



**Denizlerdeki Mikrobiyal Reaksiyonların Yeni Yaklaşımlar  
Kullanılarak Araştırılması: Genetik, Biyojeokimya ve  
Modelleme**

**Program Kodu: 1001**

**Proje No: 115Y629**

Proje Yürütücüsü:

**Doç. Dr. Barış Salihoğlu**

Araştırmacılar:

Dr. Öğr. Üye. Arzu Karahan

Dr. Valeria Ibello

Dr. Hasan Örek

Doç. Dr. Bettina Fach

Danışman:

Prof. Dr. Süleyman Tuğrul

Bursiyer:

Selin Küçükavşar- Deliceirmak

Aralık 2018

MERSİN



## Önsöz

Bu Raporda, TÜBİTAK Çevre, Atmosfer, Yer ve Deniz Bilimleri Araştırma Destek Grubu'nca "1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Programı" çerçevesinde 30 ay süreyle desteklenen 115Y629 numaralı "Denizlerdeki mikrobiyal reaksiyonların yeni yaklaşımlar kullanılarak araştırılması: genetik, biyojeokimya ve modelleme" başlıklı proje sonuçları sunulmuştur. Çalışma, T.C. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Erdemli Deniz Bilimleri Enstitüsü bünyesinde yürütülmüştür. Projenin yürütülmesinde proje ekibine en önemli katkısı, Erdemli Zaman Serisi'nin kesintisiz sürmesini sağlayan, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri Enstitüsü tarafından yürütülen BAP-08-11-DPT.2012K120880 Kod No'lu Deniz Ekosistem ve İklim Araştırmaları Merkezi (DEKOSİM) projesi vermiştir. Bu çalışma R/V BİLİM 2 ile R/V Lamas mürettebatının özverili çalışmaları ve yardımları ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, örneklemelerin gerçekleştirildiği sırada proje ekibine her türlü yardımı sağlayan enstitü öğrenci, araştırmacı ve çalışanlarına özellikle teşekkür ederiz.



## İçindekiler

<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>18</b>
<b>1.1 Amaçlar</b> .....	<b>18</b>
<b>1.2 Akdeniz'in Genel Oşinografik Özellikleri</b> .....	<b>19</b>
1.2.1 Fiziksel Özellikler .....	19
1.2.2 Biyojeokimyasal Özellikler .....	22
1.2.3 Plankton Komünitesi.....	29
<b>2 GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>31</b>
<b>2.1. Erdemli Zaman Serisi kapsamında ölçülen fiziksel ve biyokimyasal parametreler</b> .....	<b>32</b>
2.1.1 Fiziksel Parametreler .....	32
2.1.2 Işıklı Tabaka Derinliği Hesaplaması .....	33
2.1.3 İnorganik besin tuzları ve toplam klorofil ölçümleri .....	33
2.1.4 Doymuş oksijen içeriğinin, yüzde oksijen doygunluğunun ve görünür oksijen kullanımının hesaplanması.....	33
2.1.5 Plankton topluluğu örnekleme.....	35
2.1.6 Şekiller ile ilgili önemli notlar.....	35
<b>2.2 Proje kapsamında ölçülen ek biyokimyasal parametreler</b> .....	<b>35</b>
2.2.1 Organik madde, Toplam Fosfat, Toplam Azot örnekleme ve ölçümleri .....	35
<b>2.3 Bakteriyel popülasyonlara metagenomik yaklaşım</b> .....	<b>37</b>
2.3.1 Örnekleme .....	37
2.3.2 DNA izolasyonu ve Sekanslama .....	37
2.3.3 Biyoenformatik analizler .....	38
2.3.4 Çeşitlilik Ölçümleri hesaplama ve istatistiksel testler.....	38
<b>2.4 Biyojeokimyasal döngülerde önemli rol oynayan bakteriyel popülasyonların metatranscriptomik incelenmesi</b> .....	<b>39</b>
2.4.1 Örnekleme ve Toplam RNA izolasyonu.....	39
2.4.2 Dizileme ve Veri İstatistikleri .....	40

2.4.3	Biyoenformatik analizler .....	41
<b>2.5</b>	<b>Bakterilerin fonksiyonel gruplarının belirlenmesi .....</b>	<b>42</b>
<b>2.6</b>	<b>Bakteriyel reaksiyon hızlarının izotop yöntemiyle tayin edilmesi.....</b>	<b>42</b>
2.6.1	İzotop Deneyleri: Azot fiksasyonu .....	42
2.6.2	Nitrifikasyon .....	43
<b>2.7</b>	<b>Mikroorganizmalar tarafından yürütülen reaksiyon hızlarının ölçümler ve ters modelleme yaklaşımıyla belirlenmesi .....</b>	<b>45</b>
2.7.1	Fiziksel modelin ETS istasyonuna uyarlanması ve çalıştırılması .....	46
2.7.2	Biyojeokimyasal modelin geliştirilmesi ve uygulanması .....	49
2.7.3	Optimizasyon tabanlı parametre tayini .....	54
<b>3</b>	<b>BULGULAR .....</b>	<b>65</b>
<b>3.1</b>	<b>Fiziksel ve Biyokimyasal Özellikler.....</b>	<b>65</b>
3.1.1	Bölgenin Fiziksel Özellikleri .....	65
3.1.2	ETS-200m istasyonunun biyokimyasal özellikleri.....	73
3.1.3	ETS-200m istasyonunun biyolojik özellikleri.....	84
3.1.4	Genel Değerlendirme .....	91
<b>3.2</b>	<b>16S rRNA komünite yapısı ve değişimi .....</b>	<b>100</b>
3.2.1	Aylara göre bolluk dağılımları .....	101
3.2.2	Örnekler arası ve Örneklerin kendi içindeki Biyoçeşitlilik .....	117
3.2.3	Örnekler arası (Beta) Çeşitlilik .....	121
3.2.4	Mikrobiyal dinamiklerin çevresel faktörlerle olan ilişkisi .....	123
<b>3.3</b>	<b>Fonksiyonel Bakteri Grupları Bulguları.....</b>	<b>128</b>
3.3.1	Amonyak oksitleyen bakteriler .....	128
3.3.2	Hidroksilaminden nitrit oluşumu sağlayan bakteriler .....	128
3.3.3	Nitrat redüksiyonu sağlayan bakteriler .....	129
3.3.4	Nitrojen fikse eden grup.....	130
<b>3.4</b>	<b>Metatranskriptom Analizi Bulguları .....</b>	<b>130</b>
3.4.1	Metabolik analizler .....	130

3.4.2	Azot Döngüsü .....	131
3.4.3	Fosfat metabolizması .....	138
<b>3.5</b>	<b>İzotop yöntemleri ile mikrobiyal reaksiyon hızları.....</b>	<b>139</b>
3.5.1	Nitrifikasyon .....	139
3.5.2	N <sub>2</sub> - Fiksasyonu .....	145
<b>3.6</b>	<b>Mikroorganizmalar tarafından yürütülen reaksiyon hızlarının ölçümler ve ters modelleme yaklaşımı ile belirlenmesi .....</b>	<b>148</b>
3.6.1	Fiziksel modelin ETS istasyonuna uyarlanması ve çalıştırılması .....	148
3.6.2	Biyojeokimyasal modelin geliştirilmesi ve uygulanması .....	150
3.6.3	Optimizasyon tabanlı parametre tayini .....	153
<b>4</b>	<b>TARTIŞMA- SONUÇ.....</b>	<b>172</b>
4.1	Sonuçların Özeti .....	172
4.2	Tartışma.....	173
<b>5.</b>	<b>Ekler.....</b>	<b>182</b>
5.1.	KKA Sonuçları: .....	182
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>183</b>

## Şekil Dizini

Şekil 1. Akdeniz Su Kütleleri ( <a href="http://www.grida.no/resources/5885">http://www.grida.no/resources/5885</a> ) .....	21
Şekil 2. Levant Havzası'ndaki ana dolaşım ve girdaplar. RG: Rhodes Gyre, CE: Kıbrıs Eddy, IE: İerapetra Eddy, LEC: Libya-Mısır Akımı, AMC: Küçük Asya Akımı, MME: Mersa Matruh Eddy, ShE: Shikmona Eddy, CC: Kilikya Akımı, MMJ: Orta Akdeniz Jeti. 1992 ve 2010 yılları arasındaki ortalama mutlak jeostrofik hızlar gri oklar olarak temsil edilir (Malanotte-Rizzoli vd., 2014). .....	22
Şekil 3. Denizlerdeki biyojeokimyasal döngülerde önemli roller oynayan bileşenler ve bu bileşenler arasında madde akışını belirleyen süreçler (Libes, 2009). .....	23
Şekil 4. Tüm Akdeniz'de besleyici element profilleri. Transekt boyunca (A) fosfat, nitrat + nitrit ve (B) amonyum ve nitrit (Şekil (Pujo-Pay vd., 2011) 'den alınmıştır). .....	26
Şekil 5. Kıbrıs'taki sıcak girdap dışında gözlemlenen ÇOK, ÇOA ve ÇOF derinlik profili (Şekil, Krom vd., (2005)'den alınmıştır). .....	27
Şekil 6. Batı Akdeniz (BA) ve Doğu Akdeniz (DA)'de yeni üretim ve kaynak ilişkisi. Yüzdeler, her kaynağın katkısını temsil etmektedir. Toplam kaynak Batı Akdeniz'de $10.6 \times 10^9$ mol P/yıl üretim ve Doğu Akdeniz'de $5.8 \times 10^9$ mol P/yıl üretim şeklindedir. AYS; Atlantik Yüzey Suyu, BAYS; Batı Atlantik Yüzey Suyu (Şekil, Powley vd., (2017)'den alınmıştır). .....	28
Şekil 7. Erdemli Zaman Serisi İstasyonlarının Yeri. Çalışma, nispeten kıydan uzak (kıydan 7 km uzaklıkta) ETS-200 metrelik istasyonunda yapılmıştır. ....	32
Şekil 8: Örnekleme noktasında ve örnekleme zaman dilimi boyunca (A) rüzgar hızı, (B) hava basıncı, (C) özgül nem, (D) hava sıcaklığı ve (E) bulutluluk oranı. ....	47
Şekil 9. ERSEM, model bileşenlerin birbirleriyle nasıl etkileştiğini veya birbirini nasıl etkilediğini gösteren şematik. Mavi konektörler inorganik karbon akışını temsil eder, kırmızı besin akışını gösterir, sarı oksijeni, siyahı yırtıcı-av etkileşimlerini temsil eder ve yeşil canlı olmayan organiklerin akışını temsil eder. Kesikli oklar, karbonat sistemi değişkenlerinin etkisini gösterir. Şekil Butenschön vd., (2016)'dan alınmıştır. ....	50
Şekil 10. ETS 20m, 50m, 75m, 100m, 150 ve 200m'lik istasyonlarda deniz suyu sıcaklıkları. ....	66
Şekil 11. ETS 20m, 50m, 75m, 100m, 150 ve 200m'lik istasyonlarda deniz suyu tuzluluk verisi. ....	68
Şekil 12. 06 Mayıs 2015'de ETS-200m'de Tuzluluk(a) ve türbidite (b) profilleri. ....	71

Şekil 13. 1 Nisan 2015 ve 5 Mayıs 2015 arasında bölgede yağış ortalaması tahmini haritası ( <a href="https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/">https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/</a> ) .....	71
Şekil14.(A) Mart 2015 ve (b) Mart 2017 tarihlerinde Taşucu-Silifke'de baskın rüzgar yönleri ve hızları ölçümleri. Lütfen rüzgar yönlerinin geldiği yön olarak verildiğini ve kuzey yönünün 348,75 - 11,25 arasında değişen yönlerde verildiğini unutmayın. Y ekseni her rüzgar yönünden esen rüzgarın sayısıdır. "Wind Speed" olarak verilen açıklama rüzgar hızını temsil etmektedir (m/s).....	72
Şekil 15. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında nitrat konsantrasyonları. ....	75
Şekil 16. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında nitrit konsantrasyonları.75	
Şekil17. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Amonyum ( $\text{NH}_4^+$ ) konsantrasyonları.....	76
Şekil 18. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında fosfat ( $\text{PO}_4^-$ ) konsantrasyonları .....	77
Şekil 19. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında N/P oranları .....	78
Şekil 20. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında POK konsantrasyonları	79
Şekil 21. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında POA konsantrasyonları	79
Şekil 22. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında TF konsantrasyonları...	81
Şekil 23. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında PF konsantrasyonları ..	81
Şekil 24. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında ÇOF konsantrasyonları	82
Şekil 25. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında çözünmüş oksijen konsantrasyonları .....	83
Şekil 26. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında toplam klorofil konsantrasyonları .....	84
Şekil 27. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Heterotrofik bakteri bollukları (hücre/ml).....	85
Şekil 28. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Heterotrofik bakteri bollukları ( $\text{mgK/m}^3$ ).....	85
Şekil 29. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Siyanobakteri bollukları (hücre/ml) .....	86

Şekil 30. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Siyanobakteri bollukları (mgK/m <sup>3</sup> ) .....	86
Şekil 31. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgC / m <sup>3</sup> olarak biyokütle diyatome bolluğu. Bolluk değerleri yüksek varyasyona sahip olduğundan, biyokütle değişikliklerinin daha iyi temsil edilmesi için izoklinler eklenmiştir.....	87
Şekil 32. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgC/m <sup>3</sup> olarak biyokütle Coccolithophorida bolluğu.....	88
Şekil 33. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgK / m <sup>3</sup> olarak Dinoflagellates biyokütle bolluğu.....	89
Şekil 34. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgC / m <sup>3</sup> olarak Cryptophyte biyokütle bolluğu.....	90
Şekil 35: Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgK / m <sup>3</sup> olarak Dictyochale biyokütle bolluğu.....	91
Şekil 36. ETS-200m istasyonunda yıl boyunca gözlenen Karışık Tabaka Derinliği ve Işıklı Tabaka Derinliği. KTD (a) sıcaklık profili üzerinde beyaz çizgi olarak çizilirken, ITD (b) Fotosentetik Aktif Radyasyon (FAR) verileri üzerinde gösterilmektedir. ....	95
Şekil 37. ETS-200m istasyonunda çözülmüş oksijen konsantrasyonu (a), yüzde oksijen doygunluğu (b) ve görünür oksijen kullanımı- GOK (c). Her şekilde beyaz çizgiler KTD'ni temsil eder. ....	96
Şekil 38.ETS-200m istasyonunda örnekleme dönemlerinde partikül organik karbon ve partikül organik azot arasındaki oran.....	97
Şekil 39. Eylül 2016 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir.....	103
Şekil 40. Ekim 2016 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan diğer taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir.....	105
Şekil 41. Kasım 2016 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi.“Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan diğer taksonları göstermektedir. Eğer tür	



düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir. .... 106

Şekil 42. Ocak 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir. .... 107

Şekil 43. Şubat 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir. .... 108

Şekil 44. Mart 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir. .... 109

Şekil 45. Nisan 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir. .... 111

Şekil 46. Mayıs 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir. .... 112

Şekil 47. Haziran 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir. .... 113

Şekil 48. Temmuz 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir. .... 115

Şekil 49. Ağustos 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir. .... 117

Şekil 50. Alfa çeşitlilik (gözlemlenen OTBler) rarefaksiyon çizimi. .... 118

Şekil 51. Üç farklı alfa çeşitlilik ölçütünün örneklerdeki değişimi: Faiths PD (filogenetik çeşitliliğini hesaplar), filogenetik olmayan Shannon indeksi ve OTU'ların gözlemlenen sayısı. Örnek isimleri ay.yıl.derinlik olarak kodlanmış ve örnekleme dönemi sırasına göre verilmiştir. .... 119

Şekil 52. Faiths PD indeksi ve toplam klorofil değerlerinin dağılımı ..... 120

Şekil 53. PCoA sonuçları. Analiz Bray- Curtis farklılığı (her bir bölgedeki sayımlara dayanan iki farklı alan arasındaki bileşim farklılığı) ölçüsü kullanılarak yapılmıştır. Renklendirmeler örneğin alındığı su kütlelerinin sıcaklığına yapılmıştır (kırmızı: sıcaklık verisi yok). Zaman serileri verilerini görselleştirmek için ayların gösterildiği hipotetik eksen yerleştirilmiştir. Eksen örnekleme tarihinin ilk başladığı ay olan Eylül ayından (soldan) son örnekleme tarihi Ağustos'a (sağda) kadar. Birbirine yakın konumlanan örnekler birbirlerine en benzer örnekleri gösterir. .... 122

Şekil 54. PCoA sonuçları. Analiz Ağırlıksız UniFrac Uzaklık (Unweighted Unifrac Distances) farklılığı (Hesaplama gözlemlenen organizmalar arasında filogenetik mesafeler katılarak topluluk üyelerinin görece ilgili olmaları hakkında bilgi içerir) ölçüsü kullanılarak yapılmıştır. Renklendirmeler örneğin alındığı su kütlelerinin sıcaklığına yapılmıştır (gri: sıcaklık verisi yok). Zaman serileri verilerini görselleştirmek için ayların gösterildiği hipotetik eksen yerleştirilmiştir. Eksen örnekleme tarihinin ilk başladığı ay olan Eylül ayından (soldan) son örnekleme tarihi Ağustos'a (sağda) kadar. Birbirine yakın konumlanan örnekler birbirlerine en benzer örnekleri gösterir. .... 123

Şekil 55. Kanonik korelasyon sonuçlarını içeren triplot. Sayısal çevresel parametreler oklar ile gösterilirken kategorik değişkenler (Sezon, ITD) metin olarak gösterilmektedir. Her bir OTB turuncu halka ile gösterilirken örnekler ise içi dolu renkli yuvarlaklarla tanımlanmıştır. Farklı

derinliklerden alınmış örnekler farklı renklendirilmiştir. Eksen özdeğerler (eigenvalues) ve onların CCA1 ve CCA2'nin ortalama karekök olumsuzluk katsayısına katkısı sırası ile 0,3277 (21,07%) ve 0,1323 (%0,08507)'dir. İstatistiki olarak anlamlı bulunan ilk üç kanonik eksenin yüzde inertia oranları sırasıyla, %21,07, %8,507 ve %3,8'dür.....	127
Şekil 56. Hidroksilaminden nitrit oluşturan bakterilerin bolluk (gen/ml) değişimi.....	129
Şekil 57. Nitrat'tan nitrit oluşturan bakterilerin bolluk (gen/ml) değişimi. ....	129
Şekil 58. Nitrojen fiksasyonu gerçekleştiren bakterilerin bolluk (gen/ml) değişimi. ....	130
Şekil 59. Örneklerdeki KEGG yolak sınıfları; R1-R4 = Kasım 2016, R5-R8 = Şubat 2017, R9-R12 = Haziran 2017 ve R13-R16 = Temmuz 2017 örneklerini temsil etmektedir. ....	131
Şekil 60. Biyolojik azot döngüsünde rol oynayan anahtar genler: 1, nitrat redüksiyonu; 2, denitrifikasyon; 3, azot fiksasyonu; 4, aerobik amonyak oksidasyonu; 5, aerobik nitrit oksidasyonu; 6, amonyuma indirgeyici nitrit redüksiyonu (DNRA); 7, anaerobik amonyak oksidasyonu. Genler: Nar / Nap, dissimilatory nitrat redüktaz; NirK / NirS, NO-oluşturan nitrit redüktaz; Nor, Nitrik oksit redüktaz; nod; nitrik oksit dismutaz; Nos, azot oksit redüktaz; Nif, nitrojenaz; Amo, amonyak monooksijenaz; Hao, hidroksilamin oksidoredüktaz; Nxr, nitrit-nitrat oksidoredüktaz; Nrf, assimilatory amonyak oluşturan nitrit redüktaz; Hzs, hidrazin sentaz. (Şekil Rasigraf vd., (2017)'dan alınmıştır).....	132
Şekil 61. amoA geninin örnekler arasındaki değişimi.....	133
Şekil 62. NarG/NarA genlerinin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim. ....	135
Şekil 63. NirK/NirS genlerinin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim. ...	136
Şekil 64. NorB geninin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim.....	137
Şekil 65. NosZ geninin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim. ....	137
Şekil 66. PhoX geni milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim ve su kolonu toplam inorganik fosfat konsantrasyonları. Hesaplamalar örnekleme yapılan her bir ardışık derinlik arasındaki alan hesaplanarak yapılmıştır (T. Moutin & Raimbault, 2002). Şubat ayı 200m'lik örnekte inorganik fosfat ölçümü olmadığından hesaplama sırasında 150m'de ölçülen değer kullanılmıştır.....	138
Şekil 67. Ocak-Aralık 2017 arasında ETS-200'de nitrifikasyon hızlarının (nmol / l / s) dikey profilleri (üst), nitrit konsantrasyonlarına (alt) kıyaslaması. ....	140
Şekil 68. Nitrifikasyon oranları ile (N) besinlerin ilişkisi. Nitrit (üst), Nitrat (orta) ve Amonyum (alt) .....	141

Şekil 69. Ocak-Aralık 2017 tarihleri arasında ETS-200'de dört derinlikte nitrifikasyon hızlarının (nmol/l/s) ortalama ve standart sapması (üst) ve ETS-200'de mevsimsel nitrifikasyon hızlarının (nmol /l/s) ortalama ve standart sapması Ocak-Aralık 2017 (alt). .....	142
Şekil 70. Fiziksel modelin örnekleme yılı için tahmin ettiği (A) sıcaklık, (C) tuzluluk ve (E) türbülanslı kinetik enerji değerleri. Ek olarak karşılaştırma için yerinde ölçülen (B) sıcaklık ve (D) tuzluluk değerleri. Ölçüm grafiklerinde ölçüm yapılan zamanlar dikey çizgilerle ve tarihleriyle belirtilmiştir .....	150
Şekil 71. Literatürden alınan parametre değerleri ile yapılan simülasyon tahminleri ile ölçülen değerlerin karşılaştırılması. ....	153
Şekil 72. PEST optimizasyon algoritmasının objektif fonksiyonu ve dolayısıyla tahmin-ölçüm farkını iteratif bir şekilde minimize etmesi.....	154
Şekil 73. PEST ile tahmin edilen parametre değerleri kullanılarak yapılan simülasyon tahminleri ile ölçülen değerlerin karşılaştırılması. ....	157
Şekil 74. Yeni parametre değerleri kullanılarak yapılan simülasyonun nitrifikasyon hızı için yaptığı tahminlerin proje kapsamında izotop yöntemi ile ölçülen değerlerle karşılaştırılması .....	157



## Tablo Listesi

Tablo 1. Biyokütle hesabı için fitoplankton topluluğunun biyo-hacmi, karbon ve azot içeriği .	36
Tablo 2. Örnekleme tarihleri ve yüzey ile 200m'ye ait deniz suyu sıcaklık verileri.....	37
Tablo 3. Örneklerin filtre üzerine süzölebilen miktarları .....	40
Tablo 4. RNA örnekleri kalite ve miktar değerleri.....	41
Tablo 5. Modelin tahmin ettiği bilinmeyenler (Model Öğeleri), modelde bunlar için kullanılan semboller ve içerdikleri elementler.....	52
Tablo 6. Parametre tahmini yapılırken kullanılan veri setleri, verilerin ölçüldüğü derinlikler ve tekabül ettikleri model öğeleri.....	55
Tablo 7. Tahmini yapılan model parametreleri .....	56
Tablo 8. Veri istatistikleri .....	101
Tablo 9. Dört taksanın fiziksel ve kimyasal parametrelerle olan ilişkisini gösteren istatistik sonuçları.....	125
Tablo 10. Tekrarlar dahil olmak üzere tüm oksidasyon hızları (nitrifikasyon) verilerinin istatistikleri.....	143
Tablo 11. Mevsimlerin ve farklı derinliklerin oksidasyon hızları (nitrifikasyon) istatistikleri ..	144
Tablo 12. Replikatlar dahil olmak üzere tüm azot fiksasyon oranlarının istatistikleri .....	146
Tablo 13. Ocak-Aralık 2017 dönemi için ETS-200'de azot fiksasyon oranları. ....	148
Tablo 14. Parametre tahmini öncesi ve sonrası modelin nitrat, fosfat ve klorofil a değerleri için tahmin kapasitesini gösteren hataların ortalama kare kökü ( <i>ing.</i> root mean squared error), sapma ( <i>ing.</i> bias) ve korelasyon ( <i>ing.</i> correlation) değerleri. ....	158
Tablo 15. Parametre tahmin sistemine başlangıç koşulu olarak verilen parametreler, objektif fonksiyonunu minimize eden yeni parametre değerleri ve bunların yüzdelerlik farkları .....	158
Tablo 16. KKA Sonuçları .....	182



## Özet

ODTÜ Deniz Bilimleri Enstitüsü tarafından Mersin Körfezi'nde 1997 yılından bu yana sürdürülen Erdemli Zaman Serisi (ETS) programı dahilinde ölçülen değişkenlere ek olarak, bu proje kapsamında toplam su kolonu derinliği 200 metre olan istasyonda altı farklı derinlikten bir yıl boyunca aylık periyotlarda deniz suyu örnekleme yapılmıştır. Bu örneklerde yeni nesil dizileme yönteminin kullanıldığı ampikon dizilemesi (metagenomik) analizleri yapılarak biyojeokimyasal döngülerde önemli roller oynayan bakteri türleri tayin edilmiş, topluluk yapıları ve bolluklarının zamansal değişimi belirlenmiştir. Taksalar arasında Pelagibacteriacea'ya ait olan SAR11 kladının tüm derinlikler ve aylarda baskınlığı gözlenmiştir. Bu kladın üyeleri fonksiyonel olarak organik maddeyi oksitleyerek karbondioksit üreten heterotrofik bakterilerdir ve dolayısıyla biyojeokimyasal döngülerin remineralizasyon ayağında rol almaktadırlar. SAR11 kladının bolluğu yıl boyunca %22 ve %64 arasında değişim göstermiştir. SAR11 kladının ekotipleri olan Clade Ia ve Clade Ib ise derinliğe bağlı yayılım göstermektedirler. Clade Ia yüzey sularında baskınlık gösterirken Clade Ib'nin derin sularda komüniteye katkısı daha fazla olmaktadır. Bunun yanı sıra komünite yapısını belirleyen en önemli çevresel faktörler sıcaklık, nitrat, görünür oksijen kullanımı, sezon ve ışıklı tabaka derinliği olarak belirlenmiştir. Sezonlar arasındaki filogenetik çeşitlilik, belirgin olarak farklı bulunmuştur.

Bunun yanı sıra bakterilerin aktif metabolizmalarını tayin etmek için sezonluk olarak mRNA örnekleme yapılmış ve örnekler metatranskriptom yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu yöntem aracılığı ile bakteriler tarafından gerçekleştirilen biyokimyasal reaksiyonların aktif ve inaktif oldukları dönemler saptanmıştır. Nitrifikasyonun ilk basamağı olan amonyak oksitlenmesi Kasım ayında oldukça yüksek bulunmuştur. Ancak nitrifikasyonun ikinci basamağı olan nitritin nitrate oksitlenme sürecine ait olan belirteç genlere herhangi bir örnekte rastlanmamıştır. Sisteme yeni azot girdisi sağlayan azot fiksasyonuna mRNA ifadelerinde rastlanmamıştır. Metatranskriptom yöntemine elde edilen bulgulara ek olarak nitrifikasyon ve azot fiksasyon süreçleri izotop yöntemi ile de her ay dört farklı derinlikten yapılan örnekleme ile araştırılmıştır. Nitrifikasyonun sadece afotik bölgede gerçekleşmediği görülmüştür. Azot fiksasyonu belirteç genlerine rastlanmadığı halde izotop yöntemi ile yapılan çalışmada azot fiksasyonu tüm yıl boyunca ve tüm derinliklerde çok düşük de olsa tespit edilmiştir. Azot döngüsüne ek olarak, metatranskriptom çalışması ile kısıtlı inorganik fosfat varlığında aktive olan alkalik fosfataz'ın sezonluk değişimi de göstermiştir. Buna göre, ortamda düşük fosfat konsantrasyonları gözlemlendiğinde bakterilerin diğer fosfor kaynaklarına yöneldiği gözlemlenmiştir.

Bunlara ek olarak denizdeki biyokimyasal döngüleri sayısal olarak temsil eden ve tahminleri direkt olarak ölçümlerle karşılaştırılabilecek bir modelleme sistemi bölgeye uyarlanmıştır. Bu

modelleme sistemi bir parametre tahmin algoritması ve proje kapsamında yapılan ölçüm verileri ile birleştirilerek modelde reaksiyon hızlarını kontrol eden parametrelerin tahmini yapılmıştır. Bu tahmin sonucunda ortaya çıkan nitrifikasyon hızları izotop yöntemi ile yapılan nitrifikasyon hızları ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma reaksiyon hızları tahmini için modelleme sistemi ve parametre tahmini kullanımının zor olan izotop yöntemine alternatif bir yöntem olma potansiyelini göstermiştir.

Yapılan bir yıllık gözlemler, kullanılan izotop yöntemleri ve modelleme yaklaşımı bölgedeki bilimsel bilgiye önemli katkılar sağlamıştır. Bakteri topluluk yapıları Türkiye kıyılarında ilk defa kültür bağımsız yöntemlerle ortaya konmuştur. Bunun yanı sıra izotop yöntemleri ve yapılan metatranscriptom çalışması bölgede azot fiksasyonunun baskın bir süreç olmadığını ortaya koymuştur. Biyojeokimyasal bir modelleme sistemi başarıyla bölgeye uyarlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Akdeniz, denizel bakteriler, metagenom, metatranscriptom, sayısal deniz modelleri, biyojeokimya



## Abstract

In addition to the measured variables within the Erdemli Time Series (ETS) monitoring program carried out in Mersin Bay since 1997 by the METU-Institute of Marine Sciences, sea water sampling was performed where the total water column depth is 200 meters and from six different depths monthly for one year. These samples were analyzed by next generation sequencing using amplicon sequencing (metagenomic) approach and the bacterial species that play important roles in biogeochemical cycles and the temporal changes of community structures and abundances were determined. SAR11 clade belonging to Pelagibacteriacea was the most dominant taxa in all depths and months. SAR11 is ubiquitous in the seas and replicate under the most limiting nutrient conditions. The abundance of the SAR11 clade throughout the year ranged between 22% and 64%. Clade Ia and Clade Ib, the ecotypes of the SAR11 clade, showed depth-dependent distribution. Clade Ia dominated the surface waters, while Clade Ib contributes the most to the community in deeper waters. The most important environmental factors that determine the community composition were determined to be; temperature, nitrate, apparent oxygen utilization, season and euphotic zone depth. Phylogenetic diversity between seasons was found to be significantly different.

Furthermore, to determine the active metabolism of bacteria mRNA samples were collected seasonally and analyzed by metatranscriptomics approach. By using this approach, active and inactive periods of biochemical reactions mediated by bacteria was discovered. Ammonia oxidation, the first step of nitrification, was found to be high in November. However, marker genes that are belong to nitrite oxidation to nitrate which is the second step of nitrification, have not been detected in any samples. Indicator genes of nitrogen fixation which provides new nitrogen to the system was not found in mRNA expressions. In addition to the findings obtained from the metatranscriptomics study, nitrification and nitrogen fixation processes were investigated using isotope measurements from four different depths each month. It was observed that the nitrification did not occur only in the aphotic zone. Nitrogen fixation was not detected in the indicator genes, but in the study conducted with isotope method, even with low levels, nitrogen fixation was determined throughout the year and depths. Additionally, to the nitrogen cycle, the seasonal change of alkaline phosphatase activity which is active especially during inorganic phosphate limitation was also identified by the metatranscriptomics study. Accordingly, when low phosphate concentrations were observed in the environment, it was observed that bacteria adapt to use other phosphorus sources.

Furthermore, a modeling system that represents the marine biochemical cycles numerically and whose estimates can be compared directly with the measurements was adapted to the region. This modeling system was combined with a parameter estimation scheme and





measurements obtained in the project, and the parameters controlling the reaction rates in the model were estimated. Nitrification rates according to the estimations were compared with the results of nitrification rates obtained by isotopic measurements. This comparison showed the potential of using modeling system and parameter estimation as an alternative approach to the hard isotope measurements for estimating reaction rates.

One-year long observations, isotope methods used and modeling approach have made significant contributions to scientific knowledge in the region. Bacterial community structure have been revealed by culture-independent method for the first time in the coasts of Turkey. In addition, isotope methods and metatranscriptom study showed that nitrogen fixation is not a dominant process in the region. And a biogeochemical modeling system has been successfully adapted to the region.

**Keywords:** Mediterranean, marine bacteria, metagenomics, metatranscriptomics, numerical ocean models, biogeochemistry

## 1. GİRİŞ

Denizel üreticiler (ototrof canlılar) güneş ışığından elde ettikleri enerjiyi kullanarak karbon dioksit, nitrat ve fosfat gibi inorganik besinleri bünyelerinde organik maddeye dönüştürürler. Bu organizmalar tarafından üretilen organik maddeler, mikroskoik canlılardan başlayarak son tüketiciye kadar uzanan denizel besin ağının tüm öğelerine direkt veya dolaylı olarak besin sağlamaktadır.

Heterotrofik bakteriler ise organik maddeyi geri dönüştürmeleri sebebi ile denizlerdeki biyojeokimyasal döngüler içerisinde merkezi bir role sahiptirler. Bu işlevleri onları iklim değişikliği ve ötrofikasyon gibi günümüzün en büyük çevresel sorunları açısından çok önemli kılmaktadır. Ayrıca bakteriler, üretilen organik maddenin yüzey tabakalarında kalan ve deniz tabanına çökelen miktarını kontrol ederek atmosferden deniz tabanına aktarılan karbon miktarını belirlerler.

Diğer yandan, bazı ototrofik bakteri türleri nitrat ve amonyak gibi denizlere nehirler ve atmosferik çökeltme yoluyla giren besinlere gerek duymadan, azot ihtiyaçlarını çözünmüş azot gazını bağlayarak giderirler. Dolayısıyla denizlerdeki azot döngüsü çalışmalarında bu bakteri türlerinin de dikkate alınması gerekmektedir.

Denizlerde oynadıkları birçok önemli role rağmen bakteriler denizel biyojeokimyasal döngülerin içerisinde yer alan öğeler arasında en az bilinenleridir. Bunun nedeni ise topluluk yapılarının karmaşık olması ve çoğu denizel bakteri türünün kültür edilip laboratuvar ortamında çalışılmamasıdır.

Son yıllarda geliştirilen ve genetik analizler içeren metagenomik ve metatranskriptomik yöntemler denizel bakterilerin kültür edilmeden çalışılmalarını mümkün kılmıştır. Bu yöntemler kullanılarak bakterilerin topluluk yapıları, bollukları ve metabolizmalarının aktif olduğu dönemler detaylı bir biçimde çalışılabilmektedir.

### 1.1 Amaçlar

Ölü ve atık maddelerin organik yapılarının inorganik maddelere geri dönüştürmelerinden dolayı bakteriler birincil üretimden başlayarak son tüketiciye (denizlerde balık, memeli ve kuşlar) kadar uzanan besin ağının tüm öğelerinin popülasyon dinamiklerinin belirlenmesinde ve yüzey tabakalarından derinlere aktarılan organik madde miktarının belirlenmesinde önemli roller oynamaktadırlar.

Akdeniz gibi besin girişi az olan oligotrofik denizlerde bu roller özellikle çok önem taşımaktadır. Ancak bu işleve sahip birçok bakteri türünün kültür edilip laboratuvar ortamında çalışılması

günümüzde mümkün değildir. Bu da bu bakterilerin gerçekleştirdiği işlevlerin detaylı çalışılmasını engellemektedir.

Bu kapsamda projede bakterilerin gerçekleştirdiği biyojeokimyasal reaksiyonlar detaylı olarak çalışılmış ve genetik analizler içeren ve bakterilerin kültür edilmesini gerektirmeyen yeni yöntemler kullanarak aşağıdaki amaçlara ulaşılmıştır:

- **Akdeniz'deki biyojeokimyasal döngülerinde önemli rol oynayan bakteri toplulukları tanımlanmış, topluluk yapıları ve bu yapılardaki mevsimsel değişiklikler belirlenmiştir.**
- **Yapılan izotop deneyleri ve metatranskriptom çalışması ile bakterilerin aktif metabolizmalarındaki değişimler ortaya konmuştur.**
- **Biyojeokimyasal döngülerde önemli roller oynayan bakteriler tarafından gerçekleştirilen reaksiyonların hızlarındaki mevsimsel değişiklikleri açıklığa kavuşturmak amacıyla kullanılacak ve sayısal modelleri, yüksek sıklıkta yapılan fiziksel, kimyasal ve biyolojik gözlemleri birleştiren yeni bir yöntem geliştirilmiştir.**
- **Proje çıktıları, ülkemizdeki bilim insanlarıyla paylaşılabilmesi için ve yaygınlaştırılması adına aşağıdaki web adresinde yayınlanmaya başlanmıştır. Web- adresi: <http://dekosim.ims.metu.edu.tr/dekosim/Tubitak115Y629>**

## 1.2 Akdeniz'in Genel Oşinografik Özellikleri

### 1.2.1 Fiziksel Özellikler

Akdeniz, buharlaşmanın yoğunlaşmayı aştığı bir yoğunlaşma havzasıdır. Türk Boğaz Sistemi ile Karadeniz'e, Süveyş Kanalı üzerinden Kızıl Deniz'e ve Cebelitarık Boğazı ile Atlantik Okyanusu'na bağlanır. Eşik derinliği 500 m olan Sicilya Boğazı ile Batı ve Doğu olmak üzere iki havzadan oluşmaktadır (Bergamasco ve Malanotte-Rizzoli, 2010). Akdeniz'in doğu kısmı hacim ve alanca daha büyüktür. Çalışma Doğu Akdeniz'in Levant Baseni olarak bilinen havzasında yapılırken, Ege Denizi ve İyon Denizi de Doğu Akdeniz'in diğer iki havzasıdır.

Akdeniz, Cebelitarık boğazı üzerinden Atlantik Okyanusu'na bağlanır. Ana dolaşım, yüzeyde Atlantik suyu girdisi olarak tarif edilir ve bu akıntı doğu Akdeniz'e ulaşır ve tekrar Levant Baseni'nde oluşan ara su olarak geri döner. Atlantik suyu Batı Akdeniz'de siklonik dolaşım sergiler ayrıca orta ölçekli ve büyük girdaplar aracılığı ile Atlantik suyu iç kesimlere taşınır (Tanhua vd., 2013). Levanten havzası, nispeten daha yüksek ısı akısına sahiptir ve bu

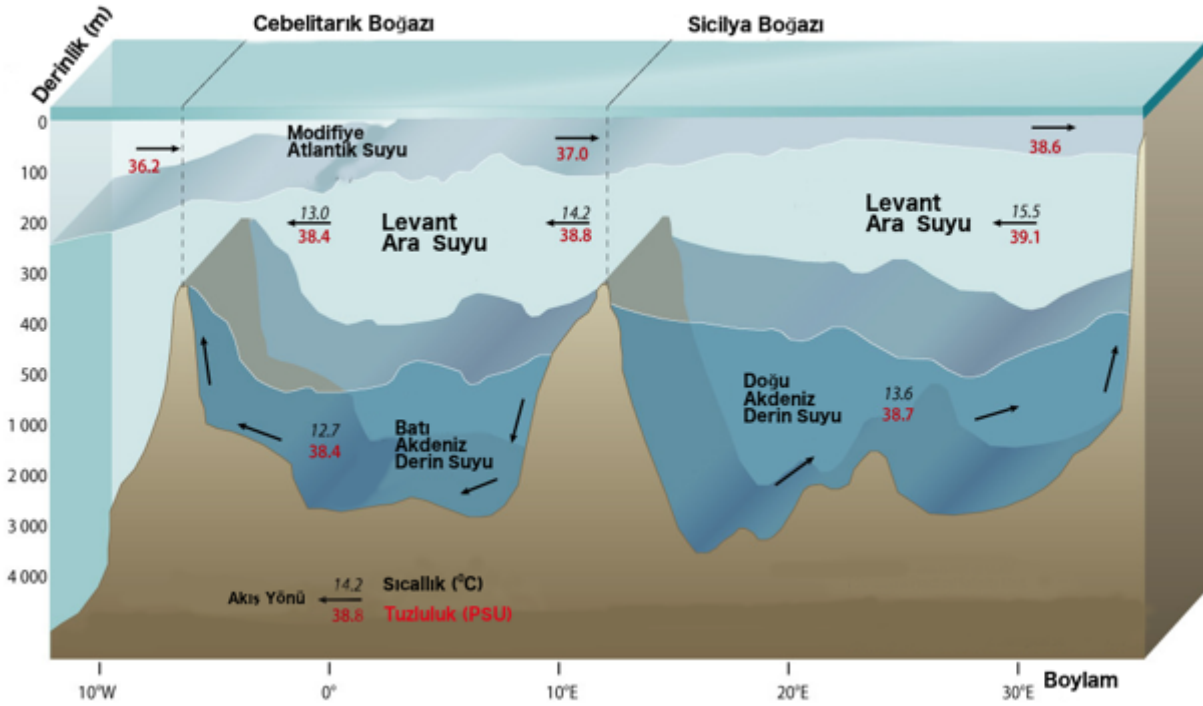
tabakalaşmaya neden olur, bu nedenle havza ölçekli sirkülasyon, termohalin zorlamanın bir sonucudur.

Levant Havzasındaki ısı kaybı, az tuzlu Atlantik yüzey suyunun girişi ile telafi edilmektedir (Malanotte-Rizzoli vd., 2014). Yüzey sularının orta sulara ve derin sulara dönüşümü, Atlantik suyunun Doğu Akdenize doğru akarken suyun aşağı doğru hareketinin okyanus koşullarıyla ve hava-deniz etkileşimleriyle desteklendiği alanlarda meydana gelir. Bu dönüşüm yüzey ve derin sular arasında fiziksel ve biyokimyasal özelliklerin değişimi açısından önemlidir. Batı havzasında derin sular Lions Körfezinde kışın soğuma ve buharlaşma sırasında oluşur. Adriyatik Denizi'nin güney kısmı ise doğu Akdeniz'deki derin su oluşumuna katkıda bulunur. Levant Ara Suyu (Levantine Intermediate Water - LIW), yaklaşık 200-500 m derinlikte ve 29.0-29.1 kg/m<sup>3</sup> potansiyel yoğunlukta bir tuzluluk maksimum tabakası olarak tanımlanmaktadır (Malanotte-Rizzoli ve Hecht, 1988). Levant Ara Suyu'nun oluşum alanlarının Rodos'un doğusu ve muhtemelen Girit Denizi olduğu bildirilmektedir.

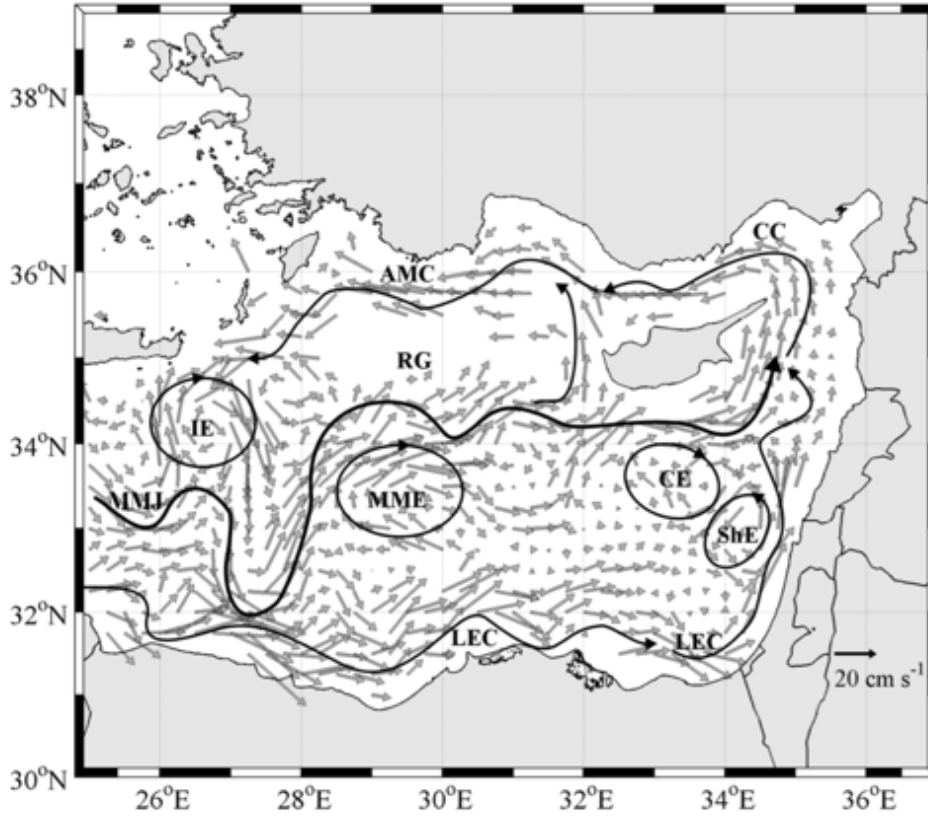
Bölgedeki yıllar arasındaki atmosferik değişimlerin Levant Ara Suyu'nun bu bölgelerde oluşmasında etkili olduğu ileri sürülmektedir (Lascaratos, vd., 1999). Bu bölgelerde oluşan Levant Ara Suyu dallanarak doğuya Levant havzasına ve batıya İyon denizine doğru yayılır. Batıya doğru yayılan Levant Ara Suyu Adriyatik Denizine doğru akarak derin su oluşumuna katkıda bulunur (Tanhua vd., 2013). Doğu Akdeniz Geçiş (Eastern Mediterranean Transient-EMT) olarak bilinen ve ilk olarak Physical Oceanography of the Eastern Mediterranean (POEM) tarafından bildirilen oluşum Adriyatik Denizi kaynaklı derin sularla birlikte Ege Denizi'nin, derin suların oluştuğu bir başka bölge olduğunu bildirmektedir. Ege kökenli derin suyun karakteristiği, Adriyatik kökenli olana göre daha sıcak ve tuzludur. Ege Denizi'ne yüksek tuzlu suların girmesiyle birleşmiş çok şiddetli kışlar, Ege kaynaklı derin su oluşumunun ortaya çıkması sürecidir. Adriyatik-İyon Bimodal Salınım Sistemi (BiOS-Adriatic-Ionian Bimodal Oscillation System (Gačić vd., 2011)), Levant Ara Suyu'nun termohalin özelliklerini etkilemekte ve doğu Akdeniz derin suları kaynak bölgelerinden olan Adriyatik ile Ege Denizi'nin sisteme katkısı arasındaki değişimleri açıklayabilmektedir.

Levanten havzası farklı su kütlelerine sahiptir. Yüzeyde, tabakalaşmanın yoğun olarak görüldüğü dönemlerde yüzey karışım suyu içerisinde, en yüksek sıcaklık ve tuzluluk ölçümleri ile temsil edilen Levant Yüzey Suyu (LSW) bulunmaktadır. Değişmiş Atlantik Suyu (kuzey havzada MAW- düşük sıcaklık 15 °C ve tuzluluk 36,2 psu ve Levanten havzasında 36,8 psu), Atlantik Okyanusu ve Levanten Ara Suyundan (LIW) Levanten Havzasına ulaşır. Kuzey Levanten Havzasında ve Levanten Derin Suyunda (LDW) yerel olarak oluşmuştur (Özsoy vd., 1993). Alt yüzey tuzluluğunda gözlemlenen minimum, daha tuzlu ve daha sıcak olan Levantine Yüzey Suyu (LSW) altında AW'nin varlığını gösterir (Bingel vd., 1993).

Doğu Akdeniz'de Rodos (siklonik), batı Kıbrıs (antisiklonik), Mersa Matruh (antisiklonik) ve Shikmona (antisiklonik) olmak üzere dört büyük girdap vardır. Çalışma alanı için önemli bir yüzey akıntı sistemi olan ve Rodos ile Mersa Matruh girdapları arasından doğuya Levant havzasına doğru akan Orta Levanten Havzası Akımı (Central Levantine Basin Current - CLBC) Güney Kıbrıs kıyıları ile Shikmona girdabı arasında ikiye ayrıldıktan sonra, CLBC'nin önemli bir kolu Kıbrısın doğusundan kuzeye doğru akar ve Türkiye'nin güney kıyılarından batıya doğru akan Asya Minor Akıntısı (Asia Minor Current – AMC) sistemine katılmaktadır (Bingel ve diğerleri, 1993; Roussenov, Stanev, Artale ve Pinardi, 1995) (Şekil 2). Türkiye'nin güney kıyıları boyunca batıya doğru akan AMC akıntı sistemi çalışma alanına doğudan etki etmektedir.



Şekil 1. Akdeniz Su Kütleleri (<http://www.grida.no/resources/5885>)

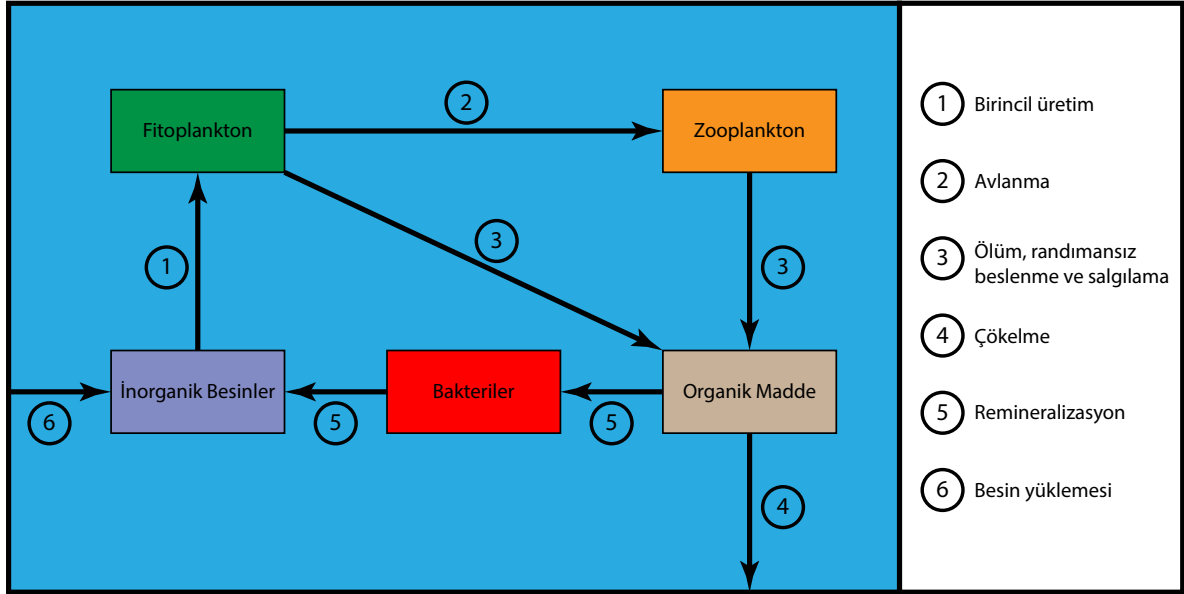


Şekil 2. Levant Havzası'ndaki ana dolaşım ve girdaplar. RG: Rhodes Gyre, CE: Kıbrıs Eddy, IE: Ierapetra Eddy, LEC: Libyo-Mısır Akımı, AMC: Küçük Asya Akımı, MME: Mersa Matruh Eddy, ShE: Shikmona Eddy, CC: Kilikya Akımı, MMJ: Orta Akdeniz Jeti. 1992 ve 2010 yılları arasındaki ortalama mutlak jeostrofik hızlar gri oklar olarak temsil edilir (Malanotte-Rizzoli vd., 2014).

### 1.2.2 Biyojeokimyasal Özellikler

Tüm dünya denizlerindeki biyojeokimyasal döngüler içerdikleri ana bileşenler ve süreçler göz önünde bulundurulduğunda birbirleriyle benzer bir yapı sergilemektedirler. Pelajik biyojeokimyasal döngülerin genel yapısı Şekil 3'de verilmiştir. Canlılar için önemli olan karbon (C), azot (N), fosfor (P), silikon (S) ve demir (Fe) gibi elementlerin döngülerinin tümü ana hatlarıyla Şekil 3'de verilen bu yapıya uymaktadır. Fitoplanktonlar tarafından gerçekleştirilen birincil üretim inorganik besinlerin güneş ışığından elde edilen enerji kullanılarak organik forma dönüşmesinden oluşmaktadır (Şekil 3, Süreç 1). Fitoplanktonlar inorganik karbon olarak karbondioksit kullanırlar ve bu maddenin suda çözünübilirliği yüksek olduğundan ve dolayısıyla denizlerde yüksek seviyede bulunmasından dolayı ekosistem dinamikleri üzerindeki kontrolü azdır. Buna kıyasla N, P, S ve Fe'nin denizlerdeki derişimi göreceli olarak azdır ve bu maddelerin derişimindeki dinamiklerin canlıların üretkenliği üzerindeki etkileri büyüktür.

İnorganik besinlerden azot içeren amonyum, nitrit ve nitrat; fosfor içeren fosfat; ve silikon içeren çeşitli silikat türleri fitoplanktonlar için önemli besin kaynağı teşkil ederler.



Şekil 3. Denizlerdeki biyojeokimyasal döngülerde önemli roller oynayan bileşenler ve bu bileşenler arasında madde akışını belirleyen süreçler (Libes, 2009).

Fitoplanktonların inorganik besinleri kullanarak ürettikleri ve bünyelerinde barındırdıkları organik madde avlanma yoluyla zooplankton bünyelerine geçer (Şekil 3, Süreç 2). Zooplankton ve fitoplanktonların ölümleri, randımsız beslenmeleri ve metabolik regülasyon için hücre dışına madde salgılamaları sistemde organik madde üretimine neden olur (Şekil 3, Süreç 3). Organik maddenin özellikle partikül içeren kısmı çökerek deniz tabanına ulaşır ve bentik ekosistem için besin kaynağı olur (Şekil 3, Süreç 4). Organik maddenin önemli bir kısmı ise bakteriler tarafından kullanılarak *remineralizasyon* ismi verilen süreç aracılığıyla inorganik besinlere dönüştürülür (Şekil 3, Süreç 5). Bakteriler gerçekleştirdikleri bu süreç ile inorganik besinlerin geri dönüşümünü sağlarlar ve dolayısıyla besin zincirinin tabanını teşkil eden fitoplanktonların dinamiklerinde önemli bir rol oynarlar. Şekil 3'de 1→2→3→5 süreçlerinden oluşan döngüye *mikrobiyal döngü* ismi verilmektedir.

Akdeniz yüzey sularında düşük inorganik besin derişimlerine ve dolayısıyla düşük üretkenliğe sahip *oligotrofik* bir denizdir (Zenetos vd.,2001). Bunun birkaç nedeni bulunmaktadır: (1) Atlantik'ten gelen yüzey suyunun düşük besin derişimli, alt tabakadan Atlantik'e akan Akdeniz suyunun ise göreceli olarak yüksek besin derişimine sahip olması ve dolayısıyla net besin akışının Akdeniz'den Atlantik'e olması (Huertas vd., 2012) (2) yüzey sularına derinlerden gelen besin akışının yüksek tabakalaşma nedeniyle az olması ve (3) Akdeniz'e nehirlerden giren besin miktarının göreceli olarak az olması (Karydis ve Kitsiou, 2012).

Karadeniz ve Marmara gibi üretken denizler genellikle yüksek besin yüklemesi olan denizlerdir (Şekil 3, Süreç 6) (Yalçın vd., 2017, Strokal vd., 2013). Bu yükleme nehirler aracılığıyla yatay bir şekilde veya atmosfer kaynaklı karışım aracılığıyla dikey bir şekilde gerçekleşebilir. Böyle denizlerde besin yüklemesi ekosistem dinamiklerinde baskın etkidir ve remineralizasyon (Şekil 3, Süreç 5) nispeten düşük bir öneme sahiptir. Buna kıyasla Akdeniz gibi besin yüklemesi az olan denizlerde mikrobiyal döngü ve bu döngü aracılığıyla geriye dönüştürülen inorganik besinler önem kazanır (Hagström vd., 2012).

Remineralizasyon mikrobiyal döngüde yer alan en temel süreçlerden biridir ve bakteriler tarafından gerçekleştirilir. Bu süreç her element için farklı bir yol izler. Karbon solunum (respiration) aracılığıyla organik maddeden karbondioksit geri dönüştürülür ve organik maddeyi oluşturan moleküllerin çeşitliliği solunum gerçekleştiren *heterotrofik* bakteri komünitesini de çeşitli kılar. Solunum yapan bakteriler yan ürün olarak azot içeren amonyum üretir ve salgırlar. Amonyum ise yine bakteriler tarafından oksitlenerek nitrit ve nitrat dönüştürülür (Şekil 60). Amonyum, nitrit ve nitrat'ın üçü de fitoplanktonlar için inorganik azot kaynağı teşkil ederler. Fitoplanktonlar için bir başka temel besin kaynağı olan fosfat ise yine heterotrofik bakteriler tarafından fosfor içeren organik moleküllerden geri dönüştürülür (Thingstad vd., 2005).

Akdeniz'de remineralizasyon fonksiyonlarıyla rol oynayan bakterilerin dışında birincil üretime katkı veren bitkisel bakteriler (siyanobakteriler) de bakteri komünitesinin ve ekosistemin önemli bir bileşenini teşkil ederler (Uysal, 2006). Bu canlılarda küçük hücre boyutlarından dolayı hücre yüzey alanlarının hücre hacimlerine oranı yüksektir ve dolayısıyla besin alınımları (nutrient adsorption) randımanlıdır. Bu da onlara düşük besin seviyeli ortamlarda diğer fitoplankton gruplarına göre rekabet avantajı sağlar. Bu bakterilerin bazıları azot ihtiyaçlarını denizde bulunan çözünmüş nitrojen gazını kullanarak elde ederler ve bu sürece *azot fiksasyonu* denilmektedir. Ancak bu süreç metabolik açıdan pahalıdır ve ancak diğer azot kaynaklarının derişimlerinin çok düşük olduğu ortamlarda hücre için avantaj sağladığı düşünülmektedir. Bu sürecin Akdeniz'in bazı bölgelerinde azot döngüsünde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Zeev vd., 2008).

