerlere rastlanırken, bu deneyde azotun düşük, fosforun yüksek konsantrasyonda tutulduğu N/P oranı 4'te, N/P 24'e daha yaklaşık olan, daha yüksek FI şiddeti değerler ölçülmüştür. Uzun dönemli deneyde hücre sayıları ilk ayın sonunda daha hızlı düşüşe geçmiş ve deney sonuna kadar olan süreçte de azalmaya devam etmiştir. 2 ayın sonunda da kültürlerdeki canlı hücre sayısının neredeyse başlangıç hücre sayısına denk gelecek kadar azaldığı gözlenmiştir

Şekil 20'de N/P 24 (kontrol) ve N/P 4 besin oranları ile yapılan kısa ve uzun dönemli deneylerde elde edilen sonuçlar birlikte verilmiştir. Ancak yaklaşık 2 ay sürdürülen deneylerde elde edilen en belirgin fark CH ve çözünmüş organik karbon değerleri (DOC) nin özellikle N/P oranının 4 olduğu uzun dönemli deneyde DOC değerinin deneyin 2. döneminde düşmesi olarak değerlendirilebilir. Bu da bakteriden arındırılmamış deney ortamlarında besin kısıtı söz konusu olduğunda organik maddenin bakterilerce parçalanarak besin kaynağına (N ve P) dönüştürülmesi olarak değerlendirilebilir. Kontrol örneğinde herhangi bir değişim gözlenmemesi de bunu desteklemektedir. Partikül malzemede deneme amaçlı ölçülen CH değerlerindeki değişimler ise kültür ortamında süzülen *C. clostereum* hücrelerindeki CH birikiminin sudaki seviyelere yakın olduğu ve belirgin bir zenginleşmeden ilk bakışta söz edilemeyeceği sonucunu göstermektedir.



Şekil 20. *C. clostereum* ile yapılan uzun dönemli deneyde ÇOK ve CH ın değişimleri

3.5. Oluşan musilaj formları üzerindeki kimyasal incelemeler

3.5.1. Deniz ortamından toplanan musilajın C, N % değerleri

2. Ara Rapor'da belirtien yöntemlerin kullanılması ile kurutulan deniz musilaj örneklerinin organik karbon ve azot içerikleri belirlenmişti. Özetle ; Ocak 2008'de İzmit üst suyundan süzülen partikül maddede ölçülen %C ve N ortalama değerleri sırası ile %1,2 C ve ölçüm limitlerinin altında N olarak ölçülmüştür. Aynı dönemdeki İzmit musilajında ise ortalama %24 C ve %1,3 N içeriği tespit edilmiştir. Bu da materyalin özellikle organik karbonca çok zengin olduğunu göstermektedir. Benzer yüksek oranlara Ekim 2008 musilajında da rastlanmıştır. Erdek üst suyunda oluşan musilaj yumağının ise organik karbonca çok daha zengin olduğu (34%) gözlenmektedir. Erdek üst suyundan süzülen partikül maddenin POC içeriği ise ortalama olarak %0.6 seviyesinde olduğu raporlanmıştır.

Tablo 5a Proje döneminde İzmit Körfezi'nde oluşan musilaj yapılarının % organik karbon ve azot içeriklerini göstermektedir. Toplanan malzemenin tümü ultra filtrasyon yöntemi ile tuzundan arındırılmış ve daha sonra da freeze-dryer da kurutulmuş katı maddedir. Asitlenerek inorganik karbondan arındırılmış ilk iki örnekteki değerler karbon için %1-2 daha düşük çıkmıştır. 2009 yılında toplanan üçüncü örnekteki değerler diğerlerine göre daha yüksek olmakla birlikte bunun başlıca sebebinin bu örneklerin plankton ağı ile toplanması ve bu sebeple de plankton hücreleri ile zenginleşmiş daha yoğun bir malzeme elde edilmiş olmasıdır. Sonuç olarak, bu 3 olaydan yola çıkarak elde edilen musilaj yapılarının org-karbon içeriğinin Marmara Denizi partikül maddesinden yaklaşık 20 kat daha zengin olduğu belirlenmiştir. Bu malzeme azot açısından ise zengin görülmemektedir.

Tablo 5b, Marmara Denizi'nde yaygın olarak bulunan bir deniz anası türü olan *Aurelia aurata*'nın %C ve N içeriğini göstermektedir. Bu çalışma için örnekler aynı musilaj örneklerinin hazırlanması gibi (EK 2) yapılmış, ve musilajın içeriği ile karşılaştırma amacı ile analiz edilmişlerdir. Tablo 5a ve 5b karşılaştırıldığında *A.aurata*'nın (jelimsi zooplankton) %N oranı musilaja göre oldukça yüksek bulunmuştur. Bu da C/N oranının düşük olduğunu göstermektedir. Bu bulgu bile, jelimsi zooplanktonun musilaj topaklarının içinde baskın madde olarak bulunmadığını vurgulamaktadır.

Tablo 5a. Deniz ortamından (İzmit Körfezi) toplanan musilaj yumaklarının % C ve %N içerikleri

	%N	%C	C/N
	1,20	24,76	20,6
01/2008 izmit musilaj 5/5 uf	1,35	23,39	17,3
(Değirmendere)	1,39	24,68	17,8
ORTALAMA	1,31	24,28	
	1,22	26,45	21,7
	0,92	26,48	28,8
10/2008 karamürsel 30 µm süzüldü 5/5 uf	1,11	26,73	24,2
ORTALAMA	1,08	26,55	
28.12.09 YÜZEY çekim	4,90	33,47	6,8
28.12.09 0-10 m çekim	3,59	30,07	8,4

Tablo 5b. Jelimsi zooplanktonun % C ve N içerikleri

Aurelia aurata (jelimsi zooplankton)	%N	%C	C/N
Deniz anası 25.08.10(03.09.10 F.DR)	8,25	32,60	4,0
Deniz anası 25.08.10(03.09.10 F.DR)	7,95	31,11	3,9
Deniz anası 25.08.10(03.09.10 F.DR)	8,34	32,84	3,9
16.09.10 SÜZMELÝ/ 21.09.10 Deniz A 4	6,32	22,32	3,5
16.09.10 SÜZMELÝ/ 21.09.10 Deniz A 4	6,60	23,22	3,5
16.09.10 SÜZMELÝ/ 21.09.10 Deniz A 4	7,02	26,15	3,7

3.5.2. Laboratuvar koşullarında oluşan topakların C, N % değerleri

3.5.2.1 Kesikli deneylerde elde edilen malzeme

Gerçekleştirilen deney setlerinin sadece organik karbon birikiminin fazla olduğu P.micans denemelerinin bir tanesinde (set 3) bazı N/P oranlarında jelimsi-yapışkan madde elde edilmiştir (**Tablo 6**). Bu malzeme sifonlama ve ardından UF+FD ön aşamalarından geçirildikten sonra C ve N yüzdeleri ile oranlarına bakılmıştır. C/N oranlarının denizden toplanan musilajdaki oranlardan daha düşük olduğu belirgindir. Bunun da nedenin ortamda bu türden başka canlı ve organik madde kaynağının bulunmamasıdır. Laboratuvarda toplanan malzeme ile plankton kepçesi ile toplanan topakların C/N oranları ise 6-8 arasında değişmiştir ki bu da okyanuslarda plankton için verilen 6-7 lik oranla oldukça uyumludur.

Deneylerde azot sınırlamasının olduğu örnekte (PM 8.1) C/N oranı oldukça yüksektir (~15). Bu durum ise özellikle azotun yüzdesindeki düşüklüğü açıklamaktadır.

Tablo 6. Laboratuvar deneyinde elde edilen jelimsi malzemenin C ve N yüzdesi

	%N	%C	C/N
PM 73	5,40	38,64	7,2
PM 73	4,33	37,18	8,6
PM 146	4,83	36,09	7,5
PM 146	4,83	36,47	7,6
PM 24	3,84	26,54	6,9
PM 24	3,68	27,26	7,4
PM 8.1	2,28	34,33	15,1
PM 8.1	2,40	35,65	14,9
PM SAF	5,01	44,19	8,8
PM SAF	4,93	43,77	8,9

3.5.2.2 Deniz suyunun laboratuvar koşullarında inkubasyonu ile elde edilen malzeme

Çalışma döneminde 4. musilaj olayının gerçekleştiği Aralık 2009-Ocak 2010 döneminde alınan ve içinde musilaj oluşmu bulunmayan deniz suyunun, ısı ve sıcaklık kontrollü odada bekletilmesi sırasında musilaj topakları oluşmuştur (Şekil 14). Bu malzeme 6. ve 11. günlerde toplanarak kimyasal analizlere tabi tutulmuştur. **Tablo 7** bu malzemenin C, N yüzdelerini göstermektedir. Deniz suyunun örneklenip, laboratuvar koşullarında bekletilmeye başlamasından 11 gün sonra musilaj malzemesi giderek karbon ve azotça zenginleşmiştir. C/N oranlarının Tablo 5a da sunulan ve yüzeyden beherler yardımı ile toplanan ilk iki musilaj örneğinden oldukça düşük olması ve fitoplanktonun C/N oranlarına yakın olması iki nedene bağlanabilir. Birincisi, yüzeyde musilaj içinde birikime uğrayan plankton dışındaki canlı ve cansız maddenin yol açtığı düşünülen organik karbon zenginleşmesi ve buna paralel ortamın azotça sınırlı olması, ikincisi ise laboratuvarda oluşan musilaj yapılarının taze (uzun süre beklememiş) yapılar olması dolayısı ile de organik azotun bakterilerce geri dönüşüme henüz maruz kalmamış olması ve buna paralel deniz ortamından toplanan musilajın daha eski bir malzeme olması olarak düşünülebilir.

Tablo 7. 07.01.2010 tarihinde MAM öñü istasyon örneğinin laboratuvar koşullarında inkubasyonu ile elde edilen toprakların C,N içerikleri

	%N	%C	C/N
07.01.10 çekim 13.01.10 örn.	0,7875	6,6928	8,5
07.01.10 çekim 13.01.10 örn.	0,6996	6,4193	9,2
07.01.10 çekim 18.01.10 örn.	3,9547	23,5382	6,0
07.01.10 çekim 18.01.10 örn.	4,6491	27,1181	5,8

3.5.2.3 Laboratuvar deneylerinde süzme ile elde edilen partikül madde

Tablo 1 de verilen deney setlerinin her örneklemeinden elde edilen partikül madde farklı analizler için kullanılmış, bazılarında da partikül organik karbon ve azot analizleri yapılmıştır. Elde edilen filtre sayılarının yetersizliği nedeni ile rutin olarak yapılamayan bu analizlerden, set 4, 7 ve 13'ün farklı fazlarından ve N/P 24 ile 4 ortamından elde edilen sonuçlar **Tablo 8**'de sunulmuştur. Set 13, C.closterium deneyi (düşük besin yüklemeli ve organik karbon salınımı fazla, Şekil 19), hariç diğer iki tür ile yapılan deneylerde özellikle deneyin son dönemlerinde partikül organik madde birikiminin arttığı gözlenmiştir. Özellikle azot sınırlamasının olduğu durumlarda (N/P=4) ise beklenildiği gibi partikül karbon üretimi yükselirken azot üretimi düşük seviyede kalmıştır. Set 4, steril ortamda gerçekleştirildiğinden buradaki partikül üretimin tamamen S. costatum hücrelerinden kaynaklandığı kesindir.

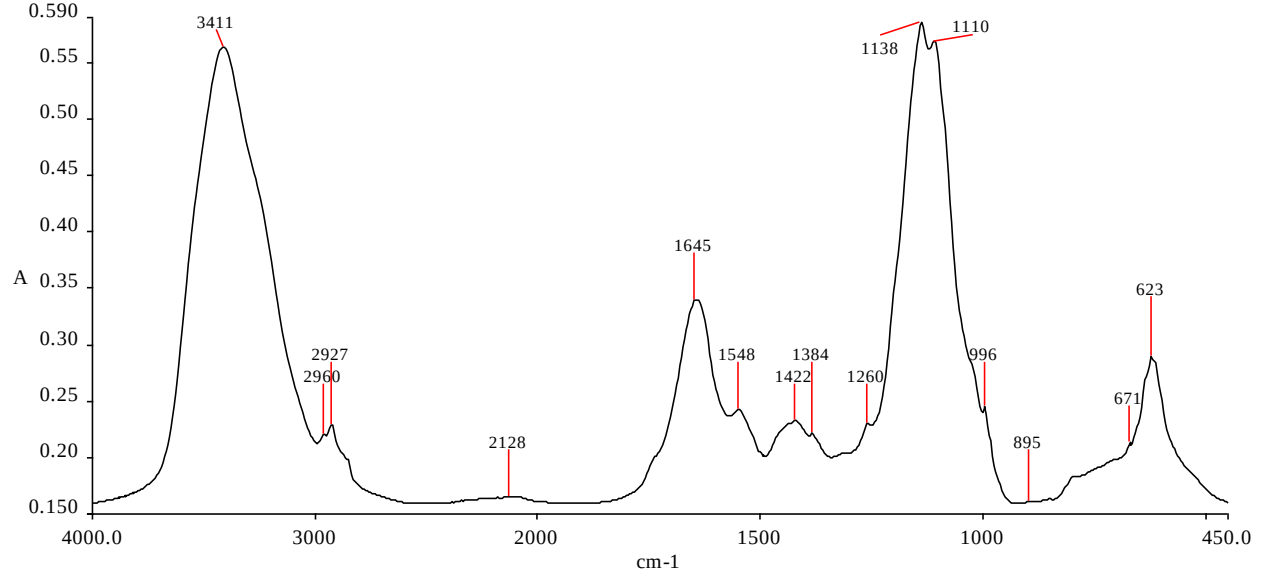
Tablo 8. Laboratura deneyleri sırasında süzme ile toplanan partikül maddenin %C ve N içerikleri

Set	Örn	mgC/L	mgN /L	C/N (atomic)
13	CC 24 /08.02.10	5,39	1,19	5,3
	CC 24 /12.02.10	6,54	1,14	6,7
	CC 24 /16.02.10	6,78	1,42	5,6
	CC 4 /08.02.10	5,60	1,02	6,4
	CC 4 /12.02.10	7,05	1,16	7,1
	CC 4 /16.02.10	5,17	1,18	5,1
7	PM 24 /02.09.09	8,31	2,34	4,1
	PM 24 /11.09.09	16,23	3,43	5,5
	PM 24 /18.09.09	27,37	4,57	7,0
	PM 4 /02.09.09	7,56	1,53	5,8
	PM 4 / 11.09.09	11,30	1,10	12,0
	PM 4/ 18.09.09	11,46	1,13	11,8
4	SC 24 /17.04.09	5,96	1,18	5,9
	SC 24 /24.04.09	10,02	1,81	6,5
	SC 24 /08.05.09	24,73	3,78	7,6
	SC 4 /17.04.09	6,06	1,23	5,7
	SC 4 /24.04.09	9,40	1,21	9,0
	SC 4 /08.05.09	12,70	1,10	13,5

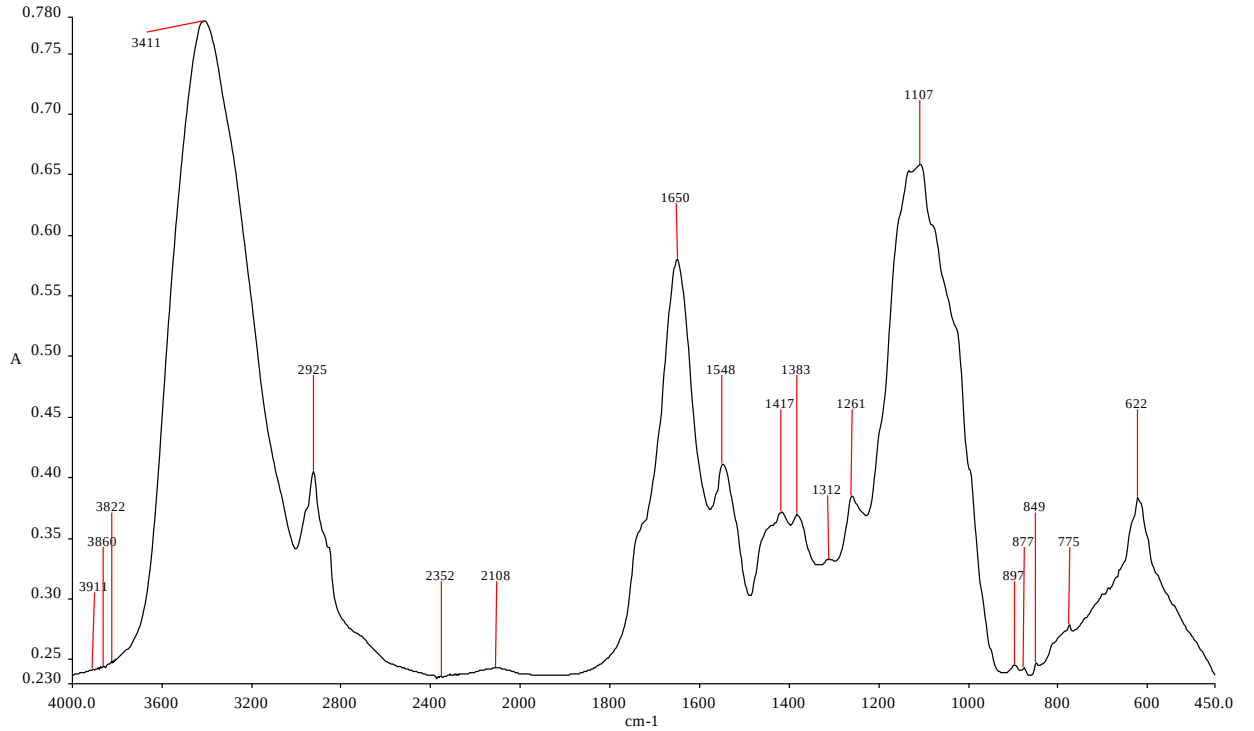
3.5.3. FTIR ile kimyasal içeriklerin incelenmesi

3.5.3.1. Laboratuarda tasarlanan deneylerden elde edilen sonuçlar

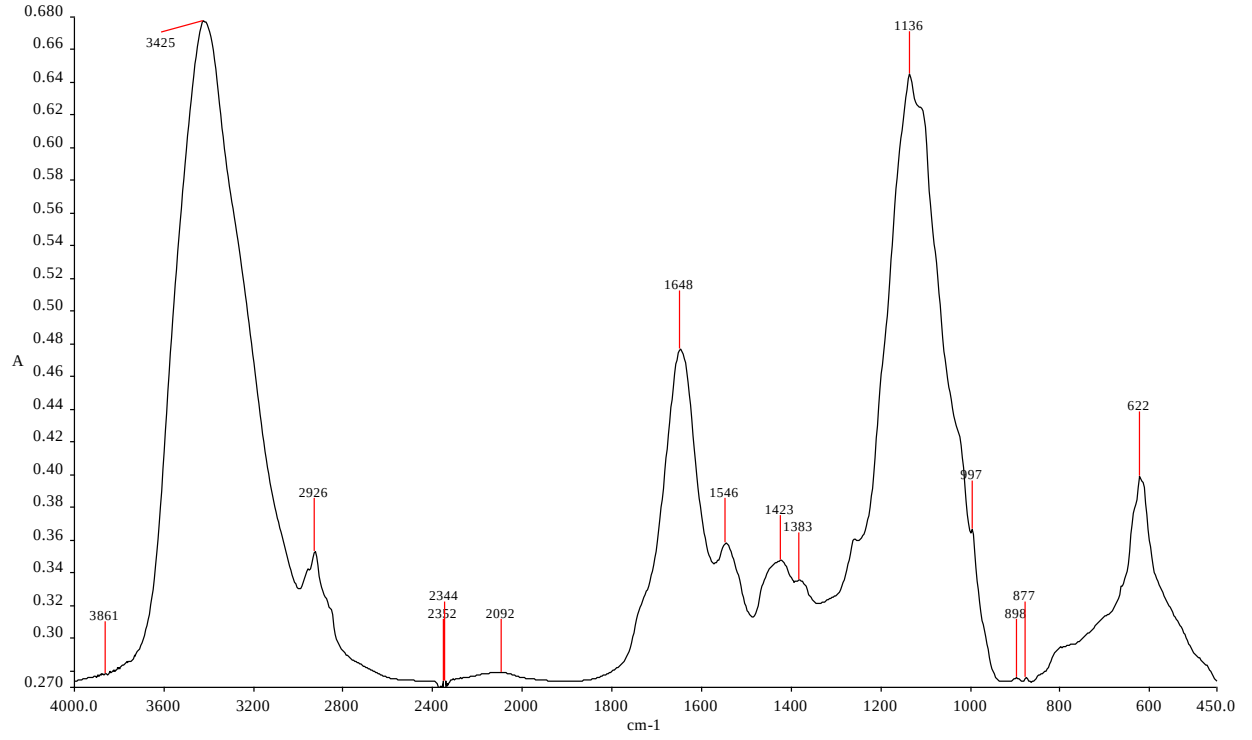
Laboratura kontrollü ortam deneylerinden, P. Micans ile yapılan deneylerde önemli miktarda karbonhidrat ve organik karbon birikimi olduğu saptanmış ve bu birikim arttığı hücrelerin logaritmik çoğalma ve ölüm evrelerinde bazı N/P oranlarında (24, 73, 146) jelimsi bulanık yapı gözlenmiştir. EK 2 'deki şekilde ön işlemlerden geçirilen bu jelimsi topaklar, kimyasal içeriğinin belirlenebilmesi için FTIR analizine tabi tutulmuşlar ve spetkral bulgular **Şekil 21a-e** 'de verilmiştir. Bu malzemelerin %C ve N azot değerleri de Tablo 6 da sunulmuştur.



