

MÜSİLAJ VE POTANSİYEL KULLANIM ALANLARI

MUCILAGE AND POTENTIAL AREAS OF USAGE

Prof. Dr. Mete Yılmaz

**Prof. Dr. Mete YILMAZ /Bursa Teknik Üniversitesi /
mete.yilmaz[at]btu.edu.tr / ORCID: 0000-0002-0982-727X**

Prof. Dr. Mete Yılmaz lisans derecesini 1999 yılında, yüksek lisans derecesini ise 2001 yılında Ege Üniversitesi'nde Su Ürünleri alanında tamamlamıştır. Doktora çalışmalarını Florida Üniversitesi'nde, Sucul Bilimler alanında 2007 yılında tamamlamıştır. Doktora çalışmasında Florida göllerinde bulunan bir siyanobakteri toksinin moleküler ekolojisini incelemiştir. 2007-2009 yılları arasında Florida Üniversitesi'nde, 2010-2011 yılları arasında Ege Üniversitesi'nde, 2012 ile 2013 yılları arasında Katar Üniversitesi'nde doktora sonrası araştırmalar yapmıştır. Doktora sonrası çalışmalarında algal ikincil metabolitler yanında alglerden enerji eldesi üzerine çalışmıştır. 2013 yılında Bursa Teknik Üniversitesi'nde öğretim üyesi olarak çalışmaya başlamış; 2019 yılında Profesör olmuştur. Bursa Teknik Üniversitesi'nde iki adet TÜBİTAK 1001 projesi tamamlamıştır, hâlihazırda bir uluslararası PRIMA projesi yürütmektedir. Mikroalgal ikincil metabolitler ve mikroalglerden değerli ürünler elde edilmesi konularında çalışmalarına devam etmektedir.

**Prof. Dr. Mete YILMAZ / Bursa Technical University /
mete.yilmaz[at]btu.edu.tr / ORCID: 0000-0002-0982-727X**

Prof. Dr. Mete Yılmaz completed his bachelor's degree in 1999 and his master's degree in 2001 in the field of Fisheries from Ege University. He completed his PhD studies in Aquatic Sciences at the University of Florida in 2007. In his doctoral study, he studied the molecular ecology of a cyanobacterial toxin found in Florida lakes. He did post-doctoral research at the University of Florida between 2007-2009, at Ege University between 2010-2011, and at Qatar University between 2012 and 2013. In his postdoctoral studies, he worked on the energy production from algae as well as algal secondary metabolites. He started to work as a faculty member at Bursa Technical University in 2013; he became a Professor in 2019. He has completed two TÜBİTAK 1001 projects at Bursa Technical University and is currently carrying out an international PRIMA project. He continues to work on microalgal secondary metabolites and obtaining valuable products from microalgae.

MÜSİLAL VE POTANSİYEL KULLANIM ALANLARI

Özet

Marmara Denizi 2021 yılında çok yoğun bir müsilağ olayı ile karşı karşıya kalmıştır. Müsilağ oluşumunun bazı fitoplanktonik canlılar tarafından salgılanan hücre dışı polisakkaritler ile başladığı düşünülmektedir. Ayrıca kirlilik baskısı ile ılıman kışları takip eden, sıcak bahar ve yaz aylarının; durgun su koşulları ile düşük oksijen seviyelerinin müsilağ oluşumunu tetiklediği düşünülmektedir. Marmara Denizinde müsilağın deniz yüzeyi, su kolonu ve sedimandaki yoğunluğu balıkçılık faaliyetlerini etkilemiş; halk arasında tedirginliğe yol açmıştır. Dolayısıyla devlet kurumlarının çabasıyla Marmara Denizinden binlerce metreküp müsilağ toplanmıştır. Bu çalışma kapsamında Mudanya kıyılarından toplanan müsilağ örneğinin yapısında karbonhidrat, protein ve lipidlerin olması bu atığın değerli bir ürüne dönüştürülebileceğini düşündürmüştür. Ayrıca elementel analiz sonuçları müsilağın yapısında değişen oranlarda C, H, N ve S elementlerinin olduğunu göstermiştir. İncelenen sınırlı sayıda müsilağ örneğinde potansiyel toksik algler veya insan hücre hatlarına karşı toksisite görülmemiştir. Tuzu uzaklaştırılan müsilağ tarımda toprak özelliklerini iyileştirme ve tarımsal verimi artırma potansiyeline sahiptir.

Anahtar Kelimeler:

Marmara Denizi, Müsilağ, Egzopolisakkarit, Toksikite, Tarım.

MUCILAGE AND POTENTIAL AREAS OF USAGE

Abstract:

The Sea of Marmara faced a very intense mucilage event in 2021. It is thought that mucilage formation begins with extracellular polysaccharides secreted by some phytoplanktonic organisms. In addition, hot spring and summer months following mild winters; stagnant water conditions and low oxygen levels are suggested to trigger the formation of mucilage, together with the pressure of pollution. The density of mucilage on the sea surface, water column and sediment in the Sea of Marmara affected fishing activities and caused concern among the people. Therefore, with the efforts of state institutions, thousands of cubic meters of mucilage were collected from the Sea of Marmara. The mucilage sample collected from the coasts of Mudanya within the scope of this study has carbohydrates, proteins and lipids in its structure, suggesting that this waste can be converted into a valuable product. In addition, the results of the elemental analysis showed that the mucilage contains C, H, N and S elements in varying proportions. No potential toxic algae or toxicity to human cell lines was observed in the limited number of mucilage samples studied. Desalinated mucilage has the potential to improve soil properties and increase agricultural yields in agriculture.

