

**FEN BİLİMLERİ VE
MATEMATİK
ALANINDA
ARAŞTIRMA VE
DEĞERLENDİRMELER
-2019 / Haziran**



Kitap Adı	: Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Araştırma ve Değerlendirmeler – 2019 / Haziran
İmtiyaz Sahibi	: Gece Kitaplığı
Genel Yayın Yönetmeni	: Doç. Dr. Atilla ATİK
Kapak&İç Tasarım	: Sevda KIRDAR
Sosyal Medya	: Arzu ÇUHACIOĞLU
Yayına Hazırlama	: Gece Akademi  Dizgi Birimi
Yayıncı Sertifika No	: 15476
Matbaa Sertifika No	: 34559
ISBN	: 978-605-180-475-0

Editör

Prof. Dr. Hüsniye AKA SAĞLIKER

The right to publish this book belongs to Gece Kitaplığı. Citation can not be shown without the source, reproduced in any way without permission. Gece Akademi is a subsidiary of Gece Kitaplığı.

Bu kitabın yayın hakkı Gece Kitaplığı'na aittir. Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir yolla çoğaltılamaz. Gece Akademi, Gece Kitaplığı'nın yan kuruluşudur.

Birinci Basım/First Edition ©Haziran2019/Ankara/TURKEY ©copyright



Gece Publishing

ABD Adres/ USA Address: 387 Park Avenue South, 5th Floor, New York, 10016, USA

Telefon/Phone: +1 347 355 10 70

Gece Akademi

Türkiye Adres/Turkey Address: Kocatepe Mah. Mithatpaşa Cad. 44/C Çankaya, Ankara, TR

Telefon/Phone: +90 312 431 34 84 - +90 555 888 24 26

web: www.gecekitapligi.com —www.gecekitap.com

e-mail: geceakademi@gmail.com

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM 1

BİYOLOJİK KAYNAK MERKEZİ (MİKROALG) OLUŞTURULMASI, DEVAMLILIĞININ SAĞLANMASI İÇİN GEREKEN KOŞULLAR VE ÇALIŞMA ADIMLARI

Dilek YALÇIN DUYGU 5

BÖLÜM 2

ANIZ YAKMANIN TOPRAK MİKROORGANİZMA FAALİYETİNE OLASI ETKİLERİ

*Nacide KIZILDAĞ, Şahin CENKSEVEN, Burak KOÇAK,
Hüsnüye AKA SAĞLIKLER, Cengiz DARICI* 27

BÖLÜM 3

SBKJ BAZ SETİNİN BİLGİSAYAR DESTEKLİ KUANTUM HESAPLAMALARINDA İBUPROFEN İÇİN UYGULANMASI

Nil BİNBAY..... 37

BÖLÜM 4

KOZAN-KADIRLI (ADANA) KARAYOLU ÜZERİNDE YETİŞTİRİLEN TURP (*Raphanus sativus* L. var. *radicula*) VE TOPRAKLARININ Pb, Zn ve Cd İÇERİKLERİ

Hüsnüye AKA SAĞLIKLER, Cengiz DARICI 49

BÖLÜM 5

GRUPOİDLER ÜZERİNDEKİ ÇAPRAZLANMIŞ MODÜLLERİN YÜKSELMELERİ

Tunçar ŞAHAN 61

**BİYOLOJİK KAYNAK MERKEZİ (MİKROALG)
OLUŞTURULMASI, DEVAMLILIĞININ
SAĞLANMASI İÇİN GEREKEN KOŞULLAR VE
ÇALIŞMA ADIMLARI**

Dilek YALÇIN DUYGU ¹



¹ Dr., Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi, Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi, Biyoloji Eğitimi, Ankara.

GİRİŞ

Algler, karbondioksiti atmosferden organik karbon haline dönüştürmek için güneş ışığı kullanan fotosentetik organizmalardır ve diğer organizmalar için hem hücrel karbon hem de kimyasal enerjinin nihai kaynağıdır. Bu nedenle, alglere birincil üreticiler de denilmektedir (Duygu Yalçın, 2017). Algler yapısal olarak tek hücreli (mikroalg) ve çok hücreli (makroalg) olmak üzere iki büyük gruba ayrılırlar. Algler içerdikleri pigmentlere, depo maddelerine ve hücre duvarı yapı taşlarına göre mavi-yeşil bakteriler (Cyanobacteria), mavi-yeşil algler (Glaucophyta), öglenalar (Euglenophyta), Kriptomonadlar (Cryptophyta), Haptofitler (Haptophyta), Dinoflagellatlar (Dinophyta), kahverengi algler (Ochromytha), kırmızı algler (Rhodophyta) ve yeşil algler (Chlorophyta) olarak sınıflandırılırlar (Aktar ve Elgin, 2010). Mikroalglerin fototrofik büyümesi için ışık, karbondioksit ve besin maddelerine ihtiyaçları vardır (Hattab ve Ghaly, 2014). Bazıları, karbon kaynağı olarak şeker, gliserol veya organik asit kullandıkları için heterotrofik veya hem fototrofik hem de heterotrofik olabildikleri için mikсотrofik olarak büyüebilirler (Lowrey vd., 2015). Alglerin %70'i ekolojik olarak sularda (deniz, göl ve nehirler) yaşamakla birlikte, karasal ortamda da (toprak, ağaç ve kayalar) yaşayabilmektedirler (Aktar ve Elgin, 2010). Mikroalg büyümesi için optimum sıcaklık genellikle 20-30°C'dir. Ancak bazı suşların buzla kaplı alanlarda çok daha düşük sıcaklıklarda, kaynak sular gibi yüksek (70°C) sıcaklıklarda, çok tuzlu su ortamlarında, düşük ışık yoğunluğu ve yüksek basınç altındaki göl ve deniz ortamlarında büyüebildiği de bildirilmiştir (Bleeke vd., 2014; Cirik ve Cirik 2011). Mikroalgler yapılarında bulunan lipid, pigment, karbonhidrat, vitamin ve protein gibi endüstrinin farklı uygulama alanlarında değerlendirilecek değerli bileşiklerin kaynağıdır (Varshney vd., 2015). Araştırmacılar, gıda, kozmetik, su ürünleri, ilaç endüstrisi, atık su arıtımı, anti-tümör ve anti-bakteriyel bileşiklerin elde edilmesi için çok çeşitli mikroalg türleri üzerinde araştırmalar yapmaktadırlar (Thompson, 2002; Borowitzka ve Borowitzka, 1988; Cohen, 1999; Hosikian vd., 2010; Smith vd., 2001). Araştırmacıların çalışmalarında odaklandıkları alg türlerinin elde edilmesi zor ve hatta pahalı uygulamalar olduğu için uzun süreli saklama cazip bir yöntem olarak tercih edilmektedir. Laboratuvar ortamlarında mikroalg kültürleri, genellikle alt kültürlerinin yapılması yoluyla muhafaza edilmektedir. Ancak bu teknik çok fazla insan gücü gerektirir ve insan hatası nedeniyle suşlar kaybolabilir veya kontamine olabilirler. Özellikle ekonomik öneme sahip türlerin korunması ve temini için çeşitli kültür koruma yöntemleri geliştirilmekte ve bu kültürlerin bir merkezde toplanması içinde Biyolojik Kaynak Merkezleri oluşturulmaktadır.

1. Biyolojik Kaynak Merkezlerinin Önemi ve Özellikleri

Biyolojik kökenli hücreler, genler ve diğer canlı organizmalar milyonlarca gen ve molekül içeren materyaller olduğundan, yaşam bilimleri ve biyoteknoloji için araştırma ve geliştirme konularında önem taşımaktadırlar (OECD, 2007). Kültürel korumanın temel ilkesi, saf kültürlerin niteliklerini kaybetmeden, sağlıklı ve uygun koşullarda uzun süreli korunmasını ifade

etmektedir. Biyolojik kaynak merkezlerinin mikroorganizma kültürlerini saf, canlı, mutasyona uğramamış ve hasarsız muhafaza ederek korunması önem taşımaktadır.

Biyolojik kaynak merkezlerinde muhafaza edilen canlı materyaller; taksonomik çalışmalarda, biyolojik analizlerde, referans tür olarak, öğrencilerin eğitimlerinde ve AR-GE çalışmaları için akademik, kamusal, özel ve ticari faaliyet alanlarının hizmetine sunulmaktadır. Biyolojik kaynak merkezleri, bir ülkenin ulusal biyolojik çeşitliliğin korunması için de önemli merkezlerdir (Stacey ve Day, 2007). Farklı ülkeler ve kurumlar mikroorganizmalar için kültür toplama merkezleri kurmuş ve halen kurmaktadır. Biyolojik kaynak merkezleri kendi ülkelerine ve diğer ülkelere hizmet verirken bir yandan da araştırma faaliyetlerini yürütmektedirler. Bu merkezler bilimsel, endüstriyel, tarımsal, çevresel ve tıbbi AR-GE uygulamaları ve ayrıca biyolojik çeşitliliğin korunması için biyolojik kaynakları korumakta, eğitimler vermekte ve sertifikalı referans biyolojik materyalleri temin etmektedirler (WFCC, 2010).

Geçmişten günümüze kadar dünyada meydana gelen birçok faktör ve felaketten dolayı biyolojik tür çeşitlerinde büyük tükenmeler yaşanmaktadır. Günümüzde mevcut tükenmenin en önemli nedeni insan faaliyetlerinin doğrudan sonucudur. Çok sayıdaki alg türünün hem evsel hem tarımsal hem de endüstriyel atıkların rastgele deşarjı nedeniyle, çoğunlukla tatlı sulardan tamamen yok olacağı ya da büyük ölçüde azaldığı düşünülmektedir (Lugo, 1988; Maxted vd., 1997). Bu durumun ortadan kaldırılması, azaltılması, biyolojik çeşitliliğin yenilenmesi ve korunması için stratejik çabalar ulusal ve uluslararası boyutta sarf edilmektedir. Bunlardan biri doğal veya geleneksel kültür sistemlerinde alglerin genetik özelliklerini kaybetmeden muhafaza edilmesidir. Bunun sağlanması için dünya genelinde standart doğal rezervler veya parklar oluşturulması uygundur. Bir diğeri ise alg suşlarının canlı koleksiyonlarda doğal ortamları dışında oluşturulan kültür koşulları altında saklanmasıdır (Watanabe, 2005).

Dünya Kültür Koleksiyonu Federasyonu (The World Federation of Culture Collection - WFCC), Biyolojik Kaynak Merkezlerinin kendi politikalarına uygun amaçlar oluşturarak bu amaçları kendi kimliklerine uyarlaması, muhafaza edeceği kültür türleri ve korunacak tür miktarına karar vermesi gerektiğini belirtmiştir. Buna ek olarak, kalite kontrol ve kayıtların hazırlanması, koleksiyon katalogları, kültürlere gelen talepler, takip edilecek prosedürlerin hazırlanması ve materyallerin hem yerel hem de uluslararası kuruluşlara iletilmesi için temel lojistik çalışmaları tanımlamış olmaları gerekmektedir (Smith, 2001; Yumuşak vd., 2005; UKNCC, 1998). Biyolojik kaynak merkezleri kalite yönetim sistemlerini kurarken gerekli tüm dokümanları hazırlamalı ve süreçlerin her aşamasından sorumlu olacak personeli belirlemelidir. Kalite yöneticileri, süreçlere ait bütün işlerin, kalite standartları ile ilgili tüm belgelerin kontrol edilmesini ve denetlenmesini istemektedir. Biyolojik kaynak merkezleri kalite politikalarının uygulanmasında Kalite El Kitabı, Laboratuvar Prosedürleri veya Standart Çalışma Prosedürleri (SOP) ve laboratuvar kayıtları olmak üzere üç seviyeli

dokümantasyon kullanmaktadır. Kalite El Kitabı çoğunlukla politikaların belirlenmesi, üst yönetimin taahhütleri ve sistemin nasıl yönetildiğini kısa özetleyen üst düzey bir dokümandır. Laboratuvar Prosedürleri süreçlere ve teknik fonksiyonlara odaklanır. Laboratuvar kayıtları da dâhil olmak üzere tüm kayıtlar biyolojik kaynak merkezleri tarafından tutulur. Merkezde muhafaza edilen mikroorganizmaların izolasyon verileri, özellikle de menşei ve karakterizasyon bilgilerini gösteren kayıt ve etiketlerinin olması gerekmektedir (WFCC, 2010; UKNCC, 1998). Biyolojik malzemeler, özelliklerinin belgelendiği gibi stabilitesini sağlayan çevresel parametrelerinde kontrol altında tutulduğuna dair güvence vermeli ve bunların kayıtları da tutulmalıdır (OECD, 2007).

Müşterilerin teslimatının gerçekleştirilmesi, müşteriye verilen taahhütler, tedarik, tedarik edilen organizmalar hakkında verilen bilgiler, ambalajlama, faturalama ve geri ödemelerin nasıl uygulanacağı gibi konularda da kayıtların oluşturulması gerekliliği bulunmaktadır (WFCC, 2010; UKNCC, 1998). Biyolojik kaynak merkezleri kullanıcıya biyolojik maddeye ait tanımlayıcı, giriş ve parti numaraları, raf ömrünün tahmini, depolama koşulları, depolama talimatları, büyüme koşulları, ampul veya flakon açmak için talimatlar, güvenlik bilgi formu ve malzeme transfer anlaşması gibi en azından asgari bilgileri vermelidir (OECD, 2007). Personel, özel görevler konusunda eğitilmeli ve düzenli eğitim hizmeti vermelidir. Kılavuzda belirtilen toplama politikalarının ve prosedürlerinin kesinlikle uygulanmasını sağlamak amacıyla yönetim tarafından periyodik denetimler gerçekleştirilir. Ölçüm cihazları ve ekipmanların izlenebilirlik ve tekrarlanabilirliğini sağlamak için kalibre edilmelidir (WFCC, 2010; UKNCC, 1998). Biyolojik kaynak merkezlerinde türlerin doğru tanımlanması, doğru kodlanması ve numaralandırılması gerekir, aksi takdirde müşterilerin kullanım amaçlarına göre çok büyük kargaşalara, yanlış uygulamalara ve yanlış sonuçların elde edilmesine yol açılabilir. Tür katalogları basılı kopya veya elektronik ortamda periyodik olarak hazırlanmalı ve güncellenmelidir. Materyaller toplama merkezine getirilmeden ve özel prosedürler uygulanmadan önce risk değerlendirmesi yapılmalıdır (WFCC, 2010). Biyolojik malzemelerin toplanması, muhafaza edilmesi ve devamlılığının sürdürülmesi için biyolojik materyal koleksiyonlarının üç temel özelliği vardır: (1) saflık (kirlenici organizmaların olmadığı); (2) orijinallik (her suşun doğru tanımlanmış olması) ve (3) stabilite (Stacey ve Day, 2007). Türlerin canlılığı, saflığı, tanımlanması, istikrarı, gelişimsel ihtiyaçları ve organizmaların bakımı ve/veya depolanmasıyla ilgili direktifler belirlenmeli ve kayıtlar tutulmalıdır (WFCC, 2010; Smith, 2001).

Dünyada birçok ülkede mikroalg kültür toplama/kaynak merkezleri bulunmaktadır ve bu koleksiyonlar da çok sayıda tür muhafaza edilmektedir. Bunlardan bazıları: Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP) (UK), The Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton (CCMP) (USA), Sammlung von Algenku Huren Göttingen (SAG) (Germany), The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin (UTEX) (USA), American Type Culture Collection (ATCC), the Culture Collection of the Centre of Algology (CCALA), the Culture Collection of Algae at the University

of Coimbra (ACOI), the Microbial Culture Collection at the National Institute for Environmental Studies (NIES), ve Pasteur Culture Collection (PCC).

Aşağıdaki bölümlerde mikroalglerin yaşadıkları doğal ortamlardan toplanmalarından kültür koleksiyonunda muhafaza edilmelerine kadar ki basamaklar anlatılmıştır.

2. Örneklerin Toplanması

Mikroalg örneklerinin toplanmasına başlanmadan önce örnek alınması planlanan sucul ekosistemin seçilmesi ve koordinatlarının belirlenmesi gerekmektedir. Çalışmanın amacına göre örnekleme bölgesi ve zamanı tespit edilir. Planlanan çalışma belirli bir türe yönelik ise söz konusu türün ekolojik özelliklerinin bilinmesinde fayda vardır. Sistematik yönden çalışma yapılacaksa farklı habitatlardan örnekler toplanmalıdır. Arazi çalışması sırasında götürülecek malzemeler; tercihen plastik olan çeşitli boylarda (0.5 - 2 L) kavanozlar, plankton kepçesi, bisturi, bıçak, fırça, yıkama küveti, not defteri, etiket, çizme, formaldehit, arazi uyumlu pH-metre, oksijen-metre, tuz ve iletken ölçer portatif ölçüm aletleri vb.'dir. Habitatlarına göre (pelajik, epilitik, epipelik, epifitik) numuneler alınır. Örnekleme kabının üzerine numuneye ait bütün bilgiler yazılır. Laboratuvara getirilen örneklerin bir kısmı canlı inceleme ve izolasyon için ayrılır, diğer kısmı teşhis için %4'lük formaldehit ile tespit edilir (Sukatar, 2002; Cirik ve Gökpınar, 1993). Örneklerin mikroskop incelemeleri sonucunda tür bazında teşhisleri tür anahtarları kullanılarak yapılır.

3. Sterilizasyon

Numunelerin toplanması, laboratuvara getirilmesi, izolasyonu, alt kültürlenmesi ve muhafazası işlemlerinde herhangi bir kontaminasyon ve hataya yol açmayacak şekilde tüm ekipmanlar ve besi ortamları mikrobiyolojik yöntemlerle sterilize edilmelidir. Sterilizasyon, çalışma ortamında aseptik durumun oluşturulması için, herhangi bir maddede veya cisimde bulunan tüm mikroorganizmaların canlı ve aktif formlarının uzaklaştırılması veya öldürülmesidir. Fikolojik araştırmalarda, canlı organizma kültürü için izole edilmiş saf suşlar kullanıldığından sterilizasyon çok önemlidir. Sterilizasyon tekniklerinin hem kullanılan ekipmanlarda hem de besi ortamları ve kimyasal bileşiklerde birlikte uygulanması kontaminasyon riskini en aza indirecektir. Sterilizasyon araçları ve steril edilecek malzemeye göre çeşitli sterilizasyon yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler ısı, filtreleme, elektromanyetik dalgalar ve kimyasal maddeler ile sterilizasyon olmak üzere 4 grupta toplanır (Kawachi ve Noël, 2005). Mikroalglerin monospesifik/aksenik kültürleri için en önemli kontaminasyonlar bakteri, protozoa veya diğer alg türleridir. En yaygın kontaminasyon kaynakları kültür ortamı, hava, kültür kapları ve başlangıç kültürüdür (Hoff ve Snell, 2001).

Mikroalg kültürü için kullanılan besi ortamları, tek hücreli diğer fitoplankton türleri, phytophagous zooplanktonlar veya bakteriler gibi

organizmalar içermemelidir. Besi ortamının, fiziksel (filtrasyon, otoklavlama, pastörizasyon, UV ışınlaması) veya kimyasal (klorlama, asidifikasyon, ozonlama) yöntemlerle sterilizasyonu gerekmektedir. Test tüpleri, erlenmayerler ve karboy kapların içindeki besi ortamlarının sterilize edilmesi için otoklavlama (hacime bağlı olarak 120°C'de 15-45 dakika ve 20 psi) veya pastörizasyon (1-2 saat boyunca 80°C) uygulanır. 20 L'den büyük hacimlerin sterilizasyonunda; filtreden (1 µm) geçirilmiş asit (hidroklorik asit pH 3'te, 24 saat sonra sodyum karbonat ile nötrleştirme) veya klor (1-2 mg.L⁻¹, havalandırma olmaksızın 24 saat inkübasyona bırakılır, kalan kloru çıkarmak için 2-3 saat havalandırma yapılır, ardından havalandırma kloru ayıramazsa kloru nötralize etmek için sodyum tiyosülfat ilavesi gerekli olabilir) işlemleri uygulanır. Bulaşmanın bir diğer kaynağı havadır. Kültürlere verilen hava ve sistemleri kuru tutulmalıdır. Hava ve karbondioksit, kültüre girmeden önce 0,3 veya 0,5 µm'lik bir filtre ile filtrelenmelidir. Daha büyük hacimlerde hava filtreleri, pamuk ve aktif kömür kullanarak yapılabilir (Hamilton, 1973; Kawachi ve Noël, 2005).

Otoklav ile sterilizasyon, buharla doymuş bir ortamda 100 dereceden yüksek sıcaklık ile sterilizasyondur. Isıya dirençli malzemeleri sterilize etmek için en etkili yol olup genellikle sıvıları sterilize etmek için kullanılır. Genel olarak otoklav ile sterilizasyon işlemi 115°C'de 30 dakika, 121°C'de 25 dakika, 134°C'de 10 dakikalık sürede olmalıdır. Besi ortamının her bileşeninin stok solüsyonları otoklavlanabilir cam kaplar içerisinde hazırlanır. Fungal veya bakteriyel büyüme fark edilirse, stok yeniden otoklavlanmalıdır. Sterilizasyon sonrası kültür ortamının görünümü kontrol edilmelidir. Renk değişimi veya çökelti oluşumu besiyerinin normal kullanım için uygun olmadığını gösterir. Agarlı besiyerlerinin otoklavlanmasından önce agarın mutlaka tam olarak eritilmesi gerekir. Sterilizasyon sonrası besi ortamının pH'ı istenilen değere göre aseptik koşullarda ayarlanmalıdır (Kawachi ve Noël, 2005).

Pastör fırını sıvı olmayan, ısıya dayanıklı ve otoklavda steril edilemeyen malzemenin sterilizasyonu için kullanılır. Kuru ısıyla sterilizasyon, otoklavla yapılan sterilizasyona kıyasla daha yüksek sıcaklıklar ve daha uzun ısıtma gerektirir. Pastör fırını ile sterilizasyon işleminde 170°C'de 1 saat, 160°C'de 2 saat, 150°C'de 2,5 saat, 140°C'de 3 saat sürede olmalıdır. Bu süreler pastör fırınına malzemelerin yerleştirilip, ısı kaynağı çalıştırıldıktan sonra istenilen ısıya ulaşıncaya başlatılmalıdır (Pringsheim, 1946).

Filtrasyon mikropları öldürmez, mikroorganizmaları ayırır ve uzaklaştırır. Yüksek ısıya dayanıklı olmayan ve otoklavlanamayan serum, antibiyotik çözeltileri, şeker çözeltileri, üre çözeltisi ve vitaminler gibi çözeltilerden hem canlı hem de canlı olmayan partikülleri çıkarmak için sıklıkla kullanılır. Bu tip çözeltiler filtrasyon tekniği ile sterilize edilip, ana (bazal) besiyeri bileşimine sonradan ilave edilirler. Bu yöntem kolaylık ve hızlilik açısından küçük hacimli bir sıvının sterilize edilmesi için de kullanılır.

Laboratuvarda temizlik için kullanılan çeşitli temizlik çözeltileri bulunmaktadır. En çok kullanılanlar; kromik asit çözeltisi, kral suyu, %5'lik sodyum hidroksit veya potasyum hidroksit çözeltisi, bazik potasyum

permanganat çözeltisi, derişik hidroklorik asit, derişik nitrik asit ve etil alkol, aseton, benzen gibi organik çözücülerdir.

4. İzolasyon

Mikroalg türlerinin izolasyonu, küçük hücre boyutu ve diğer epifitik türlerle olan bağlantısından dolayı basit değildir. Başarılı tür izolasyonları kontaminantların ortadan kaldırılarak hedef türün elde edilmesiyle gerçekleşir. Laboratuvar ortamında izolasyon için kılcal pipetler kullanılarak yapılan mikromanüplasyon, seri dilüsyon, agar besi ortamından tek koloniden izolasyon (yayma plak) gibi teknikler kullanılmaktadır (Andersen ve Kawachi, 2005; CSIRO, 2018; Guillard, 2005).