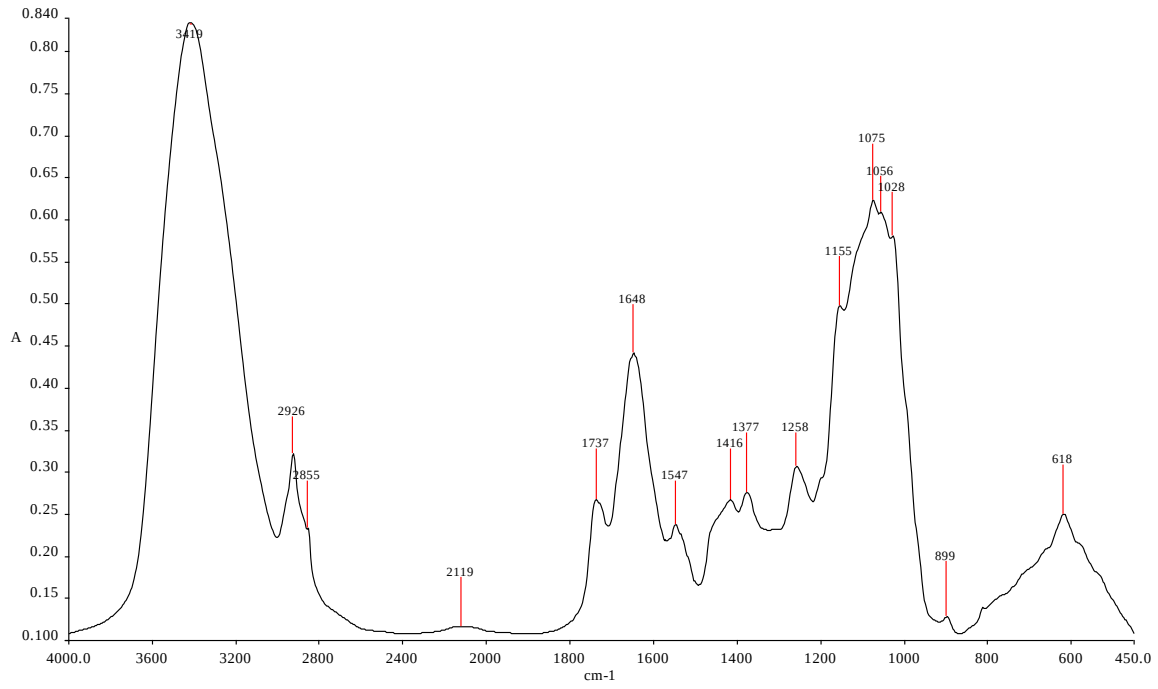
Şekil 21a. “01/07/2009 (I) musilaj N:P 73 P.micans ” müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu



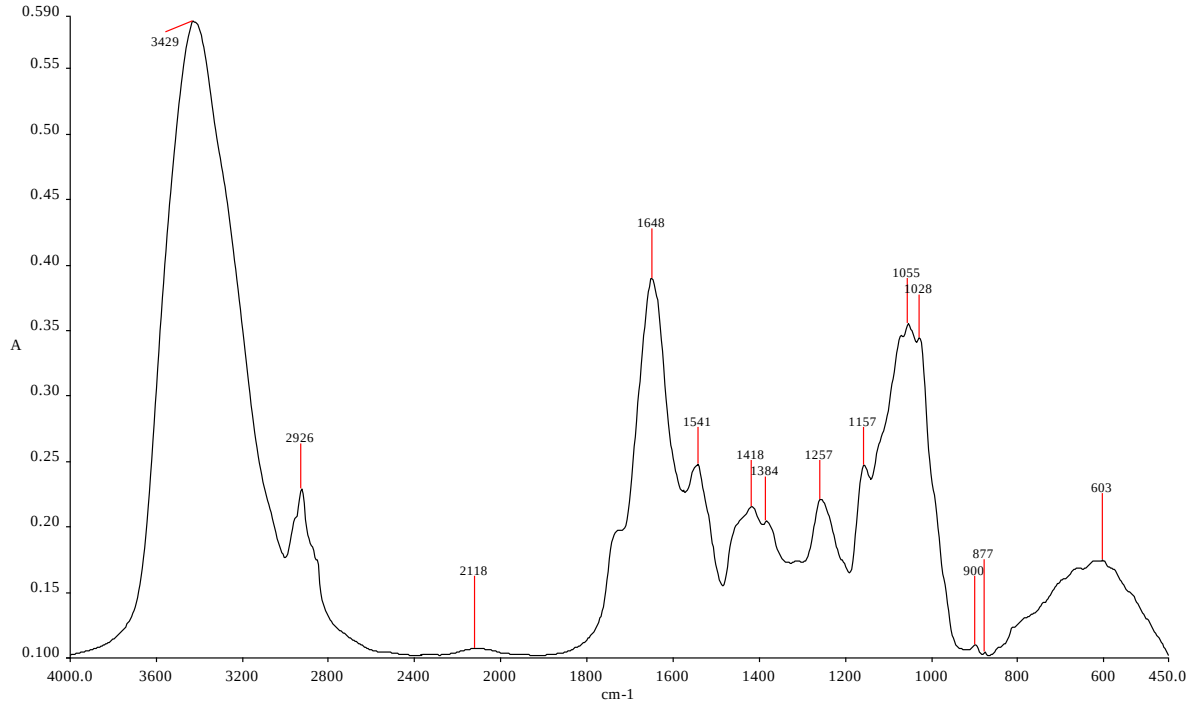
Şekil 21b. “02/07/2009 (II) musilaj N:P-146 P.micans” müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu



Şekil 21c. “03/07/2009 (III) musilaj N:P 24(kontrol) P.micans” müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu



Şekil 21d. “08/07/2009 (IV) N:P 8.1 P.micans” müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu



Şekil 21e. “07/10/2009 ekimli P.micans saf kültürüne ait FTIR Spektrumu

“N:P 73, N:P-146 ve N:P 24 (kontrol) P.micans” olarak kodlanan müsilaj numunelerin FTIR Spektrumları incelendiğinde (Şekil 21 a, b,c), her üç numunenin benzer kimyasal yapıda oldukları belirlenmiş, bunlara ait FTIR Spektrumlarında varlığı belirlenen absorpsiyon pikleri ve tanımladığı fonksiyonel grupları aşağıda sırasıyla (I, II, III) verilmiştir.

Wavenumber (cm ⁻¹)		Fonksiyonel grup	
I	II	III	
3411	3401	3423	–OH, Karbonhidrat
2927	2925	2926	CH ve CH ₂ alifatik
1645	1650	1648	C=O Amid I bandı
1541	1548	1547	C-N Amid II bandı
1258	1259	1423	C-N Amid III bandı
1138-1108	1107	1136	C-O-C polisakkarit
623	622	622	Stretching–aromatik halka ??

“N:P 8.1 P.micans (IV)” ve “5 P.micans saf kültürü (V)” den alınan örneklerin FTIR Spektrumları incelendiğinde (Şekil 21 d, e), her iki örneğin benzer kimyasal yapıda oldukları belirlenmiş ve FTIR Spektrumlarında varlığı belirlenen absorpsiyon pikleri ve tanımladığı fonksiyonel grupları aşağıda verilmiştir.

Wavenumber (cm ⁻¹)		Fonksiyonel grup	
IV	V		
3406	3428	–OH, Karbonhidrat	
2926	2926	CH ve CH ₂ alifatik	
-	1737	C=O ester, yağ asitleri	
1648	1648	C=O Amid I bandı	
1547	1541	C-N Amid II bandı	
1377-1258	1418-1257	C-N Amid III bandı	
1075	1055	C-O karbonhidrat	
618	603	stretching- aromatik halka??	

Her iki grup arasındaki farklar:

1) C=O ester, yağ asitlerine ait olan tepe noktası (1737 cm⁻¹) sadece V nolu yani P. micans'ın saf kültüründe gözlenmiştir. Deney I-IV 'teki spektraların ise benzer yapıda olması beklenir. Bu sebeple 1055'te V nolu örnekte görülen C-O karbonhidrat tepe noktasının sadece saf P.Micans kültürüne ait olduğu düşünülmektedir.

2) Deney IV ve V'in diğerlerinden en belirgin farkı ise "polisakkarit" tepe noktasının bulunmamasıdır. 2. ve 4. Ara Raporlar'da belirtildiği gibi bu özellik musilajın varlığına işaret eden en belirgin yapıdır.

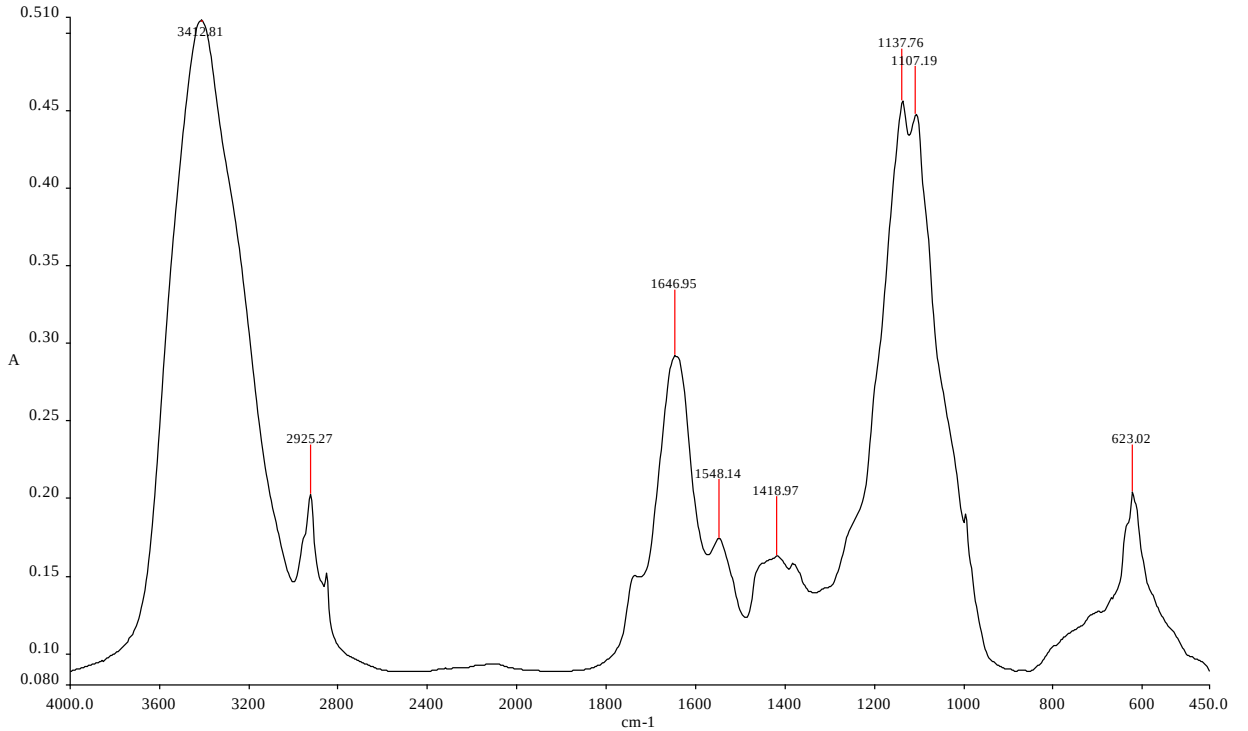
Bu bağlamda, P.micans ile yapılan N/P 73, 24 ve 146 oranlarında yapılan deneylerde musilaj yapısında oluşumların olduğu söylenebilir. N/P 8.1 ile P.micans kültüründen toplanan malzemede ise bu yapı yoktur.

3.5.3.2 Denizden alınan ve laboratuvar koşullarında bekleme sırasında oluşan musilaj topaklarından elde edilen sonuçlar

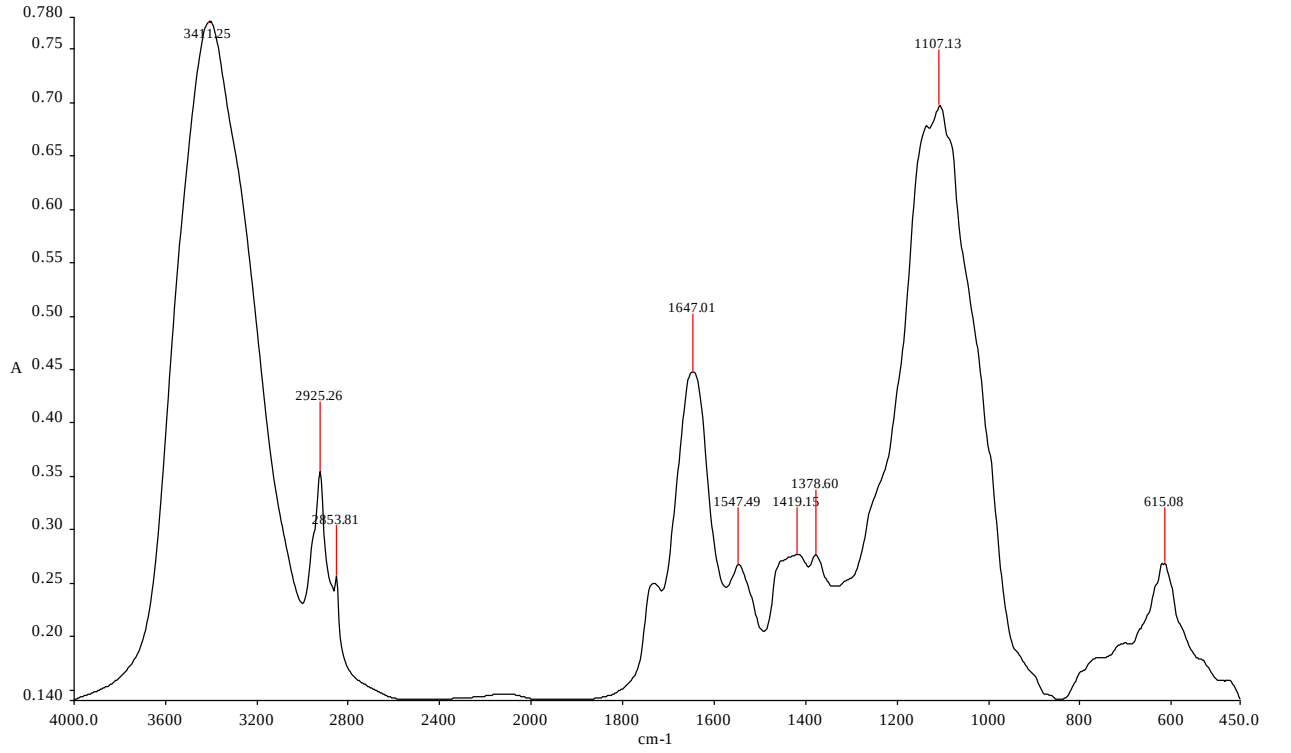
Haftalık örneklemeler sırasında 25/12/2009 ve 07/01/2010 tarihlerinde yüzey ve 0-10 m fitoplankton çekimlerinden toplanan örneklerde yoğun sayılarda Gonyaulax fragilis 'e rastlanmıştır. Bu örnekler, inceleme ve tür izolasyon amaçlı laboratuvara getirilmiş, bu işlemler gerçekleştirildikten sonra örnekler kavanozlarda sıcaklık (20 C sabit sıcaklık) ve ışık kontrollü (12:12 sa gündüz:gece) kültür odasında ağızları açık olarak dinlenmeye bırakılmışlardır. Alınan her iki örnek de laboratuara getirildiklerinde berrak olmalarına karşın 4-7 gün sonra bulutlanma ve ağ yapısında topaklanmalar oluşmuştur (Şekil 14, ayrıca 3. Ara rapor). Hücre plakalarının açılması ile hücre içi sıvıların dışarı çıkmış hali epifloresan çekimlerinde (Şekil 5) açıkça görülmektedir. Oluşan bulutlanma ve ağ yapıları aynı şekilde verilmiş olup, Ocak 2008 yılında Erdek su altı görüntüleri ile (Şekil 14, Ayrıca 1. Ara ve 3. Ara rapor) önemli benzerlikler göstermektedir.

Bu döneme baskın olduğu gözlenen türler, G.fargilis, P.micans ve Pseudo-Nitzchia'dır (Ek 2)

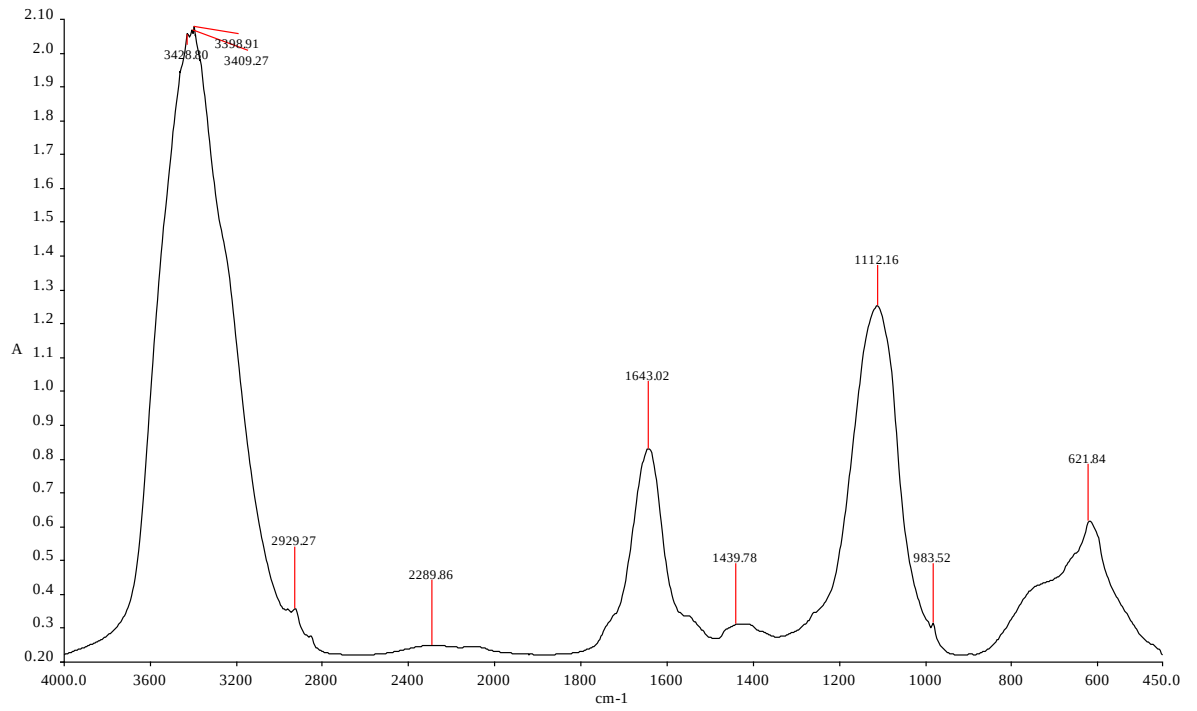
Bu oluşumların spektraları alınarak maddenin özelliği konusunda çalışılmıştır. Bu sonuçlar **Şekil 22 a-d'** de verilmiştir. Bu örneklerin %C ve %N değerleri ise Tablo 5a ve Tablo 7'de sunulmuştur.