Keywords:

Sea of Marmara, Mucilage, Exopolysaccharide, Toxicity, Agriculture.

MÜSİLAJIN YAPISI

Marmara Denizi'nde 2020 yılının sonlarından itibaren su yüzeyinde gözlenmeye başlanan köpüksü-beyaz tabakalar, 2021 yılı yaz aylarında çok daha geniş alanlara yayılmıştır (Şekil 1). Bu durum balıkçılık faaliyetlerini engellemiş; halk arasında balık tüketimi açısından endişeye yol açmıştır. Dalgıçlar tarafından su altında çekilen görüntüler, deniz dibinin de ciddi bir müsilaj tabakası ile kaplanmış olabileceğini ortaya koymuştur. Marmara Denizi'nde görülen seviyede müsilaj oluşumu aslında çok sık rastlanılan bir olay değildir. Dünya denizlerinde Ege, Adriyatik, Tiren, Kuzey Denizi, Kaliforniya kıyıları ve Yeni Zelanda'nın bazı bölgelerinde gözlenmiş müsilaj oluşumu (Leppard, 1995; Mecozzi vd., 2001), bu ölçekte olmasa da 2007-2008 yıllarında Marmara'da yine gözlenmişti (Tüfekçi vd., 2010).



Şekil 1. Bu çalışmada kullanılan müsilaj örneğinin toplandığı 5 Mayıs 2021 tarihinde Mudanya kıyılarının görüntüsü (Fotoğraf Havva Ünür).

Dünya denizlerinde en geniş ölçekte ve en sık müsilaj oluşumu görülen deniz Adriyatik'tir (Leppard, 1995). Adriyatik kısmen kapalı ve sığ bir denizdir ve yaklaşık 200 yıldır müsilaj oluşumları bildirilmektedir. Adriyatik her ne kadar ötrofik bir sistem olsa da, hemen yanı başındaki Tiren Denizi oligotrofikdir ve burada da müsilaj olayları gözlenmektedir (Innamorati, 1995). Örneğin 1991 yılında Tiren Denizi'nde müsilaj aniden ortaya çıkmıştır. Çok kısa sürede yoğunlaşmış

aynı yılın Temmuz ve Ağustos aylarında Sicilya ve Toskana Takımadaları arasındaki tüm denizi kaplamıştır. Peki, oligotrofik Tiren Denizi'nde niçin yoğun müsilaj oluşumu görülmüştür? Tiren Denizi'nde 1979-1989 arasındaki yıllık Azot/Fosfor (N/P) oranı 4,26 iken; 1990'da 8,19'a; 1991 Mayıs ve Eylül'ünde ise sırasıyla 35,75 ve 43,07'ye yükselmiştir (Innamorati, 1995). Bu durum müsilaj yapılarından izole edilmiş fitoplankton (mikrolag) suşları ile yapılan laboratuvar çalışmalarında "yüksek N/P oranının hücre dışına salgılanan polisakkarit miktarını artırdığı" verisi ile uyumaktadır (Buzzelli, vd., 1997). Diğer taraftan gerek Adriyatik, gerekse Tiren Denizi'nde endüstrileşme öncesi müsilaj olayları görülmesi N/P oranının değişmesine ilave bazı faktörlerin de etkili olabileceğini ortaya koymaktadır. Nitekim yine Adriyatik'te yapılan çalışmalar akıntıların azalması ve su sıcaklığının yükselmesinin etkili olduğunu ortaya koymuştur. Müsilaj olaylarının özellikle ılıman kış aylarını takip eden, sıcak bahar ve yaz aylarında görüldüğü bildirilmiştir (Mecozzi vd., 2001).