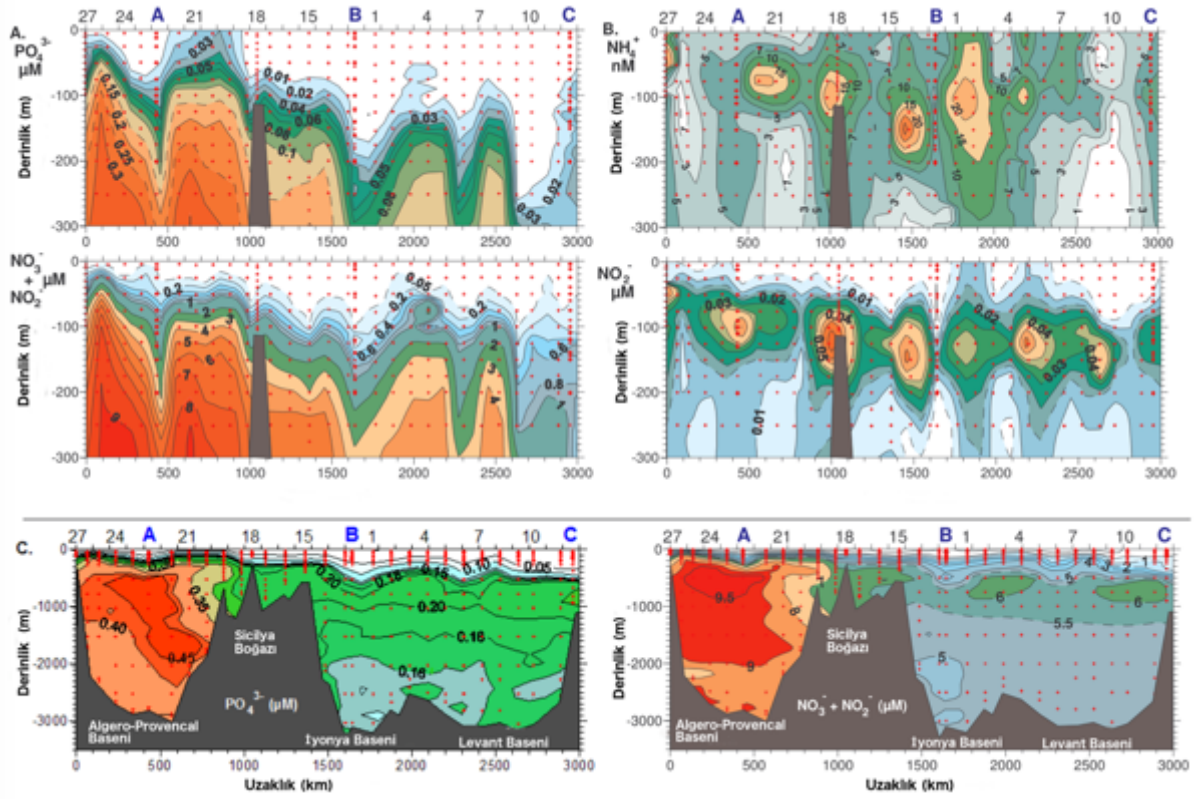
Akdeniz, yüksek popülasyona sahip topraklarla çevrilidir ve kıyı alanlarındaki birincil üretim karasal kaynaklı besin tuzlarının girdilerinden dolayı, birincil üretimin diğer faktörlerle kontrol edildiği açık denize oranla daha yüksektir. Kıyısız alanlar dışında, Akdeniz oligotrofik olarak sınıflandırılır ve özellikle Doğu Akdeniz'deki birincil üretim diğer oligotrofik denizlere oranla yarı yarıyadır (Berman-Frank ve Rahav, 2012; Krom vd., 2010). Bu derece az birincil üretim değerlerinin birincil nedeni Akdeniz'deki anti-estuarin dolaşımıdır. Akdeniz'e giren Atlantik Suyu inorganik besin tuzları yönünden tükenmiştir (Béthoux vd., 1998), bunun aksine Akdeniz'den



Atlantik'e akan derin su ise yüksek konsantrasyonlarda besin tuzları taşır (Béthoux vd., 2002). Anti-estuarin döngü, havzadan besinlerin sürekli olarak dışarı taşınması ile sonuçlanır. Özellikle, Doğu Akdeniz'de oluşan Levant Ara Suyu, yüzeydeki besin maddelerinin derin suya taşınmasına sebep olur ve bu derin su Akdeniz'i terkeder. Kıyısız kaynaklardan gelen besin girdilerinin yanı sıra, Akdeniz, kurak bölgelere yakınlığından dolayı atmosferden gelen mineral girdilerinin çok olduğu bir denizdir (Koçak vd., 2004). Kuzeydoğu Akdeniz'e atmosferden çözünmüş inorganik azot ve  $PO_4^{-3}$  girdisinin nehir girdisine oranı sırasıyla %90 ve %60 olarak rapor edilmiştir (Koçak vd., 2010). Krom vd., (1991) tarafından yapılan çalışma sonrasında tüm basenin P limitasyonuna sahip olduğu görüşü oldukça hakimdi. Bu durumun olası nedenleri, Krom vd., (2010) tarafından tartışılmış ve Doğu Akdeniz'e giren besin tuzlarının N/P oranının Redfield oranına göre daha yüksek olması ve denitrifikasyon hızının düşük oldumasından dolayı olduğu açıklanmıştır. Ayrıca, birincil üretim de rol alan organizmaların P niktarı ile sınırlanması besin tuzlarının levant baseninden taşınmasından kaynaklanmaktadır. Ancak, sisteme P ekleme deneyleri, sisteme ek olarak  $NH_4^+$  eklenene kadar başarısız olmuştur (Zohary vd., 2005). Yaz aylarında, Doğu Akdeniz'de yüzey fitoplankton komünitelerinin aslında N ve P ko-limitasyonu gösterdiği ve bakterilerin ise P-limitasyonu gösterdiği Zohary ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir.

Doğu Akdeniz yüzey suları nitrat ve fosfat konsantrasyonlarının (sırasıyla; 0,1-0,3 $\mu$ m ve 0,02-0,03 $\mu$ m) siklonik bölgeler haricinde düşük olduğu bilinmektedir (Yılmaz ve Tugrul, 1998). Derin suda ise N/P oranı 28/1 ile bilinen Redfield oranından fazladır (Kress ve Herut, 2001b). Burada vurgulanması gerekir ki, sistemin P limitasyonunun sebebi ya sistemde P olmamasından, ya P'nin öncelikli olarak kullanılmasından yada sisteme P'ye oranla daha fazla N girdisi olmasından kaynaklanmaktadır. Tümü sistemdeki besin tuzları dengesizliğine sebep olmaktadır.

Genel olarak, besin tuzu konsantrasyonları Doğu Akdeniz'de Batı Akdeniz'e oranla daha düşüktür ve iki basen farklı biyojeokimyasal özellik sergiler (Şekil 4).



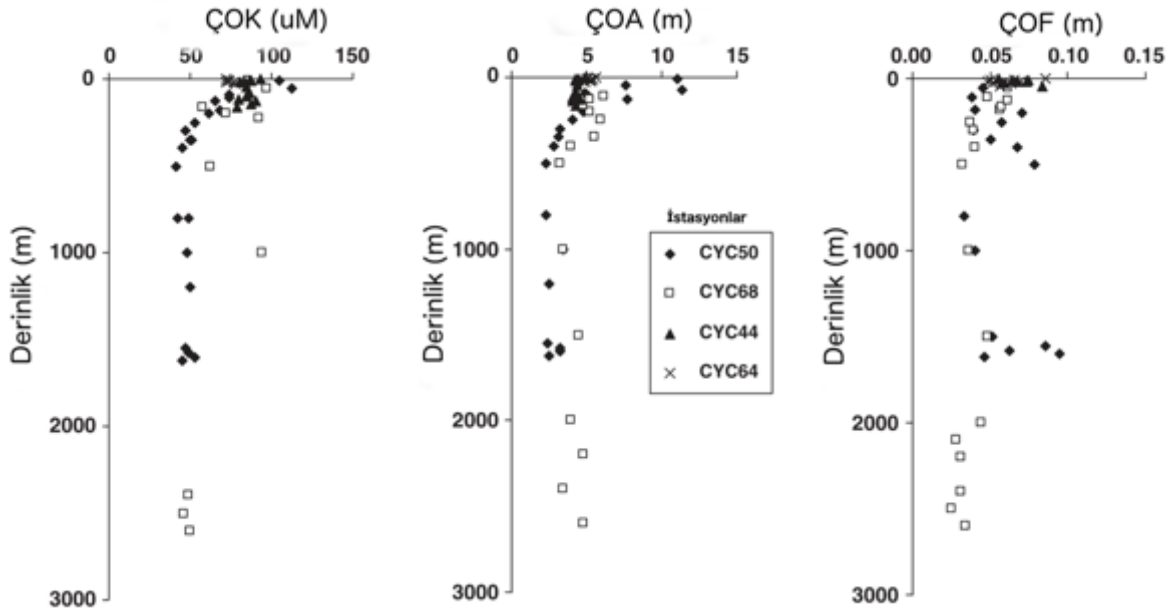
Şekil 4. Tüm Akdeniz'de besleyici element profilleri. Transekt boyunca (A) fosfat, nitrat + nitrit ve (B) amonyum ve nitrit (Şekil (Pujo-Pay vd., 2011) 'den alınmıştır).

Kış aylarında, yüze besin tuzlarını taşıyan kış karışımı sonrasında fitoplankton bolluklarında artış gözlemlendiği önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Yaz tabakalaşmasının gelişimi, Dip Klorofil Maksimum (DKM)'un da görülebileceği düşük besin düşük klorofil koşullarıyla örtüşmektedir. Yaz döneminde Doğu Akdeniz amonyak konsantrasyonları 30–80 nM olarak bildirilirken nitrit ve nitrat, <1–10 nM ve fosfat <2–4 nM olarak bildirilmiştir (Krom vd., 2005). Işıklı tabakada nitrat konsantrasyonları deteksiyon limitlerindeyken amonyak konsantrasyonlarının ölçülebilir düzeyde olması otlamanın (grazing) sistemde önemli bir süreç olduğu yönünde yorumlanmıştır. Çünkü amonyak (ve DOA) otlama aktivitesinin ilk ürünüdür (Krom vd., 2005)

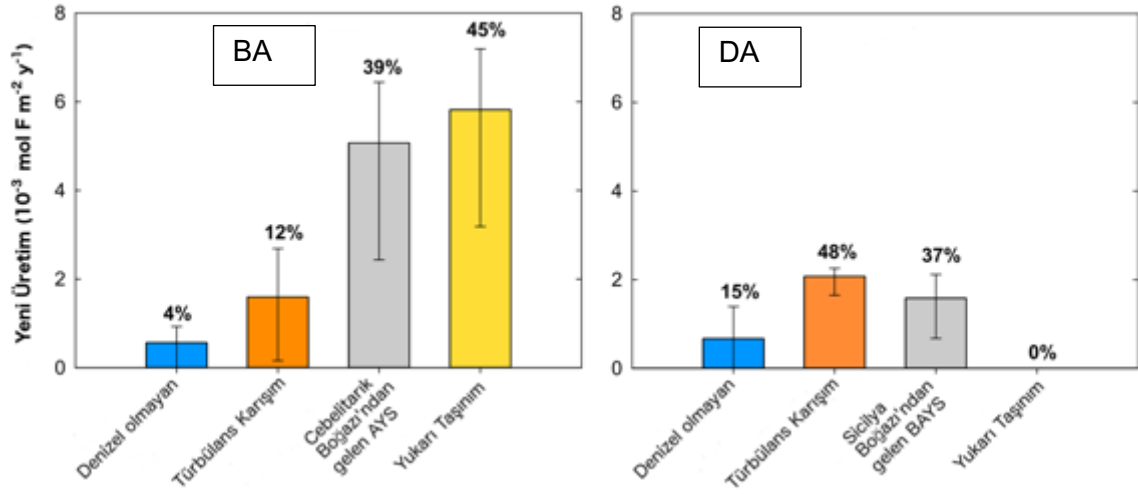
Besin tuzu yönünden düşük konsantrasyonları içeren yüzey suları ile ışıklı tabaka altındaki yüksek konsantrasyonlara sahip suları birbirinden ayıran kuvvetli nütriklin Doğu Akdeniz'de karakteristiktir ve batıya oranla daha derindedir (Pujo-Pay vd., 2011).

İnorganik N ile P oranı ile birlikte PON: POP (27–32: 1) ve DON: DOP (~100: 1) oranları da (Şekil 5) sırasıyla daha yüksek nitrojeni içeriğini göstermektedir (Krom vd., 2005). Akdeniz'in nispeten daha üretken batı havzasında, POM konsantrasyonları 1,4 ile 9,2  $\mu\text{M}$  arasında değişmektedir (Socal vd., 1999).

Kuzeydoğu Akdeniz'in antisiklonik bölgesinde, POK/PON molar oranının kış mevsiminde  $\sim 7$ , yaz tabakalaşması sırasında ise  $11,4 \pm 4,8$  (SS) olduğu bildirilmiştir (Ediger vd., 2005). Ayrıca, POK kış aylarında Klo'dan 100 kat daha fazla iken, yaz döneminde yaklaşık 200 kat daha fazladır. Besin tuzlarınca tükenmiş yüzey sularındaki POM içeriğindeki görece yüksek K:Klo oranı POM havuzunun bakteri, detritus ve zooplankton bakımında yoğun olduğu yorumlanmıştır (Ediger vd., 2005). Basende Chl-a konsantrasyonları kış ayları dışında yüzey altı tabakalarda yüksek konsantrasyonlarda gözlemlenirken (Arin vd., 2002; Estrada vd., 1993) bu olgu Derin Klorofil Maximum (DKM) olarak adlandırılmaktadır. Bu oluşun aynı zamanda Kuzey Levant Baseni'nde de gözlemlenmektedir (Ediger ve Yılmaz, 1996; Ediger vd., 2005). P ve N'nin önemli bir kütle-denge modelleme çalışması, Akdeniz'deki yeni üretimi destekleyen ana girdinin deniz kaynaklı N ve P'nin lateral girdi ile desteklendiğini öne sürmektedir (Şekil 6: İki havzadaki kaynakların oranı). Akdeniz'deki oligotrofinin sebebi, hem Batı Akdeniz hem de Doğu Akdeniz için anti-estuarin dolaşımının biyolojik olarak kullanıma hazır P'nin sistemden çıkışının sisteme girişinden daha fazla olduğuna işaret etmektedir (Powley vd., 2017).



Şekil 5. Kıbrıs'taki sıcak girdap dışında gözlemlenen ÇOK, ÇOA ve ÇOF derinlik profili (Şekil, Krom vd., (2005)'den alınmıştır).



Şekil 6. Batı Akdeniz (BA) ve Doğu Akdeniz (DA)'de yeni üretim ve kaynak ilişkisi. Yüzdeler, her kaynağın katkısını temsil etmektedir. Toplam kaynak Batı Akdeniz'de  $10,6 \times 10^9$  mol P/yıl üretim ve Doğu Akdeniz'de  $5,8 \times 10^9$  mol P/yıl üretim şeklindedir. AYS; Atlantik Yüzey Suyu, BAYS; Batı Atlantik Yüzey Suyu (Şekil, Powley vd., (2017)'den alınmıştır).

Biyolojik  $N_2$  fiksasyonu, N-sınırlı sistemlere yeni N girdisi sağlamaktadır. Akdeniz'de  $N_2$ -fiksasyonunu üzerine yapılan sınırlı çalışmalar,  $N_2$ -fiksasyonunun Akdeniz'e de artı azot sağladığını göstermektedir. Öte yandan, N sınırlı olmayan sistemlerde de  $N_2$ -fiksasyonu varlığı gözlemlenmiştir (Yogev vd., 2011). Düşükten orta dereceye  $N_2$ -fiksasyon hızı Batı Akdeniz baseninde gözlemlenmiştir (Garcia vd., 2006; Sandroni, vd., 2007). Ayrıca, Akdeniz'de Batı – Doğu transekti boyunca da  $N_2$ -fiksasyonu varlığı gösterilmiştir (Ibello, vd., 2010). Diğer yapılan bir çalışma Shikmona girdabında  $N_2$  fiksasyon hızlarının, özellikle de sisteme P eklenmesinden sonra arttığını bildirmektedir (Rees vd., 2006). Rahav vd., (2013), yaz aylarında Batı Akdeniz ve Doğu Akdeniz'de eski çalışmalara nazaran daha yüksek fiksasyon hızları (sırasıyla 2,35 ve 0,10 nmol/NL/d) tespit ettiler. Bu farklılığın nedeni olarak heterotrofik diazotroflar Doğu Akdeniz'de önemli olabilirken ototrofik diazotroflar'ın batıda daha ağırlıklı rol oynuyor olabilecekleri öne sürülmüştür (Rahav vd., 2013).  $N_2$  fiksasyon göstergesi olan *nifH* geni İsrail kıyılarında iki yıl boyunca çalışılmış ve özet olarak bu geni taşıyan grupların Cyanobacteria ve Proteobacteria oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, bölgedeki N girdisine  $N_2$  fiksasyonunun katkısı düşük olarak gözlemlenmiştir (Yogev vd., 2011).

Bölgede oldukça düşük olan, hatta deteksiyon limitlerinde seyreden fosfatı organizmaların nasıl bünyelerine aldığı diğer bir önemli konudur. Ortofosfat (Pi) organizmalar için en çok tercih edilen P- fosfat formudur. Akdeniz'de, nanomolar Pi konsantrasyonları ve mevsimsel olarak değişmekte olan çevirim süreleri (dakikalardan saatlere) bildirilmiştir (Krom vd., 2005; Sebastián vd., 2012; Thingstad vd., 1998). Sargasso Denizi'nde Heterotrofik bakterilerde ve

siyanobakterilerde (*Prochlorococcus* ve *Synechococcus*) fosfat ve adenosine-triphosphate (ATP) asimilasyonları araştırılmıştır (Michelou vd., 2011). Sonuçlar *Synechococcus*'un P ve ATP asimilasyon hızının diğer gruplardan 50-80 kat daha fazla olduğunu ve diğer gruplarda belirgin bir fark olmadığını göstermiştir. Ancak, heterotrofik bakterilerin litrede hücre sayısı açısından bolluğunun daha yüksek olmasından dolayı litrede toplan P ve ATP asimilasyonunun yoğun olarak heterotrofik bakteriler tarafından yapılmaktadır (Michelou vd., 2011). Levant Baseni ve Batı Akdeniz boyunca ışıklı tabakada yapılan önemli bir çalışma da ise fototrofik ve heterotrofik grupların P asimilasyon hızlarına bakılmış ve heterotrofik bakterilerin (bolluklarından dolayı) ilk 50 m arasında değişen hücresel hızlarla ( $6.6 \pm 9.3$  amol P hücre/l\*s) toplam Pi asimilasyonlarına katkısının %82 civarlarında olduğu gözlemlenmiştir (Talarmin vd., 2015). Diğer bir taraftan, DKM civarlarında ise Pi asimilasyonunun 40 ve 402 amol P hücre/l\*s (sırasıyla *Prochlorococcus* ve *Synechococcus* için) değerleriyle en çok siyanobakteriler tarafından yapıldığı gösterilmiştir (Talarmin vd., 2015).

### 1.2.3 Plankton Komünitesi

Bütün havzada hücre büyüklüğü 0,2-2  $\mu$ m arasında değişen, özellikle siyanobakterilerden oluşan pikoplankton baskınlığı bilinmektedir (Magazzu ve Decembrini, 1995). Bu özellik Akdeniz'deki düşük biyokütle değerleri ile ilişkilidir (Ignatiades vd., 2002; Tanaka vd., 2007). Özellikle, picoplankton, güney Levanten havzasının yüzey sularındaki besin maddeleri için diğer daha büyük hücre boyutundaki fitoplankton gruplarına baskınlık kurmaktadır (Yacobi vd., 1995).

*Synechococcus*, yaz tabakalaşmasının yüzeydeki düşük besin koşullarıyla sonuçlandığı zaman baskın grup olarak bulunur (Marty ve Chiavérini, 2002). Düşük ışık uyarımlı ekotip olan *Prochlorococcus*'un derin suda daha fazla avantaj sağladığı bulunmuştur (Li vd., 1993; Partensky vd., 1999; Yacobi vd., 1995). Bununla birlikte aynı zamanda yüksek ışık adapte olan ekotip, yaz aylarında yüzey sularında da bulunabildiği raporlanmıştır (Moore vd., 1998). *Coccolithophore* Batı Akdeniz'de Doğu Akdeniz'den daha yaygın olarak bulunur (Ignatiades vd., 2009) ve genellikle sonbahar ve kış aylarında en çok *Emiliana huxleyi* olarak bilinen tür ile temsil edilir (Gačić vd., 2002). *Cryptophyte* ise genellikle kış ve bahar mevsimlerinde bolluk olarak artış gösterirler (Marty vd., 2001). Kış aylarında Doğu Akdeniz'de diatom varlıklarında artışı bildirilmiştir (Gačić vd., 2002; Wassmann vd., 2000). Diatomlar, genellikle karışım olayları tarafından tetiklenen yükselme bölgelerinde, nehir ağızlarında, ilkbahar patlamaları gibi ötrofik ortamlarda egemendir (Ragueneau vd., 2000). Diatomların Levant Baseni'nde oluşan DKM'a katkısının (Ignatiades vd., 2009) Batı Akdeniz'deki DKM'a olan katkılarında (Marty ve Chiavérini, 2002) daha önemsiz olduğu gösterilmiştir.

Tek hücreli mikroorganizmalar, deniz yaşamının görülmeyen çoğunluğudur (Whitman vd., 1998) ve bolluk, metabolik aktivite ve çeşitlilik açısından baskın olduğu bilinmektedir (Azam ve Malfatti, 2007). Bakteriler, deniz yüzeyinden derin klorofil tabanına entegre edilen derinlikler boyunca oligotrofik Doğu Akdeniz'de birincil üretimin neredeyse yarısını tüketmektedir (Turley vd., 2000).

Prokaryotik birincil üreticiler, özellikle de pikoplanktonik *Synechococcus* spp., okyanuslardaki toplam fotosentezin üstün güçleridir (Waterbury vd., 1979). N-kaynağı olarak nitrojen (N) ve amonyumu kullanabilmeleri (Moore vd., 2002; Zohary vd., 2005) bu türlerin egemenliği ile sonuçlanır ve Akdeniz ekosisteminde organik karbon üretim için oldukça önemli bir rol oynarlar (Agawin vd., 1998). Dahası, PO<sub>4</sub> formundaki fosfat (P) mevcut ise, *Synechococcus* ökaryotik fitoplankton türlerinden daha üstün hâle getirmektedir (Moutin vd., 2002; Tanaka vd., 2007). Bununla birlikte, piko-siyanobakterilerin küresel dağılımı hakkındaki son bulgular, besinlerin yerel ölçekteki dağılımının bolluklarını etkileyen önemli bir faktör olmadığını, ancak PAR tarafından pozitif ve doğrusal olmayan bir şekilde modüle edildiğini göstermiştir (Flombaum vd., 2013).

## 2 GEREÇ ve YÖNTEM

Bu projede Akdeniz’de önemli roller oynayan bakterilerin tanımlanması, topluluk yapılarının, bolluklarının, gerçekleştirdikleri biyokimyasal reaksiyonların hızlarının ve bu unsurlardaki zamansal dinamiklerin açıklığa kavuşturulması hedeflenmiştir. Söz konusu bakterilerin türleri, topluluk yapıları ve bollukları tüm dünyada sürekli artan bir ivme ile mikrobiyologlar tarafından tercih edilen ve bakterilerin kültür edilmesini gerektirmeyen metagenomik ve metatranskriptomik yaklaşımlar kullanılarak belirlenmiştir.

Bu bakterilerin gerçekleştirdikleri önemli reaksiyonların hızlarının tayini ise iki ayrı yöntem kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan birinci yöntem biyokimyasal reaksiyon hızlarını belirlemek için kullanılan standart bir yöntem olan izotop analizi yöntemidir. Proje kapsamında reaksiyon hızlarını belirlemek için ikinci ve yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem kapsamında kullanılan modelde mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen reaksiyonların hızlarını belirleyen sabit parametreler sahada yapılan ölçümler kullanılarak belirlenmiş, bu reaksiyon hızlarındaki zamansal dinamikler model çıktıları kullanılarak tahmin edilmiştir. Reaksiyon hızlarının model kullanılarak belirlenmiş olması projenin yaygın etkisine önemli ek katkılar sağlamaktadır. Bu katkılardan biri modelin ölçüm yapılmayan zaman, yer ve derinliklerde de reaksiyon hızları ile ilgili tahmin yürütebiliyor olması, bir başka katkısı ise kullanılan modelin ileride gerçekleştirilmesi planlanan ve tüm Doğu Akdeniz’i kapsayan üç boyutlu model çalışmalarının temelini oluşturacak olmasıdır. Reaksiyon hızlarının izotop analizi yöntemi ile de tayini de, geliştirilen yeni yöntemin etkinliğinin test edilmesini sağlamıştır.

Mikroorganizmaların topluluk yapılarında ve gerçekleştirdikleri fonksiyonlardaki zamansal dinamiklerin açıklığa kavuşturulması ve özellikle bu kapsamda model parametrelerinin belirlenmesi birçok fiziksel, biyojeokimyasal ve genetik değerin yüksek sıklıkta ölçülmesini gerektirmektedir. Bu kapsamda yapılan ölçümler projenin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri Enstitüsü (ODTÜ-DBE) proje için gerekli olan fiziksel ve biyojeokimyasal parametrenin birçoğunun ölçümlerini hali hazırda Doğu Akdeniz’in Kuzey Levant baseninde bulunan zaman serisi istasyonlarında sürekli olarak sürdürmektedir. Aylık olarak ölçümlerin alındığı bu istasyonlar enstitü açıklarında bulunan Erdemli Zaman Serisi (ETS) istasyonları olarak adlandırılmıştır. Bu proje kapsamında önerilen yöntemler Doğu Akdeniz’in herhangi bir yerinde uygulanabilir yöntemlerdir. Buna karşın son 20 yılın büyük bir kısmını kapsayacak şekilde sık periyotlarda (aylık), önemli fiziksel ve biyojeokimyasal parametrelerin ölçümünün yapılmasından dolayı Erdemli Zaman Serisi çalışma sahası olarak tercih edilmiştir. Proje kapsamında yapılan tüm ölçümler 200m derinlikte bulunan ETS istasyonunda yapılmıştır. Kullanılan model ise verilerin model çıktıları ile karşılaştırılmasını mümkün kılmak amacıyla yine bu istasyon için geliştirilmiş ve çalışılmıştır.

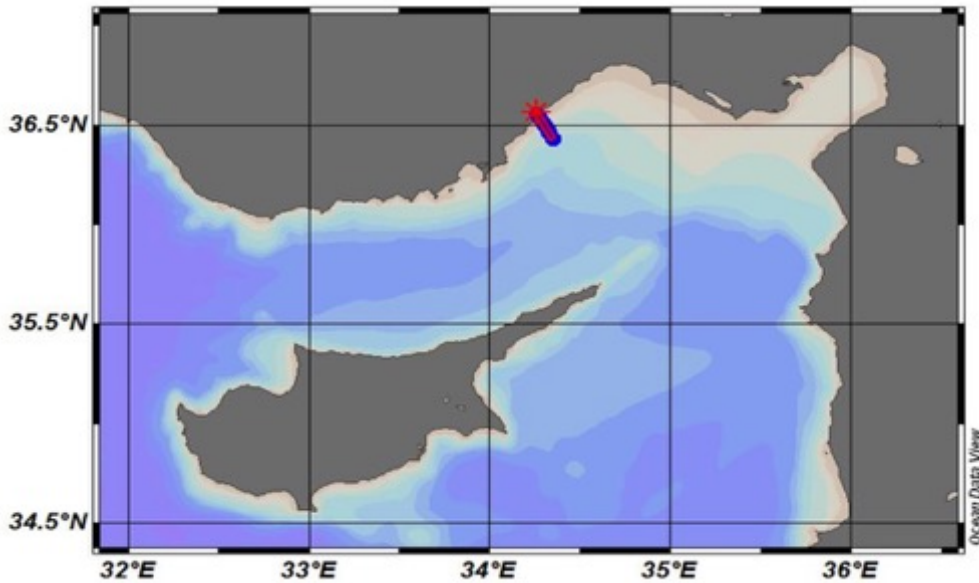
## 2.1. Erdemli Zaman Serisi kapsamında ölçülen fiziksel ve biyokimyasal parametreler

Bu çalışma, Erdemli Zaman Serisi (ETS) izleme istasyonunda, 36°26.1694'N ve 34°20.7556'E koordinatlarında yer alan (Şekil 7) toplam su kolonu derinliği 200 metre olan istasyonda (ETS-200) yürütülmüştür. Bu bölümde kullanılan veriler Erdemli Zaman Serileri (ETS) olarak adlandırılan ODTÜ-IMS izleme çalışmaları çerçevesinde toplanmıştır. Tüm fiziksel ve biyokimyasal veriler, RV/Bilim2 ve RV/Lamas bilim insanlarının, teknisyenlerin ve mürettebat üyelerinin ortak çabalarıyla üretilmektedir.

### 2.1.1 Fiziksel Parametreler

Tuzluluk, sıcaklık, yoğunluk, oksijen satürasyonu olarak deniz suyunun fiziksel özellikleri, ETS-200 m istasyonunda, bir rozet örnekleyicisine sabitlenmiş CTD - Seabird model-SBE 19 kullanılarak yerinde ölçülmüştür. Tuzluluk değerleri, *in situ* iletkenlik ve sıcaklık ölçümlerinden otomatik olarak hesaplanmaktadır. CTD probunun hassasiyeti sıcaklık için  $\pm 0,005^\circ \text{C}$  ve iletkenlik için  $\pm 0,0005 \text{ S/m'dir}$ .

Karışım tabaka derinliği, aktif türbülansın okyanusta birtakım derinlik aralıkları arasında homojenleştirildiği bir tabaka olarak belirlenir. Karışım tabaka kütlesi içinde momentum ve enerji aktarılır. Karışım tabaka derinliği (KTD), su kolonunun kimyasal ve biyolojik özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. KTD'yi hesaplamak için, seçilen kriter, 10m derinlikteki yoğunluğun eşik değerinde meydana gelen değişimdir. Dikkate alınan yoğunluktaki değişim  $0,03 \text{ kg/m}^3$ tür (de Boyer Montégut, 2004).



Şekil 7. Erdemli Zaman Serisi İstasyonlarının Yeri. Çalışma, nispeten kıydan uzak (kıydan 7 km uzaklıkta) ETS-200 metrelik istasyonunda yapılmıştır.



### 2.1.2 Işıklı Tabaka Derinliği Hesaplaması

Öfotik Bölge (Euphotic Zone-EZ)- Işıklı tabaka (IT) derinliğine ulaşmak için Fotosentetik Aktif Radyasyon (PAR) verileri kullanılmıştır (Kirk, 1994). IT derinliği, yüzey PAR değerinin %1'inin ulaştığı derinlik olarak tanımlanır. PAR sensörü, CTD rozet sisteminin üst kısmında bulunurken, basınç sensörü sistemin aşağı kısmında yer almaktadır. Bu iki sensör arasındaki mesafe 1,15 metredir. Bu mesafe nedeniyle IT derinliği yüzeyden (0m) değil 1m derinliğinden hesaplanmıştır. PAR (1m) verileriyle ilgili önemli bir konuda, ODTÜ-DBE iç raporunda belirtilen, PAR veri edinimindeki sorunlara ilişkindir. Sensörlerin fiziksel olarak yanlış hizalanması nedeniyle PAR (1m) havada elde edilen verilerle kontamine olabilmekte iken ve bazı ölçümler de 1m derinliğinde veri içermemektedir. Bu sorunun üstesinden gelmek için ODTÜ-DBE iç raporunda önerildiği üzere 50 veri noktası kullanılarak elde edilen 6. dereceden polinom denklemi ile ekstrapolasyon yapılmıştır. PAR<sub>1db</sub>'ın IT derinliğini tahmin etmek için başarıyla kullanılacağı ve ortalama hata oranı da %10'un altında bildirilmiştir. Buna göre, ışıklı tabaka derinliği, hesaplanan PAR verisinden 1m derinliğe (EZ (0) = EZ (1m)) göre hesaplanmıştır.

### 2.1.3 İnorganik besin tuzları ve toplam klorofil ölçümleri

İnorganik besin tuzları örnekleri yüksek yoğunluklu polietilen şişelere (HDPE) belirli derinliklerden alınmış ve dört kanallı auto-analizör kullanılarak (Bran Luebbe) standart kalorimetrik yöntemlerle analiz edilene kadar -20 ° C'de derin dondurucuda saklanmıştır (Strickland ve Parsons, 1972). Nitrat + nitrit, silikat, fosfat ve amonyum için tespit limitleri sırasıyla şu şekildedir: 0,05 uM, 0,3 uM, 0,02 uM ve 0,05 uM. Toplam klorofil ölçümleri için uygun derinliklerdeki deniz suyu kahverengi polietilen şişelere alınmış ve hemen gemide GF/F filtrelerinde (1050 ml) süzölmüşlerdir. Analizden önce filtreler eritilmiş (Strickland ve Parsons, 1972) ve geleneksel spektrofotometrik yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir (HITACHI fluorescence spectrophotometer F-2500). Örnekleme yapıldığı derinlikler metre cinsinden şöyledir: 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200.

Bu analizlerin yapıldığı ODTÜ-DBE kimya laboratuvarları uluslararası QUASIMEME Z-skor testlerine başarıyla katılmıştır.

### 2.1.4 Doymuş oksijen içeriğinin, yüzde oksijen doygunluğunun ve görünür oksijen kullanımının hesaplanması

Okyanusdaki oksijen konsantrasyonları, su sütununun biyolojik aktivitesindeki değişikliklerin yanı sıra fiziksel özelliklerce de değişim gösterir. Solunum için fotosentez ve substrat ürünü olarak, biyolojik aktiviteyi belirlemek için oksijen dağılımı kullanılmıştır.

Fotosentez ürünü ve solunumun substratı olarak oksijen dağılımı, biyolojik aktiviteyi belirlemek için kullanılmıştır. Doymuş oksijen içeriği (saturated oxygen content-SOC), deniz yüzeyinde ve 1 atm basınçta bir litre deniz suyundaki oksijen içeriğidir. Herhangi bir ek oksijen çözünmesi oksijen çıkışıyla sonuçlanırken herhangi bir oksijen azalması fazladan oksijen çözünmesi ile sonuçlanır. Öte yandan, görünür oksijen kullanımı (Apparent oxygen utilization- GOK), parselin yüzeye çıktığı ve hipotetik olarak tamamen doymuş hale getirilmesi için kullanılan oksijen miktarının bir tahminini sağlar.

Çeşitli birimlerde çözülmüş oksijenin çözünürlük değerlerinin hesaplanması için kullanılan denklemler UNESCO tavsiyelerine göre uygulanmıştır (UNESCO, 1986) ve (Weiss, 1970). Kullanılan denklemler ve sabitler aşağıdaki gibidir:

$$\ln (\text{SOC}) = I + (J/T) + (K/T^2) + (L/T^3) + (M/T^4) - S^* (N + (P/T) + (Q/T^2))$$

$$\% \text{ SOC} = [O_{2[m]} / O_{2[\text{SOC}]}] \times 100 - 100$$

$$\text{GOK} = O_{2[m]} - O_{2[\text{SOC}]}$$

burada;

T= Sıcaklık - Kelvin

S = Tuzluluk

$O_{2[m]}$  = uM biriminde ölçülmüş oksijen konsantrasyonu

I = -135.90205

J =  $1.575701 \times 10^5$

K=  $-6.642308 \times 10^7$

L =  $1.243800 \times 10^{10}$

M =  $-8.621949 \times 10^{11}$

N = 0.017674

P = -10.754

Q = 2140.7

### 2.1.5 Plankton topluluğu örnekleme

Ekstra 100 ml deniz suyu borosilikat koyu şişelere, mikrobiyal topluluk analizi için DNA numunelerinin toplandığı aynı Niskin şişelerinden alınmıştır. Numuneler 2 ml'lik %25 glutaraldehit ile sabitlenmiş ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra heterotrofik bakteriler ve *Synechococcus spp.* hücreleri sayılmış ve Ökaryotik fitoplankton türlerinin hücre sayımları ise ışık mikroskobu ile yapılmıştır. Daha iyi karşılaştırma yapılabilmesi için hücre bolluk ölçümleri biyo-kütle ölçümlerine çevrilmiştir. Heterotrophic bakteri ve *Synechococcus spp.* biyo-hacimleri Boran (2017) tarafından aynı örnekleme istasyonunda yapılan iki senelik çalışmadan alınmıştır (Boran, 2017). Biyo hacim için her derinlik ve ayın ortalama değerleri kullanılmıştır. Biyo-hacim ve hücre sayısı ölçümleri daha sonra heterotrofik bakteriler için (77 fgC/hücre) Carlson vd., (1999) tarafından önerildiği gibi ve Waterburry vd (1986) tarafından siyanobakteri için önerilen (123 fgC/hücre) değerler kullanılarak karbon kütlesi hesaplanmıştır. Fitoplankton hücrelerinin karbon biyo-kütle ölçümleri için ise hücre hacim değerleri (Arin vd., 2002; Fanuko ve Valcı, 2009), Menden-Deuer ve Lessard (2000) tarafından önerilen formüller kullanılarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

### 2.1.6 Şekiller ile ilgili önemli notlar

Ağustos 2016'da başlayan örnekleme dönemi şekillerde daha iyi görüntülenebilmesi için Eylül ayından başlanmıştır. Minimum konsantrasyon değerleri, her bir parametreye karşılık gelen cihazın tespit limitlerine ayarlanmıştır. Örneğin, nitrat tespit limiti 0,05'dir ve şekilde gösterilen minimum değer 0,05'e ayarlanmıştır. Su sütunu boyunca heterotrofik bakteriler, *Synechococcus spp.* ve fitoplankton bolluklarına ilişkin veriler 6 farklı derinlikten (0, 25, 50, 100, 150, 200 metreler) örneklenirken (DNA örnekleme ile aynı derinlikler), kimyasal veriler 8 farklı derinlikten toplanmıştır.

## 2.2 Proje kapsamında ölçülen ek biyokimyasal parametreler

ETS kapsamında halihazırda önemli fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametreler ölçülmektedir. Bu projenin amaçlarına ulaşmada önemli olan diğer parametrelere ilişkin yöntemler aşağıda verilmiştir.

### 2.2.1 Organik madde, Toplam Fosfat, Toplam Azot örnekleme ve ölçümleri

Organik madde örnekleme metagenomik çalışma ile aynı örnekleme derinliklerinden gerçekleştirilmiştir: yüzey, 25 m, 50 m 100 m 150 m ve 200 m. Toplamda iki litre deniz suyu, kahverengi polietilen şişelerle örneklenmiş ve her bir POK ve POA ölçümü için doğrudan GF/F filtrelerine filtrelenmiştir. Partikül organik karbon ve azot kuru yakma yöntemiyle Carlo Erba model 1108 CHN analizörü kullanılarak ODTÜ- DBE kimya laboratuvarlarında ölçülmüştür. Toplam fosfat ve toplam azot ölçümleri kalorimetrik olarak belirlenmiştir (Dilek Ediger vd.,

2005).

Çözünmüş organik fosfat, aşağıda verilen denkleme göre toplam fosfat (TP), partikül fosfat (PP) ve inorganik fosfatın (IP) doğrudan ölçümlerinden hesaplanmıştır.

$$DOP = TP - (PP + IP)$$

Tablo 1. Biyokütle hesabı için fitoplankton topluluğunun biyo-hacmi, karbon ve azot içeriği

	Hacim ( $\mu\text{m}^3$ )	Ref.	PgC/hücre	PgN/hücre	Ref.
Nanoflagellates	93*	(Arin vd., 2002)	12,87939123	5,536585657	(Menden-Deuer ve Lessard, 2000)
Coccolithophoride	265*	(Arin vd., 2002)	31,64361425	9,041032644	(Menden-Deuer ve Lessard, 2000)
Diatoms	63942.5*	(Arin vd., 2002)	1999,404422	571,2584063 (3,5 C:N used for conversion )	(Menden-Deuer ve Lessard, 2000)
Dinoflagellate	9404*	(Arin vd., 2002)	1365,03264	278,8318722	(Menden-Deuer ve Lessard, 2000)
Cryptophyte	14*	(Fanuko ve Valcıç, 2009)	6,602050792	1,109334967	(Menden-Deuer ve Lessard, 2000)
Dictyochale	13309**	(Fanuko ve Valcıç, 2009)	1814,157979	374,4548551	(Menden-Deuer ve Lessard, 2000)

\* Arin vd., (2002) tarafından verilen örneklem istasyonları C2 ve C4 için ortalama değerler

\*\* Dictyochale için verilen ortalama değerler

## 2.3 Bakteriyel popülasyonlara metagenomik yaklaşım

### 2.3.1 Örnekleme

Örnekler, 15 Eylül 2016 ve 14 Ağustos 2017 tarihleri arasında Erdemli Zaman Serisi'nin ETS-200 istasyonundan bir yıl süreyle aylık olarak toplanmıştır. CTD rozet sistemine bağlı niskin şişeleri kullanılarak örnekler yüzey, 25 m, 50 m, 100 m ,150 m ve 200 m derinliklerinden metagenomik çalışma için toplanmıştır. Niskin şişeleri ile toplanan deniz suyunun iki litresi her bir derinlikten borosilikat koyu bir şişeye örneklenmiş ve metagenomik çalışma için 0,22 um gözenek boyutlu filtreler (polieter sülfon membran-MoBio) üzerine süzülmüştür. Örnekler, daha sonra, ODTÜ- DBE'nin genetik laboratuvarında DNA izolasyonu için işlenmiştir. Hava koşulları nedeniyle Aralık 2016'da örnekleme yapılamamıştır. Her ay yapılan örnekleme tarihleri, derinlikleri ve yüzey ile 200m'ye ait sıcaklık ölçümleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Örnekleme tarihleri ve yüzey ile 200m'ye ait deniz suyu sıcaklık verileri

Ay	Tarih	Derinlik (Metre)	Yüzey/ 200m Su Sıcaklığı (C°)
Eylül	08/09/2016	0, 25,50,100,150, 200	29,5/16,7
Ekim	20/10/2016	0, 25,50,100,150, 200	26,2/16,0
Kasım	15/11/2016	0, 25,50,100,150, 200	-
Ocak	30/01/2017	0, 25,50,100,150, 200	17,6/17, 1
Şubat	20/02/2017	0, 25,50,100,150, 200	17,1/16,1
Mart	28/03/2017	0, 25,50,100,150, 200	17,9/16,9
Nisan	17/04/2017	0, 25,50,100,150, 200	18,5/16,3
Mayıs	25/05/2017	0, 25,50,100,150, 200	21,7/16,4
Haziran	30/06/2017	0, 25,50,100, 200	28,3/16,2
Temmuz	20/07/2017	0, 25,50,100,150, 200	29,6/16,5
Ağustos	14/08/2017	0, 25,50,100,150, 200	30,0/16,1

### 2.3.2 DNA izolasyonu ve Sekanslama

DNA izolasyonu Paz vd., (2003) tarafından önerildiği şekilde yapılmıştır. Her bir numuneden alınan DNA miktarı, daha sonra spektrofotometri ile ölçülmüştür. Dizileme işlemi çift yönde Dr. Zeydanlı Hayat Bilimleri Ltd. Şti. tarafından yapılmıştır. Amplicon dizileme işlemi Illumina MiSeq platformunda (300bp paired-end dizileme) gerçekleştirilmiş ve en az 100,000 okuma/ 30Mb veri örnek başına elde edilmiştir. 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesi, 341F ve 805R primer

çiftleri kullanılarak amplifiye edilmiştir. (Herlemann vd., 2011). Dizileme kütüphanesi DNA örneğinin rastgele parçalanması, ardından 5 've 3' adaptör ligasyonu ile hazırlanmıştır. Scythe (v0.994) ve Sickle programları adaptör dizilerinin kesilmesi için kullanılmıştır. Adaptör dizileri kırıldıktan sonra, 36bp'den daha kısa okumalar atılmıştır.

### 2.3.3 Biyoformatik analizler

Analiz için Illumina kırılmış çift uçlu okumalar (trimmed paired-end reads) kullanılmıştır. Diğer analiz basamakları için QIIME2 çerçevesi ve komut satırı arayüzü kullanılmıştır (<https://qiime2.org>), (Caporaso vd., 2010). Paired-end okumaların birleştirilmesi, kalite okuması ve primer filtrelemesi, chimera tanımlanması Divisive Amplicon Denoising Algorithm (DADA2) (Callahan vd., 2016) algoritması kullanılarak yapılmıştır. OTU/BIOM tablosuna eşdeğer olan özellik tablosu (*ing.* Feature Table) ve temsili dizi dosyalarının eşdeğeri olan özellik verileri de aynı algoritma ile üretilmiştir.

Taksanomik sınıflandırma doğruluğu, önerildiği üzere (Werner vd., 2012), Naive Bayes classifier (<https://github.com/qiime2/q2-sample-classifier>) hedef bölgemize (V3-V4) göre eğitimi ile geliştirilmiştir. Taksanomik atamalar Silva veri bankası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturmada önce dizilerin hizalanması MAFFT (2017.12.0) (Katoh ve Standley, 2013) algoritmasının QIIME2 ara yüzü ile gerçekleştirilmiştir.

Filogenetik ağaç FastTree 2 (Price vd., 2010) ile yapılmıştır. Çeşitlilik ve istatistik analizler öncesinde Kloroplast olarak sınıflandırılan diziler veri setinden temizlenmiştir.

### 2.3.4 Çeşitlilik Ölçümleri hesaplama ve istatistiksel testler

Alfa ve beta çeşitlilik ölçümleri, verilen toplulukların ne kadar çeşitli olduğunu araştırmak için önemli araçlardır. Alfa çeşitliliği, örnek içindeki çeşitliliği bulunurken, beta çeşitliliği, belirli bir konumdaki örnekler arasındaki çeşitliliği karşılaştırmak için kullanılır. Mikrobiyal popülasyonların örneklem içi karmaşıklığını değerlendirmek için, Shannon'un çeşitlilik indeksi (topluluk zenginliğinin niceliksel bir ölçümü) ve özellikler arasında filogenetik ilişkileri içeren topluluk zenginliğinin niteliksel bir ölçümü olan Faith'in Filogenetik Çeşitliliği, QIIME 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

16S rRNA örnekleri arasındaki çift yönlü topluluk benzerliği, filogenetik mesafe kullanılarak hesaplanan weighted UniFrac (Chang vd., 2011; Lozupone vd., 2011) yöntemi ile ve Bray-Curtis uzaklığı ile hesaplanmıştır..

Yaygın olarak kullanılan bir metot olarak veri setindeki varyansı açıklamak için Principle Coordinates Analysis (PCoA) kullanılmıştır. Temel olarak, ordinasyon boşluğuna nesnelere arasındaki mesafenin veya farklılıkların doğrusal (Euclidean) haritalaması yapılır ve algoritma

orijinal veri kümesindeki varyansın çoğunu açıklamaya çalışır (Paliy ve Shankar, 2016). PCoA, UniFrac mesafeleri ve Bray- Curtis mesafeleri gibi herhangi bir çeşitlilik ölçüsü ile kullanılabilir ve grafikler EMPeror kullanılarak oluşturulmuştur (Vázquez-Baeza vd., 2013).

PCoA, veri kümesinin özelliklerini keşfetmek için önemli bir araç olsa bile, bileşenler (sıcaklık gibi çevresel değişkenler) ve orijinal değişkenler (türlerin çeşitliliği veya beta çeşitliliği ölçütleri) arasında doğrudan bir bağlantı sağlamaz. Çevresel varyasyonlara türlerin cevabını araştırmak için tür cevabını açıklamak için unimodal model kullanan Canonical correspondence analysis (CCA) (Paliy ve Shankar, 2016; Ramette, 2007; Wang vd., 2012) kullanılmıştır. CCA analizi R vegan paketi kullanılarak yapılmıştır (Oksanen vd., 2007).

Doğası gereği ekolojik gözlemler, çok sayıda tür ve içsel değişkenliği içerir, dolayısıyla çok büyük miktarda gürültülü verilere bağlı olarak sonuçları yorumlamak zordur. Ancak, çok değişkenli yöntemler (multivariate methods), sistematik değişimi gürültüden ayırarak verileri yapılandırmak için bir araç sağlar (Braak ve Verdonschot, 1995). CCA, eksenlerin çevresel değişkenlerin doğrusal kombinasyonları olduğu unimodal tür-çevre ilişkisine dayanmaktadır. Bir diğer avantaj, CCA'nın, mutlak bolluk değerlerinden ziyade, dizileme çalışmalarının çıktısı olan (tür puanları, örnekteki puanların ağırlıklı ortalamalarıdır) rölatif bollukları kullanmasıdır. Ki-kare mesafelere dayanır ve ağırlıklı doğrusal haritalama yapar. CCA, öncelikle, koordinasyon eksenleri tarafından oluşturulan bir koordinat sistemi ile sonuçlanır ve türler (OTB'ler), sahalar (örnekleme birimleri) ve niteliksel çevresel değişkenler (örnekleme mevsimi gibi) sınıfları ve kantitatif çevresel değişkenleri (sıcaklık gibi) temsil eden oklar gibi unsurları içerir. Açıklanan inertia ile temsil edilen toplam inertia oranı (inertia, CCA'daki verilerin açıklanmış varyasyon ölçüsüdür) bir  $R^2$  olarak yorumlanabilir. Analizden önce, tüm örneklerin %20'sinden fazlasında gözlenmeyen dizi varyantları analizden çıkarılmıştır.

## **2.4 Biyojeokimyasal döngülerde önemli rol oynayan bakteriyel popülasyonların metatranscriptomik incelenmesi**

### **2.4.1 Örnekleme ve Toplam RNA izolasyonu**

Metatranscriptom çalışması için gereken toplam RNA örneklerinin mevsimsel olarak toplanması hedeflenmiştir. Ayrıca 4 farklı derinlikten örnekleme yapıp (0, 25, 150 ve 200 metre) her mevsimden bir örneğin dizilenmesi planlanmıştır. Örnekleme diğer örneklemeyle paralel olarak 15 Kasım 2016, 20 Şubat 2017, 30 Haziran 2017 ve 04 Temmuz 2017 tarihinde gerçekleştirilmiştir (Tablo 3). Metagenomik çalışması için su örnekleri ile aynı Niskin şişesinden alınan 2 litrelik örnekler ivedilikle carnoy fiksatif (Feike vd., 2012) ile sabitlenmiştir. Deniz suyu örnekleri laboratuvarında 0,2 µm göz açıklıklı filtreden süzölmüş ve filtreler -20°C'de saklanmıştır. Tüm sezonlara ait örnekleme tamamlandıktan sonra toplam

RNA izolasyonu, EZ-RNA Total RNA Isolation Kit (Biological Industries) kullanılarak tamamlanmıştır. Toplam RNA'dan mRNA saflaştırma işlemi, kütüphane oluşturma ve dizileme işlemi için örnekler Dr. Zeydanlı Hayat Bilimleri Ltd. Şti.'ye gönderilmiştir.

Tablo 3. Örneklerin filtre üzerine süzulebilen miktarları

Örnek	Tarih	Derinlik	Süzülen miktar (ml)
R1	15.11.2016	0	1000
R2	15.11.2016	50	1000
R3	15.11.2016	150	1500
R4	15.11.2016	200	1200
R5	20.02.2017	0	2000
R6	20.02.2017	50	1700
R7	20.02.2017	150	1000
R8	20.02.2017	200	1000
R9	30.06.2017	0	2000
R10	30.06.2017	50	2000
R11	30.06.2017	150	2000
R12	30.06.2017	200	2000
R13	04.07.2017	0	2000
R14	04.07.2017	50	2000
R15	04.07.2017	150	2000
R16	04.07.2017	200	2000

#### 2.4.2 Dizileme ve Veri İstatistikleri

Ribozom depletion basamağını da içeren Truseq stranded total RNA kit (with ribosomal depletion (microbe)) kütüphane çalışmasında kullanılmıştır. Kütüphane oluşturma işlemi öncesinde örneklerin kalite kontrolleri sırasında RIN (RNA entegrasyon sayısı) değerleri ve RNA miktarları oldukça düşük çıkmıştır (Tablo 4). Bunlar göz önünde bulundurularak aynı aya ait farklı derinlikten olan örneklerin birleştirilmesine karar verilmiştir. Böylece, dizileme işlemi dört örnekte gerçekleştirilmiş ve su kolonu entegre sonuçları yansıtmaktadır. Dizileme



platformu olarak Illumina MiSeq platformunu (100bp paired-end- çift yönlü dizileme) gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4. RNA örnekleri kalite ve miktar değerleri

Örnek	Konsantrasyon (ng/ul)	Son Hacim (ul)	Toplam Miktar (ug)	RIN
R1	1,052	63	0,066	1
R2	1,367	30	0,041	1,9
R3	1,406	30	0,042	3,5
R4	1,633	30	0,049	1
R5	5,316	30	0,159	3,5
R6	3,856	30	0,116	4,3
R7	1,135	65	0,074	2,5
R8	0,831	65	0,054	3,2
R9	1,771	65	0,115	2,7
R10	2,175	65	0,141	1,1
R11	1,522	65	0,099	1
R12	0,975	65	0,063	1
R13	2,518	63	0,159	4,2
R14	2,44	30	0,073	4,6
R15	1,854	28	0,052	3,8
R16	0,848	30	0,025	1

### 2.4.3 Biyoformatik analizler

Elde edilen okumalar online metatranskriptom veri analiz programı olan **COMAN (a web server for comprehensive metatranscriptomics analysis)** kullanılarak yapılmıştır. Program verileri otomatik ve kapsamlı bir şekilde analiz etmek için geliştirilmiştir (Ni vd., 2016). COMAN analiz hattı, ham okumaların kalite kontrolünü, kodlamayan RNA'dan türetilen okumaların analizden çıkarılmasını, ardından fonksiyonel ek açıklamaları içerir. Referans genomlara ait okumaların ve fonksiyonel açıklama sonuçlarının haritalanmasına dayanarak, COMAN işlevsel profillemeye atamaları gerçekleştirir ve her bir fonksiyonel grup ve enzimin göreceli bolluğunu ve ayrıca annotation sistemindeki daha yüksek bir hiyerarşi seviyesini hesaplar. Bu yüksek

seviyeli profil, COG kategorileri, KEGG yolları, KEGG yolu sınıfları, KEGG modülleri ve çeşitli MetaCyc yolları seviyelerini içerir (Ni vd., 2016). COMAN sunucusundan elde edilen KEGG yolu sonuç dosyasında azot, fosfat döngülerinde incelenecek hedef genler ve xenobiotik aktivitesi genleri KEGG numaralarına göre yazılan kod kullanılarak dosyadan çekilmiştir. Mikrobiyal plastik degradasyonunda rol oynadığı belirlenen genler (Bryant vd., 2016; Quero ve Luna, 2017)'dan alınmıştır.

## 2.5 Bakterilerin fonksiyonel gruplarının belirlenmesi

PICRUSt, marker gen (ör., 16S rRNA) kullanılarak yapılan çalışmalardan fonksiyonel içeriği tahmin etmek için tasarlanmış bir biyoenformatik yazılım paketidir (Caporaso vd., 2013). Bu yazılım kullanılarak, 16S rRNA dizi sonuçlarından fonksiyonel atamaları yapılmıştır. Daha sonra, yüzde bolluk cinsinden verilen azot döngüsü marker genleri elde edilen sonuç dosyasından ayıklanmış ve heterotrofik bakteri hücre bolluk sayımları kullanılarak gerçek değerlere çevrilmiştir.

## 2.6 Bakteriyel reaksiyon hızlarının izotop yöntemiyle tayin edilmesi

İki farklı mikrobiyal sürecin hızları izotopik izleyiciler kullanılarak belirlenmiştir. İki izotopik deney yapılmıştır: azot fiksasyonu ve nitrifikasyon. Yeni nitrojenin biyolojik yollarla deniz ekosistemine girişlerini değerlendirmek için foto-ototrof bakterileri tarafından gerçekleştirilen azot fiksasyonunun hızları ölçülmüştür. Eş zamanlı olarak, nitrifikasyon hızları,  $\text{NH}_4^+$  'nın kullanılması ve  $\text{NO}_3^-$ 'ün deniz suyuna salıverilmesinde rol oynayan kemo-ototrof bakterilerinin önemini tahmin etmek için ölçüldü.

Her iki süreçte elde edilen sonuçlar, kurulan modelin mikrobiyal reaksiyon hızlarının gerçekçi bir şekilde yeniden üretilmesi yeteneğini doğrulamak için kullanılmıştır.

### 2.6.1 İzotop Deneyleri: Azot fiksasyonu

$\text{N}_2$ -fiksasyon hızları  $^{15}\text{N}_2$  asimilasyon izleyici metodu ile belirlenmiştir.  $\text{N}_2$ -fiksasyonu  $^{15}\text{N}_2$  'nin organik N'ye biyolojik dönüşümünün doğrudan ölçümünü temel alınarak yapılmıştır. (Montoya vd., 1996; Montoya vd., 2004).

Örnekleme Ocak-Aralık 2017 tarihleri arasında Erdemli Zaman Serileri (ETS-200) istasyonunda aylık olarak tekrarlanmıştır.  $\text{N}_2$ -fiksasyonu oranlarının ölçümü,  $^{15}\text{N}_2$  gaz uygulayıcı aparatın kaybı nedeniyle Mayıs ve Haziran aylarında yapılamamıştır. Yurtdışından ithal edilen  $^{15}\text{N}_2$  gaz izleyicinin değiştirilmesi, 2 ay sürmüştür. İlkbahar sonlarında daha iyi bir temsile sahip olmak için, temmuz ayında, numuneler ayın başında ve sonunda toplanmıştır. Deniz suyu dört derinlikten, ikisi ışıklı tabakadan (yüzey ve %1 ışık derinliğinden, genellikle 100m derinlikten) ve diğer iki örnek ise afotik tabakadan (150m ve 200m) toplanmıştır. Tüm

derinliklerde, gaz değişimini önlemek için serum kaplamalı polikarbonat 4,6 litre Nalgene şişeleri kullanılarak dört örnek toplanmıştır. Üç tekrarlı örnek, gaz geçirmez bir şırınga ile 9,2 ml (2 ml/L)  $^{15}\text{N}_2$  (Cambridge Isotope Laboratories Inc., % 98,00 atom%) gazı ile zenginleştirilmiştir. Bir örnek (kontrol) ise  $^{15}\text{N}_2$  gazı eklenmeden inkübe edilmiştir. Gaz enjeksiyondan önce, her şişe dikkatlice kontrol edilmiş ve hava kabarcıkları doğru şekilde çıkarılmıştır. Gaz ilave edildikten sonra, tüm numuneler (zenginleştirilmiş ve kontrol örnekleri),  $^{15}\text{N}_2$  gazının deniz suyunda çözünmesi için manyetik karıştırıcı üzerinde 30 dakika süreyle yavaşça karıştırılmıştır. Numuneler laboratuvarında 24s boyunca inkübe edilmiştir. *In situ* ışık ve sıcaklık koşulları termostatlı inkübatörler ve nötr yoğunluk filtreleri kullanılarak sağlanmıştır.

İnkübasyondan sonra, hem kontrol hem de  $^{15}\text{N}_2$  zenginleştirilmiş örnekler önceden yakılmış (450 °C, 6 saat) GF/F filtrelere süzülmüştür. Filtreler daha sonra paketlenme için -20 ° C'de donduruldu. Örnekleme işleminin sonunda, tüm dondurulmuş filtreler 24 saat boyunca 60 ° C'de kurutuldu, tin-foil kaplarda topaklandırıldı ve kütle spektrometri analizine kadar kuru bir ortamda saklandı. Kontaminasyondan kaçınmak için kontrol ve zenginleştirilmiş örnekler her zaman ayrı ayrı işlemde geçirilmiştir. Fitoplanktonların ışıktan göreceği hasarı önlemek için deneylerin her adımı loş ışık koşullarında gerçekleştirilmiştir.

$\text{N}_2$ - fiksasyonu örneklerindeki partikül organik ve azot kütle fraksiyonları peletlerdeki  $\delta^{15}\text{N}$  (POA) kütle fraksiyonları sürekli akış izotop oranı kütle spektrometresi (EA1112-Delta Plus, Thermo Fisher Scientific) ile birleştirilen bir element analiz cihazı ile ölçülmüştür. Örneklerin  $\delta^{15}\text{N}$  (POA) değerleri IAEA-N-1'e göre kalibre edilmiştir. Hassasiyet, örneklerle birlikte laboratuvar standartlarının (Amino Standard, SI Science) ölçülmesinden hesaplanmıştır. Örnekler, Norwich Araştırma Parkı, Doğu Anglia Üniversitesi (Norwich, İngiltere), Kararlı İzotop Tesisi'nde (Stable Isotope Facility) analiz edilmiştir. Partikül Organik Azot içindeki  $^{15}\text{N}$ 'nin zenginleştirilmesi kontrol numuneleri ile karşılaştırılarak yapılmıştır.  $^{15}\text{N}$  ölçümünün ortalama hassasiyeti (tüm tekrarlı örneklerin ortalaması)  $\pm 0,0001$  ( $\pm 0,3 \text{ ‰}$ )'dir. Bu nedenle, standart sapmanın iki katını ( $>0,0002$  atomu) aşan  $^{15}\text{N}$  zenginleşmesi ile hesaplanan  $\text{QN}_2$  verisi anlamlı bulunmuştur.

## 2.6.2 Nitrifikasyon

Nitrifikasyon hızları,  $\text{NH}_4^+$  substratının izotopik bir etiketle değiştirilmesi ve 24 saat sonra üretilen  $\text{NO}_3^-$  'te izotop izleyicinin artışının ölçülmesiyle belirlenmiştir.  $^{15}\text{NO}_3^-$  konsantrasyonunun artışı, nitrojen bakterilere bağlı olarak  $\text{NH}_4^+$  ve  $\text{NO}_2^-$  'den (iki aşamalı reaksiyon) elde edilen  $\text{NO}_3^-$  'ün doğal üretiminden kaynaklanır (Rasigraf vd., 2017).