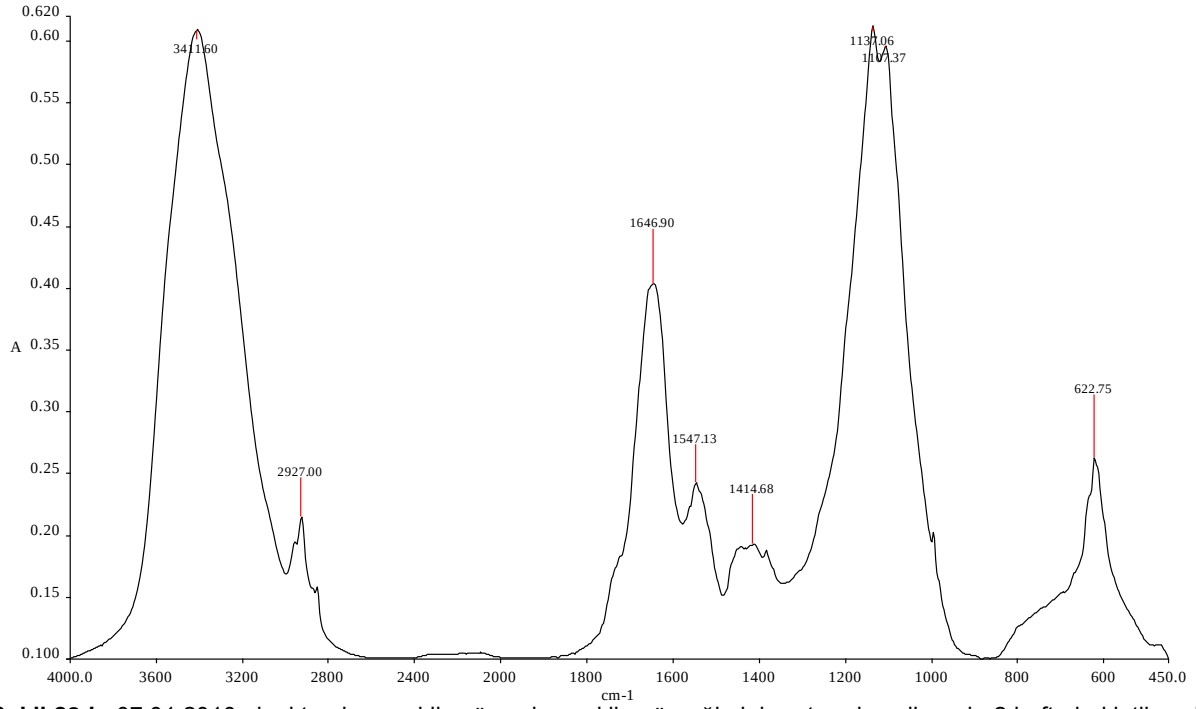
Şekil 22a. 28.12.2009 yüzey örneği içinde var olan musilaj malzemesine ait FTIR



Şekil 22b. 28.12. 2010, 0-10 m çekiminden elde edilen musilaj malzemesine ait FTIR



Şekil 22c. 07.01.2010 plankton kepçesi ile yüzeyden çekilen örneğin laboratuvar koşullarında 1 hafta bekletilmesi sırasında oluşan musilaj malzemesinin 13.01.2010 'de toplanan örneğine ait FTIR



Şekil 22d. 07.01.2010 plankton kepçesi ile yüzeyden çekilen örneğin laboratuvar koşullarında 2 hafta bekletilmesi sırasında oluşan musilaj malzemesinin 18.01.2010 'de toplanan örneğine ait FTIR

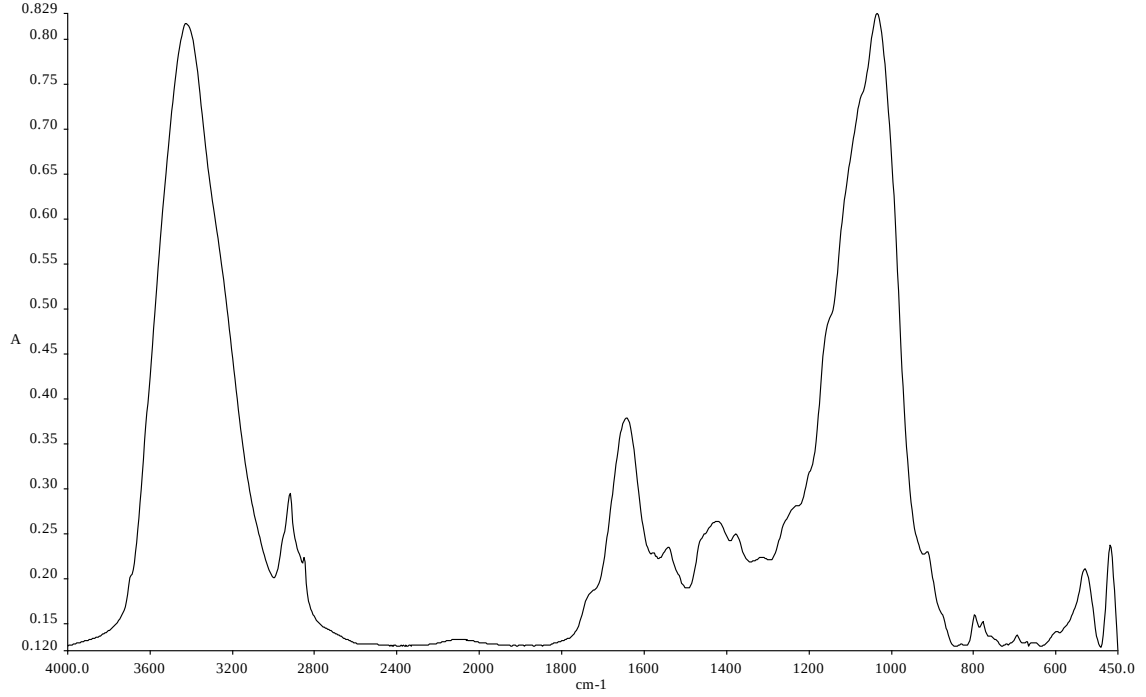
Yukarıda verilen FTIR Spektrumları incelendiğinde, kimyasal yapılarının benzer olduğu görülmektedir. Dört adet numunenin FTIR spektrumlarında varlığı belirlenen absorpsiyon pikleri ve tanımladığı fonksiyonel grupları aşağıda verilmiştir.

Wavenumber (cm ⁻¹)	Fonksiyonel grup
3421	-OH karbonhidrat
2925-2851	CH ve CH ₂ alifatik
1740	C=O ester, yağ asitleri (zayıf)
1646	C=O Amid I bandı
1547	C-N Amid II bandı
1137-1107	C-O-C Polisakkarit
622	C-H stretching

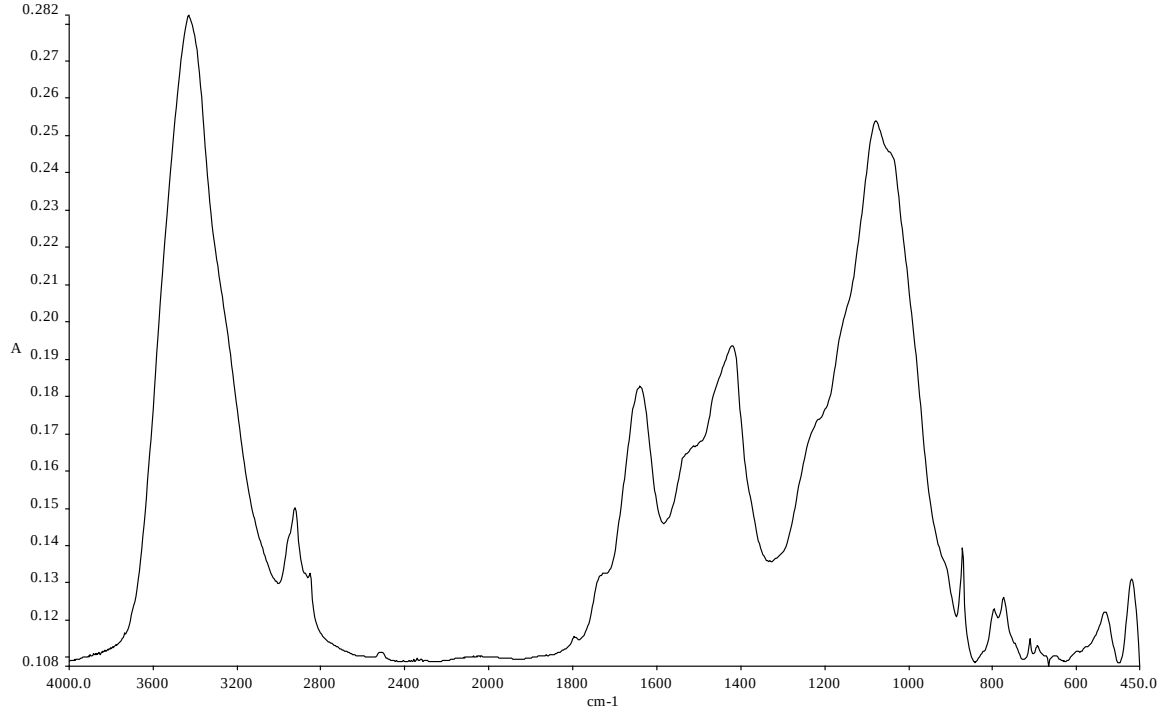
Aralık 2009-Ocak 2010 örneklerinde laboratuvar koşullarında oluşan ağ yapısındaki topakların FTIR spektralleri (Şekil 22a,b,c,d), İzmit 01/ 2008 ve 10/2008 deniz ortamından toplanan musilaj spektralleri, literatür ile (Bkz. 3.5.2.3) ve laboratuvar deneyleri sırasında toplanan malzemenin yüksek N/P oranlarında elde edilen FTIR spektralleri (Bkz. 3.5.2.1: Şekil 21 a,b,c) ile önemli benzerlikler göstermektedir. Özellikle polisakkarit fonksiyonel grubunun kuvvetli varlığı doğal ve kontrollü ortamda elde edilen ağimsi topaklanmaların musilaj oluşumları olduğunun kanıtıdır.

3.5.3.3. Deniz ortamından elde edilen musilaja ait spektralar

“10/2008 Karamürsel 5/5-UF” ve “01/2008 İzmit 5/5-UF” olarak kodlanan müsilağ numunelerin FTIR Spektrumları incelendiğinde, her iki numunenin benzer kimyasal yapıda oldukları belirlenmiştir. Bu örneklerin %C ve N değerleri Tablo 5a’da sunulmuştur. Her iki numunenin FTIR Spektrumlarında varlığı belirlenen absorpsiyon pikleri (Şekil 23a,b) ve tanımladığı fonksiyonel grupları aşağıda verilmiştir.



Şekil 23a. 10/2008 Karamürsel müsilağ numunesinin FTIR Spektrumu



Şekil 23b. 01/2008 İzmit müsilağ örneğinin FTIR Spektrumu

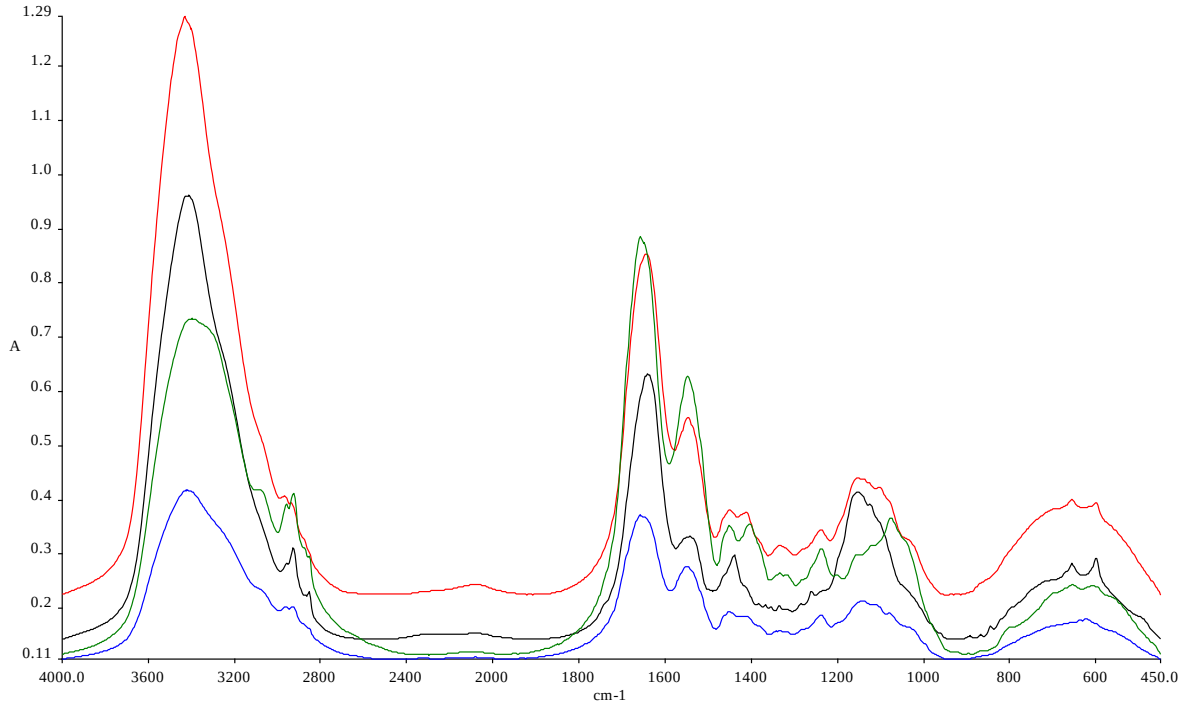
Wavenumber (cm ⁻¹)		Fonksiyonel grup
“10/2008 Karamürsel	“01/2008 İzmit 5/5-UF”	
5/5-UF”		
3423	3428	–OH, Karbonhidrat
2923	2923	CH ve CH ₂ alifatik
1736	1728	C=O ester, yağ asitleri
1643	1643	C=O Amid I bandı
1541	1528	C-N Amid II bandı
1152	1149	C-O-C polisakkarit
1072	1078	C-O karbonhidrat
1034	1039	SiO ₂
692	691	CH aromatik halka

Literatürde (Mecozzi vd. 2008; Kovac vd. 2002; Kovac vd. 2006;), doğal ve sentetik müsilağ numuneleri için tanımlanan FTIR absorpsiyon pikleri ise aşağıda verilmiştir.

Wavenumber (cm ⁻¹)	Fonksiyonel grup
3615	OH biyogenik silika
3450	OH karbonhidrat
3250	NH ₂ aminoasit grup
3060	CH aromatik halka
3015	CH alken grup
2850-2950	CH ve CH ₂ alifatik
2260	C=C aromatik halka
1740	C=O ester, yağ asitleri
1700-1715	C=O yağ asitleri
1510	lignin yapısı (aromatik)
1650	C=O Amid I bandı
1540	C-N Amid II bandı
1240-1340	C-N Amid III bandı
1120-1160	C-O-C polisakkarit
1080	C-O karbonhidrat
1020	SiO ₂ silika
690	CH aromatik halka
897	lignin yapısı (aromatik)

3.5.3.4. Jelimsi zooplankton (Deniz anası) FTIR spektrumu

Son olarak, deniz anasına ait FTIR yapısının incelenerek müsilağ ve plankton FTIR'ı ile karşılaştırılması düşünülmüştür. Bunun için *A. aurata* 'nın farklı birey ve bölgelerinden alınan örneklerin %C ve N içerikleri (Tablo 5b) ve FTIR özellikleri (Şekil 24) incelenmiştir. **Şekil 24'te** analiz edilen örneklerin tümünün FTIR çıktıları mevcuttur.



Şekil 24. Aurela aurata'nın farklı birey ve bölgelerine ait FTIR spektrumları

- : Denizanası 1 25.08.10/03.09.10 F-Dr
- : 16.09.10 suzmeli/21.09.10 Deniz A.4
- : 07.09.10 suzmeli/21.09.10 Deniz A.3
- : Denizanası 2 27.08.10 suzme/03.09.10 F-Dr

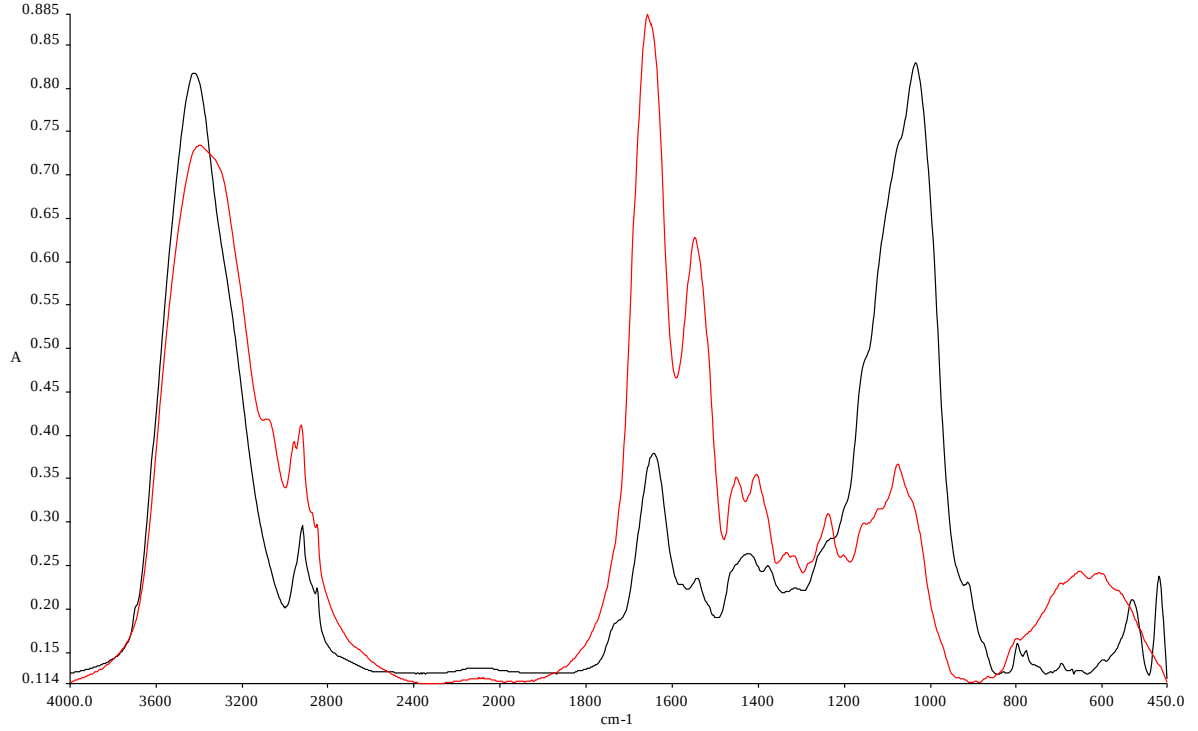
FTIR Spektrumları incelendiğinde, her dört numunenin benzer kimyasal yapıda oldukları görülmektedir. Dört numunenin FTIR spektrumunda varlığı belirlenen pikler ve tanımladığı fonksiyonel gruplar aşağıda verilmiştir.