Müsilajın Marmara'daki gibi niçin çok büyük kütleler oluşturduğu ve bunu neyin tetiklediği konusunda farklı hipotezler vardır. Örneğin bir görüş müsilaj oluşumunun "denizel kar" denilen olay ile başladığı yönündedir (Danovaro vd., 2009) Denizel kar, detritus, canlı mikro-organizmalar ve inorganik maddelerin oluşturduğu makroskopik kümelerdir ve suda süspansiyon halinde amorf partikül kümelenmelerinin genel adıdır. Denizel karın uygun şartlarda bozulmadan kalabileceği, haftalar, bazen aylar sonra çok daha büyük müsilaj kümelerini oluşturabileceği düşünülmektedir. Denizel kar, fitoplanktonun aşırı çoğaldığı durumlarda artar. Fitoplanktonun hücre dışına salgıladığı veya öldükten sonra ortama salınan polisakkaritlerin denizel kar oluşumuna katkı sağladığı düşünülmektedir (Mecozzi vd., 2001). 1988-1990 arasında Kuzey Adriyatik'te görülen müsilaj olayı şu şekilde gelişmiştir: Kışın 0.5 mm'den birkaç cm'ye kadar değişen denizel kar oluşmuştur. Bu makroskopik kümelerde müsilaj, biyojenik debri ve mikro-organizmalar gözlenmiştir. Zaman geçtikçe deniz karının şekli ve boyutu değişmiş; çok daha büyük makroskopik kümeler oluşmuştur. Bunlar 30 cm uzunluğunda iplikli yapılardan, 300 cm çapında bulutsu yapılara dönüşmüştür. Bu değişim haftalar veya aylar sürmüş ve floküle olan materyalin büyük çoğunluğu yüzeyin birkaç metre altında kalmıştır. Bulutsu forma ulaşan müsilaj, su durgunsa yüzeye çıkmıştır (Leppard, 1995). Yapılan gözlemler büyük müsilaj topaklanmaları için 3 temel mekanizmanın işlevsel olması gerektiğini ortaya koymuştur: 1) Biyota suya salınım için yeterli miktarda müsilaj molekülü salgılamalıdır, 2) Su durgun olmalıdır, 3) Yüksek sıcaklık, yavaş akıntı ve dalga ile su kolonunda anoksik koşullar ortaya çıkmalıdır. Böylece hızlı biyolojik bozulma engellenerek geniş müsilaj oluşumları ortaya çıkacaktır (Urbani vd., 2005).

Müsilaj kendisini saran deniz suyundan daha fazla klorofil-a ve feofitin pigmentleri içerir (Angelis vd., 1993). Bunun anlamı müsilaj içinde deniz suyuna göre daha fazla fitoplankton olduğudur. Nitekim Tiren Denizi çalışmaları müsilajda suya göre 100-1000 kat daha fazla fitoplankton hücresi olduğunu ortaya koymuştur (Innamorati, 1995). Bu yoğunluğu müsilajın su kolonundan fitoplankton hücrelerini toplamasına bağlayan araştırmacılar olduğu gibi (Buzzelli

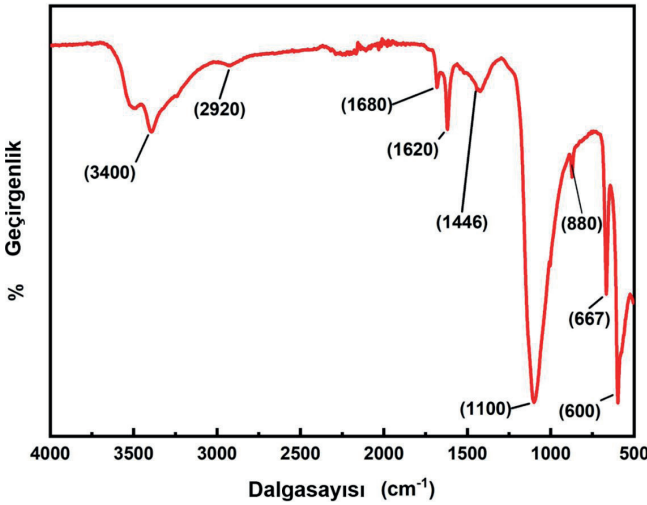
vd., 1997), müsilağın bir nevi besi yeri görevi gördüğünü düşünen araştırmacılar da vardır. Bunlara göre müsilağ aktif ototrofik metabolizmanın devam ettiği yerlerdir (Angelis vd., 1993). Ancak müsilağ içinde görülen fitoplankton türleri, içinde bulunduğu deniz suyundaki türlerden farklıdır. Müsilağ içindekiler kış ve bahar türlerini temsil etmektedir. Müsilağ oluşumunun yıllık fitoplankton döngüsünün önceki grupları tarafından oluşturulduğunu ortaya koyan bir diğer kanıt da müsilağ içindeki feofitin değerlerinin suya göre daha yüksek olmasıdır. Feofitin, klorofilin bozmuş formudur. Bu da müsilağ içindeki popülasyonların yaşlı olduğu ve bu kümelenmeleri oluşturan popülasyonlar olduğu tezini desteklemektedir (Innamorati, 1995).

Müsilağ adından da anlaşılacağı üzere yapışkan, jelimsi bir maddedir. Denizel ortamda bu tür maddeleri (Örneğin: Polisakkaritler) oluşturabilecek temel canlı grupları mikro ve makroalgler ile bakterilerdir. Her ne kadar müsilağ ismi yapının tümüyle polisakkarit içerikli olduğunu çağırırsa da müsilağın yapısında polisakkaritler yanında proteinler, lipidler, fenolik bileşikler ve çeşitli inorganik maddeler bulunmaktadır. Müsilağ içinde Ca^{2+} gibi iyonlar polisakkarit monomerleri arasındaki boşlukları doldurmakta ve yapının stabilitesi artmaktadır (Mecozzi vd., 2001; Angelis vd., 1993). Adriyatik Denizi'nden toplanan müsilağın %8,1'inin karbonhidrat olduğunu bildirmiştir. Bu polisakkarit fraksiyonu içinde ramnoz, arabinoz, ksiloz, mannoz, glukoz ve galaktoz monomerleri tespit edilmiştir. Aynı monomerlerin müsilağdan izole edilmiş iki diatom türü *Amphora coffeaeformis* ve *Cylindrotheca fusiformis*'te de tespit edilmesi, müsilağdaki polisakkaritlerin kaynağının bu iki diatom olabileceğini düşündürmüştür.