4.1. Mikromanüplasyon Tekniğı

Bu teknikte kılcal cam mikro pipetler kullanılır. Her transfer arasında mikropipet steril edilmelidir. Bir lam üzerine steril besi ortamından 2-3 damla damlatılır. Zenginleştirilmiş besi ortamındaki kültürden steril pastör pipeti ile örnek alınır ve lam üzerine bırakılır. Mikroskop yardımıyla görülen hücre mikropipet ile alınır. Hücre diğer damlaya transfer edilir. Hücre yıkanana kadar bu süreç tekrarlanır. Hücre ne kadar çok yıkanırse bakteri bulaşması o kadar az olacaktır. Son yıkamadan sonra hücre, cam tüp içindeki sıvı besi ortamına ya da petri kutusundaki agarlı besi ortamına aktarılır. Kültür kapları düşük aydınlatma ve uygun ısıda inkübasyona bırakılır. Kültürün üremesi transferden 3-4 hafta sonra mikroskopta ve makroskobik olarak kontrol edilir (Guillard, 1995).

4.2. Seri Dilüsyon Tekniğı

Aseptik teknikler kullanılarak, on adet test tüpünün içine 9 mL besi ortamı konulur. Tüplerin üzerine 10^{-1} ile 10^{-10} olacak şekilde dilüsyon faktörleri yazılır. Aseptik koşullarda 1 mL zenginleştirilmiş ortamdaki kültürden alınarak ilk tüpe (10^{-1}) aktarılır ve nazikçe karıştırılır. Bu dilüsyondan 1 mL alınarak (10^{-2}) olan sonraki tüpe aktarılır ve karıştırılır. Bu uygulama diğer tüplere de yapılır (10^{-3} - 10^{-10}). Test tüpleri kontrollü sıcaklık ve ışıktaki inkübasyona bırakılır. Her bir dilüsyon tüpünden aseptik koşullar altında, 2-4 hafta sonra örnek alınarak mikroskopta incelenir. Tek tür içeren kültür yüksek dilüsyon tüplerinde (10^{-6} - 10^{-10}) gelişebilir. Eğer tüpler iki veya üç farklı tür içeriyorsa, o zaman tek tür içeren kültürler elde etmek için mikromanüplasyon tekniğı kullanılabilir (Guillard, 2005; Parvin vd., 2007).

4.3. Yayma Plak Yöntemi

Bu metot küçük türler ($<10 \mu\text{m}$) ve katı besi ortamın üstünde üreyebilecek türler için uygundur. Steril petri kutularının içine %1-1.5 agar ihtiva eden katılaştırılmış besi ortamı aseptik koşullarda dökülür. Agar plağının kenarına 1-2 damla karışık fitoplankton örneğı zenginleştirme ortamından alınarak (yaklaşık 0.1 mL) bırakılır. Aseptik koşullarda öze yardımıyla agarın üzerindeki süspansiyon paralel çizgiler (16 çizgi-4 set)

yapılarak yayılır ve uygun sıcaklıkta inkübasyona bırakılır. İzolasyon için başka organizmalardan arınmış koloniler seçilir. Bir örnek sterilize edilmiş öze kullanarak çıkarılır ve üzerinde steril kültür ortamı olan cam lam üzerine yerleştirilir. İstenilen türlerin izole edilip edilmediği mikroskopik inceleme yapılarak kontrol edilir. Tek koloniden alınan alg hücresi ile ekim prosedürü tekrarlanır. Bu ikinci ekim bakteriyel kontaminasyon ve birden fazla alg türü içeren koloni sayısını azaltır. Seçilmiş koloniler sıvı veya katı besi ortamına transfer edilir (Guillard, 2005; Parvin vd., 2007).

4.4. Yıkama ve Santrifüj

Daha büyük organizmaların izolasyonu için kullanılabilen bir yöntemdir. Örnekler tekrar tekrar su ile yıkanır veya santrifüj edilerek izolasyonu sağlanır (Phang ve Chu, 1999).

4.5. Fototaktik Hareket

Bu yöntemde, phytoflagellat'lar bir yönde hareket edeceğinden bir mikropipet yardımıyla izolasyonu gerçekleştirilir. Bu yöntem, güçlü yüzücü ve fototaksisi sergileyen baskın bir flagellat ise etkili olur. Benzer yüzme kabiliyetine sahip birkaç tür mevcut olduğunda, bu yöntemle monoalgal kültürler elde etmek daha zordur. Bu teknik, bir ucunda odaklanmış ışık kaynağı içerir ve yoğunluğa bağlı olarak pozitif veya negatif fototaksis kullanılabilir.

5. Mikroskop ile İncelenme

Mikroalglerin, şekilleri, boyutları, hareketlerinin incelenmesi, hayat evreleri hakkında gözlem yapmak ve üremelerinin tespiti amacıyla mikroskopta incelenirler. Bu amaçla lam-lamel arası preparasyon, asılı damla preparasyon ve kalıcı preparasyon gibi çeşitli preparatlar hazırlanır ve ışık mikroskobu kullanılarak teşhisler gerçekleştirilir. Türlerin teşhisleri için tür teşhis anahtarları kullanılır (Huber - Pestalozzi, 1938; Huber - Pestalozzi, 1955; Bourrelly, 1972; Prescott, 1975; Patrick ve Reimer, 1975; Huber - Pestalozzi, 1982; Krammer ve Lange-Bertalot, 1991a; Krammer ve Lange-Bertalot, 1991b; Krammer ve Lange-Bertalot, 1999a; Krammer ve Lange-Bertalot, 1999b; Cox, 1996).

5.1. Lam-Lamel Arası Preparasyon

- (a) Kültürden bir öze dolusu alınarak bir lamın orta kısmına gelecek şekilde üzerine konulur. Bir lamel bu damlanın üzerine yavaşça bırakılarak yerleştirilir. Lam ve lamel arasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmelidir. Hazırlanan preparat ışık mikroskobunda uygun objektif ile incelenir. İnceleme bittikten sonra lam ve lamel lizol kaplarına konulur. Mikroskop temizlenerek kaldırılır.
- (b) İkinci yöntemde mikroalgin hayat evresi hakkında canlı gözlem yapmak için kullanılır. Steril bir lama bir damla besi ortamı sıcak

agar damlatılıp, steril bir cam çubuk hızlı bir şekilde lamın üzerinden çekilerek agar yayılır. Agar, sıcaklığı 45°C'ye düştüğünde donarak 2 mm kalınlığında bir tabaka oluşturur. Steril bir petri kabı alınıp dibi 3 mm çaplı cam boncuklarla kaplanıp filtre kâğıdı ile örtülür. Filtre kâğıdının üzerine 90° açı yapan bir cam çubuk ve bunun üzerine lam yerleştirilip petri kapağı kapatılır. Bu düzenek otoklavlandıktan sonra, cam boncuklar tamamen su altında kalmayacak şekilde saf su ile doldurulur. Petri kabı yanal olarak hafifçe açılarak örnek steril öze ile aşılır. Petri kabı kapatılıp, kenarları parafilmle sarılır ve gerekmedikçe açılmaz. İnceleme petri kabı ile birlikte mikroskop altında yapılır.

5.2. Asılı Damla Preparasyonu

- (a) Bir veya birkaç hücreli alglerin hareket ve davranışlarının izlenmesi için kullanılır. Lamın üzerine 5 mm yüksekliğinde cam halka yapıştırılır ve otoklavlanır. Halkanın içine bir damla saf su damlatılıp, halkanın üst kısmı vazelinlenir. Daha sonra alkole batırılmış lamel alev ocağında yakılarak sterilize edilip, bir damla besleyici çözelti veya besleyici çözeltili agar damlatılıp özeyle örnek materyal aşılır. Dikkatli bir şekilde vazelinli halkanın üzerine yerleştirilip kültüre alınır. İnceleme düzenek bozulmadan mikroskobun altında gerçekleştirilir.
- (b) Bir lamelin bir yüzeyinin kenarlarına vazelin sürülür. Lamelin aynı yüzeyinin orta kısmına kültürden bir damla konulur. Çukur lam, çukur kısım inceleme materyalinin (damlanın) üzerine gelecek şekilde kapatılır ve kenarlardan bastırılır. Preparasyon bu kez, lam alta olacak şekilde ters çevrilir. İmmersiyon objektifi ile, ışığı kısarak incelenir.

5.3. Kalıcı Preparasyon

Diyatomelerin organik maddelerinden tamamen arındırılarak teşhislerinin yapılabilmesi amacıyla kalıcı preparatları hazırlanır. Lamellere yapışan algler, beherler içerisinde saf su ile yıkanarak organizmaların dibe çökmesi beklenir. Üzerindeki fazla su dökülerek 2 mL 0,1 N KMnO_4 ilave edilir. Bu şekilde ağzı kapalı olarak dört saat bekletildikten sonra 7 mL HCl beherlerin üzerine eklenerek 15–20 dakika kaynatılır. Kaynatma işleminden sonra asitten uzaklaştırmak için 2300 rpm devirde 2 dakika santrifüj işlemi uygulanır. Altta kalan tortu kısmı lamellerin üzerine yayılarak kurumaya bırakılır ve lam üzerine kanada balzamu veya entellan damlatılarak üzerine lamel kapatılır. Hazırlanan preparatlar kanada balzaminin kuruması amacıyla etüvde dört gün boyunca 70°C'de bekletilir (Round, 1973).

6. Kültür Koşulları

Besin maddelerinin varlığı, ışık yoğunluğu, sıcaklık, pH ve tuzluluk, mikroalgal büyümenin, üremenin ve morfolojilerinin ana faktörleridir. Besinlerin miktarı ve kalitesi, mikroalglerin büyümesini ve üremesini

düzenleyen en önemli parametrelerdir (Blair vd., 2013). Yapılan çalışmalara göre algler karbon, azot, fosfor, kükürt, magnezyum, sodyum, potasyum, demir, mangan, iz elementler ve organik faktörlere gereksinim duymaktadırlar (Schenk vd., 2008; Kumar ve Das 2012). Bunun için kullanılan hazır besi ortamı reçeteleri bulunmakta olup, bilim insanları tarafından yapılan çalışmalarda bu besi ortamları modifiye edilerek farklı varyasyonlar oluşturulmaktadır. Mikroalgler izole edilirken başlangıçta genellikle zayıf kültürlerin gelişmesi için seyreltilmiş besin maddeleri kullanılmaktadır. Yoğun bir kültürün elde edilmesinin ardından, yeterli sayıda hücre kullanılarak seyreltilmemiş ortamda alt kültürleme işlemi gerçekleştirilir. Kültürler genellikle küçük hacimli kaplarda üretilmeye başlanır ve ardından hacimler büyütülür.

Alg kültürleri yaşamlarını devam ettirmek için bir ışık kaynağına ihtiyaç duyarlar. Çünkü ışık fotosentezin enerji kaynağıdır. Işık yoğunluğuna karşı fotosentez hızı doğrusal bir şekilde artar. Yüksek ışık yoğunlukları fotosentezi inhibe eder, düşük yoğunlukları ise fotosentezi sınırlayıcı özelliğe sahiptir. Işığın yoğunluğu ve süresi kültürlerin verimliliği açısından önemlidir. Başlangıçta ışık yoğunluğuna paralel şekilde artan organik üretim, kültürün daha ileri safhalarında sınırlayıcı bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Bu sınırlayıcı etki ortamdaki hücre konsantrasyonunun bir sonucu olarak hücrelerin birbirlerini gölgelemesi ve ışığa doymun hale gelen hücrelerin daha fazla ışık enerjisi kullanmaması nedeniyle olur (Borcaklı, 1987). Az yoğun kültürlerde gelen ışığın ancak %2'si 7 cm derinliğe inerken, orta yoğun kültürlerde bu oran %20 yani 3 cm'lik tabakalara ulaşabilir (Cirik ve Gökpinar, 1993). Kültür uygulamaları suni aydınlatma kaynakları ile yürütülecekse, bunların güneş ışığına eşdeğer kaynaklar olmasına dikkat edilmelidir. Bu işlem için genellikle floresan lambalar (daylight veya COOwhite) ve karanlık/aydınlık farklı periyotlar kullanılmaktadır (Amini vd., 2012).

7. Alt Kültürler

Yeni bir mikroalg türü izole edildiğinde, kültür listesine eklenir, alt kültürleri yapılır ve bu şekilde korunur. Kaydedilen saf tür kültür koşullarında yetiştirilir. Türler farklı saklama yöntemleri ile korumaya alınır. Alt kültürler genellikle 30 mL besin ortamı içeren 50 mL erlenmayerlere konulur ve hücrelerin yoğunluğuna bağlı olarak yaklaşık %5-10 kültür eklenerek hazırlanır (Hur vd., 2015). Alt kültürler her 15 günde bir taze besi ortamlarına alınır. Genel uygulama olarak üç alt kültür işleminden sonra, depolanan en eski alt kültür suşu atılır.

8. Türlerle İlişkin Bilgiler ve Açıklayıcı Notlar

Kültürlerin muhafazaları sırasında her bir türe ilişkin binominal nomenklatür'deki bilimsel ismi; tarihe ve bölgeye göre kategorize edilen örnekleme bilgileri; izole edenin adı/soyadı; tanımlayanın adı/soyadı; kültürün durumu (sıvı / kriyo vb. gibi muhafaza yöntemi); kültürün bulunduğu besi ortamı, sıcaklığı, fotosentetik foton yoğunluğu ($\mu\text{mol photons}$

m⁻²s⁻²), aydınlık:karanlık döngüsü; biyolojik kaynak merkezi tarafından verilen kod vb. tüm bilgiler kayıt edilir.

9. Kültürlerin Korunması ve Muhafaza Yöntemleri

Bilim ve teknolojiadaki ilerlemelerle birlikte biyolojik kültürlerin korumaları için farklı yöntemler başarıyla uygulanmaya başlanmıştır. Ancak tüm mikroorganizma grupları için tek bir yöntemin uygulanma olanağının olmayacağı göz önüne alınmalıdır. Bu nedenle farklı mikroorganizma grupları için farklı prosedür ve/veya bu prosedürün çeşitleri önerilmektedir (Halkman ve Doğan, 2000; Topal, 1989; Smith ve Onions, 1983). Her kültür suşu ile ilgili olarak, biyolojik kaynak merkezleri uygun bir koruma yöntemi/yöntemleri uygulamalıdır (OECD, 2007). Mikroorganizmaların optimum canlılık, korunmuş kültürün geri kazanılması ve kültürdeki kirlenici maddelerin önlenmesi, saflık, orijinallik, genom bütünlüğü ve depolanması için özel koruma yöntemleri gerekir (OECD, 2007; WFCC, 2010).

Diğer mikroorganizma gruplarıyla karşılaştırıldığında, mikroalgler için uzun süreli koruma yöntemlerinin geliştirilmesi konusunda nispeten az araştırma yapılmıştır (Day vd., 2000). Mikroalglerin uzun süreli muhafaza yöntemleri arasında liyofilizasyon, kriyoprezervasyon, mineral yağ ve alt kültürlerin yapılması sayılabilir. Aşağıdaki bölümlerde bu yöntemler ana hatlarıyla incelenmiştir.

9.1. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)

Dondurularak kurutma (liyofilizasyon/L-drying) kültürlerin uzun süre sürdürülebilir korunması için yaygın olarak kullanılan bir yaklaşımdır. Bu yöntem yüksek kalite, uzun süreli depolama, suşların geri kazanılması ve kullanımına izin vererek, gen değişim risklerini en aza indiren bir yöntemdir. Liyofilizasyonda, malzeme basitçe dondurulur ve süblimasyon yoluyla su buharını emerek kurutulur (Halkman ve Doğan, 2000). Genel ilkeleri ile birlikte, liyofilizasyon üç temel aşamaya dayanır: dondurma, ön kurutma (süblimasyon) ve ara kurutma (desorpsiyon). Bu teknikle, çözelti başlangıçta -40°C ile -50°C arasında soğutulur, bundan sonra vakumla emilir ve su çözeltiden ayrılırken buz buharlaşmasına izin vererek yavaş yavaş ısıtılır. Liyofilizasyon yöntemi maya ve küflerin yanı sıra bakterilerin korunmasında da başarıyla uygulanmıştır. Yöntemin avantajları, depolama sırasında kontaminasyonu ve/veya diğer türlerin istilasına karşı koruma ve sürdürülebilir canlılıktır (Berny ve Hennebert, 1991).

Bu metodun uygulamasında alg kültürleri yatık agarlı besi ortamına inoküle edilir. Uygun kültür koşullarında yetiştirilir. Tüplerdeki kültürlerin üzerine 1 ml steril uygun çözelti ilave edilerek algal süspansiyon elde edilir. Her hücre süspansiyonunun onda biri liyofilize tüplerine alınır. Birinci aşamada kültürler dondurma işleminden geçirilir ve türün cinsine göre dondurma işleminin süresi ayarlanır. Birincil kurutma aşamasında ürünün içinde bulunduğu liyofilizasyon kabininde hafif bir vakum uygulanır. İkincil kurutma aşamasında ise, vakum maksimum seviyeye çıkarılarak

kristalleşmiş ve maddeye tutunup kalmış son su molekülleri maddeden dışarı çekilir (Matejtschuk, 2007).

Liyofilizasyon yöntemi kullanılarak mikroalglerin uzun süreli muhafazası için bazı mikroalg gruplarında olumlu sonuçlar alınmıştır. Corbett ve Parker (1976), bazı siyanobakteri türleriyle liyofilizasyon yönteminin başarılı olduğunu, diğerleri ile ise başarılı sonuçlar alınamadığını göstermiştir. Söz konusu çalışmada liyofilizasyon işleminden sonra, canlı kalan siyanobakterilerin birçoğunun heterosist veya akinet (spor) üreten filamentli organizmalar olduğu ki bunların donma ve kurumaya karşı olası direnç gösteren özel hücreler olduğunu ifade etmişlerdir (Corbett ve Parker, 1976). McGrath vd. (1978), 106 alg türünden liyofilizasyon yöntemiyle 39'unda başarılı sonuçlar aldıklarını raporlamışlardır.

9.2. Kriyoprezervasyon

Kriyoprezervasyon yöntemi, sıvı azotun buhar fazında (-140°C) veya sıvı azotun sıvı fazında (-196°C) biyolojik materyallerin/kültürün korunmasıdır. (-196°C)'da koruma bugün için bilinen en etkili koruma yöntemidir. Kültürler özel şişeler içerisinde ve kriyokoruyucu ilavesi ile kayda değer bir canlılık ve aktivite kaybı olmadan yıllarca (cins ve türe göre değişmek üzere 30-40 yıl kadar) korunabilir (Halkman ve Doğan, 2000; Baust, 2002). Biyolojik materyalin canlılığı en düşük düzeye getirilerek saklanır. Sıcaklık ne denli düşük olursa o denli etkili koruma sağlamaktadır. Örneklerin sıvı azotta saklanarak organizmaların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve genetik özelliklerinin bozulması engellenmektedir. Sıcaklığın düşürülmesindeki amaç, sistemdeki moleküler hareketi yavaşlatmaktır (Sukatar, 2002). Çoğu uygulamada başarılı kriyoprezervasyon, uygun soğutma hızı, kriyokoruyucu katkı maddeleri ve ozmotik denge prosesinin uygulanmasına bağlıdır. Dimetil sülfoksit (Me₂SO) alg türlerinin dondurarak korunmasında en sık kullanılan kriyoprotektan (CPA) olmasına rağmen, metanolün (MeOH) de bazı algler için etkili bir CPA olduğu bildirilmektedir. Gliserol, hayvan hücreleri ve birkaç ökaryotik alg hücresi için CPA olarak başarıyla kullanılmıştır, ancak bazı araştırmacılar, gliserolün Chlorella ve Chlamydomonas için toksik olduğunu tespit etmişlerdir (Johnson ve Dutcher, 1993).

Çoğu kriyoprezervasyon prosedürü, iki adımlı dondurma protokolü olarak sınıflandırılabilir. İki aşamalı protokoller, dondurmadan önce bir alg kültüründeki hücreye nüfuz eden bir kriyokoruyucu ilave edilmesini gerektirir ve daha sonra kültür, yaklaşık 0°C'ye kadar kontrollü bir oranda soğutulur (Adım 1). Daha sonra, numune son depolama sıcaklığına hızla soğutulur (Adım 2). Kriyoprezervasyonu yapılan bir algal kültürün canlılığını etkileyebilecek çeşitli parametreler bulunmaktadır. Bunlar: (1) kriyoprezervasyon için hasat edildiğinde kültürün büyüme aşaması veya fizyolojik durumu; (2) seçilen kriyokorucunun konsantrasyonu ve sıcaklık; (3) tam soğutma protokolü, diğer bir deyişle, soğutma işleminin her aşamasında ne kadar hızlı soğutulduğu ve soğutma rejiminin kontrol edildiği hassaslık; (4) Basamak 1'in sonlandığı ara sıcaklık ve kültür son depolama sıcaklığına kadar ki soğutulması; (5) dondurma sonrası eritme koşulları; ve

(6) iyileşme sırasında kültürün tedavi ve kuluçka koşullarıdır (Day ve Brand, 2005). Kriyoprezervasyon için uygulama adımları aşağıda verilmiştir.

a. Dondurma

Tüm kültür uygulamaları mümkünse steril kabinde mikrobiyolojik uygulama ve aseptik teknikler kullanılarak gerçekleştirilmelidir. Kontrollü çevre koşullarında ve algin beslenme gereksinimlerine uygun besi ortamında kültürler büyütülür. Mümkünse geç log veya erken sabit fazda olan kültürlerin kullanımı tavsiye edilmektedir. 30 mL besi ortamı içeren erlenlere (50 mL) kültürler inoküle edilir. Bu kültürler, yaklaşık 25–100 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}'\text{lik}$ fotofluans oranı altında, 15°C'de, aydınlık:karanlık 16:8 h periyodu olacak şekilde inkübe edilmelidir. Kriyoprezervasyonu yapılacak her kültürden 15 mililitre alınır ve 5 ml canlılık kontrolü için ayrılır. Kalan kültürün (10 mL) üzerine 10% (v/v) DMSO ilave edilir ve 5% (v/v)'lik bir nihai konsantrasyona ayarlanır. Elde edilen süspansiyonların alikotları (1.5 mL), 2 mL'lik kriyojenik şişelere dağıtılır. Flamentli kültürler için sıvı besiyerinin santrifüj ile uzaklaştırılmasından sonra, her flakonun hücre peleti %5 DMSO veya %20 gliserol'e bölünür. Şişelerin ağzı kapatılır ve 5 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilir. İlk soğutma aşamasında dolu kriyovialler önceden soğutulmuş soğuk bir banyoya (-40°C) aktarılır ve 15 dakika boyunca inkübe edilir. 15 dakika -40°C'ye maruz bırakıldıktan sonra, hücre süspansiyonu -80°C arasında bir oranda soğutulur. Soğutmanın ikinci aşamasında vialler hızlı bir şekilde sıvı azot içeren bir kaba aktarılır ve buradan vialler depolama sistemine taşınır. Kriyojenik şişelerdeki dondurulmuş kültürler genellikle sıvı azotun içine batırılmış (-196°C), sıvı azotun üstündeki soğuk buhar fazında (yaklaşık -165°C) veya aşırı soğuk elektrikler çalışan bir dondurucuda (-150°C) uzun bir süre boyunca korunurlar (Rastoll vd., 2013; Day ve Brand, 2005; Nakanishi vd., 2012).

b. Çözdürme

Çözme prosedürü için su banyosu 35°C'ye ayarlanır ve su banyosuna mümkün olan en kısa sürede vialler yerleştirilir. Kültürler santrifüjlenir, süpernatant atılır ve pellet ayrılır. Mikroalg kültürleri, 30 mL taze besi ortamı içeren erlenlere konulur, böylece besi ortamı içindeki kriyoprotektan konsantrasyonu %0,2'nin (v/v) altına düşürülmüş olur. Kültürler, hayatta kalma oranlarını artırmak için 1 saat boyunca karanlıkta tutulur, sonrasında doğrudan ışık almayan bir ortamda 2 saat daha bekletilir ve ardından optimum büyüme koşullarına yerleştirilir. Kültürler 1-2 gün sonunda canlı hücreler açısından gözlenir (Esteves-Ferreira vd., 2012; Salas-Leiva ve Dupré, 2011).

c. Canlılık Tespiti

Kriyoprezervasyondan sonra hayatta kalan ve çözüldükten sonra normal büyümeye devam eden algal kültürün kesin fraksiyonunu belirlemek genellikle zordur ve tüm türlere tek bir yöntem uygulanamaz. Yaşama

kabiliyetini belirlemenin en doğrudan yolu, normal olarak büyüyen ve çoğalan bu alg birimlerinin fraksiyonunu gözlemlemektir. Donma ve çözülmeden sonra canlılığı değerlendirmek için hem kalitatif hem de kantitatif yöntemler kullanılmaktadır. Her izolat, daha sonra boyut olarak mı yoksa hücre sayısında mı arttığını belirlemek için gözlemlenebilir. Bu stratejiyi içeren en yaygın yöntem, bireysel alg birimlerinin bir agar plakasında koloniler oluşturma yeteneğini gözlemlemek ya da hücre sayımlarını kullanarak büyümeyi izlemeyi içerir. Bir kültürün belirli bir protein veya pigment içeriğindeki artış, hücre hareketliliği vb. yöntemler canlılığı tahmin etmek için kullanılan dolaylı yöntemlerdir. Ancak bu yöntemler geri kazanım potansiyelinin miktarını fazla olarak tahmin ettirebilir (Rastoll vd., 2013; Day, 2007).