Ocak ayından Aralık 2017'ye kadar Erdemli Zaman Serileri (ETS-200) istasyonunda her ay örnekleme tekrarlanmıştır. Şubat ayında lojistik problemler nedeniyle numuneler

toplanamamıştır. Temmuz ayında, numuneler ayın başında ve sonunda iki kez toplanmıştır. Örnekleme dört derinlikte ( $N_2$  fiksasyon çalışması ile aynı), ikisi ışıklı/fotik (yüzey ve %1 ışık, genellikle 100m derinliğe tekabül eder) ve iki tanesi afotik tabakada (150 ve 200m) gerçekleştirilmiştir. Tüm derinliklerden 2L siyah HDPE Nalgene şişesi kullanılarak dört örnek toplanmıştır. Üç replikat, otomatik pipetle (orijinal konsantrasyonun yaklaşık % 30-50'si), litre başına 700 ng  $^{15}NH_4^+$  (Cambridge Isotope Laboratories Inc., % 98,00 atomu) ile zenginleştirilmiştir. Bir replikat (kontrol)  $^{15}NH_4^+$  eklenmeden inkübe edilmiştir. İzleyici ilavesinden sonra, tüm numuneler (zenginleştirilmiş ve kontroller) 3 dakika boyunca kuvvetlice karıştırılmıştır. Numuneler laboratuarda 24s boyunca inkübe edilmiş ve *In situ* ışık ve sıcaklık koşulları termostatlı inkübatörler ve nötr yoğunluk filtreleri kullanılarak sağlanmıştır. İnkubasyondan sonra, numuneler tüm organizmaları uzaklaştırmak ve numuneyi steril tutmak için 0.2 um açıklıklı filtrelerden süzölmüştür. Her numuneden 50 ml'lik iki alt örnekleme yapıldı ve nihai analize kadar  $-20^\circ C$ 'de saklandı. Örnekleme periyodunun sonunda tüm numuneler, azotun izotopik oranının kütle spektrometresi ile belirlenmesi için East Anglia Üniversitesi (Norwich, İngiltere), Norwich Araştırma Parkı'na gönderilmiştir. Nitrifikasyon oranları, izleyicinin ( $^{15}NH_4^+$  Cambridge İzotop Laboratuvarları) eklenmesinden sonraki 24 saat içinde  $NO_3^-$ 'teki 15/14 N'nin analiz edilmesiyle hesaplanır. "Denitrifikat yöntemi" ("denitrifier method) (Sigman vd., 2001) kullanılarak  $NO_2^-$  ve  $N_2O$ 'den üretilen  $N_2O$ 'nun  $\delta^{15}N$  değeri Popp ve ark., (1995) ve Dore ve ark., (1998) tarafından tanımlanan yöntem kullanılarak ölçülmüştür (Dore vd., 1998; Popp vd., 1995). Özellikle, bu yöntem,  $N_2O$ -redüktaz aktivitesi olmayan denitrifikasyon bakterilerinin (*Pseudomonas chlororaphis* ve *Pseudomonas aureofaciens*) nitrattan üretilen azot oksidin ( $N_2O$ ) izotopik analizine dayanmaktadır.  $N_2O$  içinde bulunan hem nitrojen hem de oksijeninin izotopik bileşimine (nitratın izotopik imzasını yansıtır), bu şekilde izotop oranı kütle spektrometresi ile erişilebilir.

Nitrifikasyon hızı analizi yapılan örneklerde,  $NO_3^-$  'te bulunan  $\delta^{15}N$ , IAEA-NO-3'e karşı kalibre edilmiş analit gazı olarak  $N_2O$  kullanan denitrifikat yöntemi ile belirlenmiştir (Casciotti vd., 2002). Uluslararası referans materyali olan USGS34, USGS35, IAEA-NO-3, delta değerlerinin kalibrasyonunda  $\delta(^{15}N) = 4,7 \text{ ‰}$  (vs. air- $N_2$ ) kullanılmıştır. Tekrarlanabilirlik, yinelenen analizlerin ortalama standart sapmasından elde edilen 0,08 ‰'dir. İzotopik ayrıştırma, sürekli akış izotop oranlı kütle spektrometresi (EA1112-Delta Plus, Thermo Fisher Scientific) ile birleştirilen bir element analiz cihazı ile ölçülmüştür.

## 2.7 Mikroorganizmalar tarafından yürütülen reaksiyon hızlarının ölçümler ve ters modelleme yaklaşımıyla belirlenmesi

Projenin bir diğer amacı ETS 200m istasyonundaki fizikler, kimyasal ve biyolojik dinamikleri temsil eden bir modelleme sistemi geliştirmek ve bu sistemin bakteriyel reaksiyon hızlarını tahmin edebilme yetisini ölçmektir.

Bu amacı yerine getirmek için bir fiziksel model (General Ocean Turbulence Model - GOTM) ve bir biyojeokimyasal model (The European Regional Seas Ecosystem Model - ERSEM) biraya getirilerek bu projedeki bilimsel soruları cevaplayacak bir **modelleme sistemi** geliştirilmiştir. Burada geliştirilen model sistemi hem su kolonunun fiziksel dinamiklerini çözebilmekte, hem de biyolojik ve kimyasal öğelerdeki anlık değişim hızlarını hesaplayabilmektedir. Genel amaçlı yayınlanmış olan GOTM ve ERSEM modelleri, bu proje kapsamında Doğu Akdeniz'e temsil edecek şekilde uyarlanmış, bazı model kompartımanları çıkartılmış, bazıları ise değiştirilmiştir.

Modelleme sistemi birbiri ile bağlantılı ve aynı anda çalışan biyojeokimyasal modelin fonksiyonu biyolojik ve kimyasal öğelerdeki anlık değişim hızlarını hesaplamak, fiziksel modelin fonksiyonu ise öğelerin su kolonu boyunca mekânsal dağılımlarını ve zaman içindeki değişimlerini çözmektir.

Uyarlanan bu bütünleşik (integrated) model, modelin öğeleri arasındaki madde ve enerji akışını belirleyen onlarca parametre içermektedir. Denizel biyojeokimya modellerinin başarısını sınırlayan en önemli faktörlerden biri bu parametrelerdeki belirsizliktir. Bu açıdan diğer iş paketleri ve ETS kapsamında yapılan yüksek zamansal çözünürlüklü ve birçok veri türünü içeren veri seti, modelin kalibre edilmesi (parametre tahmini) için önemli bir fırsat sağlamaktadır. Parametre tahmini, model tahminleri ile saha ölçümlerini karşılaştırarak ve bu ikisi arasındaki farkı parametreleri iteratif bir şekilde değiştirerek minimize etmekle görevli bir algoritma aracılığıyla yapılmıştır.

Parametre tahmini bittikten sonra, ölçümlerle model tahminleri arasındaki farkı minimize eden parametre değerleri kullanılarak model tekrar çalıştırılmıştır. Kalibre edilmiş bu modelin tahmin ettiği bakteriyel reaksiyon hızları, izotop yöntemiyle ölçülen hızlarla karşılaştırılarak modelin bu reaksiyonları ölçme yetisi sınanmıştır. İzotop analiz sonuçları model kalibrasyonunda kullanılmamaları nedeniyle modelin tahmin başarısını ölçmeye yarayacak bağımsız bir veri seti teşkil etmektedirler.

Son olarak model 10 yıllık bir süre için çalıştırılmış ve bu proje'den önce yapılmış ölçümleri tahmin yeteneği sınanmıştır.

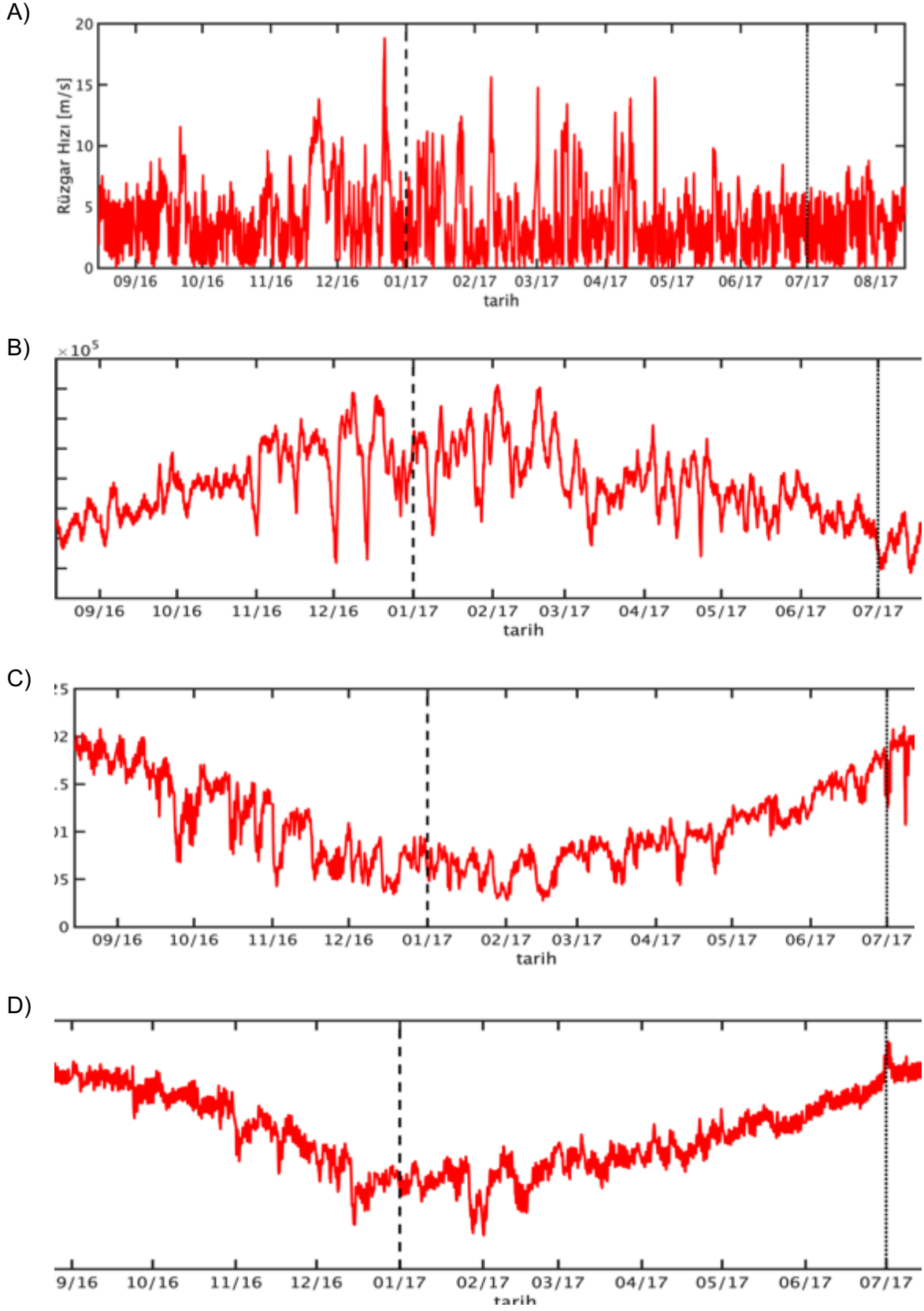
Projede kullanılan model ve yöntemlerin detayları aşağıda alt iş paketler kapsamında verilmiştir.

### **2.7.1 Fiziksel modelin ETS istasyonuna uyarlanması ve çalıştırılması**

Su kolonun sıcaklık, tuzluluk ve yoğunluk gibi fiziksel özelliklerini tahmin eden ve su kolonunda yer alan kimyasal ve biyolojik öğelerin dikey taşınımını sağlayan fiziksel modeldir. Bu projede fiziksel su kolonu modeli olarak General Ocean Turbulence Model (GOTM) kullanılmıştır (Umlauf vd., 2012). GOTM tüm dünyada birçok denize uyarlanmış (örneğin Burchard vd., 2002; Carniel vd., 2007; Yakushev vd., 2011) açık kaynaklı ve tek boyutlu (dikey boyut) bir modeldir. Doğal sularda dikey karışım ile ilgili en önemli hidrodinamik ve termodinamik süreçleri içermektedir. Ek olarak, üç boyutlu dolaşım modellerine kolayca bağlanabilecek ve dikey türbülanslı karışımın hesaplanması için bir modül olarak kullanılabilir şekilde tasarlanmıştır. Modelin çekirdeği, momentum, tuz ve ısı taşınım denklemlerinin tek boyutlu versiyonları için çözümler hesaplar. Bu denklemlerin çözümünde önemli bir bileşen, bu miktarların türbülanslı akılarının modelidir ve GOTM bu konuda birçok alternatif algoritma içermektedir.

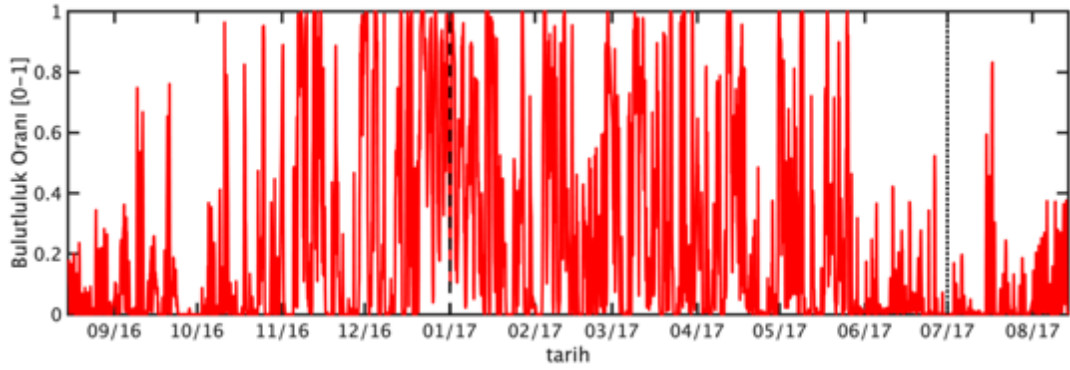
Su kolonunun fiziksel özelliklerinin değişimi atmosferdeki değişimlerle doğrudan bağlantılıdır ve GOTM, deniz-hava arayüzündeki bazı atmosferik değerlere sınır koşulu olarak ihtiyaç duymaktadır. Model için gerekli olan atmosferik girdiler rüzgâr hızı, hava basıncı, hava sıcaklığı, özgül nem, bulutluluk ve yağmur miktarıdır. Model bu atmosfer verilerini kullanarak denize giren ve denizden çıkan ısı miktarını ve ışınımı, buharlaşma ve yağmur kaynaklı tuzluluk değişimini ve rüzgâr kaynaklı türbülanslı karışım miktarını belirler.

GOTM için gereken atmosfer verileri European Centre for Medium-Range Weather Forecasts (ECMWF) tarafından sağlanan ERA-Interim veri bankası'dan (Dee vd., 2011) 3 saat zaman çözünürlükte ve tüm Doğu Akdeniz'i kapsayacak şekilde indirilmiştir. İndirilen bu veri setinden ETS 200m istasyonunu kapsayan ızgara karesi örnekleme süresini kapsayacak şekilde izole edilmiştir. Bu verilerin örnekleme süresi boyunca zamansal değişimleri Şekil 8'de verilmiştir. Bu veri seti atmosferik ölçüm verilerinin asimile edildiği bir atmosfer modeli simülasyonunun çıktısıdır.



Şekil 8: Örnekleme noktasında ve örnekleme zaman dilimi boyunca (A) rüzgar hızı, (B) hava basıncı, (C) özgül nem, (D) hava sıcaklığı ve (E) bulutluluk oranı.

E)



Şekil 8 (devam)

Model sayısal yapısı dolayısıyla fiziksel değerleri tüm su kolonu boyunca değil, kullanıcının belirlediği derinliklerdeki sınırlı sayıda ızgara noktasında (grid point) çözmektedir. Bu kapsamda yüzeye yaklaştıkça sıklıkları artan ve toplam sayıları 50 olan ızgara derinlikleri seçilmiştir. Bu stratejinin amacı karışmış tabakada yüksek sayısal doğruluk elde etmektir.

Model sıcaklık ve tuzluluk başlangıç koşulları 15 Ağustos 2016 tarihli ETS seferinde yapılan CTD ölçümlerinden elde edilmiştir. Bu veriler ölçüm yapılan derinliklerden model ızgara derinliklerine doğrusal enterpolasyon yoluyla uyarlanmıştır. Model simülasyonunun bitiş tarihi bir yıllık örnekleme döneminin sonuna denk gelen 14 Ağustos 2017'dir.

Her ne kadar su kolonunun fiziksel özellikleri GOTM tarafından çözülsün de bu özelliklerin örnekleme sırasında yerinde ölçüldükleri unutulmamalıdır. GOTM'un bu özellikleri ölçümler kadar doğru tahmin edebilme imkanı yoktur. Tahminleri gerçek değerlere mümkün olduğu kadar yaklaştırmak amacı ile model tahminleri ölçümlere doğru itilmiştir. Kullanılan yöntemin ismine sayısal rahatlatma (relaxation) ismi verilmektedir ve GOTM'da bunu mümkün kılan özellik bulunmaktadır. Rahatlama zamanı hem tahminlerin gerçek değerlerden çok uzaklaşmamasını sağlayan hem de modelin iç dinamiklerinin açığa çıkmasını engellemeyen bir zaman olan 30 gün olarak seçilmiştir. Bu da yaklaşık olarak örnekleme aralığına denk gelmektedir. Bu yöntemle fiziksel model verilerinin arasındaki zamansal boşluğu dolduran ve örnekleme sırasında ölçülmeyen değerleri (ör. karışım) tahmin eden bir araç olarak kullanılmaktadır.

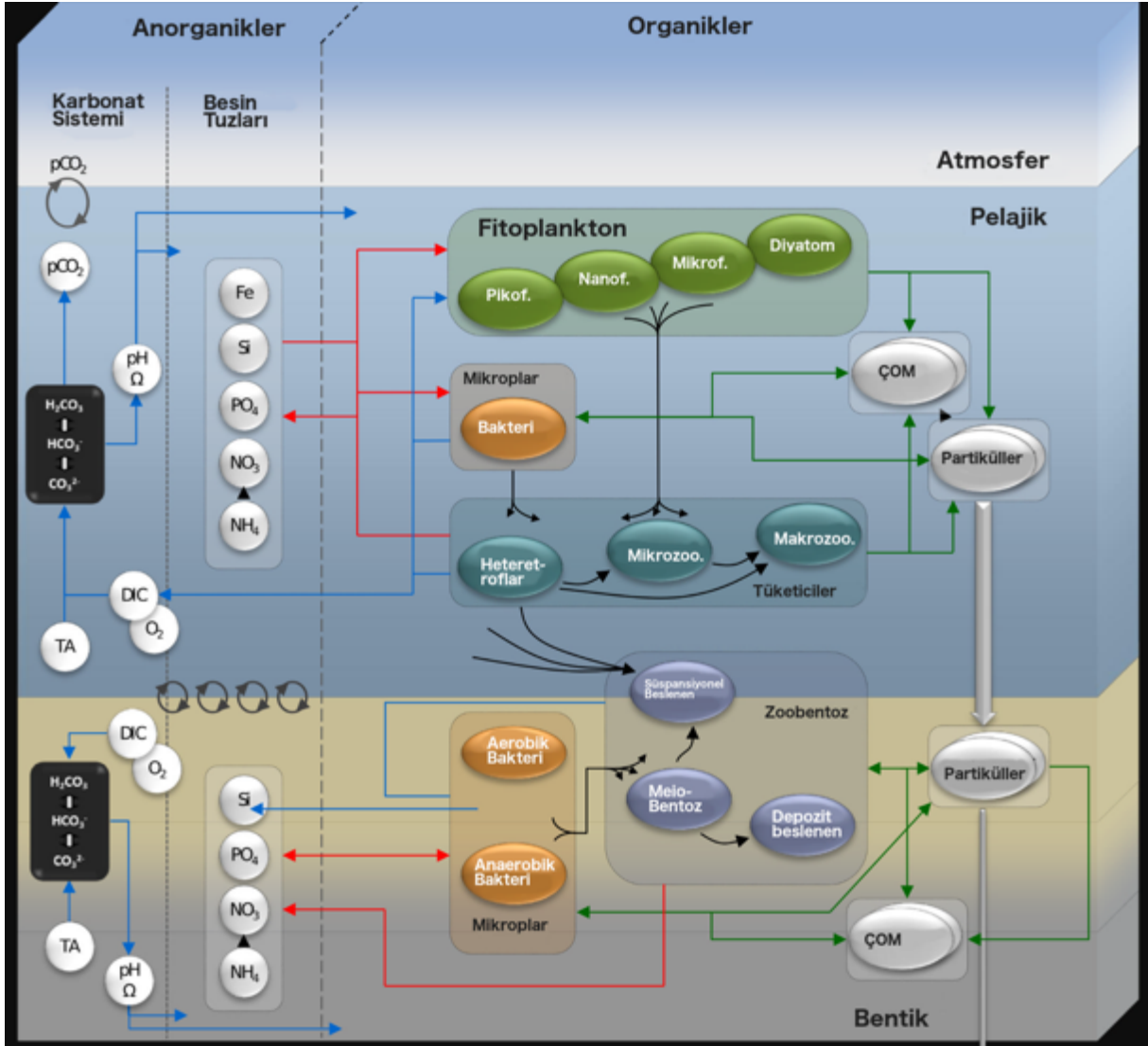
Rahatlama yöntemi aynı zamanda modelin tek boyutlu olmasından kaynaklanan bir sorunu da çözmektedir. Doğu Akdeniz net su bütçesi eksi değerde olan bir su kütleline sahiptir ve Atlantik kaynaklı suyun eksikliği durumunda deniz tuzluluğu artma eğilimi gösterecektir. Yatay boyutu içeren bu sürecin eksikliği model tuzluluk tahminlerinde aynı etkiyi yaratmaktadır, ancak rahatlatma yöntemi ile bu etki minimize edilebilir.



## 2.7.2 Biyojeokimyasal modelin geliştirilmesi ve uygulanması

Biyojeokimyasal model karbon, azot, fosfor ve silikon gibi biyojeokimyasal süreçlerde önemli roller oynayan elementlerin organik ve inorganik formları arasındaki akışını hesaplayan sayısal bir araçtır. Bu modelin görevi bu akışların anlık hızlarını hesaplayıp fiziksel modele aktarmaktır. Fiziksel model ise bu hızları kullanarak hem biyojeokimyasal model öğelerinin dikey taşınımını gerçekleştirir, hem de bu öğelerin zamansal entegrasyonunu sağlar. Biyojeokimyasal model ise anlık akış hızlarını hesaplarırken fiziksel modelden gelen su sıcaklığını ve güneş ışınımını kullanır. Birçok biyolojik ve kimyasal reaksiyonun hızı su sıcaklığına bağlıdır ve fitoplanktonların büyüme hızı güneş ışınımına bağlıdır, dolayısıyla biyojeokimyasal modelin bu fiziksel değerleri fiziksel modelden sağlamakla yükümlüdür.

Proje kapsamında geliştirilen modelleme sisteminde maddenin organik ve inorganik formları arasındaki akışın hesaplanması için ERSEM biyojeokimyasal modeli (Butenschön vd., 2016) uyarlanmış ve fiziksel model ile bağlantısı FABM (Bruggeman ve Bolding, 2014) ara yüzü kullanılarak yapılmıştır. ERSEM-FABM çerçevesi olduğu gibi bir bölgeye uygulanabilecek bir model değil, modeli oluştururken kullanılması istenilen bileşen ve süreçler için alternatif modüller sunan bir araç çantasıdır. Modelin kullanılması uygulanacak bölgeye has bileşen ve süreçlerin bilinmesi, bu bileşen ve süreçlerde bölge için ERSEM'in sunduğu alternatiflerden uygun olanlarının seçilmesi ve bu alternatiflerin uygunsuzluğu durumunda model kodunda değişiklik yapılmasını içermektedir. ERSEM-FABM çerçevesinin sunduğu bir başka avantaj ise birçok fiziksel model ile bağlantı sağlayabilmesidir. Fiziksel modeller ile biyojeokimyasal modeller arasında bilgi akışı sağlayan ara yüzler son on yılda modüler modellemenin popüler olmasıyla ve geliştirilmelerindeki zorluklardan dolayı birçok projenin konusu olmuşlardır (Bruggeman ve Bolding, 2014; Lemmen vd., 2018). Bu model çerçevesinin seçilmesinin diğer nedenleri arasında içerdiği süreçlerin detaylı ve gerçekçi olması, birçok denize uyarlanıp kullanılmış olması (Petihakis vd., 2006) gelmektedir. Bununla birlikte Avrupa denizleri için geliştirilmiş olması nedeniyle ileride Avrupa Birliği çerçeve programları kapsamında gerçekleştirilecek projelerde büyük olasılıkla bu model kullanılacaktır. Bu kapsamda bu proje model sisteminde ERSEM'in uyarlanması ileride avantaj olacaktır.



Şekil 9. ERSEM, model bileşenlerin birbiriyle nasıl etkileştiğini veya birbirini nasıl etkilediğini gösteren şematik. Mavi konektörler inorganik karbon akışını temsil eder, kırmızı besin akışını gösterir, sarı oksijeni, siyahı yırtıcı-av etkileşimlerini temsil eder ve yeşil canlı olmayan organiklerin akışını temsil eder. Kesikli oklar, karbonat sistemi değişkenlerinin etkisini gösterir. Şekil Butenschön vd., (2016)'dan alınmıştır.

ERSEM'in model bileşenleri Şekil 9'da gösterilmiştir. Model diatomlar, mikrofıtoplankton, nanofıtoplankton ve picofıtoplankton olmak üzere dört fitoplankton bileşeni içermektedir (Şekil 8'de yeşil ile gösterilen bileşenler). Bu bileşenler tür bazında değil, ekosistem içindeki fonksiyonları düşünülerek ayrılmıştır. Tüm fitoplankton bileşenlerinin ışığa, amonyak, nitrat, fosfat ve silikati içeren inorganik besinlere bağlı olarak büyüme hızları değişmektedir. Bunun yanı sıra büyüme hızları su sıcaklığına da bağlıdır. Tüm fitoplankton türleri zooplankton türleri tarafından avlanılabilir. Ayrıca tüm fitoplankton türlerinin içerdikleri karbon, azot ve fosfat miktarı ayrı ayrı çözülmektedir ve böylece model değişken stokiometrilere temsil etme yetisine

sahiptir. Yine tüm fitoplankton türleri değişken bir klorofil konsantrasyonuna sahiptir ve bu da model tarafından çözülmektedir. Diatom türleri diğer türlerin aksine Silikon bileşenine ve ayrıca çökme özelliğine sahiptir. Fitoplankton türleri öldüklerinde Partikül Organik Madde 'ye (Şekil 9'da POM kısaltması ile gösterilen bileşenler) ve Çözünmüş Organik Madde 'ye (Şekil 9'da ÇOM kısaltması ile gösterilen bileşenler) dönüşür. Modelin fitoplankton bileşenleri bu süreçlerin hızlarını belirleyen, her türde var olan ancak türe göre kendine özgü değerler alan bir parametre setine sahiptir.

ERSEM mezozooplankton, microzooplankton ve heterotrofik dinoflagellatlar olmak üzere üç zooplankton türünü temsil etmektedir. Mezozooplankton tüm zooplankton ve fitoplankton türleri, bakteri ve orta boy partikül organik madde ile beslenmektedir. Microzooplankton yine tüm fitoplankton türleri, microzooplankton, heterotrofik dinoflagellatlar ve bakteri ile beslenmektedir. Heterotrofik dinoflagellatların ise nanofitoplankton, picofitoplankton, heterotrofik bakteri ve kendi türü olan heterotrofik dinoflagellatlar ile beslenmeleri mümkündür. Zooplankton türleri fitoplankton türleri gibi öldüklerinde Partikül Organik Madde'ye ve Çözünmüş Organik Madde'ye dönüşür. Tüm zooplankton türleri avlanma sonucu kazandıkları organik maddenin bir kısmını randımsız beslenmeden dolayı çevreye Çözünmüş Organik Madde olarak salmaktadırlar.

Model biyolojik canlılar dışında iki organik madde grubu içermektedir. Bunlardan biri Çözünmüş Organik Madde'dir ve üç alt türü bulunmaktadır: değişken, yarı değişken ve refrakter çözünmüş organik madde. Bunlardan sadece değişken olanı azot ve fosfor bileşenleri içerir ancak tüm türler karbon içermektedir. Çözünmüş Organik Madde organizmaların ölümü, randımsız beslenme, salgılama ve Partikül Organik Madde'nin çözünmüş hale dönüşümü aracılığıyla artar. Azalmasını sağlayan süreç ise bakteriler tarafından tüketilmeleri ve içindeki elementlerin mineralize edilmesidir. Partikül Organik Madde ise küçük, orta ve büyük boy olarak üçe ayrılmıştır ve bu alt türlerin çökme hızı büyüklüğe göre değişmektedir. Tüm alt türler karbon, fosfor ve azot içerir ancak sadece orta ve büyük boy partikül organik madde silikon içermektedir. Partikül Organik Madde organizmaların ölümü ve salgılama yoluyla ortaya çıkmakta ve çürüme ile Çözünmüş Organik Madde'ye dönüştürülmektedir.

ERSEM'de heterotrofik bakteri türü önemli roller oynamaktadır ve karbon, azot ve fosfor içeriği model tarafından çözülür. Bakterinin görevi Çözünmüş Organik Madde'yi ve Partikül Organik Madde'yi besin olarak kullanarak çoğalmak ve bu süreçte fitoplankton türleri için besin olan amonyak ve fosfat üretmektir (remineralizasyon). Bakteri organik maddede bulunan azot ve fosforun azlığı durumunda amonyak ve fosfat üretmek yerine bu maddeleri çevreden kullanabilir. Bakteri heterotrofik dinoflagellatlar tarafından besin olarak kullanılabilir ve ölü bakteriler diğer biyolojik öğeler gibi Partikül Organik Madde'ye ve Çözünmüş Organik

Madde'ye dönüşür. Modelde amonyakın oksitlenerek nitrata dönüştürülmesi nitrifikasyon modülü tarafından gerçekleştirilmektedir.

Modelde oksijen fitoplankton tarafından üretilmektedir ve aynı zamanda hava-deniz arasındaki oksijen akışı temsil edilmiştir. Denizde oksijeni tüketen süreçler arasında fitoplankton, zooplankton ve bakteriler tarafından solunumda kullanılması ve amonyakın oksitlenerek nitrata dönüştürülme (nitrifikasyon) bulunmaktadır. Modelin karbon sistemi (Şekil 9'de en solda olan kısım), demire bağlı süreçler ve bentik ekosistem modülleri (Şekil 9'de en altta sarı ile gösterilen bölüm) bu öğelerle alakalı veri eksikliğinden dolayı çalıştırılmamıştır.

Daha önce de belirtildiği gibi biyojeokimyasal model, model öğeleri arasındaki madde (karbon, azot, fosfat vb.) akış hızlarını kontrol eden onlarca parametre içermektedir. Fitoplankton türlerinin ışık ve inorganik besilerin miktarlarına göre büyüme hızlarını belirleyen parametreler, zooplankton türlerinin hangi türü ve ne hızla tükettiğini belirleyen parametreler ve bakterinin değişik organik madde türlerini ne hızla tükettiğini kontrol eden parametreler biyojeokimyasal modelin içerdiği parametrelere örnek teşkil etmektedirler. Bu parametrelerin değerleri daha önce Doğu Akdeniz için ERSEM modeli kullanılan bir çalışmadan alınmıştır (Petihakis vd., 2006). Bu parametreler, daha sonra parametre tahmin sisteminde başlangıç parametreleri olarak kullanılmıştır.

Tablo 5. Modelin tahmin ettiği bilinmeyenler (Model Öğeleri), modelde bunlar için kullanılan semboller ve içerdikleri elementler.

Model Öğesi	Sembol	İçerdiği Elementler/Moleküller
Diatomlar (20–200 $\mu\text{m}$ )	<i>P1</i>	<i>C, N, P, Si, Chl</i>
Nanofitoplankton (2–20 $\mu\text{m}$ )	<i>P2</i>	<i>C, N, P, Chl</i>
Pikofitoplankton (0,2–2 $\mu\text{m}$ )	<i>P3</i>	<i>C, N, P, Chl</i>
Mikrofitoplankton (20–200 $\mu\text{m}$ )	<i>P4</i>	<i>C, N, P, Chl</i>
Pelajik Bakteri	<i>B1</i>	<i>C, N, P</i>
Heterotrofik nanoflagellatlar (2–20 $\mu\text{m}$ )	<i>Z6</i>	<i>C, N, P</i>
Mikrozooplankton (20–200 $\mu\text{m}$ )	<i>Z5</i>	<i>C, N, P</i>
Mezozooplankton	<i>Z4</i>	<i>C, N, P</i>
Çözünmüş Organik Madde (değişken)	<i>R1</i>	<i>C, N, P</i>
Çözünmüş Organik Madde (yarı değişken)	<i>R2</i>	<i>C</i>

Çözünmüş Organik Madde (yarı refraktar)	R3	C
Partikül Organik Madde (küçük)	R4	C, N, P
Partikül Organik Madde (orta)	R6	C, N, P, Si
Partikül Organik Madde (büyük)	R8	C, N, P, Si
Nitrat	N3n	N
Amonyum	N4n	N
Fosfat	N1p	P
Silikat	N5s	Si
Oksijen	O2o	O <sub>2</sub>

Modelin çözüm yaptığı derinlikler ölçümlerle karşılaştırıldıklarında çok sayıdadır ve ölçümlerle aynı noktalarda değildirler. Bu nedenle model başlangıç koşulları 15 Ağustos 2016 tarihli ETS seferinde yapılan ölçümlerden doğrusal enterpolasyon yoluyla elde edilmiştir. Bu yöntem kapsamında ölçüm yapılan derinliklerin  $d_i^{\circ}, i = 1, \dots, n$  ile ve bu derinliklerde ölçülen değerlerin  $x_i^{\circ}, i = 1, \dots, n$  ile temsil edildiği, modelin çözüm yaptığı derinliklerin  $d_j^m, i = 1, \dots, k$  ile ve bu derinliklerdeki model değerlerinin ise  $x_j^m, i = 1, \dots, k$  ile temsil edilme durumunda modele başlangıç koşulu olarak kullanılacak değerler aşağıdaki formül ile hesaplanabilir

$$x_j^m = x_i^{\circ} + \frac{(d_j^m - d_i^{\circ})}{(d_{i+1}^{\circ} - d_i^{\circ})} (x_{i+1}^{\circ} - x_i^{\circ})$$

Bu formül model ve ölçüm derinliklerinin  $d_i^{\circ} < d_j^m < d_{i+1}^{\circ}$  denklemine uyacak şekilde sıralandığını varsaymaktadır.

Simülasyonunun bitiş tarihi bir yıllık örnekleme döneminin sonuna denk gelen 14 Ağustos 2017'dir. Fitoplankton grupları için gereken başlangıç koşulları proje kapsamında tür bazında yapılan bolluk ölçümlerinin, Akdeniz'de bu türler için ölçülen biyohacim değerlerinin (Arin vd., 2002; Fanuko ve Valcı, 2009) ve biyohacim ile karbon ve azot biyokütlesi ilişkisini tanımlayan bir çalışmanın (Menden-Deuer ve Lessard, 2000) aracılığıyla hesaplanmıştır. Diatomların modelde kendi başına bir fonksiyonel grup teşkil etmelerinden dolayı bu grup için yapılan Diatom ölçümleri kullanılmıştır. Modelde başka bir grup olan mikrofitoplankton değerleri ölçülen diktiyofitoplankton ve dinoflagellatların bolluklarının toplamından elde edilmiştir. Nanofitoplankton, kokolit ve kriptofit bollukları toplanarak hesaplanmıştır. Pikofitoplankton bolluğu için ise siyanobakteri ölçümleri kullanılmıştır.

Proje önerisinde ETS kapsamında (projede yapılacak ölçümler dışında) ölçüleceği belirtilen zooplankton bollukları ölçülememiştir. Bu nedenle zooplankton türleri için başlangıç koşulları toplam fitoplankton karbon kütlesinin üçe bölünerek üç zooplankton ögesine eşit şekilde dağıtılması yoluyla elde edilmiştir. Zooplankton azot ve fosfor içerikleri Redfield oranı kullanılarak hesaplanmıştır (Redfield vd., 1963).

Organik madde ve inorganik besin tuzu başlangıç koşulları için ise proje kapsamında yapılan ölçümler kullanılmıştır. Partikül Organik Madde'nin boy dağılımı ölçülmediği için ölçülen değerler bu üç gruba eşit dağıtılmıştır.

Modelde bentik bileşenleri temsil eden ögelerin veri eksikliği nedeniyle çözülmemesi modelin deniz dibi – su kolonu arayüzünde gerçekçi olamayan dinamiklere neden olabilir. Örneğin Partikül Organik Madde modelin en derin ızgara noktasında birikip remineralizasyon nedeniyle burada yüksek amonyak derişimi görülebilir. Bu eksikliği gidermek amacı ile modelin 150m ve altındaki ızgara noktalarında bazı model ögeleri ölçümlere doğru rahatlatma yöntemi ile itilmiştir. Ölçümlere doğru itilen model ögeleri nitrat, amonyum, fosfat, silikat, çözünmüş ve partikül organik maddedir. Model su kolonunda 150m ve üzerindeki ızgara noktalarında tamamen serbest çalıştırılmıştır.

### 2.7.3 Optimizasyon tabanlı parametre tayini

Biyojeokimyasal modellerin tahmin başarısını düşüren faktörlerden en önemlisi modellerin içerdiği onlarca parametrenin değerlerinin yüksek doğrulukta bilinmemesidir. Bu parametrelerin modellerde kullanımı genellikle yaklaşık değerlerin literatürden bulunması ve modelin ölçümlerle uymasını sağlamak için manuel olarak ayarlanmaları ile yapılır. Bu süreç zor ve zaman alan bir süreçtir ve ortaya çıkan parametrelerin değerlerinin doğruluğu şüphe içermektedir. Proje kapsamında yapılan sık aralıklarla ve birçok farklı model ögesini içeren ölçümler parametre tahminini bir algoritma aracılığıyla otomatize etmek için önemli bir fırsat sağlamaktadır.

Proje kapsamında parametre tahmini ücretsiz ve açık kaynaklı bir yazılım olan PEST (Model-Independent Parameter Estimation and Uncertainty Analysis) kullanılarak yapılmıştır (Doherty, 2015). PEST'in ana amacı modelle ölçümlerin farkını ölçen objektif fonksiyonunu minimize eden parametreleri bulmaktır.  $r_i^o$  ölçülen değerleri,  $r_i^m$  ölçüm yapılan derinlik ve zamandaki model tahminlerini ve  $N$  toplam ölçüm veri noktası sayısını temsil ettiği taktirde objektif fonksiyonunun tanımı aşağıdaki gibidir:

$$P = \sum_{i=1}^N (w_i (r_i^m - r_i^{\hat{o}})^2)$$

Bu denklemde  $w_i$  kullanıcı tarafından her bir veri noktasına verilen ağırlıktır. PEST bu fonksiyonu iteratif bir şekilde minimize etmeye çalışır. Her iterasyonda PEST objektif fonksiyonunun tahmini yapılması istenen her bir parametreye göre türevini alır ve dolayısıyla objektif fonksiyonunun Jakobi matrisini hesaplar. Bu matris objektif fonksiyonunun parametre uzayında lokal olarak hangi yöne gidildiğinde düşeceğini gösterir ve PEST parametre uzayında bu yöne adım atarak yeni bir parametre seti elde eder. Yeni parametreler kullanılarak objektif fonksiyonu tekrar hesaplanır. Fonksiyonda bir azalma var ise, PEST yeni bir iterasyon başlatır ve tahmin sürecine devam eder, eğer bir azalma yok ise PEST tahmin sürecini durdurur.

Parametre tahmin sürecinde kullanılan veri setleri, ölçülen derinlikler ve bu verilerin tekabül ettiği model öğeleri Tablo 6'da verilmiştir. Bu veri setleri tüm veri setleri arasından göreceli güvenilirlikleri ve modelde bu sete denk gelen öğelerin varlığı göz önünde bulundurularak seçilmiştir. Tahmini yapılmak üzere seçilen biyojeokimyasal model parametreleri, bunların başlangıç değerleri ve kullanıcı tarafından biçilen üst ve alt limitleri Tablo 7'de gösterilmiştir. Tahmini yapılması istenen parametreler tüm parametreler arasından literatürde var olup olmadıkları, ölçülen model öğelerinin denklemlerinde var olup olmamaları ve biliniyorsa doğadaki değişkenlikleri düşünülerek seçilmiştir. Objektif fonksiyonunda kullanılan ağırlıklar veri setlerinin standart sapması hesaplanarak bunların bire bölünmesiyle elde edilmiştir, böylece birim farklılıklarından doğan ağırlık farkları minimize edilerek her bir veri setine optimizasyon algoritması tarafından aynı önemin verilmesi sağlanmıştır.

Parametre tahmini bittikten sonra değerleri bulunan parametreler kullanılarak model çalıştırılmıştır ve modelin tahmin ettiği nitrifikasyon hızı, proje kapsamında elde edilen gerçek hız verileri ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 6. Parametre tahmini yapılırken kullanılan veri setleri, verilerin ölçüldüğü derinlikler ve tekabül ettikleri model öğeleri

Veri Seti	Ölçülen Derinlikler (m)	Model Öğesi
Diatom Karbon Biyokütlesi	0,25,50,100,250,200	P1_c
Mikrofitoplankton Karbon Biyokütlesi	0,25,50,100,250,200	P2_c
Nanofitoplankton Karbon Biyokütlesi	0,25,50,100,250,200	P3_c

Pikofitoplankton Karbon Biyokütlesi	0,25,50,100,250,200	P4_c
Heterotrofik Bakteri Karbon Biyokütlesi	0,25,50,100,250,200	B1_c
Toplam Klorofil	0,10,25,50,75,100,150,200	P1-4 Klorofil İçeriği Toplamı
Çözünmüş Oksijen	0,10,25,50,75,100,150,200	O2o
Nitrat	0,10,25,50,75,100,150,200	N3n
Amonyum	0,10,25,50,75,100,150,200	N4n
Fosfat	0,10,25,50,75,100,150,200	N1p
Silikat	0,10,25,50,75,100,150,200	N5s
Toplam Fosfor	0,25,50,100,250,200	Tüm öğelerin fosfor içerik toplamı
Toplam Azot	0,25,50,100,250,200	Tüm öğelerin fosfor içerik toplamı

Tablo 7. Tahmini yapılan model parametreleri

Parametre	Sembol	Birim	Başlangıç Değeri	Alt Limit	Üst Limit
<b>Nitrifikasyon</b>					
Q10 sıcaklık çarpanı	'NITq10'	-	2	1,5	3
Maximum nitrifikasyon hızı	'NITsN4N3'	1/gün	0,5	0,0001	10
Oksijen limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'NITchN3o'	(mmol O <sub>2</sub> /m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	2700	1	10000
Amonyum limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi dependence of nitrification	'NITchN4n'	(mmol N/m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	0,5	0,01	1



<b>Organik Madde</b>					
Küçük partikül organik maddenin çöküş hızı	'R4rm'	m/gün	1	0,5	3
Orta boy partikül organik maddenin çöküş hızı	'R6rm'	m/gün	5	3	10
Büyük partikül organik maddenin çöküş hızı	'R8rm'	m/gün	10	7	20
<b>Heterotrofik Bakteri</b>					
Q10 sıcaklık çarpanı	'B1q10'	-	2.95	2	6
Oksijen limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'B1chdo'	mmol O/m <sup>3</sup>	0,31	0,1	1
Nitrat limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'B1chn'	mmol N/m <sup>3</sup>	0,5	0,1	1
Fosfat limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'B1chp'	mmol P/m <sup>3</sup>	0,1	0,01	1
Referans sıcaklıkta maksimum ölüm hızı	'B1sd'	1/gün	0,05	0,01	0,1
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'B1sum'	1/gün	8,38	5	10
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'B1srs'	1/gün	0,01	0,01	0,1
Çözünmüş organik madde için maksimum dönüşüm hızı	'B1sR1'	1/gün	0,0001	1,00E-05	1
Maksimum fosfor karbon oranı	'B1qpc'	mmol P/mg C	0,0019	0,001	0,0025

Maksimum azot karbon oranı	'B1qnc'	mmol N/mg C	0,0167	0,01	0,02
Değişken çözülmüş organik fosforun mineralizasyon hızı	'B1sR1N1'	1/gün	0,0001	1,00E-05	1
Değişken çözülmüş organik azotun mineralizasyon hızı	'B1sR1N4'	1/gün	0,0001	1,00E-05	1
Küçük partikül organik maddenin çözülmüş organik maddeye dönüşüm hızı	'B1sRP1R1'	1/gün	0,01	0,005	0,02
Orta boy partikül organik maddenin çözülmüş organik maddeye dönüşüm hızı	'B1sRP2R1'	1/gün	0,0025	0,001	0,01
Büyük partikül organik maddenin çözülmüş organik maddeye dönüşüm hızı	'B1sRP3R1'	1/gün	0,001	0,0005	0,005
<b>Diatom</b>					
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P1sum'	1/gün	2,5	1,5	3,5
Q10 sıcaklık çarpanı	'P1q10'	-	2	1,5	3
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P1srs'	1/gün	0,1	0,05	0,2
Birincil üretimin salgılanan oranı	'P1pu_ea'	-	0,05	0,01	0,5
Birincil üretimin solunan oranı	'P1pu_ra'	-	0,1	0,05	0,5

Minimum azot karbon oranı	'P1qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,001	0,01
Minimum fosfor karbon oranı	'P1qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0001	0,001
Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P1xqcp'	-	1	0,2	1
Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P1xqcn'	-	1	0,5	1
Maksimum fosfor karbon oranı	'P1xqp'	-	2	1	2
Maksimum azot karbon oranı	'P1xqn'	-	2	1	3
Nitrat afinitesi	'P1qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,0025	0,0001	0,1
Amonyum afinitesi	'P1qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,0025	0,0001	0,1
Fosfat afinitesi	'P1qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,003	0,0001	0,1
Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P1snplux'	1/gün	1	0,1	2
Maksimum silikon karbon oranı	'P1qsc'	mmol Si/mg C	0,0118	0,005	0,02
Silikat limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'P1chs'	mmol/m <sup>3</sup>	0,1	0,01	0,5
Minimum liziz hızı	'P1sdo'	1/gün	0,05	0,04	0,06
PI-eğrisinin başlangıç eğimi	'P1alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	4	3	6
Fotoinhibisyon parametresi	'P1beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,07	0,01	0,2

Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P1phim'	mg Chl/mg C	0,06	0,001	0,06
Besin limitasyonundan doğan maksimum çökme hızı	'P1resm'	m/gün	5	0,2	20
Çökmenin başladığı minimum besin seviyesi	'P1esni'	-	0,7	0,1	2
<b>Nanofitoplankton</b>					
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P2sum'	1/gün	3	1,5	3,5
Q10 sıcaklık çarpanı	'P2q10'	-	2	1,5	3
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P2srs'	1/gün	0,05	0,01	0,05
Birincil üretimin salgılanan oranı	'P2pu_ea'	-	0,1	0,05	0,5
Birincil üretimin solunan oranı	'P2pu_ra'	-	0,1	0,05	0,5
Minimum azot karbon oranı	'P2qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,001	0,01
Minimum fosfor karbon oranı	'P2qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0001	0,001
Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P2xqcp'	-	1	0,2	1
Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P2xqcn'	-	1	0,5	1
Maksimum fosfor karbon oranı	'P2xqp'	-	2	1	2
Maksimum azot karbon oranı	'P2xqn'	-	1,075	1	3
Nitrat afinitesi	'P2qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,004	0,0001	0,1

Amonyum afinitesi	'P2qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,004	0,0001	0,1
Fosfat afinitesi	'P2qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,004	0,0001	0,1
Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P2snplux'	1/gün	1	0,1	2
Minimum liziz hızı	'P2sdo'	1/gün	0,05	0,04	0,06
PI-eğrisinin başlangıç eğimi	'P2alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	5	3	6
Fotoinhibisyon parametresi	'P2beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,1	0,01	0,2
Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P2phim'	mg Chl/mg C	0,025	0,012	0,025
<b>Pikofitoplankton</b>					
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P3sum'	1/gün	3,5	1,5	3,5
Q10 sıcaklık çarpanı	'P3q10'	-	2	1,5	3
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P3srs'	1/gün	0,1	0,01	0,2
Birincil üretimin salgılanan oranı	'P3pu_ea'	-	0,1	0,05	0,2
Birincil üretimin solunan oranı	'P3pu_ra'	-	0,2	0,05	0,2
Minimum azot karbon oranı	'P3qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,001	0,01
Minimum fosfor karbon oranı	'P3qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0001	0,001

Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P3xqcp'	-	1	0,2	1
Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P3xqcn'	-	1	0,5	1
Maksimum fosfor karbon oranı	'P3xqp'	-	1,5	1	1,5
Maksimum azot karbon oranı	'P3xqn'	-	1,05	1	3
Nitrat afinitesi	'P3qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,006	0,0001	0,1
Amonyum afinitesi	'P3qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,007	0,0001	0,1
Fosfat afinitesi	'P3qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,006	0,0001	0,1
Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P3snplux'	1/gün	1	0,1	2
Minimum liziz hızı	'P3sdo'	1/gün	0,055	0,04	0,06
PI-eğrisinin başlangıç eğimi	'P3alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	6	3	6
Fotoinhibisyon parametresi	'P3beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,12	0,01	0,2
Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P3phim'	mg Chl/mg C	0,015	0,0079	0,015
<b>Mikrofitoplankton</b>					
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P4sum'	1/gün	1,5	1,5	3,5
Q10 sıcaklık çarpanı	'P4q10'	-	2	1,5	3
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P4srs'	1/gün	0,1	0,01	0,2

Birincil üretimin salgılanan oranı	'P4pu_ea'	-	0,15	0,05	0,2
Birincil üretimin solunan oranı	'P4pu_ra'	-	0,1	0,05	0,2
Minimum azot karbon oranı	'P4qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,001	0,01
Minimum fosfor karbon oranı	'P4qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0001	0,001
Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P4xqcp'	-	1	0,2	1
Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P4xqcn'	-	1	0,5	1
Maksimum fosfor karbon oranı	'P4xqp'	-	2,7	1	3
Maksimum azot karbon oranı	'P4xqn'	-	1,1	1	3
Nitrat afinitesi	'P4qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,002	0,0001	0,1
Amonyum afinitesi	'P4qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,002	0,0001	0,1
Fosfat afinitesi	'P4qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,002	0,0001	0,1
Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P4snplux'	1/gün	1	0,1	2
Minimum liziz hızı	'P4sdo'	1/gün	0,045	0,04	0,06
Pl-eğrisinin başlangıç eğimi	'P4alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	3	3	6
Fotoinhibisyon parametresi	'P4beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,06	0,01	0,2

Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P4phim'	mg Chl/mg C	0,045	0,01	0,045
--------------------------------------------------------	----------	-------------	-------	------	-------



### 3 BULGULAR

#### 3.1 Fiziksel ve Biyokimyasal Özellikler

##### 3.1.1 Bölgenin Fiziksel Özellikleri

Genel su sütunu özellikleri ağırlıklı olarak Akdeniz karakteristik özelliklerini yansıtmaktadır. Yaz aylarında kuvvetli tabakalaşma, yüzeyde nispeten tükenmiş besin tuzu konsantrasyonlarını ifade ederken, kış aylarında ise iyi karışmış su sütununu temsil etmektedir. Örneklemenin yapıldığı alan, Kilikya Akıntısının etkisi altındadır ve Lamas Nehri adı verilen nehirden tatlı su girişi etkisindedir. Lamas Nehri'nin yanı sıra, daha büyük ölçekli Göksu Nehri de ETS istasyonlarına yakındır ancak örnekleme istasyonuna muhtemel etkisinin kanıtı henüz sağlanmamıştır.

Lamas Nehri, örnekleme bölgesini etkileyen diğer nehirler için de gözlemlendiği gibi ilkbaharda daha yüksek hacimlerde tatlı su deşarj etmektedir (Koçak vd., 2010). Lamas Nehri'nin yıllık ortalama su deşarjı, Göksu (45 m<sup>3</sup>/s), Seyhan, Ceyhan ve Berdan gibi diğer nehirlerle kıyasla 3 m<sup>3</sup>/s ile en düşüktür. Lamas Nehri bölgesinin deşarj havzası içinde bulunan en az kirli nehir olarak rapor edilmiştir. Çok düşük amonyum ve fosfat konsantrasyonları (sırasıyla 0,4 ve 1 uM) ve yüksek nitrat konsantrasyonları (101 uM) olduğu görülmüştür.

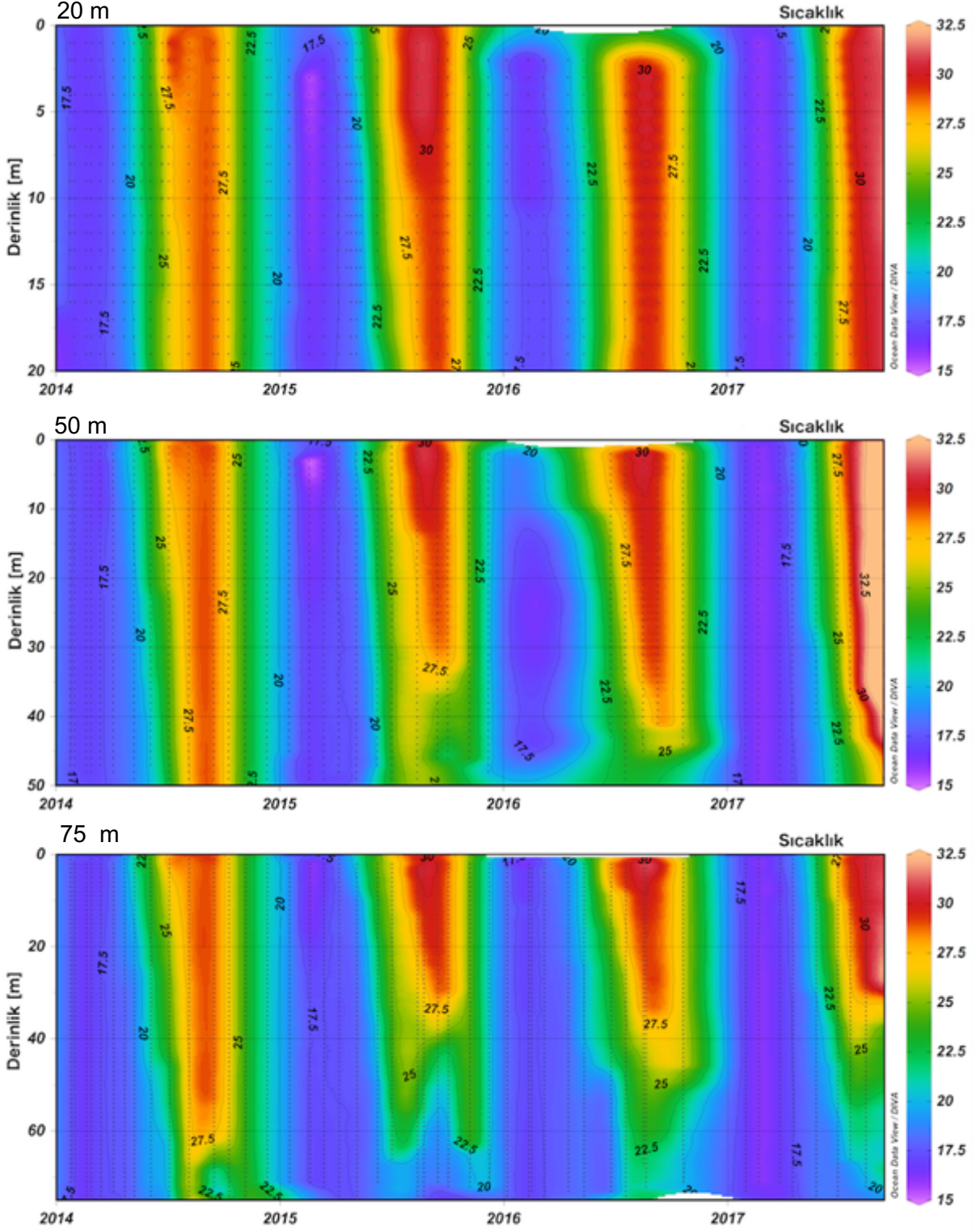
##### 3.1.1.1 2014-2017 döneminde mevsimsel sıcaklık ve tuzluluk değişkenliği

Bu bölümde, 2014 ve Ağustos 2017 tarihleri arasında ETS izleme çalışmaları sırasında toplanan veriler kullanılarak, su sütunundaki farklı istasyonlar için (kıyıdan açığa) tuzluluk ve sıcaklık profilleri açısından mevsimsel değişimler ele alınacaktır.

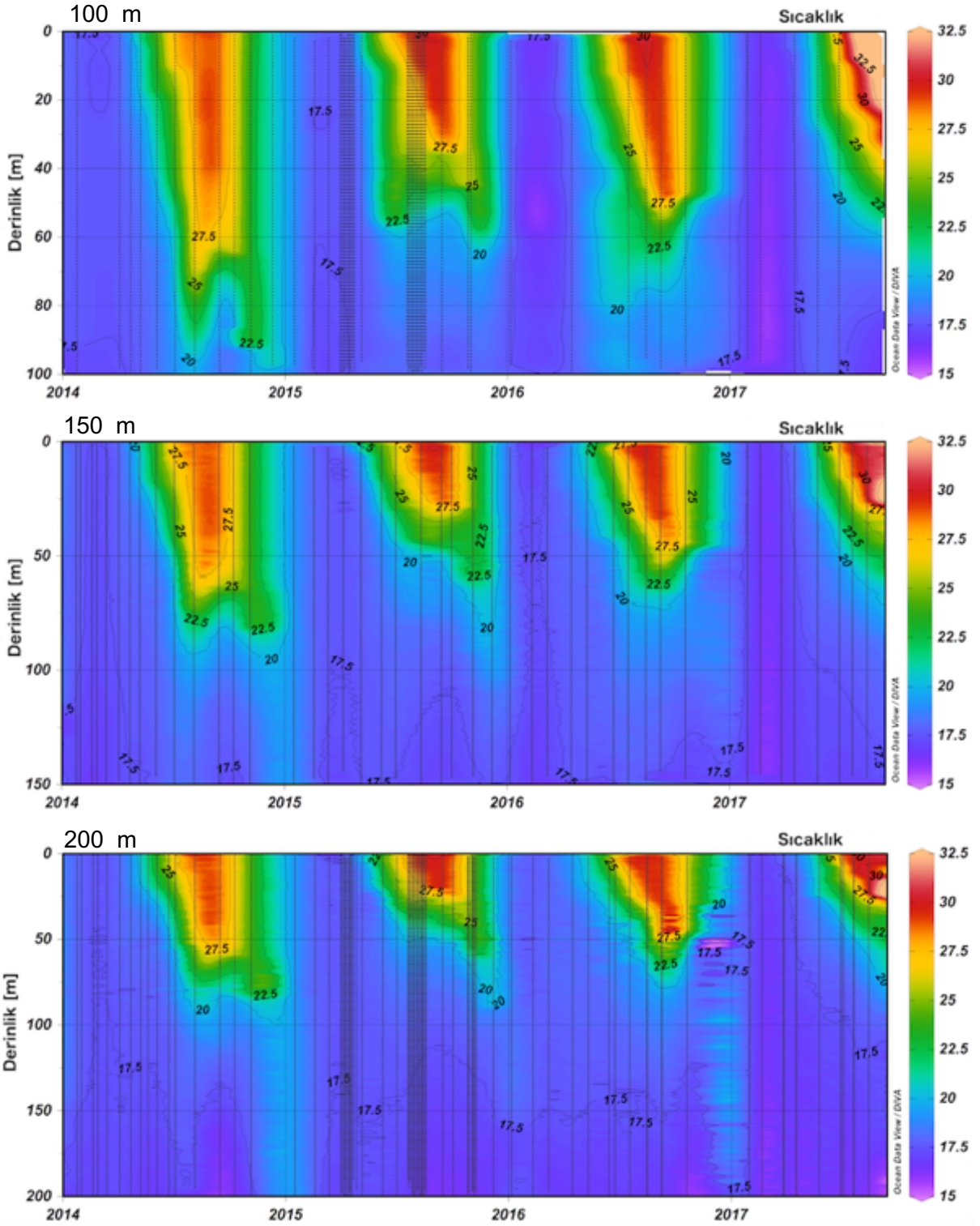
ETS istasyonlarındaki su sütunu, yıllık bir soğutma ve ısınma döngüsü gösterir. Su kolonunun ısınması Nisan başları civarında başlar ve yaklaşık olarak Ekim sonuna kadar devam eder (Şekil 10). Termoklin derinliği yaz aylarında daha derin istasyonlarda 40-80 m arasında değişkenlik göstermiştir, T = 27,5 C ve S = 39,3 – 39,5 (Şekil 10 ve Şekil 11). Tüm istasyonlarda 20m'den 200m'ye kış karışımı hakim olmuş ve Akdeniz'in genel özelliklerinden olan yaz aylarında tabakalaşma açık istasyonlarında gözlenmiştir.