Marmara Denizi Mudanya kıyılarında 5 Mayıs 2021 tarihinde toplanan müsilağ örneklerinin laboratuvarımızda yapılan mikroskopik incelemelerinde de mevcut fitoplanktonun büyük çoğunluğunun diatomlardan oluştuğunu gözlemledik. Bunlar içinde *Skeletonema* sp. en baskın olan diatom türüydü ve farklı müsilağ örneklerinden birçok suş mikroskop altında izole edilerek, diğer diatom türleri ile kültür altına alındı. İlerleyen çalışmalarda bu diatom türlerinin hücre dışına salgıladıkları polisakkaritlerin, müsilağdaki polisakkaritlerle karşılaştırılması yapılacaktır.

Mudanya kıyılarında toplanan müsilağın büyük oranda (>%90) su içerdiği tespit edilmiştir. Kurutulan örneklerin ise yaklaşık yarısının tuz olduğu yaptığımız ölçümlerle belirlenmiştir. Gerek kurutulmuş, gerekse yaş örneklerde tuz diyaliz ile uzaklaştırılabilmiştir. Adriyatikten toplanan müsilağ örneklerinde diyaliz ile tuzlar uzaklaştırıldıktan sonra toplam karbonhidrat içerikleri %15,5 ile %35,5 arasında bulunmuştur. Bu örneklerin toplam üronik asit içerikleri %3 ile %9,5 arasında değişirken; nötral şeker oranları %7 ile %20,4 arasında değişmiştir. Aynı örneklerin %28,7'si ile %60'ının kül olduğu görülmüştür (Mecozzi vd., 2001). Diğer taraftan Mudanya kıyısından topladığımız müsilağ örneği kurutulduktan sonra yapılan analizlerde toplam karbonhidrat yaklaşık %10, nötral şekerler yaklaşık %5, toplam protein yaklaşık %3 ve kül oranı yaklaşık %40 olarak bulunmuştur.

Mudanya örneğinin fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analiz sonuçları Şekil 2'de verilmiştir. Numunenin FTIR spektrumunda 3400 cm^{-1} 'de $-\text{OH}$ grubunun geniş ve kuvvetli gerilme titreşim dalgası görülmektedir. Bu dalga, karboksilik asit, fenolik ve alkol bileşiklerine bağlı olabilir. 1100 cm^{-1} 'deki absorpsiyon ise $-\text{C}-\text{O}$ grubu veya $\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ grubuyla bağlantılı olabilir ve 3400 cm^{-1} ile numunedeki polisakkarit varlığını işaret etmektedir. $1620-1680\text{ cm}^{-1}$ arasındaki absorpsiyon ise Amid I dalgası ile bağlantılıdır ve numunedeki protein varlığını işaret eder. 1446 cm^{-1} 'de $-\text{C}=\text{O}$ grubunun gerilme dalgası görülmektedir ve 880 cm^{-1} 'deki eğilme vibrasyonu ile karbonat varlığını işaret eder. Adriyatik Denizi'nden toplanan müsilaj örneklerinin FTIR spektrumları da benzer sonuçlar vermiştir.



Şekil 2. Marmara Denizi, Mudanya müsilaj örneği FTIR spektrumu.

MÜSİLAJIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Müsilaj, 2021 yılı yazında Marmara Denizi'nde çok daha geniş alanlarda görülmeye başlamıştır. Olayın boyutu halkta tedirginliğe yol açmış; müsilaj basınının en önemli gündem maddelerinden biri haline gelmiştir. Farklı üniversiteler müsilaj örneklerini incelemeye başlamış; belediyeler kendi imkânlarıyla müsilaj atıklarını toplamaya başlamıştır. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı 15 Haziran 2021 tarihinde Marmara Denizi Eylem Planını yürürlüğe koymuştur. Bu doğrultuda Marmara'yı çevreleyen 7 ilde İl Koordinasyon Merkezleri kurulmuştur. Yine alt çalışma grupları kurulmuş Bakanlık, Genel Müdürlük, Belediyeler ve Üniversiteler seviyesinde koordinatörler ve yürütücüler belirlenmiştir. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı 24 Haziran 2021 tarihi itibarı ile toplam toplanan müsilaj miktarının 6159 m^3 olduğunu açıklamıştır (TRTHABER, 2021)