Fonksiyonel grup (cm ⁻¹)	Fonksiyonel grup
3700-3000	-OH ve -NH gruplarından kaynaklanan hidrojen bağı
2923	-CH ₂ ve -CH ₃ alkil gruplarına ait Stretching vibration bandı
1654	C=O Amid I bandı
1547	C-N Amid II bandı
1400-1450	İnorganik karbonatlar
1237	C-N Amid III bandı
1075	C-O karbonhidrat

Her dört örnekte de, musilaj örneklerinde oldukça baskın olarak görülen ve 1120-1160 cm⁻¹ de belirlenen C-O-C polisakkarit yapısının olmadığı ya da çok zayıf yapıda olduğu görülmüştür (**Şekil 25**).

Her dört numunenin FTIR spektrumu incelendiğinde, numunelerin karakteristik protein yapısı ile uyum içinde olduğu görülmektedir. Bunu da belirgin olarak gözükten amid bantları doğrulamaktadır.

10/2008 Karamursel 5/5-UF kodlu Musilaj numunesi ile ` Denizanasi 1 25.08.10/03.09.10 F-Dr` kodlu Denizanasi numunesinin FTIR spektrumlarının karşılaştırması ise Şekil 25'te verilmiştir.



—: 10/2008 Karamursel 5/5-UF
—: Denizanasi 1 25.08.10/03.09.10 F-Dr

Şekil 25. Musilaj örneği ile deniz anasına ait FTIR 'ın karşılaştırması

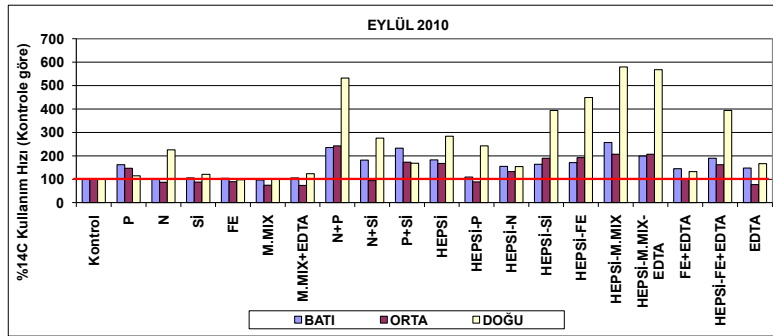
3.6. Sınırlayıcı Besin Elementi çalışmaları

Projenin bu bölümü ile, mevsimsel olarak kısa süreli sınırlayıcı besin elementi (SBE) çalışmalarının laboratuvar koşullarında tekrarlanması ve Körfez'de hangi elementin sınırlayıcı olduğunun güncel koşullarda belirlenmesi , bunun da musilaj olaylarına yol açan ortam koşullarındaki SBE durumunun anlaşılmasına yardımcı olması için gerçekleştirilmiştir.

Proje döneminde İzmit Körfezi'nin değişik bölgelerinde gerçekleştirilen çalışmalar **Tablo 9**'da verilmiştir. 2009 yılında yapılan çalışmalar daha önceki rapor dönemlerinde değerlendirilmiştir. Eylül 2010'da İzmit Körfezi'nin tamamını temsil edecek şekilde Doğu, Orta ve Batı olmak üzere 3 noktada SBE çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Eylül 2010'da Körfezin Batı ve Orta bölgesinde P sınırlayıcı olurken Doğu bölgesinde N 'ın tek başına sınırlayıcı olduğu tespit edilmiştir. Ancak Si daha önceki eylül aylarında olduğu gibi Doğu ve Batı kısımda az olarak etkili ederken Orta kısımda bir etki yapmamıştır. Bu ayda yapılan biyodeneyde Fe ve diğer metal karışımlarının Körfez'de fitoplankton üretimi üzerine etki etmediği görülmüştür (**Şekil 26**).

Tablo 9. İzmit Körfezi Sınırlayıcı Besin elementi çalışma zamanları ve örnekleme noktaları

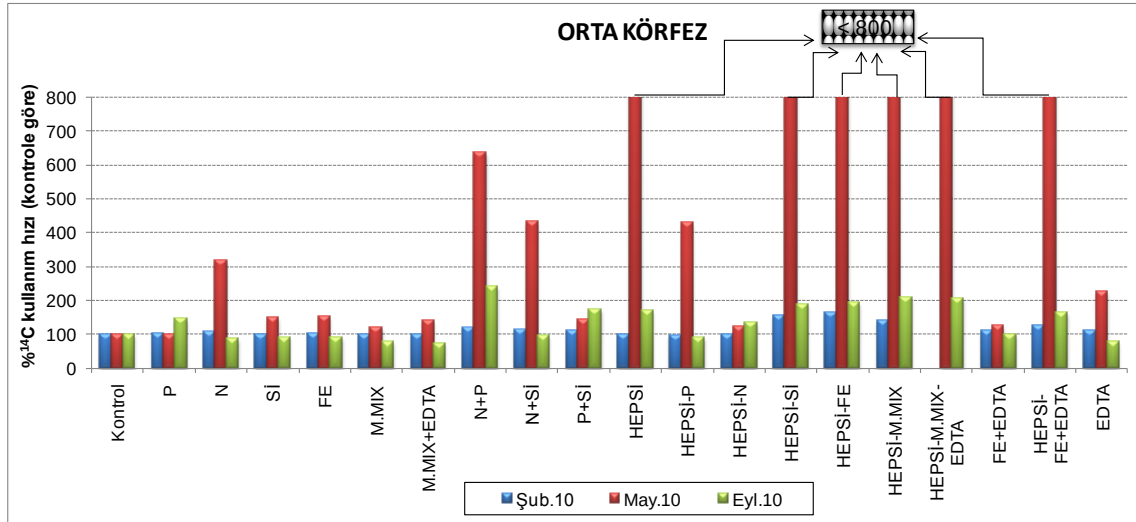
ÖRNEKLEME ZAMANI	ÖRNEKLEME YERİ	ÖRNEKLEME YERİ KOORDİNANTLARI	
03/09/2009	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
10/10/2009	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
05/02/2009	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
09/04/2009	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
16/04/2009	İZMİT DOĞU KÖRFEZ	44'209' N	54'807' E
25/06/2009	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
01/07/2009	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
15/09/2009	İZMİT DOĞU KÖRFEZ	44'209' N	54'807' E
15/09/2009	İZMİT ORTA KÖRFEZ	44'450' N	42'300' E
16/09/2009	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
24/02/2010	İZMİT DOĞU KÖRFEZ	44'209' N	54'807' E
24/02/2010	İZMİT ORTA KÖRFEZ	44'450' N	42'300' E
25/02/2010	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
29/04/2010(MAYIS 2010)	İZMİT DOĞU KÖRFEZ	44'209' N	54'807' E
29/04/2010 (MAYIS 2010)	İZMİT ORTA KÖRFEZ	44'450' N	42'300' E
30/04/2010 (MAYIS 2010)	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
(EYLÜL 2010)	İZMİT DOĞU KÖRFEZ	44'209' N	54'807' E
(EYLÜL 2010)	İZMİT ORTA KÖRFEZ	44'450' N	42'300' E
(EYLÜL 2010)	TÜBİTAK AÇIKLARI (BATI KÖRFEZ)	45'723' N	27'720' E
Sonbahar		İlkbahar	
		Yaz	
		Kış	

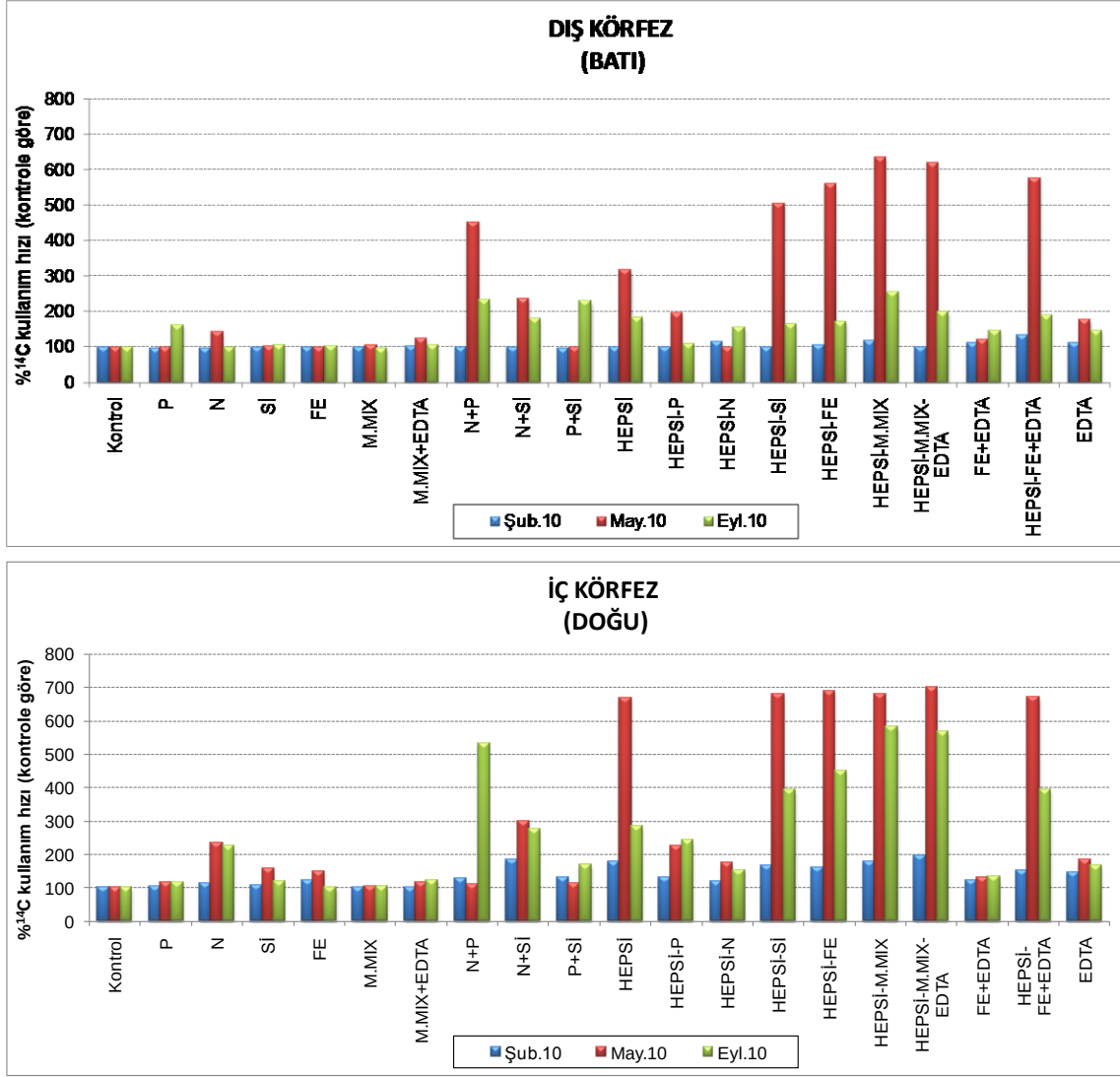


Şekil 26. İzmit Körfezi'nde Eylül 2010'da SBE durumu

P ilavesinin tek başına olduğu durumda Körfez'in batı bölgesinde %62 orta bölgesinde %47 doğu bölgesinde ise %14 oranında kontrolden yüksek üretim gerçekleşmiştir. P 'un ortamdan çekilmesi (Hepsi-P) durumunda üretim Batı ve Orta bölgeler için kritik seviyeye düşerken Doğuda etkili olmadığı aksine ortamda var olan azotun üretimi %143 oranında arttırdığı gözlenmiştir. N'un ortamdan çekilmesinde ise Batı ve Orta bölgede üretim kontrole göre %55 ve 33 oranında artış gösterirken Doğu'da doğal ortamdaki N konsantrasyonunun diğer bölgelere göre yüksek olmasından dolayı ortama fazla N ilavesinin yapılmaması durumunda bile üretim kontrole göre %54 oranında artış sağlamıştır. Si ortamdan çekildiği durumda daha az etki etmiştir. Böylece sonbahar mevsiminde özellikle doğuda N sınırlayıcı gözükürken Batıda P sınırlayıcı bulunmuştur. N ve P'in birlikte ilave edildiği durumlarda Doğu bölgesinde üretim kontrole göre %400 Batı ve Orta bölgede ise % 130-140 arasında artış sağlamış olması Körfezi ötrofikasyon açısından riskli bir duruma sokmaktadır. Yine P ve Si'nin birlikte olması da en çok Batıda olmak üzere diğer bölgelerde de risk oluşturmaktadır.

2010 yılında 3 mevsimde farklı besin tuzları sınırlayıcı etki göstermiştir. 2010 Şubat ayında fitoplankton hücre sayısının bir önceki yıla göre çok düşük olmasından ortamda bir besin tüketimi gerçekleşmemiştir. Dolayısıyla Orta ve dış körfezde kış mevsimi için sınırlayıcı etki gösteren bir besin elementi bulunamamıştır (**Şekil 27**). İç körfezde ise N,P ve Si gibi major elementler tek başlarına üretim için yeterli olmazken N ve P'in birlikte ilavelerinde üretimde etkili olmuştur. İlkbahar ve sonbahar mevsimini temsilen Mayıs ve Eylül 2010'da gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda azotun tüm körfezde sınırlayıcı etki yaptığı tespit edilmiştir. Bu dönemde baskın fitoplankton türlerinin dinoflagellat türleri olması azotun tercih nedenini çok iyi açıklamaktadır. Yine bu aylarda N ve P'un birlikte olmasında fitoplankton için sınırlayıcı etki olduğunun işaretidir (Şekil 2).





Şekil 27. SBE'nin 2010 yılı kış, ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde Dış, Orta ve İç körfezdeki değişimleri

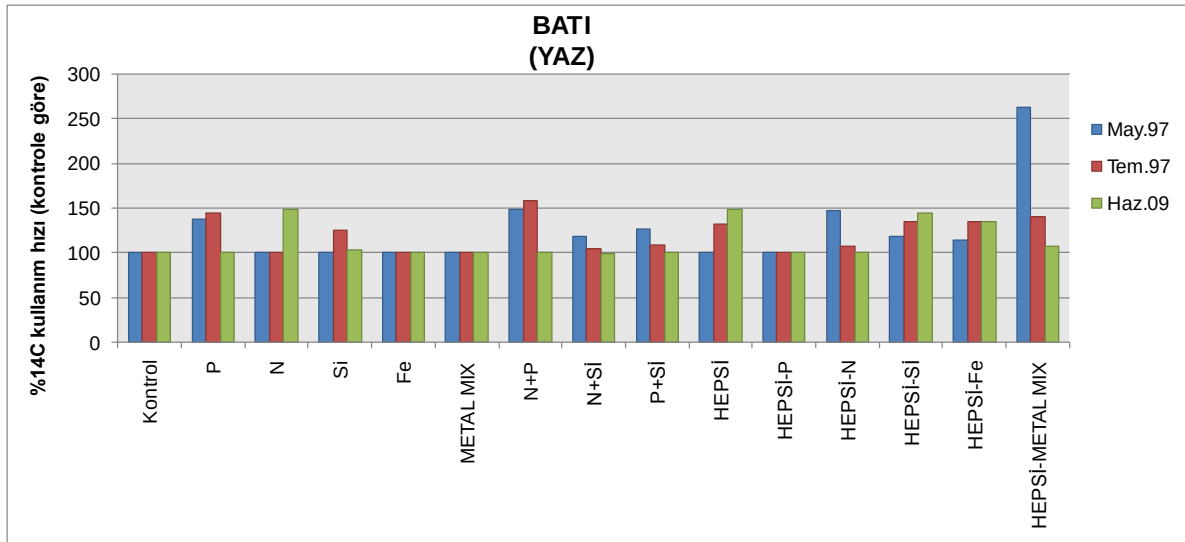
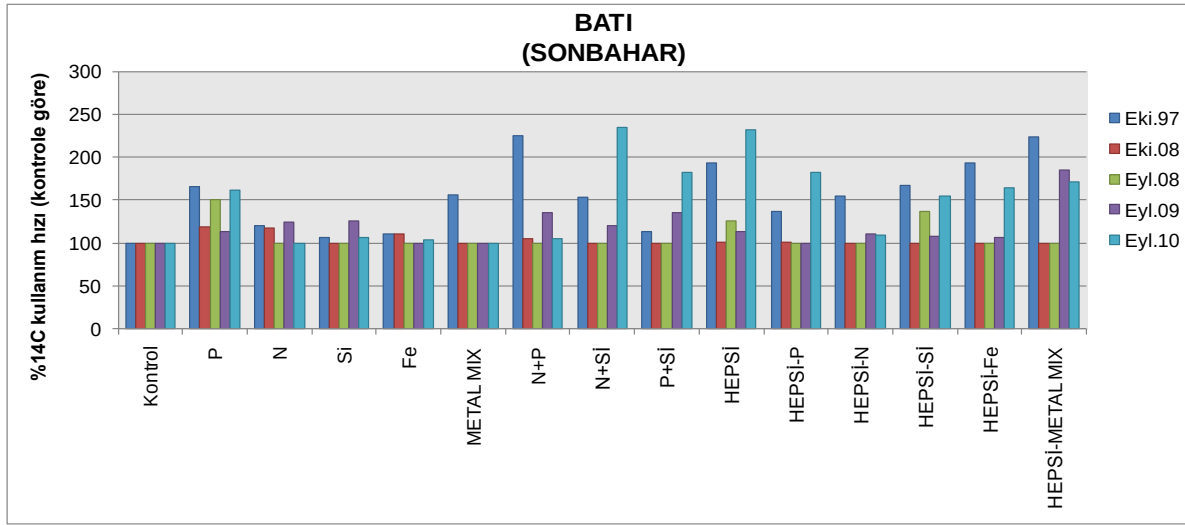
İzmit Körfezi'nde 1997-1998 ile 2008-2010 yıllarında mevsimsel olarak yapılmış sınırlayıcı besin elementi biyodeneysel çalışma sonuçları (**Şekil 28, Şekil 29, Şekil30**) karşılaştırılmış ve geçen 10 yılı aşkın bir sürede aynı aylarda değişim sürecinin çoğunlukla birbirine benzediği bulunmuştur.

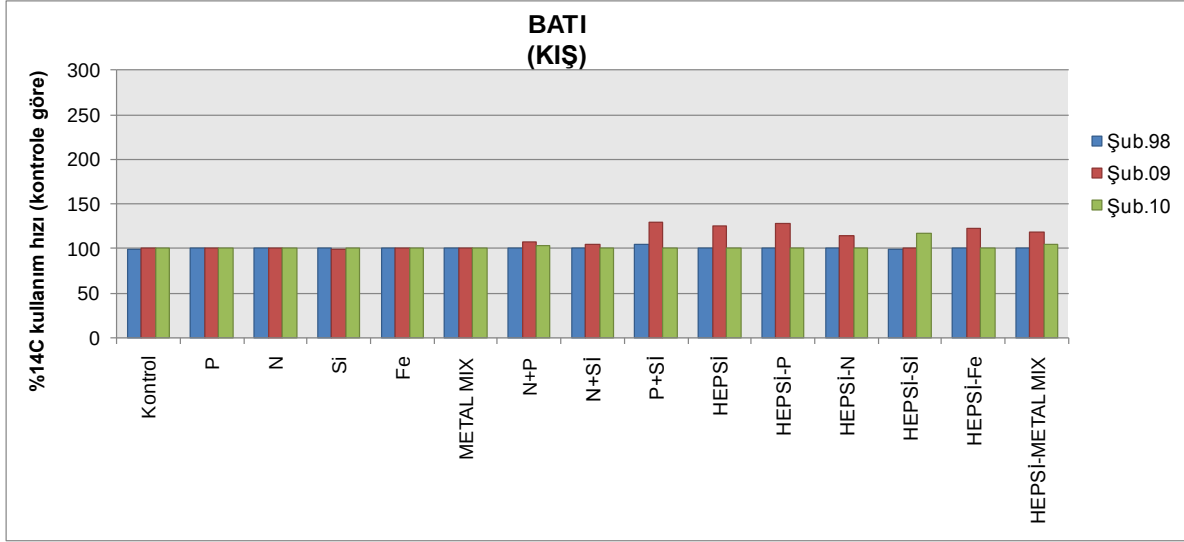
Kış aylarında yıllar bazında Körfezin 3 bölgesinde de önemli bir sınırlayıcı etki gösteren besin tuzu bulunamamıştır. 2009 kış aylarında ise diatomların etkisiyle ortama fazladan P ve Si ilavesinde üretimde kontrole göre artış olduğu gözlenmiştir.