Yaz döneminde, 20m istasyonundaki tüm su kolonu, Nisan-Mayıs ayları arasında kademeli olarak ısınmakta ve Kasım ayından itibaren soğumaktadır. Toplam su sütunu derinliği sığ olduğundan, diğer gözlem istasyonlarında olabileceği gibi yaz tabakalaşması gözlenmemiştir. Bununla birlikte, 100m istasyonundan başlayarak yaz tabakalaşması izlenmektedir (Şekil 10). Tüm istasyonlarda, 2014 yazında daha derin termoklin gözlemlenirken, diğer yıllara kıyasla ekstra ısınma nedeniyle 2015 yılında daha yüze yakın olduğu görülmüştür. Termoklin

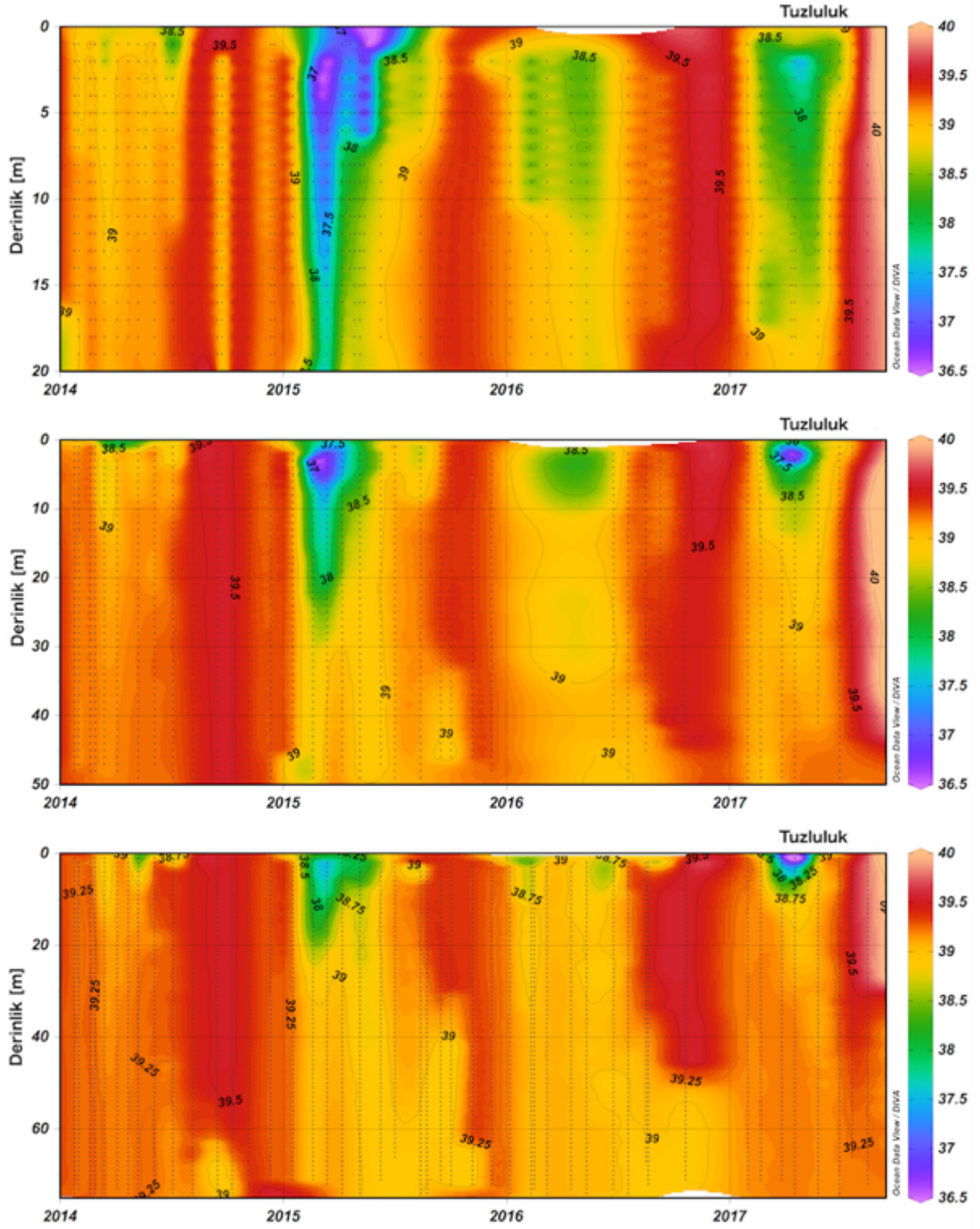
derinliği 2014-2017 yılları boyunca ETS-200'de 40 ila 80m arasında değişmektedir ve 2014 yılı yaz aylarında YSS (Yüzey Suyu Sıcaklığı) ortalamalarının 2015 yaz YSS'den daha düşük olduğundan en derin termokline sahiptir.



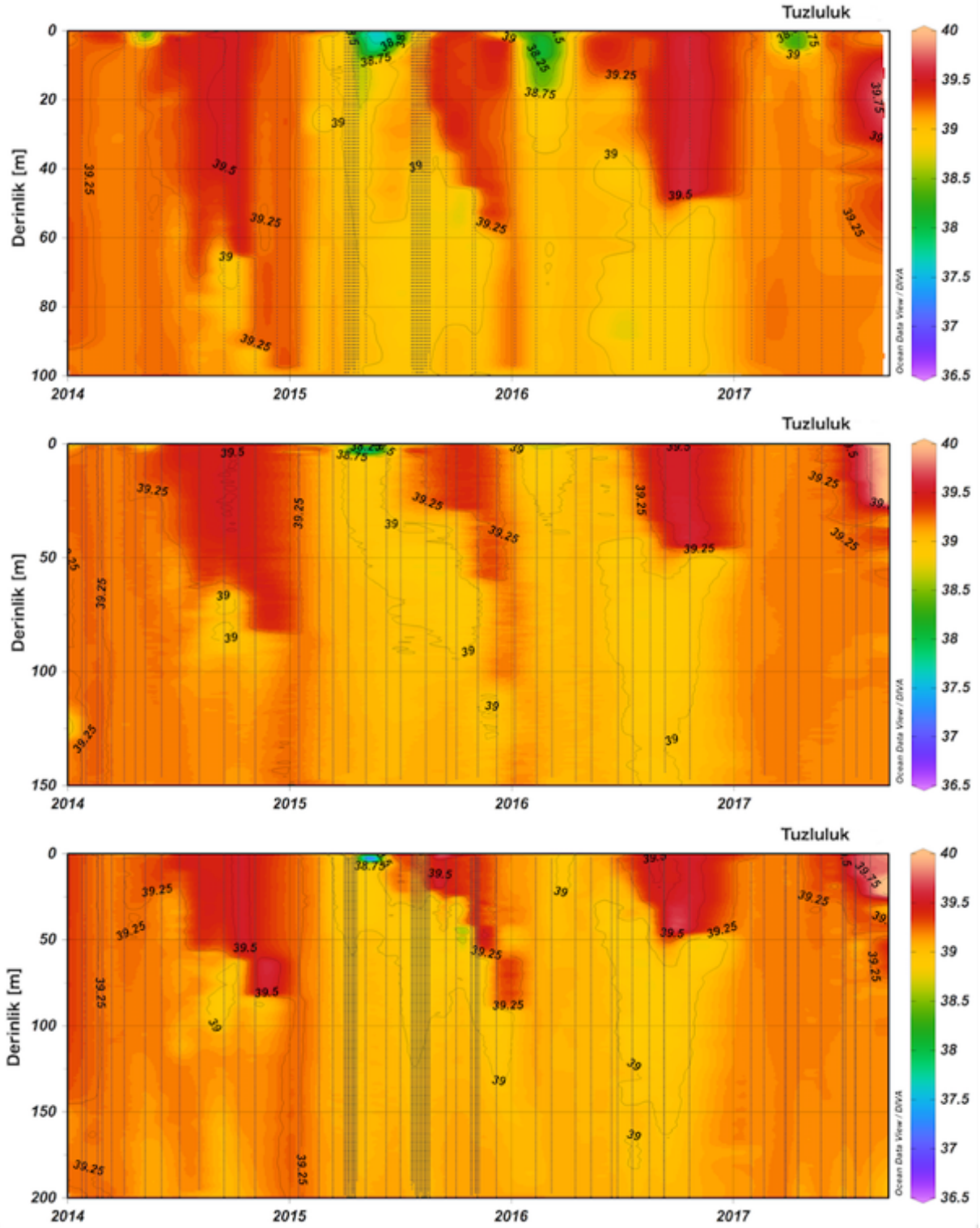
Şekil 10. ETS 20m, 50m, 75m, 100m, 150 ve 200m'lik istasyonlarda deniz suyu sıcaklıkları.



Şekil 10 (devam)



Şekil 11. ETS 20m, 50m, 75m, 100m, 150 ve 200m'lik istasyonlarda deniz suyu tuzluluk verisi.



Şekil 11 (devam)

ETS İstasyonları, özellikle kıyıya yakın konumlanmış ETS-20m'lik istasyon, Lamas Nehri'ne yakın konumdadır. Tatlı su girişinin varlığı ETS örnekleme istasyonlarının tuzluluk ve sıcaklık profillerini etkilediği düşünülmektedir (Şekil 11). İstasyonların dördünde (kıyıda doğru) mevcut olan tatlı su girişi, özellikle kıyıda ETS-20m istasyonunda baskın olarak Şubat-Nisan

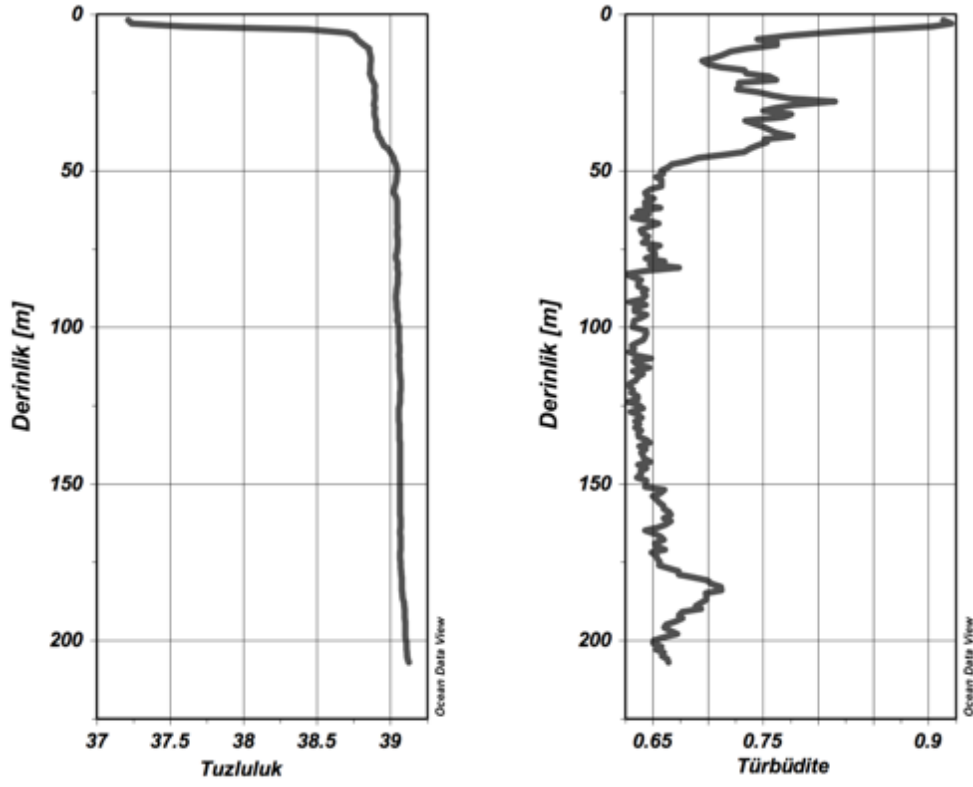
2015 döneminde görülmektedir. Bu nispeten daha az tuzlu su, Şubat ve Mart aylarında nispeten kıyı istasyonlarında, ETS-20, 50 ve 75'de gözlemlenmiştir. Nisan-Mayıs ayları arasındaki düşük tuzluluk profili (ETS-20m yüzeyinde 35.6), ETS-200m'lik istasyonda ancak ilk 6m'lik su sütununda gözlenmiştir. 6 Mayıs 2015'te ETS-200m istasyonunda, yüzeyde 37,2 psu olarak düşük tuzluluk suyu gözlenmiştir. Bu su kütlesi muhtemelen aynı tarihte (yüzeyde yüksek) türbidite profilinden anlaşılabilceği gibi Lamas Nehri'nin ETS-200m'lik istasyona girdisidir (Şekil 12).

Bu düşük tuzlu suyun Lamas Nehri'nden kaynaklandığına güçlü bir destek de Şekil 13'deki yağış verisinden anlaşılabilir. Yağış miktarlarının Nisan ve Mayıs aylarında ETS-200m istasyonu üzerinde baskın olmadığı, ancak kara üzerinde yüksek düzeyde meydana geldiği görülmektedir. Mayıs 2015'te, K-KD sektöründe olan hakim rüzgar yönü nehir suyunun ETS-200'e kadar taşınmasına sebebiyet vermiştir (Şekil14). Mart 2017'de elde edilen tuzluluk profilinde ise, Lamas nehrinin etkisinin sadece kıyıya yakın istasyonlarla sınırlı kaldığı görülmektedir.

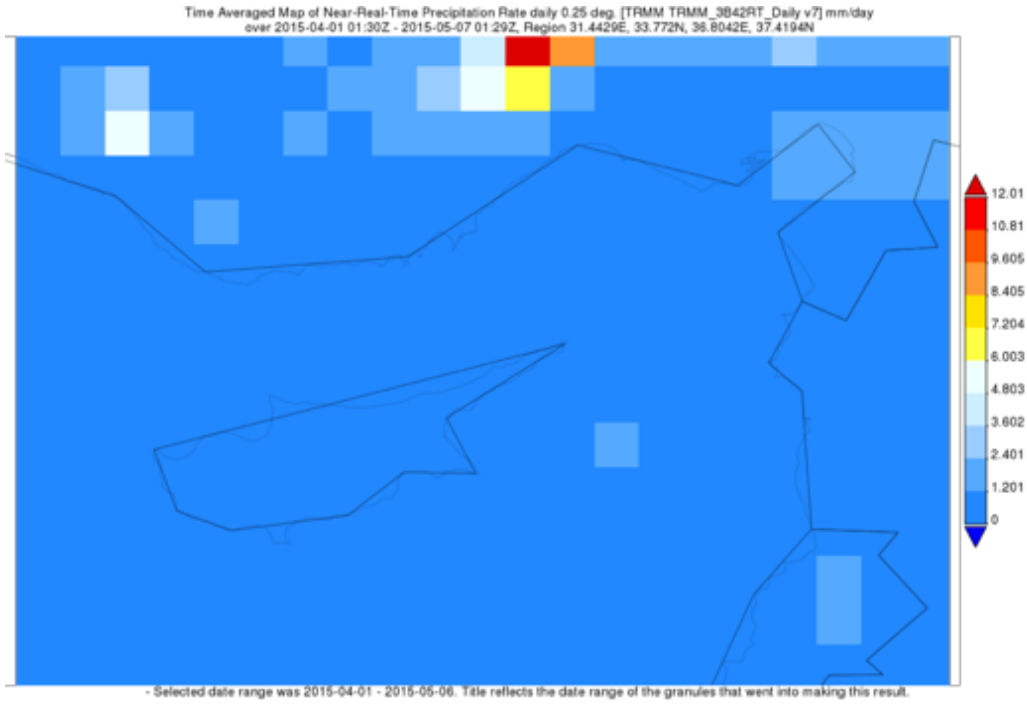
Hâkim rüzgar yönü yine K-KD'den olmakla birlikte, GB'dan gelen rüzgarlar Mart 2015'ten daha sık ve daha güçlüdür. Grafiklerde aylık değerleri gösterilen rüzgar verileri, ETS istasyonlarının yaklaşık 60 km batısında, Taşucu'ndaki meteorolojik ölçümlerden alınmıştır. Rüzgar gülü çizimleri, rüzgarın belirli yönlerden kaç kez estiğini belirtmektedir.

Tatlı su kütlesinin ETS-200m istasyonuna ulaştığı Şubat 2015'ten Mayıs 2015'e kadar görülen rüzgar yönü ve hızı, Lamas Nehri tatlı su girdisinin ETS-200m istasyonuna hareketini destekleyen yönlerden esmektedir (Şekil14-a, Şubat ve Nisan 2015 rüzgar verisi gösterilmemiştir). Mart 2017'de hakim rüzgar yönü ve kuvveti, 2015 Mart'ına kıyasla ters yönden gelmektedir (Şekil14(b)), bu nedenle Lamas Nehri etkisi, ETS'nin nispeten açıktaki istasyonlarına ulaşamamıştır.

Sonuç olarak, baskın rüzgar yönü ve hızı, şiddetli yağmurla birlikte çalışma alanındaki kıyı istasyonlarına tatlı su girdisinin belirleyici faktörüdür. Bir diğer yandan, Değişmiş Atlantik Suyu, özellikle Levant Baseni'ndeki güçlü tabakalaşma dönemlerinde özellikle Levant Yüzey Suyu altındaki daha az tuzlu suların kaynaklarından biridir.

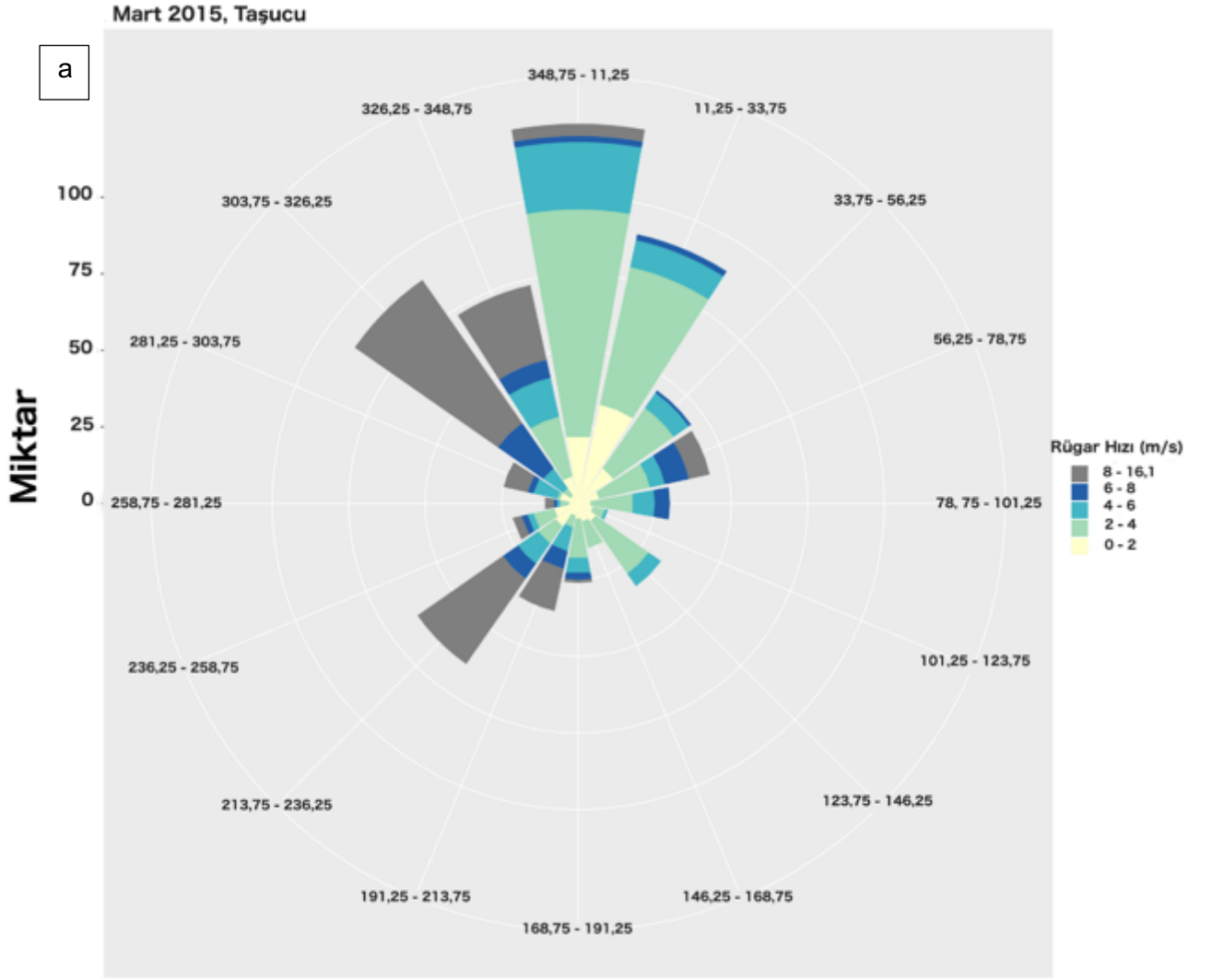


Şekil 12. 06 Mayıs 2015'de ETS-200m'de Tuzluluk(a) ve türbidite (b) profilleri



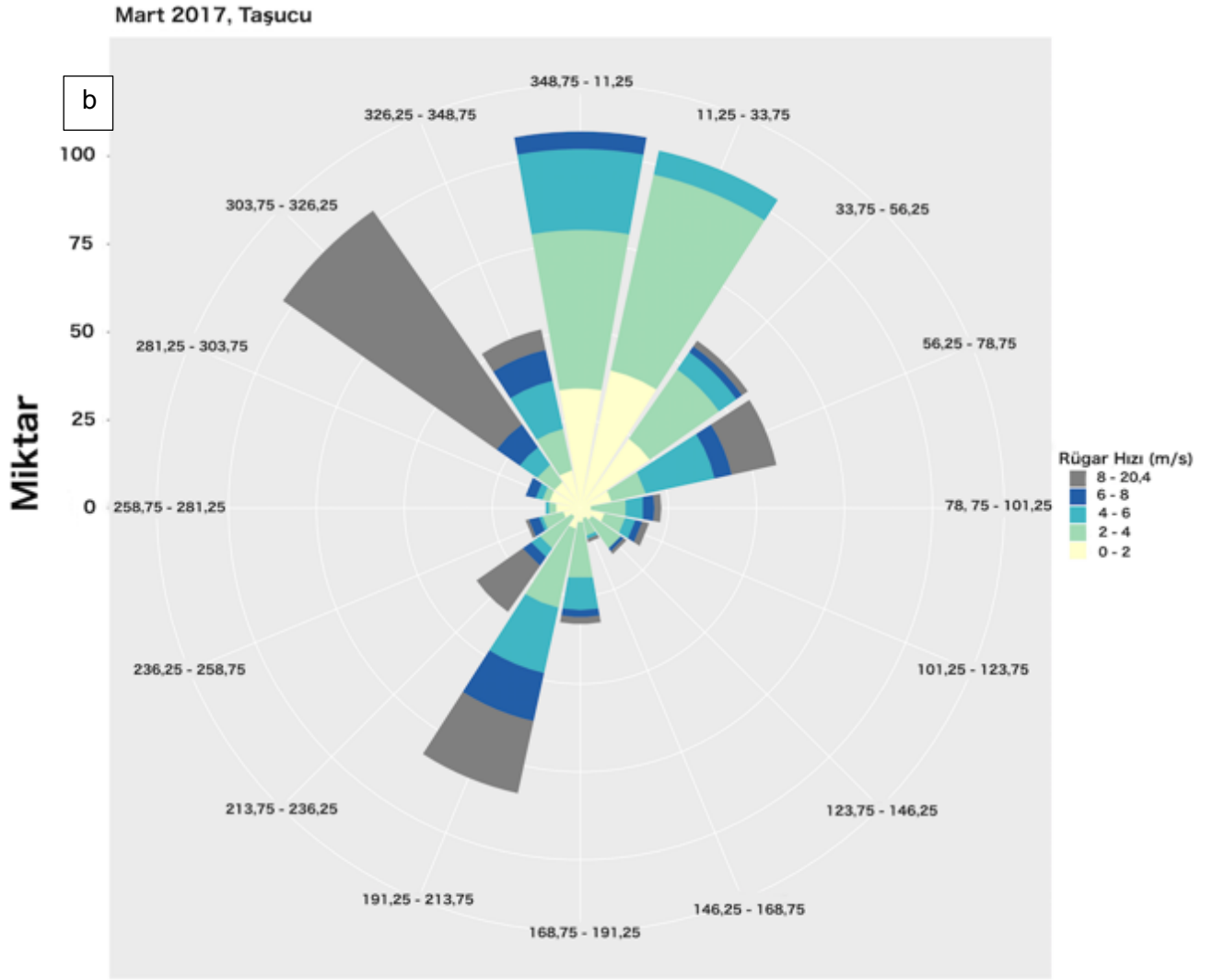
Şekil 13. 1 Nisan 2015 ve 5 Mayıs 2015 arasında bölgede yağış ortalaması tahmini haritası

(<https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/>)



Şekil14.(A) Mart 2015 ve (b) Mart 2017 tarihlerinde Taşucu-Silifke'de baskın rüzgar yönleri ve hızları ölçümleri. Lütfen rüzgar yönlerinin geldiği yön olarak verildiğini ve kuzey yönünün 348,75 - 11,25 arasında değişen yönlerde verildiğini unutmayın. Y eksenini her rüzgar yönünden esen rüzgarın sayısıdır. "Wind Speed" olarak verilen açıklama rüzgar hızını temsil etmektedir (m/s).





Şekil 14 (devam)

### 3.1.2 ETS-200m istasyonunun biyokimyasal özellikleri

Bu çalışmanın temel amaçlarından biri, ETS-200 m istasyonunun ekosistem ve heterotrofik bakteri topluluk dinamiklerini etkileyen ana faktörlerin anlaşılmasıdır. Bu bölüm, 16S rRNA mikrobiyal topluluk örnekleme dönemi ile aynı zamana denk gelen Eylül 2016 ile Ağustos 2017 arasında toplanan verilere dayanarak ekosistem dinamiklerinin tanımına ayrılmıştır. Her bir biyojeokimyasal parametrede gözlenen mevsimsel değişiklikler tanımlanmıştır.

#### 3.1.2.1 Nitrat

Yıl boyunca nitrat konsantrasyonları ( $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$ ) tüm dönem ve tüm derinlikler için 0,04 ve 1,81  $\mu\text{M}$  ( $0,37 \pm 0,40$ , ortalama ve standart sapma) arasında değişim göstermektedir. Su kolonunun ilk 100 m'sinde hiçbir dönemde 0,65  $\mu\text{M}$  değerini aşan konsantrasyonlara rastlanmamıştır. Diğer taraftan, 100 m'nin altında, gözlenen konsantrasyonlar, minimum 0,21 ve maksimum 1,81  $\mu\text{M}$ 'ye ile nispeten daha yüksektir.

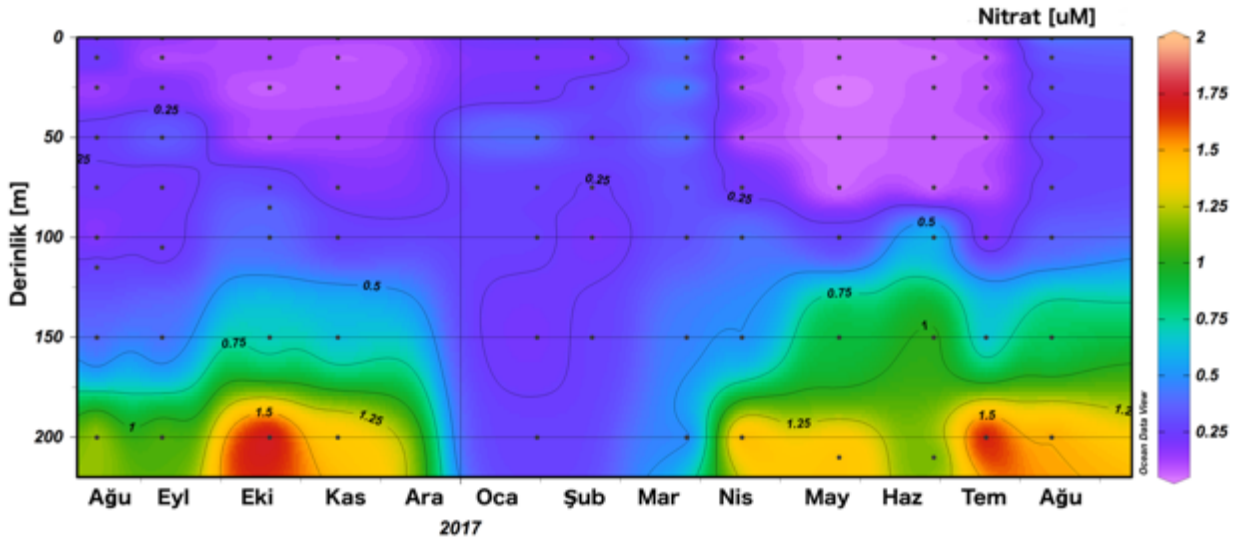
Sonbahar mevsiminde, 150m ve altı derinliklerde yüksek nitrat konsantrasyonları gözlemlenmiştir ve özellikle Ekim ayında 200m derinlikte, maksimum nitrat konsantrasyonu 1,81 uM olarak tespit edilmiştir. Daha derin su sütununda gözlenen konsantrasyondaki bu artış, üst su kolonunda gözlemlenen daha düşük konsantrasyonlara göre zıtlık oluşturmaktadır.

Ekim 2016'da 25 m derinlikte 0,08 uM gibi düşük konsantrasyon tespit edilmiştir. Konsantrasyonlar, kış karışımı sırasında nispeten homojendir, ancak gözlemlenen ortalama değerlerden 0,18 uM kadar düşüktür. Nisan-Haziran 2017 arasında, üst su kolonu (75 m derinlik üstü) düşük konsantrasyonlara sahipken daha derin sular nispeten yüksek nitrat konsantrasyonları sergilemektedirler (Şekil 15).

Toplamda, nitrat konsantrasyonlarının varyasyonunda üç farklı rejim açıkça görülmektedir. NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub> konsantrasyonlarındaki keskin düşüş (0,08 ila 0,16 µM arasında değişmektedir) Eylül 2016'dan Kasım 2016'ya kadar 100m üstündeki derinliklerde görülmektedir. Bunu tüm su kolonu boyunca homojen olarak dağılmış konsantrasyonlar izlemiştir (kış dikey karışıma bağlı olarak). Ocak ve Mart 2017 arasında, NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub> konsantrasyonları ilk 100m derinliklerinde 0.19 ile 0.51 µM arasında değişen daha yüksek değerler sergilemiştir.

Belirgin olan üçüncü rejim Nisan- Temmuz 2017 ayları arasında yüzey sularında açıkça görülmektedir. Bu dönemde konsantrasyonlar dramatik olarak düşerek (0,04-0,65, ortalama 0,12 µM) deteksiyon limitlerine yaklaşmıştır (0,04 µM).

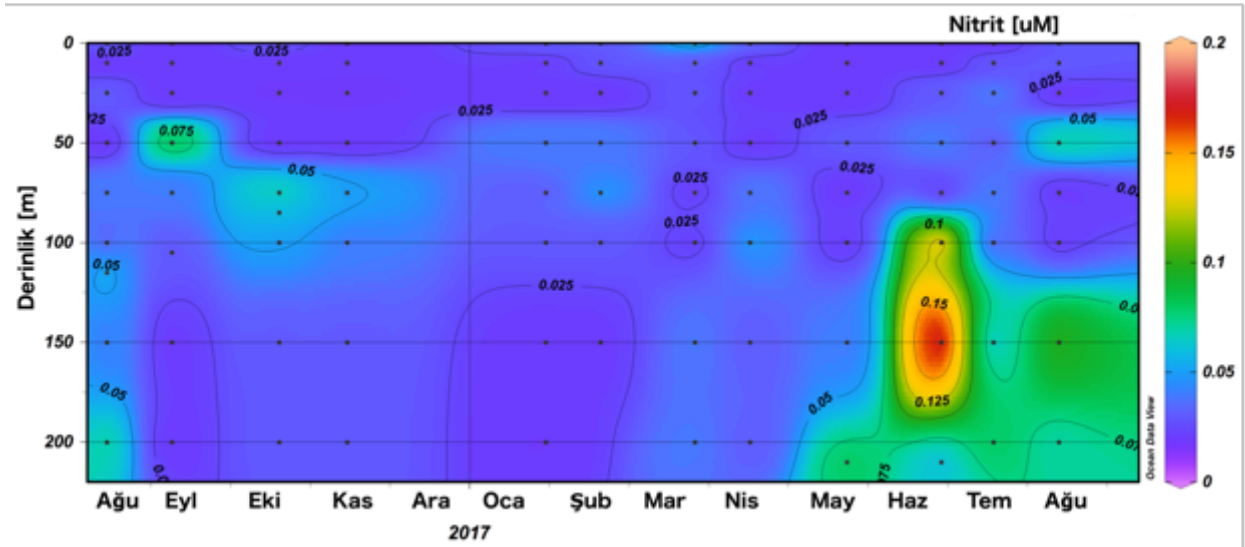
Daha derin su sütununda (150 ve 200m profilleri), konsantrasyonlardaki artış Ağustos- Kasım 2016 ve Nisan 2017- Ağustos 2017 arasında oluşan tabakalaşma ile uyum içerisindedir. Ocak ve Mart 2017 arasında, konsantrasyonlar dikey karışım sebebi ile homojendir (0,21-0,45 µM, ortalama ve SS; 0,32 ± 0,1).



Şekil 15. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında nitrat konsantrasyonları.

### 3.1.2.2 Nitrit

Nitrit konsantrasyonundaki mevsimsel değişim (Şekil 16) nitratta olduğu gibi belirgin değildir. Yıl boyunca nitrit konsantrasyonları ( $\text{NO}_2$ ) 0,02 ila 0,81  $\mu\text{M}$  ( $0,036 \pm 0,025$ , ortalama ve standart sapma) arasında değişmektedir. Haziran 2017'de 150m derinlikte 0,18  $\mu\text{M}$ 'ye kadar yüksek konsantrasyonlar gözlemlenmiştir. Genellikle yaz aylarında 100 m derinliğin altında nitrit konsantrasyonları diğer mevsimlere göre artmıştır.

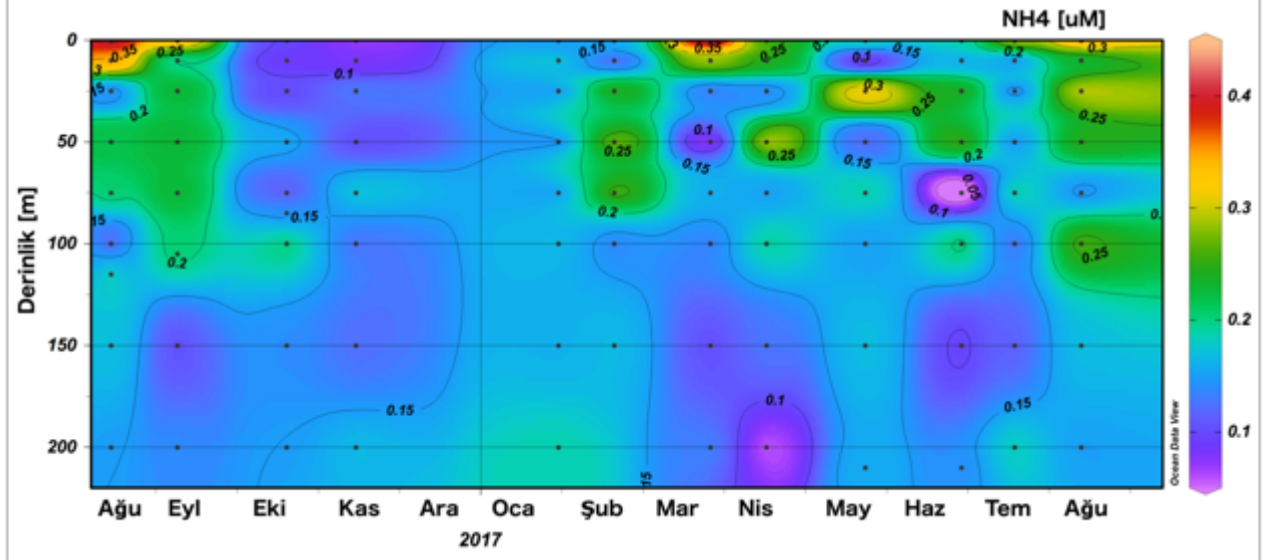


Şekil 16. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında nitrit konsantrasyonları.

### 3.1.2.3 Amonyum

Tüm derinlikler ve mevsimler için amonyum konsantrasyonları 0 ile 0,45  $\mu\text{M}$  arasında değişmiştir ( $0,17 \pm 0,075$ , ortalama ve standart sapma). Genel olarak mevsimsellikten ayrı iki

farklı rejim ortaya çıkmıştır (Şekil17). Kasım 2016 ve Ocak 2017 arasında homojen profil sergilemektedir. Öte yandan, 100m derinliğin üzerinde, Kasım 2016 ile Ocak 2017 arasındaki dönem hariç, konsantrasyonlarda artış olduğu gözlenmektedir.



Şekil17. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) konsantrasyonları.

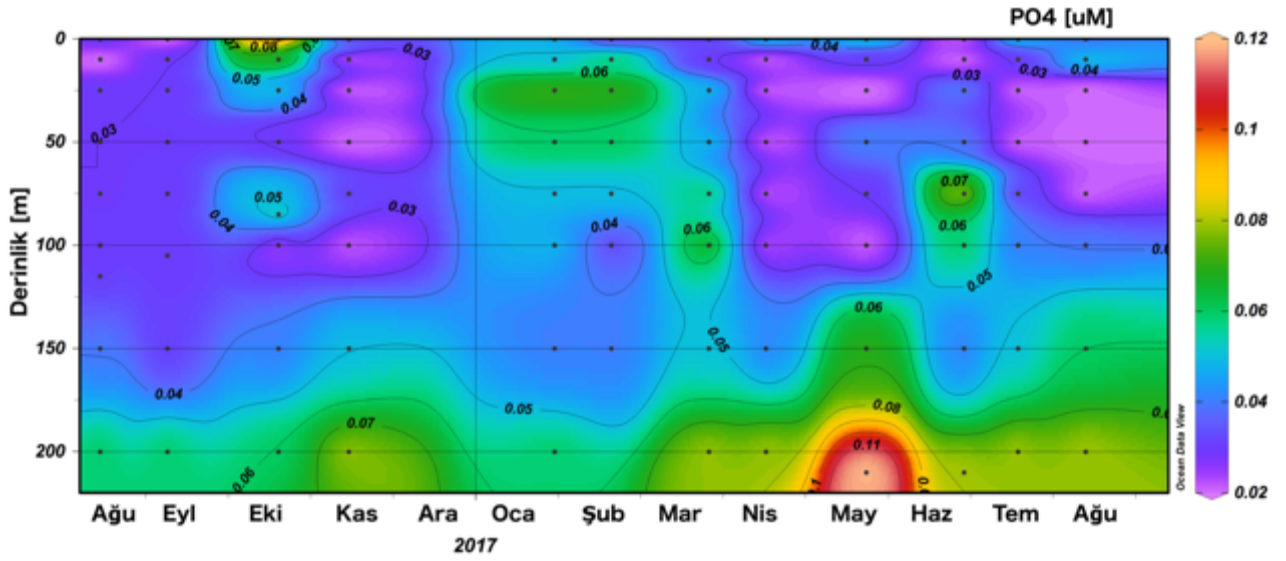
#### 3.1.2.4 Fosfat

Yıl boyunca fosfat (PO<sub>4</sub><sup>+</sup>) konsantrasyonları 0,02 (tespit sınırı) ve 0,12 (0,044 ± 0,021, ortalama ve standart sapma) arasında değişmektedir (Şekil 18). NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub>'te gözlemlendiği gibi, yüzey tabakasında yüksek değişkenlik gözlenmiştir.

Sonbahar mevsimi boyunca, sıg su kolonu daha düşük konsantrasyonlarda fosfat sunarken Ekim 2016'da, yüzeyde 0,1 uM ve 75 m derinlikte 0,06 uM gibi yüksek konsantrasyonların gözlemlendiği de görülmektedir. Bunun dışında konsantrasyonlar deteksiyon limitine yakındır.

Ocak ve Şubat 2017'de, iki farklı bölgede yüksek konsantrasyonlar gözlemlenmiştir; bir tanesi 25m ve 50m'lik yüzey derinliklerinde, diğeri ise 200m derinlikte idi. Konsantrasyondaki yükseklik, Mart ayında 100m derinlikte iken, üst su kolonu, fosfat açısından tükenmiştir.

Ocak-Mart döneminde PO<sub>4</sub><sup>+</sup>, Kasım 2016'ya göre genel bir artış kaydetmiştir (0,03-0,07 µM). Nisan 2017'den itibaren, son derece düşük konsantrasyonlar Ağustos 2017'ye kadar kaydedilmiştir. Mayıs 2017'de 210m'de kaydedilen maksimum değer (0,12µM), aynı zamanda, örnekleme derinliği dibe çok yakın olduğu için sediman ile etkileşimin sonucu da olabilir.



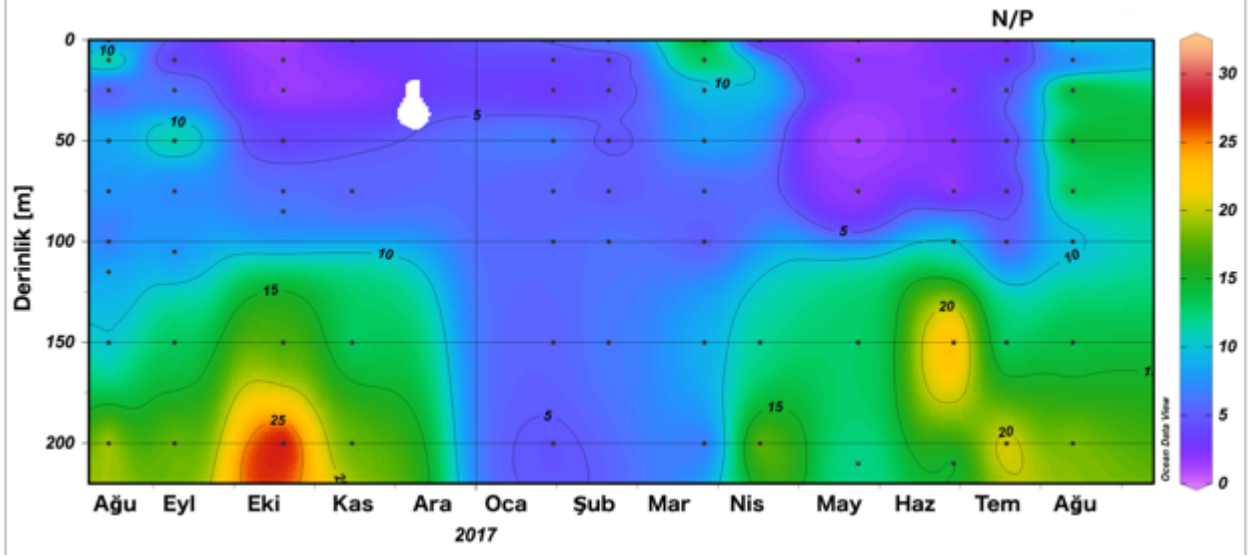
Şekil 18. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında fosfat ( $PO_4^-$ ) konsantrasyonları

### 3.1.2.5 N/P oranı

Yıl boyunca ilk 100m'de, N / P oranı ( $NO_2 + NO_3 / PO_4^{4-}$ 'ün hesaplanan oranı) değerleri daima 16'nın altındadır ve bu da birincil üretimin üzerine N limitasyonunu göstermektedir (Şekil 19). Su tabakasının homojenizasyonunu gösteren kış döneminden farklı olarak derin tabaka, 16'nın kanonik Redfield oranına göre, P üzerine N'in fazlalık gösterdiğini işaret eder.

Akdeniz için literatürde bildirilen verilerle uyumlu olarak, 150m ve altı derinlikler N/P oranında, 9,5 ile 30,2 arasında değişmektedir.

N/P değerleri değerlendirirken,  $NH_4^+$  'un çözülmüş inorganik azota dahil olmadığı hatırlanmalıdır. Bununla birlikte, tüm yıl boyunca  $NH_4^+$  değerleri oldukça düşük olduğundan (~ 0,02 uM), N / P oranları üzerine önemli bir etkisi beklenmemektedir.



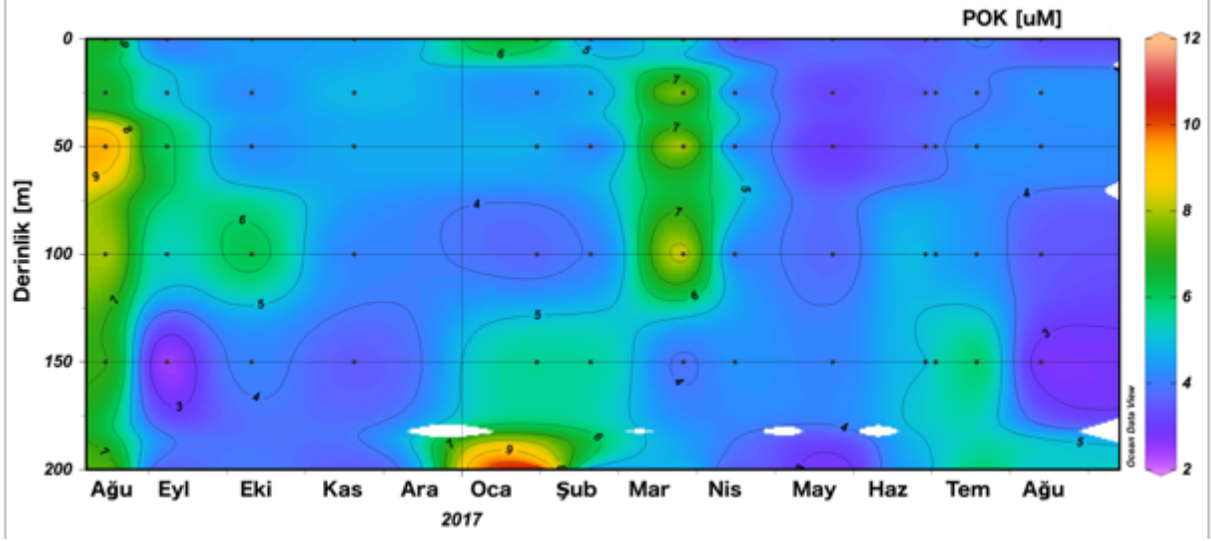
Şekil 19. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında N/P oranları

### 3.1.2.6 Partikül Organik Karbon (POK)

POK varyasyonları, operasyonel olarak,  $0,7\mu\text{m}$ 'den büyük parçacık boyutlarındaki karbon içeriğini temsil eder. POK konsantrasyonu, örnekteki  $0,7\mu\text{m}$ 'den daha büyük olan canlı ve/veya ölü hücrelerin (zooplanktonlar ve daha büyük fitoplankton gibi) ve fekal peletlerin karbon içeriğini temsil eder. Yıl boyu değişimler Şekil 20'de verilmiştir. Yıl boyunca ve tüm derinliklerde, konsantrasyonlar  $2,21$  ila  $11,64\text{ uM}$  ( $4,81 \pm 1,72$ , ortalama ve standart sapma) arasında değişim gösterir.

Ağustos 2016'da su sütunu  $7\text{ uM}$  gibi yüksek konsantrasyonlar gözlemlenmiş ve özellikle  $50\text{ m}$  derinlikteki örnekte  $9,55\text{ uM}$ 'ye kadar yüksek değerler izlenmiştir. 2017 Ağustos ayında ise su kolonunda bu gibi yüksek konsantrasyonlar gözlenmemiştir. Ancak, her iki yılda da Ağustos ayında alınan örneklerin dikey profildeki değişimin-trendin aynı olduğu tespit edildi.

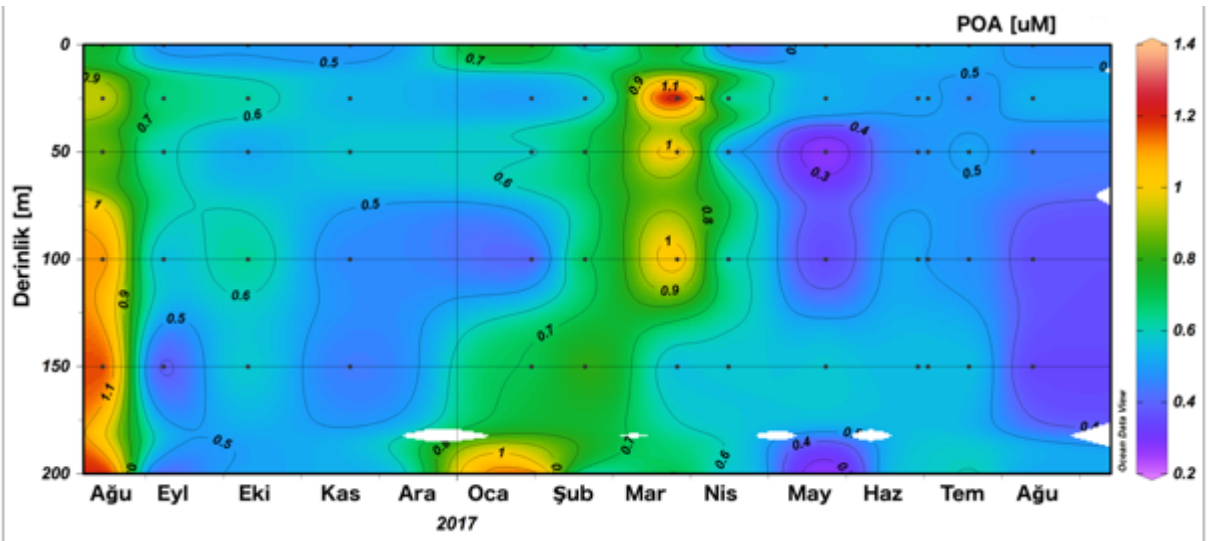
Eylül ve Ekim 2016'da daha derin su sütunu ( $100\text{m}$  derinliğin altında) konsantrasyonların  $5-6\text{ uM}$  olduğu ve ilk  $100\text{m}$  derinliklerine kıyasla nispeten düşük konsantrasyona sahiptir. Bu yüksek konsantrasyonların, 2016 Ağustos ayında gözlemlenen ve batan partikülleri yansıttığı düşünülmektedir. En yüksek gözlemlenen konsantrasyon,  $200\text{ m}$  derinlikte Ocak ayında tespit edilmiştir. Mart ayında,  $25\text{m}$  ve  $100\text{m}$  arasındaki derinlikler, yüzeylere ve daha derin su sütununa kıyasla yüksek konsantrasyonlara ( $\sim 7\text{uM}$ ) sahiptir. Nisan ayından başlayarak, su sütunundaki konsantrasyonlar genellikle  $2$  ila  $5$  arasındaydı ancak Haziran ve Temmuz  $150$  ve  $200\text{m}$  derinliklerinde biraz daha yüksek değerlere rastlanmıştır.



Şekil 20. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında POK konsantrasyonları

### 3.1.2.7 Partikül Organik Azot (POA)

Yıl boyunca POA değişimi çoğunlukla POK konsantrasyonları ile aynı eğilimi göstermektedir. PON konsantrasyonu 0,27 ve 1,32  $\mu\text{M}$  arasında değişen konsantrasyonlarda ölçülmüştür ( $0,60 \pm 0,22$ , ortalama ve standart sapma), (Şekil 21).



Şekil 21. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında POA konsantrasyonları

### 3.1.2.8 Toplam Fosfat

ETS-200m istasyonundaki toplam fosfat varyasyonu Şekil 19'da sunulmuştur. Konsantrasyon değerleri 0,09 ile 0,20 ( $0,14 \pm 0,02$ , ortalama ve standart sapma) arasında değişim sergilemektedir. TF konsantrasyonunun belirgin bir mevsimsel değişim gözlenmemektedir.

Yıl boyu örnekleme sırasında en yüksek konsantrasyon değeri Eylül 2016'da, 50 m derinlikten alınan örnekte 0,2 uM olarak gözlenmiştir.

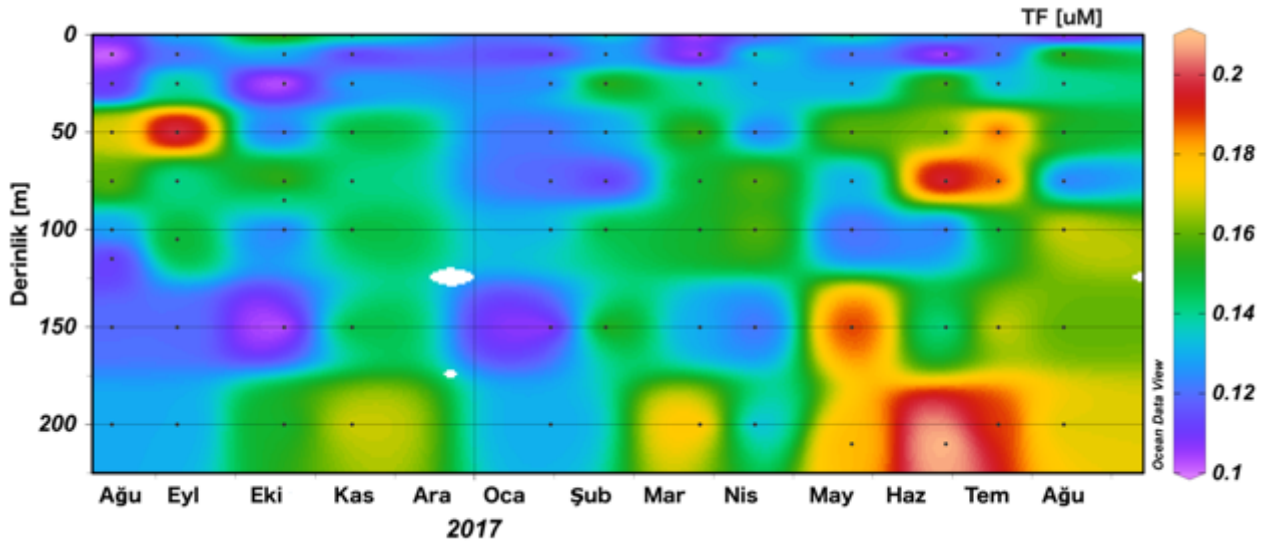
Ekim 2016'da yüzey ve 200 metre derinlik örnekleri sırasıyla 0,16 ve 0,15 uM gibi yakın değerlere sahiptir. Kasım 2016'da, su kolonunda 50m'nin altında yüksek konsantrasyonlar kaydedilmiştir. Kış karışım koşullarında, inorganik besinler nispeten homojen profillere sahiptir, ancak bu TF ölçümlerinde söz konusu değildir. Ocak ayında, TF konsantrasyonu Şubat 2017'den ile kıyaslandığında daha düşük değerlerle olarak temsil edilmiştir. Şubat ayında, yüzey suyu derin su kolonuna göre daha düşük TF konsantrasyonlarına sahiptir. İlkbahar mevsiminin başlangıcında, 100m örneği, Şubat ve Mart 100m derinliklerinde olduğu gibi zirve değerleriyle temsil edilmiştir. Mayıs ayından Ağustos 2017'ye kadar TF konsantrasyonları, 150 metrenin altındaki daha derin su sütununda artış göstermiştir. Temmuz ve Ağustos 2017'de, ilk 25m derinlik, daha düşük konsantrasyonlarda TF'ye sahip olmakla birlikte 50 m derinliğin altında ise daha daha yüksek konsantrasyonlara rastlanmıştır.

### 3.1.2.9 Partikül Fosfat

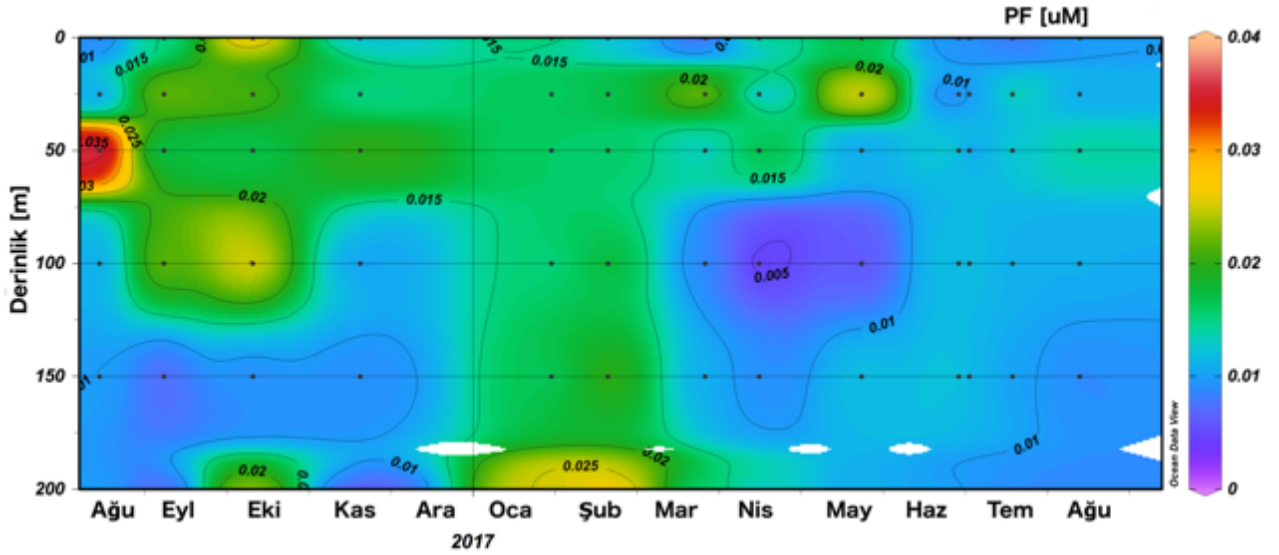
Şekil 19'da temsil edilen partikül formundaki fosfat (PF) varyasyonu, konsantrasyonların yıl boyunca tüm derinliklerde 0,004 ve 0,036 uM ( $0,014 \pm 0,005$ , ortalama ve standart sapma) arasında değiştiğini göstermektedir. Ağustos 2016, 50m derinlik yıl boyunca gözlemlenen en yüksek PF konsantrasyonunu temsil etmiştir. PF'in yıllık profillerinde yakalanan üç mevsimsel model vardır. İlk eğilim, Eylül-Aralık 2016 arasında (geçiş dönemi), 100 m derinlik üzerinde, konsantrasyonların daha derin su kolonundan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Tek istisnai durum, Ekim ayında 200m derinlikteki konsantrasyonlardaki yoğunlaşmadır; burada aynı zamanda nitrat konsantrasyonlarında da (Şekil 23) artış gözlemlenmiştir. İkinci eğilim ise, kış karışım periyodu sırasında ortaya çıkmıştır, homojen ve nispeten yüksek konsantrasyonlar, su sütunu boyunca yayılmıştır. Nisan ve mayıs aylarındaki profiller de geçiş döneminin özelliklerini temsil etmektedir. Son baskın eğilim, yaz aylarında su kolonunda nispeten düşük konsantrasyonlar olarak gözlenmiştir.

Sonbahar mevsiminde, ilk 100m derinliklerin yüzeyden daha yüksek değerleri vardır. Ekim 2016 hariç, 200m derinlikteki numune, yüzey suları olarak yüksek konsantrasyonlara sahiptir. Ekim 2016, 200m derinlikteki örnek, yüksek nitrat konsantrasyonu ve yüksek heterotrofik bakteri bolluğu değerlerini temsil etmektedir. Kış aylarında su sütunu, 0,015 ile 0,025 arasında nispeten homojen konsantrasyonlara sahiptir. Genel olarak, yaz mevsimi, diğer mevsimlere göre daha düşük konsantrasyonlara sahip olarak özetlenebilir, sırasıyla 0m ve 25m derinliklerinde kaydedilen 0,02 ve 0,03 uM değerleri hariç.