Bu yoğunlukta müsilaaj atığı, bu tür bir organik atığın değerlendirilip değerlendirilemeyeceği sorusunun ortaya çıkmasına neden olmuştur. Mudanya kıyıları, Adriyatik ve Tiren Denizi'nden alınan numunelerde müsilaajın yapısında karbohidratlar, proteinler ve lipidler ile çeşitli inorganik maddelerin olduğu belirlenmiştir. Müsilaajın elementel analiz sonuçları yapısında C, H, N ve S olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin Adriyatik'ten toplanan örneklerde % 14-29 arası C, % 0,8-2,2 arası N, %0- 8 arası S tespit edilmiştir (Mecozzi vd., 2001) . Mudanya'dan toplanan örneklerde de benzer sonuçlar bulunmuştur. Ancak müsilaajın %90 üzerinde su içeriğinin olması; %50 civarında tuz içermesi bazı uygulamalar için kısıtlayıcıdır. Örneğin gübre katkısı olarak kullanılması durumunda, tuz içeriğinden dolayı müsilaajın doğrudan kullanımı mümkün olmayabilir ve ön işlemleri gerektirebilir. Diğer taraftan Mudanya kıyısından alınan müsilaaj örneğinin kalorifik değeri yaklaşık 1660 cal/gr olarak bulunmuştur (Prof. Dr. Osman Nuri Şara, kişisel görüşme). Bu da müsilaajın biyoyakıt hammaddesi olarak kullanılabilme potansiyelini sınırlamaktadır. Aşağıda müsilaajın potansiyel kullanım alanları listelenmiştir. Ancak öncesinde müsilaajın toksikolojik olarak incelenmesi gerekmektedir.

Müsilaajın Toksikolojik Özellikleri

Müsilaajda algal toksinler

Fitoplankton içinde yer alan dinoflagellat ve diatomların bazı türleri deniz canlılarına, kuşlara, hayvan ve insanlara zarar verebilen toksik bileşikler oluşturabilirler. Bu toksik bileşikler etki mekanizmalarına göre çeşitli gruplara ayrılırlar. Marmara'da görülme potansiyeli olan algal toksin grupları şunlardır: Paralitik Kabuklu Toksinleri, sinir sistemini etkileyen ve 60'a yakın analogu bulunan alkaloidlerdir. İnsanlarda zehirlenme solumun felcine, hatta ölüme yol açabilir. Denizel ortamlarda *Alexandrium* spp. ve *Gymnodinium* spp. gibi dinoflagellatlar tarafından oluşturulabilir (Wiese vd., 2010). Diyetetik Kabuklu Toksinleri, okadaik asit ve dinofisistoksinler gibi asidik poliyeter toksinleri içerir. Bunlar insan zehirlenmelerinde diyare ve kusma semptomları gösterirler. *Dinophysis* spp. ve *Prorocentrum* spp. gibi dinoflagellatlar tarafından oluşturulabilir (Dolah, 2000). Amnezik Kabuklu Zehirlenmesi, domoik asit zehirlenmesi ile ortaya çıkar. Domoik asit nöronlarda kalsiyum toksisitesine yol açar (Bejarano vd., 2008). İnsan zehirlenmelerinde gastrointestinal ve sinir sistemi sorunları ortaya çıkar. Sinir sistemi sorunları hafıza kaybına dahi yol açabilir. Bazı *Pseudonitzschia* türleri tarafından oluşturulabilir (Dolah, 2000). Bu temel algal toksin gruplarına ilave olarak *Dinophysis* türleri tarafından oluşturulabilen pektenotoksinler de Marmara Denizi'nde görülme potansiyeline sahiptir. Bu toksinleri oluşturan türler Marmara Denizi ekosisteminde mevcuttur (Tüfekçi vd., 2010) ve bahsi geçen toksinler daha önce Marmara'da tespit edilmiştir (Yılmaz vd., yayımlanmamış).

Mudanya kıyısından toplanan örneklerin mikroskopik incelemesi müsilaaj içinde diatomların baskın olduğu bir biyotanın hâkim olduğunu göstermiştir. Bu örneklerde potansiyel olarak toksik türlere rastlanmamıştır. Ancak müsilaaj ola-

yının mekânsal ve zamansal yayılımı düşünüldüğünde müsilaç içinde potansiyel toksik türlerin varlığı mümkündür. Diğer taraftan müsilaç içinde olmasa bile deniz suyunda mevcut toksik türlerin oluşturduğu toksinler müsilaç tarafından adsorbe edilebilir. Bu nedenle Marmara Denizi'nde gerçekleştirilecek izleme çalışmalarına gerek denizel ortamda gerekse müsilaç yapısında algal toksinlerin takibinin eklenmesi faydalı olacaktır. Diğer taraftan gübre katkısı olarak kullanılması planlanan müsilaç örneklerinde bu durum göz önünde bulundurulmalıdır.