Yaz aylarında ise orta ve iç körfezde ağırlıklı olarak N'un sınırlayıcı olduğu özellikle 2010'da Si ve Fe'inde bulunduğu bir miktar sınırlayıcı etki gösterdiği, hatta bunların üçünün birlikte olduğu kombinasyonlarda üretimdeki ¹⁴C kullanımının kontrole göre %600'un üzerinde olduğu bulunmuştur. Dış körfezde ise 10 yılda farklılık gözlenmiştir. 1997 yaz aylarında dış körfezde P sınırlayıcı iken 2009'da N sınırlayıcı besin elementi olmuştur. Aynı zamanda son yıllarda fitoplanktonda birey sayısının artması ve dinoflagellat grubu türlerin yıl boyunca baskınlığı da bunu desteklemektedir. 1997-1998 yıllarında da özellikle Mayıs- Haziran aylarında baskın olan fitoplankton grubunun dinoflagellatlar olduğu açıklanmıştır (*Prorocentrum micans*, *Noctilica scintillans* ve bazı

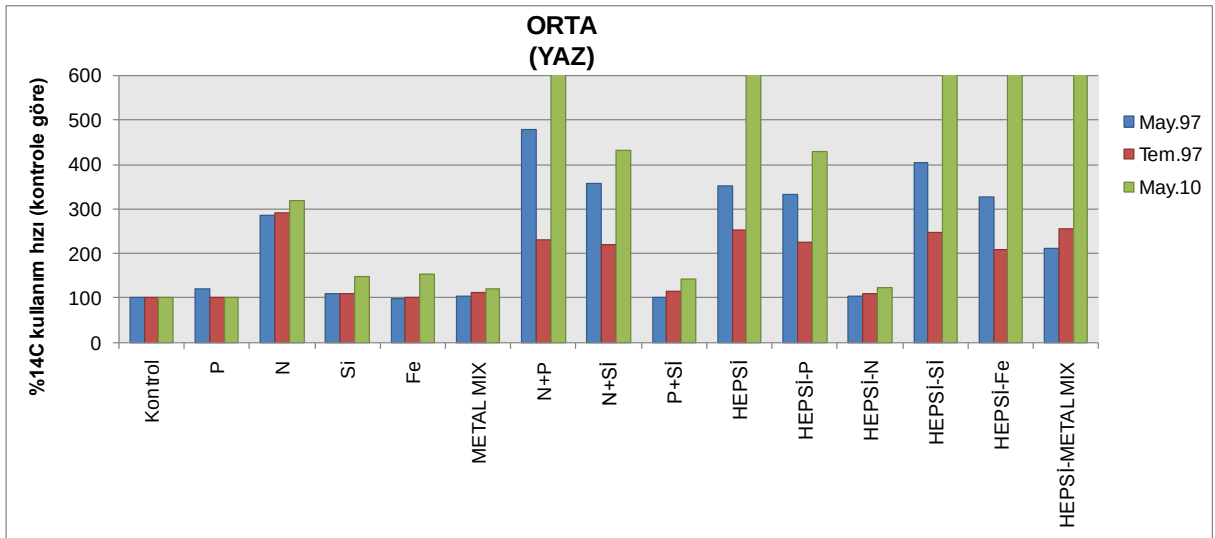
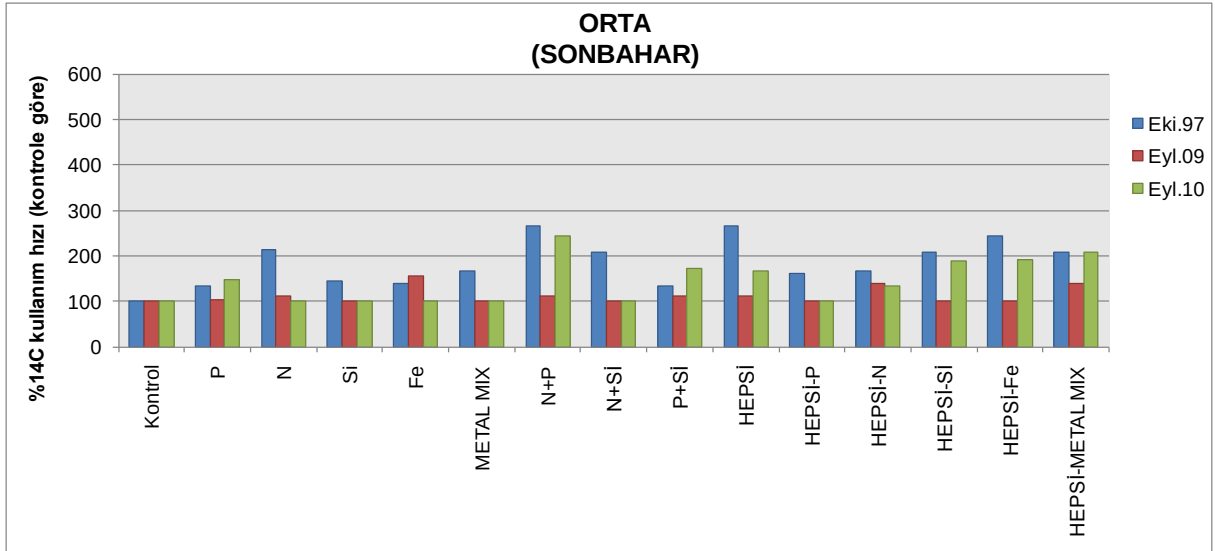
Gonyaulax sp. türleri) (Tüfekçi vd. 1998). Bugünde bu türlerin sadece yaz aylarında olmayıp yıl genelinde kendilerini gösterdikleri görülmektedir.

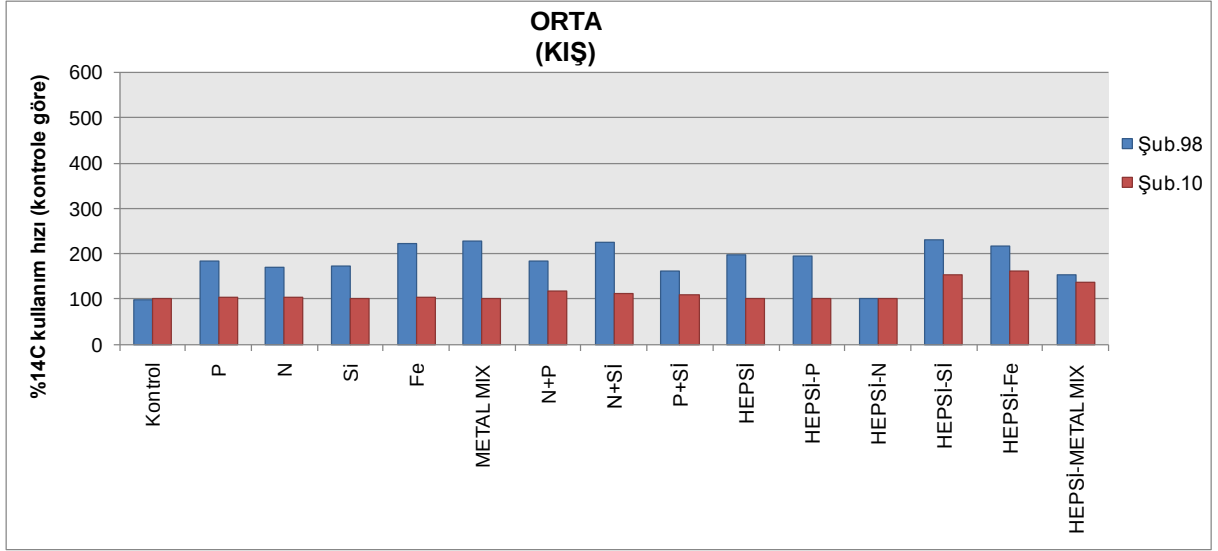
Sonbahar mevsimi aylarında da yıllar bazında önemli farklar gözlenmemiştir. Dış ve orta körfezde Eylül-Ekim aylarında genellikle P baskın olmakla beraber N ve P'in birlikte ilavelerinde de bazen sınırlayıcı olmuştur. İç körfezde ise yıllar bazında genellikle N sınırlayıcı iken N ile beraber diğer majör ve minör elementlerin de ortamda olması ötrofikasyon riskini arttırmaktadır. 10 yılı aşkın bir sürede aynı aylarda değişim sürecinin çoğunlukla birbirine benzediği, Doğu Körfez'den sonra Orta ve dış (Batı) Körfez'in de N ve P girdilerine karşı hassas olduğu sonucuna varılmıştır.



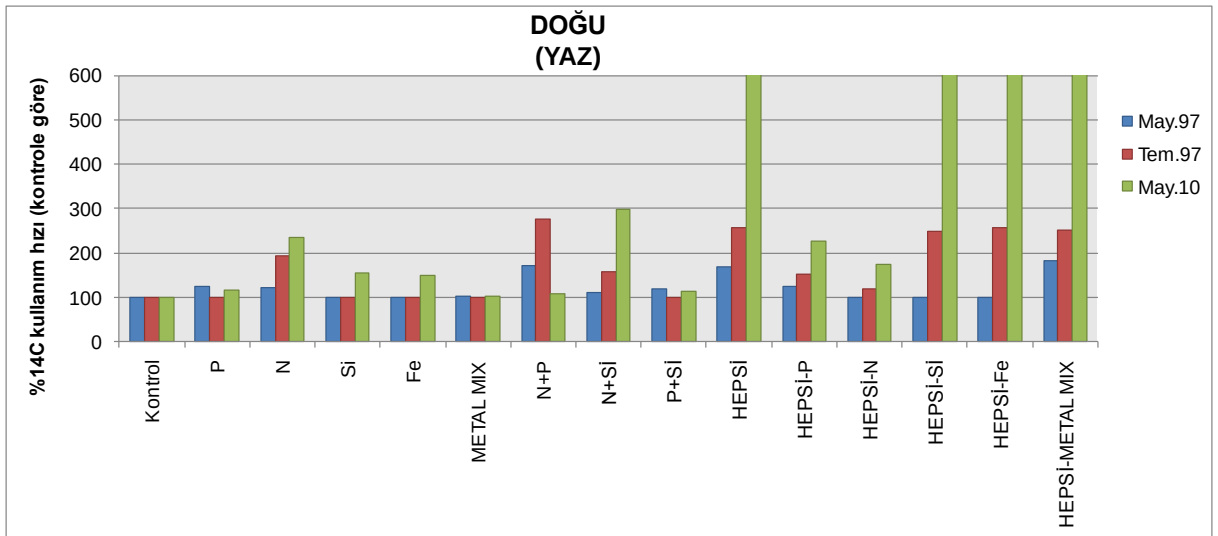
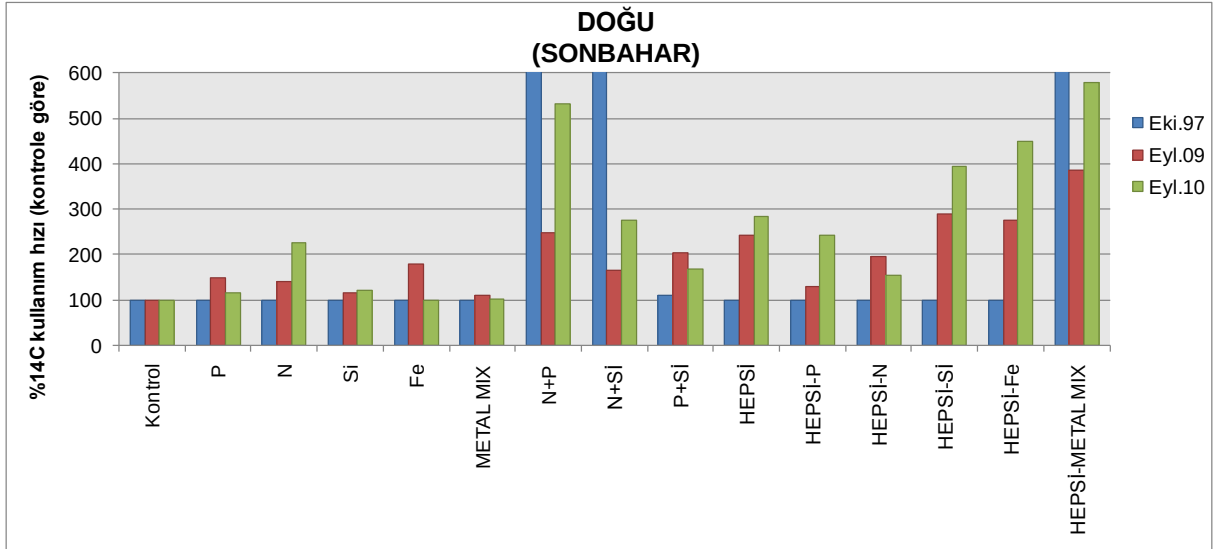


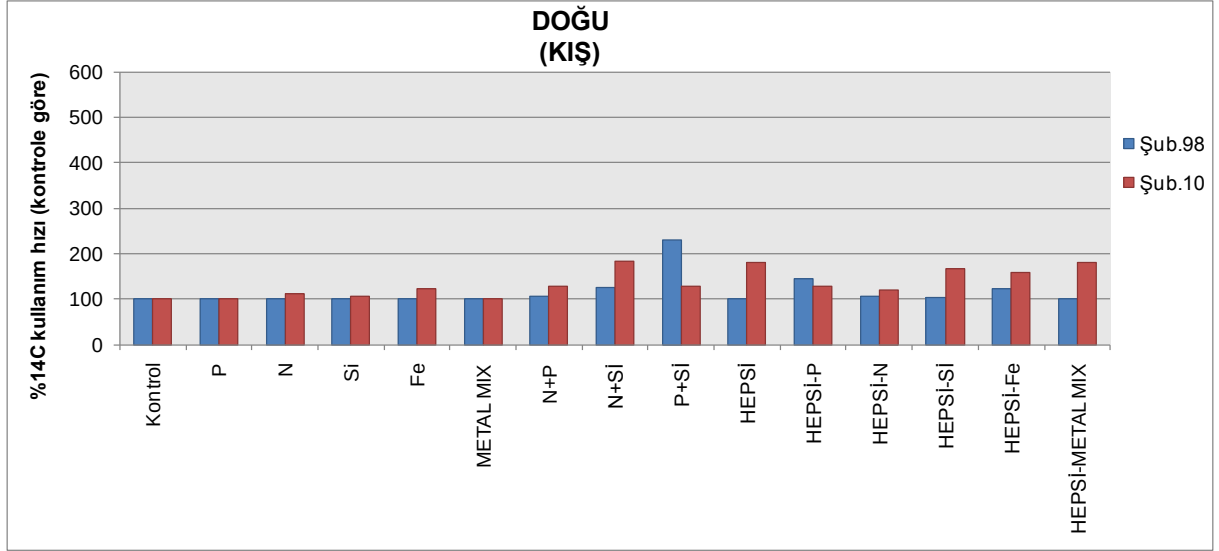
Şekil 28. Dış Körfez'de (Batı) 1997-1998 yılları ile 2008-2010 yıllarında mevsimsel olarak sınırlayıcı besin elementinin karşılaştırılması.





Şekil 29. Orta Körfez’de 1997-1998 yılları ile 2008-2010 yıllarında mevsimsel olarak sınırlayıcı besin elementinin karşılaştırılması





Şekil 30. İç Körfez'de (Doğu) 1997-1998 yılları ile 2008-2010 yıllarında mevsimsel olarak sınırlayıcı besin elementinin karşılaştırılması

4. SONUÇLAR

Gerçekleştirilen bu Proje ile Marmara Denizi'nde 2007 yılından beri sıkça gözlenen- 4 kütleli olay- musilaj olaylarının oluşum koşullarına, tetikleyici olabilecek faktörlere ışık tutulmuştur. Projenin en özgün yönü ışık-sıcaklık-besin kontrollü laboratuvar koşullarında farklı fitoplanktonlar (toplam 4 tür) ile denemeler yapıp musilaj koşullarının yaratılmaya çalışılması ve organik madde salınımlarındaki değişim koşullarının incelenmesi olmuştur.

Bu deneylerde edilen en belirgin bulgular şunlardır:

- Deneylerin çoğunluğunda çözünmüş organik karbonun ve karbonhidratların hücrelerin artışının durduğu ve ölüme geçtikleri 2. haftadan sonra arttığı görülmüştür.
- Fosforun sınırlı olduğu testlerde çözünmüş organik karbon birikiminin daha belirgin olduğu görülmüştür.
- Karbonhidrat birikimleri azot ve fosforun sınırlayıcı olduğu deneylerde aynı seviyelerde birikim göstermiştir
- Azotun sınırlayıcı olduğu durumda deneyin ilk haftası sonunda, dışarıdan NH₄ yüklemesi yapıldığında ÇOK ve CH birikimleri hızla artmıştır. Bu da deniz ortamındaki benzer bir koşulda evsel atıksulardan kaynaklı ani ve geniş hacimli bir girdinin ortamda daha fazla organik madde birikimine neden olabileceğinin göstergesidir.
- Deneylerde N/P oranlarını değiştirmeden besin eklemeleri azaltıldığında, diatomların daha fazla organik madde salgıladığı görülmüştür.
- Deneylerde yapışkan-kaygan özelliğe sahip topaklanmalar sınırlı deneyde tespit edilmiştir, bunlar da daha çok fosfor sınırlamasının yapıldığı P.micans kültürü ile yapılan denemelerde gerçekleşmiştir.
- Kesikli deneylerdeki düşük hacimle (1-2 lt) çalışma zorunluluğu deneyleri ve ölçülebilecek parametreleri sınırlamıştır
- Tek tür ile yapılan deneyler organik madde salınım koşulları hakkında fikir vermekle beraber, kontrollü deneylerin daha yüksek hacimlerde besin eklemeleri ile yerinde (mikrokosmlarda) yapılması daha sağlıklı sonuçların elde edilmesine olanak tanır. Projenin son uzatma dönemi için ek bir çalışma olarak gerçekleştirilmesi planlanan MAM- önu mikrokosm çalışmaları bu dönemde musilaj olayında önemli katkısı olduğu anlaşılan türün (G. fragilis) ürememesi nedeni ile gerçekleştirilmemiştir.

Musilaj topakları üzerindeki kimyasal analizlere ait bulguların özet olarak değerlendirilmesi sonucunda ise aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Deniz ortamından elde edilen musilaj ve laboratuvar ölçeğinde elde edilen topakların FTIR içerikleri literatürdeki musilaj FTIR spektralleri ile karşılaştırıldığında hepsinin oldukça benzer yapıda olduğu gözlenmiştir. Bu yapıdaki belirgin özellik polisakkarit ve karbonhidrat bantlarının çok belirgin olması bu da musilaj olayının fitoplankton kökenli maddelerden kaynaklandığını göstermesidir
- Musilaj oluşumunda kilit rol oynadığı diğer araştırmacılar tarafından savlanan jelimsi organizmaların FTIR içerikleri yukarıda sözü edilen yapıdan oldukça farklı bulunmuş bu maddenin içeriğinde amid gruplarının (protein) baskınlığı görülmüştür.
- Bu malzemelerin tümünün % organik karbon ve azot içerikleri de incelenmiştir. Denizden elde edilen musilajda %C değerleri belirgin olarak yüksek ölçülmüştür. Bu da doğal ortamda bu malzemenin çevresindeki canlı ve cansız karbon kaynaklarını içine hapsettiğinin bir göstergesidir.
- C/N oranları fitoplankton kökenli musilaj topaklarında deniz anasına göre oldukça yüksek seviyelerde bulunmuştur.

Deniz ortamında yürütülen çalışmalarda da önemli sonuçlar elde edilmiştir. Belirgin olarak ulaşılan sonuçlar:

- Musilaj dönemlerinde ve hemen sonrasında Gonyaulax fragilis'in ortamda baskın hale geçtiği ve bu türün Marmara Denizi'nde ilk kez bu yoğunluklarda bulunduğu tespit edilmiştir.
- Bu türün yanı sıra deneylerde hedef tür olarak seçilen türleri de kapsayacak şekilde farklı türlerin ortamdaki varlıkları tespit edilmiştir
- Ancak bu türlerin hiçbirinin patlama seviyesinde üremediği de bulunmuştur.