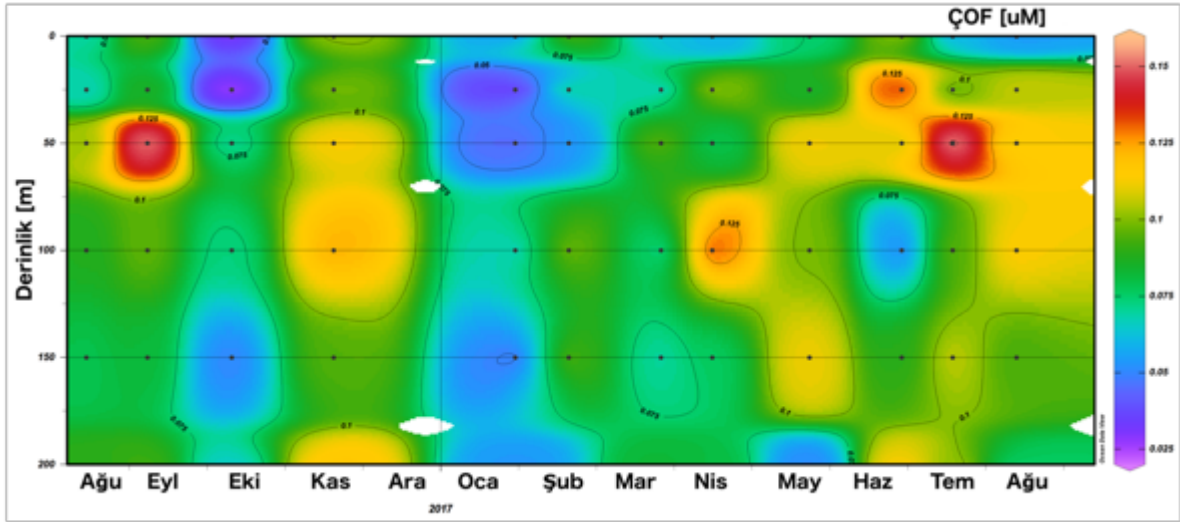
Şekil 22. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında TF konsantrasyonları



Şekil 23. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında PF konsantrasyonları

### 3.1.2.10 Çözünmüş Organik Fosfat

Çözünmüş Organik Fosfat konsantrasyonlarındaki değişim belirgin bir mevsimsellik göstermemektedir (Şekil 24). Ayrıca derinliğe bağlı bir artış ya da azalma da gözlenmemiştir. Bu durumun farklı mekanizmaların ÇOF konsantrasyonları üzerine farklı dönemlerde etki etmesine bağlı olduğu düşünülmektedir (Bakterilerin inorganik fosfat yokluğunda organik fosfat kullanımlarına yönelmeleri gibi).

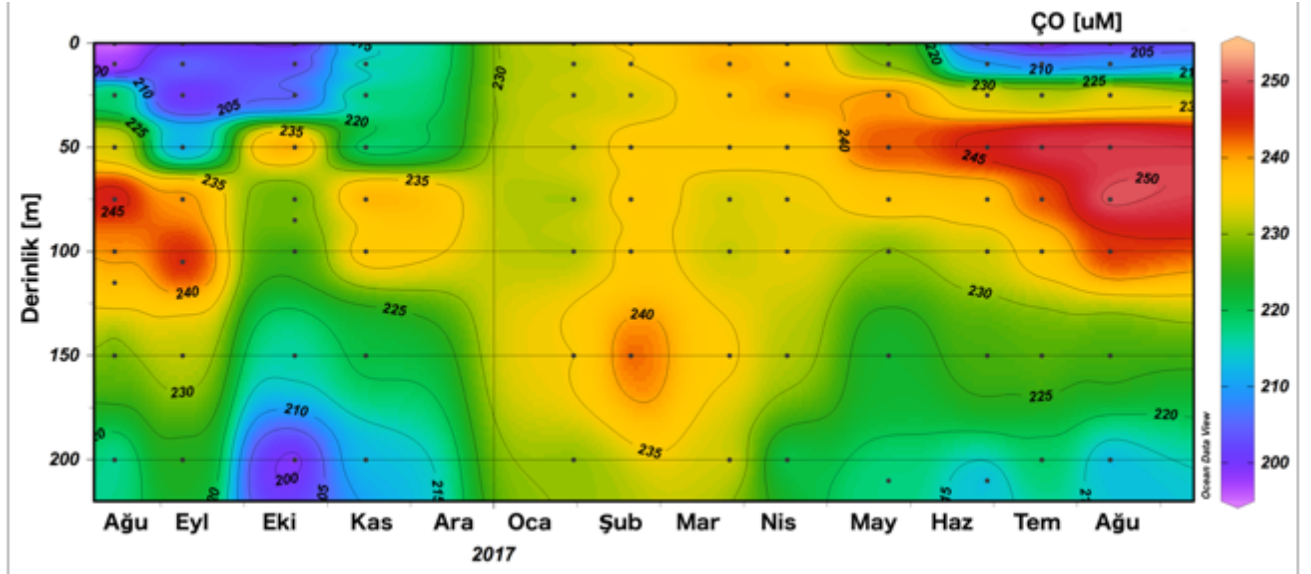


Şekil 24. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında ÇOF konsantrasyonları

### 3.1.2.11 Oksijen

Yıl boyunca çözülmüş oksijen konsantrasyonları 196,8 uM ila 251,14 uM arasında değişmektedir ( $227,75 \pm 13,68$ , ortalama ve standart sapma). Veri setinde iki farklı eğilim baskındır (Şekil 25). Bir dönem mevsimlerden sonbahar, ilkbahar ve yaz aylarını kapsarken, diğer dönem kış mevsimini kapsamaktadır. Ağustos-Kasım ve Mayıs-Ağustos dönemini kapsayan dönemde, en üst tabakadaki konsantrasyonlar (sırasıyla ilk 50 ve 10 metre) daha düşük konsantrasyonları göstermektedir. Derinlere inildikçe konsantrasyonlar gittikçe artmakta ve daha sonra daha derin su sütununda azalmaktadır. İkinci dönemde ise, kış karışımını kapsar, dikey profillerde nispeten aynı konsantrasyonlar belirgindir.

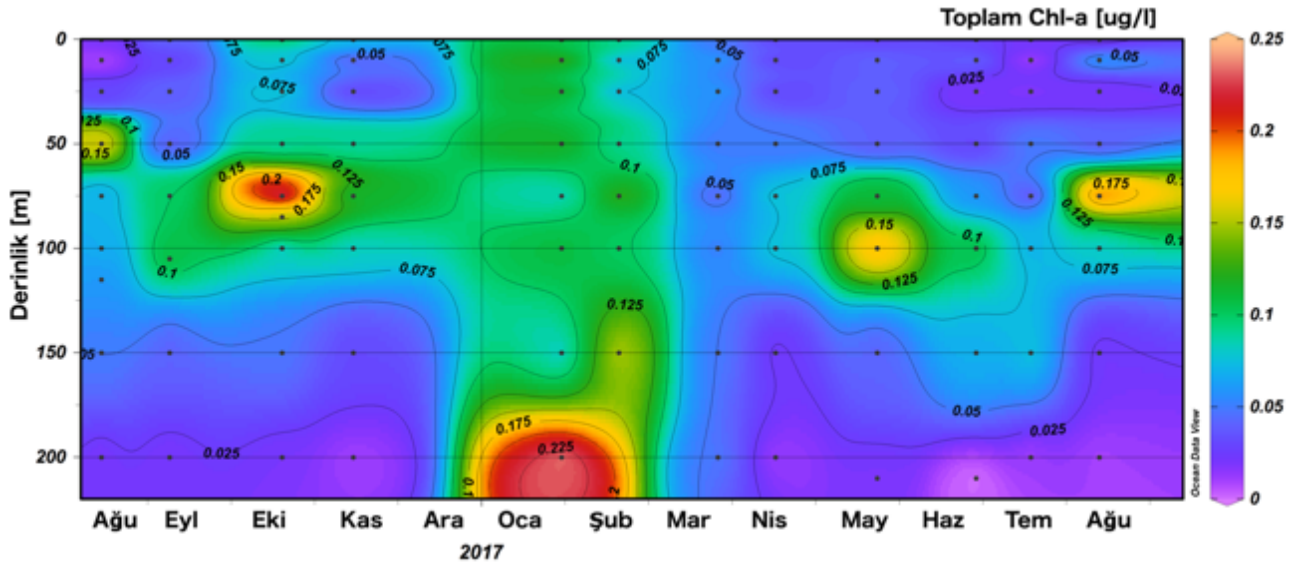
Sonbahar mevsiminde örneklenen yüzey sularının ilk 25m'inde, oksijen yoğunluğu, ilgili dönemde 25 m'nin altındaki sulara kıyasla düşüktür. Ekim 2016'da 200m derinlik, Ağustos 2017 yüzey sularından sonra ikinci en düşük oksijen konsantrasyonuna sahiptir. Bu örneğin ayrıca en yüksek nitrat ve silikat konsantrasyonlarına sahip olduğu tespit edilmiştir. Su sütunu kış döneminde iyice karıştığından, oksijen konsantrasyonları nispeten homojen dağılım göstermektedir. Mayıs-Ağustos 2017 arasında 50m derinlikteki bölge, artan oksijen konsantrasyonları sunar ve bu yüksek konsantrasyon bölgesi, Ağustos 2017'de 100 m derinliğe kadar uzar. Ağustos 2017'de, en yüksek gözlemlenen oksijen konsantrasyonu 251,15 uM olarak temsil edilir.



Şekil 25. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında çözünmüş oksijen konsantrasyonları

### 3.1.2.12 Toplam Klorofil a

Toplam klorofil konsantrasyonları tüm periyotlar için çok düşük olarak kaydedilmiştir (Şekil 26). En düşük 0,01 ug/l ve maksimum 0,25 ug/l ( $0,066 \pm 0,048$ ) değerleri gözlemlenmiştir. Klorofil konsantrasyonlarındaki mevsimsel değişim, sonbahar, ilkbahar ve ağustosta Akdeniz için tipik olan DKM (derin klorofil maksimum) oluşumunu desteklemektedir. Diğer taraftan, tüm su kolon derinliklerinde en yüksek toplam klorofil konsantrasyonu kış aylarında gözlemlenmiştir, daha derin su en yüksek konsantrasyona sahiptir (Şekil 26). Nitrat profillerine bakıldığında ( $\text{NO}_3+\text{NO}_2$ ) kış ayları dışında üst su sütununda tükenmiştir, klorofil-a konsantrasyonu da düşüktür.



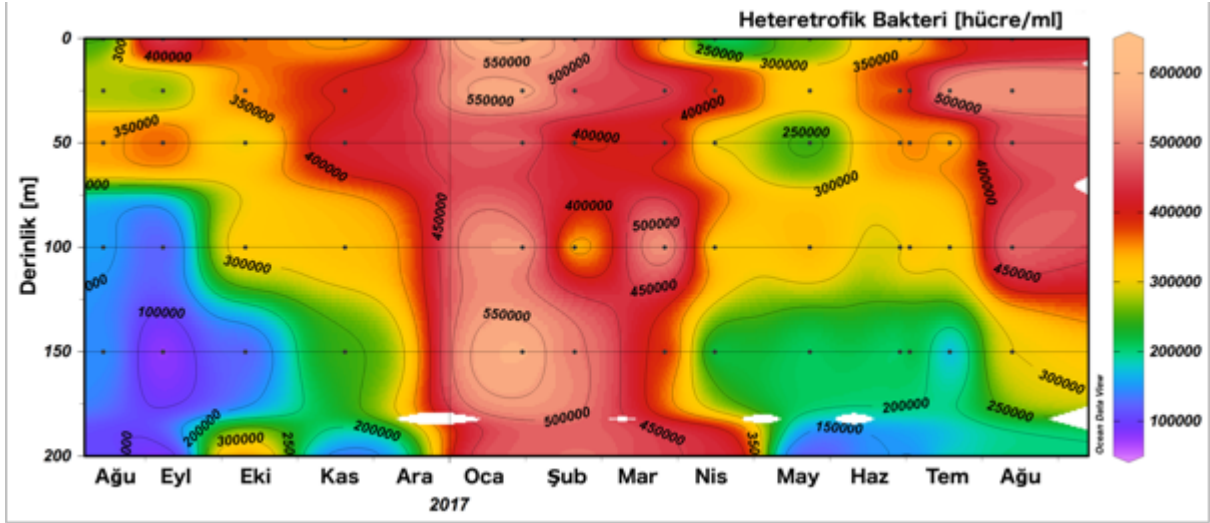
Şekil 26. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında toplam klorofil konsantrasyonları

### 3.1.3 ETS-200m istasyonunun biyolojik özellikleri

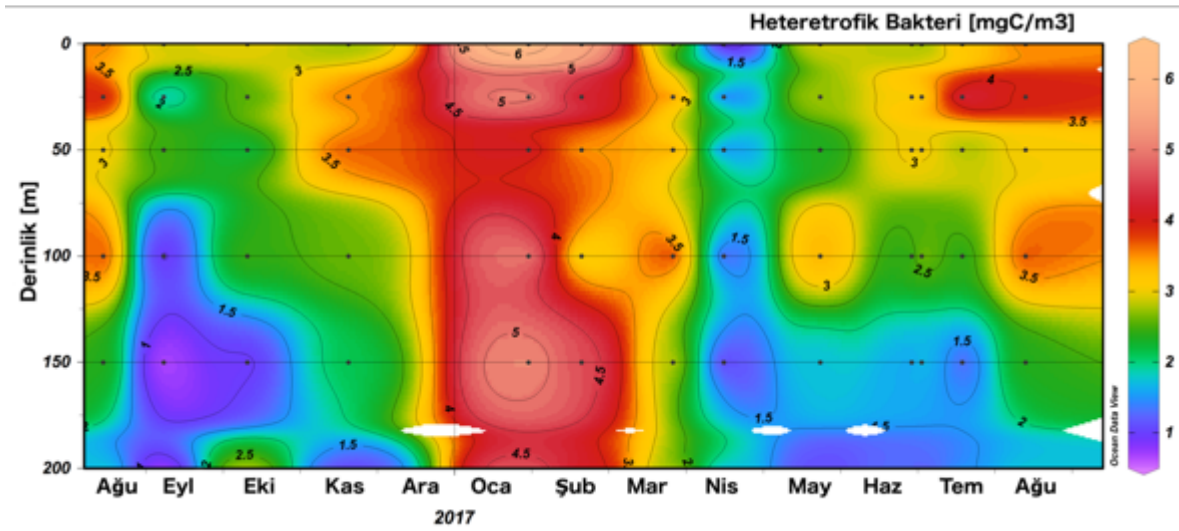
#### 3.1.3.1 Heterotrofik bakteri ve *Synechococcus* spp.

Bir yıllık gözlem boyunca 200m istasyonunda heterotrofik bakteriler bolluğu ve biyokütle, Şekil 27 ve Şekil 28'de gösterilmiştir. Hücrelerin sayısı (ml'de), tüm aylar ve derinlikler boyunca 75276 ve 627805 arasında değişmiştir ( $334613,3 \pm 138271,869$ , ortalama ve standart sapma). Heterotrofik bakteriyel bolluk hücre/ml ve biyokütle cinsinden özellikle Ocak 2017'de (kış aylarında) daha yüksek değerleri temsil etmektedir. Yüksek bolluk değerleri Ocak 2017 yanı sıra, Temmuz ayı yüzey ve 25 m derinlik örneklerinde ve Ağustos 2017'de ilk 100m derinlikteki su sütununda gözlemlenmiştir. Genel olarak, kış dönemi dışında, bakteri bolluğu yüzeyde daha yüksek ve daha derin su sütununda nispeten daha azdır. Gözlemlenen önemli bir artış, Ekim 2016'da 200m derinliğinde gerçekleşmiştir. Önceki bölümde de tartışılan bu örnek, remineralizasyon işlemine işaret eden yüksek N/P oranı, nitrat ve görece daha düşük oksijen konsantrasyonları ile çakışmaktadır.

Bir diğer yandan, Ağustos 2016 yüzey bollukları Ağustos 2017'ye göre daha düşük bulunmuştur. Ağustos 2016 ile 2017 arasındaki POK konsantrasyonlarına bakıldığında da 2016 yılı Ağustos ayında yüksek bir konsantrasyon gözlemlenmiştir (Şekil 20).



Şekil 27. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Heterotrofik bakteri bollukları (hücre/ml)



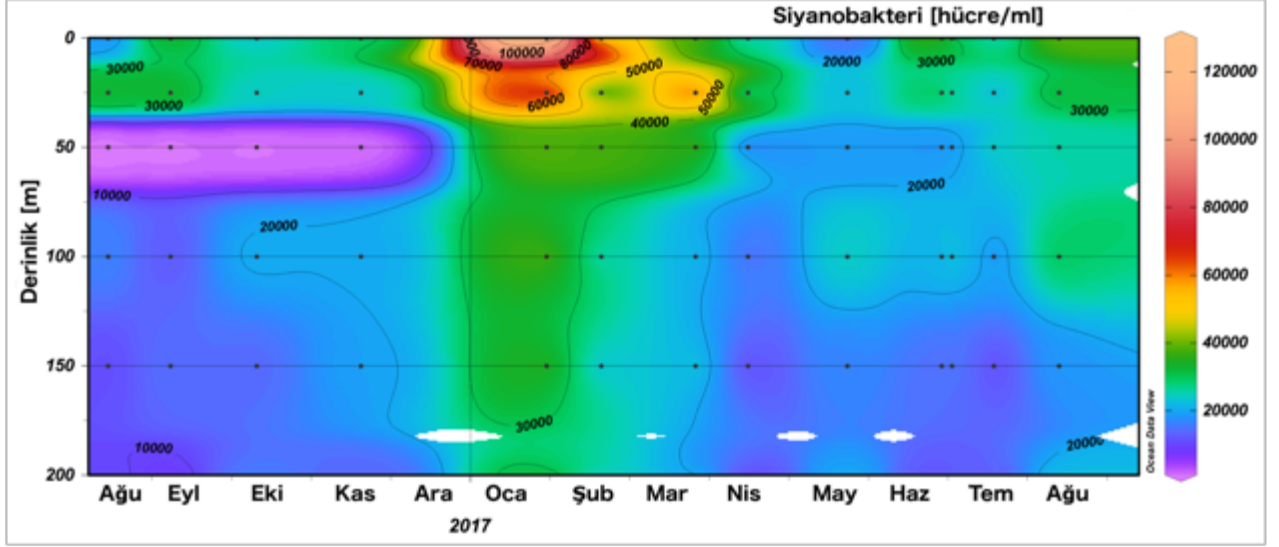
Şekil 28. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Heterotrofik bakteri bollukları (mgK/m<sup>3</sup>)

Synechococcus siyanobakterisinin bolluğundaki (hücre / ml ve mgK / m<sup>3</sup>) mevsimsel değişim Şekil 29 ve Şekil 30'da verilmiştir. Hücre sayısında görülen varyasyon minimum 481'den maksimum 129183'e ( $24224,2 \pm 17120,6$ , ortalama ve standart sapma) kadar değişmektedir.

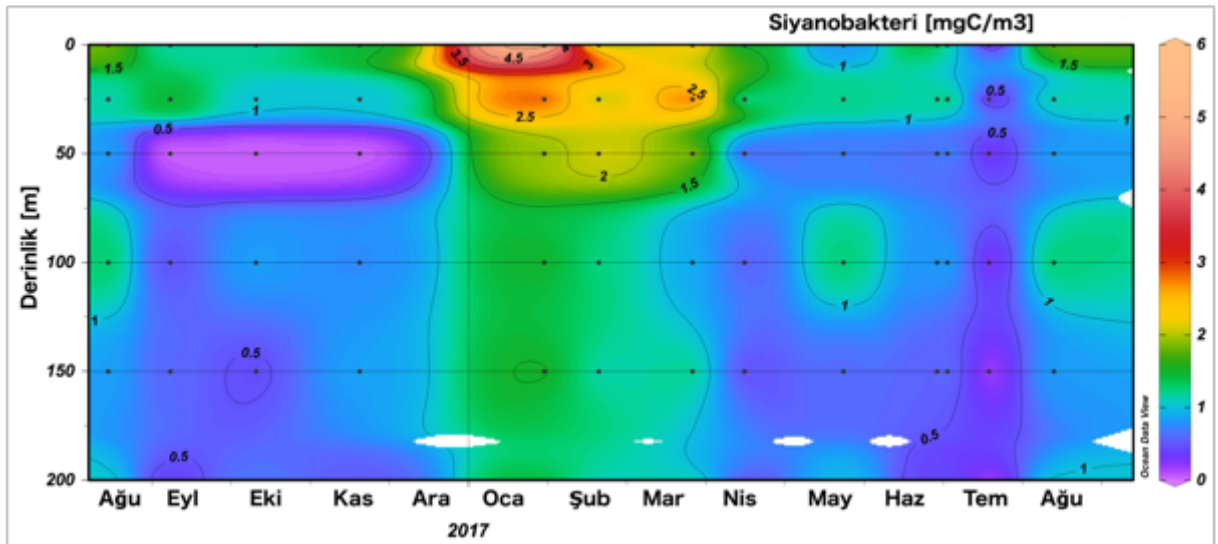
Eylül'den Kasım 2016'ya kadar olan sonbahar sezonunda, Synechococcus cinsinin hücre ve biyokütle değerleri bakımından bolluğu, 50 m'den alınan bir örnek dışında, daha derin su kolonuna (50 m'nin altında) kıyasla, yüzeyde daha yüksek kaydedilmiştir.

Bolluk değerlerine bakıldığında sonbaharda 50 metrelik derinlikteki örnekler en düşük olarak gözlemlenmiştir. Kış döneminde, yüzey örnekleri bollukları en yüksek değerlerle temsil

edilmiştir. Ocak 2017'de 50 m derinliğin altındaki hücre/ml ve biyokütle cinsinden bolluğu, nispeten daha düşük değerleri temsil edilmekte, ancak  $3 \times 10^4$  gibi düşük değerler diğer mevsimlerde ve derinliklerde gözlemlenen yüksek değerlere karşılık gelmektedir. Mayıs'tan Ağustos'a kadar, Synechococcus siyanobakterisinin bolluğu yüzeyde daha derin su sütununa göre daha yüksektir. Bununla birlikte, Mayıs ayında ve özellikle Ağustos ayında 100m derinlikte, yüzeyde gözlenen değerler civarında bolluk artmıştır. Bu aynı zamanda toplam klorofil konsantrasyonlarındaki artışla da örtüşmektedir.



Şekil 29. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Siyanobakteri bollukları (hücre/ml)



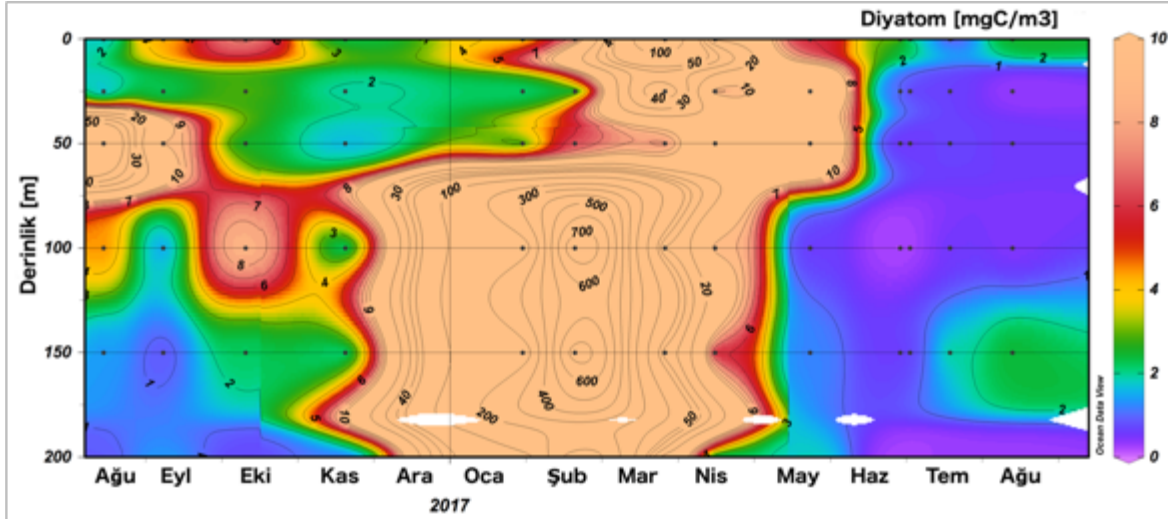
Şekil 30. ETS-200m istasyonunda Ağustos 2016 ile 2017 arasında Siyanobakteri bollukları (mgK/m<sup>3</sup>)

### 3.1.3.2 Diatom

Yıl boyunca diatom bolluğu (hücre/l) 80 ila 473528 ( $17708,3 \pm 76698,4$ , ortalama ve standart sapma) arasında değişmektedir. Şekil 31'den de görüldüğü üzere, bolluktaki değişim oranı yıl boyunca yüksektir.

Ağustos ve Eylül 2016'da 50m derinlikteki örnekler yüksek biyokütle değerleri ile temsil edilmiştir (sırasıyla 33200 ve 4400 hücre/l). 100 metrenin altında ise, diatom hücrelerinin biyokütlesi yavaş yavaş azalmaktadır. Ekim 2016'da, iki derinlikte, yüzeyde ve 100m derinlikte, diatom biyokütlesinde yüksek bolluk (sırasıyla 3680 ve 4720) gözlemlenmiştir. Kasım 2016'da yüzeyde maksimum değerler kaydedilirken (1120 hücre/l ve  $2,2 \text{ mgK/m}^3$ ) en düşük değer 200m derinliğinde 440 hücre/l olarak gözlemlendi. Kış karışımında, Ocak-Mart 2017 döneminde (Şubat ayı 100m'nin altındaki derinlikler hariç), biyokütle değerleri 640 ile 77152 hücre/l arasında değişmektedir. Şubat 2017'de 100m, 150m ve 200m derinliklerinden toplanan örnekler litre başına oldukça yüksek sayıda diatom hücresi içermektedirler (sırasıyla 473528; 449440; 207480). Öte yandan, toplam klorofil- a ölçümlerinde bolluk artışında görüldüğü gibi yüksek bir artış görülmemiştir (Şekil 26), bu nedenle bu örnekler dikkatle tartışılmalıdır.

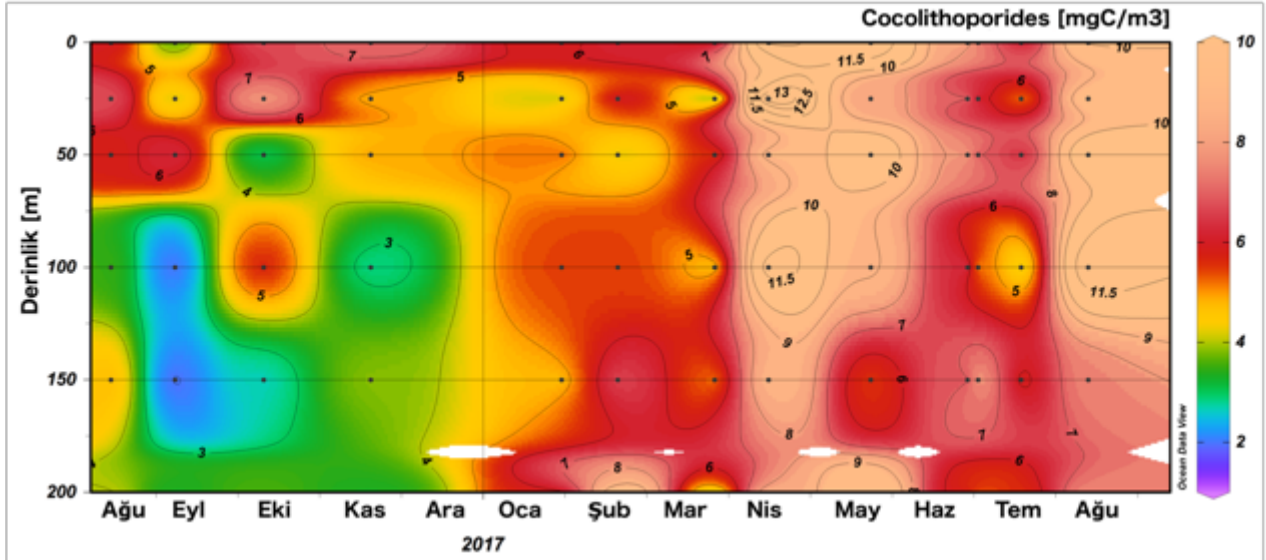
Nisan ayında, biyokütlenin homojen dağılımı gözlenirken, 50m derinlikli örnekte hafif bir artış görülmüştür (8720 hücre/l). Mayıs 2017'nin yüzey suları, 50 m'nin altındaki derinliklerden daha yüksek biyokütle değerlerini göstermektedir. Yaz sezonu, Ağustos 2017 yüzeyi ve 200 metre derinliğindeki sular hariç, genel olarak en düşük biyokütle değerleri ile temsil edilmektedir.



Şekil 31. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda  $\text{mgK} / \text{m}^3$  olarak biyokütle diatom bolluğu. Bolluk değerleri yüksek varyasyona sahip olduğundan, biyokütle değişikliklerinin daha iyi temsil edilmesi için izoklinler eklenmiştir.

### 3.1.3.3 Coccolithophoride

Yıl boyunca ve tüm derinliklerde Coccolithophoride bolluğu ve 59,402'den 460,288'e (203.291,4 ± 89.869,2, ortalama ve standart sapma) arasında değişmektedir. Şekil 32'den görüldüğü üzere, bolluktaki mgK/m<sup>3</sup> cinsinden varyasyon iki farklı eğilim sunmaktadır. Ağustos-Kasım ayları arasındaki dönemde, 50m derinliğin üzerindeki bolluk, Ekim 2016'daki 100m derinliği örneği dışında, daha derin su kolonundan daha yüksek olmuştur. Kış dönemi, gözlenen bolluk değerleri dikey derinlikler boyunca homojen olarak temsil edilmiştir. Bu periyodu, Temmuz 2017'nin 100m derinliğinde gözlemlenen minimum hücre bolluğu (117,856 hücre/l) izledi ve maksimum değer, Nisan 2017'nin 25m derinlikli örneğinde bulundu (460,288 hücre / l). Ağustos 2016 ile Kasım 2017 arasında, Coccolithophoride bolluğu derinlik ile azalan profili temsil etmektedir. Bununla birlikte, Ocak ayından itibaren dikey bir değişim paterni gözlemlenmemiştir.



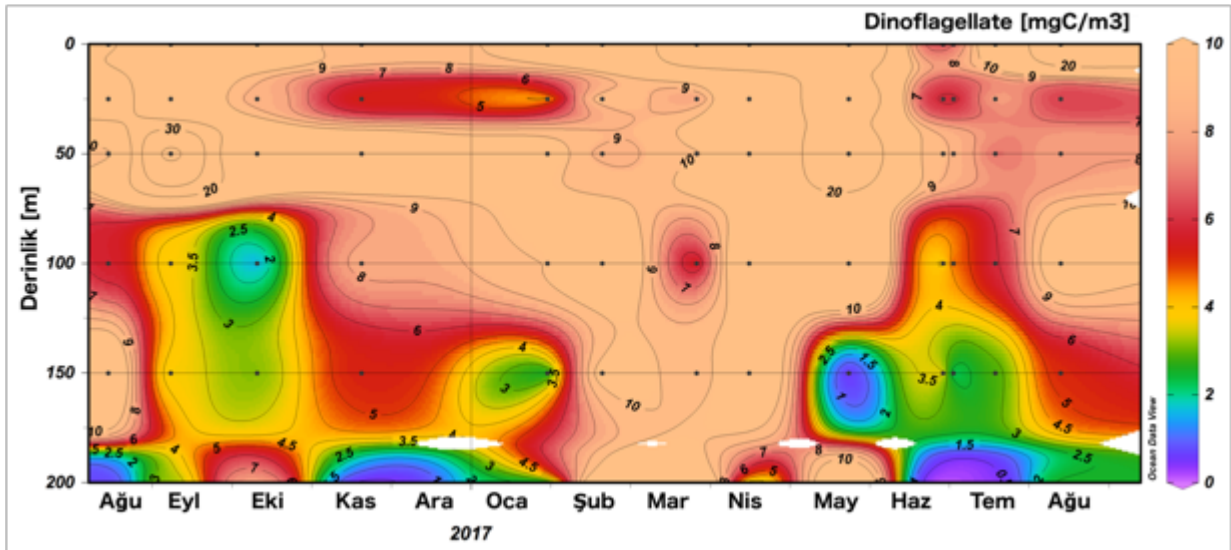
Şekil 32. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgC/m<sup>3</sup> olarak biyokütle Coccolithophoride bolluğu

### 3.1.3.4 Dinoflagellates

Dinoflagellatların bolluğundaki değişim Şekil 33'de verilmiştir. Litrede 40 kadar düşük hücre değerleri gözlemlenmiş ve en yüksek bolluğu 31,440'dir (7210,6 ± 5876,9, ortalama ve standart sapma). Haziran 2017 200m derinlikte minimum bolluk değeri görülmüştür, maksimum bolluk Eylül 2016'da 50 m derinlikten alınan örnekte gözlemlenmiştir. 2016 yılı ağustos ayında 25 m'nin üstündeki derinliklerde bolluk yüksek ve daha derinlerde ise azalmaktadır. Eylül ayında, biyokütle değerleri mgK/m<sup>3</sup> cinsinden ilk 50m'de 30'un üzerinde tespit edildi ve derinlikle 3 mgK/m<sup>3</sup> 'e düşmüştür. Eylül ayında, biyokütle değerleri mgK/m<sup>3</sup>



cinsinden ilk 50m'de 30'un üzerinde tespit edildi ve derinlikle birlikte 3 mgK/m<sup>3</sup>'ye düşmüştür. Eylül ayında gözlemlenen yüzey pik değerleri Ekim ayında azalmaktadır. Ekim ayında alınan 100 m derinlikli örnek 2 mgK/m<sup>3</sup> ün altında iken, 200m derinlikteki numunenin bolluğunun >7 mgK/m<sup>3</sup> olduğu tespit edildi. Kasım ayında, artan derinlik ile bolluk azalmaktadır. Şubat ve Mart 2017 karşılaştırmalı olarak homojen profiller gösterirler, ancak Ocak ayı kış karışım dönemi için bir istisnadır. Ocak ayındaki bolluk değerleri, ilk 100m'lik örneklerde, 150m ve 200m derinliklerine kıyasla yüksektir. Ocak ayında en yüksek bolluk 25 m derinlikte 8224 hücre/l iken, minimum 200m derinlikte 360 hücre/l olarak gözlenmiştir. Nisan 2017 dikey profili de en az bolluk 200m derinlikte olacak şekilde aynı eğilime sahiptir. Mayıs 2017, 200m derinlikli numunenin (8672 hücre/l) 150m derinlikli numuneden (160 hücre/l) daha fazla olduğu, ancak 100m derinlikteki örnekten daha az olduğu bir başka istisna olarak kaydedilmiştir. Haziran ve Temmuz 2017'de, ilk 50 m, daha derin su kolonundan daha yüksek bolluklar sunmaktadır. Ancak, Ağustos 2017'de 100 m derinliğe kadar daha yüksek biyokütle değerleri gözlemlenmiş ve daha sonra kademeli olarak azalmıştır.

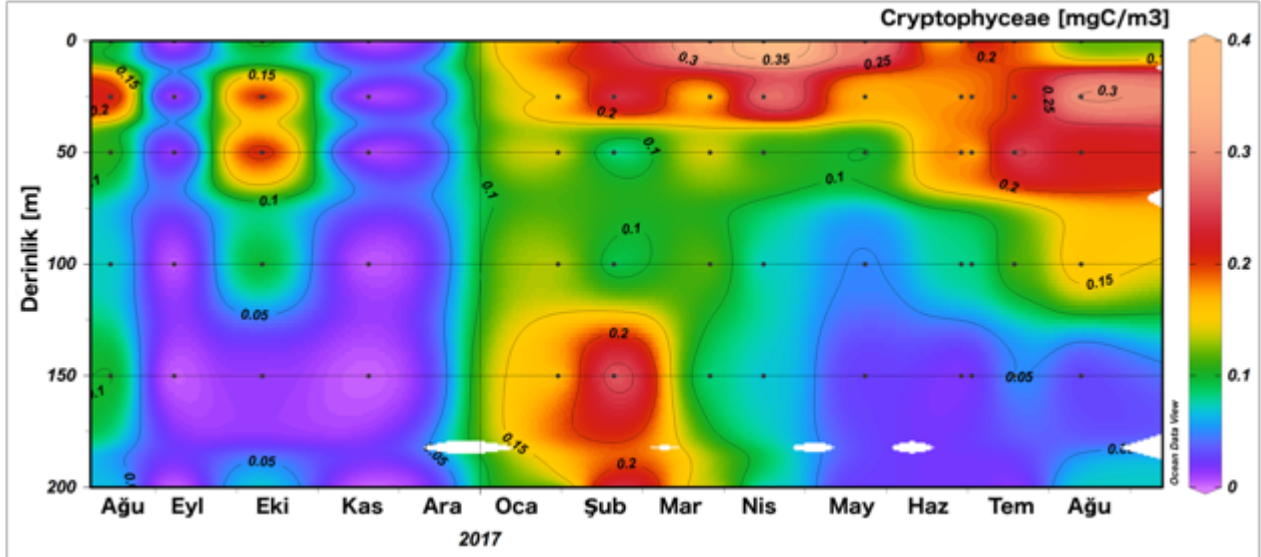


Şekil 33. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgK/m<sup>3</sup> olarak Dinoflagellates biyokütle bolluğu.

### 3.1.3.5 Cryptophyte

Cryptophyte hücrelerine, Kasım ayı 25m, 50m ve 200m derinliklerindeki örneklerde olduğu gibi bazı örneklerde rastlanmamıştır. Hücre/l cinsinden bolluk değerleri sıfır ile 59,392 (17,842 ± 14,735, ortalama ve standart sapma) arasında değişmektedir. Belirgin olarak üç farklı eğilim tartışılabilir. Sonbaharda, Ekim 2016'da yüzey-altı artışı dışında, bollukların düşük olduğu belirgindir. Ocak ve Mart 2017 arasında, bolluklar yüzeyde (25 metreye kadar) ve 100 m derinliğin altında yüksektir. Nisan ve Haziran 2017 tarihleri arasında, Cryptophyte bolluğu,

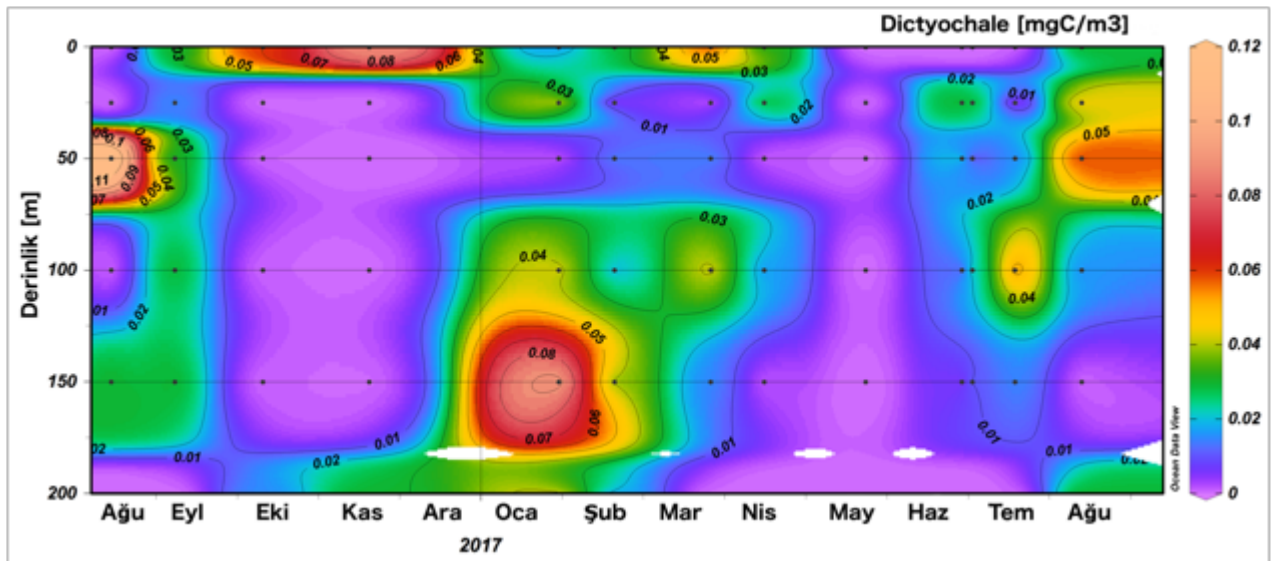
artan bir derinlik ile azalan düşme eğilimi göstermektedir. 2017 yılı Ağustos ayında, 25m derinliğinden 100m derinliğe kadar yüksek miktarlarda hücre sayısı rapor edilmiş ve derinlikle azalmaktadır. Ağustos 2016'da, Ağustos 2017'de görüldüğü gibi, yüzey suları 25 m derinliğe göre daha az bolluğa sahiptir (Şekil 34).



Şekil 34. Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda mgK/m<sup>3</sup> olarak Cryptophyte biyokütle bolluğu.

### 3.1.3.6 Dictyochale

ETS-200m derinlik istasyonunda gözlemlenen fitoplankton grupları arasında, tüm örnekleme derinliklerinde ve periyotlarında Dictyochale en az rastlanan gruptur. 66 örnekten 37'sinde Dictyochale hücreleri görülmemiştir (Şekil 35). Ağustos 2016'da 50m'den alınan örnekte maksimum bolluk (320 hücre / l) tespit edilmiştir.



Şekil 35: Ağustos 2016 ve Ağustos 2017 boyunca ETS-200m istasyonunda  $\text{mgK/m}^3$  olarak Dictyochale biyokütle bolluğu.

### 3.1.4 Genel Değerlendirme

ETS-200m istasyonundaki fiziksel koşullar, esas olarak Akdeniz özelliklerinden olan yıllık soğutma ve ısınma döngüsünü göstermektedir.

Tabakalaşma, nisan ayında nispeten tükenmiş besin konsantrasyonu ile başlar ve yaklaşık olarak Ekim sonuna kadar devam eder. Kış mevsimi ise, iyi karıştırılmış su kolonu olarak izlenmektedir (Şekil 10). Hakim rüzgar yönüne ve hızına bağlı olarak, örnekleme alanı, yakında konumlanmış Lamas Nehri tatlısu girdisinden etkilenir. Bununla birlikte, çalışma döneminde (Ağustos 2016-Eylül 2017) söz konusu tatlı su girdisine dair bir iz fark edilmemiştir.

Bununla birlikte, termal değişimin yıllık döngüsü, özellikle yaz tabakalaşma döneminde Akdeniz'in yüzey sularında olduğu gibi besin tuzları yönünden tükenmiş olduğunu bildiren diğer çalışmalarla örtüşmektedir (örn. Krom vd., 2005; Pujo-Pay vd., 2011). Diğer yandan, ETS-200m istasyonunun açık veya kıyı istasyonu olarak karakterizasyonu yapmak basit değildir.

Bir yandan, bazı dönemlerde tatlı su girdisinin su sütununun fiziksel, dolayısıyla biyokimyasal özelliklerini etkilediği açıktır. Öte yandan, su sütununun özellikleri tartışılırken, yatay taşımının bölgenin özelliklerini etkileyebileceği akılda tutulmalıdır.

ETS-200m istasyonundaki nitrat konsantrasyonları Akdeniz'in karakteristiği olan yüzey sularında düşük konsantrasyonlara sahipken, daha derin su (100 m'nin altında) nispeten yüksek konsantrasyonlara sahiptir.

Yıl boyunca toplam klorofil konsantrasyonlarının özellikle derin su kolonunda düşük olduğu ve sonbahar, ilkbahar ve yaz aylarında Akdeniz'in özelliklerinden biri olan DKM'yi temsil ettiği gözlenmiştir. DKM, 2016 yılının ağustos ayında 50m derinliğinde oluşmuştur (Şekil 26), buradaki konsantrasyon  $0,16 \mu\text{M}$ 'ye ulaşmaktadır. Bu derinlik Karışım Tabaka Derinliğinin 'nin altında (17m, Şekil 36-a) ve Işıklı Tabaka Derinliği'nin (81m, Şekil 36-b) altındadır. Bu artış, aynı periyotta ve derinlikte diatomlar tarafından gözlemlenen yüksek biyokütle değerleri ile çakışmaktadır. Bununla birlikte, görünür oksijen kullanımı (apparent oxygen utilization- GOK), herhangi bir yatay veya dikey akış yoksa, oksijen üretiminin (- değerler) veya tüketimin (+ değerler) göstergesi, 25m derinliğinde (Şekil 37) düşükken, siyanobakteri bolluğu da bu derinlikte artmaktadır (Şekil 28 ve Şekil 29). Bir kritik gözlem de 50m derinlikteki heterotrofik bakterilerin bolluğunun 25m derinliğinde gözlenenden biraz daha yüksek olmasıdır. Bunlar, 25m derinlikteki üretimin tüketimden daha yüksek olduğunu ve siyanobakterilerin (aynı dönemde diatom karbon biyo-kütlesini siyanobakterileri aşması halinde bile) üretimde önemli bir rol oynadığı sonucuna işaret etmektedir. Benzer şekilde, bu derinlikte nitrat ve amonyak

konsantrasyonları da en düşük düzey seyretmektedir. GOK tüketim ve üretim arasındaki dengeyi 100 metre derinlikte temsil etmektedir (Şekil 37-a). Özellikle 200m derinliğinde, GOK pozitif ve yüksek olup, bozunma sonucunda yüksek konsantrasyonlarda nitrat ve fosfat ile çakışan heterotrofik aktiviteyi göstermektedir.

Eylül 2016'da, toplam klorofil a gözlemleri 75m ve 100m derinliklerinde (Şekil 26'da yeşil alanlar) biraz yüksek konsantrasyonlar göstermiştir. Bu sinyal, sadece canlı hücreler tarafından değil, aynı zamanda ölü olan fitoplankton hücreleri tarafından da desteklenmiş olabilir, çünkü grupların biyokütlesine bakıldığında hiçbiri özellikle ilgili derinliklerde yüksek konsantrasyonlar göstermemiştir. Ayrıca, ilk 100m derinlikte GOK değerleri negatif olarak tanımlanmıştır. Bu, fotosentezin, özellikle su kolonunun oksijenasyonunun atmosfere olan etkisinin sınırlı olduğu KTD'nin (25m) altındaki derinliklerde tüketimi aştığını göstermektedir.

En yüksek GOK değeri (- değeri) 75 m derinlikte (-16) yakalandı ve bunu 100m derinliği (-14) izledi, aynı zamanda bu derinlikler klorofil a ölçümlerinin nispeten yüksek olduğu derinliklere karşılık gelmektedir. İlk 100m derinlikte, degradasyonun ilk ürünü olan amonyum da daha yüksek konsantrasyonlardadır.

GOK değerleri, üretimin heterotrofik aktivite üzerindeki baskın süreç olduğunu göstermesine rağmen, yüzey sularında heterotrofik bakteri bolluğu da yüksek olduğu için, bir miktar bozulmanın halen devam ettiğinden şüphelenilmektedir. 100 m derinliğin altında, N/P oranı 16'nın üzerinde ve amonyum konsantrasyonları da düşmektedir. Öte yandan, GOK, Eylül ayında 100 m derinliğin altında remineralizasyon aktivitesini gösteren yüksek pozitif değerler göstermiştir. Ökaryotik fitoplankton bolluğu, ITD'nin (86m) üzerinde daha yüksektir ve bu nedenle 75 m derinlikteki nispeten yüksek chl-a konsantrasyonuna katkıda bulunmaktadır. Öte yandan, 100 m derinlikte siyanobakterilerin 100m derinlikteki yüksek chl-a değerine olan katkısı baskındır, özellikle de 100m derinliğindeki biyokütlesinin 50 m derinliktekinden daha yüksek olduğu gözlemlendiğinde.

Ekim 2016'da da DKM oluşumu gözlenmiştir, ancak ağırlıklı olarak ITD ve KTD'nin (sırasıyla 74m ve 44m) altında olan 75m derinliğinde gözlenmiştir. Ayrıca, GOK genellikle 50m derinliği (-25) ve 25m (-1) derinliği dışında pozitif değerler göstermiştir. Bir önceki bölümde tartışılan fotosentetik organizmaların hiçbiri, negatif GOK değerinden çıkarım yapıldığı üzere fotosentetik aktiviteye katkısı olmadığı sonucuna varılabilir. Fotosentetik organizmaların herhangi birinin bolluğunun pik yaptığı derinlik DKM derinliğine karşılık gelmemiştir. Negatif GOK değeri, 50m derinlikte heterotrofik aktivitenin düşük olabileceğini göstermektedir. Ancak ilk 100m derinlikte heterotrofik bakterilerin bolluğunun 100 m'nin altındaki derinliklerden daha yüksektir. Ekim ayı boyunca etkili olan diğer bir önemli nokta, 200m derinlikte, nitrat konsantrasyonunun ( $> 1,5 \mu\text{M}$ ) ve GOK değerinin ( $> 45$ ) dikey profilin en yüksek değerlerine

ulaştığı gözlemlenmesidir. Ek olarak, PF konsantrasyonundaki artış ve dinoflagellatların yüksek bolluğu (dikey dağılımın en yükseği değil) bu derinliğe denk gelmektedir. Yüksek GOK değeri, Ekim 2016'da 200m derinlikte remineralizasyon işleminin aktif olduğunu göstermektedir. Yüzeydeki toplam fosfat, partikül fosfat ve özellikle inorganik fosfat konsantrasyonu, yüksek konsantrasyonları yansıtmaktadır. Fosfat kaynaklarındaki bu artış nitrat kaynaklarında gözlemlenmemiştir. Bu nedenle, yüksek fosfat konsantrasyonları kontaminasyona bağlı olabilir.

Kış dönemi, sonbahar ve yaz aylarında gözlenen yüzey değerlerinden daha yüksek ve daha derin derinliklere göre daha düşük konsantrasyonlar ile nitrat bakımından homojen olarak gözlemlenmiştir. Toplam klorofil konsantrasyonları genel olarak artmıştır, özellikle 200 m su sütununda en yüksek seviyeye sahiptir. Toplam klorofil konsantrasyonundaki artış, öfotik tabakadaki fitoplankton hücrelerinin fiziksel transferine bağlı olabilir ve düşey karışım ile daha derine taşınmış olabilir. Ocak ayında KTD 171m iken IT derinliği 93m'dir. GOK değerleri 1 ile 8 arasındadır. Kış aylarında pozitif GOK değerlerinin yorumlanması özellikle Ocak ayında olduğu gibi KTD'nin 171m derinliğe karşılık geldiği durumlarda dikkatle yapılmalıdır. Su sütununun doymuş oksijenlenmesi, güçlü dikey karıştırmanın bir sonucu olabilir. Diatom patlaması, 100m derinliğinin altında baskındır ve bu da 93m olan IT derinliğinin altındadır. Ayrıca, coccolithophorids bolluğu yüzey ile birlikte 200m derinlikte yüksek seyretmektedir. 200 m derinlikteki toplam chl konsantrasyonlarındaki artış, ölü hücrelerin klorofil içeriğinin ve bir önceki ayda (aralık ayı örnekleme yapılamamıştır) varlık gösteren ölü fitoplankton hücrelerinin klorofil içeriğinin daha derin su kolonuna batması sonucu oluşmuş olabilir. Yüzeyde Synechococcus bolluğu tüm derinliklerden ve mevsimlerden en yüksek düzeyi yansıtmaktadır. Bu, ışık ve mevcut besinler için tercihlerini yansıtmaktadır.

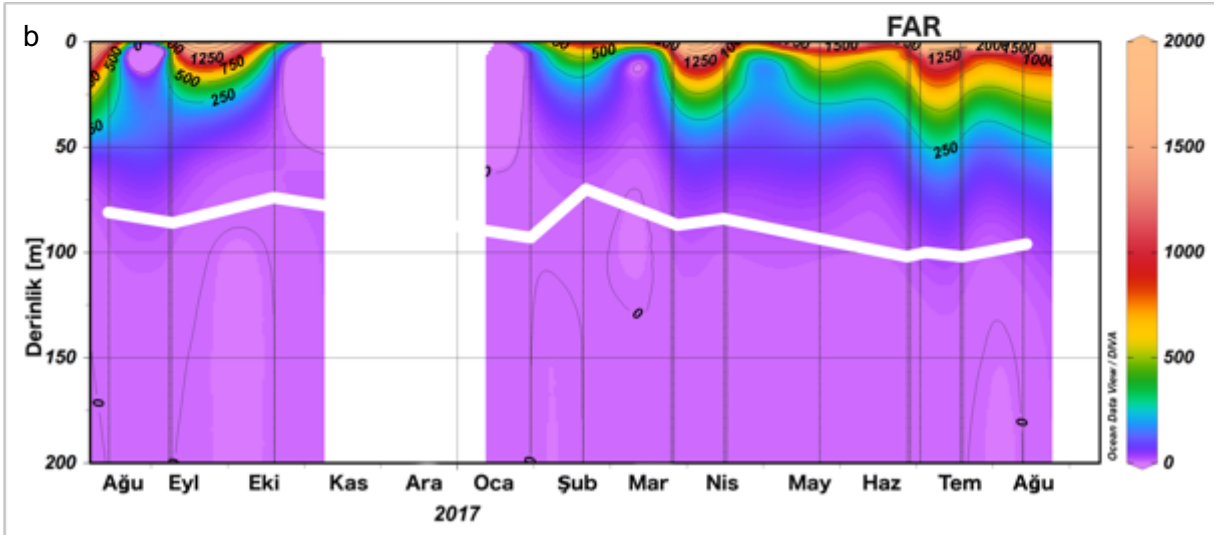
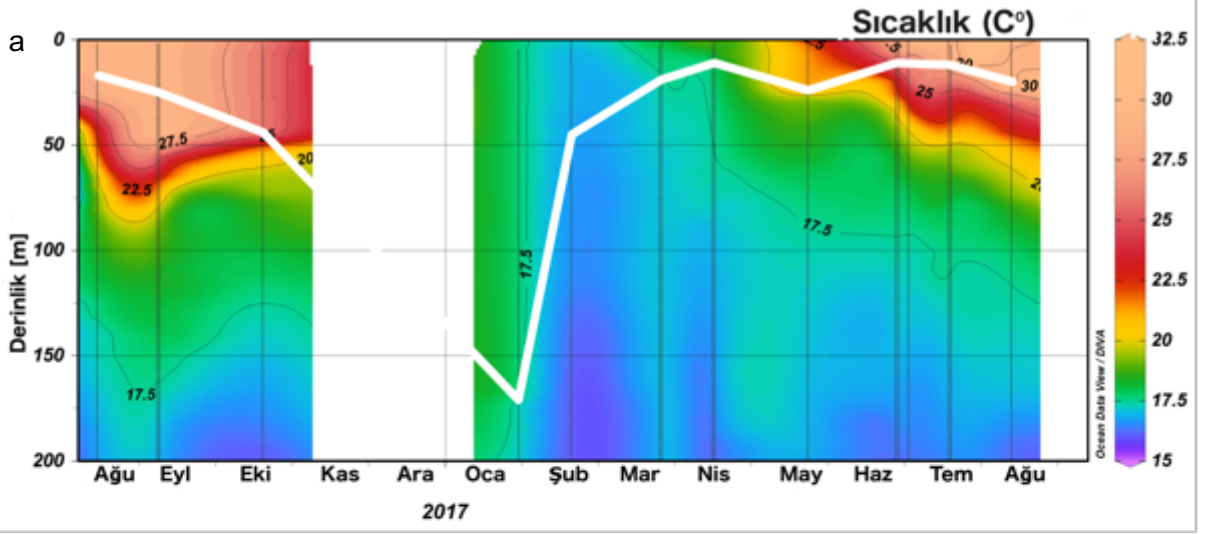
Şubat ayında, ilginç bir şekilde GOK, 150m derinliğinde ve altında sadece negatif değerlere sahiptir. Gözlenen KTD Şubat ayında 45m derinliğe kadar yükselmiştir, bu da 150 m derinliğin altında, negatif GOK değerlerinin birincil üretimin sonucu olabileceğini göstermektedir. Bu sinyal ayrıca 150 m derinliğin altında toplam chl konsantrasyonlarında da gözlenmiştir (Şekil 26). 100m derinliğin altındaki sularda fotosentetik aktiviteyi teyit eden yüksek sayıda diatom hücresi bolluğu gözlemlenmiştir. Kış aylarında heterotrofik bakteri bolluğu en yüksek değerleri gösterirken GOK değeri özellikle daha derin su sütunundaki remineralizasyon sürecinin baskın olmadığını göstermektedir. Özellikle de atmosferden oksijen taşınımının sığ KTD (45m) nedeniyle sınırlı kaldığı düşünüldüğünde bu çıkarım desteklenmektedir.

Mayıs ayında, DKM 100 metre derinlikte meydana geldiği görülmektedir. Ancak ışıklı tabaka derinliğinin (94m) altında olduğu da görülmektedir. Mayıs ayında DKM derinliği, aynı zamanda yüksek Synechococcus hücrelerinin bolluğuna da karşılık gelmektedir. İlk 75m'de, GOK

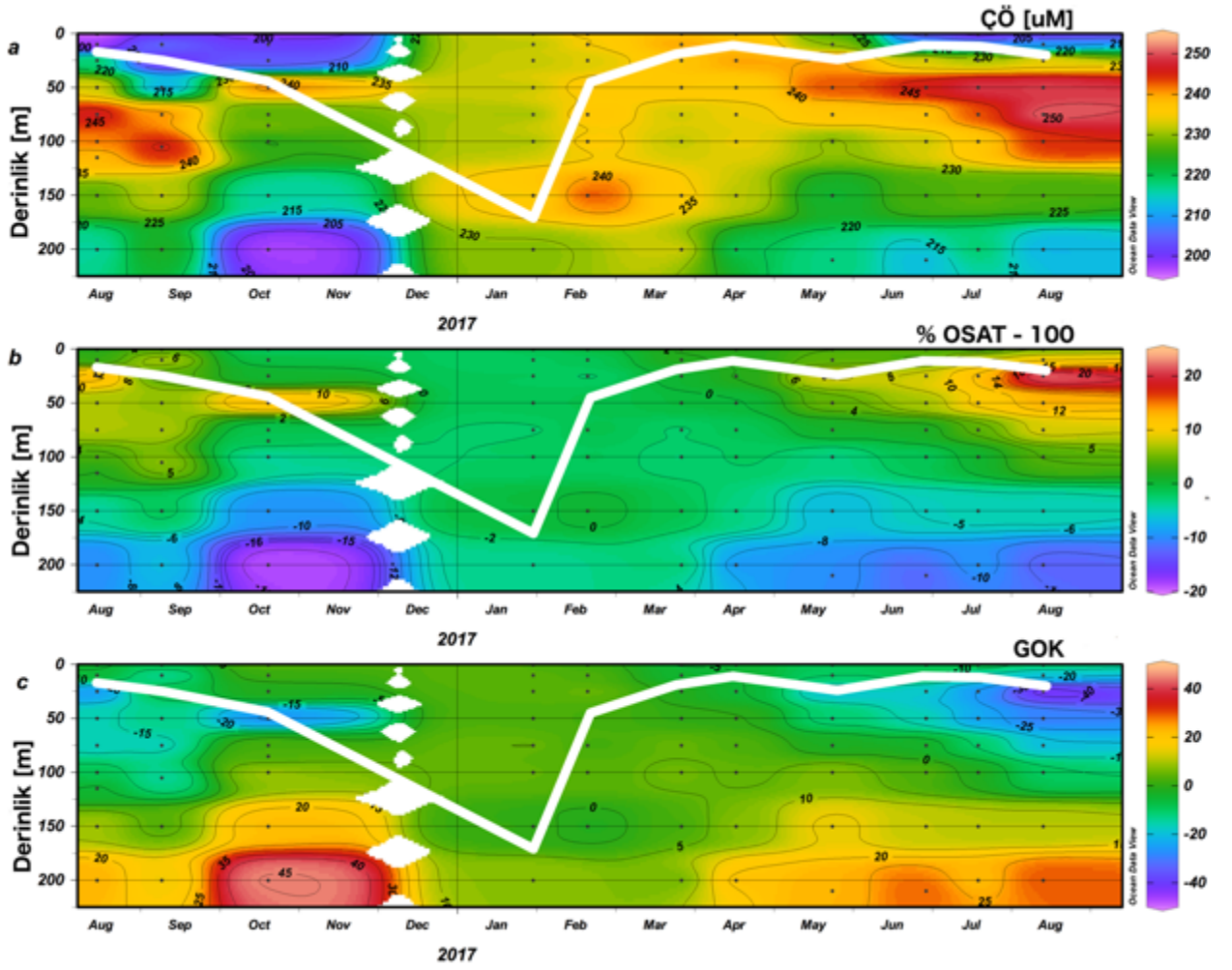
değerleri, oksijenin üretiminin tüketimi aştığını gösterirken, 100 m'den derinlerde ise pozitif değerlere sahiptir. DKM derinliği 100m'de gözlemlenmesine karşın, bu derinlikte dejenerasyon süreçleri daha yüksektir, ki bu da nitrat ve fosfat konsantrasyonlarından açıkça görülmektedir.