Müsilaçın İnsan Hücre Hatlarına Toksisitesi

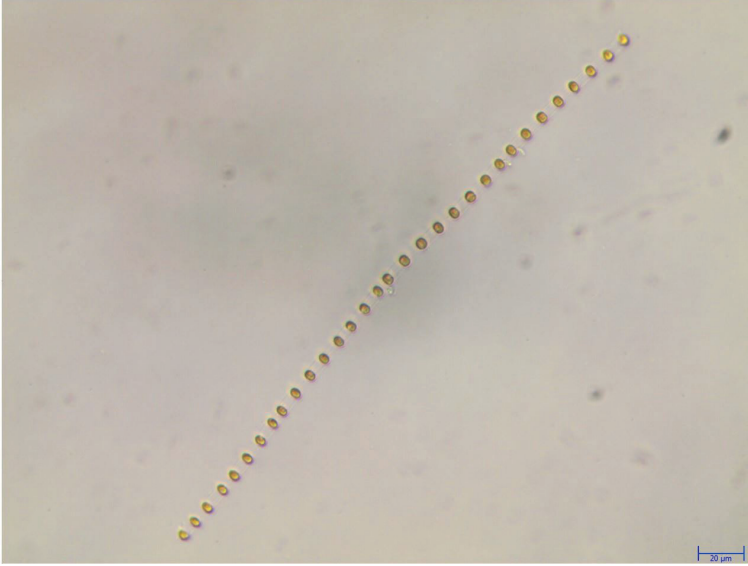
Müsilaçın yapısını ortaya çıkarmak ve biyoteknolojik kullanım alanlarını belirlemek kadar, elde edilecek ürünlerin insan ve çevre sağlığına olası etki/yan etkilerini aydınlatmak için ayrıntılı toksikolojik çalışmalara da gereksinim olduğu unutulmamalıdır. Bu testler sadece risklerin değil aynı zamanda bu yapıların olası biyolojik aktiviteleri ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin belirlenmesi için de önemlidir. Bu amaçla yapılacak çalışmalar hedef organizmalara ve etkileşimlere bağlı olarak ayrı ayrı planlanabilmektedir. Toksisite değerlendirmesinde ilk amaç maruz kalman kimyasal ajanlara karşı hücresel ve genetik cevabın önceden saptanması, böylece olası riskleri belirleyerek güvenli kullanımın sağlanmasıdır (Şekeroğlu & Şekeroğlu, 2011). *In vitro* şartlarda yapılan sitotoksisite ve genotoksisite testleri doz-cevap ilişkilerini hızlı bir şekilde ortaya koymak için ön değerlendirme amaçlı yapılmaktadır. Bursa Teknik Üniversitesi Biyomühendislik bölümünde yapılan çalışmalarda müsilaçın sağlıklı ve kanser memeli hücre hatlarındaki sitotoksik ve genotoksik etkilerini belirlemek üzere çalışmalara başlanmıştır. Konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığı ve DNA üzerindeki etkilerin belirlenmesinden sonra *in vivo* testler ile bu kimyasalların sağlık üzerindeki olası etkileri net bir şekilde ortaya konulabilecektir.

Son yıllarda, hücre kültüründe sitotoksisitenin araştırılması amacıyla pek çok yöntem geliştirilmiştir. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanı, 96 kuyucuklu plaklarda yapılan sitotoksisite testleridir. Bu yöntemlerle hızlı ve kolay şekilde birçok örneğin analizi yapılabilmektedir (Weyermann, Lochmann & Zimmer, 2005). Müsilaçın hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerine olan etkileri 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) ve nötral kırmızısı alım (NKA) sitotoksisite testleri ile farklı hücre hatlarında araştırılmaktadır. Ayrıca DNA hasarı ve tamiri üzerine olası genotoksik ve antigenotoksik etkileri de genetik toksikoloji alanında son yıllarda en çok kullanılan yöntem olarak comet testi (tek hücre jel elektroforezi) ile belirlenmektedir.

Müsilaç oluşturan mikroalglerin izolasyonu

Marmara Denizi Mudanya kıyısından toplanan müsilaç örneğinin yoğun bir fitoplankton biyomasına sahip olduğu görülmüştür. Özellikle bazı türlerin çok baskın olduğu belirlenmiştir. Bu türlerin başlangıçtaki müsilaç oluşumundan sorumlu veya müsilaç devamından sorumlu türler olması muhtemeldir. Bu nedenle baskın olan türler ve suşları müsilaç içinden izole edilmiştir. İzolasyon, müsilaç örneği içinden tek bir mikroalg hücresinin mikroskop altında çok ince

bir pipet yardımıyla çekilmesini; diğer tüm hücrelerden ayrıştırılan hücrenin steril bir besi ortamına aktarılmasını içerir. Bu işlem izole edilmesi planlanan her tür için pek çok defa tekrarlanarak istenen türün çoğaltılma ihtimali artırılır. Steril besi ortamına alınan “tek hücre” düşük ışık yoğunluğu ve uygun sıcaklıkta inkübe edilerek hücrelerin bölünerek çoğalması beklenir (Yılmaz vd., 2018) including saxitoxin (STX. Bu işlem uygulanarak Marmara Denizi Mudanya kıyılarından toplanan müsilaj numunelerinde baskın olan mikroalg türleri izole edilmiş ve kültür altına alınmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Marmara Denizi Mudanya kıyısından toplanan müsilaj örneğinden izole edilen bir diatom türü.