Bu biyolojik ve kimyasal etkenlerin yanı sıra meteorolojik etkenlerin ve klimatolojik özelliklerin de 2007-2010 dönemindeki musilaj oluşumlarına etki ettiğini düşündürecek bulgu ve yayınlara ulaşılmıştır.

Ayrıca, Marmara Denizi'ndeki insan aktivitelerinden kaynaklı (evsel girdiler, arıtım seviyelerindeki, yetersizlikler, Marmaray kazı çalışmalarından çıkan deniz çökellerinin aynı dönemlerde Marmara Denizine boşaltımı) baskıların yoğunluğundan ve ciddi bir ekosistem bozulmasından söz etmek ne yazık ki yanlış olmayacaktır.

Tüm bu bileşenler birlikte değerlendirildiğinde, uzun yıllar kendi yüksek özümleme kapasitesi ve hızlı su değişimleri sayesinde ayakta kalabilen Marmara Denizi sistemi artık küresel ve ekonomiye önemli zarar verecek şekilde yıkımları yaşamaktadır.

5. REFERANSLAR

- AKTAN, Y., TÜFEKÇİ, V., TÜFEKÇİ, H., AYKULU, G., 2005, Distribution patterns, biomass estimates and diversity of phytoplankton in İzmit Bay, *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 64, 372-384.
- AZAM F, FONDA UMANİ S, FUNARİ E., 1999, Significance of bacteria in the mucilage phenomenon in the northern Adriatic Sea, *Ann Ist Sup Sanita`* 1999;35:411 –9.
- BALKIS N., 2003, The effect of Marmara (İzmit) earthquake on the chemical oceanography of İzmit Bay, Turkey. *Mar Poll Bull* 46: 865-878, 2003.
- BALKIS, N., ATABAY, H., TÜREDGEN, İ., ALBAYRAK, S., BALKIS, H., TÜFEKÇİ, V., 2010, "Role of single-celled organisms in mucilage formation on the shores of Büyükada Island (the Marmara Sea)", *Journal of the Marine Biological Association – JMBA*, page,1-11.
- BEARDALL, J., YOUNG, E., AND ROBERTS, S., 2001, Approaches for determining phytoplankton nutrient limitation. *Aquat. Sci.* 63, 44-69.
- COVENEY, M.F., and WETZEL, R.G., 1995, Biomass, production, and spesific growth rate of bacterioplankton and coupling to phytoplankton in an oligotrophic lake. *Limnol. Oceanogr.*, 40(7), 1187-1200.
- DANOVARO, R., UMANİ, S.F., PUSCEDDU, A., 2009, Climate change and the potential spreading of marine mucilage and microbial pathojens in the Mediterranean Sea, www.plosone.org, V: 4(9), e7006.
- DEGOBBIS, D., FONDA-UMANI, S., FRANCO, P., MALEJ, A., PRECALI, R & SMODLAKA, N., 1995, Changes in the northern Adriatic ecosystem and the hypertrophic appearance of gelatinous aggregates, *The Science of the Total Environment*, 165: 43-58.
- DELAZZARI A., BERTO D., CASSIN D., BOLDRIN A., GIANI M., 2008, Influence of winds and oceanographic conditions on the mucilage aggregation in the Northern Adriatic Sea in 2003-2006. *Marine Ecology*, 29(4) 469-482
- DODGE, J.D., 1975, The Prorocentrales (Dinophyceae), II. Revision of the taxonomy within the genus *Prorocentrum*, *Bot., J., Limn., Soc.*, 71, 103-125.
- EDİGER, D., BEKEN S.Ç., TÜFEKÇİ, V., TOLUN, L., TÜFEKÇİ, H., MANTIKÇI, M., ATABAY, H., 2010 İzmit Körfezi Su Kalitesinin ve Karasal Girdilerin İzlenmesi ve Kirliliğin Önlenmesine Yönelik Önerilerin Geliştirilmesi. Sonuç Raporu. ÇE.02.02. TÜBİTAK-MAM, Çevre Enstitüsü, Gebze, Kocaeli.
- EKER DEVELİ, E., KİDEYS, A.E., TUGRUL S., 2006, Effects of nutrients on culture Dynamics of marine phytoplankton, *Aquatic Science*, DOI 10.1007/s00027-005-0810-5.
- FRİTZ L, TRİEMER R.E., 1985, A rapid and simple technique utilizing Calcofluor White M2R for the visualization of dinoflagellates thecal plates. *J Phycol*;21:662– 4.
- FUKUYO, Y., TAKANO, H., CHİHARA, M, ve MATSUOKA, K., 1990, Red-tide organisms in Japan, An illustrated taxonomic guide, Uchida Rokakuho, Co., Tokyo, 407.
- GFCM/FAO, 2010, Report of the workshop on Algal and Jellyfish Blooms in the Mediterranean and the Black Sea, Istanbul, Turkey 6-8 October 2010.

GRANUM, E., KIRKVOLD, S., MYKLESTAD, S.M., 2002, Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom *Skeletonema costatum*: diel variations and effects of N depletion, Marine Ecology Progress Series, 242: 83-94.

GROSSART H. P., LEVOLD F., ALLGAIER M., *et al.*, 2005, Marine diatom species harbour distinct bacterial communities. *Environ. Microbiol.*, 7:860–873.

GUERRINI, F., CANGINI, M., BONI, L., 2000, Metabolic responses of the diatom *Achanthes brevipes* (Bacillariophyta) to nutrient limitation, J. Phycol., 36, 882-890.

GUILLARD, R.R.L., KILHAM, P., 1977, The ecology of marine planktonic diatoms. In: Werner D. (ed), The biology of diatoms, Botanical Monographs, 13, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 372-469.

HASLE G. R. & SYVERSTEN, E. E. 1996. Marine Diatoms. In: Tomas, C. R. (ed.) Identifying Marine Phytoplankton. Academic Press, Inc. San Diego, Calif. pages 292-294.

HAVENS, KARL E., R. THOMAS J., THERESE L. EAST, VAL H. SMITH, 2003, N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. Environmental Pollution 122, 379–390.

KIORBOE, T., HANSEN, J. L. S., 1993, Phytoplankton aggregate formation: observations of patterns and mechanisms of cell sticking and the significance of exopolymeric material, J. Plankton Res., 15(2): 993-1018.

KOVAC, N., FAGANELI, J., SKET, B., BAJT, O., 1998, Characterization of macroaggregates and photodegradation of their water soluble fraction, Organic Geochemistry, 29: 1623-1634.

KOVAC, N., BAJT, O., FAGANELI, J., SKET, B., OREL, B., 2002, Study of macroaggregate composition using FT-IR and H-NMR spectroscopy, Marine Chemistry, 78: 205-215.

KOVAC, N., FAGANELI, J., BAJT, O., SKET, B., VUK, A. S., OREL, B., MOZETIC, P., 2006, Degradation and preservation of organic matter in marine macroaggregates, Acta Chimica Slovenica, 53: 81-87.

LEPPARD, G.G., 1995. The characterization of algal and microbial mucilages and their aggregates in aquatic ecosystems, *The Science of Total Environment*, 165: 103-131.

MACKENZIE, L., SIMS, I., BEUZENBERG, V., GILLESPIE, P., 2002, Mass accumulation of mucilage caused by dinoflagellate polysaccharide exudates in Tasmanian Bay, New Zealand, Harmful Algae, 1: 69-83.

MAESTRINI, S.Y., BANIN, D.J., DROOP, M.R., 1984, Phytoplankton as indicator of sea water quality: Bioassay approaches and protocols, In algae as ecological indicators Eds. L.E. Shubert, First addition. Acad. Press. Inc. Publ. Pp. 434.

MALEJ, A. AND HARRIS, R. P., 1993, Inhibition of copepod grazing by diatom exudates: a factor in the development of mucus aggregates, Marine Ecology Progress Series, 96: 33-42.

MARTIN J., MIQUEL J.C, 2010, High downward flux of mucilaginous aggregates in the Ligurian Sea during summer 2002: similarities with the mucilage phenomenon in the Adriatic Sea. *Marine Ecology*, 31(3), 393-406.

- MECOZZI, M., PIETROLETTI M., CONTI M.E., 2008, The complex mechanisms of marine mucilage formation by spectroscopic investigation of the structural characteristics of natural and synthetic mucilage samples. *Marine Chemistry*, 112, 38-52.
- MINGAZZINI, M., THAKE, B., 1995, Summary and conclusions of the workshop on marine mucilages in the Adriatic Sea and elsewhere, *The Science of the Total Environment*, 165: 9-14.
- MORKOÇ, E., TUĞRUL, S., OKAY, O.S., 1988, Determination of limiting nutrients by using algal bioassay technique, NATO-TU Waters Project, Final Report, TUBITAK , MRC. Env.Eng.Dep.
- MORKOÇ, E. Karbon-14 tekniği kullanılarak birincil üretim ve sınırlayıcı besin elementlerinin mevsimsel değişiminin İzmit körfezinde izlenmesi ve çevresel etkenlerle ilişkilerinin araştırılması. İ.Ü. Deniz Bilimleri ve Coğrafya Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 1991.
- MYKLESTAD, S.M., 1995, Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides, *The Science of the Total Environment*, 165: 155-164.
- NAJDEK, M., BLAZINA, M., DJAKOVAC, T. & KRAUS, R., 2005, The role of the diatom *Cylindrotheca closterium* in a mucilage event in the northern Adriatic Sea: coupling with high salinity water intrusions, *Journal of Plankton Research*, 27: 851-862.
- OKAY, O., 1986, İzmit Körfezi suyunda besin elementleri, klorofil-a ve TOK dağılımı, Yüksek lisans tezi, İ.Ü. Deniz Bilimleri ve Coğrafya Enstitüsü, İstanbul.
- OKUŞ, E., İ. ÖZTÜRK, H.İ.SUR, vd., 2008, Critical evaluation of wastewater treatment and disposal strategies for İstanbul with regards to water quality monitoring study results, *Desalination* 226: 231-248.
- ORHON, D., USLU, O., MERİÇ, S., SALİHOĞLU, İ., FİLİBELİ, 1994, A., Wastewater management for İstanbul: Basis for treatment and disposal, *Envir. Pollut.*, 84: 167-178.
- PENNA, N., CAPELLACCI, S., RICCI, F., KOVAC, N., 2003, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376: 436-439.
- POLAT, S. C., TUĞRUL, S., 1995, Nutrient and organic carbon exchanges between the Black and Marmara seas through the Bosphorus strait, *Cont. shelf Res.*, 15: 1115-1132.
- POLAT, S. C., TUĞRUL, S., 1996, Chemical exchange between the Mediterranean and the Black Sea via the Turkish straits, In F.Briand (ed.), *Dynamics of Mediterranean Straits an Channels*, CIESM Science Series No2., Bulletin Oceanographie Monaco, No special 17: 167-186.
- POLAT-BEKEN, Ç., ALTIOK, H., OKUŞ, E., TÜFEKÇİ, V., MORKOÇ, E., SARIKAYA, H. Z., 2000, 1999 Yılında Karadeniz üst suyu ile İstanbul Boğazı'na taşınan kısa dönemli besin elementi, toplam azot ve organik karbon akıları, 1. Ulusal Deniz Bilimleri Konferansı, Bildiriler ve Poster Özetleri: 47-51.
- POMPEI, M., MAZZIOTTI, C., GUERRINI, F., CANGINI, M., PIGOZZI, S., BENZI, M., PALAMIDESI, S., BONI, L., PISTOCCHI, R., 2003, Correlation between the presence of *Gonyaulax fragilis* (Dinophyceae) and the mucilage phenomena of the Emilia-Romagna coast (northern Adriatic Sea), *Harmful Algae* , 2: 301-316.

PRECALI, R., GIANI, M., MARINI, M., GRILLI, F., FERRARI, C.R., PECAR, O., PASCHINI, E., 2005, Mucilaginous aggregates in the northern Adriatic in the period 1999-2002: Typology and distribution, *The Science of the Total Environment*, 353: 10-23.

REGUERA B. VE NAYAK B. B., 2009, Algae Blooms - The 2007 Mucilage Event in the Sea of Marmara, International Consultants Report, Project TCP/TUR/3201.

REDFIELD, A.C., KETCHUM, B.H., AND RICHARDS, F.A. , 1963, The influence of organisms on the composition of the seawater. In " The sea ideas and conservations on progress in the study of the seas. Vol.2. The compositions of seawater. Comparative and descriptive oceanography" (Hill, M.N., eds), 26-77. Interscience, N.Y.

SAME 11, 2009, 11th Symposium on Aquatic Microbial Ecology Abstract Book, August 30 – September 04, 2009.

SAMPEDRO, N., ARİN, L., QUIJANO, S., RENE, A., 2007, Mucilage event associated with *Gonyaulax fragilis* in NW Mediterranean Sea, Harmful Algae News, An IOC Newsletter on toxic algae and algal blooms: 33, June 2007

SEMINA H.J., 1978, Treatment of an aliquot sample. In Sournia A (ed): *Phytoplankton manual*. pp. 181. UNESCO. Paris.

SIMON M, GROSSART HP, SCHWEITZER B, PLOUG H. 2002, Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquat. Microb. Ecol.* 28,175–211.

STEIDINGER, K.A. ve TANGEN, K., 1996, Dinoflagellates, (Eds) Tomas, C. R., *Identifying marine diatoms and DINOFLAGELLATES*, ACADEMIC PRESS, INC., SAN DIEGO, 387-584.

TAYLOR F.J.R., 1978, Some specific preparations-Dinoflagellates. In Sournia A (ed): *Phytoplankton manual*. pp. 69-74. UNESCO. UK.

TILMAN, D. 1977 Resource competition between planktonic algae: An experimental and theoretical approach. *Ecology*, 58, 338.

THORNTON, D. C. O., SANTILLO, D., THAKE, B., 1999, Prediction of sporadic mucilaginous algal blooms in the northern Adriatic Sea, *Marine Pollution Bulletin*, 38: 891-898.

TOLUN, L., MORKOÇ, E., TÜFEKÇİ, V., KARAKOÇ, F.T., OKAY, O., KARAKAŞ, D., TÜFEKÇİ, H., OLGUN, A., KARAKOÇ, F., PEKEY, H., İŞİNİBİLİR, M., YERLİ, B., BAŞAK, S., 2002, Kıyı Sularında Doğal Olayların ve Karasal Girdilerin Etkileri: Özel çalışma alanı olarak İzmit Körfezi ve Dilderesi, Sonuç Raporu, Proje Kodu: 501 75 09, TÜBİTAK-MAM, Yer ve Deniz Bilimleri Araştırma Enstitüsü, Gebze, Kocaeli.

TUĞRUL, S., MORKOÇ, D., 1989, Determination of primary production and limiting nutrients in the Bay of İzmit, Final Report, TUBITAK-MAM.

TUĞRUL, S., POLAT, Ç.S., 1995, Quantitative comparison of the influxes of nutrients and organic carbon into the Sea of Marmara both from antropogenic inputs and from the Black Sea, *Water Sci. Techn.*, 32, 115-121.

TÜFEKÇİ, V., OKAY, O.S., TOLUN, L., TÜFEKÇİ, H. AND MORKOÇ, E., " Chemical Oceanographic Characteristics of İzmit Bay and Determination of Limiting Nutrient(s). International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety, Antalya, Turkey, 19-21 October 1998.

TÜFEKÇİ V., BALKIS N., POLAT-BEKEN Ç., EDİGER D. AND MANTIĞÇI M., 2010, "Phytoplankton Composition and Environmental Conditions of the Mucilage Event in the Sea of Marmara" , Turkish Journal of Biology, vol. 34(199-210).

URBANI, R., MAGALETTI, E., SIST, P., CICERO, A.M., 2005, Extracellular carbohydrates released by the marine diatoms *Cylindrotheca closterium*, *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema costatum*: Effect of P-depletion and growth status, The Science of the Total Environment, 353: 300-306.

WANG , Z., ZHANG, Q., GONG, M., 1995, The effects of nitrogen, phosphorus, vitamins and trace metals on the growth of the red tide organism *Prorocentrum micans*, *Chin.J.Oceanol.Limnol.*, 13(4).

EK-1

Marmara Denizi'nde gerçekleşen 2007-2008 musilaj olaylarında balıkçılık sektörünün ve ekosistemin uğradığı yıkımın ve olayların farklı boyutlarını ele almayı ve paydaşlara eylem önerileri getirmeyi hedefleyen, Akdeniz Balıkçılık Komisyonu (GFCM), Dünya Gıda Örgütü (FAO)'nın 6-8 Ekim 2010 tarihinde İstanbul'da düzenlediğı "Workshop on algal and jelly fish blooms" çalıştayının raporu elektronik ortamda sunulmuştur.

EK-2

Marmara Denizi'nde 2007-2008 döneminde gerçekleşen; Ekim-2007, Ocak 2008, Eylül-Ekim 2008 musilaj olaylarına ait Erdek- video kayıtları ayrı bir CD olarak sunulmuştur.

MUSİLAJ ÖRNEĞİNİ KİMYASAL ANALİZLERE HAZIRLAMA

Musilajın örneklenmesi: Yüzey sularında biriken malzeme temiz bir cam beher ya da plastik bidon ile tekne kenarından veya plankton ağı ile yatay veya dikey çekim ile toplanır. Ağız kapalı olarak en kısa sürede laboratuara ulaştırılır.

Su kolonunda biriken malzeme dalgıçlar tarafından enjektör yardımı ile veya regülatörden hava doldurulmuş içi boş kavanozların kullanımı ile yapılır. Diğer bir yöntem, su altına misinalardan oluşmuş bir tuzağın yerleştirilmesi olabilir. Ağımsı saçaksız malzemenin toplanmasında bu yöntem etkin gözükmemektedir.

Musilaj topraklarının fazla sudan arındırılması: Bunun için birkaç yoldan birisi tercih edilebilir. Önemli olan toprakları fiziksel veya kimyasal bozulmaya mahal vermeyecek şekilde sudan ayıştırmaktır. Yöntemlerden birisi cam beher içindeki musilajın etrafındaki suyu cam pipet yolu ile sifonlayıp uzaklaştırmaktır. Diğer bir yöntem 20-30 mikronluk naylon filtreden musilaj yumağını süzmektir. Bu süzme işlemi olabildiğince düşük basınç altında gerçekleştirilmelidir. Her iki yöntemde de kullanılacak cam, plastik ve naylon malzemenin %10'luk sıcak veya ılık HCl ile temizlenmesi gereklidir.

Bu işlemden sonra musilaj -20°C'de dondurularak saklanır.

Musilajın tuzdan arındırılması: Bu işlem özellikle FTIR spektrasının alınması için gereklidir. Ayrıca tuzun girişim yapabileceği diğer kimyasal ve spektral analizler öncesinde de önerilir.

- 1- -20°C'de dondurularak saklanan numune oda sıcaklığında bekletilerek çözülür.
- 2- İnorganik tuzların giderilmesi amacıyla 1kDa membran filtre kullanılarak Ultrafiltrasyon (UF) yapılması:
 - Membranın hazırlanması: membran en az yarım saat süreyle %5'lik NaCl çözeltisinde bekletilir
 - Daha sonra ultra saf su içeren bir behere alınır ve 1 saat süreyle en az üç kere beherdeki su değiştirilir. Her iki işlemde de parlak yüzey su içinde kalmalıdır.
 - Çalışma basıncında ultra saf su ile en az 5dk. filtrasyon yapılarak membran yıkanır.
- 3- İnorganik tuzların yıkanarak uzaklaştırılabilmesi ve bu işlem sırasında büyük moleküllerin korunabilmesi amacıyla, tam karışım¹ bir hücre ve 1kDa membran kullanılarak, örnek basınç altında yıkanır ve süzüntü uzaklaştırılır. Bu işleme, süzüntüde tuz kalmayınca kadar devam edilir. Yıkama için ultra-saf su kullanılır.
- 4- Süzüntüdeki tuz varlığı Ag NO₃ damlatarak, bulanık renk oluşumunun (AgCl) gözlenmesiyle kontrol edilir.
- 5- Bu işlemler sırasında filtrasyon için ihtiyaç duyulan basınç azot gazı ile sağlanır ve süzme işlemi yaklaşık 3.5 bar basınç altında gerçekleştirilir.
- 6- Tuzun uzaklaştırıldığından emin olduktan sonra, filtrasyon işlemine örnekteki su miktarı azalana kadar (20-25 ml) devam edilir.
- 7- Kalan örnek - 20°C de dondurulur ve donmuş halde freeze dryer (FD) ile kurutulur.