Haziran 2017'de, GOK değerleri 100m derinliğin üzerinde pozitif iken, EZ derinliği 102m'de gözlemlenmiştir. Işıklı bölgede fotosentez aktivitelerinin baskın olduğu, ITD altında ise remineralizasyon gibi oksijen tüketen süreçlerin baskın olduğu sonucuna varılmıştır. Öte yandan, Temmuz ayında, 150m derinliğinin altında pozitif GOK değerleri tespit edilmiştir ve 100m derinlik, biraz düşük negatif GOK (-1) değerine sahiptir.

Ağustos 2017'de KTD derinliği (20m derinliğinde) önceki aylarda görülen KTD'den biraz daha derindedir (sırasıyla Haziran ve Temmuz için 11 ve 12 metre). Remineralizasyon süreci, Haziran ve Temmuz aylarına kıyasla 200 m derinlikte daha güçlü olmuştur. 150m derinlikte diatom bolluğu artış göstermiştir ve 200m'deki GOK değerinden (sırasıyla 10 ve 30) daha düşük olmasının nedeni diatom hücrelerindeki artış olabilir. Yaz aylarında 200 m derinlikte oksijen tüketimi en yüksek Ağustos ayında gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, 25m derinliğinde, özellikle Cryptophyte ve Synechococcus hücrelerinin bolluğundaki artışla çakışan yüksek negatif GOK değeri gözlenmiştir. Ayrıca, ilk 100m'deki heterotrofik bakterilerin bolluğu, 100m derinliğinin altında tespit edilen bolluğa kıyasla daha yüksek olmuştur. Bununla birlikte, oksijen üretimi tüketim sürecine baskın gelmekteydi ve bu, ilk 100m derinlikteki artmış coccolithophorids ve dinoflagellate hücreleri bolluğuyla desteklenmektedir.



Şekil 36. ETS-200m istasyonunda yıl boyunca gözlenen Karışık Tabaka Derinliği ve Işıklı Tabaka Derinliği. KTD (a) sıcaklık profili üzerinde beyaz çizgi olarak çizilirken, ITD (b) Fotosentetik Aktif Radyasyon (FAR) verileri üzerinde gösterilmektedir.



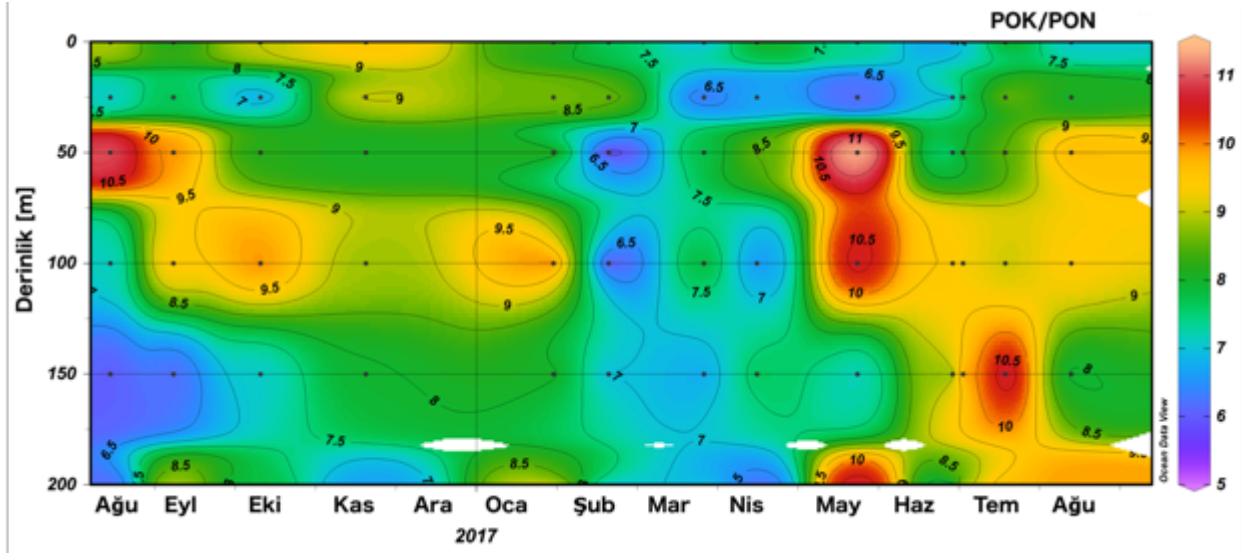
Şekil 37. ETS-200m istasyonunda çözülmüş oksijen konsantrasyonu (a), yüzde oksijen doygunluğu (b) ve görünür oksijen kullanımı- GOK (c). Her şekilde beyaz çizgiler KTD'ni temsil eder.

Akdeniz'de derin suda N/P oranı 16'dan yüksektir (Kress ve Herut, 2001a; Krom vd., 2005). ETS-200m istasyonunun derin suları, özellikle 150 m derinliğin altındaki sular, önceki çalışmalarla uyumlu olarak daha yüksek N/P oranına sahiptir. Bu durum sadece kış mevsiminde kesintiye uğramaktadır ve burada N/P oranı Redfield oranından daha düşük tespit edilmiştir. Doğu Akdeniz'de dikey karışım, yüzey sularına mevcut besinleri getiren baskın süreçtir (Powley vd., 2017). N / P oranındaki azalma, inorganik fosfor artışı ve kış karıştırma dönemlerinde gözlenen toplam klorofil konsantrasyonu bu bulguyu desteklemektedir. Lateral bir akıntının olmaması durumunda, ETS-200'ün derin tabakasındaki N/P oranı, önceki dönem üretilen organik maddenin bozunması sonucu olarak görülebilir. Lateral etki olsa da oran açıkça 16'nın üzerindedir, muhtemelen organik maddenin bileşiminin N/P oranının zaten 16'nın üzerinde olduğunu gösterir.



Diğer bir yandan, POK ile POA oranı, mikroorganizmaların azottan önce fosfor ve karbondan önce azot'un selektif mineralizasyonu gerçekleştirmesinden dolayı üretilen organik maddenin yaşını anlamak için iyi bir işaretlerdir.

POK ve POA arasındaki oran, çalışma alanımızda partikül halindeki organik maddenin yeni üretildiğini (Şekil 38) açıkça göstermektedir. Böylece, yüksek N ile P oranı ve yüksek pozitif GOK değerleri, daha derin su kolonundaki remineralizasyon işlemi işaret etmektedir.



Şekil 38.ETS-200m istasyonunda örnekleme dönemlerinde partikül organik karbon ve partikül organik azot arasındaki oran.

Daha önceki çalışmalarda, birincil üretim üzerine P-sınırlaması tartışılmıştır(Krom vd., 2010; Thingstad vd., 2005; Van Cappellen vd., 2014).

Aksine, ETS-200m derinlikli istasyonun yüzeyinden alınan örnekler ağırlıklı olarak N-sınırlı suya sahiptir ve N: P oranları Redfield oranından daha düşüktür.

Nanoplankton ve pikoplankton baskınlığının, toplam klorofil ve diatom artış eğilimini gösterdiğinde azaldığı Kuzey Atlantik'te gösterilmiş (Li, 2002) ve bu durumun Akdeniz için de geçerli olduğu düşünüldüğü bildirilmiştir (Siokou-Frangou vd., 2010). Şubat ve Mart aylarında diatom biyokütlesi ile kıyaslandığında, 50m derinliğinde toplam klorofil konsantrasyonunun yüzeyden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir, bu nedenle çalışma alanımızda yükselmiş Coccolithophorida bolluğu ile birlikte büyük olasılıkla diatom katkısı görülmektedir.

Ancak, diatomun biyokütle değerinin  $900 \text{ mgK} / \text{m}^3$ e ulaştığı düşünüldüğünde, özellikle 100 m derinliğin altında Şubat ayında toplam klorofil konsantrasyonunun ölçülen değere kıyasla daha da artması beklenmiştir.

Bulgularımız, Levant besininin tümünü kapsayan DKM'a diatom katkısının daha az önemli olduğunu ortaya koyan (Lydia Ignatiades vd., 2009) çalışmayı desteklemektedir. Mart ayında, diatom bolluğu en yüksek değerine yüzeyde ulaştığında toplam klorofil konsantrasyonu 25m'lik derinlikte en yüksek değerine ulaşmıştır. Bu da göstermektedir ki, diatom'un toplam klorofille katkısı daha azdır.

Akdeniz'de önemli bir fotoototrofik grup da, düşük ışık ve yüksek ışık uyarlamalı Prochlorococcus ekotipidir (Moore vd., 1998). Toplam divinil-klorofil-a'nın, bir UV-spektrofotometre kullanılarak 665 nm'de absorbans ile korelasyon gösterdiği kabul edilmiş ve divinil-klorofil-a'nın saptanması için kullanılmıştır (Fernández-Pinos vd., 2015; Jeffrey ve Humphrey, 1975). Laboratuvarımızda toplam klorofil a ölçümleri 669nm absorbansında tespiti yapılmaktadır. Bu nedenle, laboratuvarımızdaki toplam chl ölçümleri ayrıca divinil-klorofil-a'nın da karışmış olduğunu gösterebilir. Spektrofotometrik ve flourometrik yöntemler, pigmentlerin miktarını hızlı bir şekilde tayin etmek için çok basit ve kullanışlıdır, fakat doğal ortamlardan alınan numunelerde bulunan pigmentler ve pigment bozunma ürünlerinin karmaşıklığı ile her zaman iyi sonuçlar vermezler. Klorofil b ve c'nin klorofil a spektrumu ile üst üste çakışmaktadır, ayrıca, spektrofotometrik yöntem sadece toplam ve yaklaşık karotenoid miktarı ile ilgili verileri sağlar ( Sabina ve Adam, 2011).

Açık subtropikal Kuzey Atlantik Okyanusu'nda, toplam klorofil a ölçümlerinin, örneklerde toplam klorofil'i belirlemek için geleneksel yöntemler kullanılıyorsa, Prochlorococcus'un varlığı ile önemli ölçüde sapma olabildiği HPLC yöntemiyle gösterilmiştir (Goericke ve Repeta, 1993). Goericke ve Repeta (1993), ayrıca Ayrıca Prochlorococcus içeren numunelerde toplam klorofil ölçümlerinin daha az değer gösterebileceğini öngörmüşlerdir.

Flourometric chl-a ölçümü ile HPLC yöntemi kullanılarak yapılan klorofil a'nın karşılaştırılması, klorofil b'nin varlığına bağlı olarak, chl-a'nın flourometric yöntemle ölçüldüğünde düşük çıktığını göstermiştir (Kumari, 2005). Toplam klorofil profilleri ile fotosentetik organizmaların dağılımı arasındaki tutarsızlık, yukarıda belirtilen sorunlardan kaynaklanmış olabilir, dolayısıyla bu gerçekler yorumlamalarda ve değerlendirmelerde göz önüne alınmalıdır.

Klorofil konsantrasyonunda gözlemlenen Derin Klorofil Maximum'un Akdeniz'de kalıcı bir özellik olduğu bilinmektedir (Arin vd., 2002; Estrada vd., 1993). Ayrıca, klorofil a konsantrasyonundaki DKM özelliğinin Akdeniz'de kalıcı bir özellik olduğu ve doğu Levant havzası için de tartışıldığı bilinmektedir (Ediger ve Yılmaz, 1996). Çalışma alanında su kolonu boyunca 2017 kışında gözlenen yüksek klorofil konsantrasyonları ve iyi gelişmiş DKM ise ilkbaharda 75 m derinlikte 0,2 mg /l'ye ulaşan değerlerle gözlemlenmiş ve baharda da daha derinlere (100m) ulaştığı gözlemlenmiştir.

Cocolithophorides'in, Akdeniz'de yüksek çeşitliliğe sahip olduğu (Cros vd., 2002) ve doğudan batıya yapılan bir transeksiyon çalışmasında da doğu Akdeniz'de daha bol olduğu bildirilmiştir (Ignatiades vd., 2009). Doğu Akdeniz'in orta kesiminde yürütülen bir çalışma, kış ve ilkbaharda sedimana çökeltisine en çok Cocolithophorides grubunun katkı sağladığı gösterilmiş ve genel olarak Cocolithophores grubunda en sık görülen ve baskın olan türün ise *Emiliana huxleyi* olduğunu belirtmiştir. Çalışma alanımızda, Cocolithophorides özellikle Nisan 2017'de KTD'nin (11m) altında ve IT derinliğinin (84m) üzerinde olan 25 metrelik derinlikte en yüksek bolluğuna ulaşmıştır. *E. huxleyi*, tüm örnekleme periyotlarında ve derinliklerinde Şubat 2017, 100m'lik derinlik hariç olmak üzere genel olarak en baskın türdür. *E. huxleyi* 173536 hücre/l bolluğa sahip bir diatom türü olan iken *Pseudo-nitzschia delicatissima* ise 297888 hücre/l sayılarına ulaşmıştır.

Cocolithophores'e ait tür olan *E. huxleyi*, P (Riegman vd., 2000) ve N sınırlı koşullar altında (Tyrrell ve Merico, 2004) başarısıyla iyi bilinmektedir. ETS-200m istasyonunda yıl boyu yapılan gözlemler, *E. huxleyi* bolluğundaki varyasyonun, düşük N ve P konsantrasyonlarının hücrelerin bolluğunu baskılamadığı bulgusunu desteklemektedir. Örneğin, Ağustos-Kasım 2016 döneminde, ilk 100m derinliğinde nitrat ve fosfat konsantrasyonları tükenmiş profili gösterirken, *E. huxleyi* bolluğu doruğa ulaşmıştır.

Diatom türü olan *Pseudo-nitzschia delicatissima*, farklı ortamlarda patlama yapan, her yerde bulunabilen ve fizyolojik olarak değişkenliği ile tanımlanır (Kudela vd., 2005). Büyümelerini ise organik besin maddelerinden olumlu etkilendiği bildirilmiştir (Loureiro vd., 2009). Örnekleme istasyonumuzda, Şubat 2017'de 100 m derinliğinde meydana gelen *Pseudo-nitzschia delicatissima* bolluğundaki artış, fizyolojik çeşitlik ve organik besin maddelerinin mevcudiyeti ile ilişkili olabilir.

*Synechococcus spp.* Akdeniz'deki ana picoplankton türlerinden biridir (Siokou-Frangou vd., 2010; Uysal ve Köksalan, 2006). Güney Levant havzasında *Synechococcus spp.* dinamiklerini gösteren sınırlı çalışma mevcuttur (Uysal, 2006). Yaptıkları çalışmada Eylül 2002'de, *Synechococcus spp.* bolluğu ilk 40 m'de daha fazlaydı ve derinlikle azalmaktaydı. Bizim çalışmamızda toplanan verilerde de Eylül 2016'da yüzden derine gittikçe azalan bolluk profili görülmektedir. Ancak bir diğer yandan, bolluğun en yoğun gözlemlendiği priyot Eylül olarak verilmişken bizim çalışmamızda en bol gözlemlenen dönem kış aylarıdır.

Yıl boyunca, *Synechococcus spp.*'nin bolluğu %1'lik ışık penetrasyon derinliğinin üzerinde yer aldı. Bununla birlikte, Ocak ve Ağustos 2017 gibi bazı dönemlerde (sırasıyla 200m ve 100m derinliklerinde), hala yüksek bolluk gözlemlenmektedir. Bu iki örnek, aynı derinlikteki yüksek amonyum konsantrasyonları ile de örtüşmektedir. Amonyumun *Synechococcus spp.* tarafından azot kaynağı olarak kullanıldığı gösterilmiştir (Moore vd., 2002).

Mayıs 2017’de ise farklı bir durum söz konusudur. *Synechococcus* spp. Işıklı tabakanın altında 100m derinliğinde gözlenmiştir, ancak besin kaynaklarının hiçbiri aynı derinlikte yüksek konsantrasyonlar göstermemiştir. Öte yandan, heterotrofik bakterilerin bolluğu artmış ve GOK değeri oksijen tüketimini göstermektedir. *Synechococcus* spp. heterotrofik bakterilerin aracılık ettiği ayrışma sürecinden gerekli besinleri kullandığı düşünülebilir. Genel olarak, *Synechococcus* spp. özellikle euphotic tabakanın üstünde gözlenmiştir, ancak bazı farklı durumlarla da karşılaşmıştır. Nitrojen kaynağı olarak amonyum kullanımı ve heterotrofik bakterilerle fırsatçı bir ilişki içerisinde oldukları durumlar gibi. Sargasso Denizinde, P ve ATP için *Synechococcus* taksonunun alım oranının diğer gruplardan 50 ila 80 kat daha yüksek olduğu (Michelou vd., 2011) ve inorganik fosfatın uygun olduğu durumlarda ise *Synechococcus* taksonunun bakteriler ve ökaryotik fotosentetikler ile yarışabileceği bildirilmiştir (Moutin vd 2002; Tanaka vd 2007). Böylece, örnekleme periyodumuzda *Synechococcus* üzerinde P-sınırlaması kesin olarak tespit edilememiştir.

Heterotrofik bakteriler, özellikle su sütununun iyi karıştığı ve N: P oranının 8 değerini temsil ettiği kış döneminde en yüksek bollukla tüm su kolonuna hakimdir. Aynı şekilde, bu dönemde yüksek toplam klorofil konsantrasyonları da gözlenmektedir. Heterotrofik bakteri bolluğu ve klorofil-a konsantrasyonları arasındaki pozitif korelasyon aynı bölgede daha önce yapılan bir başka çalışmada gösterilmiştir (Boran 2017). Bakterilerin, birincil üretimin neredeyse yarısını oligotrofik Doğu Akdeniz’de tüm derinlikler boyunca tükettikleri bilinmektedir (Turley vd., 2000). Bu çalışmada yıl boyunca, bakteri bolluğundaki değişim, fitoplankton bolluklarındaki değişim, toplam klorofil a ve düşük POK/POA oranları dikkate alındığında ve lateral taşınımın çok az etkisi olduğu düşünüldüğünde yeni üretilen organik maddenin bakteriler tarafından tüketildiği açıkça görülebilir. Işıklı tabakanın altında (en az 70m ve en çok 102m), su kolonunun oksijen içeriği saturasyonun altında olduğu ve besin tuzlarının konsantrasyonlarının artan derinlikle atış gösterdiği görülmektedir. Sınırlı yanal taşınım durumunda, daha derin su kolonunda remineralizasyonun hakim süreç olduğu görülmektedir.

### **3.2 16S rRNA komünite yapısı ve değişimi**

Örnekleme sonucunda toplam 2213 sekans varyantı (OTB’e eş değer) elde edilmiştir. Bunlardan kloroplast sekansı olarak tanımlanan sekanslar temizlendikten sonra sekans varyant sayısı 1978’e düşmüştür. Analizler kloroplast sekansları temizlendikten sonra sürdürülmüştür. En yüksek sekans sayımı (13.652) olarak Nisan 2017’de yüzeyden alınan örnekten elde edilirken en düşük sekans sayımı Eylül 2016 100m’lik örnekten elde edilmiştir. Tüm örneklerden elde edilen ortalama sekans frekansı 8.154,9’dur (Tablo 8).

Tablo 8. Veri istatistikleri

	Frekans
Minimum frekans	2060,0
1. kartil	5556,0
Medyan frekans	8039,0
3. kartil	11388,0
Maksimum frekans	13652,0
Ortalama frekans	8154,923076923077

Toplamda, 1978 sekans varyantına 255 farklı taksa ataması yapılmıştır ve bunlardan 29 tanesi 65 örnek içinde sadece tek bir örnekte gözlemlenmiştir. Ataması yapılan taksalardan 38 adedi örneklerin %50'sinden fazlasında gözlemlenirken 145 taksa örneklerin %10'undan azında gözlemlenmiştir. Sadece 3 taksaya tüm örneklerde rastlanırken bunların hepsi SAR11 kladına ait olan Clade Ia (min = 2,2, max. 39,4, ort =23,3), Clade Ib (min = 1,4, max. 23,5, ort=10,6) and Clade II (frequencies: min = 2,1, max. 19,34, ort =9,9). En fazla taksonomik atmaya sahip olan örnek 85 farklı taksonomi atamasına sahip iken bu atamalardan 63 tanesinin rölatif bolluğu %1'in altındadır ve bu örnek Ocak 100m örneğidir. Toplam 81 farklı taksaya sahip olan ocak ayı yüzey örneği ikinci en çeşitli örnektir. Sadece 21 farklı taksaya sahip olan örnek temmuz ayında 200m'lik derinlikten elde edilmiştir ve örneğin %23,2'si bolluk açısından Clade Ib'ye aittir. Alınan örneklerde 5 farklı taksonomi ataması Siyanobakteri olarak sınıflandırılmıştır. Bunlardan üç tanesi genus *Cyanobium PCC-6307* (sadece 7 örnekte görülmüş, max 0,75%), *Prochlorococcus MIT9313* (48 örnekte görülmüş, max 14,9%) and *Synechococcus CC9902* (40 örnekte görülmüş, max 3,8%) olarak cins seviyesinde sınıflandırılmıştır. Diğer takson sadece familya düzeyinde adlandırılırken sadece 7 örnekte gözlemlenmiştir ve en yüksek rölatif bolluğa ulaştığı örnekte %2,5 olarak görülmüştür. Bir diğer Siyanobakteri taksonu ise sadece Oxyphotobacteria olarak sınıflandırılabilmiştir. Burada kullanılan veri bankalarında halen siyanobakterilerin yeterli sekansa sahip olmadığı görülmüş ve ayrıca daha detaylı (farklı bir primer ve hedef bölge kullanılarak) çalışılması gerekliliği ortaya konulmuştur.

### 3.2.1 Aylara göre bolluk dağılımları

Bu bölümde aylara göre her bir derinlikte gözlemlenen bakteriler verilmiştir.

**Grafiklerdeki taksa isimleri ile ilgili not:** Taksa isimlendirmeleri Silva veri bankası kullanılarak yapılmıştır. Bu nedenle takson isimlendirmelerinde herhangi bir Türkçeleştirme yapılmamıştır. Örneğin Silva veri bankasında Clade I olarak isimlendirilen takson Klade I olarak

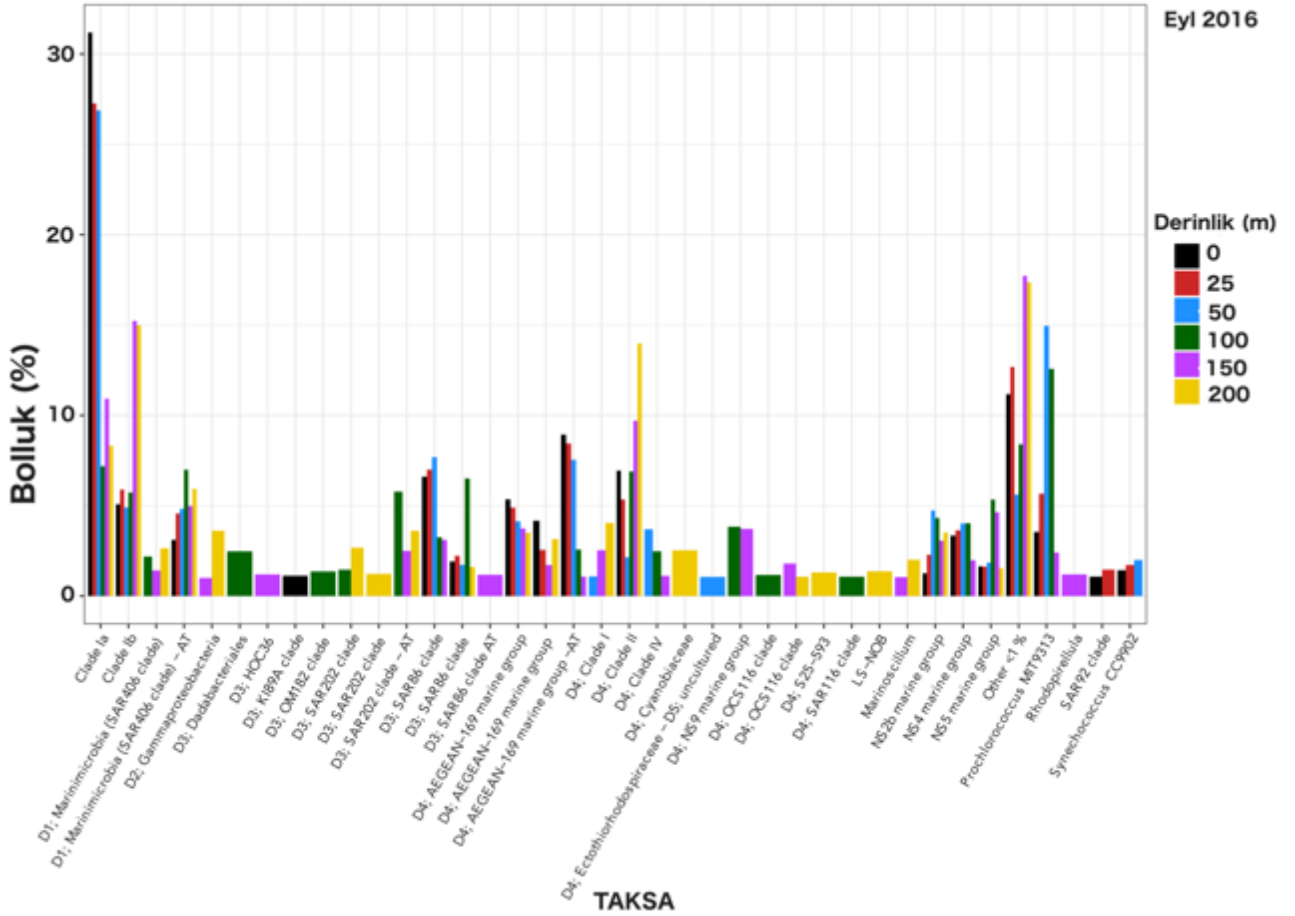
verimemiştir. Grafiklerdeki “Others” diye belirtilen grup bolluğu %1’in altında kalan diğer grupları gösterirken yine uyum açısından değiştirilmemiştir.

### 3.2.1.1 Eylül 2016

Clade Ia, yüzeyin ilk üç derinliği boyunca egemen taksondur. En yüksek katkı yüzeyde (%31) bulunurken 100 m derinlikte ise en düşük katkısı olduğu gözlemlenmiştir. Prochlorococcus MIT9313, 100 m derinlikte bolluk açısından (%12,5) en baskın olan gruptur gruptu ve Clade Ia yüzey derinliklerine kıyasla 100 m derinlikte ikinci en bol grup olarak gözlemlendi. 50 m ve 100 m derinliklerinden alınan örneklerde sırasıyla farklı takson sayısı 28 ve 36 olarak gözlemlenmiştir. Diğer derinliklerden alınan örneklerde ise farklı taksa sayısı görece daha fazladır (0m: 57, 25m: 50, 150m: 72 ve 200m: 66). Su sütunu boyunca alınan tüm örneklerde 13 ortak takson mevcuttur ve toplamda 72 farklı takson gözlenmiştir ve bunların 59 tanesi sadece tek bir örnekte görülmüştür. 150m ve 200m derinliğin örnekleri en yüksek takson sayısına sahip olduğundan %1'den az payı olan “Diğer” taksonların nispi bolluğu diğer örneklerden daha yüksektir. Prochlorococcus, 50m’de (%15) ikinci en bol taksa iken 100m’de (%12,5) dördüncü en çok gözlenen cinstir. Diğer örnekler sadece %2-5 arasında Prochlorococcus temsiline sahiptir. Synechococcus CC9902 sadece çok düşük bir pay ile ilk 50m örneklerinde görülmüştür (~%1). İlginç bir şekilde, aile düzeyine kadar tanımlanabilen siyanobakteri türü ancak % 2,5'lük bolluk payı ile örnek 200m’de gözlenmiştir (Şekil 39).

### 3.2.1.2 Ekim 2016

İlk üç örnekleme derinliğinde gözlenen en yaygın taksa, Eylül örneklerinin en yüksek bolluk payına sahip olan Clade Ia’dır (Şekil 40). En yüksek rölatif bolluğu yüzeyde gözlemlenirken ardından 25m ve 50m derinliğinde (sırasıyla %29,2 ve %23,6) gözlemlenmiştir. Yüzey suyundaki baskınlık eğilimini Clade Ia’dan sonra AEGEAN-169 deniz grubu, Clade II ve SAR86 kladı izlemektedir. AEGEAN-169 deniz grubu 25 m derinlikteki sularda ikinci ve üçüncü baskın takson ise NS5 deniz grubu iken, 50 m derinlikte bu sıralama Clade Ib ve SAR86 kladı şeklindedir. Prochlorococcus MIT9313, 100m derinliğinde (%6) üçüncü baskın takson olup, Clade Ia ve Clade Ib’den sonra diğer derinliklerle karşılaştırıldığında 100m derinlikte en yüksek paya sahiptir. Prochlorococcus cinsi, Eylül ayında olduğu gibi 200 m derinlikte gözlenmemiştir. Ayrıca, Synechococcus cinsleri sadece ilk 50m derinlikte (%1-3) gözlenmiş, ancak Eylül ayında olduğu gibi daha derin sularda görülmemiştir.



Şekil 39. Eylül 2016 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir.

Ekim ayında altı örnekleme derinliği arasında 100m derinlikli topluluk en fazla sayıda farklı taksona sahiptir (74) ve en az taksona sahip olan örnekler yüzey ve 25 m derinliğindedir (0m: 49, 25m: 48). Toplamda 150 farklı taksa gözlenmiş ve bunların 62’si sadece bir örnekte görülmüş ve tüm örneklem derinliklerinde gözlemlenen taksonların sadece 15’i ortaktır. Toplamda 8 takson sadece 150m derinlikte gözlemlendi ve % 1’den az göreceli bolluğa sahip 49 farklı takson vardır, bu nedenle “Diğer” taksonların nispi bolluğu diğer örneklerden daha yüksektir.

### 3.2.1.3 Kasım 2016

Kasım ayında, nispi bolluğu %1’den fazla olan sadece 4 takson tüm örneklerde ortak olarak gözlemlenmiştir: Clade Ia, Clade Ib, Marinimicrobia (SAR406 clade) ve AEGEAN-169 deniz grubu. Görece bolluğu <% 1 olan taksaların 150m derinliğinden alınan örnekteki toplam

katkısı % 20'den fazladır. Önceki ayların aksine, 50m'de Clade Ia'nın komüniteye katkısı azalmaktadır, ancak 100m derinlikte ise artış göstermektedir (%24'e kadar). Yüzeysel derinliklerinin aksine Clade II ve Clade Ib, 150m ve 200m derinliğinde göreceli olarak yüksek rölatif bolluğa sahiptir. Clade Ib 200m derinliğinde Clade II'den daha baskınken Clade II, 150m derinliğinde daha yüksek nispi bolluğu temsil etmektedir. Örneklerden 150m derinlikten alınan en fazla sayıda taksona sahiptir (67), ikinci sırada ise yüzeysel derinliği gelmektedir (65). Ancak 25m derinliğinden alınmış olan örnek aralarında en az taksona sahip olan örnektir (51). Yüzeysel, 25 m ve 100 m derinlikteki örneklerde, AEGEAN-169 deniz grubu - AT ikinci en bol takson olup, Clade Ib bu derinliklerde rölatif bolluk açısından üçüncü olmuştur. Clade II ve Clade Ib, ikinci dominant takson olarak 50 m derinlikteki örneğin topluluklarında aynı orana (%12) sahiptir. 200m derinliği hariç tüm derinliklerde Prochlorococcus MIT9313 gözlemlenmiştir. Prochlorococcus MIT9313, Ekim ayında 100 m derinlikte en yüksek nispi bolluğa sahipti, ancak kasım ayında yüksek bolluğu 50m derinlikte gözlemlenmiştir. AEGEAN-169 deniz grubu - AT (% 6,8) ve Clade Ib (% 5,7) 100m derinlikte Clade Ia (% 31,5)'dan sonra gelen en dominant taksonlardır. 150 metre derinlikli örneklerde Clade II taksonu en fazla oranda bulunurken, bunu Clade Ib, Clade Ia ve SAR202 –AT izlemektedir. Cyanobiaceae olarak sınıflandırılan takson sadece 100m (<%1) ve 150m (% 1,3) derinlikte gözlemlenmiştir. Cyanobium PCC-6307 sadece yüzeyselde görülmüş ancak %1'in altında bir pay oluşturmuştur.

Toplamda tüm derinliklerde 139 takson görülmüştür, tüm derinliklerde sadece bir kez görülen 51 takson bulunurken sadece 12 takson ortaktır.

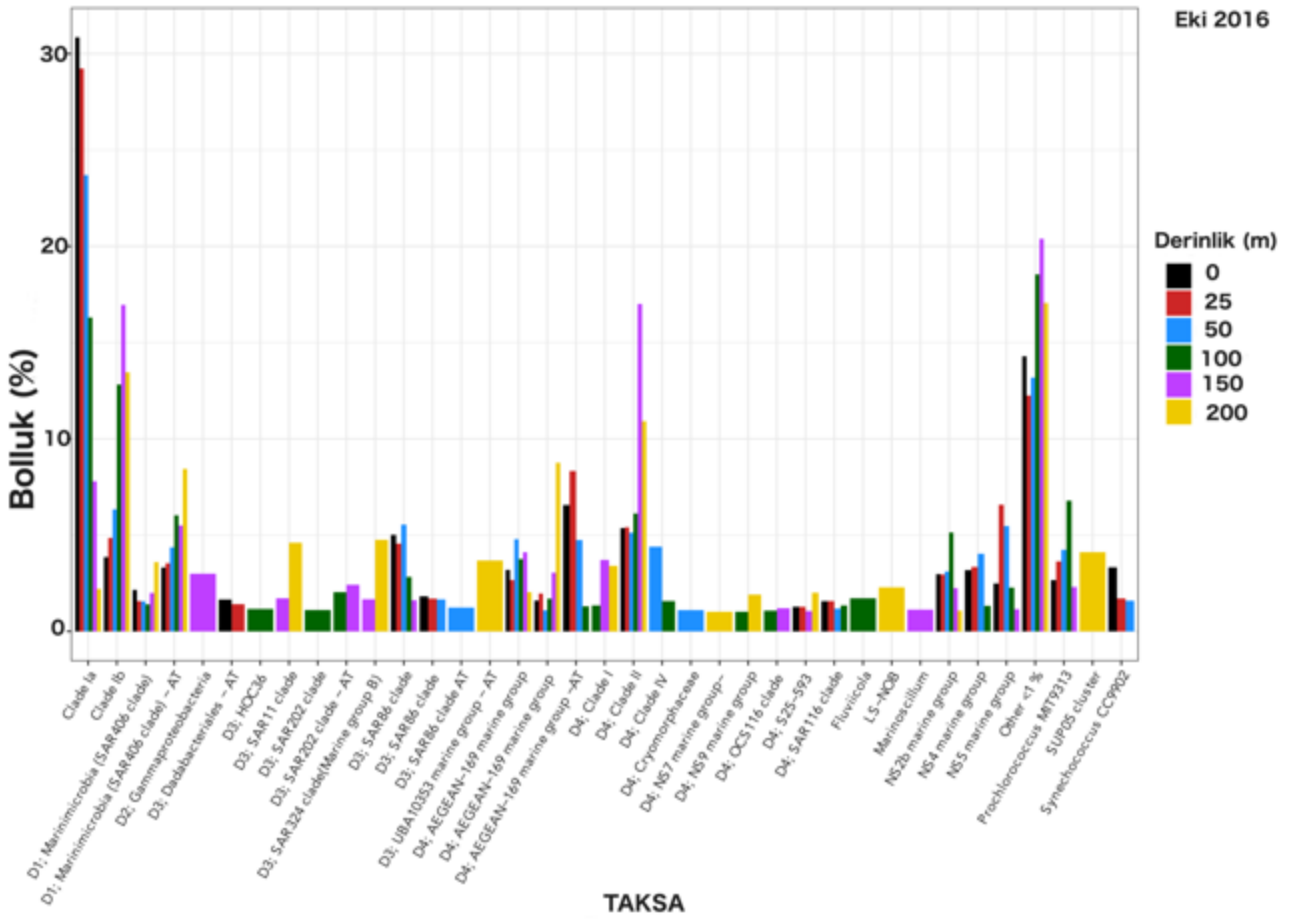
#### 3.2.1.4 Ocak 2017

Toplamda, her bir derinlikte, 44 ila 54 takson arasında 80 farklı takson gözlemlenmiştir (0m: 51, 25m: 45, 50m: 47, 100m: 54, 150m: 48, 200m: 44 takson). Tüm örnekleme derinliklerinde sadece 1 kez gözlemlenenlerin sayısı 32 ve taksonların 43'ü tüm örneklerde ortaktır. 100m derinlikteki örnek, en yüksek sayıda taksona (85) sahip iken, 200 metrelik topluluğun sadece 69 takson tarafından oluşturulduğu görülmektedir.

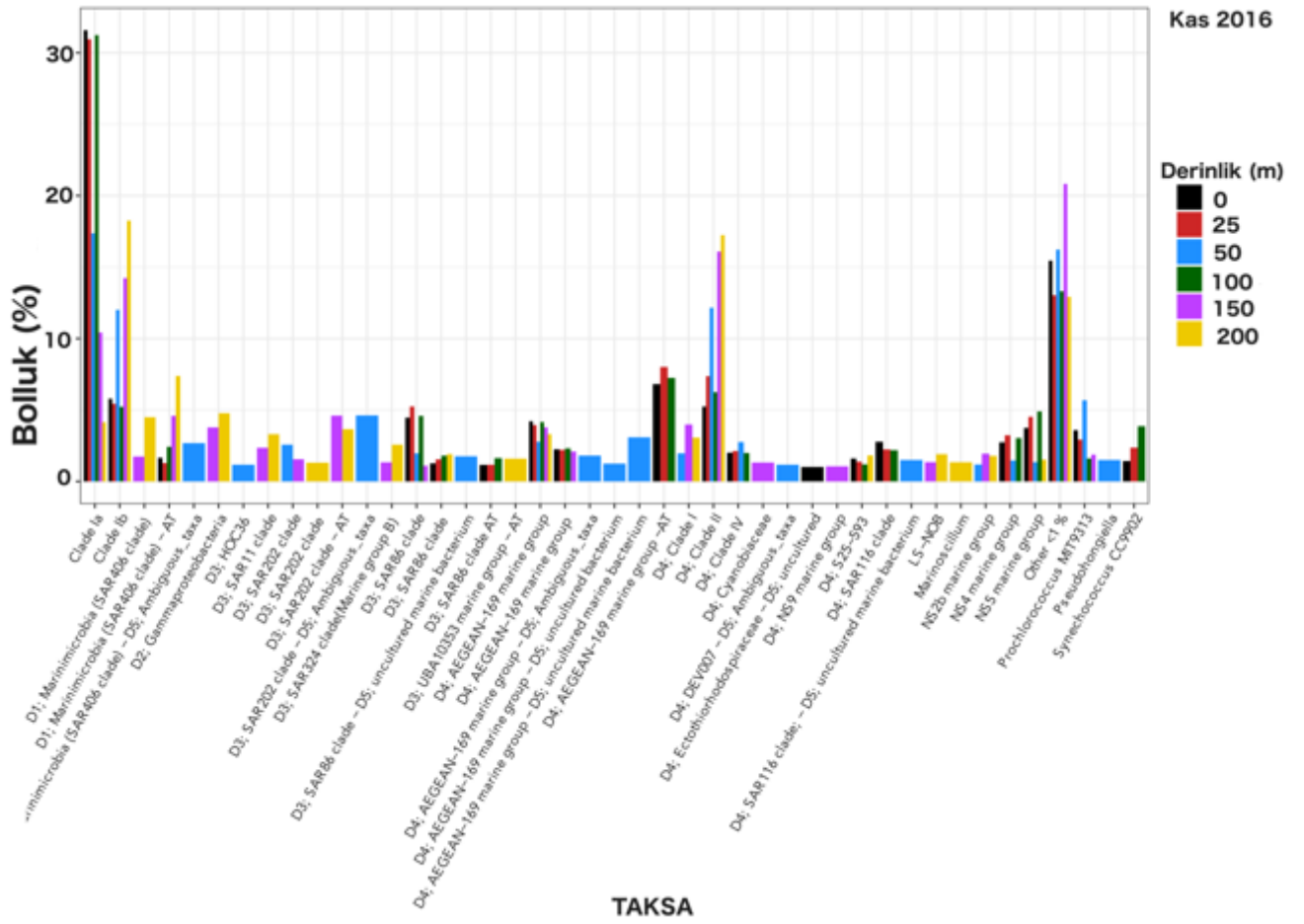
Yüzeyselde Clade II (% 12,07), Clade Ib (% 10) ve NS2b deniz grubu, SAR202 clade - AT (her biri % 3 nispi bolluğa sahiptir) Clade Ia'dan sonra en yüksek bolluğa sahip olan gruplardır. Yüzeyselde gözlenen taksonun 59'u % 1'den az nispi bolluğa sahiptir ve birlikte toplam bolluğun % 17,7'sini oluşturmaktadır. 25 m derinlikteki örnek yüzeyselden alınan örnek ile aynı dominant taksona sahiptir. Clade Ib ve Clade II aynı nispi bolluğa sahip iken onları AEGEAN-169 deniz grubu (% 4,4) ve SAR202 clade - AT (% 3,5) taksonları izlemektedir. 25m örneği ile yüzeysel örneğindeki rölatif bolluğu %1'den düşük olan takson sayısı aynı iken 25m örneğinde toplam komüniteye katkıları %22,2'dir. Tüm derinliklerden alınan örnekler düşünüldüğünde Clade Ia'nın komüniteye katkısı 50m örneğinde en düşüktür. Diğer dominant taksonlar (Clade II,



Clade Ib, NSb2 marine group) ise birbirlerine yakın bolluk (%6-7) göstermektedirler. Yüz metred alınan örnekteki komünite de diğer örneklerdeki gibi Clade Ia dominanttır ve Clade Ib (12,1%) ile Clade II (10,7%) ikinci ve üçüncü en bol grup olarak görülmektedir. 150m'den alınan örnekte de en baskın tür Clade Ia iken bunu Clade II (11%), Clade Ib (10%) ve AEGEAN-169 marine group (4%) izlemektedir. Benzer bir durum 200m'lik örnekte de görülmektedir. Synechococcus cinsinin sekans varyantına 25m'lik örnekte rastlanmazken diğer derinliklerden alınan örneklerde bolluğu %1'in altındadır. Diğer yandan Prochlorococcus MIT9313 tüm derinliklerde gözlemlenmiştir. Toplanan örneklerden 100m ve 200m'deki örneklerde rölatif bolluğu %1'in altındayken yüzeyde %1,6, 25m'de %2,4, 50m'de % 2,3 50m, ve 150m'de %1,9 olarak görülmüşlerdir.



Şekil 40. Ekim 2016 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan diğer taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir

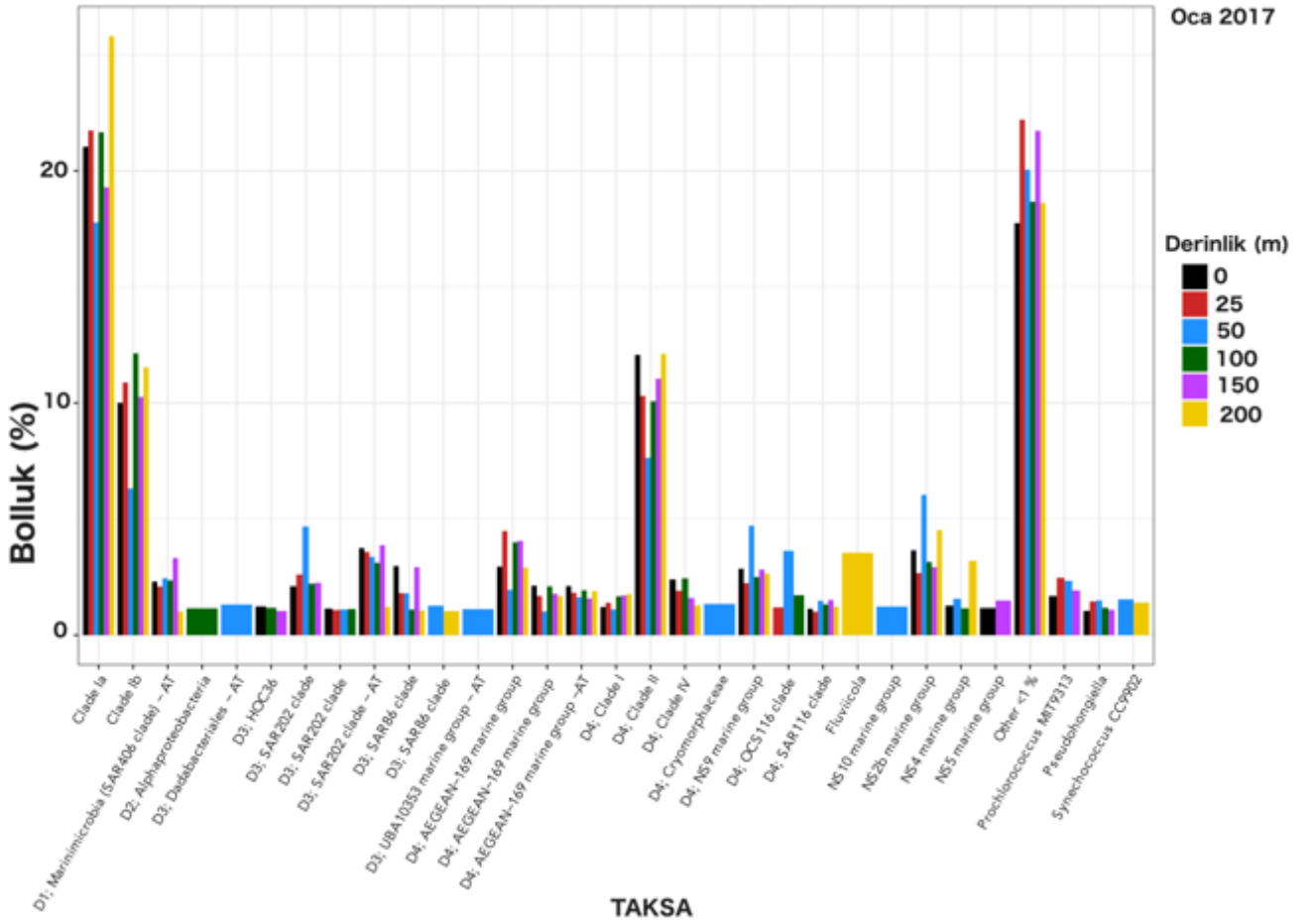


Şekil 41. Kasım 2016 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan diğer taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılmadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir.

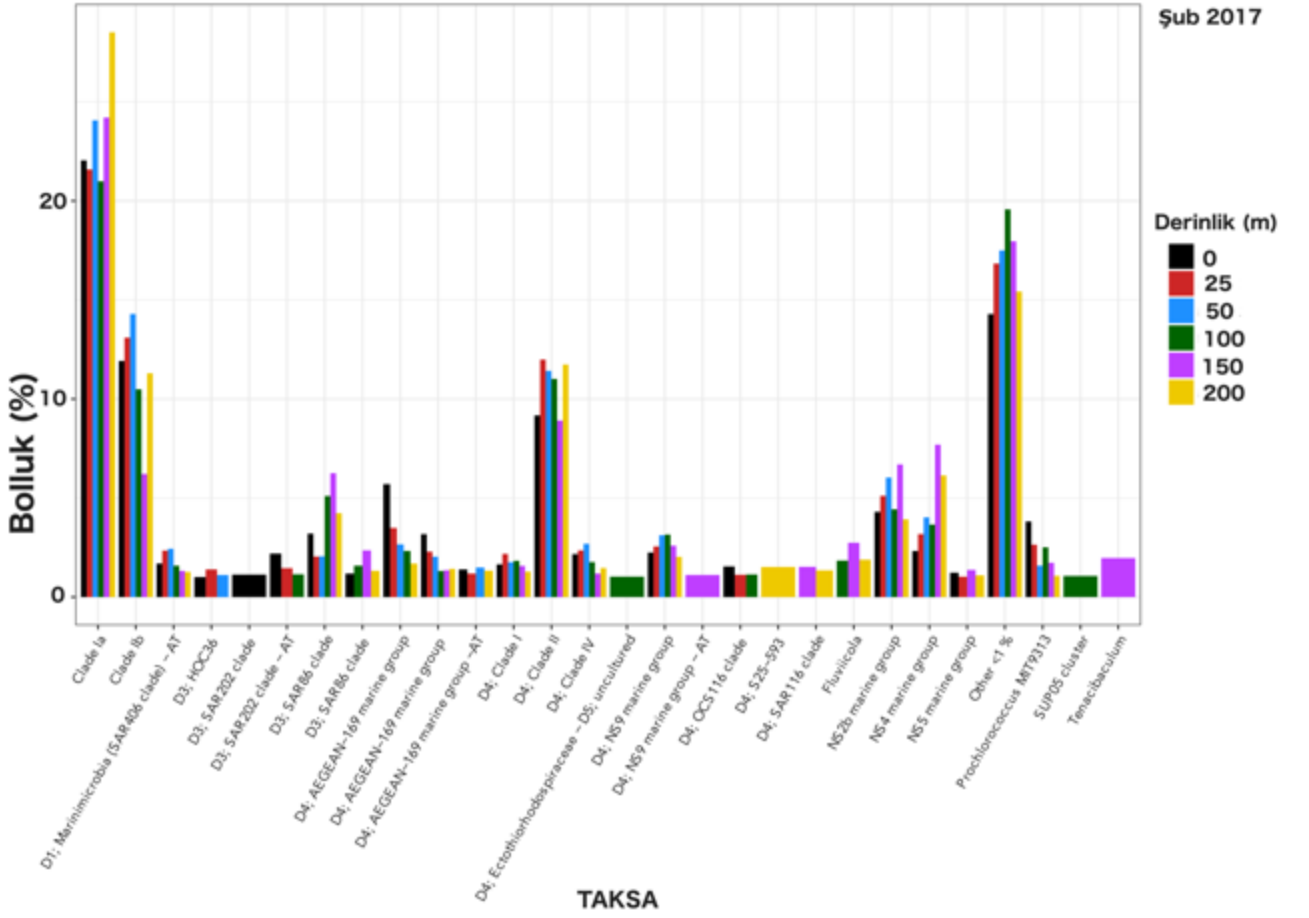
### 3.2.1.5 Şubat 2017

Şubat ayında tüm derinliklerde gözlemlenen toplam taksa sayısı 118'dir. Herbir derinlikte 57 ve 69 arasında farklı taksa gözlenmiştir (0m: 65, 25m: 68, 50m: 57, 100m:73, 150m: 69, 200m: 69 taxa). Clade Ia, ocak ayında da olduğu gibi en baskın gruptur ve komüniteye en çok katkıyı 200m derinlikte göstermektedir. Yüzye Clade Ia'dan sonra Clade Ib (%11,9), Clade II (%9,1) ve AEGEAN-169 marine group (%5,7) en bol taksonlardır. Prochlorococcus MIT9313 ise % 3,5 rölatif bolluk ile NSb2 deniz grubundan (%4,2) sonra gelmektedir. 25m derinlikteki örnekte bulunan ilk 3 dominant taksa yüzey ile aynıdır. Ancak NS2b grubu AEGEAN-169 deniz grubundan daha bol bulunmaktadır. Clade Ia'nın bolluğu, 50m'lik derinlikte Clade Ib %14,2, Clade II %11,4 ve NS2b marine group (6%), NS4 marine group (4%) olarak takip edilmektedir. Clade II, 100m'lik derinlikte %11'lik rölatif bolluk ile ikinci dominant türdür. Aynı zamanda SAR

86 Clade'in bolluğu da %5'e yükselmiştir. 100'lik örnek 73 farklı takson sayısı ile en yüksek çeşitliliğe sahip örnektir. Clade Ia'in Şubat ayı örneklerinde komünitelere yaptığı en büyük katkı 150m örneğinde gözlenmektedir. Diğer yandan Clade II'nin bolluğu ise %8,9'dür. NS4 deniz grubu ve NS2b deniz grubu taksonları en yüksek bolluklarına şubat ayı 150m örneğinde ulaşmışlardır, sırasıyla %7 ve %6. 200m derinlikten alınan örnekte en çok bolluğa sahip ilk iç takson 150m ile aynıdır. Prochlorococcus MIT9313 ve Synechococcus CC9902 tüm derinliklerde gözlemlenmişlerdir. Tüm derinliklerde gözlemlenen Synechococcus CC9902'nin rölatif bolluğu %1'in altındadır. Prochlorococcus MIT9313'ün derinliklerdeki bolluğu ise şöyledir : yüzeyde % 3,8; 25m'de %2,6; 50m'de %1,5; 100m'de %2,5; 150m'de 1,7 ve 200m'de %1.



Şekil 42. Ocak 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir.

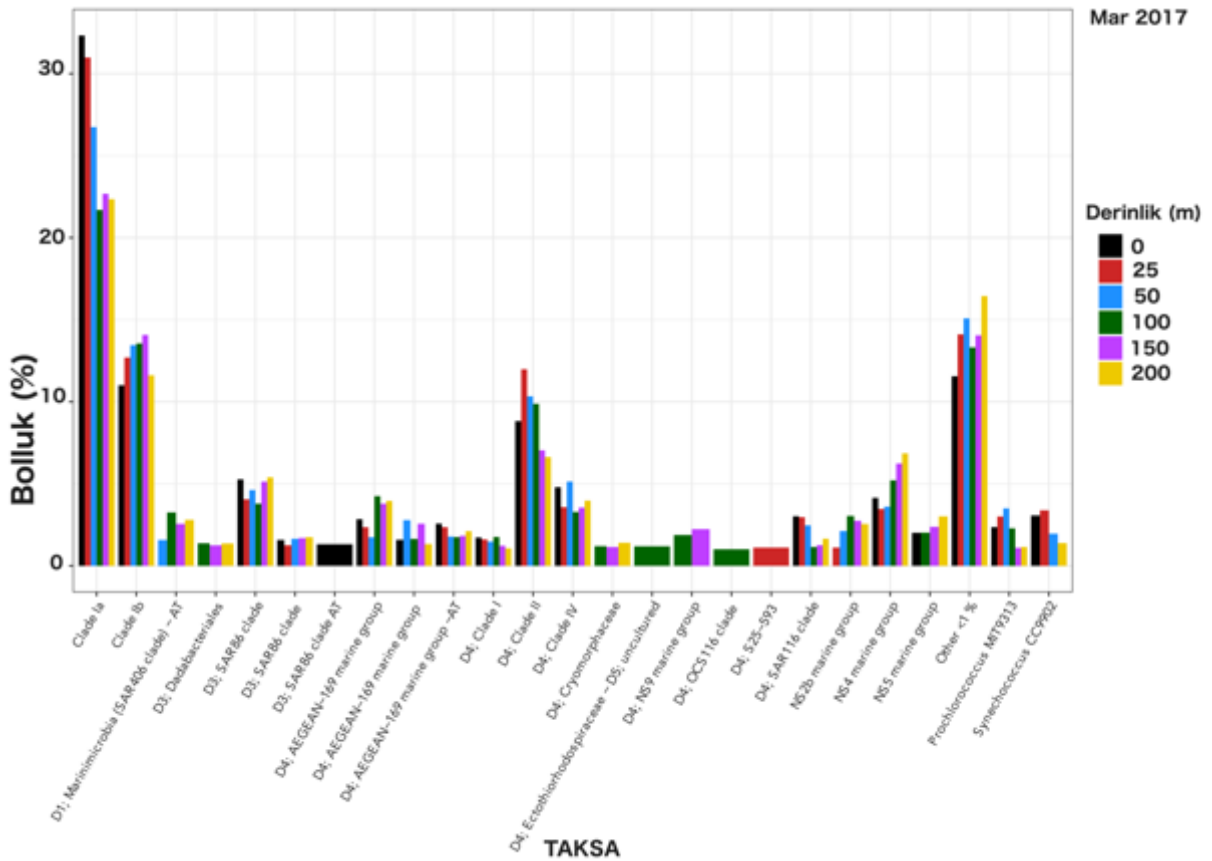


Şekil 43. Şubat 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir.

### 3.2.1.6 Mart 2017

Diğer aylarda görüldüğü gibi Clade Ia tüm su kolonunda en baskın taksa olarak gözlemlenmiştir. Ancak yüzey, 25m ve 50m’lik derinliklerden alınan örneklerde bir önceki aylara kıyasla Clade Ia’nın komünite yapısına katkı payı artmıştır. Daha derin örneklerde ise bu taksanın katkısında azalma gözlemlenmektedir. Toplamda tüm derinliklerde 117 farklı taksa gözlemlenmiştir (0m: 55, 25m: 53, 50m: 50, 100m: 60, 150m: 70, 200m: 69). Bu taksalardan tüm derinliklerde ortak olan 37 adet bulunmaktadır. Yüzeyde Clade Ib %11’lik rölatif bolluk ile ikinci sırada gelirken Clade II (%8,8), SAR 86 (%5,2) ve Clade IV (%5) bu iki taksayı izlemektedir. Bu ay yüzey örneklerinde *Synechococcus* CC9902 (%3)’nin görece bolluğu *Prochlorococcus* MIT 9313 (%2,3)’den çok az bir fark ile daha fazladır. Su kolonu örneklerinden 25m’lik örnekte Clade Ia’nın baskınlığından sonra Clade Ib (%12,6) ve Clade II

(%11,9) yaklaşık olarak benzer bolluğa sahiptirler. Bu grupları bolluk açısından SAR 86 (%4), Clade IV (%3,5), NS4 marine group (%3,4) izlemektedir. Yine 25m'de yüzeyde olduğu gibi *Synechococcus* CC9902 (%3,3)'nin görece bolluğu *Prochlorococcus* MIT 9313 (%3)'den çok az bir fark ile daha fazladır. 50m'den alınan örneğin komünite yapısı Clade Ia'dan sonra şu gruplardan oluşmaktadır: Clade Ib (%13,4), Clade II (%10), Clade IV (%5). Ancak daha yüzeyden alınan örneklerden farklı olarak *Prochlorococcus* MIT 9313 (%3,4)'nin rölatif katkısı and *Synechococcus* CC9902 (%1,9)'nin katkısından daha fazladır. Clade Ib'nin 100m'lik örneğin komünite yapısına katkısı % 13 iken Clade II ise %9,8'lik bir katkı yapmaktadır. *Prochlorococcus*'nun komüniteye yüzde katkısı 2,2 iken *Synechococcus*'un katkısı 5'in altına düşmüştür. 150 ve 200m'lik örneklerin komünite yapı özellikleri 100m'lik örnek ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 44. Mart 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir.