İlerleyen çalışmalarda bu tür ve suşlar kullanılarak laboratuvar koşullarında müsilaj oluşumu incelenecek; müsilaj oluşumunu tetikleyen faktörler belirlenmeye çalışılacaktır. Diğer taraftan müsilaj oluşumunun başlangıcında etkili olduğu düşünülen ve mikroalg hücreleri tarafından salgılanan egzopolisakkaritler (EPS) biyoteknolojinin çeşitli alanlarında kullanım potansiyeline sahiptir. Mikrobiyal ekzopolisakkaritler (EPS) endüstride kalınlaştırıcı ve jelleştirici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar bazılarının antibakteriyel, antikoagulant, antimutajenik, antioksidatif, anti-ülser, antikanser ve anti-enflamatuvar özellikler gösterdiğini ortaya koymuştur. Diğer taraftan EPS'lerin su kirliliğinin azaltılması ve toprağın özelliklerinin iyileştirilmesi konusunda potansiyeli ortaya konmuştur (Delattre vd., 2016). Marmara denizi müsilajından izole edilen türlerin ürettiği EPS'lerin karakterizasyonu ve potansiyel biyoteknolojik kullanımları laboratuvar koşullarında incelenmektedir.

Müsilajın toprak özelliklerini iyileştirme ve bitki büyümesine katkı potansiyeli

Bitkilerin rizosfer ve köklerinde bulunan mikroorganizmalar toprağa egzopolisakkaritlerini (EPS) salgırlar. Salgılanan EPS mikro-kümelenmeler oluşturu-

arak toprak oluşumu ve stabilitesini artırır. Ayrıca EPS rizosfer toprağından bitkilere besin ve su transferini düzenler (Kambourova vd., 2015). Dolayısıyla EPS oluşturan mikroorganizmalar ile EPS'nin faydaları bilinmektedir. Örneğin toprak tuzluluğı toprak verimini ve tarım ürünü üretimini etkileyen en önemli sorunlardan bir tanesidir. EPS uygulaması veya EPS üreten halofilik bakterilerin kullanılması ile topraktan bitkiye Na^+ geçişinin azaltılabileceğı öngörülmüştür (Banerjee vd., 2019) agricultural productivity is decreasing mostly because of drought and salinity increase. The situation may become worse for global warming in the future. A wide range of adaptation and mitigation strategies have been adopted to cope up with these circumstances. Among the measures to control soil salinity, those that involve water management and changes in micro relief can be time-consuming and cost-intensive. In this scenario, biological methods of salinity stress management appear as a good alternative, and halotolerant bacteria may play an important role in mitigating salinity stress. The natural ability of these microorganisms to cope with harsh environmental conditions has been attributed to their high genetic diversity and physiological adaptations, such as the synthesis of compatible solutes, growth in biofilm consortia and production of exopolysaccharides (EPSs. Buğdayla yapılan bir çalışmada bakteriler tarafından EPS üretiminin köklere Na^+ taşınmasını sınırladığı ortaya konmuştur (Ashraf vd., 2004). Ayrıca EPS üreten bakterilerin büyümeyi teşvik edici özelliklerinin olduğu da bilinmektedir. *Azotobacter*'den elde edilen EPS'nin kuraklığa, protozoolara, fajlara ve toksik metallerle karşı etkili olduğu bilinmektedir (Gauri vd., 2012). İlave olarak *Azotobacter* EPS'si azot (N) metabolizması için karbon (C) kaynağı veya N kıtlığında C deposu olarak kullanılabilir. Dolayısıyla EPS parçalanması toprak ekosistemine çeşitli mikro ve makro nütrientler sağlayabilir. Rizosfere uygulanan EPS, bakterilerin kolonileşmesini ve beraber çalışmasını kolaylaştıracaktır. Bu, özellikle biyo-gübre olarak kullanılabilme potansiyeline sahip mikroorganizmalar için önemlidir. Bakteriler tarafından salgılanan proteaz, amilaz, sellülaz, kitinaz, lipaz gibi enzimler EPS tarafından immobilize edilip topraktaki besin döngüsünde önemli rol üstlenebilirler. *Nostoc muscorum*'dan izole edilen EPS toprağına uygulandığında 180 gün sonunda, çözünür C %100; mikrobiyal aktivite %366; $250 \mu m$ 'den büyük ve suya dayanıklı toprak kümelenmeleri 12 kat artmıştır (De Cano vd., 1997).

Müsilaj değişen oranlarda polisakarit içermektedir (%10-%35) (Mecozzi vd., 2001). Dolayısıyla yapısındaki tuz ekonomik bir yolla uzaklaştırılabilirse, toprağın özelliklerini iyileştirmek için kullanılabilir. Mudanya'dan toplanan müsilaj örneği diyaliz işlemine tabii tutulduktan sonra Bursa Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi bünyesinde çeşitli bitkilerin tohum çimlenmesi çalışmalarında kullanılmaktadır.

Teşekkür: Bursa Teknik Üniversitesi'nde müsilaj ile ilgili çalışmalar yürüten ve bu yayında bahsedilen çalışmalara katkı sağlayan Prof. Dr. Ece Ünür Yılmaz, Dr. Öğr. Üyesi Gökçe Taner, Dr. Öğr. Üyesi Kamil Erken, Araştırma Görevlileri Kübra Şentürk ve Neriman Sinan ile doktora öğrencisi Vesile Esra Dökümcüoğlu'na teşekkür ederim. Bu çalışma Bursa Teknik Üniversitesi destekleriyle gerçekleştirilmektedir.