Dikkat edilecek noktalar:

¹ Tam karışım¹ hücre, membranın tıkanmasına engel olmak ve membran yüzeyinde çapraz akış oluşturmak amacıyla, membran yüzeyine değmeyen bir manyetik karıştırıcı içermektedir. Tıkanmanın kontrolü, karıştırıcı hızı ile kontrol edilebilir. Filtrasyon sırasında vorteksin hücredeki su yüksekliğinin yaklaşık 1/3'ü olacak şekilde ayarlanmasına dikkat edilmelidir.

- a. Başlangıçta müsilağ örneğinin mümkün olduğunca az sulu olarak alınması ve filtrasyon işlemlerine başlanması (tuzun uzaklaştırılması ve filtrasyonunun süresini önemli oranda etkileyecektir), yıkama işlemi sırasında her seferinde az bir miktar su ilave edilmesi ve böylece konsantre kısmın atımının daha kolay sağlanması, basınç altında membranin kurumamasına dikkat edilmesi
- b. Membran tekrar kullanılacaksa! Önce 5 dk saf su ile sonrasında da hem hücrenin hem de membranın sterilizasyonu için %70 etil alkol ile çalışma basıncında 300 ml ya da en az 5 dk süreyle filtrasyon yapılır. Membran %10'luk etil alkol çözeltisinde +4 derecede saklanır. Tekrar kullanırken madde 1'in tekrarlanmasına gerek yoktur ancak bu durumda alkolün uzaklaştırılabilmesi için membran en az 300 ml saf su ile en az yarım saat çalışma basıncında filtrasyon yapılarak yıkanır.

Musilağın kurutulması:

- 1- Cihaz açıldıktan sonra yaklaşık 20 dakika basınç motorunun ısınması beklenir
- 2- Numuneler çözünmeden cihaza aktarılır
- 3- Main Drying Modunda 0,110 mbar -41 °C de 24 saat kurutma yapılır.
- 4- 24 saat sonunda 1,5 saat 0,001 mbarda Final Drying Modunda son işlem yapılır
- 5- Daha sonra cihazdan çıkarılan numuneler desikatöre aktarılır

Not: Musilağ numuneleri FD deki işlemin tamamlanması ile sünger yapısı ve yumuşaklığında oldu (olur?)

Bilgi: Musilağ ilgili analizlerde tuz ayrıştırması gerekliliği

FTIR – Katıda (ultrafiltrasyon üst) : tuz istenmiyor

C, N – Katıda (ultrafiltrasyon üst) : tuz fark etmiyor – FTIR için kurutulan numune kullanıldığı takdirde POC, PON ölçümü öncesinde anorganik karbon bileşiklerinden kurtulmak için uygulanan asit buharında tutma işlemine gerek kalmıyor.

F.spektra – Suda (ultra filtrasyon üst+santrifüj) : tuz fark etmiyor.

CH – Suda (ultra filtrasyon) : tuz fark etmiyor (Mykstead 1997 ye göre) Dubois (1956) da tuz girişimi var. Bu yöntem uygulanacaksa UF gerekli. Bu şekilde kurutulan musilağın kendisinde de CH bakılabilir.

Protein – Suda (ultra filtrasyon+santrifüj) : tuzsuz olması tercih edilir.

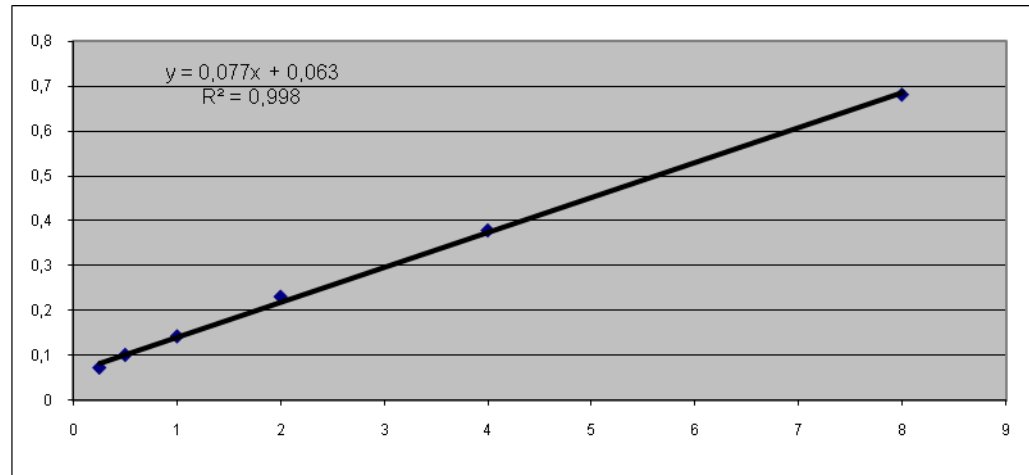
EK-3b
Karbonhidrat ve Protein Analizleri

FİLTRE EDİLMİŞ DENİZ SUYUNDA KARBONHİDRAT ÖLÇÜMÜ

Etki deneylerinden toplanan örnekler 0.7 mikron GF/F filtreden süzülerek çözünmüş karbonhidrat ölçümü için önceden 450 C de yakılarak organiklerinden uzaklaştırılmış cam şişelerde dondurularak saklanmıştır. Süzme için kullanılan filtreler de yüksek dereceli fırında 2-3 saat süre ile 450-500 C arasında yakılmıştır.

Bunun yerine Myklestad (1997) yöntemi denenmiş ve güvenilirlik testlerinden olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre

Deney başlangıcında elde edilen kalibrasyon eğrisi:



Abs vs. CH (ppm)
1 cm lik quartz hücre ile 595 nm de

Tekrarlanabilirlik ve doğruluk testleri:

	2 ppm	tekrarlanabilirlik	4 ppm	tekrarlanabilirlik	8 ppb	tekrarlanabilirlik
	Absorbans	Konsant. (ppm)	Absorbans	Konsant. (ppm)	Absorbans	Konsant. (ppm)
	0,219	1,99	0,392	4,22	0,677	7,87
	0,214	1,93	0,384	4,11	0,687	8,00
	0,21	1,88	0,385	4,13	0,703	8,21
	0,227	2,10	0,388	4,16	0,697	8,13
	0,217	1,97	0,386	4,14	0,697	8,13
	0,218	1,98	0,394	4,24	0,699	8,16
			0,402	4,34	0,692	8,07
	0,21	1,88	0,384	4,11	0,7	8,17
	0,186	1,57	0,383	4,10	0,671	7,80
	0,214	1,93	0,398	4,29	0,691	8,05
ortalama	0,213	1,91	0,390	4,18	0,691	8,06
std sapma	0,01	0,14	0,006	0,080	0,010	0,13
%RSD	5,01	7,14	1,61	1,92	1,43	1,57
DOĞRULUK						
%		95,75		104,62		100,74
LOD		0,41		0,24		0,38
LOQ		1,37		0,80		1,27

Örnek+standart geri kazanımı :

	Abs (595 nm)	Konsantrasyon	Ortalama
SDS B1	0,085		
SDS B2	0,069		
sds std 2 ppm	0,222	2,03	
sds std 2 ppm	0,239	2,25	2,142
sds std 4 ppm	0,394	4,24	
sds std 4 ppm	0,391	4,20	4,222
Örn 1	0,231	2,15	
Örn 2	0,232	2,16	
Örn 3	0,228	2,11	2,140
örn-std 2	0,389	4,18	
örn-std 2	0,383	4,10	
örn-std 2	0,374	3,98	4,087
örn std 4	0,558	6,35	
örn std 4	0,554	6,30	
örn std 4	0,554	6,30	6,312

Myklestad (1997) ' e göre deniz suyunda karbonhidrat ölçümü :

İşlemler:

1) Deniz suyunun hidrolizi

Gerekli kimyasal ve malzemeler:

- HCl , 1 M (50 mL, cam balon jojede)
- NaOH, 1 M (50 mL, cam balon jojede)
- 5 ml'lik cam ampuller

2) Renklendirme (reaksiyon)

Gerekli kimyasal ve malzemeler:

- reaktif A : Potasyum ferric cynide (0.7 mM)
 - o NaOH, 400 mg
 - o Na₂CO₃ , 20 g
 - o K₃[Fe(CN)₆], 230 mg
- reaktif B: Ferric chloride (2 mM)
 - o Sodyum asetat (anhydrous: susuz), 164 g
 - o Citrik asit (katı), 42 g
 - o Asetik asit (katı), 300 g

Üstteki 3 kimyasal 1 litre MQ ile çözülür.

- o FeCl₃ (anhydrous: susuz), 32.4 mg

Üstte hazırlanan solüsyondan 100 ml kullanılarak taze olarak hazırlanır (dayanma süresi 2 gün)

- reaktif C: TPTZ, (2.5 mM)
 - o Asetik asit , 3M
 - o TPTZ, sigma

0.78 mg TPTZ 1 millilitre 3M Asetik asit veya 78 mg 100 ml 3M asetik asit ile çözülür. (Dayanma süresi 1 hafta)

- Cam malzeme
 - o Fotometre cam kuvvetlerinin tümü. Temizliği %10 luk HCl ile gece boyu
 - o Cam deney tüpü, 10 ml lik 25 adet. Temizliği bol 1X su ile çalkaladıktan sonra 480-500 °C de 3 saat yakılarak.
 - o Hidroliz için kullanılacak ampuller. 5 mL lik 25 adet. Temizliği %10'luk sıcak HCl 1 saat, devamı gece boyu
 - o Kullanılacak diğer cam malzeme(std ve reaktifler için balon joje, küçük beher vs), Temizliği %10'luk sıcak HCl 1 saat, devamı gece boyu
- Laboratuvar malzemesi
 - o Su banyosu, Kaynama derecesinde 10 da. kullanılacak.
 - o Vortex karıştırıcı
 - o Spektrofotometre

3) Ölçüm : Yönteme göre 1 ml deniz suyu 0.4 ml HCl ile cam ampüller içerisine konur. Ampüller ateşte eritilerek kapatılır. 20 saat boyunca 100 C ye ayarlanmış etüvde hidroliz edilir. Daha sonra oda sıcaklığına gelen hidroliz edilmiş örneklerin pH sı NaOH (1 M) ile ayarlanır. 1 ml reaktif A eklenir, vortex ile karıştırılıp, 10 dakika 100 C su banyosunda tutulur. Daha sonra hiç ara vermeden önce 1 ml reaktif B ve reaktif C eklenir. Vortex ile karıştırılır. Renklenme yarım saat sonra tamamlanır ve 595 nm'de 1 cmlik quartz hücre (önerilen 2 cm lik hücredir) kullanılarak absorpsiyon değerleri okunur.

4) Kalibrasyon ve hesaplama

Kalibrasyon D- glukoz ile yapılır , daha sonra değerler karbon (C) cinsinden ppm olarak ifade edilir.

D-glukoz 24 saat vaküm altında kurutulacak ve bundan 100 mg/l lik stok çözelti hazırlanacak, -20 C de saklanacak

Çalışma standartları: 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/L

Sentetik deniz suyu (~23 ppt) ile hazırlanıp, 2 veya 3 şahit SDS ile ölçülecek

Süzülmüş Partikül maddede karbonhidrat ölçümü:

Deniz suyu örneğinden 20 ml kadar numune 0.7 mikron GF/F filtreden süzülerek, partikülde karbonhidrat ölçümü için önceden 450 C de yakılarak organiklerinden uzaklaştırılmış cam şişelerde dondurularak saklanmıştır. Süzme için kullanılan filtreler de yüksek dereceli fırında 2-3 saat süre ile 450-500 C arasında yakılmıştır.

Denenen yöntemler: Süzölmüş partiköl maddede karbonhidrat ölçümü de numuneyi ön işlemlerden (vortex, homojenizatörde parçalama, santrifüj) geçirdikten sonra deniz suyunda karbonhidrat analizinde olduğu gibi Myklestad (1997) yöntemi kullanılmıştır.

Ölçüm : 20 ml. kadar deniz suyu numunesi 0.7 mikron GF/F filtreden süzölür. Süzölme yapılmış filtreler katlanarak 10 ml.'lik santrifüj tüplerine konulur. Üzerine 5 ml. saf su eklenerek yaklaşık 5 dakika kadar vortex ile karıştırılır. Daha sonra tüpün içerisindeki su yeni bir santrifüj tüpüne aktarılarak su içerisindeki hücrelerin parçalanması için 1 dakika homojenizatörde parçalanma işlemi gerçekleştirilir. Numune santrifüj edilir (3000 rpm, 10 dak.).Santrifüj tüpü içerisinde 1 ml. numune alınarak deniz suyunda karbonhidrat ölçümündeki metot uygulanır.

Kalibrasyon ve hesaplama: Deniz suyunda karbonhidrat analizinde olduğu gibi standart çözeltiler ile kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Standart eğri grafiğinden elde edilen formöl kullanılarak konsantrasyon (C_{numune}) hesap edilir.

Karbonhidrat miktarı ($C_{numune} \times HV$)/FV HV=Homojenat hacmi; FV: Deniz suyu filtrasyon hacmi

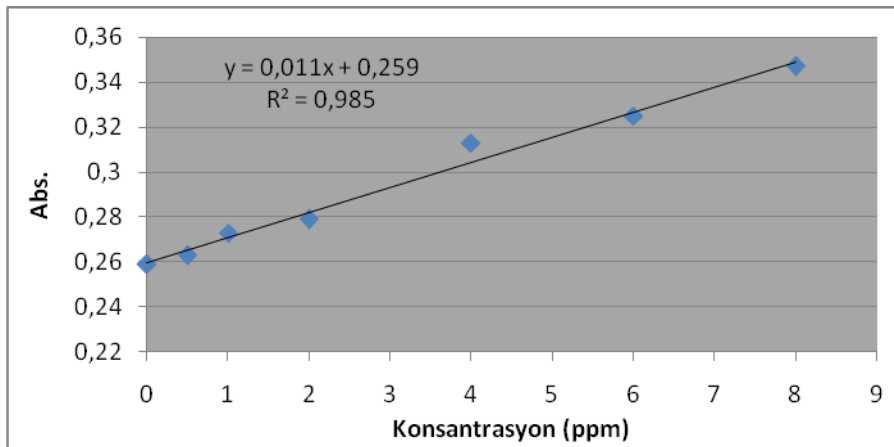
FİLTRE EDİLMİŞ DENİZ SUYUNDA PROTEİN ÖLÇÜMÜ

Etki deneylerinden toplanan örnekler 0.7 mikron GF/F filtreden süzölerek çözönmüş protein ölçümü için önceden 450 °C de yakılan cam şişelerde dondurularak saklanmıştır. Süzme için kullanılan filtreler de yüksek dereceli fırında 2-3 saat süre ile 450-500 °C arasında yakılmıştır.

Denenen yöntemler:

Deniz suyunda protein analiz metodu olarak Bradford (Coomassie Blue) yöntemi kullanılmıştır. Yöntem organik boyaların, proteinlerin asidik ve bazik gruplarıyla etkileşerek renk oluşturmasını esas alır. Boya-bağlama temelli yöntemlerin en yaygını, Bradford tarafından geliştirilen ve "Comassie Brilliant Blue G-250" boyasının kullanıldığı metottur."Coomassie Brilliant Blue-G-250" boyasının proteinlere bağlanması sonucunda oluşturduğu renkli çözeltilerin 595 nm'de absorbansının ölçölmesi ilkesine dayanır. Ölçüm esnasında cam ve tek kullanımlık polistiren küvetler kullanılabilir. Cam küvetlerin kullanılması durumunda 0,1 M HCl de bekletme işleminin ardından su ve asetonla yıkama gerekmektedir.

Deney başlangıcında elde edilen kalibrasyon eğrisi:



Bradford' a göre deniz suyunda protein ölçümü :

1- Gerekli kimyasal ve malzemeler:

- Reaktifler:
 - o Bradford Reagent (%0,01 (w/v) Coomassie Brilliant Blue-G-250,%4,7 (w/v) Etanol,%8,5(w/v)
 - o Bovine serum albumin
- Cam malzeme:
 - o Fotometre cam kuvvetlerinin tümü. Temizliği %10 luk HCl ile gece boyu
 - o Cam deney tüpü (10 ml'lik). Temizliği bol 1X su ile çalkaladıktan sonra 480-500 °C de 3 saat yakılarak.
 - o Kullanılacak diğer cam malzeme(std ve reaktifler için balon joje, küçük beher vs), Temizliği %10'luk sıcak HCl 1 saat, devamı gece boyu
- Laboratuvar malzemesi
 - o Vortex karıştırıcı
 - o Spektrofotometre

2- Ölçüm : Bradford yöntemine göre 1 ml. deniz suyu deney tüpüne konur. Üzerine 1 ml. Bradford reagent ilave edilir. Vortex ile yaklaşık 5 dakika kadar karıştırılır. Numuneler 5 dakika kadar bekletildikten sonra 595 nm'de 10 mm'lik quartz hücre kullanılarak absorbans değerleri okunur.

3- Kalibrasyon ve hesaplama:

Kalibrasyon Bovine serum albumin ile yapılır. 100 mg/l lik stok çözelti hazırlanır.

Çalışma standartları: 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0,8.0 mg/L

Standartlar sentetik deniz suyu (~23 ppt) ile hazırlanır.2 veya 3 blank çalışması yapılır. Numunedeki protein miktarını belirlemek için, spektrofotometre de ölçülen absorbans değerleri standart eğri grafiğinden elde edilen formül kullanılarak hesaplanır. Sonuçlar değerlendirilir.

Süzülmüş Partikül maddede protein ölçümü:

Deniz suyu örneğinden 20 ml kadar numune 0.7 mikron GF/F filtreden süzülerek, partikülde protein ölçümü için önceden 450 °C de yakılan cam şişelerde dondurularak saklanmıştır. Süzme için kullanılan filtreler de yüksek dereceli fırında 2-3 saat süre ile 450-500 °C arasında yakılmıştır.

Denenen yöntemler: Süzülmüş partikül maddede protein ölçümü de numuneyi ön işlemlerden (vortex, homojenat buffer ilavesi ile homojenizatörde parçalama, santrifüj) geçirdikten sonra deniz suyunda protein analizinde olduğu gibi Bradford yöntemi kullanılmıştır.

Bradford' a göre süzülmüş partikül maddede protein ölçümü :

- Reaktifler:
 - o Bradford Reagent (%0,01 (w/v) Coomassie Brilliant Blue-G-250,%4,7 (w/v) Etanol,%8,5(w/v))

- Homojenat Buffer: 11,18 g. KCl (0,15 M KCl), 1,576 g. Tris (0,01 M Tris), 0,372 g. EDTA (0,001 M EDTA) 500 ml. saf suda çözülür. pH 7,6 ayarlanır ve 1 lt 'ye saf su ile tamamlanır.
- Bovine serum albumin
- Cam malzeme:
 - Fotometre cam kuvetlerinin tümü. Temizliği %10 luk HCl ile gece boyu
 - Cam deney tüpü (10 ml'lik). Temizliği bol 1X su ile çalkaladıktan sonra 480-500 °C de 3 saat yakılarak.
 - Kullanılacak diğer cam malzeme (std ve reaktifler için balon joje, küçük beher vs), Temizliği %10'luk sıcak HCl 1 saat, devamı gece boyu
- Laboratuvar malzemesi
 - Vortex karıştırıcı
 - Spektrofotometre
 - Homojenizatör
 - Santrifüj
- 2- Ölçüm : 20 ml. kadar deniz suyu numunesi 0.7 mikron GF/F filtreden süzülür. Süzülme yapılmış filtreler katlanarak 10 ml.'lik santrifüj tüplerine konulur. Üzerine 4 ml. homojenat buffer ilave edilir. Yaklaşık 5 dakika kadar vortex ile karıştırılır. Daha sonra tüpün içerisindeki homojenat filtreden ayrılır ve yeni bir santrifüj tüpüne aktararak homojenat içerisindeki hücrelerin parçalanması için 1 dakika homojenizatörde parçalanma işlemi gerçekleştirilir. Numune santrifüj edilir (3000 rpm, 10 dak.). Santrifüj tüpü içerisinde 1 ml. numune alınarak Bradford yöntemine göre üzerine 1 ml. Bradford reagent ilave edilir. Vortex ile yaklaşık 5 dakika kadar karıştırılır. Numuneler 5 dakika kadar bekletildikten sonra 595 nm'de 10 mm'lik quartz hücre kullanılarak absorbans değerleri okunur.
- 3- Kalibrasyon ve hesaplama:

Kalibrasyon Bovine serum albumin ile yapılır. 100 mg/l lik stok çözelti hazırlanır.