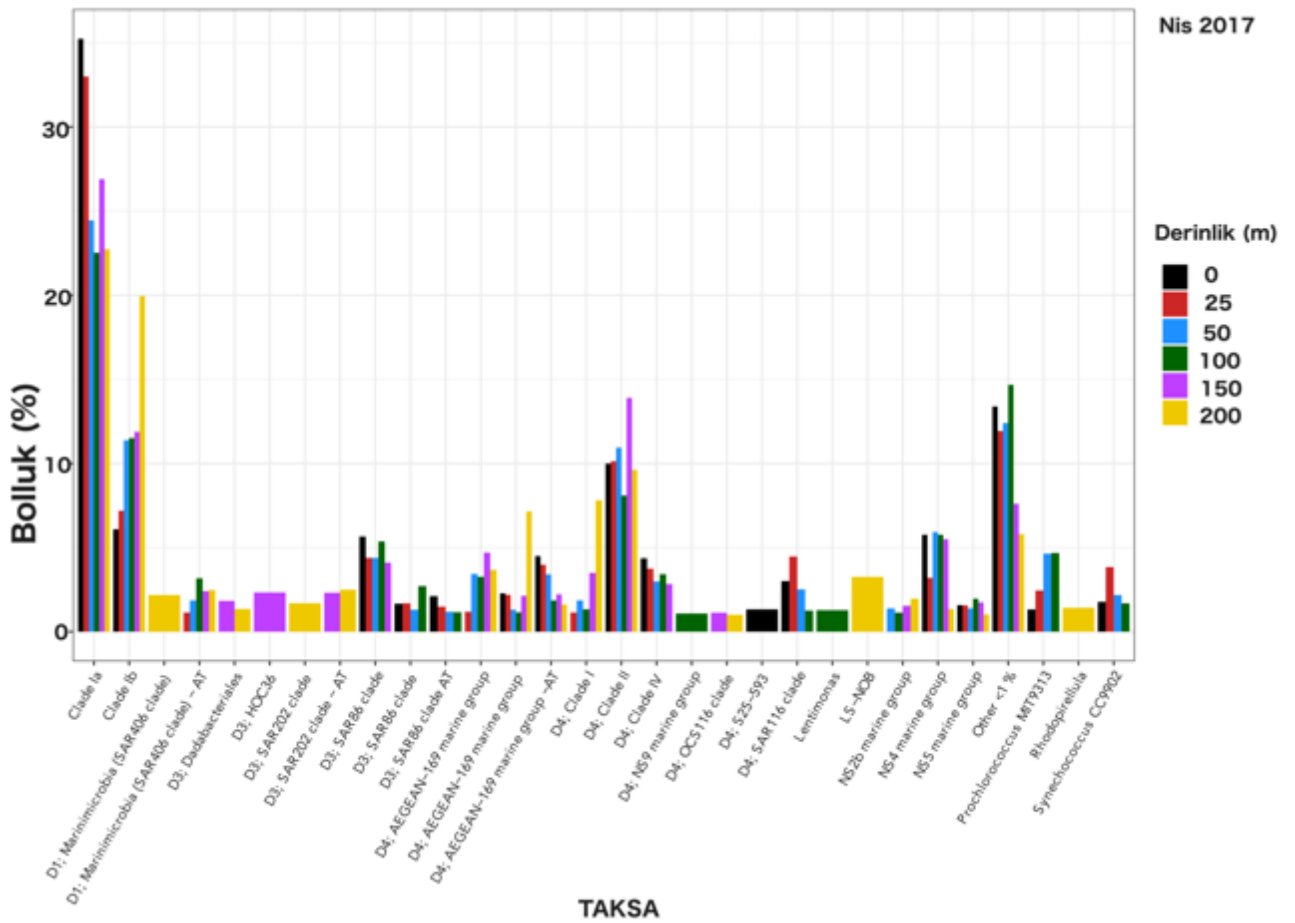
### 3.2.1.7 Nisan 2017

Diğer aylarda da görüldüğü gibi nisan ayı örneklerinde de en baskın grup Clade Ia'dır. Tüm örnekler dikkate alındığında toplamda 117 adet farklı taksa gözlemlenmiştir ve bunlardan sadece 14 adedi tüm örneklerde ortaktır. Ortak gözlemlenen taksalar arasında Clade Ia, Clade Ib, NS4 deniz grubu, Clade II, SAR 86, NS5 deniz grubu, AEGEAN-169 deniz grubu – AT 'nin yüzde bollukları %1'in üzerindedir. Her bir örnekte gözlemlenen taksaların sayısı şu şekildedir; 0m: 49, 25m: 53, 50m: 57, 100m: 69, 150m: 34, 200m: 29. Yüzey örneğinde rölatif bolluğu %35'lere ulaşan Clade Ia dışında Clade Ib (%6), NS4 marine group (%5,7), SAR 86 clade (%5,6)'de komünite yapısına katkı sağlamaktadır. Yüzeyde, çok az bir farkla *Synechococcus* CC9902'un rölatif bolluğunun (%1,7) *Prochlorococcus* MIT9313'den (%1,3) fazla olarak gözlemlenmiştir. Örneklerden 25m'lik derinlikten alınanda komünite yapısı şu şekildedir: Clade Ia (%31), Clade II (%10,1), Clade Ib (%7,1) and SAR 116 clade (%4,4). Bu derinlikte *Synechococcus* CC9902'nin katkısı (%3,8), *Prochlorococcus* MIT 9313 (%2,4)'de olduğu gibi artmıştır. Su kolonundaki örnekleme yapılan diğer derinlik olan 50m'de ise Clade Ib ve Clade II yaklaşık olarak benzer rölatif katkı göstermektedir (sırayla %11,3 ve %10,9). Yüzey derinliklerinin tersine 50m'de *Prochlorococcus* MIT 9313, *Synechococcus* CC9902'den daha bol bulunmaktadır, bolluklar sırasıyla %4,63 ve %2,1. 100m derinlikten alınan örnekte komünite yapısı Clade Ia'yı takiben sırasıyla şu şekildedir: Clade Ib (%11), Clade II (%8), NS4 marine group ve Sar 86 clade (%5) ve *Prochlorococcus* MIT9313 (%4,67). Diğer yandan *Synechococcus* CC9902 ise sadece %1,6 rölatif bolluğa sahiptir. Siyanobakteri sekans varyantlarından hiçbirine 150 ve 200 metre örneklerinde rastlanmamıştır. 150m'lik örnekte Clade Ia'nın baskınlığı Clade II (%13,8), Clade Ib (%11,8), NS4 marine group (%5) pursue as the dominant taxon and AEGEAN-169 marine group (%4,6) and SAR 86 clade (%4,1) grupları tarafından takip edilmektedir. Clade Ib, 200m'lik örnekte %19,9'lük rölatfi bolluk ile neredeyse Clade Ia kadar baskındır. Nitrospinaceae'ye ait olan LS-NOB sadece 200m'lik komünitede gözlemlenmiş ve rölatif bolluğu ise %3,6 olarak tespit edilmiştir.

### 3.2.1.8 Mayıs 2017

Tüm su kolonu boyunca alınan örneklerde toplamda 74 farklı taksa gözlemlenmiştir. Bunların sadece 8 tanesi ortak iken 23 örnek sadece bir örnekte gözlemlenmiştir. Ortak gruplardan rölatif bolluğu 5'in üzerinde olan gruplar şunlardır: Clade Ia, Clade Ib, SAR406 Clade – AT, SAR 86 clade, Clade II. Her bir derinlikte gözlemlenmiş taksa sayıları şöyledir; yüzeyde 29, 25m'de 36, 50m'de 35, 100m'de 30, 150m'de 41 ve 200m'de 30. Clade Ia'nın rölatif bolluğu %32 ile en yüksek paya sahip olduğu örnek mayıs ayından alınan yüzey örneğidir. Yüzey örneğinde bolluk sıralamasını takip eden taksalar ise şöyledir: , Clade II (%10), AEGEAN-169 marine group – AT (%7,8), NS4 marine group (%7). Siyanobakteri filumundan gözlemlenen

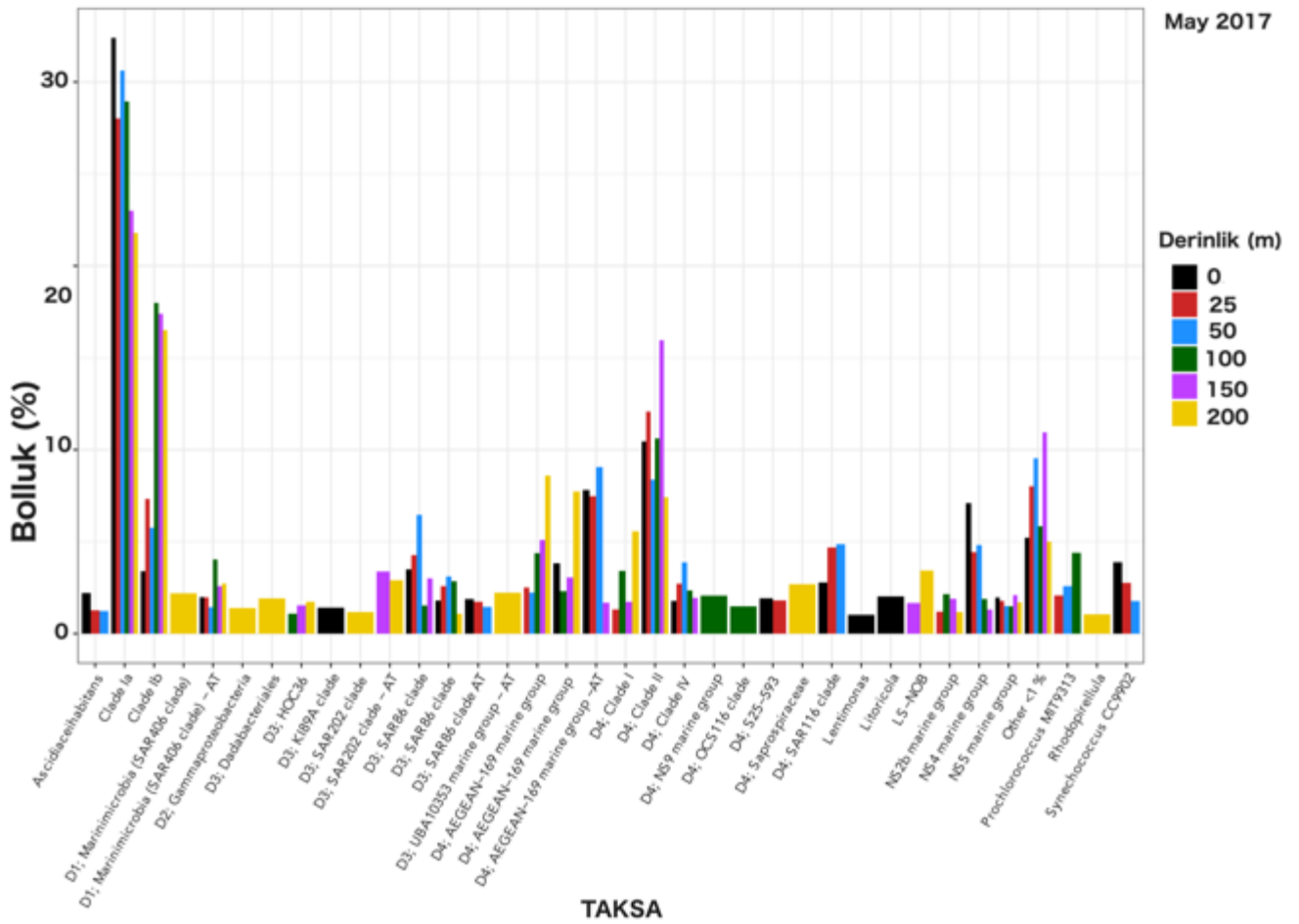
tek cins olan *Synechococcus* CC 9902'nin bolluk oranı %3,8'dir. 25m'lik örnekte ise *Prochlorococcus* MIT9313 sekansları gözlemlenmiş ve bollukları %2 oranında iken *Synechococcus* CC 9902'nin bolluk oranı 25m'de %2,7'dir. Clade Ib rölatif bolluk açısından Clade Ia'yı %17,9'luk bolluk ile takip ederken Clade II % 12 ve AEGEAN-169 marine group – AT %7,4 bolluk oranına sahiptir. 50m derinlikte ise daha sığ sularda olanın aksine *Prochlorococcus* MIT 9313 sekansları daha fazla oranda bulunmaktadır. 100m'derinlikte Clade Ib ve Clade II ikinci ve üçüncü baskın gruptur. 150m derinlikte Siyanobakterilere ait herhangi bir sekansa rastlanmamıştır. En derin örnekleme derinliği olan 200m'de Clade Ib ve AEGEAN-169 marine group sırasıyla %16 ve %8'lik rölatif bolluk ile ikinci ve üçüncü dominant takadirlar.



Şekil 45. Nisan 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir.

### 3.2.1.9 Haziran 2017

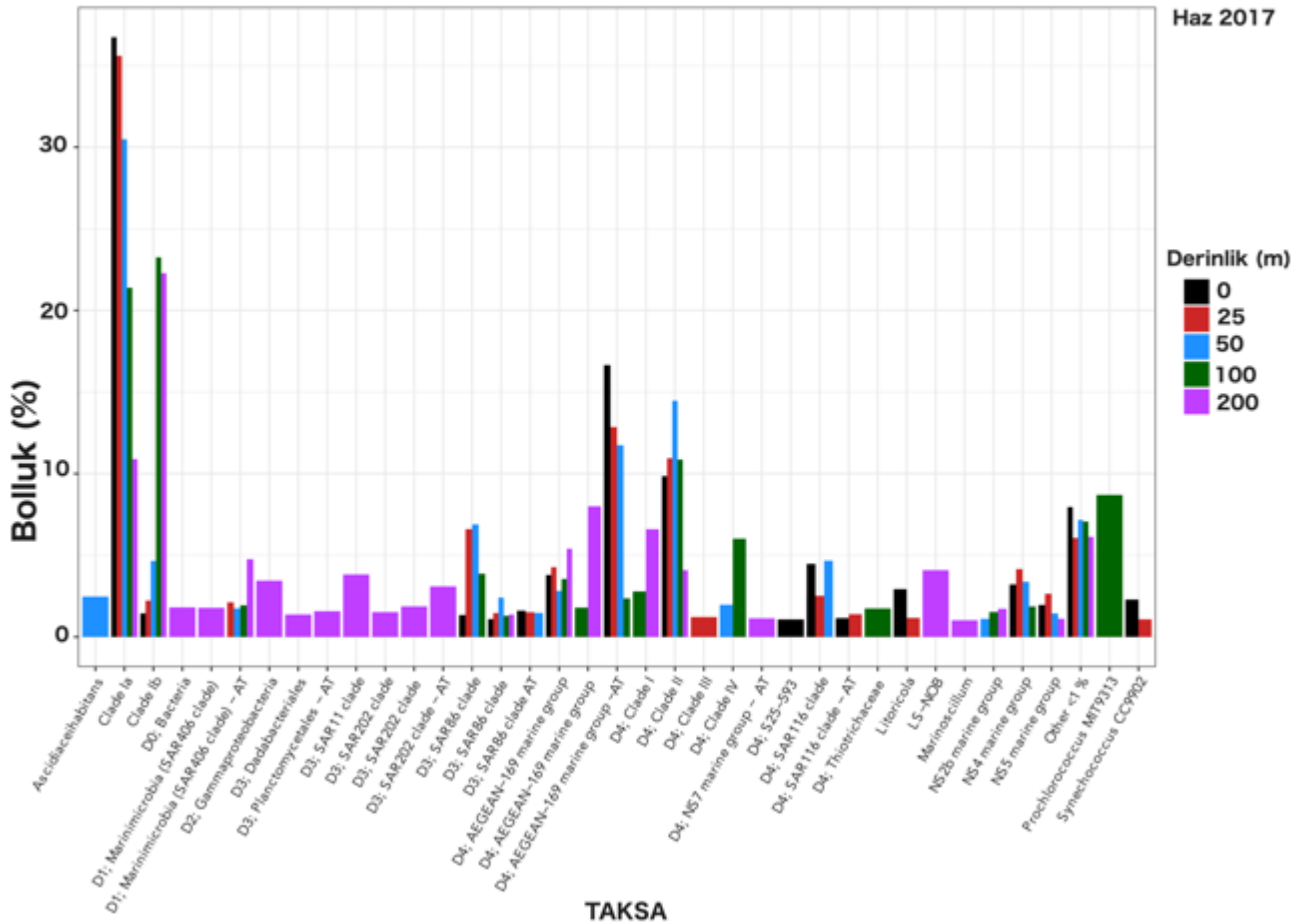
Haziran ayındaki örneklerde toplamda 72 farklı taksa gözlemlenmiştir. En çok takcaya 200m'deki örnek sahip iken diğer derinliklerde ise şöyledir: yüzeyde 31, 25m'de 30, 50m'de 29, 100m'de 27 ve 200m'de 35. Tüm derinliklerde sadece 7 taksa ortak olarak gözlemlenmiştir. Ortak takcılar şunlardır: Clade Ia, Clade II, AEGEAN marine group, NS5 marine group, Clade Ib, SAR86 ve Marinimicrobia (SAR202 clade). Haziran ayı örnekleme diğer aylardan farklı olarak tüm derinliklerde Clade Ia'nın baskınlığı söz konusu değildir. İlk 50m'den alınan örneklerde Clade Ia dominant iken 100 ve 200m'lik örneklerde (150m'lik örneğe ait veri yoktur) Clade Ib dominanttır.



Şekil 46. Mayıs 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir



Yüzeyde ikinci en baskın grup %16'lık pay ile AGEAN marine group iken üçüncü en baskın grup ise Clade II'dir (%9,8). Yüzeyde Prochlorococcus'a rastlanmazken Synechococcus CC9902'nin rölatif bolluğu %2,2'dir. Oxyphotobacteria'nın rölatif bolluğu ise %1'den daha azdır. Yüzeydeki örnek gibi ilk 3 baskın grup 25m'lik örnekte de aynıdır. Synechococcus CC9902'nin görece bolluğu ise sadece %1'dir. AEGEAN-169 deniz grubu - AT , 50 m derinlikli toplulukta Clade Ia (% 30) ve sonrasında Clade II (%14 )' yi % 11 gibi yüksek oranlık bolluk ile takip etmektedir. Uncultured SAR 116, % 4,6'lık bir orana sahip olarak SAR 86'yı (% 6,8) takip ediyordu. İlk 25m'lik örneklerde bulunmayan Prochlorococcus MIT 9313 50 m'de ortaya çıkmış, ancak topluluğun sadece% 0,8'ini temsil etmektedir. Genus Prochlorococcus, 100m derinlikteki bolluğun% 8,6'sı ile 4. dominant takson olup, yakın akrabası olan Synechococcus CC 9902, sadece% 0,6 oranında bolluğa sahiptir. 200 m derinlikli toplumda, gözlemlenen 22 taksa sadece 200m derinlikte görülmüş ve siyanobakteriyel sekansları tespit edilmemiştir. Clade Ib (% 22), ilk 50m derinlik örneklerinin aksine, Clade Ia'dan (% 10) daha baskındı. Diğer dominant taksaların oranı % 8 ve % 6,5 ile AEGEAN-169 deniz grubu ve Clade I'dir.

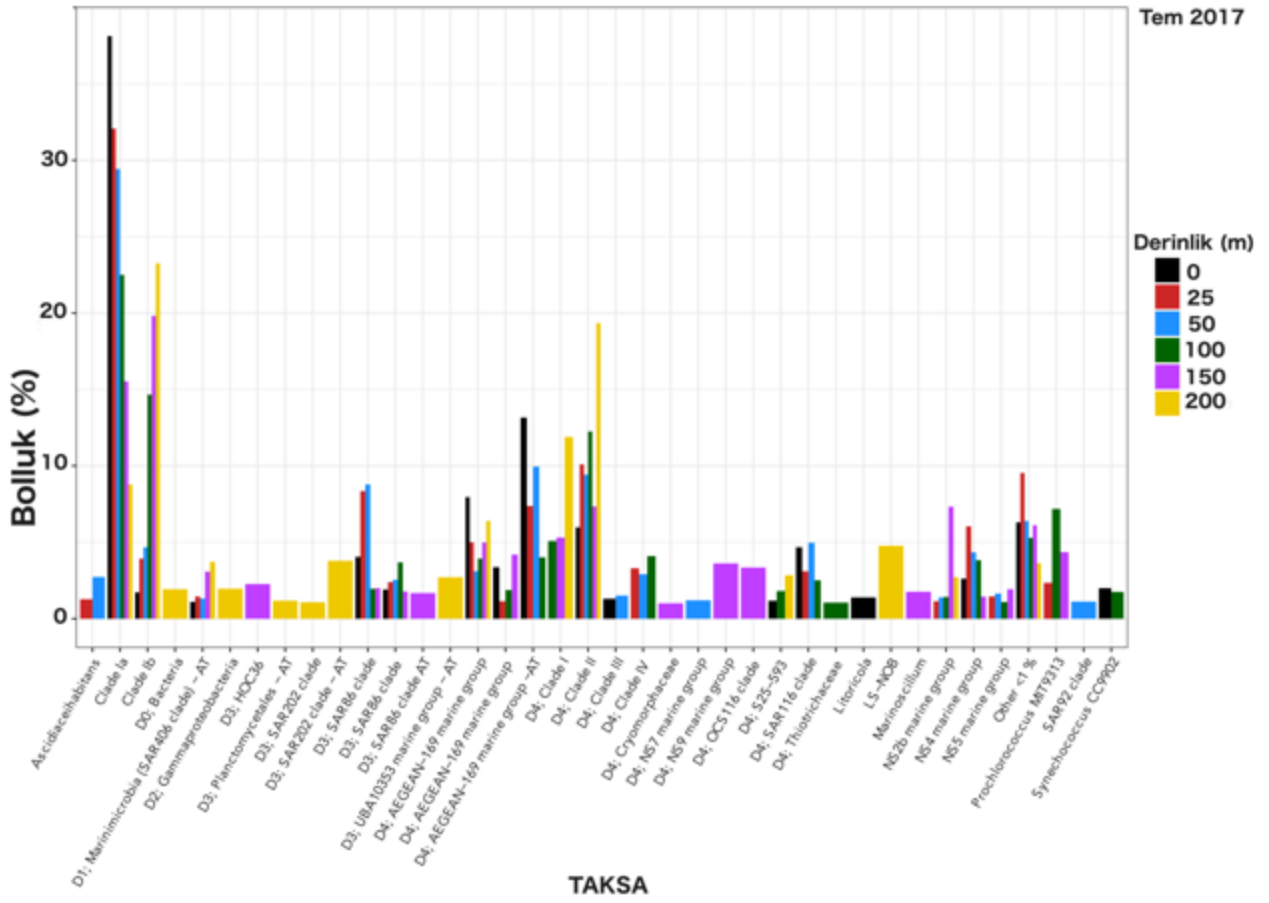


Şekil 47. Haziran 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. "Other < 1%" olan gösterim yüzde bolluğu 1'den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür

düzeyinde tanımlama yapılmadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, 'Ambiguous Taxa' anlamındaki belirsiz taksa'yı göstermektedir.

### 3.2.1.10 Temmuz 2017

Tabakalaşma arttığında, örneklenen tüm topluluklar arasında gözlemlenen toplam ortak takson sayısı 5 taksona düşmüştür. Tüm derinliklerde Clade Ia, Clade Ib, Clade II, SAR 86 ve AEGEAN -169 deniz grubu ortak taksonlardır. Böylece, gözlemlenen farklı takson sayısı 75'e kadardır. Su sıcaklığının 29,6 C dereceye ulaştığı yüzeyde en yüksek paya sahip olan Clade Ia % 38 bolluğa sahip iken bunu AEGEAN-169 deniz grubu - AT (% 13) ve AEGEAN-169 deniz grubu izlemektedir (%7,9). Synechococcus CC 9902, yüzey topluluğunun sadece% 1,9'unu kapsarken gözlemlenen Siyanobakteri sekansıdır. 25 m derinlikteki topluluğun % 32 nispi bolluk ile Clade Ia, Clade II (% 10), SAR 86 (% 8), AEGEAN-169 deniz grubu - AT (% 7) ve NS4 deniz grubu ise %6 ile temsil edilmiştir. Synechococcus CC9902 25m derinlikte bulunmaz iken sadece % 2,3 nispi bollukla Prochlorococcus MIT 9313 gözlemlenmiştir. Alfaproteobacteria ve Fluviicola'ya ait kültürsüz deniz bakterileri sadece Temmuz ayında ve 50m'lik örnekte gözlenmiştir. AEGEAN-169 deniz grubu - AT (% 9,9) ve Clade II (% 9,4), Clade Ia'dan (% 29) sonraki dominant gruplardır. 100m'lik örnekteki ilk üç baskın takson; Clade Ia (% 22), Clade Ib (% 14) ve Clade II (% 12)'dir. Prochlorococcus MIT9313, tüm örnekleme derinliklerinde en yüksek katkısı (%7) ile 100m derinlikteki dördüncü bol takson olarak gözlemlendi. Örneklerden 150m'derinlikten alınan örnekte Clade Ia (%15,5), önceki derinliklere kıyasla, Clade Ib'den sonra (topluluğun % 19'unu kapsayan) gelen baskın taksondur. Ancak, 150 m derinlikli topluluktaki Prochlorococcus oranı 100m derinlikli örnek kadar yüksek değildir, fakat bolluğun% 4'ü kadar yüksektir. Clade Ia'nın Frekansı, 200m derinlikte en yüksek orantıya sahip olan taksa değildir, daha ziyade bolluk sıralamasında dördüncü sıradadır. 200 m derinlikte baskınlık sıralaması şöyledir: Clade Ib (% 23), Clade II (% 19), Clade I (% 11,8) ve AEGEAN-169 deniz grubu (% 6). 200m derinlikli toplulukta sekanslanan herhangi bir Siyanobakteri dizisi yoktur.

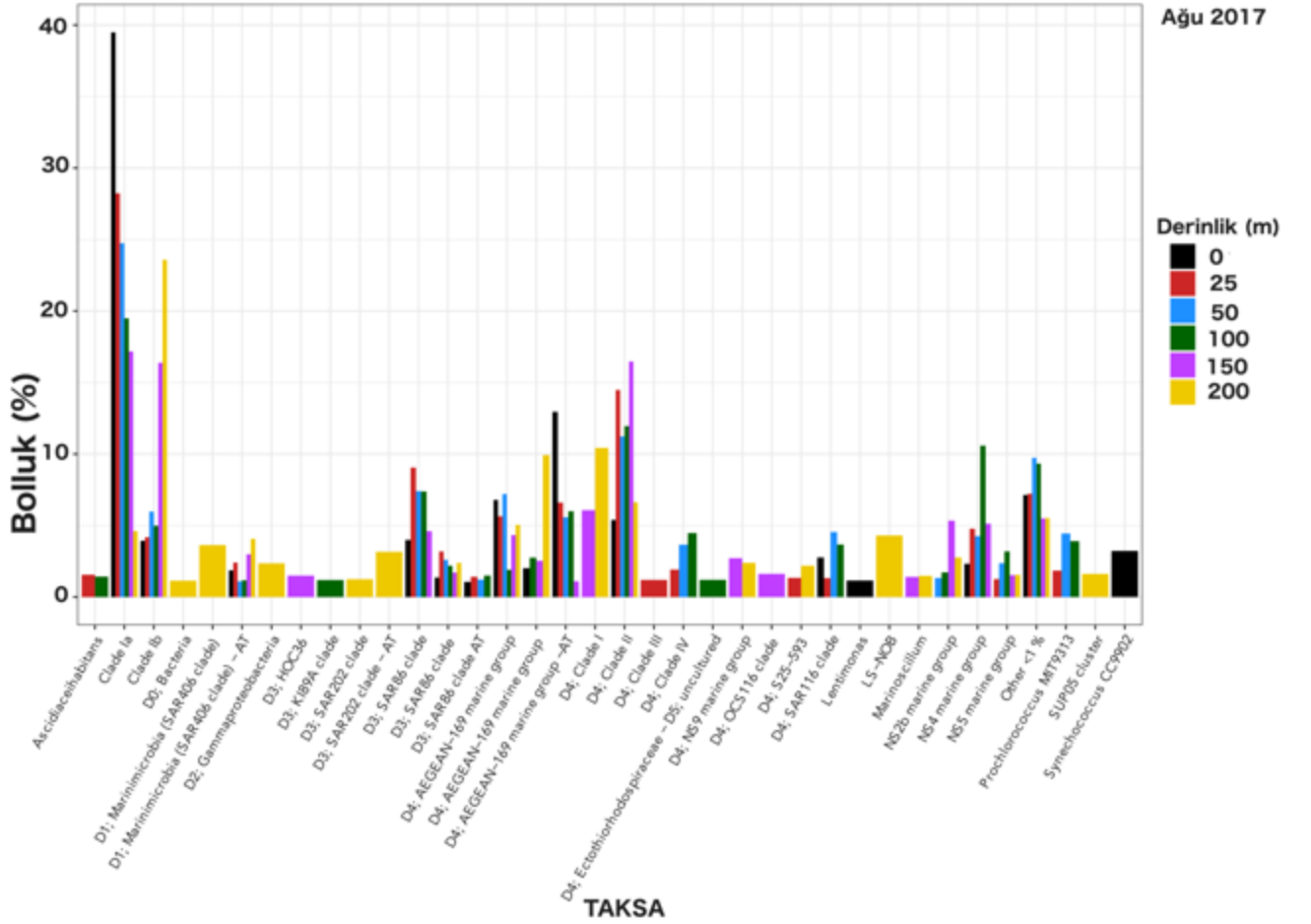


Şekil 48. Temmuz 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılamadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir.

### 3.2.1.11 Ağustos 2017

Ağustos ayında toplamda 78 farklı taksa gözlemlenmiş ve bunlardan sadece 6 tanesi ortak olarak örneklerde gözlemlenmiştir. Ortak taksonlar şöyle olmuştur: Clade Ia, Clade Ib, Clade II, AGEAN-169 grup, NS2b deniz grubu ve Marinimicrobia (SAR406 clade - AT). Diğer yaz aylarında olduğu gibi, Clade Ia, her derinlikte bulunan en baskın takson değildir. 200 m derinlikteki topluluk, Clade Ib'nin % 23'lük baskınlığı ile oluşurken, ancak Clade Ia sadece % 4,6'lık bir paya sahipti. 200 metre derinlikli toplulukta, Clade I (% 10) ve AEGEAN-169 deniz grubu (% 9,9) ikincil bol taksonlardır. 200m’de herhangi bir Siyanobakteri sekansına rastlanmamıştır. Gözlenen farklı takson sayısı, 150m derinliğinde 30’dur ve dominant gruplar arasında takson olarak Clade Ia (% 17), Clade Ib (% 16) ve Clade I (% 6) mevcuttu. 200 m derinlikte ikinci sıraya sahip olan Clade I'in nispi bolluğu, 150 m derinlikte sadece %6

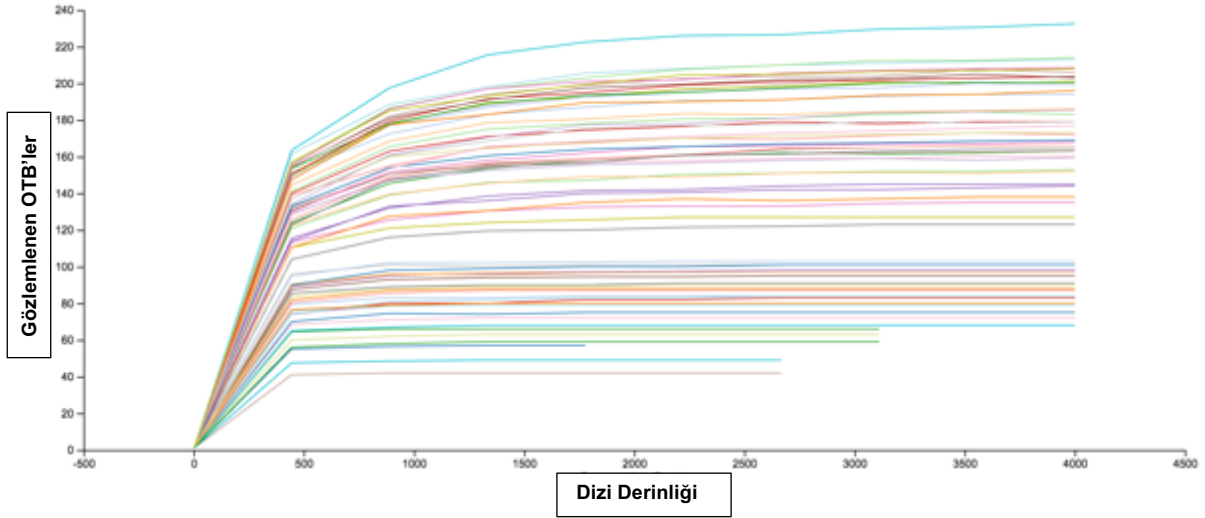
oranında gözlemlenmiştir. 200m derinlikte olduğu gibi, 150m derinlikte siyanobakteri temsil eden hiçbir dizi yoktur. Clade II, NS4 deniz grubu (100m derinlikteki en yüksek bolluk) ve SAR 86 clade, 100 m derinlikte baskın olarak Clade Ia'yı takip etmişlerdir. Prochlorococcus MIT 9313, göreceli olarak yüzde 3,9 oranında mevcuttur ve Synechococcus CC9902, 100m derinlikli toplulukta sadece % 0,39'luk payla temsil edilmektedirler. Taksalardan Clade Ia (% 24), Clade II (% 11), SAR 86 clade (% 7) ve AEGEAN-169 deniz grubu (% 7), Clade Ib (% 5,9), aynı zamanda 50 m derinlikli örneğin komünitesinde de büyük bir bolluğu temsil etmiştir. Prochlorococcus MIT9313, %4,4 oranında nispi bollukta 50 m'de Siyanobakterilere ait gözlenen tek gruptu, ancak 25 m derinliğinde temsil oranı daha düşük (% 1,8) idi ve yüzeyde gözlemlenmemişlerdir. Yüzeyde, Synechococcus CC 9902 nispeten yüksek (% 3,2) payla mevcuttur. Clade II, 25m derinlikli toplulukta ikinci baskın gruptur, ancak yüzeydeki dördüncü baskın grup oldu.



Şekil 49. Ağustos 2017 örneklerindeki taksonomi gruplarının derinliğe göre değişimi. “Other < 1%” olan gösterim yüzde bolluğu 1’den daha az olan taksonları göstermektedir. Eğer tür düzeyinde tanımlama yapılmadıysa bir üst seviyedeki isim kullanılmıştır ve taksonomik seviyesi belirtilmiştir ve Silva veri tabanının gösterimleri baz alınmıştır (ör. D1). AT, ‘Ambiguous Taxa’ anlamındaki belirsiz taksa’yı göstermektedir.

### 3.2.2 Örnekler arası ve Örneklerin kendi içindeki Biyoçeşitlilik

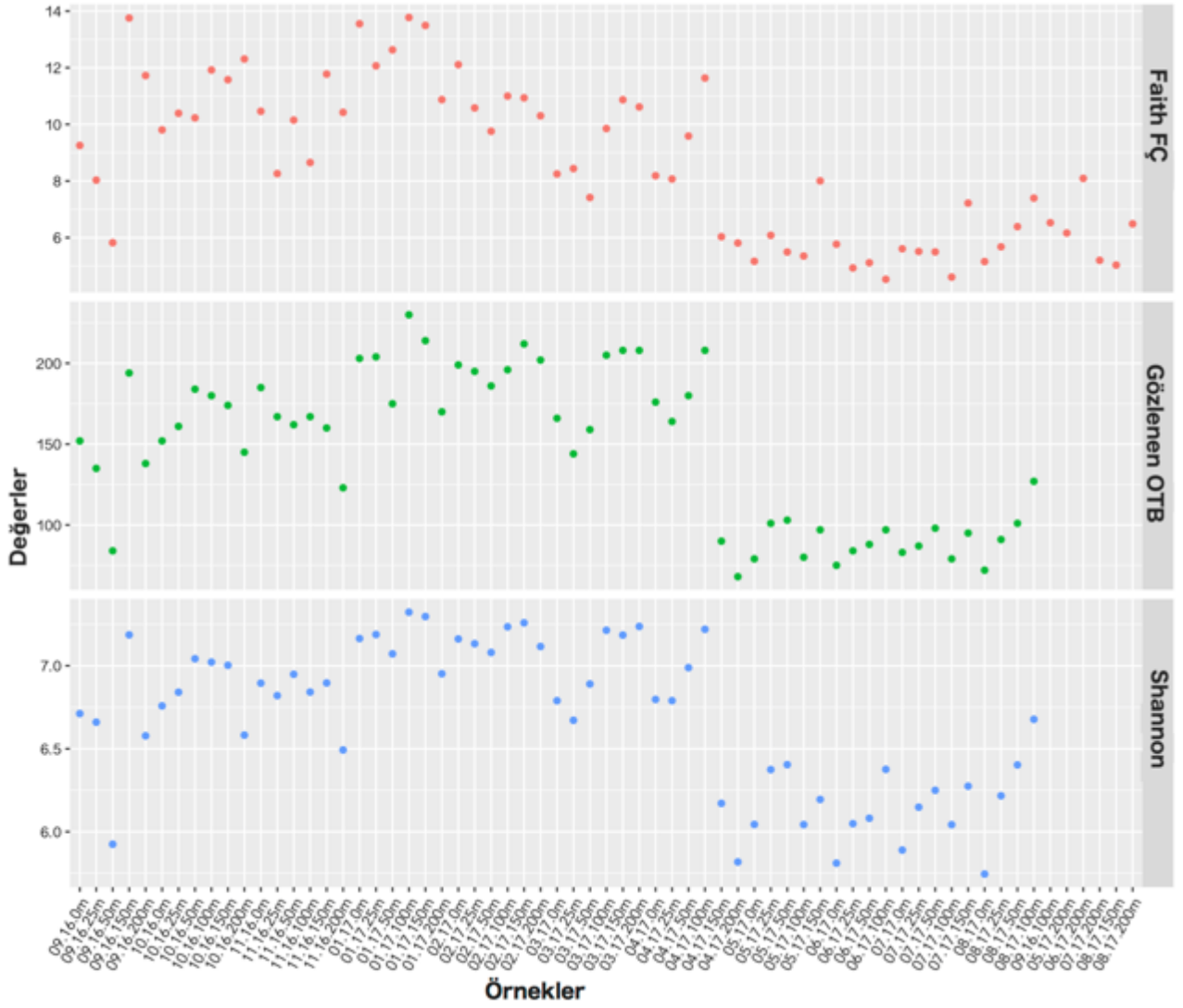
Ekolojik çalışmaların yanıtlamaya çalıştığı önemli sorulardan biride, gözlemlenen topluluğun ne kadar çeşitli olduğu ve bu çeşitliliğin nasıl değişim gösterdiğidir. Alfa (örnek içinde) ve beta (örnekler arasında) çeşitlilik analizleri bu soruları cevaplamak için yürütülmüştür. Örnekleme yönteminin ve seçilen sekanslama derinliğinin biyolojik zenginliği tam olarak yansıtmadığını belirlemek için alfa çeşitliliğinin (OTB’ler) “rarefaction” analizleri yapılmıştır (Şekil 50). Her bir örneğe ait OTB’lerin sayısı sekans derinliğine göre çizildiğinde eğer eğimleri sıfıra yaklaşıyorsa bu örnekleme miktarının ve sekanslama derinliğinin örnekteki tüm OTB’leri yansıttığı anlamına gelir. Daha yüksek sekans derinliği seçmenin veya örnekleme derinliğinin ötesinde daha fazla deniz suyunu örneklemenin ek özelliklerin gözlemlenmesine yol açmayacağını önerir.



Şekil 50. Alfa çeşitlilik (gözlemlenen OTBler) rarefaksiyon çizimi.

Çeşitlilik indeksleri farklı örnekleme derinliklerine duyarlı olduğundan, her bir örnek en az 4000 dizi içerecek şekilde alt örnekleme yapılmıştır. Toplamda, 65 örnekten 4000'den fazla diziye sahip olan 59 numune daha analiz edilmiştir. Örneğin, Nisan ayında örneklenen yüzey suyu komünitesi 13,652 olarak en yüksek sayıda diziye sahiptir, ancak Eylül ayında 100m derinlikli örnek toplam 2,060 diziye sahiptir. Böylece Eylül ayı örneği analizden çıkarılmıştır.

Tüm yıl boyunca farklı derinliklerden alınan örnekler dikkate alındığında her üç alfa çeşitlilik indeksi (Faiths PD, Shannon ve Observed OTUs – Şekil 51) de aynı trendleri göstermektedir. Özellikle yaz aylarında toplanan örneklerdeki çeşitlilik diğer aylara oranla çok daha düşüktür.

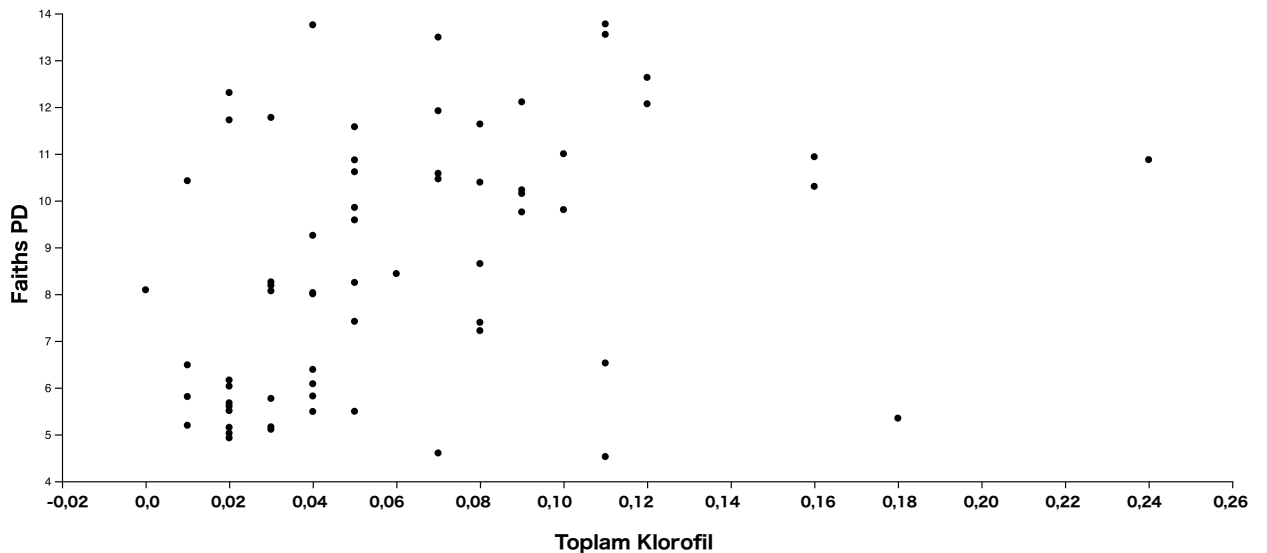


Şekil 51. Üç farklı alfa çeşitlilik ölçütünün örneklerdeki değişimi: Faiths PD (filogenetik çeşitliliğini hesaplar), filogenetik olmayan Shannon indeksi ve OTU'ların gözlemlenen sayısı. Örnek isimleri ay.yıl.derinlik olarak kodlanmış ve örnekleme dönemi sırasına göre verilmiştir.

Mayıs ayından Ağustos ayları arasında Faiths PD (örnekte bulunan türlere ait filogenetik ağaç oluşturularak hesaplanır ve dalların toplam uzunluğunu gösterir) tüm derinlikler dikkate alındığında diğer sezonlara göre daha düşük değerler gözlemlenmiştir (Şekil 51). Yaz aylarında çeşitliliğin diğer sezonlara oranla çok daha düşük olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca bir diğer çeşitlilik indeksi olan Shannon indeksi de aynı dönemde düşük kalmıştır. Ayrıca mikrobiyal ekoloji çalışmalarından sıklıkla kullanılan örnekteki gözlemlenen operasyonel taxonomik birim sayısını veren 'gözlemlenen OTB' sayıları da yaz aylarında azalma göstermektedir. Mayıs ve Ağustos ayları arasında toplanan örneklerin derinlikleri de dikkate alındığından özellikle yüzey suyundan alınan örneklerdeki çeşitliliğin diğer derinliklere oranla çok daha düşük olduğu gözlemlenmektedir.

Ocak ayı 100m örneği ve Eylül ayı 150 m örneği filogenetik ağaç uzunlukları dikkate alındığında çeşitliliğin en yüksek olduğu örneklerdir. Bu örneklerdeki OTB sayıları ise sırası ile 230 ve 194 olarak gözlemlenmiştir. Ocak 100m örneği aynı zamanda Shannon indeksi açısından da en yüksek çeşitliliği göstermektedir.

Filogenetik çeşitliliğin hangi fiziko-kimyasal değişken ile değişim gösterdiğini anlamak için ayrıca Spearman korelasyonuna bakılmıştır. Pozitif korelasyon gözlemlenen değişkenler: görünür oksijen kullanımı ( $r_s = 0,3397$ ,  $n = 59$ ,  $p = 0,0085$ ) ve toplam klorofil ( $r_s = 0,3403$ ,  $n = 65$ ,  $p = 0,0055$ ) (Şekil 52). Bu değişkenlerdeki artış çeşitliliğin artışına sebep olmaktadır. Çeşitlilik indeksinde negatif yönde etki yapan değişkenler ise şöyledir: tuzluluk ( $r_s = -0,2667$ ,  $n = 59$ ,  $p = 0,0411$ ), nitrit ( $r_s = -0,2466$ ,  $n = 65$ ,  $p = 0,0477$ ), toplam çözünmüş fosfat ( $r_s = -0,3509$ ,  $n = 65$ ,  $p = 0,0042$ ), toplam fosfat ( $r_s = -0,3145$ ,  $n = 65$ ,  $p = 0,0107$ ), toplam fitoplankton hücre sayısı ( $r_s = -0,3549$ ,  $n = 65$ ,  $p = 0,0037$ ), çözünmüş organik fosfat ( $r_s = -0,3741$ ,  $n = 65$ ,  $p = 0,0021$ ). Negatif korelasyon gösteren fiziksel ve kimyasal değişkenler dikkate alındığında bu değişkenlerin neden negatif yönde etki gösterdikleri doğrudan yorumlanamamaktadır. Bunun başlıca sebebi bu değişkenlerdeki değişimin birçok farklı etkileşim sonucu ortaya çıkmasındandır. Görünür oksijen kullanımı değerindeki artış oksijenin kullanımının arttığı ortamda bulunan oksijenin kullanımının arttığı bir göstergesidir. GOK değeri ile bakteriyel komünitedeki çeşitlilikte gözlemlenen pozitif korelasyon oksijen kullanımının heterotrofik bakteri çeşitliliğindeki artışın bir sonucu olarak yorumlanması gerekmektedir. Oksijen kullanımındaki artış bakteriyel aktivitenin bir sonucudur.



Şekil 52. Faiths PD indeksi ve toplam klorofil değerlerinin dağılımı

Kruskal-Wallis ikili karşılaştırma testi kullanılarak biyoçeşitlilik indekslerindeki değişimin sezonlar arasında anlamlı bir farklılık gösterip göstermediği test edilmiştir. Shannon çeşitlilik

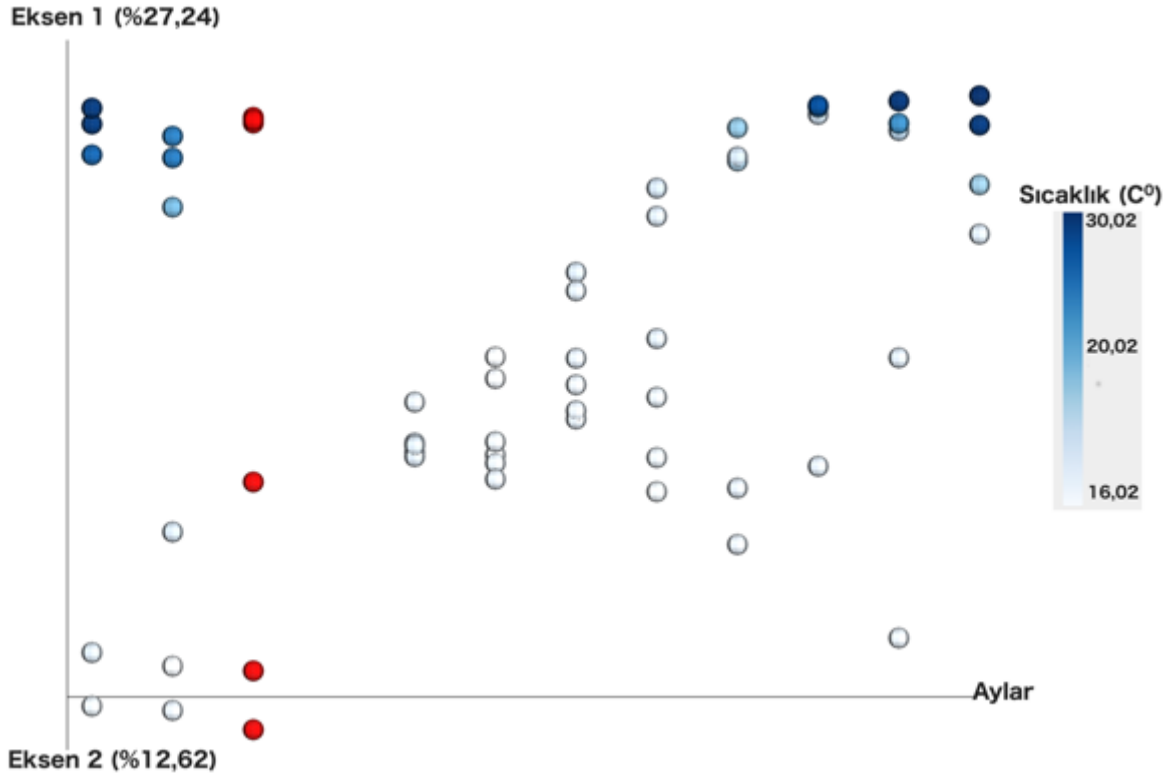


İndeksine göre sonbahar ve ilkbahar mevsimlerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmezken diğer sezonlar arasındaki çeşitlilik birbirlerinden farklılık göstermektedir. İlkbahar ve sonbahar sezonlarında su kolonu özellikleri birbirine benzerlik gösterdiğinden filogenetik farklılıkları gözlemleyen Shannon indeksi bu sezonlardaki çeşitliliğin birbirinden farklı olmadığını göstermektedir. Ancak Faiths PD çeşitlilik indeksi dikkate alındığında tüm sezonlara ait çeşitliliğin birbirlerinden anlamlı bir şekilde farklı olduğu açıkça görülmüştür.

### 3.2.3 Örnekler arası (Beta) Çeşitlilik

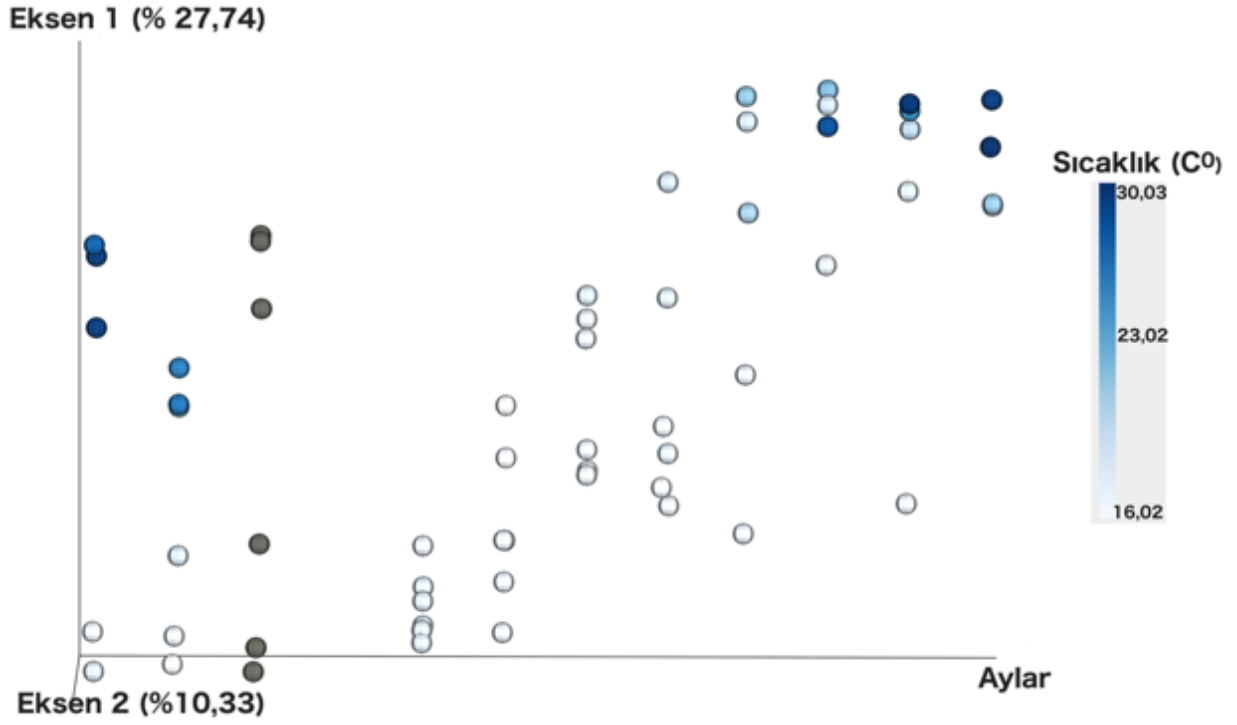
Örnekler arasındaki benzerliğin araştırılması için farklı benzerlik indeksleri temel koordinat analizi (Principle coordinate analysis- PCoA) kullanılarak koordinat düzlemine yerleştirilerek görselleştirilmiştir.

İki örnek (alan) arasındaki benzersizliği hesaplamak için Bray-Curtis benzersizlik indeksi hesaplanmıştır. Bu indeks her bir alandaki sayımlar baz alınarak yapılmaktadır. PCoA sonuçlarına göre örnekler arasındaki benzerlik ilk iki ekseninde %39,8 varyans ile açıklanmaktadır (Şekil 53). Şekil 15'de açıkça görüldüğü gibi özellikle kış aylarında örnekler birbirlerine daha yakın konumlanmışlardır. Bu konumlanma örneklerin komünite yapılarının birbirine benzerlik gösterdiğini açıklar. Ocak ayındaki örneklerin diğer aylardaki örneklerle oranla çok daha benzer olduğu açıkça gözlemlenmektedir. Ocak ayında karışım tabaka derinliği 171 metrede gözlemlenmiştir. Onu takip eden Şubat ayında karışım tabaka derinliği çok daha sığda gözlemlenmiştir (45m). Karışım tabaka derinliğinin daha yüzeyle hareketi ile örneklerin koordinat sisteminde birbirinden daha fazla uzaklaştığı gözlemlenmektedir. Özellikle örnekleme başladığı ilk ay olan Eylül 2016'da sıcaklığın yüksek olduğu yüzeyden alınan örnekler birbirine komünite yapısı olarak daha fazla benzerlik gösterirken yine aynı ay daha derinden alınan örnekler birbirlerine daha fazla benzerlik taşımaktadırlar.



Şekil 53. PCoA sonuçları. Analiz Bray- Curtis farklılığı (her bir bölgedeki sayımlara dayanan iki farklı alan arasındaki bileşim farklılığı) ölçüsü kullanılarak yapılmıştır. Renklendirmeler örneğin alındığı su kütlesinin sıcaklığına yapılmıştır (kırmızı: sıcaklık verisi yok). Zaman serileri verilerini görselleştirmek için ayların gösterildiği hipotetik eksen yerleştirilmiştir. Eksen örnekleme tarihinin ilk başladığı ay olan Eylül ayından (soldan) son örnekleme tarihi Ağustos'a (sağda) kadar. Birbirine yakın konumlanan örnekler birbirlerine en benzer örnekleri gösterir.

Örneklerdeki filogenetik farklılıkları göz önünde bulundurarak hesaplanan Ağırlıksız UniFrac Uzaklık (Unweighted Unifrac Distances) göz önünde bulundurulduğunda da benzer bir konumlanma ile karşılaşılmaktadır. PCoA sonuçlarına göre örnekler arasındaki benzerlik ilişkisi Ağırlıksız UniFrac Uzaklık dikkate alındığından ilk iki eksende %38,07 varyans ile açıklanmaktadır (Şekil 54).



Şekil 54. PCoA sonuçları. Analiz Ağırlıksız UniFrac Uzaklık (Unweighted Unifrac Distances) farklılığı (Hesaplama da gözlemlenen organizmalar arasında filogenetik mesafeler katılarak topluluk üyelerinin görece ilgili olmaları hakkında bilgi içerir) ölçüsü kullanılarak yapılmıştır. Renklendirmeler örneğin alındığı su kütlesinin sıcaklığına yapılmıştır (gri: sıcaklık verisi yok). Zaman serileri verilerini görselleştirmek için ayların gösterildiği hipotetik eksen yerleştirilmiştir. Eksen örnekleme tarihinin ilk başladığı ay olan Eylül ayından (soldan) son örnekleme tarihi Ağustos'a (sağda) kadar. Birbirine yakın konumlanan örnekler birbirlerine en benzer örnekleri gösterir.

### 3.2.4 Mikrobiyal dinamiklerin çevresel faktörlerle olan ilişkisi

Mikrobiyal ekoloji çalışmalarının en büyük sorusu, hangi abiyotik faktörlerin mikrobiyal komünite dinamiklerini kontrol ettiğini anlamaktır. Bu soruya cevap verebilmek için Kanonik korelasyon analizi (KKA- Canonical Correspondence Analysis) uygulanmıştır (Ek 5.1. KKA sonuç tablosu). KKA, çok değişkenli verileri görüntüleyen grafiksel araçlar olan koordinasyon tekniklerinden biridir. Çok değişkenli veriler açık bir bağımlı değişkene sahip olmayan veriler olarak sınıflandırılır. Bu karakterdeki verileri açıklamak için KKA sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Bunun yanı sıra en bol bulunan iki taxon ve *Prochlorococcus* ile *Synechococcus* non-parametrik testler ile fiziko-kimyasal değişkenlerle bağlantıları araştırılmıştır (Tablo 9).

Tüm örneklerde en bol olarak bulunan takson Pelagibacteraceae taksasına ait Clade Ia'dır. Derinlik ve ışıklı tabaka derinliği (ITD) pozitif korelasyon göstermektedir. Fiziksel

parametrelerden sıcaklık ve tuzluluk Clade I'in bolluğuyla pozitif korelasyon göstermektedir. Bu durum Clade Ia'in görece bolluğunun özellikle yüzey sularında çok daha fazla olmasıyla örtüşmektedir. İnorganik nitrojen kaynaklarından olan nitrat ve fosfat ile görünür oksijen kullanımı Clade Ia bolluğu ile negatif korelasyon göstermektedir.

Diğer bir taksonomik grup ise Clade-Ib oldukça yoğun dağılım göstermektedir. Derinlik, karışım tabakası derinliği ve ışıklı tabaka derinliği ile korelasyon göstermektedir. Clade Ia'nın tersine Clade Ib, tuzluluk ve sıcaklık ile ters korelasyona sahiptir. Amonyak ile ilişki gösteren tek takson Clade Ib, negatif korelasyon göstermektedir. Bir diğer negatif ilişki taşıyan parametre ise partikül fosfattır. Pozitif korelasyon gösteren diğer kimyasal parametreler ise şöyle: nitrit, nitrat, inorganik fosfat toplam çözünmüş fosfat ve GOK'dır.

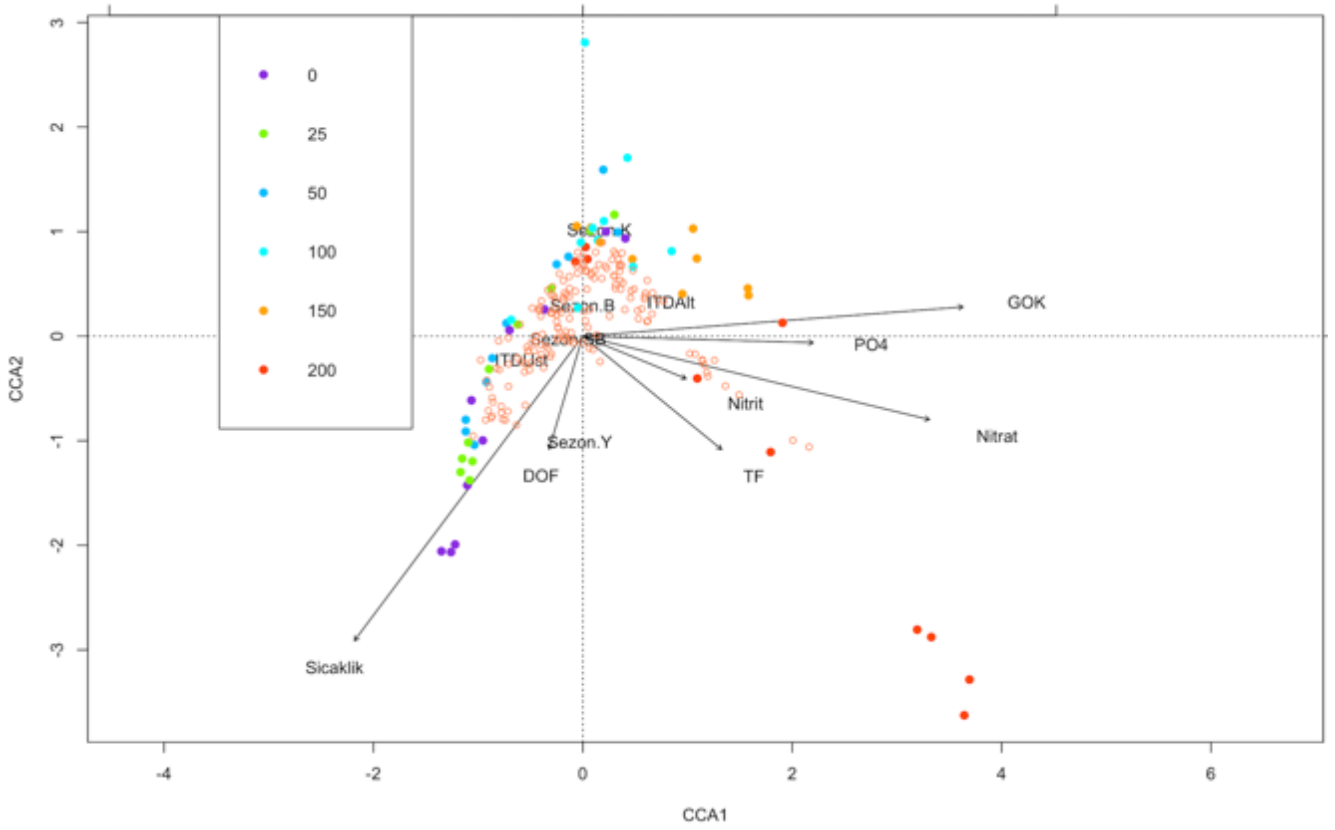
Ekosistemin önemli bileşenlerinden olan fotosentetik *Synechococcus* CC9902 ve *Prochlorococcus* MIT9313 siyanobakteri cinslerinin de çevresel faktörlerle olan ilişkileri de incelendi. *Prochlorococcus* derinlik ile korelasyon göstermektedir. Partikül organik karbon ve toplam klorofil *Prochlorococcus* ile pozitif korelasyona sahiptir. Ancak bu noktada toplam klorofil miktarındaki artışın *Prochlorococcus* miktarındaki artış ile değil de *Prochlorococcus* 'un artışının toplam klorofil artışına sebep olduğu düşünülmektedir. İnorganik fosfat ve GOK ise, diğer yandan, *Prochlorococcus* ile negatif ilişki göstermektedir. *Synechococcus* CC9902, Clade Ib'de olduğu gibi derinlik, karışım tabakası derinliği ve ışıklı tabaka derinliği ile korelasyon göstermektedir. Daha çok yüzey tabakalarında bolluk gösteren *Synechococcus* sıcaklık ve tuzluluk ile pozitif korelasyon gösterirken nitrat ve GOK değeri ile negatif ilişki saptanmıştır.