Hücre sayımı yönteminde canlı ve ölü hücreler arasındaki ayrım Trypan Blue çözeltisinin kullanımı ile yapılabilir. Trypan Blue çözeltisi % 0,4 konsantrasyonda hazırlanır, 50 µl'lik bir şişeye konur ve üzerine 350 µl besi ortamı ve 100 µl kültür eklenir. Canlı hücreler, Trypan Blue'yu absorbe etmezken ölü hücreler absorbe ederek optik mikroskop altında ayırt edici bir mavi renk meydana getirir. Hücre canlılığının yüzdesi, toplam canlı hücre sayısının (boyanmamış) toplam hücre sayısına (boyanmış ve boyanmamış) oranı olarak ifade edilir (Day, 2007). Canlılık seviyeleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanır:

Canlılık Seviyesi (%)=[Boyanmamış Hücre Sayısı x 100]/[Toplam Hücre Sayısı (Boyanmış ve Boyanmamış)]

Çoğu uygulamada başarılı kriyoprezervasyon, uygun soğutma hızı, kriyokoruyucu katkı maddeleri ve ozmotik denge prosesinin uygulanmasına bağlıdır. Bu kısıtlamalara rağmen, yüzlerce tür cyanobakteri ve eukaryotik mikroalg süşunun yüksek yaşayabilirlik oranı ile başarıyla kriyoprezervasyonu mümkün olmuştur (Abreu vd., 2012). Day (2007)'de pek çok Cyanobakteria ve toprak alglerinin nispeten yüksek canlı kalabilme oranları ile kriyoprezervasyonları yapılabildiğini ifade etmiştir. Birçok tatlı su ve deniz eukaryotik alglerinin kriyoprezervasyonunun yapılabilmele birlikte, çözülme sonrası düşük canlı kalma seviyesi gösterdiğini, bugüne kadar çoğu Dinoflagellates, Cryptophytes, Synurophytes ve Raphidophytes'lerin kriyoprezervasyonunda başarı elde edilememiş olduğunu belirtmiştir. Özellikle büyük hücreli ve filamentli alg türlerinin başarılı kriyoprezervasyonunun yapılamamakla birlikte bunun temel nedeni henüz tespit edilememiştir. Cyanobakteria, deniz diatomları ile küçük ve morfolojik olarak kompleks olmayan tek hücreli yeşil alglerin kriyoprezervasyon yöntemi ile saklanması başarılı sonuçlar alınmıştır (Day ve Brand, 2005). Donma noktasının üstündeki düşük sıcaklıklar bazı algleri öldürebilir. Tropik deniz türleri gibi doğada sabit bir ortamda kalan türler özellikle soğuk sıcaklık derecelerinde zarar görebilirler. Alglerde soğutma hasarının hücresel mekanizmaları iyi bilinmemekle birlikte, 0°C'ye soğutulmuş veya -10°C'ye aşırı soğutulmuş çeşitli alglerde fotosentetik kapasitenin geçici bir azalması gözlemlenmiştir (Fleck, 1998).

Cyanobakterlerdeki soğutma hassasiyeti, muhtemelen membran lipid kompozisyonuyla korelasyon gösterir (Nishida ve Murata, 1996).

9.3. Mineral Yağ

Bu yöntem ilk olarak Buell ve Weston tarafından 1947 yılında kullanılmış ve sonraki çalışmalarda farklı mikroorganizma gruplarına uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Nakasone vd., 2004). Mineral yağ ile muhafaza günümüzde genellikle mayalar, filamentli küfler ve bakterilerde kullanılmakla birlikte mikroalgelerde de kullanılmaktadır.

Bu yöntemin temeli, dehidrasyonu önlemek ve oksijen gerginliğini azaltarak metabolik aktiviteyi ve büyümeyi yavaşlatmak için kültürleri mineral yağ ile kaplamaktır. Ayrıca düşük maliyetli ve az bakım gerektiren bir yöntemdir. Kültürler birkaç yıl boyunca veya istisnai hallerde oda sıcaklığında veya 15°- 20°C'de 32 yıla kadar tutulabilirler. Bu yöntem, dondurma veya dondurarak kurutma özelliğine sahip olmayan mikroorganizma kültürleri için uygundur ve ayrıca pahalı ekipman ve sarf malzemeleri gerekli değildir. Pek çok mikroorganizma bu şekilde korunabilmesine rağmen, kültürlerin büyüme hızları depolama sürelerinin artmasıyla yavaşlar. Yağ kaplama tekniğinin en büyük dezavantajları, bazı mikroorganizmaların büyümeye devam etmesi ve dolayısıyla olumsuz koşullar altında büyüeyebilen mutantların oluşabilmesi, hava kaynaklı mikroorganizmalar tarafından kontaminasyon ihtimali, geri alımda geciken büyüme ve olumsuz koşullar altında sürekli büyümeyi. Bununla birlikte, sınırlı kaynak ve tesisleri bulunan laboratuvarlarda organizmaların depolanması için mineral yağ altında koruma önerilmektedir (Topal, 1989; Nakasone vd., 2004).

Yüksek kaliteli mineral yağ veya sıvı parafin, 15 lb (6.8 kg) basınç altında 2 saat süreyle otoklavlama yoluyla sterilize edilir. Tutulan nem, sıvıyı bir kurutma fırınında 170° C'de 1-2 saat ısıtılarak çıkarılır (isteğe bağlı). Standart deney tüplerine (30 mL'lik) hazırlanan yatık agar yüzeyleri üzerine mikroorganizmaların inkübasyonu yapılır. Yatık agarda yetiştirilen mikroalg kültürlerinin üzerine yaklaşık 10 mm mineral yağ (sıvı parafin veya medikal parafin - özgül ağırlığı 0.830-0.890) aseptik koşullarda doldurulur. Tüm agar yüzeyinin ve kültürün tamamen yağ içerisine batırılması gerekmektedir. Tüpler oda sıcaklığında veya sıcaklık kontrollü (15-18°C) bir odada dik konumda muhafaza edilir. Tüplerin veya viallerin içindeki yağ seviyesi periyodik olarak kontrol edilmeli ve gerektiğinde daha fazla yağ eklenmelidir. Bir kültürü mineral yağdan almak nispeten daha kolaydır. İğne uçlu bir öze yardımıyla ile koloninin küçük bir bölümünün çıkarılması ve alınması gereklidir. Mümkün olduğunca fazla yağ boşaltıldıktan sonra uygun besi ortamı üzerine öze ile alınan bu kültür konulur. Yağ birikimi nedeniyle büyüme oranı düşebileceği için, ekimi takiben birden fazla alt kültür yapılması gerekebilir (Dikilitaş vd., 2011; Nakasone vd., 2004).

9.4. Seri Alt Kültür Yöntemi

Seri alt kültür yöntemi yaygın olarak kullanılmakta olup, özellikle küçük ve hızlı bir şekilde kültürlere ihtiyaç duyulması ve küçük laboratuvarlar için belki de en basit ve en uygun maliyetli yöntemdir. Bu yöntem genellikle mikroalg kültürleri için sıvı ve/veya yarı/katı agarlı besi ortamlarında belirli periyotlarda ekimlerinin yapılması şeklinde gerçekleştirilir (Alberto vd., 2012).

Kültürün cinsine, türüne bağlı olarak kontrollü sıcaklık altında mikroalg suşları depolanmaktadırlar. Oda sıcaklığının altındaki soğutma, alt-kültürasyon aralığını uzattığı için sıklıkla kullanılır, böylece metabolik hızın bastırılmasının bir sonucu olarak gereken aktarım sayısını azaltır. Sınırlayıcı besin maddeleri, büyüme oranını düşürme ve transferler arasındaki süreleri uzatabilir. Çok sayıda organizmayı korumak için katı aseptik tekniklere dikkat edilmesi önerilir (Smith vd., 2001).

Mikroalglerin birkaç ay süreyle korunması için katı besi ortamı % 2,5'luk bakteriyolojik agar kullanılarak hazırlanır ve 40°C'lik bir jelleşme sıcaklığına getirilir. Üstel büyüme fazındaki (10-15 günlük) mikroalg hücreleri 2000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenererek konsantre edilir. Bunu kâtipen 10 mL kültür alınarak petri kabına bırakılır ve üzerine yaklaşık 40 mL ılık besin agar çözeltisi (son hacim 50 mL) dökülür ve karıştırılarak petri kaplarına yayılır. Yöntem, alg materyalinin agar ile birlikte kurutulmasını içerdiğinden, oda sıcaklığında altı aya kadar korunabilir ve canlanma yüzdesi yaklaşık %70 - %80 arasında olup, bir ila iki yıl boyunca 4°C'de tutulabilir (Prasad vd., 2013).

Üç alt kültür gerçekleştirildiğinde, en eski kültür sterilizasyon sonrası atılabilir. Işık yoğunluğu ve ışık periyodu, sıcaklığın sabit olduğu odalarda, alt kültürü mümkün olduğunca uzun süre korumak için kontrol edilir. Aydınlatma yoğunluğu, aynı kültür odasındaki yere bağlı olarak farklılık gösterebilir. Genel olarak, Chlorophyceae, Cyanophyceae ve Dinophyceae yüksek yoğunluklu aydınlatma altında iyi performans gösterir. Her suşun alt kültür döngüsünün kayıtları tutulur ve alt kültürel hataları önlemek için o aya ait aşılama suşu listesi her ayın ilk haftasında kontrol edilir (Hur vd., 2015; Smith vd., 2001).

Alt kültür yoluyla transfer, potansiyel olarak dezavantajlı olabilir, çünkü sık sık alt kültür yapılması, bakteri gibi mikroorganizmaların kontaminasyona neden olabilir. Işık ve sıcaklık gibi çevresel parametreler de kritik noktalardır. Ortam seçimi önemli bir faktördür ve bireysel cinslerin ihtiyaçlarına göre uyarlanması gerekmektedir. Farklı ortamlar ilk izolasyonda test edilerek suş için uygun bir ortam seçilmelidir. Kültürler ekimi takiben logaritmik büyüme evresine gelirler. Besinlerin tükenmesi ve atık ürünlerin birikimi ile bağlantılı olarak çözünmüş gazların bulunabilirliği kültürün bozulmasına ve daha sonra kaybına neden olacaktır. Geç logaritmik veya erken sabit fazda yaşayan mikroalglerin taze büyüme ortamına transfer edilmesi çeşitli kaynaklarca önerilmektedir (Onions ve Smith, 1984; McLellan vd., 1991).

SONUÇ

Mikroalgler, sahip oldukları biyolojik aktif maddeler nedeniyle bilim dünyası ve ekonomide önemli değere sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle besin zincirinin ilk halkasını oluşturmakta, oksijen üretmekte, ağır metal emilimi ile çevre kirliliğinin önlenmesinde ve endüstrinin çeşitli alanlarında gıda maddesi ve farmakolojik özellikleri için kullanılmaktadırlar. Günümüzde Hindistan, Çin, Japonya, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği ülkelerinde mikroalg kitle kültürü üzerine projeler yürütölmekte ve hasat edilen biyokütle birçok uygulama için kullanılmaktadır. Mikroalg türlerinin son zamanlarda insan aktiviteleri ve doğal olaylar neticesinde tükenmeleri, bu türlerin korunmasını hem çevre hem de o ülkenin doğal kaynaklarını oluşturduklarından önem taşımaktadır. Ayrıca bilimsel araştırmalar için araştırmacıların kendi ülkelerinde bulunmayan türlerin temin edilmesi ve özellikleri tam olarak bilinen referans türlere ihtiyaç duymaları nedeniyle biyolojik kaynak merkezlerine duyulan ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır. Biyolojik kaynak merkezleri, alg kültürlerinin depolanması ve korunmasında kullanılan teknolojilerin geliştirilmesi görevlerini yerine getiren araştırma merkezleridir. Bu nedenle, bu merkezler taksonomi, karakterizasyon, koruma ve biyogüvenlik ile ilgili güncel bilgiler açısından da çok önemlidirler. Yukarıdakilere ek olarak, bu kapsamda düzenledikleri eğitim ve öğretim faaliyetleri ile de bir rehberlik merkezi oluştırmaktadırlar. Sahip oldukları türler ve bilgi birikimleri ile hizmet gereksinimlerine bağlı olarak farklı biyolojik kaynak merkez türleri mevcuttur.

KAYNAKLAR

1. Abreu, L., Borges, L., Marangoni, J., Abreu, P.C. (2012). Cryopreservation of some useful microalgae species for biotechnological exploitation, *J Appl Phycol.*, 24,1579-1588. doi:10.1007/ s10811-012-9818-0.
2. Aktar, S., Elgin Cebe, G. (2010). Alglerin genel özellikleri, kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi. *Ankara Ecz. Fak. Dergisi*, 39(3), 237-264.
3. Alberto, A., Esteves-Ferreira, D.M., Corrêa Carneiro, A.P.S., Rosa, R.M., Loterio, R., Araújo, W.L. (2012). Comparative evaluation of different preservation methods for cyanobacterial strains, *J Appl Phycol*, 25, 919-929. doi:10.1007/s10811-012-9927-9.
4. Amini, K.Z., Seyfabadi, J., Ramezonpour, Z. (2012). Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*, *Aquacult. Int.*, 20(1), 41-49.
5. Andersen, R.A., Kawachi, M. (2005) Traditional Microalgae Isolation Techniques. In: Andersen, R.A. (Eds.), *Algal Culturing Techniques* (pp. 83-100). London: Elsevier Press.
6. Baust, J. M. (2002). Molecular mechanisms of cellular demise associated with cryopreservation failure, *Cell Preserv. Technol.*, (1), 17-31.
7. Berny, J.F., Hennebert, G.L. (1991). Viability and stability of yeast cells and filamentous fungus spores during freeze-drying: effects of protectants and cooling rates, *Mycologia*, (83), 805-815.
8. Blair, M.F., Kokabian, B., Gude, V.G. (2013). Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production, *J Environ Chem En.*, 2(1), 665-674.
9. Bleeke, F., Rwehumbiza, V.M., Winckelmann, D., Klöck, G. (2014). Isolation and characterization of new temperature tolerant microalgal strains for biomass production, *Energies*, 7, 7847-7856.
10. Borcaklı, M. (1987). Yeni gıda kaynağı olarak mikroalgler ve üretim yöntemleri. Kocaeli: TÜBİTAK MAM Beslenme ve Gıda Teknolojileri ile Soğutma Tekniği Araştırma Bölümü. Cilt 2. Yayın no:12.
11. Borowitzka, M.A., Borowitzka, J.L. (1988). *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press.
12. Bourrelly, P. (1972). *Les Algues D'eau Douce, Tome I: Les Algues Vertes E'ditions N. Boubee and Cie 3*. France: Place Saint Andre Des Arts.
13. Cirik, Ş., Cirik, S. (2011). *Su Bitkileri I-Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi ve Yetiştirme Teknikleri*. İzmir: Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları.
14. Cirik, S., Gökpinar, Ş. (1993). *Plankton Bilgisi ve Kültürü*. İzmir: Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:47 Ders Kitabı Dizisi No:19.
15. Cohen, Z. (1999). *Chemical from Microalgae*. London: Taylor&Francis.
16. Corbett, L., Parker, D.L. (1976). Viability of lyophilized cyanobacteria (Blue-Green Algae). *Applied and Environmental Microbiology*, 32(6), 777-780.
17. Cox, E.J. (1996). *Identification of Freshwater Diatoms from Live Material*. London: Chapman and Hall.
18. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) (2018). Website: <http://www.csiro.au/> [accessed 28 July 2018].
19. Day, J.G., Fleck, R.A., Benson, E.E. (2000). Cryopreservation-recalcitrance in microalgae: novel approaches to identify and avoid cryo-injury, *Journal of Applied Phycology*, (12), 369-377.
20. Day, J.G. (2007) Cryopreservation of microalgae and Cyanobacteria. In: Day, J.G., Stacey, G.N. (eds.) *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols* (p. 141-151). New Jersey: Humana Press Inc.
21. Day, J.G., Brand, J.J. (2005). Cryopreservation methods for maintaining microalgal cultures. In: Andersen, R.A. (eds.) *Algal Culturing Techniques* (p. 165-189). Burlington, USA: Elsevier.

22. Dikilitaş, M., Katircioğlu, Y.Z., Altınok, H.H. (2011). Fungus ve fungal materyallerin uzun dönem saklanması, korunması ve geri kazanımı üzerine varılan son gelişme ve yöntemler, *HR.Ü.Z.F. Dergisi*, 15(2), 55-69.
23. Duygu Yalçın, D. (2017). *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] (Chlorophyta) suşlarının kesikli kültür sisteminde yoğun kültürlerinin üretimi üzerine bir çalışma, *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 3(2), 61-67.
24. Esteves-Ferreira, A.A., Corrêa, D.M., Carneiro, A.P.S., Rosa, R.M., Loterio, R., Araújo, W.L. (2012). Comparative evaluation of different preservation methods for cyanobacterial strains, *J Appl Phycol.*, 25, 919-929.
25. Fleck, R.A. (1998). *The Assessment of Cell Damage and Recovery in Cryopreserved Freshwater Protists* (PhD Thesis). University of Abertay, Dundee.
26. Guillard, R.R.L. (1995). Culture Methods. In: Hellegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D. (eds.), *Manual on Harmful Marine Microalgae IOC Manuals and Guides No. 33* (pp. 45-62). USA: UNESCO.
27. Guillard, R.R.L. (2005). Purification Methods for Microalgae. In: Andersen, R.A. (eds.), *Algal Culturing Techniques* (p. 117-132), London: Elsevier Press.
28. Halkman, K., Doğan, H.B. (2000). *Kültür Koruma Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Ankara.
29. Hamilton, R. D. (1973). Sterilization. In: Stein, J.R., (ed.), *Handbook of Phycological Methods* (p. 181-193). Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge: Cambridge University Press.
30. Hattab, M., Ghaly, A. (2014). Effects of Light exposure and nitrogen source on the production of oil from freshwater and marine water microalgae, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 10(4), 208-230.
31. Hosikian, A., Lim, S., Halim, R., Danquah, K.M. (2010). Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects, *International Journal of Chemical Engineering*, 1-11.
32. Hoff, F.H., Snell, T.W. (2001). *Plankton Culture Manual*. 5th ed. Florida: Florida Aqua Farms, Inc.
33. Huber-Pestalozzi, G. (1938). *Das Phytoplankton Des Süßwassers, 1. Teil E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung*, Germany.
34. Huber-Pestalozzi, G. (1955). *Das Phytoplankton Des Süßwassers, 4. Teil Euglenophyceen, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung*, Germany.
35. Huber-Pestalozzi, G. (1982). *Das Phytoplankton Des Süßwassers, 8. Teil Conjugatophyceae, Zynematales and Desmidiaceae, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung*. Germany.
36. Hur, S.B., Bae, J.H., Youn, J.Y., Jo, M.J. (2015). KMMCC-Korea Marine Microalgae Culture Center: list of strains, 2nd edition, *Algae*, S1-S188.
37. Johnson, D.E., Dutcher S.K. (1993). A simple, reliable method for prolonged frozen storage of Chlamydomonas, *Trends Gent.*, 9, 194-195.
38. Krammer, K., Lange-Bertalot, H. (1991a). *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae Band 2/3, 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
39. Krammer, K., Lange-Bertalot, H. (1991b). *Süßwassers von Mitteleuropa, Bacillariophyceae Band 2/4, 4. Teil: Achnanthaceae, Kritische. Ergänzungen zu Navicula (Lineolatatae) und Gomphonema Gesamtliteraturverzeichnis*, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
40. Krammer, K., Lange-Bertalot, H. (1999a). *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae, Band 2/1, 1. Teil: Naviculaceae*, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
41. Krammer, K., Lange-Bertalot, H. (1999b). *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae, Band 2/2, 2. Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.

42. Kumar, K., Das, D. (2012). Growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* in airlift and bubble column photo-bioreactors, *Bioresour Technol.*, 116, 307-313.
43. Lowrey, J., Brooks, M.S., McGinn, P.J. (2015). Heterotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production in agricultural wastewaters and associated challenges-a critical review, *J. Appl. Phycol.*, 27, 1485-1498.
44. Lugo, A. E. (1988). Estimating reductions in the diversity of tropical forest species. In: Wilson, E.O. (eds), *Biodiversity* (p. 58-70), Washington: National Academy Press.
45. Matejtschuk, P. (2007). Lyophilization of Proteins. In: Day, J.G., Stacey, G. (Eds.), *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols* (39-58), New Jersey: Humana Press.
46. Kawachi, M., Noël, M.H. (2005). Sterilization and Sterile Technique. In: Andersen, R.A. (ed.), *Algal Culturing Techniques* (p. 65-82), London: Elsevier Academic Press.
47. Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., Hawks, J.G. (1997). *Plant Genetic Conservation: The in-Situ Approach*. London: Chapman & Hall.
48. McGrath, M.S., Daggett, P.M., Dilworth, S. (1978). Freeze-drying of algae: Chlorophyta and Chrysophyta, *J. Hycol.*, (14), 524-525.
49. McLellan, M.R., Cowling, A.J., Turner, M.F., Day, J.G. (1991). Maintenance of algae and protozoa. In: Kirsop, B., Doyle, A. (eds.), *Maintenance of Microorganisms* (p. 183-208), London: Academic Press Ltd.
50. Nakanishi, K., Deuchi, K., Kuwano, K. (2012). Cryopreservation of four valuable strains of microalgae, including viability and characteristics, during 15 years of cryostorage, *J Appl Phycol*, 24, 1381-1385.
51. Nakasone, K.K., Peterson, S.W., Jong, S.C. (2004). Preservation and Distribution of Fungal Cultures. In: Mueller, G.M., Bills, G.F., Foster, M.S. (eds.), *Biodiversity of Fungi Inventory and Monitoring Methods* (p. 37-47), USA: Elsevier Academic Press.
52. Nishida, I., Murata, N. (1996). Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 47, 541-58.
53. Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD) (2007). *OECD Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres*. France.
54. Onions, A.H.S., Smith, D. (1984). Current status of culture preservation and technology. In: Batra, L.R., Iigima, T. (eds.), *Critical problems of Culture Collections*. Osaka: Institute of Fermentation.
55. Parvin, M., Zannat, M.N., Habib, M.A.B. (2007). Two important techniques for isolation of microalgae, *Asian Fisheries Science* 20, 117-124.
56. Patrick, R., Reimer, C.W. (1975) *The Diatoms of The United States*. Philadelphia: Acad. Nat. Sci. Monogr.
57. Phang, S.M., Chu, W.L. (1999). *University of Malaya, Algae culture Collection, Catalogue of Strains*. Kuala Lumpur: Institute of Post Graduate Studies and Research, University of Malaya.
58. Prasad, R.N., Sanghamitra, K., et. al., (2013). Isolation, identification and germplasm preservation of different native *Spirulina* species from western Mexico, *American Journal of Plant Sciences*, 4, 65-71.
59. Prescott, G.W. (1975). *Algae of The Western Great Lakes Area*. W.M.C. Michigan Brown Company Publishers.
60. Pringsheim, E.G. (1946). *Pure Cultures of Algae. Their Preparation and Maintenance*. Cambridge: Cambridge University Press.
61. Rastoll, M.J., Ouahid, Y., Martín-Gordillo, F., Ramos, V., Vasconcelos, V., Campo, F.F. (2013) The development of a cryopreservation method suitable for a large cyanobacteria collection, *J Appl Phycol.*, 25, 1483-1493.
62. Round, F.E. (1973). *The Biology of The Algae*. London: Edward Arnold Pub.