Kaynakça / References

- Angelis, F. De, Barbarulo, M. V., Bruno, M., Volterra, L., & Nicoletti, R. (1993). Chemical composition and biological origin of 'dirty sea' mucilages. *Phytochemistry*, *34*(2), 393–395. doi:10.1016/0031-9422(93)80015-K
- Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., & Mahmood, T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, *40*(3), 157–162. doi:10.1007/s00374-004-0766-y
- Banerjee, A., Sarkar, S., Cuadros-Orellana, S., & Bandopadhyay, R. (2019). Exopolysaccharides and Biofilms in Mitigating Salinity Stress: The Biotechnological Potential of Halophilic and Soil-Inhabiting PGPR Microorganisms, 133–153. doi:10.1007/978-3-030-18975-4_6
- Bejarano, A. C., VanDola, F. M., Gulland, F. M., Rowles, T. K., & Schwacke, L. H. (2008). Production and Toxicity of the Marine Biotxin Domoic Acid and Its Effects on Wildlife: A Review. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, *14*(November 2015), 544–567. doi:10.1080/10807030802074220
- Buzzelli, E., Gianna, R., Marchiori, E., & Bruno, M. (1997). Influence of nutrient factors on production of mucilage by *Amphora coffeaeform* s var . perpusilla, *17*(10), 1171–1180.
- Danovaro, R., Umami, S. F., & Pusceddu, A. (2009). Climate change and the potential spreading of marine mucilage and microbial pathogens in the mediterranean sea. *PLoS ONE*, *4*(9). doi:10.1371/journal.pone.0007006
- De Cano, M. S., De Mulé, M. C. Z., De Caire, G. Z., Palma, R. M., & Colombo, K. (1997). Aggregation of soil particles by *Nostoc muscorum* Ag. (Cyanobacteria). *Phyton*, *60*, 33–38.
- Delattre, C., Pierre, G., Laroche, C., & Michaud, P. (2016). Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, *34*(7), 1159–1179. doi:10.1016/j.biotechadv.2016.08.001
- Dolah, F. M. Van. (2000). Marine Algal Toxins: Origins, Health Effects, and Their Increased Occurrence. *Environmental Health Perspectives*, *108*(March), 133–141. doi:10.1289/ehp.00108s1143
- Gauri, S. S., Mandal, S. M., & Pati, B. R. (2012). Impact of *Azotobacter* exopolysaccharides on sustainable agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *95*(2), 331–338. doi:10.1007/s00253-012-4159-0
- Innamorati, M. (1995). Hyperproduction of mucilages by micro and macro algae in the Tyrrhenian Sea. *Science of the Total Environment*, *165*(1–3), 65–81. doi:10.1016/0048-9697(95)04544-B
- Kambourova, M., Oner, E. T., & Poli, A. (2015). *Exopolysaccharides from Prokaryotic Microorganisms-Promising Sources for White Biotechnology Processes. Industrial Biorefineries and White Biotechnology*. Elsevier B.V. doi:10.1016/B978-0-444-63453-5.00017-3
- Leppard, G. G. (1995). The characterization of algal and microbial mucilages and their aggregates in aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment*, *165*(1–3), 103–131. doi:10.1016/0048-9697(95)04546-D
- Mecozzi, M., Acquistucci, R., Di Noto, V., Pietrantonio, E., Amici, M., & Cardarilli, D. (2001). Characterization of mucilage aggregates in Adriatic and Tyrrhenian Sea: Structure similarities between mucilage samples and the insoluble fractions of marine humic substance. *Chemosphere*, *44*(4), 709–720. doi:10.1016/S0045-6535(00)00375-1
- Şekeroğlu, Z. A., & Şekeroğlu, V. (2011). Genetik Toksikite Testleri. *Türk Bilim Araştırma Vakfı Dergisi*, *4*, 221–229.
- Tüfekçi, V., Balkis, N., Polat Beken, Ç., Ediger, D., & Mantıkçi, M. (2010). Phytoplankton composition and environmental conditions of a mucilage event in the Sea of Marmara. *Turkish Journal of Biology*, *34*(2), 199–210. doi:10.3906/biy-0812-1

- TRTHABER, <https://www.trthaber.com/haber/gundem/marmarada-toplanan-musilaj-miktari-6-bin-metrekepui-gecti-590768.html> (27.06.2021)
- 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. *Science of the Total Environment*, 353(1–3), 300–306. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.09.026
- Weyermann, J., Lochmann, D., & Zimmer, A. (2005). A practical note on the use of cytotoxicity assays. *International Journal of Pharmaceutics*, 288(2), 369–376. doi:10.1016/j.ijpharm.2004.09.018
- Wiese, M., D'Agostino, P. M., Mihali, T. K., Moffitt, M. C., & Neilan, B. A. (2010). Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs. *Marine Drugs*, 8(7), 2185–2211. doi:10.3390/md8072185
- Yilmaz, M., Foss, A. J., Selwood, A. I., Özen, M., & Boundy, M. (2018). Paralytic shellfish toxin producing *Aphanizomenon gracile* strains isolated from Lake Iznik, Turkey. *Toxicon*, 148, 132–142. doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.028