Çalışma standartları: 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mg/L

Standartlar sentetik deniz suyu (~23 ppt) ile hazırlanır. 2 veya 3 blank çalışması yapılır. Numunedeki protein miktarını belirlemek için, spektrofotometre de ölçülen absorbans değerleri standart eğri grafiğinden elde edilen formül kullanılarak konsantrasyon (C_{numune}) hesaplanır.

Protein: $(C_{numune} \times HV)/FV$ HV=Homojenat hacmi; FV: Deniz suyu filtrasyon hacmi

Sonuçlar değerlendirilir.

EK -4

Türlerin toplam fitoplankton içindeki bulunma oranları (%).

Türler (adet L ⁻¹)	ÖRNEKLEME TARİHLERİ													
DINOPHYCEAE (DİNOFLAGELLAT)	07.01.2010	25.02.2010	04.03.2010	18.03.2010	15.04.2010	20.05.2010	17.06.2010	14.07.2010	16.08.2010	26.08.2010	17.09.2010	18.10.2010	12.11.2010	08.12.2010
Alexandrium minutum														
Amphidinium sp.														
Ceratium bucephalum														
Ceratium furca Ehrenberg Claparade&Lachman	1	2	1		1				1					
Ceratium fusus				2					1		5		41	34
Ceratium horidum														
Ceratium trichoceros														
Ceratium tripos						1								
Dinophysis sp.														
Dinophysis acuminata														
Dinophysis acuta														
Dinophysis caudata														
Dinophysis sacculus														
Diplopsalis lenticula														
Gonyaulax fragilis.	32	3	3	7	7									
Gonyaulax monacantha														
Gonyaulax sp.		8	13	16		9			1				1	
Gonyaulax polygramma														
Gymnodinium catenatum														
Gymnodinium sanguineum														
Gymnodinium sp.														36
Gyrodinium fusiforme Kofoed & Swezy	1	2	5	1	3	2	1							
Heterocapsa triquetra														
Kofoedinium velutinosum														
Noctiluca scintillans (Macartney) Kofoed						1								
Oxyphysis oxytoxoides Kofoed			2		9									
Oxytoxum minimum														
Oxytoxum scolopax														
Oxytoxum sp.														
Phalocroma roundatum					2									
Podolampas palmipes														

Polykrikos kofoidii														
Polykrikos schwartzii														
Prorocentrum compressum					18	2								
Prorocentrum gracile														
Prorocentrum micans Ehrenberg	10	75	45	35	5	82	89	55	28	1	41		3	2
Prorocentrum minimum Schiller						1		35	2				2	16
Prorocentrum scutellum Schiller	3		1	2		1	1				8	1	7	1
Prorocentrum triestinum											21			1
Protoperidinium bipes														
Protoperidinium claudicans (Paulsen) Balech														
Protoperidinium depressum									1					
Protoperidinium divergens (Ehrenberg) Balech														
Protoperidinium divergens													1	
Protoperidinium grande														
Protoperidinium granii														
Protoperidinium leonis														
Protoperidinium oblongum														
Protoperidinium oceanicum														
Protoperidinium pentagonum														
Protoperidinium pellucidum														
Protoperidinium pyriforme											3			
Protoperidinium steinii		1											1	
Protoperidinium sp.														
Pyrophacus horologium Stein														
Scaphodinium mirabile		1											1	
Scrippsiella trochoidea (Stein) Loeblich III	1	1	25	23		2	1		1	1				
BACILLARIOPHYCEAE (DIATOM)														
Cerataulia pelagica	2				7		1		4					
Chaetoceros sp.		3			26				3				13	
Chaetoceros danicus														
Chaetoceros decipiens Cleve								2						
Chaetoceros diadema														
Chaetoceros peruvianus														
Climacosphenia sp.														
Coscinodiscus sp.	1												3	2
Cylindrotheca closterium (Ehrenberg) Reimann & Lewin	10	2						2	2	8		1		
Dactyliosolen fragilissima												2	1	
Ditylum brightwelli (T. West) Grunow in Van Heurck														
Guinardia flaccida										3				

Lauderia annulata												3		
Leptocylindrus danicus Cleve								1	4	2	5	1	3	2
Licmophora sp.														
Melosira sp.														
Navicula neoventricosa														
Navicula sp.														
Nitzschia sp.														
Pleurosigma elongatum													1	
Proboscia alata	9					1	4	1	10	15	3	19	7	
Pseudo-nitzschia sp.	3	1							31	3	10	10	14	
Pseudosolenia calcar-avis Schultze					5									
Rhizosolenia robusta														
Rhizosolenia setigera Brightwell	9				2					1				
Rhizosolenia styliformis					2									
Skeletonema costatum (Greville) Cleve	12				7			2	6	1		37		
Synedra sp.														
Thalassiosira nitzchioides					1				5	2	5			
Thalassiosira anguste-lineata				3										
T.rotula	4				3							11	5	
DİĞER (DICTYOCOPHYCEAE, CYANOPHYCEAE vs.)														
Anabena sp.			1		1					62				
Dictyocha fibula Ehrenberg			2									1	9	5
Dictyocha speculum Ehrenberg				9										
Dinobryan sp.														
Eutreptiella sp.														
Octactis octonaria														

2008-2009 yılları arasındaki Türlerin toplam fitoplankton içindeki bulunma oranları (%)

	ÖRNEKLEME TARİHLERİ																
DINOPHYCEAE (DINOFLAGELLAT)	03.09.2008	09.09.2008	18.09.2008	07.10.2008	15.10.2008	30.10.2008	12.11.2008	03.12.2008	05.01.2009	27.01.2009	06.02.2009	11.03.2009	24.03.2009	09.04.2009	16.04.2009	05.05.2009	28.05.2009
Alexandrium minutum																	
Amphidinium sp.																	
Ceratium bucephalum																	
Ceratium furca Ehrenberg Clapade&Lachman	1		1	2	1		1	1				3	1	12	9	5	2
Ceratium fusus	2							1				2	2	1	2	5	7
Ceratium horidum																	
Ceratium trichoceros																	
Ceratium tripos														1			1
Dinophysis sp.																	
Dinophysis acuminata													1				
Dinophysis acuta															3		
Dinophysis caudata																	
Dinophysis sacculus	1																
Diplopsalis lenticula																	
Gonyaulax fragilis.		4	3	21	20	46	75	35					76	18	17	69	
Gonyaulax monacantha																	
Gonyaulax sp.	1									8		18			14	3	39
Gonyaulax polygramma																	
Gymnodinium catenatum							1						3				
Gymnodinium sanguineum																1	
Gymnodinium sp.																	
Gyrodinium fusiforme Kofoid & Swezy																11	
Heterocapsa triquetra																	
Kofoidinium velelloides																	
Noctiluca scintillans (Macartney) Kofoid			1														
Oxyphysis oxytoxoides Kofoid	2	1								11			3	1	2		
Oxytoxum minimum																	
Oxytoxum scolopax																	
Oxytoxum sp.																	
Phalocroma roundatum		93							1								
Podolampas palmipes																	
Polykrikos kofoidii																	
Polykrikos schwartzii																	

Prorocentrum compressum																	
Prorocentrum gracile																	
Prorocentrum micans Ehrenberg	61		94	74	76	51	5	1		5		2			2	1	15
Prorocentrum minimum Schiller																	
Prorocentrum scutellum Schiller	1					1						1	9	3	1	5	
Prorocentrum triestinum																	
Protoperidinium bipes																	
Protoperidinium claudicans (Paulsen) Balech										26				1	3		
Protoperidinium depressum														3	9	2	2
Protoperidinium divergens (Ehrenberg) Balech	3																
Protoperidinium divergens																	
Protoperidinium grande																	
Protoperidinium granii																	
Protoperidinium leonis																	
Protoperidinium oblongum																	
Protoperidinium oceanicum																	
Protoperidinium pentagonum																	
Protoperidinium pellucidum																	
Protoperidinium pyriforme												3		9	7		
Protoperidinium steinii												30		18			
Protoperidinium sp.																	
Pyrophacus horologium Stein																	
Scaphodinium mirabile	5																
Scrippsiella trochoidea (Stein) Loeblich III																	
BACILLARIOPHYCEAE (DIATOM)																	
Cerataulia pelagica								2	1					20			
Chaetoceros sp.				1			5	2	1					2	5		20
Chaetoceros danicus									13								
Chaetoceros decipiens Cleve																	
Chaetoceros diadema																	
Chaetoceros peruvianus																	
Climacosphenia sp.																	
Coscinodiscus sp.								1	4	2					2		
Cylindrotheca closterium (Ehrenberg) Reimann & Lewin																	
Dactyliosolen fragilissima				1		1											
Ditylum brightwelli (T. West) Grunow in Van Heurck									19								
Guinardia flaccida																	
Lauderia annulata																	
Leptocylindrus danicus Cleve	7			1				20									

Licmophora sp.																	
Melosira sp.																	
Navicula neoventricosa																	
Navicula sp.																	
Nitzschia sp.																	
Pleurosigma elongatum			1				1	1									
Proboscia alata								20	1								
Pseudo-nitzschia sp.																	
Pseudosolenia calcar-avis Schultze									51								
Rhizosolenia robusta							10	10	5		97				7	1	8
Rhizosolenia setigera Brightwell	4								2						2		
Rhizosolenia styliformis																	
Skeletonema costatum (Greville) Cleve				1	2		2	6			1					1	
Synedra sp.																	
Thalassiosira nitzchioides							2								5		
Thalassiosira anguste-lineata	13	1			1					48	1	34	11	6	7		
T. rotula																	
DİĞER (DICTYOPHYCEAE, CYANOPHYCEAE vs.)																	
Anabena sp.																	
Dictyocha fibula Ehrenberg															2		
Dictyocha speculum Ehrenberg									1								
Dinobryan sp.																	
Eutreptiella sp.											8						
Octactis octonaria																	

DINOPHYCEAE (DINOFLAGELLAT)	ÖRNEKLEME TARİHLERİ													
	18.06.2009	26.06.2009	01.07.2009	08.07.2009	04.08.2009	20.08.2009	03.09.2009	16.09.2009	30.09.2009	21.10.2009	03.11.2009	18.11.2009	26.12.2009	31.12.2009
Alexandrium minutum														
Amphidinium sp.														
Ceratium bucephalum														
Ceratium furca Ehrenberg Claparde&Lachman					1	7	4	8	18	10	1	3	5	
Ceratium fusus	1	1		1		2		8	11	9	1	3		3
Ceratium horidum														
Ceratium trichoceros								5	4			1		
Ceratium tripos		1						3						
Dinophysis sp.														
Dinophysis acuminata					1									
Dinophysis acuta														
Dinophysis caudata														
Dinophysis sacculus				2										
Diplopsalis lenticula														
Gonyaulax fragilis.								16	9	8			71	3
Gonyaulax monacantha														
Gonyaulax sp.	3	6				36	8	3	16	14	6	44		11
Gonyaulax polygramma					1		3							
Gymnodinium catenatum														
Gymnodinium sanguineum														
Gymnodinium sp.										1		1		
Gyrodinium fusiforme Kofoed & Swezy							1	3						
Heterocapsa triquetra														
Kofoedinium velelloides														
Noctiluca scintillans (Macartney) Kofoed					2	1								
Oxyphysis oxytoxoides Kofoed														
Oxytoxum minimum														
Oxytoxum scolopax														
Oxytoxum sp.														
Phalocroma roundatum														
Podolampas palmipes														
Polykrikos kofoedii														
Polykrikos schwartzii														

Prorocentrum compressum			10	26										
Prorocentrum gracile														
Prorocentrum micans Ehrenberg	11	19	15	2	3	4	5	8	9	19	1	3	9	23
Prorocentrum minimum Schiller				5										
Prorocentrum scutellum Schiller	84	68	67	41	15	16	7	16	2	2		1		4
Prorocentrum triestinum														
Protoperidinium bipes														
Protoperidinium claudicans (Paulsen) Balech				1				16	4					
Protoperidinium depressum						1	1							
Protoperidinium divergens (Ehrenberg) Balech														
Protoperidinium divergens														
Protoperidinium grande														
Protoperidinium granii														
Protoperidinium leonis														
Protoperidinium oblongum														
Protoperidinium oceanicum														
Protoperidinium pentagonum									2					
Protoperidinium pellucidum														
Protoperidinium pyriforme				3	1	1	0	8	2	1				
Protoperidinium steinii			2		1				2					
Protoperidinium sp.														
Pyrophacus horologium Stein														
Scaphodinium mirabile			4	6										
Scrippsiella trochoidea (Stein) Loeblich III														
BACILLARIOPHYCEAE (DIATOM)														
Cerataulia pelagica										3	1	2	2	1
Chaetoceros sp.							4				10	8		3
Chaetoceros danicus														
Chaetoceros decipiens Cleve									11					
Chaetoceros diadema														
Chaetoceros peruvianus														
Climacosphenia sp.						4	2			7		1		
Coscinodiscus sp.													1	
Cylindrotheca closterium (Ehrenberg) Reimann & Lewin		2					1							4
Dactyliosolen fragilissima														1
Ditylum brightwelli (T. West) Grunow in Van Heurck										1				
Guinardia flaccida														
Lauderia annulata										15				
Leptocylindrus danicus Cleve						1	15		9	7	18	10		4

Licmophora sp.														
Melosira sp.														
Navicula neoventricosa														
Navicula sp.														
Nitzschia sp.														
Pleurosigma elongatum					8		12							
Proboscia alata				10	19		1		2	1		1	4	38
Pseudo-nitzschia sp.							25	8			3		7	1
Pseudosolenia calcar-avis Schultze					1									
Rhizosolenia robusta														
Rhizosolenia setigera Brightwell							1							
Rhizosolenia styliformis		1					1							
Skeletonema costatum (Greville) Cleve											4	2		
Synedra sp.														
Thalassiosira nitzchioides		2		3	2	2			2	1		17		
Thalassiosira anguste-lineata														
T. rotula														
DİĞER (DICTYOPHYCEAE, CYANOPHYCEAE vs.)														
Anabena sp.					46	26	10							
Dictyocha fibula Ehrenberg										1		1		
Dictyocha speculum Ehrenberg														
Dinobryon sp.														
Eutreptiella sp.														
Octactis octonaria														

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje No:108Y083
Proje Başlığı: DENİZ ORTAMINDA MUSİLAJ/MUKUS OLUŞUMUNU DENETLEYEN FAKTÖRLERİN LABORATUVAR KOŞULLARINDA İNCELENMESİ
Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: S. Çolpan Polat Beken (P.Yürütücüsü), Vildan Tüfekçi, Başak Sözer (Bursiyer), Mustafa Mantıkçı, Hakan Atabay, Leyla Tolun, Emel Yıldız, Selda Hoccoğlu, Dilek Ediger, Fatma Telli-Karakoç, Arzu Olgun
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: TÜBİTAK- Marmara Araştırma Merkezi, Çevre Enstitüsü PK.21 41470 GEBZE/KOCAELİ
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: TÜBİTAK, Temel Bilimler Araştırma Grubu Tunus Caddesi No: 80 Kavaklıdere / ANKARA
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01/0/2008-31/12/2010 (6 ay ek süre alınmıştır)
Öz (en çok 70 kelime) 2007 yılında Marmara Denizi'nde ve İzmit Körfezi'nde yoğun biçimde su yüzeyi ve kolonu boyunca beyaz renkli, köpüksü ve yapışkan bir yapı gözlenmiştir. Özellikle balıkçıların şikayetlerine sebep olan bu yapının incelenmesi ve oluşum mekanizmalarının ortaya konması amacıyla yapılan bu projede İzmit Körfezi'nde baskın olan ve musilaj/mukus oluşumunda rol oynayan 4 hedef tür izole edilerek laboratuvar ortamında oluşturulan farklı koşullar altında ve farklı bioassay deneylerinin yanı sıra detaylı kimyasal analizler yapılmıştır. Proje süresi boyunca sahada oluşan musilaj yapılarından da örneklemeler yapılarak bu malzeme üzerinde benzer inceleme ve analizler laboratuvar bulguları ile karşılaştırılmıştır.
Anahtar Kelimeler: Fitoplankton, müsilaaj/mukus, karbonhidrat/polisakkaritler, besin elementleri, ötrifikasyon, kıyı sular, İzmit Körfezi
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu mu? Evet ☐ Gerekli Değil ☐ Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır.
Projenin Yapılan Yayınlar: • “Temporal and spatial variability of toxic dinoflagellates species in the İzmit Bay” Tüfekçi V., Ediger D., Polat-Beken Ç., Mantıkçı M., Atabay, H., Balkıs, N., Deniz, N. 14 th International Conference on Harmful Algae, HERONISSOS-CRETE (GİRİT), 1-5 November 2010. • “Mucilage events in the Sea of Marmara and the associated processes: Field and laboratory findings” Polat-Beken Ç., Tüfekçi V., Sözer, B., Yıldız, E.,Telli-Karakoç, F.,Mantıkçı M., Ediger D. Workshop on algal and jelly fish blooms Istanbul, Turkey, 6-8 October 2010. • “Phytoplankton Composition and Environmental Conditions of the Mucilage Event in the Sea of Marmara” , Tüfekçi V., Balkıs N., Polat-Beken Ç., Ediger D. and Mantıkçı M. Turkish Journal of Biology (2010), vol. 34(199-210). • “First results of field and laboratory investigations on mucilage aggregates in the Sea of Marmara”, Beken, S.P., Tüfekçi, V., Sözer, B., Atabay, H., Mantıkçı, A., Tolun, L., SAME 11th Symposium on Aquatic Microbial Ecology, Slovenia, 30 August-04 September 2009. • “Besin Tuzlarının <i>Prorocentrum Micans</i> Ve <i>Skeletonema Costatum</i>’un Gelişimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı mastır tezi projede bursiyer olarak görev alan Başak SÖZER tarafından İÜ-Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilim Dalında Haziran 2009 yılında sunulmuş kabul görmüştür.

Diğer ilgili sunumlar / bilgilendirmeler:

- Gölcük/Kocaeli Liman Emniyet Komutanlığı'nın 24 Şubat 2009 tarih ve 4000-27-09 sayılı yazısına cevaben oluşturulan bilgi notu (4 Mart 2009)
- **“İzmit Körfezi musilaj/mukus oluşumları ve çevresel değişkinlerin değerlendirilmesi: Ekim 2007-Şubat 2008”**, Polat-Beken, Ç., L. Tolun, V. Tüfekçi, D. Ediger, M. Mantıkçı, H. Atabay, H. Tüfekçi, F. Telli-Karakoç ve E. Yıldız, Çevre Sorunları Sempozyumu Bildiri Özetleri, Kocaeli Ü. Umuttepe Yerleşkesi, Kocaeli, 14-17 Mayıs 2008.
- **TÜBİTAK-MAM'in 2007 Sonbahar Döneminde Başlayan Marmara Denizi'ndeki Köpüklenme Üzerindeki Görüşü**, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı- Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'ne sunuldu, Nisan 2008.
- **“Marmara Denizi'nde Köpüklenme”** konulu seminer, Polat-Beken, Ç (konuşmacı), V. Tüfekçi, İÜ. Fen F./Biyoloji B./Botanik Ana Bilim Dalı, 9 Ocak 2008.