63. Salas-Leiva, J.S., Dupré, E. (2011) Cryopreservation of the microalgae *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen): analysis of the effect of DMSO temperature and light regime during different equilibrium periods, *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 39, 271-279.
64. Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, U.C., Mussnug, J.H., Posten, C., Kruse, O., Hankamer, B. (2008). Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodisel production, *BioEnergy Res.*, 1(1), 20-43.
65. Smith, D. (2001). Culture collection operation and management. In: Smith, D., Ryan, M.J., Day, J.G. (eds.), UKNCC Biological Resource: Properties, Maintenance and Management, (382p.), Bakenham Lane.
66. Smith, D., Onions, A.H.S. (1983). *The Preservation and Maintenance of Living Fungi*. London: Commenwealth Mycological Inst., Richmond.
67. Smith, D., Ryan, M.J., Day, J.G. (2001). *The UK National Culture Collection (UKNCC) Biological Resource: Properties, Maintenance And Management*. UK.
68. Stacey, G.N., Day, J.G. (2007). Long-Term Ex Situ Conservation of Biological Resources and the Role of Biological Resource Centers. In: Day, J.G., Stacey, G. (eds.) *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols* (p. 1-14), Springer.
69. Sukatar, A. (2002). *Alg Kültür Yöntemleri*. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 184.
70. Thompson, P.A. (2002). Algal cell culture. *Biotechnology, Encyclopedia of Life Support Systems* (EOLSS), I, 67-110.
71. Topal, Ş. (1989). Küf koleksiyonlarının oluşturulması ve korunumu, *Gıda*, 14(6), 371-380.
72. United Kingdom National Culture Collection (UKNCC) (1998). Quality Manual. UK New Strategy for Microbial Collections.
73. Varshney, P., Mikulic, P., Vonshak, A., Beardall, J., Wangikar, P.P. (2015). Extremophilic micro-algae and their potential contribution in biotechnology, *Bioresour. Technol.*, 184, 363-372.
74. Watanabe, M.M. (2005). Cultures as a Means of Protecting Biological Resources: Ex Situ Conservation of Threatened Algal Species. In: Andersen, R.A. (ed.), *Algal Culturing Techniques* (p. 419-428), Elsevier Academic Press.
75. World Federation for Culture Collections (WFCC) (2010). *For the Establishment and Operation of Collections of Cultures of Microorganisms, Guideliness*, 3rd Edition, Belgium.
76. Yumuşak, D., Öncül, Ö., Esen, B. (2005). Kültür koleksiyonu genel tanımı ve Türkiye'deki kültür koleksiyonları, *Türk Hij. Den. Biyol. Dergisi*, 62(1,2,3), 67-72.

ANIZ YAKMANIN TOPRAK MİKROORGANİZMA FAALİYETİNE OLASI ETKİLERİ

Nacide KIZILDAĞ¹, Şahin CENKSEVEN²,
Burak KOÇAK³, Hüsniye AKA SAĞLIKER⁴,
Cengiz DARICI⁵



¹ Dr., Çukurova Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Adana.

² Dr., Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak ve Bitki Besleme Bölümü, Adana.

³ Dr., Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana.

⁴ Prof. Dr., Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Fakiuşağı, Osmaniye.

⁵ Prof. Dr., Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana.

1. GİRİŞ

1 cm toprağın oluşması için 100-300 yıl gibi uzun bir zamanın gerekli olduğu bilinmektedir. Doğada yenilenemeyen ya da yenilenmesi çok uzun yıllar süren toprakların sistemli bir şekilde incelenmeleri hem korunmaları, hem de gelecekte yapılacak işlemler için çok önemli bilgiler kazandırmaktadır. Tarımsal faaliyetler toprağa bağlı olup toprak işleme, sulama, drenaj, pestisitlerin kullanımı, gübreleme, ilaçlama gibi temel uygulamalar doğrudan ya da dolaylı olarak toprak özellikleriyle ilişkilidir. Bu uygulamalar toprağın sahip olduğu fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini zamanla değiştirebilmektedir. Bu nedenle toprak çeşitleri ya da tipleri ile kullanım potansiyellerinin bilinmesi zorunlu hal almıştır (Dinç ve Şenol, 1997). Araziyi koruyabilmek ve onun potansiyelinden maksimum düzeyde yararlanmak, ancak birbiri ile çelişmeyen kullanım seçeneklerinin geliştirilip bir plana dayalı olarak uygulanması ve sürekli denetlenmesi ile mümkün olmaktadır. Yaşamın en önemli unsurlarından olan toprakta milyarlarca organizma yaşamakta ve birçok önemli biyokimyasal olay toprakta gerçekleşmektedir.

Ekinler biçildikten sonra tarlada kalan köklü sap kısımlarına “Anız” denilmektedir. Ekonomik olarak değerlendirilemeyen bu bitki artıkları, arazide toprak için önemli sorunlar ortaya çıkarmakta ve yasak olmasına rağmen yakılmaktadır. Anız yakma gibi her türlü yanlış uygulama toprağa ve toprak ekolojisine zarar vererek, uzun vadede toprak verimliliği ve sürdürülebilirliğini olumsuz etkilemektedir (Yang ve ark., 2008). Anız yangınlarının tarımsal ekolojik zararları yanında çevresel zararları da bulunmaktadır. Toprağın rahat işlenebilmesi için ateşi kullanan arazi sahipleri, toprağın canlı bir sistem olduğu gerçeğini göz ardı ederek kısa vadede kazanç sağlamak amacı ile anız yakmaya devam etmektedir (Doğan, 2012). İkinci ürüne geçmeden önce, hasat sonrası tarlada kalan bitki artıklarının yakılması yerine parçalanarak toprağa karıştırılması ya da sap kısmının toprak yüzeyi seviyesinde hasat edilmesi her zaman önerilen bir uygulamadır. Bu uygulamalar ile toprağa organik madde takviyesi olmaktadır. Böylelikle toprağa karışan organik madde, toprakta yaşayan mikroorganizmalara besin kaynağı olmaktadır.

Anız yakmanın ilk zararlı etkisi toprağın 0-5 cm'lik kısmında ortaya çıkmakta olup yüksek sıcaklıktan hem mikroorganizma popülasyonu, hem de organik madde miktarı etkilenmektedir (Kladivko, 2001). Toprak mikroorganizmaları toprak verimliliğinin en önemli unsurlarından olup organik madde mineralizasyonu, azot, kükürt, fosfor gibi besin elementi döngüleri şeklinde ekosistem dengesini etkileyen temel reaksiyonlarda çok önemli rol oynamaktadırlar. Anız yakma gibi yanlış tarımsal uygulamalar bu organizmaların zamanla yok olmasına ve dolayısıyla biyolojik çeşitliliği azaltarak zaman içerisinde toprakların çoraklaşmasına neden olmaktadır (Doğan, 2012). Birçok araştırma anız yakılan topraklarda hem biyolojik, hem de fizyolojik aktivitenin önemli düzeyde azaldığını ortaya koymuştur (Coşkan ve ark., 2010; Doğan ve ark., 2011).

Toprakta gözlenen biyokimyasal reaksiyonlar çoğunluğu heterotrof olan mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilmektedir. Bunlar salgıladıkları enzimlerle organik madde içerdiği protein, nişasta, selüloz, lignin ve fosfat esterleri gibi kompleks bileşikler kendileri ve bitkilerin alabileceği formlara dönüştürmektedirler (Hoffmann, 1986; Jonasson ve ark., 1996). Bu mikrobiyal faaliyet de karbon ve besin varlığından güçlü bir şekilde etkilenmekte olup topraklara karbon eklenmesi karbon mineralizasyon oranını, mikrobiyal biomass ve enzim aktivitesini artırabilmektedir (Joergensen ve Scheu, 1999).

Bu çalışma ile anız yakılan ve yakılmayan iki arazide 0-5 ve 5-10 cm derinlikten alınan toprak örneklerinde toprak karbonuna eşdeğer karbon içeren (1X) buğday sap ve yanmış anızı karıştırılmadan önce ve sonra karbon mineralizasyonları incelenmiştir. Böylece anız yakılmasının toprak mikroorganizmaları aracılığıyla topraktaki olası etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOD

Çukurova Üniversitesi (Adana) Araştırma Uygulama Çiftliğinde Adana 99 çeşit Buğday ekilen tarla örneklik alan olarak seçilmiştir. Çalışmada buğday toprakları ile hasat sonrası arta kalan sap kısmı materyal olarak kullanılmıştır. Arazide buğday hasadından sonra yaklaşık 3-4 m²'lik bir alanda kontrollü olarak anız yakılarak 0-5 ve 5-10 cm derinliklerden toprak örnekleri alınmıştır. Aynı şekilde yakılmayan alandan da toprak örnekleri alınarak kıyaslama yapılmıştır.

Topraklar laboratuvarında kurutulup 2 mm' lik elekten elenerek analizlere hazır hale getirilmiştir. Toprakların bünye tipi hidrometre yöntemi ile (Bouyoucos, 1951), toprak pH'sı 1:2.5'lik toprak-su karışımında InoLab pH metresi ile (Jackson, 1958), kireç içeriği (%) Scheibler kalsimetresi ile (Allison ve Moddie, 1965), tarla kapasitesi (TK, %) 1/3 atmosferlik basınçlı vakum pompası ile belirlenmiştir (Demiralay, 1993). Toprakların C içeriği (% C) Anne metodu, toplam N içeriği (% N) Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir (Duchaufour, 1970). Toprakların karbon mineralizasyonları 30 gün boyunca CO₂ Respirasyon metodu [Ba(OH)₂ + Oksalik asit] ile kontrollü koşullarda (28°C, % 80 nem) incelenmiştir (Schaefer, 1967). Tüm ölçümler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

Anız yakılmamış (T) ve yakılmış alanlardan (TY) alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile bu topraklara karıştırılan sap ve anızın karbon ve azot içerikleri istatistiksel olarak değerlendirilmiş, ortalama ve standart hataları Tablo 1'de verilmiştir.

Topraklar kumlu tınlı (SL) bünyeli, hafif alkali ve kireçli olup aralarında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir (P>0.05). Tarla kapasiteleri % 22.10-25.20 arasında olup TY topraklarında daha yüksek bulunmuştur (Tablo 1).

Toprakların hem karbon, hem de azot içerikleri birbirlerine yakın olup aralarında önemli bir fark gözlenmemiştir. En yüksek karbon içeriği 0-5 cm derinliğindeki kontrol toprağında (T) (% 1.19), en düşük ise anız yakılmış toprağın 5-10 cm derinliğinde (TY) (% 1.00) belirlenmiş olup karbon içerikleri hem T hem de TY topraklarında derinlikle azalmıştır. Ancak bu azalış istatistiksel olarak anlamsızdır ($P>0.05$). Toprakların azot içerikleri % 0.12-0.15; C/N oranları ise 8.10-8.46 arasında olup aralarında istatistiksel fark yoktur ($P>0.05$).

Tablo 1. Anız yakılmamış (T) ve yakılmış alanlardan (TY) alınan bitki ve toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri (Ortalama $\pm$ Standart Hata, $n = 3$).

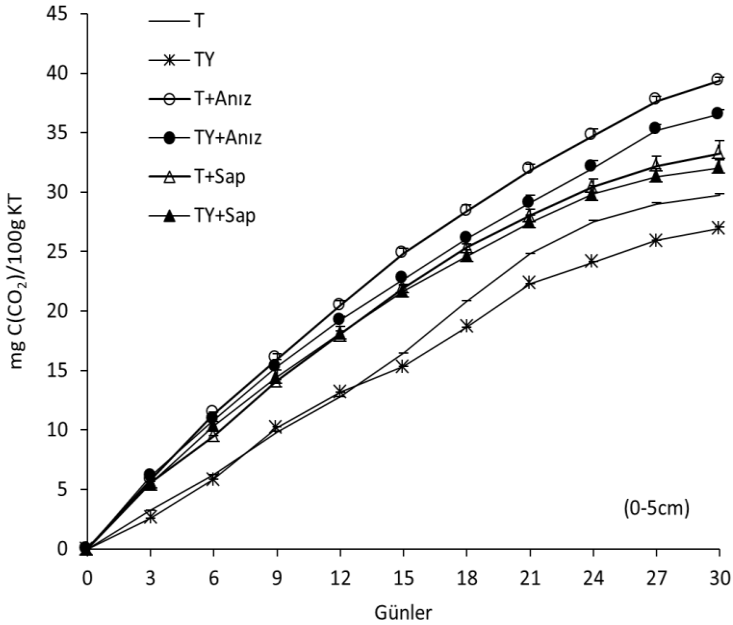
		T		TY	
	Analizler	0-5 cm	5-10 cm	0-5 cm	5-10 cm
Toprak	Kum (%)	78.26	75.85	74.22	72.18
	Silt (%)	18.15	8.28	11.34	10.32
	Kil (%)	3.59	15.87	14.44	17.50
	Tekstür tipi	Kumlu tınlı (SL)			
	Tarla kapasitesi(%)	24.42	22.10	25.20	24.50
	CaCO ₃	8.44	8.32	8.37	8.35
	pH	7.38	7.41	7.34	7.39
	C (%)	1.19	1.07	1.10	1.00
	N (%)	0.15	0.13	0.13	0.12
	C/N	8.46	8.10	8.46	8.33
Bitki	C (%)	43.31			
	N (%)	1.04			
	Hidrolizat (%)	74.01			
	TOC (ppm)	3630			

Anız yakılmayan (T) ve yakılan alanlarda (TY) 0-5 cm ve 5-10 cm derinliklerden alınan toprakların karbon mineralizasyonları (mg C(CO₂)/100g KT) 28°C de 30 gün boyunca incelenmiştir. Ayrıca toprakların karbonuna eşdeğer karbon (1X) içeren buğday sapı ve yanmış anızı T ve TY topraklarına karıştırılarak toprak mikroorganizma faaliyetine olası etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

0-5 cm derinlikteki toprakların kumulatif karbon mineralizasyonu, T topraklarında (29.73 mg) TY topraklarına (26.93 mg) göre % 15.13 oranında daha yüksektir ($P<0.001$). 5-10 cm'den alınan toprakların kumulatif karbon mineralizasyonu T topraklarında 25.23 mg iken TY topraklarında 24.61 mg olmuştur ($P>0.05$).

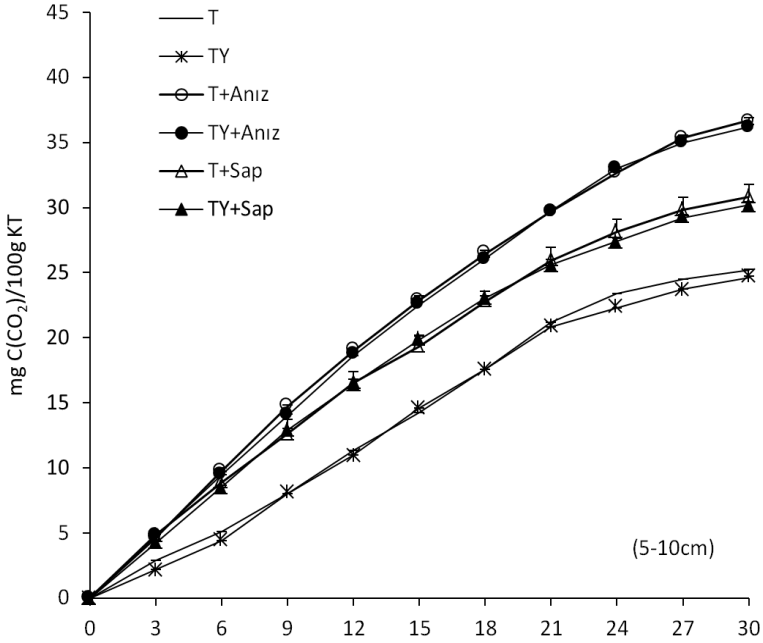
0-5 cm topraklarında 5-10 cm topraklarına nazaran daha yüksek kumulatif karbon mineralizasyonu gerçekleşmiştir. Derinliğe bağlı olarak anız yakılmamış (T) toprakların karbon mineralizasyonları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ($P < 0.001$) anız yakılmış (TY) topraklarda anlamsızdır ($P > 0.05$).

0-5 cm derinliğindeki hem T, hem de TY topraklarında en yüksek mineralizasyon anız karıştırılmış yanmamış topraklarda (T+Anız) ($39.36 \text{ mg C(CO}_2\text{)}/100 \text{ g toprak}$) bulunmuş iken en düşük mineralizasyon ilavesiz yanmış topraklarda (TY) ($26.93 \text{ mg C(CO}_2\text{)}/100 \text{ g toprak}$) meydana gelmiştir. İlk 12 günde kolay ayrışabilen organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından hızlı bir şekilde kullanıldığı, 12-15. günler arasında mineralizasyon hızının yavaşladığı, 15-21. günler arasında tekrar hızlanma evresine girdiği gözlenmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. 0-5 cm'den alınan yanmış ve yanmamış toprakların (sap ve anız ilaveli-ilavesiz) karbon mineralizasyonları [$\text{mg C(CO}_2\text{)}/100 \text{ g}$ kuru toprak, ortalama $\pm$ standart hata, ($n = 3$)].

5-10 cm topraklarında ise ilk 9 günde kolay ayrışabilen organik maddeler mikroorganizmalar tarafından hızlı bir şekilde kullanılmış, 21. günden sonra mineralizasyon hızında belirgin bir azalma gerçekleşmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. 5-10 cm'den alınan yanmış ve yanmamış toprakların (sap ve anız ilaveli-ilavesiz) karbon mineralizasyonları [mg C(CO₂)/100g kuru toprak, ortalama ± standart hata, (n = 3)].

Karbon mineralizasyonu anız yakılmış topraklarda yakılmamış topraklara göre daha düşüktür. Bu düşüş toprakların 0-5 cm derinliğinde daha belirgin iken toprakların 5-10 cm derinliğinde anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır. Anız yakılmış 0-5 cm'den alınan topraklarda karbon mineralizasyonu anız yakılmamış topraklara göre, ilavesiz kontrol topraklarında % 9.41 (P<0.05), anız karıştırılmış topraklarda % 7.13 (P<0.05) ve sap ilave edilmiş topraklarda ise % 3.67 (P>0.05) oranlarında düşük bulunmuştur. 5-10cm'lik yanmış ve yanmamış toprakların mineralizasyon sonuçları birbirine yakın olup aralarında anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Anız yakılması sonucunda meydana gelen mikrobiyal aktivitedeki bu düşüşün, toprak besin dengesinin sağlanması ve sürdürülmesinde önemli bir organik madde kaynağı olan anızın yakılarak topraktan uzaklaştırılması ve yakma sırasında ortaya çıkan ısının toprak mikroflorasına olumsuz etkisinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Her iki derinlikteki anız yakılan ve yakılmayan topraklara organik madde ilavesinin (sap ve anız) karbon mineralizasyonunu artırdığı ve bu artışın anız ilavesinde sap ilavesine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (P<0.001). Mineralizasyon artışı, kontrol topraklarına göre, anız yakılmayan topraklarda

sap ilavesinde % 11.90; anız ilavesinde % 32.39 oranında iken, anız yakılan topraklarda sap ilavesinde % 19.01, anız ilavesinde % 35.72 oranında gerçekleşmiştir.

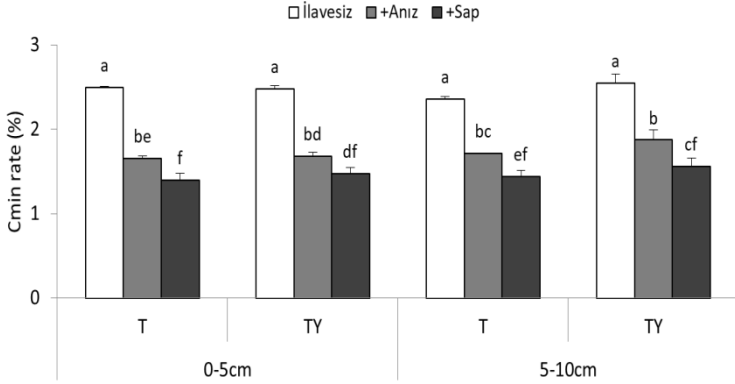
Bu sonuçlar anız yakılması sonucu daha kolay kullanılabilir hale gelen karbonun mikroorganizmalarca kaynak olarak kullanılıp ilave edilen organik bileşikler daha çok ayrıştırmış olması ile açıklanabilir. Bu durum olumlu gibi görünse de aslında kaynak karbonun hızlı tüketilmesi sonucu yeni ilave edilen organik bileşikler de ayrıştırılamayıp birikmekte ve böylece ekolojik denge de bozulmaktadır.

Tablo 2. Karbon mineralizasyonu ve oranlarına alan (yanmış ve yanmamış), bitkisel ilave (sap ve anız) ve interaksiyonlarının etkileri

		Cmin		Cmin oranı	
		F	P	F	P
0-5 cm	ilave	151,239	<0.001	733,077	<0.001
	Alan	25,266	<0.001	1,637	ns
	ilave * Alan	,216	ns	,020	ns
5-10 cm	ilave	366,987	<0.001	137,330	<0.001
	Alan	2,698	ns	10,439	<0.05
	ilave * Alan	,216	ns	,020	ns

Cmin: kumulatif karbon mineralizasyonu

0-5 cm'den alınan topraklarda alan (yanmış ve yanmamış) ve bitkisel ilave (anız ve sap) faktörlerinin toprakların kumulatif karbon mineralizasyonuna istatistiksel olarak anlamlı etkileri ortaya konmuştur. 5-10 cm'de ise sadece bitkisel ilave faktörü karbon mineralizasyonunu anlamlı etkilemiştir. Alan faktörünün 5-10 cm derinlikteki toprakların kumulatif mineralizasyon sonuçlarına anlamlı bir etkisi yoktur. Bitkisel ilave faktörü her iki derinlikte de mineralizasyon oranına anlamlı etki etmiştir. Alan faktörünün etkisi 5-10 cm derinlikte istatistiksel olarak anlamlı iken 0-5 cm'de anlamlı değildir. Her iki derinlikte de bitkisel ilave ve alan faktörleri arasında istatistiksel olarak önemli etkileşim yoktur (Tablo 2).



Şekil 3. Yanmış (TY) ve yanmamış toprakların (T) (ilaveli ve ilavesiz) karbon mineralizasyon oranları (ortalama $\pm$ standart hata, n = 3).

Yanmış ve yanmamış kontrol toprakların karbon mineralizasyon oranları sırasıyla 0-5 cm'de % 2.50 ve 2.48; 5-10 cm'de % 2.55 ve 2.36 bulunmuş olup istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark yoktur ($P>0.05$) (Şekil 3).

Hem sap ve hem de anız ilave edilmiş toprakların karbon mineralizasyon oranları arasında da anlamlı farklar belirlenmemiştir. Her iki derinlikte, sap ve anız ilave edilen anız yakılmış ve yakılmamış toprakların karbon mineralizasyon oranlarının ilavesiz kontrol topraklarından daha düşük olduğu, bu düşüşün sap ilavesinde anız ilavesine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir ($P<0.001$).

4. SONUÇ

Yangının toprağın üst tabakası (0-5 cm) ile sınırlı kaldığı, 5-10 cm'lik derinlikte etkili olmadığı anlaşılmıştır. Ayrıca yanmış anızın ilave edildiği topraklarda karbon mineralizasyonları daha hızlı ve sonuçta mineralleşen toplam karbon miktarı daha fazla olmuştur. Yanmış anız ilave edilmiş kontrol topraklarında mineralizasyonun hızlı olması, yanma sırasında anızda meydana gelen bozulmalar sonucu organik bileşiklerin daha kolay ayrılmış olmasıyla açıklanabilir. Bir diğer açıdan yanmış topraklardaki mikrobiyal faaliyetin düşüklüğü yangının mikroorganizma popülasyonlarına zarar vererek sayı ve çeşitlerini azaltmasına bağlanabilir.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde destek veren Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje No: FBA-2016-7183) katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. U, Dinç, S. Şenol, "Toprak Etüd ve Haritalama," ÇÜ Ziraat Fakültesi Genel Yayın, s 161, 1997.
2. S. Yang, H. He, S. Lu, D. Chen, J. Zhu, "Quantification of crop residue burning in the field and its influence on ambient air quality in Suqian, China", *Atmospheric Environment*, 42, 1961-1969, 2008.
3. K. Doğan, "Anız Yakmanın Zararları. Amik Ovasında Yanlış Arazi Kullanımı, Anız Yakma Sorunu ve Çözüm Önerileri," Panel. Mustafa Kemal Üniversitesi, 2012.
4. J.K. Kladienko, "Tillage systems and soil ecology", *Soil and Tillage Research*, 61(1-2):61-76, 2001.
5. A. Coşkan, M. Gök, K. Doğan, "The Denitrification Rate and Biological Activity of Soil under the Soybean Vegetation with respect to Wheat Suble Burning and Tobacco Waste Applications," *Trends Soil Science and Plant Nutrition Journal*, 1(1):6-12, 2010.
6. K. Dogan, I. Celik, M. Gok, A. Coskan, (2011) "Effect of Different Soil Tillage Methods on Rhizobial Nodulation, Biomas and Nitrogen Content of Second Crop Soybean," *African Journal of Microbiology Research*, 5(20), 3186-3194, 2011.
7. A. Hoffmann, "Bodenenzyme als Charakteristika Biologischen Aktivitat und von Stoffumsatzen in B.den," II. Seminar: Die Anwendung Enzymatischer und Mikrobiologischer Methoden in der Bodenanalyse. 5-6 Juni, Linz, 1986.
8. S. Jonasson, A. Michelsen, I. K. Schmidt, E. V. Nielsen, T. V. Callaghan, "Microbial Biomass C, N and P in Two Arctic Soils and Responses to Addition of NPK Fertilizer and Sugar: Implications for Plant Nutrient Uptake," *Oecologia*, 106: 507-515, 1996.
9. R. G. Jorgensen, S. Scheu, "Response of Soil Microorganisms to the Addition of Carbon, Nitrogen and Phosphorus in a Forest Rendzina," *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 859-866, 1999.
10. G. S. Bouyoucos, "A Recalibration of the Hydrometer for Making Mechanical Analysis of Soil," *Agronomy Journal*, 43: 434-438, 1951.
11. M.L. Jackson, "Soil Chemical Analysis," Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall, Inc. 1958.
12. L. E. Allison, C.D. Moodie, (1965) "Carbonate. In: Black CA, editor. Methods of Soil Analysis," Amer. Madison, WI, USA: *American Society of Agronomy*, pp. 1379-1396, 1965.
13. I. Demiralay, "Toprak Fiziksel Analizleri," Erzurum, Turkey: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi 1993.
14. P. Duchaufour, "Precis de Pedologie," Masson et C1e, Editeurs, Paris. pp. 435-437, 1970.
15. R. Schaefer, "Caracteres et Evolution des Activites Microbiennes dans une Chaîne de Sols Hydromorphes Mesotrophiques de la Plaine d'Alsace," *Revue d'écologie et de biologie du sol*, 4: 567-592, 1967.

SBKJ BAZ SETİNİN BİLGİSAYAR DESTEKLİ KUANTUM HESAPLAMALARINDA İBUPROFEN İÇİN UYGULANMASI

Nil BİNBAY¹



¹ Dr. Öğr. Üyesi, Dicle Üniversitesi Teknik Bilimler MYO, Elektronik ve Otomasyon Bölümü.

Giriş

Steroid olmayan iltihap önleyici ilaçlar onlarca yıldır yaygın olarak kullanılmaktadır (Roberts ve Morrow, 2001: 687-731). Bunlar arasında en yaygın olarak reçete edilenlerden biri de kuşkusuz "ibuprofen"dir (Vane ve Botting, 1998: 78-87). Bunca yaygın kullanımlarına karşın, tıpkı diğer steroid olmayan iltihap önleyiciler gibi, ibuprofenin de ciddi yan etkilerinin olduğu bilinmektedir (Rodriguez ve Jick, 1994: 769-772). Söz konusu yan etkileri azaltılmış olan yeni ilaç arayışları da son yılların süregelen en geniş araştırma alanlarından biridir ve bu araştırmaların ağırlıklı bir bölümü, mevcut steroid olmayan iltihap önleyici ilaçları temel alarak, bunların modifikasyonu ile yan etkileri azaltmayı hedefleyen yaklaşımlardır (Marnett ve Kalgutkar, 1998: 482-490 ; Kalgutkar ve Marnett, 2000: 2860-2870; Duflos vd., 2001: 545-553 ; Khanna vd., 2006: 4820-4833 ; Baran vd., 2012: 398-406).

Öte yandan, bilgisayarların kapasitelerinin gelişimine paralel olarak, bilgisayar destekli kuantum hesaplama araçlarının kimya, biyoloji, fizik ve diğer birçok uygulamadaki etkinliği katlanarak artmıştır. Bu gelişmiş hesaplama araçlarıyla, moleküllerin yapıları daha iyi anlaşılabilmiş ve gerçek deneylerle elde edilmesi imkânsız gibi görünen bazı yeni parametreler, bir moleküldeki elektron yoğunluk fonksiyonunun üç boyutlu temsili gibi, hesaplamalar aracılığıyla gözlemlenebilir hale gelmiştir (Luo vd., 2006: 43). Bu çerçevede, bilgisayar destekli kuantum hesaplama araçları, yukarıda bahsedilen yeni ilaç arayışları için de geniş imkânlar barındırmaktadır.

Ancak bilindiği üzere, bilgisayar destekli hesaplamaların geçerli olabilmeleri, ancak gerçek deneylerle sınanmalarına bağlıdır. Bilgisayar simülasyonlarında, genel olarak, her biri farklı durumlara göre uygun değerlere ayarlanarak optimize edilmeye muhtaç, ve her seferinde farklı seçilebilecek yüzlerce parametre bulunur. Bu parametrelerin, yaklaşılmak istenen gerçek moleküler sisteme uygun seçilmiş olması, çoğu zaman hesaplamaların nihai sonucu açısından kritik derecede önemlidir.

Moleküllerin yapısal özelliklerini araştırmak üzere yürütülecek kuantum hesaplamaları için geliştirilmiş "baz seti" grupları da, bu tür hesaplamalarda uygun seçilmesi gereken en önemli parametre gruplarından biridir.

Bu çerçeveden bakıldığında, ibuprofen baz alınarak yapılacak yeni ilaç adayları bulmayı hedefleyen araştırmalar için yürütülecek kuantum hesaplamalarında kullanılacak bir baz setinin, moleküler sisteme uygunluğunun, söz konusu araştırmalar için son derece önemli olduğu anlaşılmaktadır.

Amaç

Bu çalışmanın amacı, ibuprofen ve ibuprofen baz alınarak türetilebilecek ibuprofene benzer moleküller için yürütülecek, ab-initio (temel prensiplerden yola çıkan ve tümüyle bilgisayara dayalı) moleküler kuantum hesaplamaları için, Efektif Kor Potansiyeli (Effective Core Potential (ECP)) ile birlikte sunulan SBKJ (Stevens, Bash, Krauss, Jasien) valans baz setinin bu çalışmalar için uygun olup olmayacağını, ibuprofen için yürütülen

hesaplamadan elde edilen sonuçlar ile ibuprofen'e ait gerçek sonuçları kıyaslayarak ortaya koymaktır.

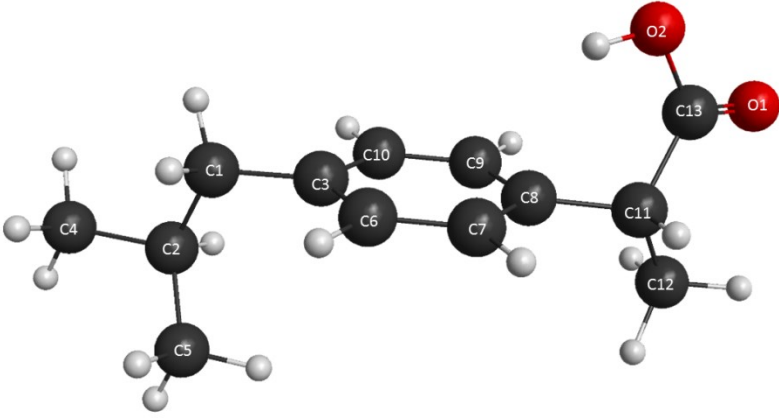
Yöntem

Bu çalışmada, ibuprofen için tümüyle bilgisayara dayalı (ab-initio), kuantum hesaplamalar yapılmıştır. Bu hesaplamalar için genel bir kuantum kimya yazılımı paketi olan GAMESS (the **G**eneral **A**tomic and **M**olecular **E**lectronic **S**tructure **S**ystem) kullanılmıştır (Schmidt vd., 1993: 1347-1363 ; Gordon ve Schmidt, 2005: 1167-1189). Hesaplamaların tamamı DFT (**D**ensity **F**unctional **T**heory) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Hohenberg ve Kohn, 1964: B864-B871). Hesaplamalarda ayrıca CAM-B3LYP (The hybrid **B**ecke, three-parameter, **L**ee-**Y**ang-**P**arr, using **C**oulomb **A**ttenuating **M**ethod) değişim-korelasyon fonksiyoneli kullanılmıştır (Yanai vd., 2004: 51-57). Bunun yanında hesaplamalar, çalışmanın ana konusu olarak, Efektif Kor Potansiyeli (**E**ffective **C**ore **P**otential (ECP)) ile birlikte sunulan SBKJ (Stevens, **B**ash, **K**rauss, **J**asien) valans baz seti kullanılarak yürütülmüştür (Stevens vd., 1992: 612).

Çalışmanın amacına uygun olarak, tamamen teorik olarak bilgisayarda hesaplanan, molekül içerisindeki atomlara ait bağ uzunlukları, ibuprofen molekülüne ait X-Ray spektrumunda gözlenen gerçek bağ uzunlukları (Derollez vd., 2010: 76-80) ile kıyaslanmıştır. Bu kıyaslama sonrasında, yöntemin geçerliliği ortaya konduktan sonra, bu yöntemle hesaplanan elektrostatik potansiyel, toplam elektron yoğunluğu ve öncül moleküler orbitaller HOMO (the **H**ighest **O**ccupied **M**olecular **O**rbital\ En yüksek enerjili dolu moleküler orbital) ve LUMO (the **L**owest **U**noccupied **M**olecular **O**rbital\ en düşük enerjili boş moleküler orbital), ileriki çalışmalara örnek ve referans olmak üzere ayrıca verilmiştir.

Veriler

İbuprofen için yürütülen hesaplamalarla, molekülün kendi haline bırakıldığındaki minimum enerjili yapısal formuna karşılık gelen optimum konformasyonu bulunmuş, yani molekül yapısal olarak optimize edilmiştir. İbuprofen molekülünün optimize edilmiş yapısı şekil-1 de verilmiştir.



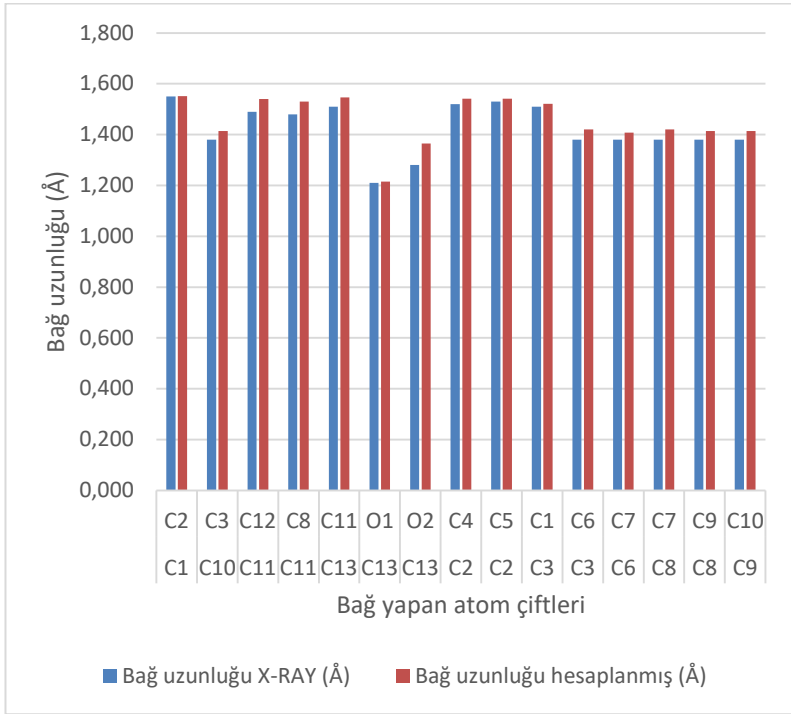
Şekil 1 İbuprofen Molekülünün optimize edilmiş yapısı.

İbuprofen molekülünün optimize edilmiş konformasyonuna ait hesaplanmış bağ uzunlukları ile X-Ray (X-ışını, Röntgen ışını) spektrometresiyle ölçülmüş gerçek bağ uzunlukları tablo-1 de verilmiş ve kıyaslanmıştır. Aradaki farkın yüzdelik mutlak değeri ayrıca tablo-1 in son sütununda verilmiştir.

Atom1	Atom2	Bağ uzunlukları X-RAY (Å)	Bağ uzunlukları Hesaplanmış (Å)	Fark [%]
C1	C2	1,550	1,552	0,129
C2	C4	1,520	1,541	1,382
C2	C5	1,530	1,541	0,719
C3	C1	1,510	1,521	0,728
C3	C6	1,380	1,420	2,899
C6	C7	1,380	1,408	2,029
C8	C7	1,380	1,420	2,899
C8	C9	1,380	1,414	2,464
C9	C10	1,380	1,414	2,464
C10	C3	1,380	1,414	2,464
C11	C12	1,490	1,540	3,356
C11	C8	1,480	1,530	3,378
C13	C11	1,510	1,547	2,450
C13	O1	1,210	1,215	0,413
C13	O2	1,280	1,365	6,641

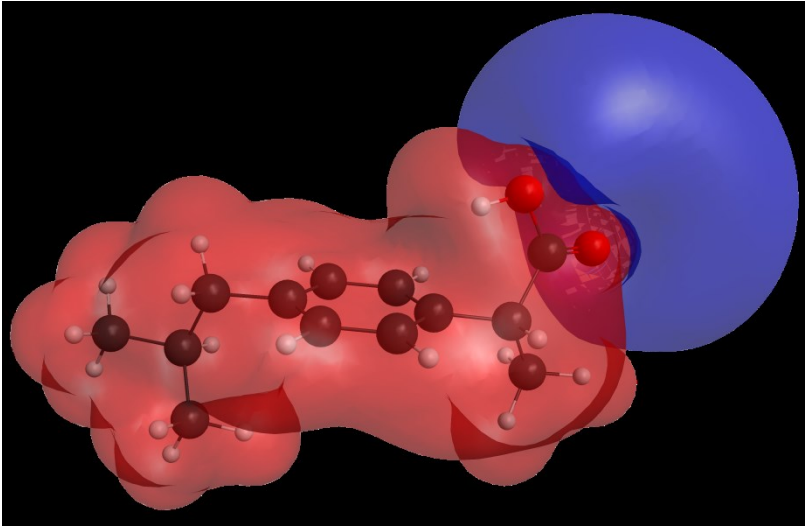
Tablo 1 İbuprofen Molekülünün optimize edilmiş yapısına ait hesaplanmış bağ uzunlukları ve X-Ray spektrometresiyle ölçülmüş gerçek bağ uzunlukları kıyaslaması ve aradaki farkın yüzdelik mutlak değeri.

Bağ uzunluklarının korelasyonuna ilişkin kıyaslama ayrıca grafik-1 de verilmiştir. Grafikten de açıkça görülebileceği gibi, SBKJ (Stevens, Bash, Krauss, Jasien) valans baz seti, ibuprofen için, gerçek durumu oldukça iyi bir yaklaşıklıkla sahiptir.



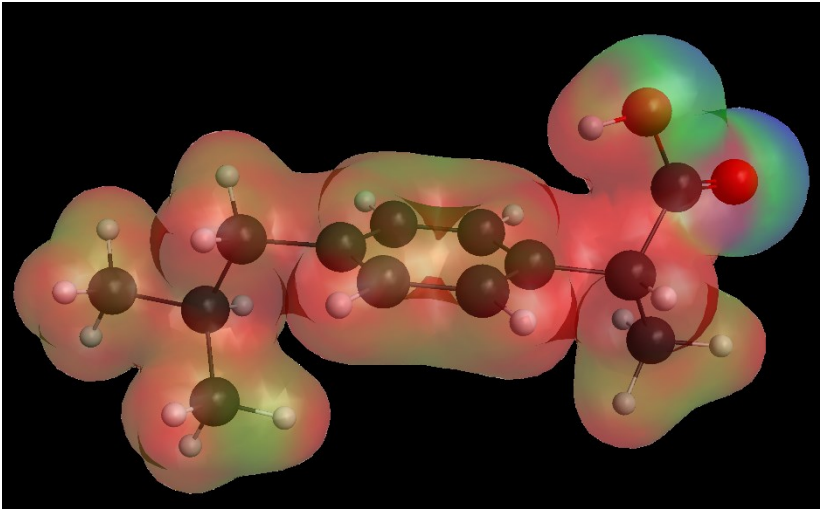
Grafik-1 İbuprofen Molekülünün optimize edilmiş yapısına ait hesaplanmış bağ uzunlukları ve X-Ray spektrometresiyle ölçülmüş gerçek bağ uzunlukları kıyaslaması.

İbuprofene molekülü için yapılan hesaplama neticesinde elde edilen moleküler elektrostatik potansiyel dağılımı şekil-2 de verilmiştir.



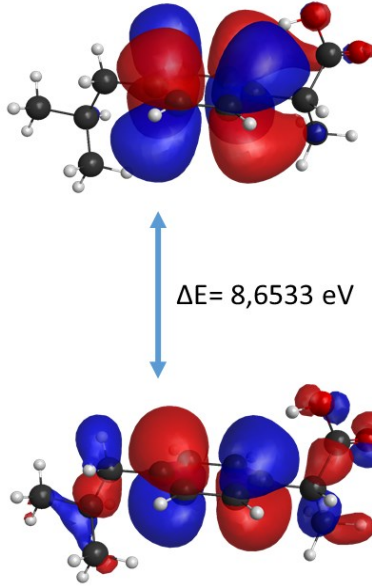
Şekil 2 İbuprofene ait, SBKJ valance baz seti kullanılarak hesaplanmış moleküler elektrostatik potansiyel.

İbuprofene molekülü için yapılan hesaplama neticesinde elde edilen moleküler toplam elektron yoğunluğu şekil-3 de verilmiştir.



Şekil 3 İbuprofene ait, SBKJ valance baz seti kullanılarak hesaplanmış moleküler toplam elektron yoğunluğu.

İbuprofen molekülü için yapılan hesaplama neticesinde elde edilen öncül moleküler orbitaller HOMO (the **H**ighest **O**ccupied **M**olecular **O**rbital\ En yüksek enerjili dolu moleküler orbital) ile LUMO (the **L**owest **U**noccupied **M**olecular **O**rbital\ en düşük enerjili boş moleküler orbital) ve ayrıca bunlar arasında hesaplanan enerji farkı şekil-4 de verilmiştir.



Şekil 4 İbuprofen molekülü için SBKJ valance baz seti kullanılarak yapılan hesaplama neticesinde elde edilen öncül moleküler orbitaller HOMO (the Highest Occupied Molecular Orbital\ En yüksek enerjili dolu moleküler orbital) (altta) ile LUMO (the Lowest Unoccupied Molecular Orbital\ en düşük enerjili boş moleküler orbital) (üstte) ve ayrıca bunlar arasında hesaplanan enerji farkı.

Tartışma ve Yorum

Bu çalışmada, ibuprofen molekülü için ab-initio (dışarıdan deneysel veri kullanmadan, tamamen bilgisayarda, teorik olarak yürütülen) kuantum hesaplamalar başarılı bir şekilde yapılmıştır.

Bilindiği üzere, bilgisayar destekli moleküler teorik kuantum hesaplamaları, duruma uygun birden fazla gerçek analog denklem parametresinin ihmal edilerek, kuantum mekaniği ile tanımlanan bir dalga denkleminin, bilgisayarda makul zamanlarda ve makul donanım kaynaklarıyla (bilgisayar işlemcisi kapasitesi, bellek kapasitesi vb.) işlenebilecek duruma indirgemesi prensibiyle yürütülür. Bu durumda, elde

edilen sonuçların gerçeğe yaklaşıp yaklaşmadığı ve bu anlamda bilimsel literatürde kullanılmaya uygun olup olmadığı, ihmal edilen parametrelere bağlı olarak değişir. Ancak bu çerçevede yapılan her indirgemenin, gerçek durumdan biraz daha uzaklaşmak anlamına geldiği bilinen bir olgudur.

Bu durum, bilgisayar destekli hesaplamaların tamamının temelinde var olan bir iki kefeli terazi durumuna benzetilebilir. Şöyle ki; eğer işlem zamanı ve donanım kaynaklarından kısararak daha kısa sürede daha çok atom için hesaplama yapabilmek üzere çok düşük çözünürlüklü bir yöntem (küçük bir baz seti mesela) kullanırsanız, bu durumda yaptığınız hesaplamaların sonucu gerçeğe istediğiniz kadar yakın olmaz, hatta kabul edilebilir toleransların dışına rahatlıkla çıkabilir ve belki de gerçek durumla ilgisi kalmayabilir. Öte yandan, çok az şey ihmal edilsin, mesela yalnızca valans bandındaki elektronların değil, moleküldeki her elektronun karşılıklı etkileşmelerini de göz önüne alınarak hesap yapılırsanız; bu durumda en güçlü işlemcilerle bile, hesaplama zamanınız, çok atomlu bir molekül için yıllarca sürebilir. Bu hesaplama zamanının getirisi ise, bazı durumlar için, aynı hesabı onda bir sürede yapabileceğiniz daha düşük çözünürlüklü (daha az ihmal içeren) bir yönteme göre sadece binde birler seviyesinde olabilir. Dolayısıyla, çalışılmak istenen her durum için, gereğinden fazla zaman ve işlemci gücü tüketmeyecek kadar düşük çözünürlüklü; öte yandan da hesap sonuçları gerçek duruma gerektiği ölçüde yakın olacak kadar da iyi çözünürlüklü bir yöntem bulunması, terazinin iki kefesini optimum noktada buluşturmaya benzer ve bu tür hesaplamalı çalışmalar için kaçınılmaz bir durumdur.

Bu durumda teorik hesaplamalar için seçilen yöntemin ve içerdiği ihmal edilen parametre gurubunun, hesaplaması yürütülen gerçek durumlara uygunluğu; her bir özel durum için, deneylerde elde edilmiş ve referans alınabilecek bazı gerçek sonuçlara yakınlıklarıyla onanmaya muhtaçtır.

Bu çerçevede, bu çalışmanın amacı doğrultusunda, ibuprofen ve ibuprofen'den türetilecek benzer ilaç adayı moleküller için SBKJ (Stevens, Bash, Krauss, Jasien) valans baz setinin benzer teorik kuantum hesaplamalarında kullanılabilirliğini araştırmak üzere, ibuprofen molekülü için kuantum hesaplamalar yürütülmüş, molekül başarılı bir şekilde optimize edilmiş ve moleküldeki bağ yapan her bir atom arasındaki bağ uzunluğu hesaplanarak, sonuçlar gerçek deney sonuçları ile kıyaslanmıştır.

Yapılan kıyaslamada, elde edilen hesaplama sonuçlarının, deneylerle elde edilmiş gerçek değerlerine, kabul edilebilir seviyede yaklaştıkları gözlenmiştir. Hesaplanan bağ uzunlukları ile deneyle elde edilmiş bağ uzunlukları arasındaki hata payları, O2-C13 bağı hariç, diğer bütün bağlar için % 0,1 ile % 4 bandında kalmıştır. O2-C13 bağı için ise hatanın % 6,641 olduğu görülmüştür. Bu değerler, kullanılan SBKJ (Stevens, Bash, Krauss, Jasien) valans baz setinin, ibuprofen hesaplamaları için oldukça iyi bir yaklaşıklık sergilediğini ortaya koymuştur.

Bu çerçevede ibuprofen ve benzeri moleküller için yürütülebilecek hesaplamalara örnek ve referans teşkil etmesi üzere, moleküle ait elektrostatik potansiyel (şekil-2), toplam elektron dağılımı (şekil-3) ve öncül moleküler orbitaller (şekil-4) hesaplanarak verilmiştir.

Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak, ibuprofen ve ibuprofen'den türetilecek benzer ilaç adayı moleküller için SBKJ (Stevens, Bash, Krauss, Jasien) valans baz setinin, yine SBKJ Efektif Kor Potansiyeli (Effective Core Potential (ECP)) ile birlikte, ibuprofen ve ibuprofen'den türetilebilecek ibuprofen benzeri moleküller için, bilgisayarda yürütülecek teorik kuantum hesaplamalarında kullanılmak üzere yeterli ve uygun olduğu ortaya konmuştur.

İbuprofen ve ibuprofenden türetilebilecek ibuprofen benzeri moleküller için yürütülecek moleküler kuantum hesaplamalarında SBKJ valance baz setinin kullanılması önerilir.

Kaynakça

1. Baran, A.U., Tel, B.C., Sarigol, D., Ozturk, E.I., Kazkayasi, I.K., Okay, G., Ertan, M., Tozkoparan, B. (2012). "Thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-one Substituted With Ibuprofen: Novel Non-Steroidal Anti-Inflammatory Agents With Favorable Gastrointestinal Tolerance." *European. J. Med. Chem.* 57: 398-406.
2. Derollez P., Dudognon, E., Affouard, F., Danede, F., Correia, N. T., Descamps, M. (2010). "Ab initio structure determination of phase II of racemic ibuprofen by X-ray powder diffraction." *Acta Cryst. B*66: 76-80.
3. Duflos, M., Nourrisson, M.R., Brelet, J., Courant, J., LeBaut, G., Grimaud, N., Petit, J.Y. (2001). "N-Pyridinyl-Indole-3-(Alkyl)Carboxamides And Derivatives As Potential Systemic And Topical Inflammation Inhibitors." *Eur. J. Med. Chem.* 36: 545-553.
4. Gordon, M.S.; Schmidt, M.W. (2005). *Theory and Applications of Computational Chemistry, the first forty years* (pp 1167-1189), C.E.Dykstra, G.Frenking, K.S.Kim, G.E.Scuseria (editors), Elsevier, Amsterdam.
5. Hohenberg, P., Kohn, W. (1964). "Inhomogeneous Electron Gas." *Physical Review.* 136: 3B, B864-B871
6. Kalgutkar, A.S., Marnett, A.B., Crews, B.C., Rummel, R.P., Marnett, L.J. (2000). "Ester And Amide Derivatives Of The Nonsteroidal Antiinflammatory Drug, Indomethacin, As Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors." *J. Med. Chem.* 43: 2860-2870.
7. Khanna, S., Madan, M., Vangoori, A., Banerjee, R., Thaimattam, R., Basha, S.K.J.S., Ramesh, M., Casturi, S.R., Pal, M. (2006) "Evaluation Of Glycolamide Esters Of Indomethacin As Potential Cyclooxygenase-2 (Cox-2) Inhibitors." *Bioorg. Med. Chem.* 14: 4820-4833.
8. Luo, J., Xue, Z.Q., Liu, W. M., Wu, J. L., Yang, Z. Q. (2006). "Koopmans' Theorem for Large Molecular Systems within Density Functional Theory" *J. Phys. Chem. A*, 110 (43): 12005-12009.
9. Marnett, L.J., Kalgutkar, A.S. (1998). "Design of Selective Inhibitors of Cyclooxygenase-2 as Nonulcerogenic Anti-Inflammatory Agents." *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2: 482-490.
10. Roberts, L.J.I., Morrow, J. D. (2001). Analgesic-antipyretic and Anti-Inflammatory Agents and Drugs Employed in the Treatment of Gout. In: Hardman J. G., Limbird L. E., Gilman A. G., editors. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw-Hill, New York, USA, p. 687-731.
11. Rodriguez L. A. G., Jick H. (1994). "Risk of Upper Gastrointestinal Bleeding and Perforation Associated With Individual Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs" *Lancet* 343: 769-772.
12. Schmidt, M.W.; Baldrige, K.K.; Boatz J.A.; Elbert, S.T.; Gordon, M.S.; Jensen, J.J.; Koseki, S.; Matsunaga, N.; Nguyen, K.A.; Su, S.; Windus, T.L.; Dupuis, M.; Montgomery, J.A. (1993). "General atomic and molecular electronic structure system." *J.Comput.Chem.* 14: 1347-1363
13. Stevens W. J., Krauss M., Bash H., Jasien P. G. (1992). "Relativistic compact effective potentials and efficient, shared-exponent basis sets for the third-, fourth-, and fifth-row atoms." *Can. J. Chem.*, 70: 612-630
14. Vane J. R., Botting R. M. (1998). "Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action" *Inflammation Res.*, 47 (Suppl. 2), S78-S87.
15. Yanai, T.; Tew, D. P.; Handy, N. C. (2004). "A new hybrid exchange-correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP)." *Chemical Physics Letters*, Vol 393; Issues 1-3; pages 51-57

**KOZAN-KADİRLİ (ADANA) KARAYOLU
ÜZERİNDE YETİŞTİRİLEN TURP
(*Raphanus sativus* L. var. *radicula*) VE
TOPRAKLARININ Pb, Zn ve Cd İÇERİKLERİ**

Hüsniye AKA SAĞLIKER ¹

Cengiz DARICI ²



¹ Prof. Dr., Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Fakiuşağı, Osmaniye.

² Prof. Dr., Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana.

1. GİRİŞ

Günümüzde hızla artan kara taşımacılığı ve motorlu taşıt sayısı yanında hızlı kentleşme atmosfer kirliliğine neden olmaktadır. Son yıllarda motorlu taşıt trafiğindeki yoğunluğa bağlı olarak giderek artış gösteren çevredeki ağır metal kontaminasyonu, özellikle araştırılan ve ilgi duyulan bir konu haline gelmiştir (Çakmak ve ark., 1989). Ağır metaller genellikle çok tehlikeli ve toksik elementler olarak tanınmaktadır. Tabiattaki ağır metal kaynakları yer kabuğunun doğal hareketi, endüstriyel atıklar, bitkilere uygulanan kontrol ilaçları (fosfatlı gübre, herbisid vs.), şehirselleşen atıklar, madencilik faaliyetleri, toprak erozyonu, lağım pisliği, hava kirliliği ve motorlu araçlardır (Fargasova, 1993). Atmosferde ağır metal kirliliğinin en önemli kaynağı motorlu araçlardır (Türkan, 1991). Motorlu taşıtlar başta eksoz gazlarıyla olmak üzere, motor yağının yanması ve lastiklerin asfalt üzerinde sürtünme ve aşınması sırasında ortama önemli düzeyde ağır metal vermektedir. Bazı motorlu taşıtlar tarafından çevreye verilen emisyonlar özellikle lastik aşınması ve dizel yağının Cd (Kadmiyum) içeren yakıt atıkları karayollarına yakın toprakların Cd'la kontaminasyonuna (anayolların 10 m'ye kadar olan mesafeleri) neden olmaktadır. Benzinde vuruntuyu önlemek amacıyla petrole yüksek düzeylerde Pb'un (Kurşun) katılmış olması, ayrıca lastiklerde ve motor yağında belirli düzeylerde Cd ve Zn'un (Çinko) bulunması, trafiğin yoğun olduğu bölgelerde toprak ve bitkide bu elementlerin düzeylerinin gerçekten önemli ölçüde artmasına neden olmaktadır (Özbek ve ark., 1995). Ülkemizde sivil benzine 0.34 g/l askeri benzine ise 0.84 g/l kadar kurşun eklenmektedir (Altan ve ark., 1984). Bitkiler toprak ve suyun kontaminasyonundan dolayı, hava kirlleticilerinden ise direkt olarak ağır metallerin etkisine maruz kalmaktadır. Bitkiler aynı zamanda besin zincirinin bir üyesi olduğundan besinlerin bütünüyle kontamine olması insan ve hayvanlar için risk oluşturabilmektedir (Fargasova, 1994). Hem yüksek bitkiler hem de birçok mikroorganizma için en toksik metaller Hg, Cu, Ni, Pb, Co, Cd ve bazen de Ag, Be ve Sn'dir (Kabata-Pendias ve Pendias, 1984). Toksisitenin varlığı pH gibi bir toprak faktörüne bağlı olabileceği gibi bitki genotipine ve gelişme esnasındaki koşullara da bağlı olabilir. Bazı metallerin toksik düzeyleri Tablo.1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bazı bitki yapraklarında normal ve fitotoksik metal konsantrasyonları (Alloway, 1990)

Yapraktaki konsantrasyonlar ($\mu\text{g/g}$)		
Element	Normal Değerler	Toksik Değerler
Ag	0.01-0.8	1-4
As(III)	0.02-7	5-20
Cd	0.1-2.4	5-30
Cu	5-20	20-100
Cr	0.03-14	5-30
Hg	0.005-0.17	1-3
Ni	0.02-5	10-100
Pb	5-10	30-300
Sb	0.0001-2	1-2
V	0.001-1.5	5-10
Zn	1-400	100-400

Kloke ve Leh (1969) eksoz gazlarından çıkan Pb'nun bitkilerin yeraltı organları olan köklerde, pancarda, çiçek soğanında ve yumru köklerde biriktirdiğini belirtmişlerdir. Garber (1974) motorlu taşıtlardan kaynaklanan ağır metal kontaminasyonun çevredeki sebze ve meyve ağaçları gibi birçok kültür bitkisini de önemli ölçüde etkilediğini saptamış ve bu konuda yapılan bir araştırma sonucunda otoyola 5m yakınlıkta bulunan kayısı ve armut ağaçlarında Pb değerleri kayısı kabuğunda 5-7 ppm iken armut kabuğunda 3-9 ppm bulunmuştur. Bu değerler otoyoluna 15-80 m uzaklıktaki kayısı için 6.9 ppm ve 5.8 ppm'e; armut için 2.0 ppm ve 1.1 ppm'e azalma göstermiştir. Kloke (1974) yaptığı bir diğer çalışmada yol kenarındaki bitkilerde Pb düzeylerinin 20-30 ppm arasında olduğunu, bazı durumlarda 50-100 ppm'e çıktığını ifade etmiştir. Türkan (1982) bitkilerdeki kurşun birikiminin bitkinin morfolojik yapısına ve organlarına göre değiştiğini göstermiştir. Türkan (1986) İzmir il merkezi ve çevre yolları kenarında yetişen bazı bitkilerde gene trafik kökenli Pb, Zn ve Cd kirliliği ile ilgili bir araştırma yapmış ve bu element konsantrasyonlarının trafik yoğunluğu ile artarken yoldan uzaklaştıkça azaldığını ortaya koymuştur. Ayrıca en yüksek metal

konsantrasyonunun tüylü yapraklı bitkilerde bulunduğunu saptamıştır. Üner (1989)'e göre endüstri atıkları nedeniyle metal içeren besinlerle çok yüksek dozda metal insan vücuduna alınmaktadır. Örneğin İngiltere'de besinlerle kişi başına günlük Pb alımı 7.5 mg, Cd alımı 15-30 mg'dır. Kutbay ve Kılınç (1992) İnsan sağlığını ciddi şekilde etkileyen Zn ve Pb gibi metallerin otoyolların yakınında yetişen kültür bitkilerinde birikebileceklerini öne sürmüşlerdir. Yaman (1994) Adana-Ceyhan karayolu boyunca yaptığı bir çalışmada topraklardaki Pb birikimini incelemiş ve yol kenarındaki 40 m'lik şeridin bitki beslenmesi açısından Pb'ca kirlenmiş sayılacağını ileri sürmüş ve tarımsal faaliyetlerin bu sınırdan sonra yapılması gerektiğini vurgulamıştır. Şanda ve ark. (1996) ağır metallerin bitki yapraklarındaki birikiminin genellikle diğer organlara göre daha fazla olduğunu saptamışlardır. Yücel (1996) Kütahya kent içi ve dışı yol kenarlarında yetiştirilen Asya Servi Kavağında (*Populus usbekistanica* Kom. subsp. *usbekistanica* cv. 'Afghanica') trafik kökenli Pb, Cd ve Zn kirliliğini inceleyerek trafik yoğunluğu ile bu metallerin birikiminin doğru orantılı olduğunu belirlemiştir. Ağır metallerin yüksek dozları bitkilerde farklı şekillerde ortaya çıkan çeşitli hasarlara yol açmaktadır (Tablo 2).

Tablo 2. Ağır metallerin yüksek konsantrasyonlarının bitkilerdeki biyokimyasal etkileri (Kabata-Pendias ve Pendias, 1984)

Ağır Metaller	Bitkilerdeki biyokimyasal olaylara etkisi
Ag, Au, Cd, Cu, Hg, Pb, F, I, U	Hücre membranlarının geçirgenliğini değiştirir.
Hg	Protein sentezini engeller.
Ag, Hg, Pb, Cd, Tl, As(III)	Sülfhidril grupları bağlar.
Tl, Pb ve Cd	Enzimleri inhibe eder.
Cd, Pb	Solunum
Cd, Pb, Hg, Tl, Zn	Fotosentez
Cd, Pb, Hg, Tl, As	Transpirasyon
Cd, Co, Cr, F, Hg, Mn, Ni, Se, Zn	Klorosis
Al, Cu, Fe, Pb, Rb	Koyu yeşil yaprak oluşumu

Araştırma için seçilen istasyon Adana'nın kuzey doğusunda yer alan Kadirli ilçesidir. İstasyon doğuda Andırın ve Bahçe, batıda Kozan, kuzeyde Saimbeyli ve Feke, güneyde ise Osmaniye ile çevrili olup; 2/3 si dağlık, 1/3 i ovalık ve her türlü ekinin yetişmesine elverişli, önemli bir tarım merkezidir (Arioğlu, 1975). Tarımsal faaliyetlerin özellikle karayolu üzerindeki bölgelerde yoğun olması dikkati çeken en önemli ayrıntıdır. Bu konuda yapılan çalışmalara katkı sağlamak için Kozan-Kadirli karayolu boyunca yola mesafeye bağlı olarak örneklenmiş Turp (*Raphanus sativus* L. var. *radicula*) ve yetiştirildiği toprakların Pb, Zn ve Cd içerikleri (ppm) belirlenmiştir.

2. MATERYAL VE METOD

Araştırmada Kozan-Kadirli yol hattı boyunca yaygın bir şekilde yetiştirilen, yurt içi ve yurt dışı pazarlarına giren ve tüketimi gittikçe artan, gelişimi hızlı ve depolayıcı bir bitki olması nedeniyle *Raphanus sativus* L. var. *radicula* (turp) seçilmiştir. Ayrıca bu bitkinin yetiştği toprakta da örnekleme (0-10 cm) yapılmıştır. Tüm örnekler Mart 1997 ve Ocak 1998 aylarında alınmıştır. Bitki ve toprak örnekleri analize hazır hale getirilene kadar aşağıdaki işlemlerden geçirilmiştir:

- 1- Savrun köyü karayoluna uzak bir mesafede (yaklaşık 100 m) olduğu için kontrol amaçlı seçilmiş olup diğer istasyonlar trafik akışına maruz kalan yol kenarındaki (0-10 m) turp tarlalarıdır (Pekmezci, Aydınlar ve Halıdağlar Köyü).
- 2- Turp örnekleri (yaprak ve depo kök), önceden belirlenmiş istasyonlardan düzgün büyüme gösteren ve sağlıklı görünümlü olanlar seçilerek; toprak örnekleri ise bitki numunelerinin örneklendiği noktalardan alınarak laboratuara getirilmiştir.
- 3- Laboratuara getirilen turp örneklerinin kök ve yaprak kısımları ayrıldıktan sonra saf su ile yıkanmış, kurutulmuş (105°C) ve sonrasında öğütülmüştür. Toprak örnekleri ise laboratuvar ortamında kurutulmuş ve 2 mm'lik elek ile elenmiştir.
- 4- Bitki örneklerinin kimyasal analizleri (Pb, Zn ve Cd) için Kacar (1972)'ın Nitrik-Perklorik Asit karışımı yaş yakma yöntemi kullanılmıştır. Toprak örneklerinin kimyasal analizi (Pb, Zn ve Cd) için Grillot ve ark. (1964)'nın Nitrik-Hidroklorik-Perklorik Asit karışımı yaş yakma yöntemi kullanılmıştır. Numunelerin Pb, Zn ve Cd içerikleri (ppm) Hava-Asetilen alevi kullanılan Perkin-Elmer Model 3100 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülmüştür (Pb: 217.0 nm, Zn: 213.9 nm, Cd: 228.8 nm). Topraklarda ayrıca Bünye (Bouyoucus, 1951) ve pH (Jackson, 1958) tayini yapılmıştır. 4 farklı istasyondan örnekleme numunelerinin ortalamaları arasında anlamlı fark ($P < 0.05$) olup olmadığı Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir (Kleinbaum ve ark., 1998)

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Kozan-Kadirli yol kenarında yetiştirilen turp topraklarının pH değerleri ile tekstür tipleri Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 3. Turp topraklarının pH değerleri ile tekstür sonuçları (Jackson 1958; Bouyoucus, 1951)

İstasyonlar	pH	% Kil	% Silt	% Kum	Tekstür
Savrun Köyü	8.66	14.8	62.7	22.5	Siltli Tın
Pekmezci Köyü	8.48	15.9	56.3	27.8	Siltli Tın
Aydınlar Köyü	8.66	16.6	50.1	33.4	Siltli Tın
Halıdağlar Köyü	8.39	15.8	44.0	40.3	Tın

Toprakların pH değeri hafif alkali olup 8.39-8.66 arasında değişmektedir. Toprakların pH değerleri Kacar ve ark. (1974)'nın Çukurova Bölgesi topraklarında yaptıkları çalışma sonuçları ile uyumludur. Savrun, Pekmezci ve Aydınlar topraklarının bünye tipi siltli tın iken Halıdağlar toprakları tın bünyelidir (Tablo 3).

Kozan-Kadirli yol kenarındaki tarlalardan alınan toprak örneklerindeki Pb miktarı istasyonlara göre 26.6-33.3 ppm arasında, Zn içerikleri 37.8-75.7 ppm arasında, Cd içerikleri ise 2.47-2.72 arasında değişmektedir (Tablo 4). Kapur ve ark. (1993) ise Adana-Ceyhan arası alüvyon ana materyalli, kireçli topraklarda ortalama Pb miktarını 25 ppm olarak belirlemişlerdir. Federal Almanya'da toprakta tolere edilebilir maksimum Pb içeriği 100 ppm kabul edilmiştir (Scheffer, 1989). Yaman (1994) ise Adana-Ceyhan arası yol kenarındaki topraklarda değişen Pb içeriği yoldan uzaklığa göre 44-424 ppm arasında değiştiğini belirlemiştir. Buna göre toprak örneklerimizde önemli bir Pb birikiminin söz konusu olmadığı söylenebilir. Bununla birlikte gelecekteki Pb birikimini önlemek için şimdiden gerekli düzenlemeler ortaya konmalıdır.

Tablo 4. Kozan-Kadirli arasındaki turp tarla topraklarının Pb, Zn ve Cd konsantrasyonları (ppm)

İstasyonlar	Pb	Zn	Cd
Savrun Köyü	28.7	37.8	-
Pekmezci Köyü	33.3	75.3	2.53
Aydınlar Köyü	26.6	75.7	2.47
Halıdağlar Köyü	29.3	65.0	2.72

Savrun köyü hariç Kozan-Kadirli karayolunun hemen kenarındaki üç tarladan alınan turp kök örneklerindeki Pb miktarı 0.66-1.16 ppm arasında

değişmekte iken turp yapraklarının Pb içeriği ise 5.66-6.33 ppm arasındadır. Alloway'e (1990) göre bu değerler normal değerler (5-10 ppm) içindedir. Altan ve ark. (1984) ise Adana-Ceyhan karayolu kenarında yetişen lahanaya yapraklarında 65 ppm, domates yapraklarında ise 40 ppm Pb bulmuşlardır. Bu durum Kadiri'nden alınan turp örneklerinde Pb birikiminin yok denecek düzeyde düşük olduğunu göstermektedir. Pb içeriklerinin turp yapraklarında köklere oranla 8 (4/0.5) ila 19 (9.5/0.5) kere daha fazla olduğu gözlenmektedir. Aslında bitki yüzeyi artıkça bu elementlerin daha çok tutulduğu bilinmektedir (Türkan, 1986). Elde edilen bulgular ışığında Savrun köyü hariç diğer üç köyün turp yaprak ve kök örneklerinin Pb ve Cd (ppm) içerikleri arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($P < 0.05$, Tablo 5). Savrun köyünün turp yaprak ve kökü arasında anlamlı fark saptanmış iken diğer üç köyün turplarının Zn içerikleri yaprak ve kök arasında istatistiksel olarak değişmemiştir ($P > 0.05$, Tablo 5). Yine Pb ve Cd içeriklerinin (ppm) her bir organın köylere göre kıyaslanması durumunda anlamlı fark oluşturmadığı dikkati çekmektedir ($P > 0.05$). Oysa Halıdağlar köyünden örneklenmiş turp kökünün Zn içeriğinin (ppm) Pekmezci ve Aydınlar köyü köklerinden anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$, Tablo 5). Bu değerler turp yapraklarının köke oranla daha fazla ağır metali bünyesinde biriktirdiğini göstermektedir. Bu durum yaprakların eksoz gazlarına daha çok maruz kalması ile açıklanabilir (Türkan, 1986; Yücel, 1996). Her üç istasyonumuzda da Zn miktarı turp kökü ve yapraklarında 19.7-37.9 ppm, topraklarda ise 65.0-75.7 ppm düzeylerinde bulunmuş olup toksik etki değerlerinden (100-400 ppm) oldukça aşağıdadır. Toprak Zn oranları da ülkemiz topraklarının Zn eksikliğini doğrulamaktadır (Çakmak, 1989).

Tablo 5. Kozan-Kadirli arasındaki turp tarlalarının yola 8-10 m içinden alınan yaprak ve kök örneklerindeki Pb, Zn ve Cd konsantrasyonlarının (ppm) Tukey HSD ile çoklu karşılaştırması ($n = 3$, ortalama $\pm$ standart hata)

Organ	Köy	Pb	Zn	Cd
Yaprak	Savrun	-	34.9 $\pm$ 2.204ax	-
Kök		-	19.7 $\pm$ 1.529by	-
Yaprak	Pekmezci	5.83 $\pm$ 0.33ax	28.3 $\pm$ 1.19axyz	1.58 $\pm$ 0.23ax
Kök		1.16 $\pm$ 0.16bx	25.4 $\pm$ 1.09axz	0.55 $\pm$ 0.02bx
Yaprak	Aydınlı	5.66 $\pm$ 0.16ax	28.5 $\pm$ 3.15axyz	1.44 $\pm$ 0.17ax
Kök		0.74 $\pm$ 0.14bx	19.9 $\pm$ 0.86az	0.62 $\pm$ 0.06bx
Yaprak	Halıdağlar	6.33 $\pm$ 1.64ax	31.9 $\pm$ 4.35axyz	1.23 $\pm$ 0.16ax
Kök		0.66 $\pm$ 0.16bx	37.9 $\pm$ 0.09ay	0.52 $\pm$ 0.04bx

a ve b harfleri herbir köyde ayrı ayrı organlar arasındaki; x, y ve z ise aynı organların köyler arasında anlamlı farkın olup olmadığını ifade eder. Zıt harfler $P < 0.05$ düzeyinde anlamlıdır.)

Örneklerimizdeki Pb oranları Alloway (1990) tarafından verilen listeye göre normal değerler içinde görülmektedir. Toksik değerler bitki yaprakları için 30-300 ppm arasında kabul edilmektedir. Örneklerimizin Pb oranları ise 30 ppm'in çok altında (1/3 ila 1/7.5 oranında) yer almaktadır. Turp yapraklarındaki Cd miktarları Alloway ve Aynes (1993)'in normal sınırlarının içinde (0.1-2.4 ppm) kaldığı gözlenmektedir. Bu değerler Cd için verilen toksik değerlerin ise (5-30 ppm) oldukça altındadır (Alloway ve Aynes, 1993). Fakat turpun mevsimlik bir bitki olduğu düşüncesiyle bu birikimin ileride tehlikeli boyutlara varmayacağı kanısına kapılmamak gerekir. Zira arazi gözlemlerimize göre bazı tarlalarda turplar toplanmayarak çürümeye bırakılmakta ve daha sonra sürülerek toprağa karıştırılmaktadır. Bu durumda gerek turp kökü, gerekse yaprakta birikmiş ağır metallerin (burada Pb, Zn, Cd) toprağa daha hızlı taşınması ve yoğunlaştırılması söz konusu olabilecektir. Sonuç olarak turp kök ve yapraklarındaki Pb, Zn ve Cd miktarlarının toksik etki düzeyine ulaşmadığı, bununla birlikte yol kenarındaki bitkilerde, yoldan uzak Savrun köyü örneklerine göre, daha çok birikim olduğu söylenebilir. Araştırma sonuçlarına göre bu çalışmanın daha uzun yıllar sürdürülerek birikimin gelişimi ve varacağı boyutlar irdelenmeli, gerekecek önlemler belirlenmelidir. Bu hem çevre hem de tüketiciler açısından yerine getirilmesi zorunlu bir görev olacaktır.

KAYNAKLAR

1. ALLOWAY, B.J., and AYRES, D.C., 1993. Chemical Principles of Environmental Pollution. Blackie Academic & Professional. London, 291p.
2. ALTAN, T, ÖNSOY, C., DERİCİ, R., 1984. Mersin-Osmaniye karayolu çevresinde trafik kaynaklı kurşun kirlenmesinin boyutları. Adana. Tübitak Yay. No 623, 61-69.
3. ARIÖÇLÜ, H.H., 1975. Kadili'de Pamuk Tarımı ve Sorunları. Ç.Ü. Zir.Fak.Tarla Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Bölümü, ADANA (Yayınlanmamış).
4. BOUYOUCUS, G. S., 1951. A Recalibration of the Hydrometer for Mohing Mechanical Analysis of Soil. Agron. Jour., vol. 43, p.434-438.
5. ÇAKMAK, İ., DÜZENLİ, A., ALDAĞ, D.S., TAŞKIN, E., ÇELİK, L., KARABULUT, A., 1989. Şehre ve Şehirlerarası Karayollarına Yakın Alanlarda Yetiştirilen Bitkilerde Ağır Metal Kontaminasyonu. Çevre'89. Ç.Ü., Adana, 1074:395-401.
6. FARGASOVA, A., 1994. Effect of Pb, Cd, Hg, As and Cr on Germination and Root Growth of Sinapis alba Seeds. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 52:452-456.
7. GARBER, K., 1974. Schwermctalle als Lutverun reinigung Blei Zink, Cadmium Beeinflusung der Vegetaion. Staub-Reinhalt Luft 34:1-7.
8. GRILLOT, H., BEGUINOT, J., BOUCETTA, M., ROUQUETTA, C., SIMA, A., 1964. Method d'Analyse Quantitative Applique'es aux roches et aux prelevaments de la prospection Geochimique, Ed. Technip. Paris.
9. JACKSON, M., 1958. Soil Chemical Analysis. P. 1-498. Prentice- Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, USA.
10. KABATA-PENDIAS, A. and PENDIAS, H., 1984. Trace Elements in Soil and Plants, CRC Press, Boca Raton, Fl.
11. KACAR, B., 1972. Bitki Analizleri. Ankara Üniversitesi Zir. Fak. Yayınları: 453. 645 sf.
12. KACAR, B., ÇAĞATAY, A., ARAT, A., GÜNDAY, G., 1974. Çukurova yöresi topraklarında değişik azotlu gübrelerin karşılaştırılması. Azot Sanayi Türk Anonim Şirketi Yayınları No.2, Ankara, sf: 1-90.
13. KLEINBAUM, D.G., KUPPER, L.L., MULLER, K.E., and NIZAM, A. 1998. Applied Regression Analysis and Other Multivariable Methods. Duxbury Press, An Imprint of Brooks/Cole Publishing Company, California, USA, 447-448.
14. KLOKE, A., und LEH, H.O., 1969. Verunreinigungen von Kulturpflanzen mit Blei aus kraft Fahrzeugabgasen. Proc. 1st Europ. Congr. Infl. Air Pollution on Plants and Animals, Wageningen, Niederlande.
15. KLOKE, A., 1974. Blei. Zink, Cadmium An reicherung in Böden und Pflanzen- Staub-Reinhalt. Wft 34, 18-21.
16. KUTBAY, H.G. and KILINÇ, M., 1992. The Lead and Zinc Accumulation in Some Plants Growing Along The Motor Roads of SAMSUN. Journal of Sciences of Ondokuz Mayıs Univesity Faculty of Arts and Sciences. Vol:4 Num.:1.
17. ÖZBEK, H., KAYA, Z., GÖK, M., KAPTAN, H., 1995. Toprak Bilimi, Ç.Ü. Ziraat Fak. Genel Yayın No.73, ADANA, 816:529-546.
18. ŞANDA, M.A., EYCE, B., KÜÇÜKÖDÜK, M., 1996. Konya Şehir Merkezi ve Konya-Afyon Karayolundaki Bazı Bitkilerde Pb Birikimi. Selçuk Üniversitesi, Fen-Ed. Fak., Biyoloji Bölümü (Yayınlanmamış).
19. TÜRKAN, İ., 1982. İzmir İli Merkezi ve Çevre Karayollarında Yetişen Bitkilerde Kurşun Kirlenmesinin İncelenmesi, Ege Üniv. Fen Bil. Enst., Y. Lisans Tezi, 41 s., Bornova-İzmir.
20. TÜRKAN, İ., 1986. İzmir İl Merkezi ve Çevre Yolları Kenarında Yetişen Bitkilerde Pb, Zn ve Cd Kirlenmesinin Araştırılması, Doğa tr. Bio. D. 10:1.
21. TÜRKAN, İ., HENDEN, E., 1991. Monitoring of Heavy Metals Using Bark Samples of Pine (Pinus ssp.) In: Urban Ecology Ed. M. Öztürk et al), Ege Üniv. Press, 67-74.

22. ÜNER, N., 1989. Çevre Biyolojisi. Ç.Ü. Fen-Ed. Fak. Seri No:41. s:20-68.
23. YAMAN, S., 1995. Karayolu Kenar Topraklarında Kurşun Kirlenmesi (Ceyhan-Adana). Tr. J. of Engineering and Environmental Sciences. 19:303-306.
24. YÜCEL, E., 1996. Asya Servi Kavağı (*Populus usbekistanica* Kom. subsp. *usbekistanica* cv. "Afghanica") Kullanılarak Kütahya İlinde Trafik Kökenli Pb, Cd ve Zn Kirliliğinin Araştırılması. Tr. J. of Botany. 22:113-116.

GRUPOİDLER ÜZERİNDEKİ ÇAPRAZLANMIŞ MODÜLLERİN YÜKSELMELERİ

Tunar ŒAHAN ¹



¹ Dr. Öğr. Üyesi, Aksaray Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü.

Giriş

Groupoidlerin rt teorisi, groupoidlerin uygulamalarında önemli bir rol oynar (Higgins, 1971; Brown, 2006). Bu teoride, bir G grupoidi için, aynı zamanda işlemler veya G -kümeler olarak da adlandırılan, G nin kümeler üzerine grupoid etkimelerinin kategorisi **ActGpd**(G) ile G nin grupoid örtülerinin kategorisi **CovGpd**/ G nin doğal olarak denk olduğu iyi bilinmektedir. Bu denklik topolojik groupoidler için Brown, Danesh-Naruie ve Hardy (1976) tarafından gösterilmiştir.

Grupların kategorisindeki bir i kategori aynı zamanda bir i groupoiddir ve bu yapıya bir grup-grupoid denir. Grup-grupoidler literatürde 2-grup (Baez ve Lauda, 2004) veya G -grupoid (Brown ve Spencer, 1976) olarak da adlandırılır. Brown ve Mucuk (1994), bir G grup-groupoidi için, G nin group-groupoid örtülerinin kategorisi **CovGpGpd**/ G ile G nin gruplar üzerine group-groupoid etkimelerinin kategorisi **ActGpGpd**(G) nin doğal olarak denk olduklarını göstermiştir. Daha sonraları bu sonucun, Orzech (1972a, 1972b) tarafından tanımlanan, grupları, birimsiz halkaları, R -modüllerini, Lie cebirlerini, Jordan cebirlerini gibi birçok cebirsel yapıyı içinde barındıran çok işlemliler grupların kategorisinde de sağlandığı gösterilmiştir (Akız vd., 2013). Son dönemde İçen vd. (2005), İçen vd. (2011), Alemdar ve Mucuk (2012), Akız vd. (2013), Alemdar ve Mucuk (2013), Mucuk ve ahan (2013; 2014), Mucuk ve Demir (2015) ve Gürsoy ve İçen (2018) rt groupoidleri ve çaprazlanmış modüllerin örtüleri ile ilgili önemli çalışmalar yapmışlardır.

Cebirsel topolojinin amaçlarından biri, bazı topolojik problemlere cebirsel yöntemlerle zm aramaktır. Özellikle topolojik uzaylar için temel grup kavramı bu amaç için çok kullanılışlıdır. X bir topolojik uzay ve $x_0 \in X$ olmak üzere x_0 noktasındaki tüm kapalı eğrilerin homotopi sınıflarının kümesi $\pi_1(X, x_0)$ bir grup olup bu grup temel grup olarak adlandırılır. Temel grupları hesap etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Örtü uzayları teorisi ve Van-Kampen Teoremi bunlardan bazılarıdır. Abelyan olmayan gruplar Geometri, Analiz ve Fizikte geniş uygulamalara sahiptir. Temel grup kavramının yüksek mertebelere genelleştirilerek abelyan olmayan homotopi grupları elde edilmesi için yüksek boyutlu $\pi_n(X, x_0)$ homotopi grubu tanımlanmış, fakat $n \geq 2$ için bu grupların abelyan olduğu gözlenmiştir. Bunun zerine $A \subseteq X$ ve $x_0 \in A$ olmak üzere $n \geq 1$ için n . mertebeden $\pi_n(X, A, x_0)$ relatif homotopi grubu tanımlanmış ve $n \geq 3$ için bu homotopi grupları abelyan olmasına rağmen $n = 2$ için $\pi_2(X, A, x_0)$ rölatif homotopi gruplarından bazılarının abelyan olmadığı doğrulanmıştır (Whitehead, 1946). Bu uğraşı esnasında Whitehead $\rho : \pi_2(X, A, x_0) \rightarrow \pi_1(A, x_0)$ sınır fonksiyonunun bazı özel koşulları sağladığını gözlemlemiş ve bunu çaprazlanmış modül olarak adlandırmıştır. Bu alışmalar Van Kampen Teoreminin yüksek boyutlu uzaylarda ispatına olanak sağlamıştır. O zamandan itibaren çaprazlanmış modül kavramı diğer alanlarda da önemli bir yer tutmuştur. Bu konuda yapılan önemli çalışmalardan bazıları Brown (1982;1984), Brown ve Higgins (1978) ve Brown ve Huebschmann (1982) tarafından yapılmıştır.

Brown ve Spencer (1976) gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüllerin ve group-groupoidlerin kategoriksel olarak denk olduklarını kanıtlanmışlardır. Bu denklik kullanılarak, yakın zamanda, grup-groupoidlerin kategorisindeki normal ve bölüm objeleri elde edilmiştir (Mucuk vd., 2015). Ayrıca bu denklige benzer bir sonucun, çok işlemli grupların bir kategorisi için genelleştirilebileceği Porter (1987) tarafından kanıtlanmıştır.

Gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüllerin kategorisi ile grup-groupoidlerin kategorisinin denkliğinden faydalanarak Mucuk ve Şahan (2019) grup-groupoidlerin gruplar üzerine etkimesi kavramını gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüllerin kategorisinde yorumlayarak gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüllerin yükselmesi kavramını elde etmişlerdir. Ayrıca belirli şartları sağlayan yükselmelerin varlığı da olmak üzere çeşitli özelliklerini incelemişlerdir.

Bu çalışmada, Mucuk ve Şahan (2019) tarafından tanımlanan gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüller için yükselme kavramı benzer düşünce tarzı kullanılarak grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllere genişletilmiş ve bu tip yükselmelerin çeşitli özellikleri incelenmiştir. Son olarak belirli bir çaprazlanmış modülün yükselmelerinin kategorisi oluşturulup bu kategoriye doğal olarak denk olan bir kategori elde edilmiştir.

1. Ön Bilgiler

Her morfizmi bir izomorfizm olan kategoriye bir grupoid denir. Bir G grupoidinin morfizmlerinin sınıfını G , objelerinin sınıfını G_0 , sırasıyla başlangıç ve bitiş noktası dönüşümlerini s ve t , birim morfizmi dönüşümünü ε , ve son olarak parçalı bileşke işlemini ise m ile göstereceğiz. Özel olarak, her $x, y \in G_0$ için $s^{-1}(x) \cap t^{-1}(y)$ kümesi $G(x, y)$ ile ve x objesindeki birim morfizim 1_x ile gösterilecektir. Bir $a \in G(x, y)$ ve bir $b \in G(y, z)$ için $G_s \times_t G = \{(b, a) : s(b) = t(a)\}$ kümesi üzerinde tanımlı $m(b, a)$ kısmi bileşkesi $b \circ a$, ve a nın bu bileşke işlemine göre tersi $a^{-1} \in G(y, x)$ ile gösterilir.

Bir G grupoidinde bir $x \in G_0$ objesi için başlangıcı x olan morfizmlerin kümesine, $s^{-1}(x)$, G nin x objesindeki *star'ı* denir ve $St_G(x)$ ile gösterilir. $G(x, x)$ kümesi bir grup yapısına sahiptir. Bu gruba x objesindeki *obje grubu* denir ve $G(x)$ ile gösterilir. Bu sebeple her grup tek objeli bir grupoid olarak düşünülebilir. Böylece grupoid kavramı grup kavramından daha genel bir kavramdır.

G bir grupoid olmak üzere, $x \neq y$ olacak şekildeki $x, y \in G_0$ objeleri için eğer $G(x, y) \neq \emptyset$ (sırasıyla; $G(x, y)$ en fazla bir elemanlı, $G(x, y)$ tam olarak bir elemanlı, $G(x, y) = \emptyset$) ise G grupoidine irtibatlı (sırasıyla; *basit irtibatlı*, *1-irtibatlı*, *tamamen irtibatsız*) denir. Grupoidler arasındaki dönüşümler fanktorlardır ve bir $f: G \rightarrow H$ grupoid morfizminin çekirdeği

$$\ker f = \{g \in G : \exists y \in H_0, f(g) = 1_y\}$$

ile tanımlanır.

$p: \tilde{G} \rightarrow G$ bir grupoid morfizmi olmak üzere her bir $\tilde{x} \in \tilde{G}_0$ objesi için p nin $St_{\tilde{G}}(\tilde{x}) \rightarrow St_G(p(x))$ kısıtlaması birebir ve örten ise p dönüşümüne bir *örtü dönüşümü*, $\tilde{G}$ grupoidine ise G nin bir *örtü grupoidi* adı verilir. $p: \tilde{G} \rightarrow G$ bir grupoid örtü dönüşümü olmak üzere, eğer $\tilde{G}$ ve G irtibatlı ise bu $p: \tilde{G} \rightarrow G$ örtü dönüşümüne *irtibatlı örtü dönüşümü* denir. İrtibatlı bir $p: \tilde{G} \rightarrow G$ örtü dönüşümü G nin her örtüsünü örtüyorsa, yani G nin her $q: H \rightarrow G$ örtüsü için $q\tilde{p} = p$ olacak şekilde bir tek $\tilde{p}: \tilde{G} \rightarrow H$ grupoid morfizmi varsa, bu $p: \tilde{G} \rightarrow G$ örtü dönüşümüne *evrensel örtü dönüşümü* $\tilde{G}$ grupoidine G nin *evrensel örtüsü* denir. $p: \tilde{G} \rightarrow G$ örtü dönüşümünün evrensel olması için gerek ve yeter şart $\tilde{G}$ nin basit irtibatlı olmasıdır.

Şimdi, gruplar üzerindeki çaprazlanmış modül kavramını ve özelliklerini Porter (1987) tarafından verildiği şekilde hatırlayalım.

Tanım 1.1 A ve B iki grup olmak üzere ve B nin soldan A üzerine bir etkimesi bulunsun. Eğer $(1_A, 1_A \times \alpha, \alpha)$ ve $(\alpha, \alpha \times 1_B, 1_B)$ ayrık genişleme morfizmleri ise $\alpha: A \rightarrow B$ grup homomorfizmi bir çaprazlanmış modül olarak adlandırılır ve (A, B, α) ile gösterilir (Porter, 1987).

Grup işlemleri ve etkiye cinsinden çaprazlanmış modüllerin tanımını vermek oldukça kullanışlıdır.

Önerme 1.2 A ve B iki grup olmak üzere ve B nin soldan A üzerine bir etkimesi bulunsun. Eğer bir $\alpha: A \rightarrow B$ grup homomorfizmi her $a, a_1 \in A$ ve $b \in B$ için

$$(CM1) \quad \alpha(b \cdot a) = b + \alpha(a) - b,$$

$$(CM2) \quad \alpha(a) \cdot a_1 = a + a_1 - a$$

şartlarını sağlıyorsa (A, B, α) üçlüsüne bir çaprazlanmış modül denir (Porter, 1987).

Örnek 1.3 Aşağıdaki homomorfizmlerin birer çaprazlanmış modül olduğunu göstermek oldukça kolaydır.

(i) X bir topolojik uzay, $A \subset X$ ve $x \in A$ olsun. Bu durumda $\pi_2(X, A, x)$ ikinci relatif homotopi grubundan $\pi_1(X, x)$ temel gruba olan ρ sınır fonksiyonu bir çaprazlanmış modüldür.

(ii) G bir grup ve N, G nin bir normal alt grubu olsun. G nin N üzerine konjuge etkisi ile birlikte $N \xrightarrow{inc} G$ içine dönüşümü bir çaprazlanmış modüldür.

(iii) M herhangi bir R -modül olmak üzere $0: M \rightarrow R$ aşıkarak homomorfizmi R nin M üzerine verilmiş etkisiyle birlikte bir çaprazlanmış R -modüldür.

(A, B, α) ve (A', B', α') iki çaprazlanmış modül olmak üzere (A, B, α) dan (A', B', α') ne $f = \langle f_A, f_B \rangle$ çaprazlanmış modül morfizmi her $a \in A$ ve $b \in B$ için

$$(i) \quad f_B \alpha = \alpha' f_A \text{ ve}$$

$$(ii) \quad f_A(b \cdot a) = f_B(b) \cdot f_A(a)$$

şartlarını sağlayan $f_A: A \rightarrow A'$ ve $f_B: B \rightarrow B'$ grup homomorfizm çiftidir.

Yukarıda tanımlanan morfizm yardımıyla gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüller kategorisi oluşturulur ve bu kategori $\mathbf{XMod}(\mathbf{Gp})$ ile gösterilir.

Tanım 1.4 $f = \langle f_A, f_B \rangle : (A, B, \alpha) \rightarrow (A', B', \alpha')$ bir çaprazlanmış modül morfizmi olsun. Eğer $f_A: A \rightarrow A'$ grup homomorfizmi bir izomorfizm ise bu $f = \langle f_A, f_B \rangle$ çaprazlanmış modül morfizmine *çaprazlanmış modüllerin bir örtü morfizmi* denir.

$f = \langle f_A, f_B \rangle : (A', B', \alpha') \rightarrow (A, B, \alpha)$ ve $g = \langle g_A, g_B \rangle : (\tilde{A}, \tilde{B}, \tilde{\alpha}) \rightarrow (A, B, \alpha)$ iki çaprazlanmış modül örtü morfizmi olmak üzere $gh = f$ olacak şekilde bir $h = \langle h_A, h_B \rangle : (A', B', \alpha') \rightarrow (\tilde{A}, \tilde{B}, \tilde{\alpha})$ çaprazlanmış modül morfizmi varsa bu $h = \langle h_A, h_B \rangle$ morfizmine (A, B, α) nın örtülerinin bir morfizmi denir. Bu şekilde bir (A, B, α) çaprazlanmış modülünün örtülerinin kategorisi elde edilir ve bu kategori $\mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gp})/(A, B, \alpha)$ ile gösterilir.

2. Gruplar Üzerindeki Çaprazlanmış Modüllerin Yükselmeleri

Bu kesimde Mucuk ve Şahan (2019) tarafından tanımlanan gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüllerin yükselmesi kavramını hatırlatılıp yine aynı makalede verilen özelliklerden kısaca bahsedilmiştir. Bundan sonra gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüller kısaca çaprazlanmış modül olarak adlandırılacaktır.

Tanım 2.1 (A, B, α) bir çaprazlanmış modül ve $\omega: X \rightarrow B$ bir grup homomorfizmi olsun. Bir $\varphi: A \rightarrow X$ grup homomorfizmi, X in A üzerine ω üzerinden etkimesi ile beraber bir çaprazlanmış modül yapısına sahip ise bu (A, X, φ) çaprazlanmış modülüne (A, B, α) çaprazlanmış modülünün ω üzerinden yükselmesi denir (Mucuk ve Şahan, 2019).

Burada dikkat edelim ki $\ker \varphi \leq \ker \alpha$ ve $\langle 1_A, \omega \rangle: (A, X, \varphi) \rightarrow (A, B, \alpha)$ bir çaprazlanmış modül morfizmi olur.

Örnek 2.2 Her (A, B, α) çaprazlanmış modülü $(A, \text{Aut}(A), \iota)$ otomorfizma çaprazlanmış modülünün $\omega: B \rightarrow \text{Aut}(A)$ etkiye homomorfizmi üzerinden bir yükselmesidir (Mucuk ve Şahan, 2019).

Önerme 2.3 (A, B, α) bir çaprazlanmış modül ve (A, X, φ) ise (A, B, α) nın $\omega: X \rightarrow B$ üzerinden bir yükselmesi olsun. Eğer (A, X', φ') çaprazlanmış modülü (A, X, φ) nın $\omega': X' \rightarrow X$ üzerinden bir yükselmesi ise (A, X', φ') çaprazlanmış modülü (A, B, α) çaprazlanmış modülünün $\omega\omega': X' \rightarrow B$ üzerinden yükselmesidir (Mucuk ve Şahan, 2019).

(A, X, φ) ve (A, X', φ') çaprazlanmış modülleri (A, B, α) nın sırasıyla $\omega: X \rightarrow B$ ve $\omega': X' \rightarrow B$ homomorfizmleri üzerinden yükselmeleri olsun. Bir $f: X \rightarrow X'$ grup homomorfizmi için $\langle 1_A, f \rangle: (A, X, \varphi) \rightarrow (A, X', \varphi')$ bir çaprazlanmış modül morfizmi ise bu $f: X \rightarrow X'$ homomorfizmine *yükselmelerin bir morfizmi* denir. Bu şekilde bir (A, B, α) çaprazlanmış

modülünün yükselmelerinin kategorisi oluşturulabilir ve bu kategori $\mathbf{LXMod}(\mathbf{Gp})/(A, B, \alpha)$ ile gösterilir.

Teorem 2.4 $\tilde{\alpha}: \tilde{A} \rightarrow \tilde{B}$ örten olmak üzere $\langle f, g \rangle: (\tilde{A}, \tilde{B}, \tilde{\alpha}) \rightarrow (A, B, \alpha)$ bir çaprazlanmış modül morfizmi ve $(A, X, \varphi), (A, B, \alpha)$ nın $\omega: X \rightarrow B$ üzerinden bir yükselmesi olsun. Bu durumda $\omega \tilde{g} = g$ olacak şekilde bir tek $\langle f, \tilde{g} \rangle: (\tilde{A}, \tilde{B}, \tilde{\alpha}) \rightarrow (A, X, \varphi)$ çaprazlanmış modül morfizmi vardır ancak ve ancak $f(\ker \tilde{\alpha}) \subseteq \ker \varphi$ dir (Mucuk ve Şahan, 2019).

Önerme 2.5 Her (A, B, α) çaprazlanmış modülü $N = \ker \alpha$ olmak üzere $\omega: A/N \rightarrow B, \quad \omega(a + N) = \alpha(a)$ homomorfizmi üzerinden $(A, A/N, p)$ çaprazlanmış modülüne yükselir (Mucuk ve Şahan, 2019).

Teorem 2.6 (A, B, α) bir çaprazlanmış modül ve $C \leq \ker \alpha$ olsun. Bu durumda (A, B, α) nın $\ker \varphi = C$ olacak şekilde bir (A, X, φ) yükselmesi vardır (Mucuk ve Şahan, 2019).

Bu teoremden adı geçen yükselmede $X = A/C$ ve $\varphi: A \rightarrow X, \varphi(a) = a + C$ dir. Böylece her çaprazlanmış modülün istenilen şekilde bir yükselmesinin var olduğu gösterilmiştir.

Teorem 2.7 (A, B, α) bir çaprazlanmış modül olmak üzere (A, B, α) nın yükselmelerinin kategorisi $\mathbf{LXMod}/(A, B, \alpha)$ ile (A, B, α) nın örtülerinin kategorisi $\mathbf{CovXMod}/(A, B, \alpha)$ doğal olarak denktir (Mucuk ve Şahan, 2019).

3. Grupoidler Üzerindeki Çaprazlanmış Modüllerin Yükselmeleri

Bu kesimde öncelikle grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modül kavramı hatırlatılıp bunların yükselmesi kavramı tanıtılmıştır. Sonra Mucuk ve Şahan (2019) tarafından verilen özellikler grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüller için incelenmiş ve benzer bir kategoriksel denklik elde edilmiştir. Öncelikle grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modül kavramını hatırlayalım.

Tanım 3.1 G ve C aynı obje sınıfına sahip ve C tamamen irtibatsız olacak şekilde iki grupoid olsun. Eğer $G_s \times_t C = \{(g, c) : s(g) = t(c)\}$ kümesi üzerinde tanımlı bir $G_s \times_t C \rightarrow C, (g, c) \mapsto g \cdot c$ fonksiyonu her $c, c_1, c_2 \in C(x, x), g \in G(x, y)$ ve $h \in G(y, z)$ için

- (i) $t(g \cdot c) = t(g),$
- (ii) $g \cdot (c_1 \circ c_2) = (g \cdot c_1) \circ (g \cdot c_2),$
- (iii) $(h \circ g) \cdot c = h \cdot (g \cdot c)$ ve
- (iv) $1_x \cdot c = c$

şartlarını sağlıyorsa G grupoidi C grupoidi üzerine (soldan) etkir denir (Brown ve İçen, 2003).

Örnek 3.2 Her G grupoidi kendi tamamen irtibatsız full alt grupoidi $C = \cup_{x \in G_0} G(x)$ üzerine konjugasyon etkimesi, yani her $c \in C(x, x), g \in G(x, y)$ için $g \cdot c = g \circ c \circ g^{-1}$, ile etkir.

Tanım 3.3 G ve C aynı obje sınıfına sahip ve C tamamen irtibatsız olacak şekilde iki grupoid olmak üzere G nin C üzerine bir soldan etkimesi verilsin. Bu durumda objelerin sınıfı üzerinde birim dönüşüm olan bir $\partial: C \rightarrow G$ grupoid morfizmi her $c, c_1 \in C(x, x)$, $g \in G(x, y)$ için

$$(i) \quad \partial(g \cdot c) = g \circ \partial(c) \circ g^{-1},$$

$$(ii) \quad \partial(c) \cdot c_1 = c \circ c_1 \circ c^{-1}$$

şartlarını sağlıyorsa (C, G, ∂) üçlüsüne *grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül* denir (Brown ve İçen, 2003).

Eğer (ii) şartı kaldırılırsa bu durumda (C, G, ∂) üçlüsüne *grupoidler üzerinde bir ön-çaprazlanmış modül* denir (Brown ve İçen, 2003). Gruplar üzerindeki bir çaprazlanmış modül objelerin sınıfının tek elemanlı olduğu grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modüldür. Yani grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüller, gruplar üzerindeki çaprazlanmış modülleri kapsar.

Örnek 3.4 G bir grupoid ve $C = \bigcup_{x \in G_0} G(x)$ olsun. Bu durumda G nin C üzerine konjugasyon etkimesi ile beraber $\iota: C \rightarrow G$, $\iota(c) = c$ gömme dönüşümü grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modüldür. Daha genel olarak G nin herhangi bir tamamen irtibatsız normal alt grupoidi N için G nin N üzerine konjugasyon etkimesi ile beraber $\iota: N \rightarrow G$, $\iota(n) = n$ gömme dönüşümü grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modüldür.

(C, G, ∂) ve (C', G', ∂') grupoidler üzerinde iki çaprazlanmış modül ve $f_0: C \rightarrow C'$ ile $f_1: G \rightarrow G'$ birer grupoid morfizmi olsun. Eğer her $c \in C(x, x)$ ve $g \in G(x, y)$ için

$$(i) \quad f_1 \partial = \partial' f_0 \text{ ve}$$

$$(ii) \quad f_0(g \cdot c) = f_1(g) \cdot f_0(c)$$

şartları sağlanıyorsa (f_0, f_1) ikilisine (C, G, ∂) den (C', G', ∂') ne *grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllerin bir morfizmi* denir. Bu şekilde tanımlanan morfizmler ile birlikte grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllerin kategorisi oluşturulabilir ve bu kategori $\mathbf{XMod}(\mathbf{Gpd})$ ile gösterilir.

Şimdi Mucuk ve Şahan (2019) tarafından verilen çaprazlanmış modüllerin yükselme tanımını grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüller için verebiliriz.

Tanım 3.5 (C, G, ∂) grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül ve H ise G ve C ile aynı obje sınıfına sahip bir grupoid olsun. Objelerin sınıfı üzerinde birim dönüşüm olan bir $\omega: H \rightarrow G$ grupoid morfizmi verilsin. Bu durumda H grupoidi de C grupoidi üzerine ω yardımıyla etkir. Eğer bu etkiye ile beraber $\omega \varphi = \partial$ olacak şekilde bir $\varphi: C \rightarrow H$ grupoid morfizmi için (C, H, φ) grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül oluyorsa bu (C, H, φ) çaprazlanmış modüle (C, G, ∂) nin $\omega: H \rightarrow G$ üzerinden yükselmesi denir.

Burada dikkat edelim ki yukarıda verilen etkiye ile beraber $\omega \varphi = \partial$ olacak şekilde bir $\varphi: C \rightarrow H$ grupoid morfizmi her $c, c_1 \in C(x, x)$ için

$\varphi(c) \cdot c_1 = c \circ c_1 \circ c^{-1}$ şartını sağlar. O halde yükselme kavramı ile ilgili aşağıdaki önermeyi verebiliriz.

Önerme 3.6 (C, G, ∂) grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül ve H ise G ve C ile aynı obje sınıfına sahip bir grupoid olsun. Objelerin sınıfı üzerinde birim dönüşüm olan bir $\omega: H \rightarrow G$ grupoid morfizmi verilsin. H in C üzerine etkimesi $h \cdot c = \omega(h) \cdot c$ ile tanımlanmış olmak üzere eğer $\omega\varphi = \partial$ olacak şekilde bir $\varphi: C \rightarrow H$ grupoid morfizmi her $c \in C(x, x)$, $h \in H(x, y)$ için

$$(i) \quad \varphi(h \cdot c) = h \circ \partial(c) \circ h^{-1}$$

şartını sağlıyorsa, yani (C, H, φ) grupoidler üzerinde bir ön-çaprazlanmış modül ise, (C, H, φ) bir çaprazlanmış modüldür ve (C, G, ∂) nin $\omega: H \rightarrow G$ üzerinden yükselmesidir.

Not 3.7 (C, G, ∂) grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül ve $\omega: H \rightarrow G$ bir grupoid morfizmi olmak üzere (C, H, φ) , (C, G, ∂) nin $\omega: H \rightarrow G$ üzerinden yükselmesi ise $\ker \varphi \subseteq \ker \partial$ ve $(1_C, \omega): (C, H, \varphi) \rightarrow (C, G, \partial)$ grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllerin bir morfizmidir.

Örnek 3.8 Grupoidler üzerindeki her (C, G, ∂) çaprazlanmış modülü $1_G: G \rightarrow G$ üzerinden kendisinin bir yükselmesidir.

Önerme 3.9 (C, G, ∂) grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül ve (C, H, φ) ise (C, G, ∂) nin $\omega: H \rightarrow G$ üzerinden yükselmesi olsun. Eğer (C, H', φ') çaprazlanmış modülü (C, H, φ) nin $\omega': H' \rightarrow H$ üzerinden yükselmesi ise (C, H', φ') çaprazlanmış modülü (C, G, ∂) çaprazlanmış modülünün $\omega\omega': H' \rightarrow G$ üzerinden yükselmesidir.

İspat : (C, H', φ') grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül olduğundan sadece $\omega\omega'\varphi' = \partial$ olduğunu göstermek yeterlidir. (C, H, φ) , (C, G, ∂) nin $\omega: H \rightarrow G$ üzerinden yükselmesi ve (C, H', φ') , (C, H, φ) nin $\omega': H' \rightarrow H$ üzerinden yükselmesi olduğundan biliyoruz ki $\omega\varphi = \partial$ ve $\omega'\varphi' = \varphi$ dir. Böylece

$$\omega(\omega'\varphi') = \omega\varphi = \partial$$

bulunur. Bu ise ispatı tamamlar.

Önerme 3.10 (C, G, ∂) grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül ve (C, H, φ) ise (C, G, ∂) nin $\omega: H \rightarrow G$ üzerinden yükselmesi olsun. Eğer bir G' ve bir H' grupoidi için $f: G \rightarrow G'$ ve $g: H \rightarrow H'$ grupoid izomorfizmleri varsa $\varphi' = g\varphi$, $\omega' = f\omega g^{-1}$ ve $\partial' = f\partial$ olmak üzere (C, H', φ') çaprazlanmış modülü (C, G', ∂') çaprazlanmış modülünün $\omega': H' \rightarrow G$ üzerinden yükselmesidir.

İspat : $f: G \rightarrow G'$ ve $g: H \rightarrow H'$ birer izomorfizm olduğundan $\partial': C \rightarrow G'$ ve $\varphi': C \rightarrow H'$ morfizmlerinin birer çaprazlanmış modül olduğu açıktır. O halde yalnızca $\omega'\varphi' = \partial'$ olduğunu göstermemiz yeterlidir. Burada

$$\begin{aligned} \omega'\varphi' &= (f\omega g^{-1})(g\varphi) \\ &= (f\omega)(g^{-1}g)\varphi \end{aligned}$$

$$= f\omega\varphi$$

eşitliği elde edilir. Ayrıca (C, H, φ) ise (C, G, ∂) nin $\omega: H \rightarrow G$ üzerinden yükselmesi olduğundan $\omega\varphi = \partial$ eşitliğinin sağlandığını biliyoruz. Böylece

$$\omega'\varphi' = f(\omega\varphi) = f\partial = \partial'$$

bulunur. Bu ise ispatı tamamlar.

Tanım 3.11 (C, H, φ) ve (C, H', φ') , grupoidler üzerindeki (C, G, ∂) çaprazlanmış modülünün sırasıyla $\omega: H \rightarrow G$ ve $\omega': H' \rightarrow G$ grupoid morfizmleri üzerinden yükselmeleri olsun. Bir $f: H \rightarrow H'$ grupoid morfizmi için $(1_C, f): (C, H, \varphi) \rightarrow (C, H', \varphi')$ grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllerin bir morfizmi ise bu $f: H \rightarrow H'$ grupoid morfizmine *yükselmelerin bir morfizmi* denir.

Böylece, morfizmleri yukarıda tanımlandığı gibi olan, bir (C, G, ∂) grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modülünün yükselmelerinin kategorisi oluşturulabilir ve bu kategori $\mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ ile gösterilir.

4. Kategori Denklığı

Bir önceki kesimde verilen Örnek 3.4 den anlaşılacağı üzere her grupoid bir grupoidler üzerinde çaprazlanmış modül olarak düşünülebilir. Böylece grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüller grupoidlerin ve gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüllerin bir genelleştirilmesidir. Böylelikle grupoidler ve gruplar üzerindeki çaprazlanmış modüller için tanımlanan bazı kavramlar grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüller için de tanımlanabilir. Bu kesimde grupoidler için tanımlanmış örtü kavramı grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllere genişletilmiştir. Ayrıca sabit bir grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modülün örtülerinin kategorisi oluşturulup bu kategori ile aynı çaprazlanmış modülün yükselmelerinin kategorisinin doğal olarak denk olduğu gösterilmiştir.

Tanım 4.1 (C, G, ∂) ve (C', G', ∂') grupoidler üzerinde iki çaprazlanmış modül ve $(f_0, f_1): (C', G', \partial') \rightarrow (C, G, \partial)$ grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllerin bir morfizmi olsun. Eğer $f_0: C' \rightarrow C$ grupoid morfizmi bir izomorfizm ise (C', G', ∂') çaprazlanmış morfizmine (C, G, ∂) çaprazlanmış modülünün bir *örtüsü*, bu (f_0, f_1) morfizmine ise bir *örtü morfizmi* denir.

Tanım 4.2 $(f_0, f_1): (C', G', \partial') \rightarrow (C, G, \partial)$ ve $(g_0, g_1): (\tilde{C}, \tilde{G}, \tilde{\partial}) \rightarrow (C, G, \partial)$ birer örtü morfizmi ve $(h_0, h_1): (C', G', \partial') \rightarrow (\tilde{C}, \tilde{G}, \tilde{\partial})$ grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllerin bir morfizmi olsun. Eğer $(g_0, g_1) \circ (h_0, h_1) = (f_0, f_1)$ ise (h_0, h_1) morfizmine (C, G, ∂) çaprazlanmış modülünün *örtülerinin bir morfizmi* denir.

Sabit bir (C, G, ∂) grupoidler üzerinde çaprazlanmış modülü için objeleri (C, G, ∂) nin örtüleri, morfizmleri ise yukarıdaki şekilde tanımlanmış olan (C, G, ∂) nin örtülerinin morfizmleri olan bir kategori oluşturulabilir. Bu kategoriye (C, G, ∂) örtülerinin kategorisi denir ve $\mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ ile gösterilir.

Teorem 4.3 (C, G, ∂) grupoidler üzerinde bir çaprazlanmış modül olmak üzere (C, G, ∂) nin yükselmelerinin kategorisi $\mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ ile (C, G, ∂) nin örtülerinin kategorisi $\mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ doğal olarak denktir.

İspat : Öncelikle $\mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ kategorisinden $\mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ kategorisine bir

$$\delta: \mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial) \rightarrow \mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$$

fanktoru tanımlayalım. (C, H, φ) ve (C, H', φ') , grupoidler üzerindeki (C, G, ∂) çaprazlanmış modülünün sırasıyla $\omega: H \rightarrow G$ ve $\omega': H' \rightarrow G$ grupoid morfizmleri üzerinden yükselmeleri ve $f: H \rightarrow H'$ grupoid morfizmi bu yükselmelerin bir morfizmi olsun. Bu durumda $\delta_0((C, H, \varphi)) = (C, H, \varphi)$ ve $\delta_1(f) = (1_C, f)$ olarak tanımlanır. Açıkça görülüyor ki δ bir fantordur.

Tersine olarak $\mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ kategorisinden $\mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$ kategorisine bir

$$\eta: \mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial) \rightarrow \mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)$$

fanktoru tanımlayalım. $(f_0, f_1): (C', G', \partial') \rightarrow (C, G, \partial)$ ve $(g_0, g_1): (\tilde{C}, \tilde{G}, \tilde{\partial}) \rightarrow (C, G, \partial)$ birer örtü morfizmi ve $(h_0, h_1): (C', G', \partial') \rightarrow (\tilde{C}, \tilde{G}, \tilde{\partial})$, (C, G, ∂) çaprazlanmış modülünün örtülerinin bir morfizmi olsun. Bu durumda $f_0: C' \rightarrow C$ bir izomorfizm olduğundan $(C, G', \partial' \circ f_0^{-1})$ çaprazlanmış modülü (C, G, ∂) çaprazlanmış modülünün $f_1: G' \rightarrow G$ grupoid morfizmi üzerinden bir yükselmesi olur. Böylece $\eta_0((C', G', \partial')) = (C, G', \partial' \circ f_0^{-1})$ şeklinde ve $\eta_1((h_0, h_1)) = h_1$ şeklinde tanımlanır. η dönüşümünün bir fanktor olduğu kolaylıkla görülebilir. Şimdi $\psi: \delta\eta \Rightarrow 1_{\mathbf{CovXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)}$ ve $\mu: \eta\delta \Rightarrow 1_{\mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)}$ doğal dönüşümlerini tanımlayalım. $\psi((C', G', \partial')) = (f_0^{-1}, 1_{G'})$ ve $\mu((C, H, \varphi)) = (1_C, 1_H)$ olarak tanımlanır. Burada görülüyor ki $\eta\delta = 1_{\mathbf{LXMod}(\mathbf{Gpd})/(C, G, \partial)}$ dir. Diğer detaylar kolaylıkla gösterilebilir. Böylece ispat tamamlanır.

5. Sonuçlar ve Öneriler

Her monoid, tek objeli bir kategori olarak düşünülebilir. Bu düşünce ile monoidlerin kategorisindeki çaprazlanmış modüllerin kategorisi ile Schreier iç kategorilerin denkliği (Patchkoria, 1998) küçük kategorilerin kategorisindeki çaprazlanmış modüllerin kategorisi ile Schreier 2-kategorilerin kategorisinin denkliğine genelleştirilmiştir (Temel, 2018). Patchkoria (1998) tarafından verilen denklik ayrıca topolojik monoidler için de elde edilmiştir (Temel, 2016). Ayrıca her grup da benzer şekilde tek objeli bir grupoid olarak düşünülebilir. Böylece grupoidler grupların bir çeşit genelleştirilmesidir. Bu çalışmada verilen tanımlarda ve elde edilen sonuçlarda ele alınan grupoidler tek objeli olarak alınırsa Mucuk ve Şahan (2019) tarafından verilen tanımlar ve elde edilen sonuçlar bulunmuş olur. Böylece bu çalışma Mucuk ve Şahan (2019) tarafından sunulan çalışmanın bir genelleştirilmesi olarak düşünülebilir.

Burada elde edilen sonuçlara ek olarak grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modüllerin kategorisi ile bazı özel şartları sağlayan çift grupoidlerin kategorisinin denkliği kullanılarak öncelikle bu çalışmadaki sonuçlar bazı özel şartları sağlayan çift grupoidlerin kategorisinde verilip grupoidler üzerindeki etkimelerinin kategorisi elde edilebilir. Ayrıca bazı özel şartları sağlayan çift grupoidlerin grupoidler üzerindeki etkimeleri tanımlanıp bu etkimelerin kategorisinin karşılık gelen grupoidler üzerindeki çaprazlanmış modülünün yükselmelerinin kategorisi ile arasındaki ilişki incelenebilir. Mucuk ve Demir (2018) tarafından bazı özel şartları sağlayan çift grupoidler için tanımlanan normallik ve bölüm (ayrıca bakınız Temel, 2019) kavramlarının yükselmeler altındaki değişimlerinin incelenmesi de ilginç bir çalışma olabilir.

KAYNAKÇA

1. Akız, H.F., Alemdar, N., Mucuk, O. ve Şahan, T. (2013). Coverings of internal groupoids and crossed modules in the category of groups with operations, *Georgian Math. J.*, 20 (2), 223-238.
2. Alemdar, N. ve Mucuk, O. (2012). The liftings of R -modules to covering groupoids. *Hacet. J. Math. Stat.*, 41 (6), 813-822.
3. Alemdar, N. ve Mucuk, O. (2013). Existence of covering topological R -modules. *Filomat*, 27 (6), 1121-1126.
4. Baez, J.C. ve Lauda, A.D. (2004). Higher-dimensional algebra. V: 2-Groups. *Theory and Applications of Categories*, 12, 423-491.
5. Brown, R. (1982). Higher dimensional group theory. *Low dimensional topology*, London Math Soc. Lecture Note Series 48 (ed. R. Brown and T.L. Thickstun, Cambridge University Press), 215-238.
6. Brown, R. (1984). Coproducts of crossed P -modules: applications to second homotopy groups and to the homology of groups. *Topology*, 23, 337-345.
7. Brown, R. (2006). *Topology and Groupoids*, Charleston, BookSurge.
8. Brown, R., Danesh-Naruie, G. ve Hardy, J.P.L. (1976). Topological groupoids. II. Covering morphisms and G -spaces. *Math. Nachr.*, 74, 143-156.
9. Brown, R. ve Higgins, P.J. (1978). On the connection between the second relative homotopy groups of some related spaces. *Proc. London Math. Soc.* 36 (3), 193-212.
10. Brown, R. ve Huebschmann, J. (1982). Identities among relations. *Low dimensional topology*, London Math. Soc. Lecture Note Series 48 (ed. R. Brown and T.L. Thickstun, Cambridge University Press), 153-202.
11. Brown, R. ve İcen, İ. (2003). Homotopies and automorphisms of crossed modules of groupoids. *Applied Categorical Structures*, 11, 185-206.
12. Brown, R. ve Mucuk, O. (1994). Covering groups of nonconnected topological groups revisited, *Math. Proc. Cambridge Philos. Soc.*, 115 (1), 97-110.
13. Brown, R. ve Spencer, C.B. (1976). G -groupoids, crossed modules and the fundamental groupoid of a topological group. *Indag. Math.* 38 (4), 296-302.
14. Gürsoy, M.H. ve İcen, İ. (2018). Coverings of structured Lie groupoids. *Hacet. J. Math. Stat.*, 47 (4), 845-854.
15. Higgins, P.J. (1971). *Notes on Categories and Groupoids*. Van Nostrand Reinhold Math. Stud. 32, Van Nostrand Reinhold, London.
16. İcen, İ., Gürsoy, M.H. ve Özcan, A.F. (2011). Coverings of Lie groupoids. *Turk. J. Math.*, 35 (2), 207-218.
17. İcen, İ., Özcan, A.F. ve Gürsoy, M.H. (2005). Topological group-groupoids and their coverings. *Indian J. Pure Appl. Math.*, 36 (9), 493-502.
18. Mucuk, O. ve Şahan, T. (2013). Covering groupoids of categorical groups. *Hacet. J. Math. Stat.*, 42 (4), 419-430.
19. Mucuk, O. ve Şahan, T. (2014). Coverings and crossed modules of topological groups with operations. *Turk. J. Math.*, 38 (5), 833-845.
20. Mucuk, O. ve Şahan, T. (2019). Group-groupoid actions and liftings of crossed modules. *Georgian Math. J.*, doi: 10.1515/gmj-2018-0001
21. Mucuk, O., Şahan, T. ve Alemdar, N. (2015). Normality and quotients in crossed modules and group-groupoids. *Appl. Categor. Struct.*, 23 (3), 415-428.
22. Mucuk, O. ve Demir, S. (2015). Covering groupoids of categorical rings. *Filomat*, 29 (1), 39-49.
23. Mucuk, O. ve Demir, S. (2018). Normality and quotient in crossed modules over groupoids and double groupoids. *Turk. J. Math.*, 42, 2336-2347.
24. Orzech, G. (1972a). Obstruction theory in algebraic categories, I. *J. Pure. Appl. Algebra*, 2 (4), 287-314.

25. Orzech, G. (1972b). Obstruction theory in algebraic categories, II. *J. Pure. Appl. Algebra*, 2 (4), 315-340.
26. Patchkoria, A. (1998). Crossed semimodules and Schreier internal categories in the category of monoids. *Georgian Math. J.*, 5 (6), 575-581.
27. Porter, T. (1987). Extensions, crossed modules and internal categories in categories of groups with operations. *P. Edinburgh Math. Soc.*, 30 (3), 373-381.
28. Temel, S. (2016). Topological crossed semimodules and Schreier internal categories in the category of topological monoids. *Gazi University Journal of Science*, 29 (4), 915-921.
29. Temel, S. (2018). Crossed semimodules of categories and Schreier 2-categories. *Tbilisi Mathematical Journal*, 11 (2), 47-57.
30. Temel, S. (2019). Normality and quotient in crossed modules over groupoids and 2-Groupoids. *Korean J. Math.*, 27, 1, 151-163.
31. Whitehead, J.H.C. (1946). Note on a previous paper entitled "On adding relations to homotopy groups". *Ann. Math.*, 47(4), 806-810.