Tablo 9. Dört taksanın fiziksel ve kimyasal parametrelerle olan ilişkisini gösteren istatistik sonuçları

	Kruskal-Wallis			Spearman rank correlation (none parametric)		
	chi-squared	df	p-value	S	rho	p-value
<b>Clade-Ia</b>						
Parameter						
Derinlik	30,857	5	9,998E-06			
ITD	20,863	2	0,00002949			
Sıcaklık				16750	0,5105202	3,61E-05
Tuzluluk				10138	0,7037405	5,07E-10
NO3NNO2N				68856	-0,5047173	1,81E-05
PO4				61360	-0,3408987	0,005455
GOK				54546	-0,5939801	7,08E-07
<b>Clade-Ib</b>						
Derinlik	31,624	5	7,05E-06			
KTD	9,9062	3	0,01938			
ITD	18,965	2	7,62E-05			
Sıcaklık				57162	-0,6704267	6,30E-09
Tuzluluk				51708	-0,5110462	3,54E-05
NH4				58196	-0,2717583	0,02853
NO2				32890	0,2812454	0,02324
NO3NNO2N				19917	0,5647569	9,56E-07
PO4				24144	0,4723851	7,10E-05
PF				57374	-0,253805	0,04134

TÇP				33573	0,2663257	0,032
GOK				8588	0,7490357	8,93E-12
<b>Prochlorococcus</b>						
Derinlik	26,998	5	5,71E-05			
PO4				62482	-0,3654363	0,002759
Total Chl				23620	0,4838222	4,45E-05
POK				30343	0,336908	0,006065
GOK				44544	-0,3016976	0,02022
<b>Synechococcus</b>						
Derinlik	21,861	5	0,0005564			
MLD	9,0412	3	0,02875			
ITD	16,671	2	0,0002398			
Sıcaklık				24105	0,295594	0,02303
Tuzluluk				16891	0,506411	4,27E-05
NO3NNO2N				65406	-0,4293289	0,0003587
GOK				47258	-0,3810011	0,00291

Mikrobiyal topluluk yapısı ve çevresel parametreler arasındaki olası ilişkiyi ayırt etmek için, tüm ölçülebilir çevresel değişkenleri kullanarak kanonik korelasyon analizi (KKA) gerçekleştirilmiştir (Şekil 55). Parametreler ters R-vegan paketindeki ters modelleme fonksiyonu ile tayin edilmiştir. KKA modelinin anlamlılığı, ilk üç eksen ve kısıtlayıcı değişkenler permütasyon testi kullanılarak sınanmış ve anlamlı bulunmuştur. CCA'ya göre, çevresel değişkenlerimiz (sınırlamalar: Sıcaklık; Sezon, Mevsimler; ITD, ışıklı tabaka derinliği; Nitrat; nitrit; PO4, inorganik fosfat; TP, toplam fosfat; ÇOF, çözülmüş organik fosfat; GOK, görünür oksijen kullanımı) tarafından açıklanabilecek toplam varyasyon %44,44 olarak bulunurken % 55,5'i değişkenlerimiz tarafından açıklanamamıştır.



Şekil 55. Kanonik korelasyon sonuçlarını içeren triplot. Sayısal çevresel parametreler oklar ile gösterilirken kategorik değişkenler (Sezon, ITD) metin olarak gösterilmektedir. Her bir OTB turuncu halka ile gösterilirken örnekler ise içi dolu renkli yuvarlaklarla tanımlanmıştır. Farklı derinliklerden alınmış örnekler farklı renklendirilmiştir. Eksen özdeğerler (eigenvalues) ve onların CCA1 ve CCA2'nin ortalama karekök olumsuzluk katsayısına katkısı sırası ile 0,3277 (21,07%) ve 0,1323 (%0,08507)'dir. İstatistiki olarak anlamlı bulunan ilk üç kanonik eksenin yüzde inertia oranları sırasıyla, %21,07, %8,507 ve %3,8'dür.

Sıcaklık, nitrat, ve görünür oksijen kullanımı parametreleri Şekil 55'deki okların uzunluklarından da anlaşıldığı gibi komünite kompozisyonunu açıklayan en önemli parametrelerdir. Yüze örneklerinin (mor renkli) düşük, orta ve yüksek sıcaklık değişimine cevap verdiği görülmektedir. Yüze örneklerinden olan ve düşük sıcaklığa göre konumlanan örneklerin aynı zamanda kış ayına yakın konumlanması aynı zamanda sezonluk değişimleri de yansıtmaktadır. Yüze örnekleri inorganik besin tuzlarının düşük konsantrasyonlarda olduğu ortamlarda bulunma eğilimindedirler. Ayrıca düşük GOK seviyeleri de yüze örneklerinin bulunduğu karakteristik ortam özelliklerindedir. GOK değerinin düşük olması oksijenli solunumun oksijen kullanımını geçtiğini ifade etmektedir. 25m den toplanan örnekler (yeşil renk) ve 50m den alınan örnekler (mavi) düşük ve orta derecedeki sıcaklığın olduğu ortamlar ile karakteristikken daha çok düşük besin tuzlarının olduğu ortamları tanımaktadırlar. 200m'den alınan örneklerin (kırmızı) çoğu düşük sıcaklık, yüksek besin tuzu

konsantrasyonlarının olduğu ortamlarda bulunurlar. Ancak kış ayının yakınında konumlanmış olan 200m örnekleri daha düşük konsantrasyonlardaki besin tuzlarını olduğu yerlerde bulunmaktadır. 200m örneklerinin GOK değerine göre konumlanmaları sezonluk değişimden oldukça fazla etkilenmektedir. Yaz ayları ile karakteristik örnekler yüksek GOK değerine cevap verirken kış ayına yakın konumlanan örnekler düşük GOK değerine yanıt vermektedir. Genel olarak komünite yapısını şekillendiren en önemli çevresel faktörler sıcaklık, nitrat ve GOK'u iken toplam fosfat, inorganik fosfat, çözülmüş organik fosfat ve nitrit göreceli olarak daha az etkiye sahiptir.

### **3.3 Fonksiyonel Bakteri Grupları Bulguları**

Heterotrofik bakteri fonksiyonel genleri azot döngüsünde rol oynayan marker genlerden seçilmiştir. Önemli fonksiyonel genlerden bazıları *amoA* (amonyaktan nitrite dönüşüm sağlar), *hao* (hidroksilaminden nitrit oluşumunu sağlar), *narG* (Nitrat redüksiyonu sağlar), *nifK* (nitrojen fiksasyonunda rol oynar) aşağıda gösterilmiştir.

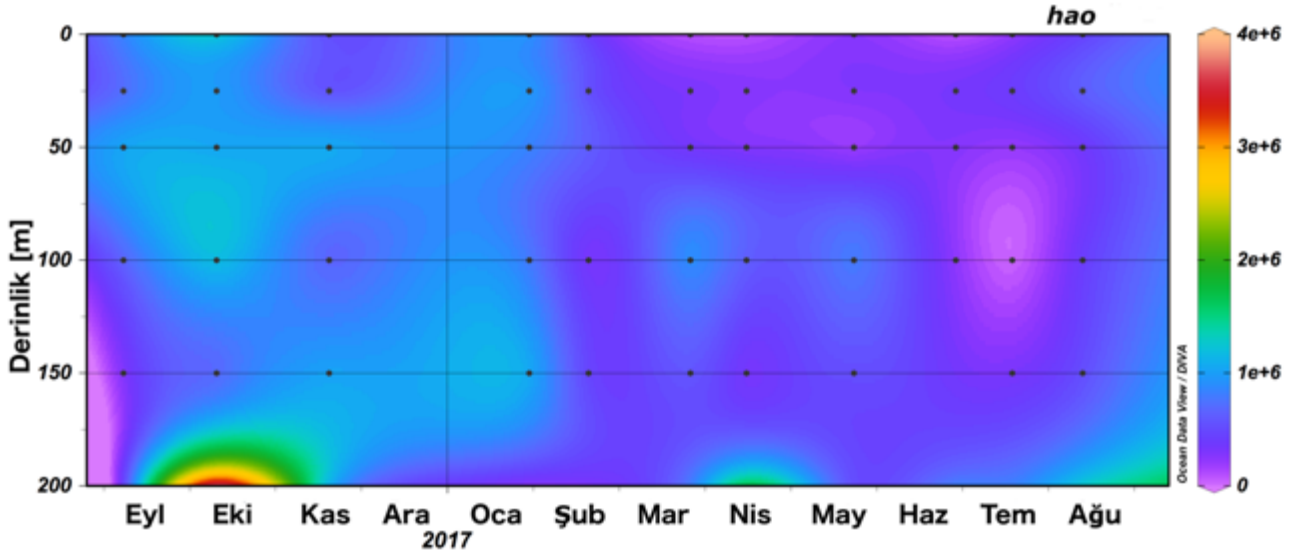
#### **3.3.1 Amonyak oksitleyen bakteriler**

Amonyak oksitleyen bakteri bolluklarının değişimi *amoA* (amonyaktan nitrite dönüşüm sağlayan *amoA* (membran bağlı amonyum monoksigenazın bir alt-birimini kodlayan) gen kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda *amoA* geni içeren herhangi bir gruba rastlanmamıştır.

#### **3.3.2 Hidroksilaminden nitrit oluşumu sağlayan bakteriler**

Amonyak oksidasyonunda ikinci adım ise hidroksilaminden nitrit oluşum basamağıdır ve bu basamakta *hao* geni rol oynamaktadır. Hidroksilaminden nitrit oluşumu sağlayan bakterilerin yıl boyunca bolluğundaki değişim Şekil 56'da verilmiştir. Bu fonksiyonel grubun bolluğu özellikle yüzey sularında sıfıra yakın iken 200m derinlikte bolluklarında artış özellikle Ekim ayında çok belirgindir.

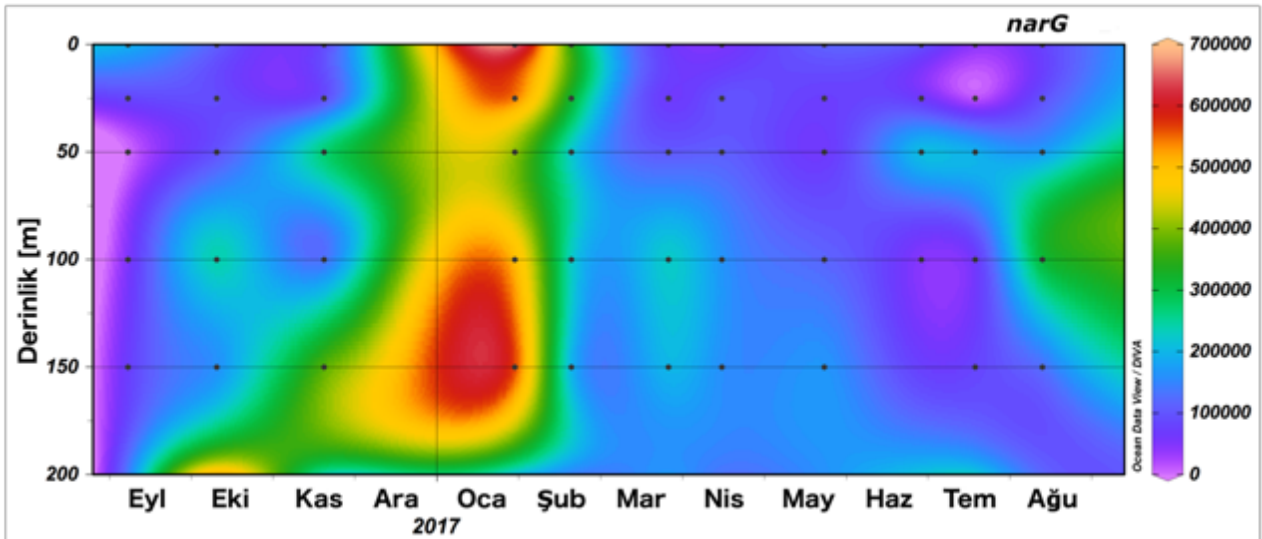




Şekil 56. Hidroksilaminden nitrit oluşturan bakterilerin bolluk (gen/ml) değişimi.

### 3.3.3 Nitrat redüksiyonu sağlayan bakteriler

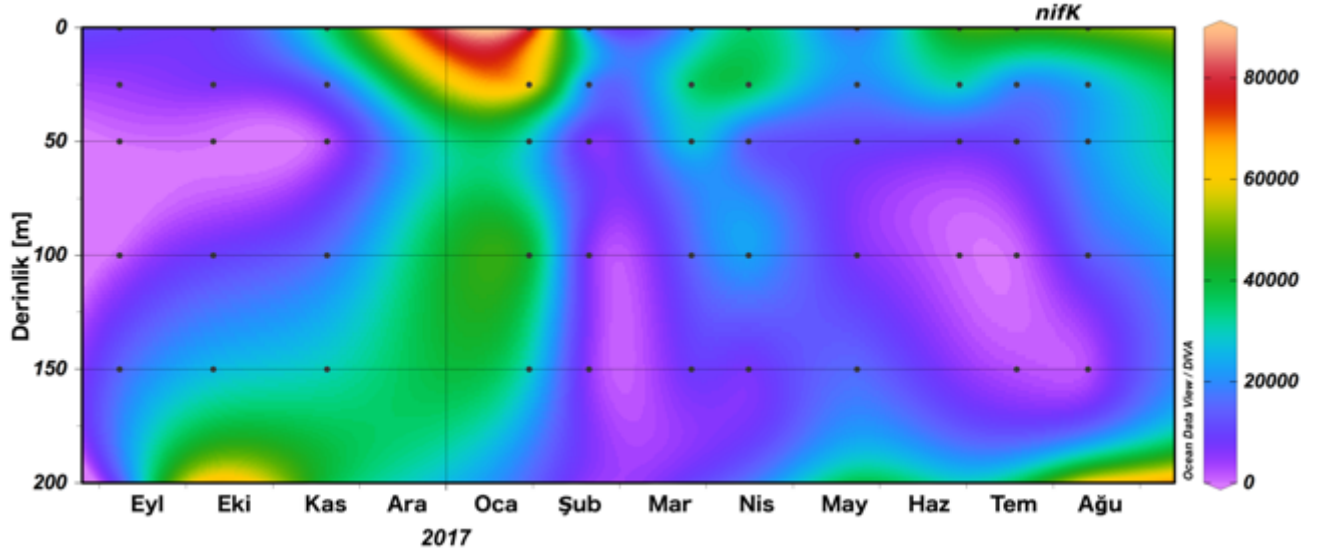
Nitrat redüksiyonu sağlayan fonksiyonel grubun bolluğundaki (gen/ml) değişim Şekil 57'de sunulmuştur. Ekim ayında 100m' de ve 200m'de bollukta meydana gelen artış dikkat çekmektedir. Ayrıca, önemli bir artış ise ocak ayında su kolonu boyunca dikkat çekmektedir. Şubat-Temmuz ayları boyunca nitrat redüksiyonu sağlayan bakterilerin bolluğu genel olarak homojen ve düşük seyretmiştir. Bunun yanında Ağustos ayına ait 100m'lik örnekte yine küçük bir artış gözlemlenmiştir.



Şekil 57. Nitrat'tan nitrit oluşturan bakterilerin bolluk (gen/ml) değişimi.

### 3.3.4 Nitrojen fikse eden grup

NifK genini taşıyan ve nitrojen fiksasyonundan sorunlu olan bakterilerin bolluklarının değişimine bakıldığında ilk olarak Ocak ayı yüzey suyunda gözlemlenen yüksek değerler dikkat çekmektedir. Bunun dışında diğer fonksiyonel gruplarda da olduğu gibi Ekim ayı 200m'de yine yüksek bolluklar gözlemlenmiştir (Şekil 58).



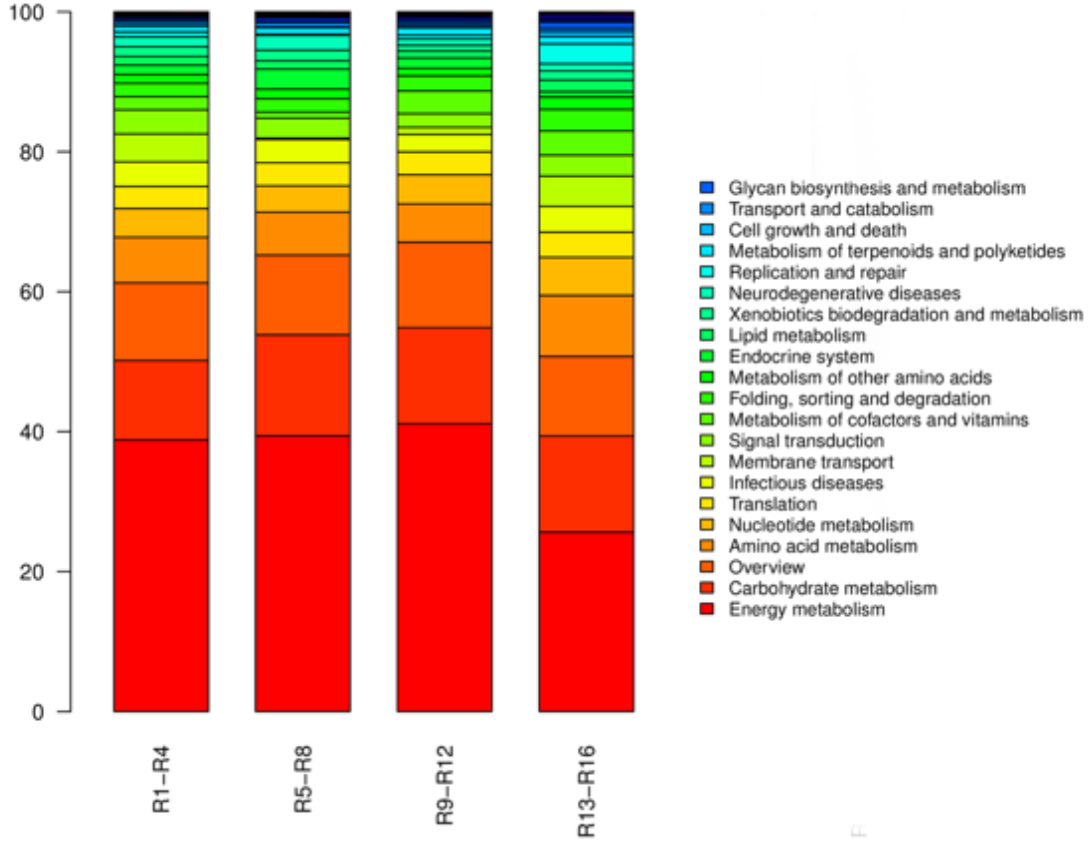
Şekil 58. Nitrojen fiksasyonu gerçekleştiren bakterilerin bolluk (gen/ml) değişimi.

### 3.4 Metatranskriptom Analizi Bulguları

Kasım 2016 (R1-R4), Şubat 2017 (R5-R8), Haziran 2017(R9-R12) ve 04 Temmuz 2017 (R13-R16) dönemlerine ait 4 metatranskriptom örneğinde azot döngüsünde rol oynayan genler ve alkalın fosfataz enzim aktivitesi (-fosfat döngüsü) araştırılmıştır. Örnekler belirli bir derinliği değil tüm su kolonunu temsil etmektedir.

#### 3.4.1 Metabolik analizler

Tüm örnekler içinde en çok ifade edilen genlerin doğal olarak enerji metabolizması ile ilgili oldukları belirlenmiştir. En yüksek enerji metabolizmasını %41,1'lik bolluk ile haziran ayı (R9-R12 örneği) örneklerinde tanımlanmıştır. Kasım 2016 (R1-R4) ve Şubat 2017 (R5-R8) aylarına ait örneklerin enerji metabolizması aktivitesi de oldukça yüksektir bunlar sırasıyla %38,8 ve %39,3'dir. Öte yandan, beklenmedik bir şekilde 04 Temmuz'da alınan örnekte enerji metabolizmasının rölatif bolluğu (%25,6) örnekler arasından en düşük seviyede gözlemlenmiştir. Tüm örneklerde karbonhidrat metabolizması aktivitesi hemen hemen aynı düzeydedir. 04 Temmuz örneğinde "replikasyon ve tamir" metabolizmasıyla ilgili enzim aktiviteleri %2,8 bolluğa sahip iken diğer örneklerde bu oran %1'in altında gözlemlenmiştir.

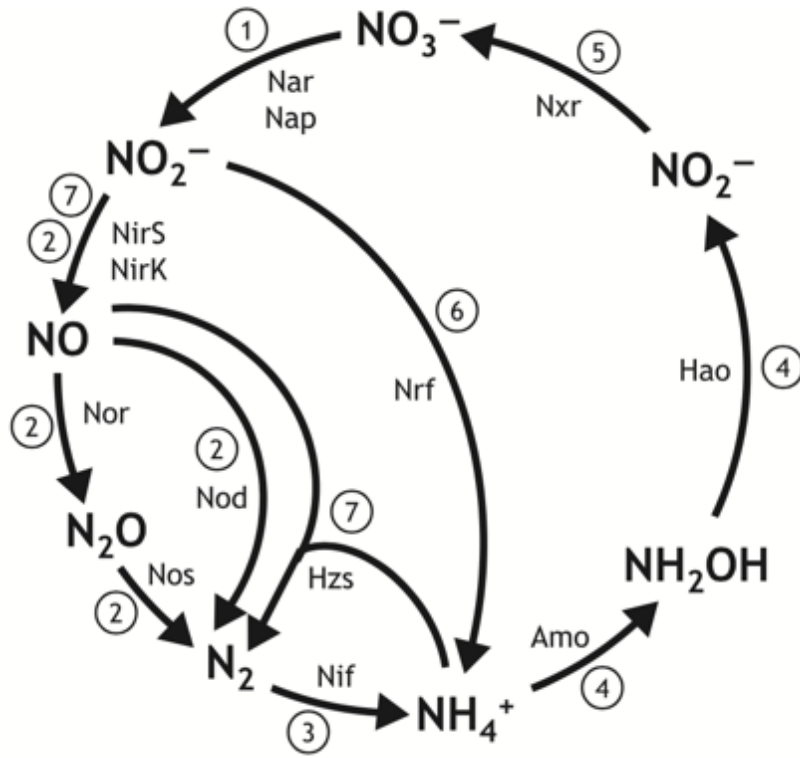


Şekil 59. Örneklerdeki KEGG yolak sınıfları; R1-R4 = Kasım 2016, R5-R8 = Şubat 2017, R9-R12 = Haziran 2017 ve R13-R16 = Temmuz 2017 örneklerini temsil etmektedir.

Enerji metabolizmasının temmuz ayında alınan örnekte (R13-R16) kasım ve şubat ayıyla karşılaştırıldığında görece daha düşük olmasının sebebi su kolonunun gittikçe ısınması ve besin tuzlarının konsantrasyonlarının iyice azalmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Isı artışı ve besin tuzlarının azlığı enerji metabolizmasını limitlemiş olduğu düşünülmektedir.

### 3.4.2 Azot Döngüsü

Azot döngüsünde rol oynayan genlerin ürün aktivitelerindeki değişim incelenmiştir. Bu döngüde görevli genlerin tamamı Şekil 60'da verilmiştir. ETS-200m istasyonunda tanımlanan Azot döngüsünde görevli genler incelenmiş ve değerlendirilmiştir, öte yandan bu istasyonda görülmeyen gen ürünleri (ör: anammox genleri) tartışılmamıştır.

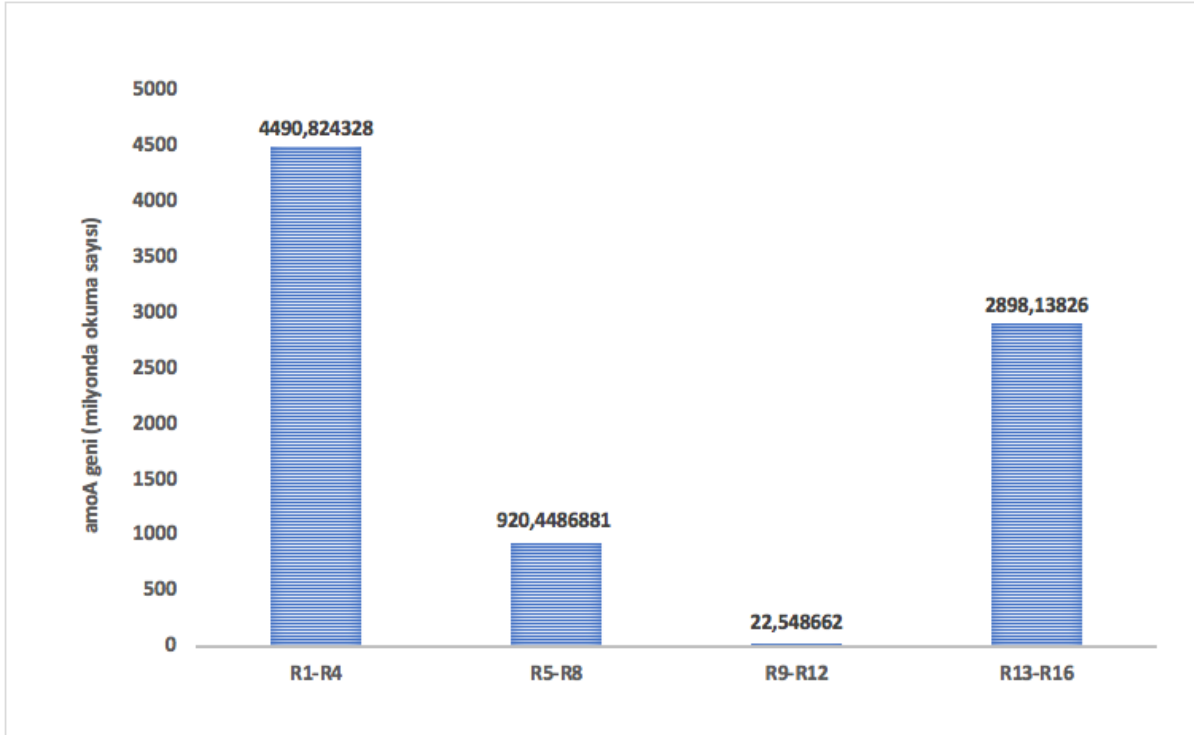


Şekil 60. Biyolojik azot döngüsünde rol oynayan anahtar genler: 1, nitrat redüksiyonu; 2, denitrifikasyon; 3, azot fiksasyonu; 4, aerobik amonyak oksidasyonu; 5, aerobik nitrit oksidasyonu; 6, amonyuma indirgeyici nitrit redüksiyonu (DNRA); 7, anaerobik amonyak oksidasyonu. Genler: Nar / Nap, dissimilatory nitrat redüktaz; NirK / NirS, NO-oluşturan nitrit redüktaz; Nor, Nitrik oksit redüktaz; nod; nitrik oksit dismutaz; Nos, azot oksit redüktaz; Nif, nitrojenaz; Amo, amonyak monooksijenaz; Hao, hidroksilamin oksidoredüktaz; Nxr, nitrit-nitrat oksidoredüktaz; Nrf, assimilatory amonyak oluşturan nitrit redüktaz; Hzs, hidrazin sentaz. (Şekil Rasigraf vd., (2017)'dan alınmıştır).

### 3.4.2.1 Nitrifikasyon

Nitrifikasyonda ilk adımı belirten işaretleyici genler, amonyaktan nitrite dönüşüm sağlayan *amoA* (membran bağlı amonyum monooksijenazın bir alt-birimini kodlayan) ve *hao* genidir (hidroksilamin oksidoredüktazı kodlayan). Amonyak oksidasyonu iki basamakta gerçekleşir; amonyak oksidasyonunun ilk basamağında amonyak ( $\text{NH}_4^+$ ) *amoA* geni aracılığıyla hidroksilamine'e ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) dönüştürülür. En yüksek *amoA* geni okuma sayısı Kasım 2016'da kaydedilmiştir (Şekil 61). Şubat ayında *amoA* ekspresyonunda ciddi bir düşme gözlemlenirken bu düşüş haziran ayında (R9-R12) alınan örnekte de devam etmiştir. Ancak Temmuz ayında alınan (R13-R16) örnekte yükseliş olarak gözlemlenmektedir. Kasım ayında su kolonu amonyak konsantrasyonlarının oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu düşüş *amoA* geninin mRNA dizisindeki yükseklikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Şubat 2017'de

özellikle 25 ve 75 m derinliklerinde gözlemlenen yüksek amonyak değerleri amonyak oksidasyonundan sorumlu olan genlerin ekspresyonlarındaki azalmada ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Kasım ayında gözlemlenen amonyak konsantrasyonlarındaki azalmanın özellikle amonyak oksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Fitoplankton patlamaları özellikle Ocak ve Mart aylarında özellikle gözlemlendiği için Kasım ayında nitrifikasyon bakterilerinin fitoplanktonlar ile kaynak kullanımı açısından rekabete girdikleridüşünülmektedir. Nitrifikasyondan sorumlu bakterilerin düşük sıcaklıklara kolayca adapte olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Ward, 2000). Ayrıca denizlerde nitrifikasyon hızında sezonluk değişimlerin yüksek olduğu ve Kasım ayında Haziran ayına oranla daha yüksek nitrifikasyon görüldüğü tartışılmıştır (Schweiger vd., 2000). Amonyum monoksijenaz mRNA ekspresyonlarının Kasım ayında su kolonunda daha yüksek çıkması da yapılan diğer çalışmalarla uyum içerisindedir.



Şekil 61. amoA geninin örnekler arasındaki değişimi

Hidroksilamine oluşumundan sonra amonyak oksidasyonunda ikinci adım ise hidroksilaminden nitrit oluşum basamağıdır ve bu basamakta *hao* geni bu basamakta rol oynamaktadır. Herhangi bir örnekte *hao* gen aktivitesi kaydedilmemiştir. Sonuç olarak amonyağın nitrite oksidasyonunun örneklemenin yapıldığı koşullarda tamamlanmadığı düşünülmektedir. Hidroksilamin nitrojen döngüsündeki önemli olan iki basamağın ara ürünüdür. Nitrifikasyon sırasında amonyak oksidasyonundan sonra ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ) ve anaerobik amonyak oksidasyonu ( $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{N}_2$ ) sırasında

oluşur. Anaerobik amonyak oksidasyonu, örneklemenin yapıldığı ETS-200m'lik istasyonda su kolonu oksijen konsantrasyonları yüksek olduğundan mümkün değildir. Ayrıca bu reaksiyonu gerçekleştiren enzimlere ait mRNA dizileri (*Hzs*), örneklerin hiçbirinde gözlemlenmemiştir. mRNA dizilerinden elde edilen sonuçlara dayanılarak ortamda  $\text{NH}_2\text{OH}$  birikimi beklenmektedir. Bunun yanında bu görüşün desteklenmesi için su kolonu  $\text{NH}_2\text{OH}$  ölçümleri gerçekleştirilmelidir. Denizel ortamda  $\text{NH}_2\text{OH}$  konsantrasyonu ölçümleri, bilindiği kadarıyla, sadece Baltık Denizi'nde gerçekleştirilmiştir (Schweiger vd., 2007). Baltık Denizi'nde yapılan çalışmada amonyak oksidasyonunun nitrit oksidasyonundan çok daha hızlı olduğu ve bu nedenle su kolonundaki  $\text{NH}_2\text{OH}$  birikiminin gerçekleştiği gösterilmiştir.

Nitrifikasyonun bir diğer basamağı ise nitrit ( $\text{NO}_2$ )'in nitrat ( $\text{NO}_3$ )'a oksitlendiği evredir ve bu nitrifikasyon hızını kontrol eden basamak olarak bilinmektedir. Proje örneklerinde bu basamak için marker gen olan nitrite oxidoreductase'ın (*NxrA*) mRNA ekspresyonları örneklerde değerlendirilmiştir. Ancak örneklerden herhangi birinde *NxrA* mRNA ekspresyonuna rastlanmamıştır. *Nxr* filogenetik olarak uzak olan iki farklı grupta belirlenmiştir. Bunlar; *anammox-Nitrospira-Nitrospina* ve *Nitrobacter-Nitrococcus-Nitrolancea* gruplarıdır (Mogollón vd., 2016). 16S rRNA metagenomiks sonuçlarına göre yukarıda verilen gruplardan sadece *Nitrospina* (*Nitrospinaceae;D\_5\_\_LS-NOB*) *mevcut projenin* örneklerde gözlemlenmiştir. Gözlemlenen en yüksek bolluğu %4,6 ile Temmuz 2017'de 200m'den alınan örnektir. Ayrıca sadece 200,150 ve 100m'den alınan örneklerde bu gruba rastlanmıştır ve özellikle yaz aylarındaki örneklerde rölatif bollukları %3-4 arasındadır. Bolluğunun %1'in üzerinde gözlemlendiği örneklerin sayısı ise sadece 11'dir. Temmuz ayının başında ve sonunda alınan mRNA örneklerinde (R9-R12 ve R13-R16) grubun rölatif bolluğu %4 civarında olduğu halde bile *nxA* geninin mRNA ekspresyonlarına rastlanamamıştır. Örneklemenin yapıldığı Erdemli Zaman Serisi 200m'lik istasyonda nitrit konsantrasyonlarının yıl boyunca deteksiyon limitlerine yakın olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca *hao* gen ekspresyonunun da bulunmaması ortamda nitrit yoksunluğunun belirtisidir. Nitrit oksitleyen bakteriler için uygun ortam ve substrat bulunmadığından örnekleme bölgesinde nitrifikasyon basamakları tamamlanmamıştır. ETS-200m'lik istasyonda *amoA* gen aktivitesi *nxA* aktivitesinden fazla olduğundan sistemde oluşan organik maddenin hemen kullanıldığı ve birikimin gerçekleşmediği sonucuna varılmıştır.

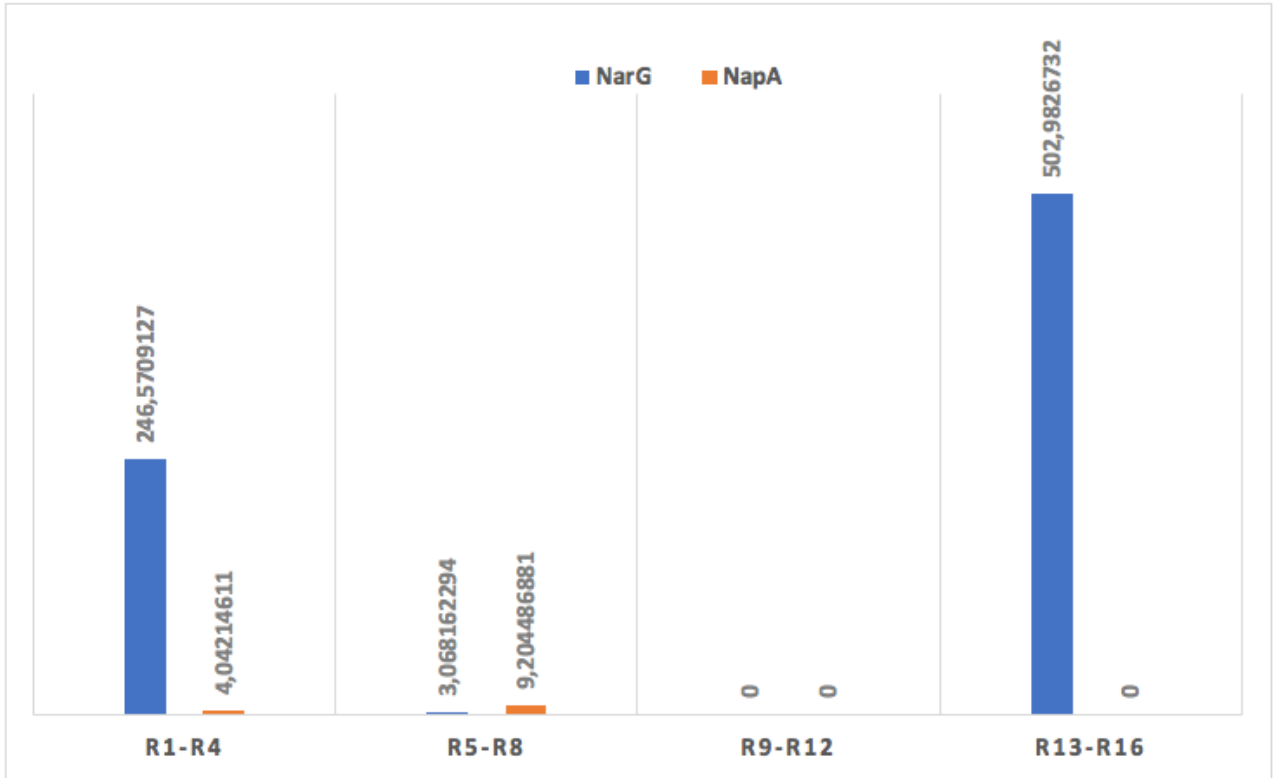
### 3.4.2.2 Denitrifikasyon

Denitrifikasyon azotun sistemden biyolojik yollarla çıkışına neden olduğu için global ölçekte önemli bir mekanizmadır. Aynı zamanda fakültatif anaerobik bakterilerin oksijen yokluğunda organik maddenin parçalanması ile sonuçlanan respirasyonunun devamlılığını sağlar. Dolayısı ile karbon ve azot döngüsü için önem arz eden biyolojik bir süreçtir. Bu süreç her ne kadar anaerobik koşullarda gerçekleşse de oksijenli ortamlarda da denitrifikasyon sürecinin varlığı

artık bilinmektedir (Omnes vd.,1996). Bu kısımda denitrifikasyon basamaklarında rol oynayacağı bilinen marker genler ve ekspresyonları tartışılmıştır.

### Disimilatör nitrat redüksiyonu: narG/napA

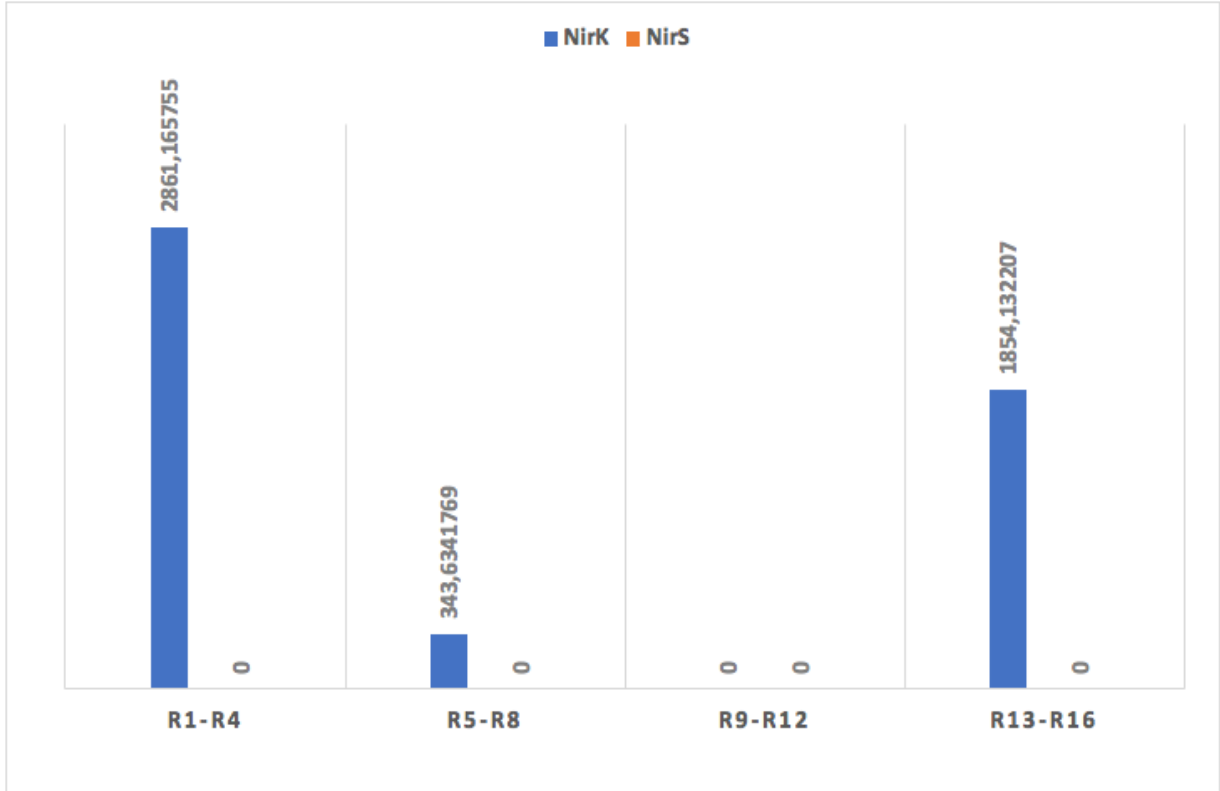
NarG ve NapA genleri tarafından kodlanan enzimler olan dissimilatory nitrat redüktaz enzimleri nitratın nitrite redüksiyon basamağını kontrol eden gösterge genlerdir. Bu genlerin mRNA ekspresyon seviyeleri Şekil 62'de verilmiştir. Özellikle dikkat çeken bir durum, haziran ayında alınan örneklerde (R9-R12) bu enzimlerin ekspresyonuna rastlanmazken temmuz ayında alınan örnekte (R13-R16) en fazla ekspresyona rastlanmıştır. R5-R8 kodlu şubat ayında alınan örneklerde ekspresyona rastlanmamasının başlıca sebebi su kolonunun homojen olarak düşük konsantrasyonlarda nitrat içermesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca şubat ayında nitrat redüksiyonunda rol oynayan bakterilere anoksik koşullar sağlayan partikül organik madde konsantrasyonları da oldukça düşüktür. Haziran ayında alınan örnekler (R9-R12) ile temmuz ayında alınan örnekler arasında ki (R13-R16) ciddi ekspresyon farklarının tam olarak neden kaynaklandığı anlaşılamamaktadır (Temmuz ayında inorganik besin tuzu ölçümleri alınamamıştır).



Şekil 62. NarG/NarA genlerinin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim.

### NO-oluşturan nitrit redüktaz: NirK / NirS

Denitrifikasyonun basamaklarından olan ve nitritin nitrik oksite indirgenmesiyle sonuçlanan basamak nirK ve nirS olarak bilinen nitrit redüktaz genlerinin ekspresyonuna bakılarak araştırılmıştır. Şekil 63 'de görüldüğü üzere nirS geninin aktivitesine herhangi bir örnekte rastlanmamıştır. Kasım ayında en yüksek ekspresyon gözlemlenirken NarG geninde olduğu gibi mRNA ekspresyonu R9-R12 örneklerinde gözlemlenmemiştir.



Şekil 63. NirK/NirS genlerinin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim.

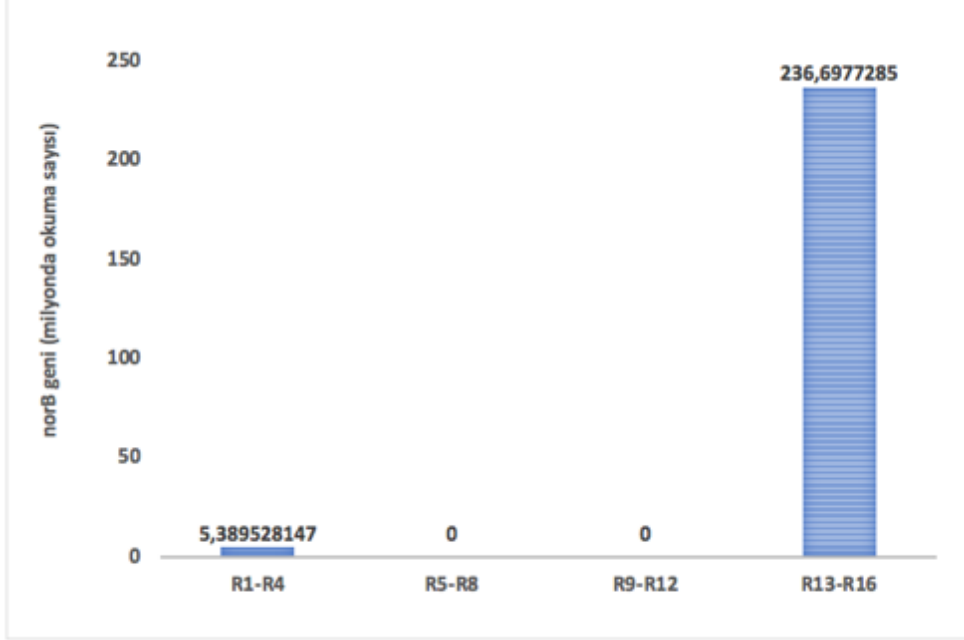
Kasım ayı nitrit konsantrasyonları su kolonu boyunca deteksiyon limitlerine yakın seyretmektedir. Kasım ayındaki nitrit konsantrasyonlarında gözlemlenen bu düşük miktarlar NirK geni mRNA ekspresyonunun yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir. Ancak nitrik oksit ölçümleri zaman serisi çalışmaları kapsamında yapılamadığından daha detaylı bir değerlendirme yapılamamaktadır.

### Disimilatör nitrik oksit redüktaz (*norB*) ve nitrik oksit dismutaz (*NosZ*)

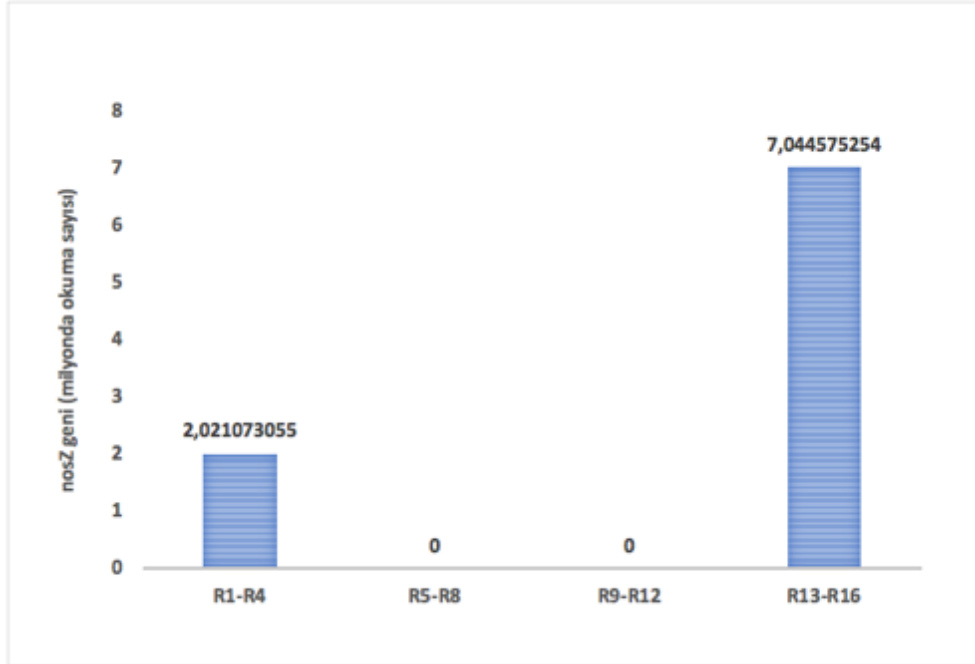
NirK ekspresyonunda gözlemlenen yüksek okuma sayılarının tersine nitrik oksit redüktaz (Şekil 64) ve nitrik oksit dismutaz (Şekil 65) geninin mRNA okuma sayıları oldukça düşüktür. NirK ekspresyonu kasım ayında en yüksek düzeyde iken *NorB* ve *NosZ* gen ekspresyonları temmuz ayının sonunda alınan örnekte yüksektir. Nitrik oksit (NO) ve nitrous oksit (N<sub>2</sub>O) ölçümleri mevcut olmadığından doğru bir değerlendirme yapılamamaktadır. Ancak NO oldukça



reaktif bir moleküldür ve suda çözünürlüğü oldukça düşüktür (Capone, Bronk, Mulholland, Carpenter, & Bange, 2008). Sucul ortamlarda çok hızlı bir şekilde  $O_2$ ,  $O_2^-$  ve  $NO_2$  ile reaksiyona girdiği bildirilmiştir (Zafiriou vd., 1990). Bu noktada, denitrifikasyonun son iki basamağının örnekleme istasyonunda çok az belirgin olduğu ortaya konmuştur.



Şekil 64. NorB geninin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim.



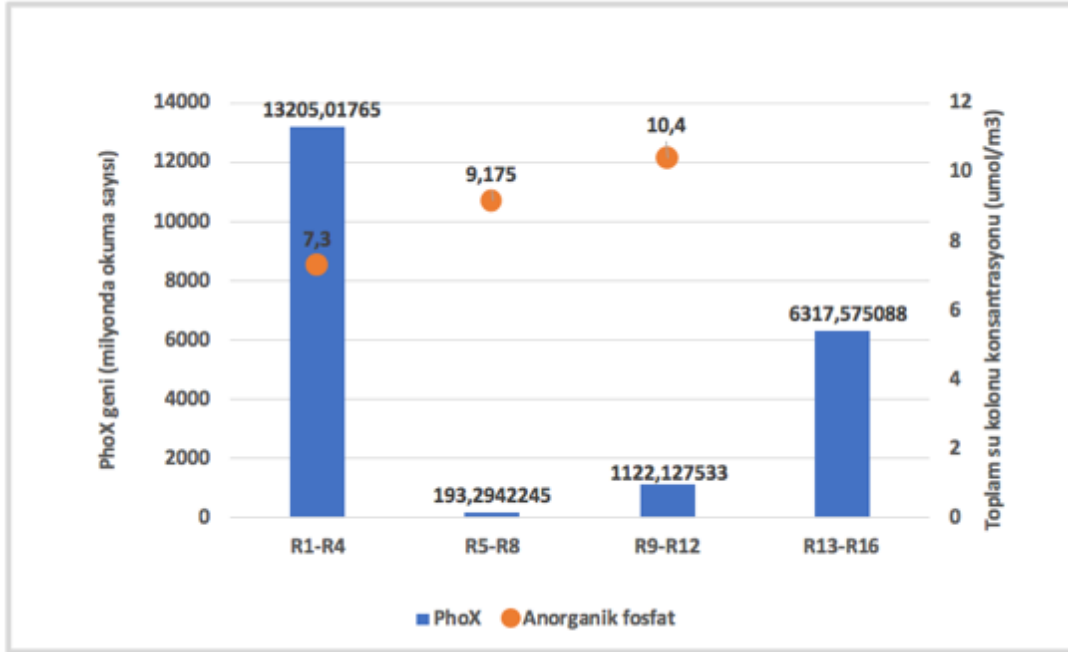
Şekil 65. NosZ geninin milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim.

### 3.4.2.3 Nitrojen fiksasyonu

Nitrojen fiksasyonu marker genlerinden olan 4 farklı genin (NifD, NifK, NifH, AnfG) mRNA ekspresyonları incelenmiş ancak herhangi bir örnekte bu genlerin ekspresyonlarına rastlanmamıştır. Bu bulgular, daha önce yapılan çalışmalarda gösterildiği gibi Doğu Akdeniz'deki düşük  $N_2$ - fiksasyonu ile örtüşmektedir.

### 3.4.3 Fosfat metabolizması

İnorganik fosfat ( $PO_4^-$ ) Akdeniz gibi oligotrofik denizlerde birincil üretim dışında aynı zamanda bakteriler üzerinde de strese sebep olan önemli bir inorganik besin tuzudur. Bu nedenle, fosfat (P) gereksinimlerini karşılamak için, bakteriler, ortamdaki düşük veya değişken P konsantrasyonlarına uyum sağlamak için farklı stratejiler geliştirmiştir. Alkaline fosfatase (Pho) aktivitesi düşük P konsantrasyonlarında alternatif fosfat kaynaklarının (örneğin: fosfat esterler ve fosfonatlar) kullanımına olarak sağlayan proteinlerdir. Bu nedenle, alınan RNA örneklerinde alkaline fosfataz aktivitesi marker gen olan PhoX mRNA ekspresyonlarına bakılarak incelenmiştir. PhoX ekspresyonları  $PO_4^-$  konsantrasyonlarının düşük olduğu örnekleme dönemlerinde oldukça fazla olarak gözlemlenmiştir (Şekil 66).



Şekil 66. PhoX geni milyonda okuma sayılarında örnekler arasındaki değişim ve su kolonu toplam inorganik fosfat konsantrasyonları. Hesaplamalar örnekleme yapılan her bir ardışık derinlik arasındaki alan hesaplanarak yapılmıştır (T. Moutin & Raimbault, 2002). Şubat ayı 200m'lik örnekte inorganik fosfat ölçümü olmadığından hesaplama sırasında 150m'de ölçülen değer kullanılmıştır.

Kasım ayında su kolonu toplam  $PO_4^-$  değerlerinin en düşük oranda ölçülmüştür. Bu dönemde alınan RNA örneklerindeki (R1-R4) mRNA ekspresyon seviyesi diğer dönemlere kıyasla oldukça fazladır. En düşük ekspresyon seviyesi Şubat ayı örneklerinde (R5-R8) gözlemlenmiştir. Şubat ayında su kolonu  $PO_4^-$  konsantrasyonları karışımdan dolayı homojen olarak dağılmış bir profil sergilemektedir.

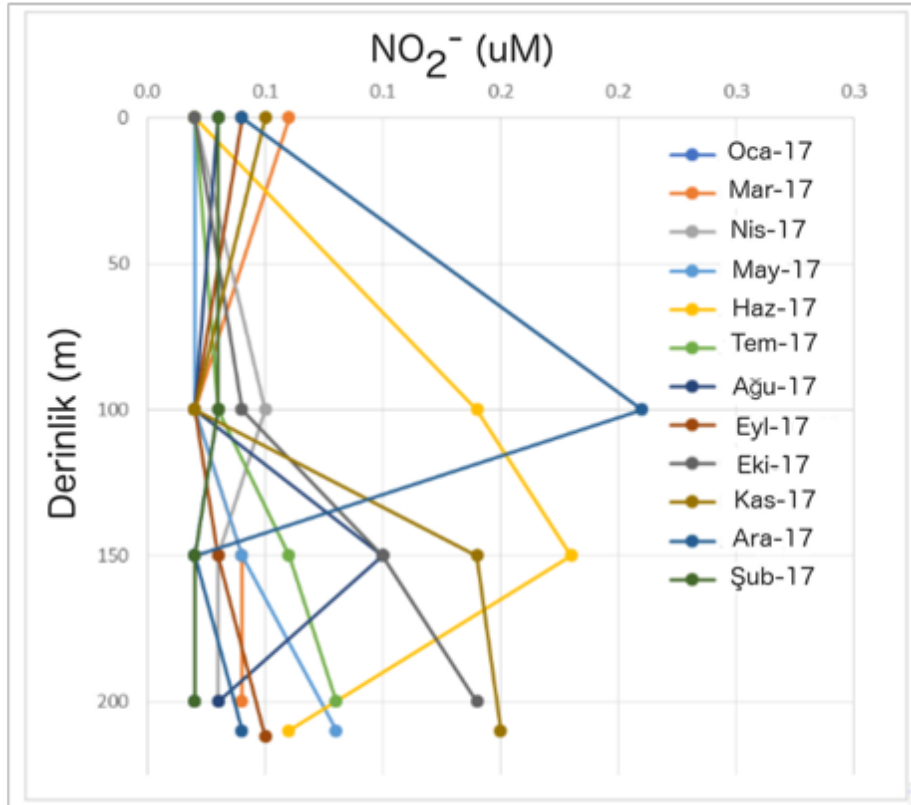
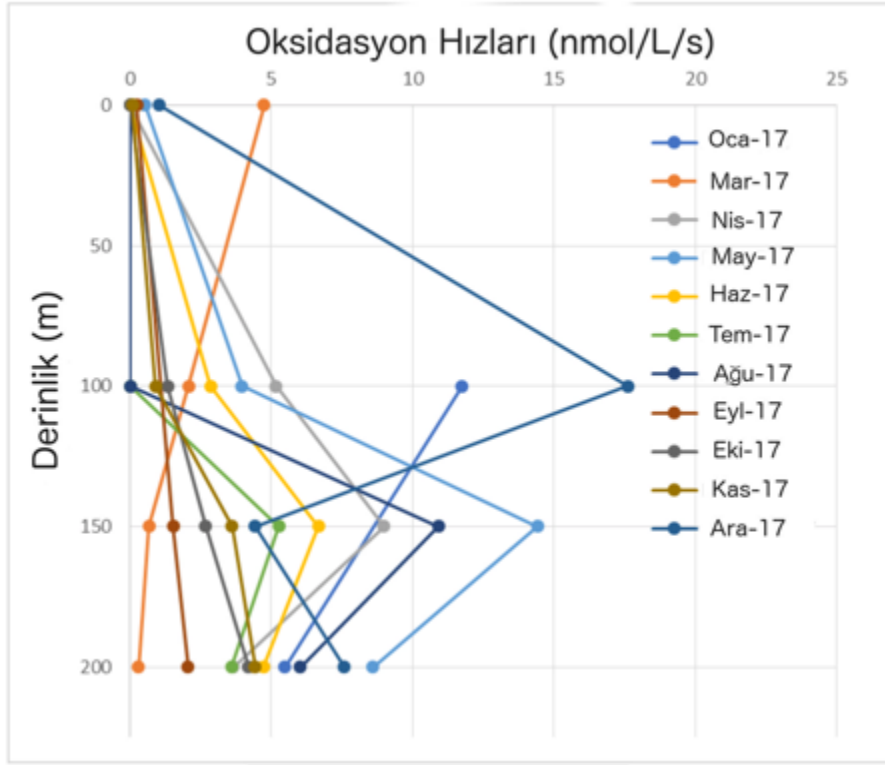
PhoX gen aktivitesi  $PO_4^-$  konsantrasyonlarının düşük olduğu dönemlerde bakterilerin farklı fosfat kaynaklarına yönelerek adapte olduklarını açıkça ortaya koymaktadır. PhoX geni organik P kaynaklarının bakteriler tarafından kullanımına olanak sağladığı için denizlerdeki P-döngüsünün geniş çerçeveli olarak anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Bu noktada spekülasyondan uzak durularak, prokaryotların düşük inorganik  $PO_4^-$  konsantrasyonlarına cevap olarak organik fosfat kaynaklarına yönelerek bu strese karşı adapte oldukları söylenebilir.

### 3.5 İzotop yöntemleri ile mikrobiyal reaksiyon hızları

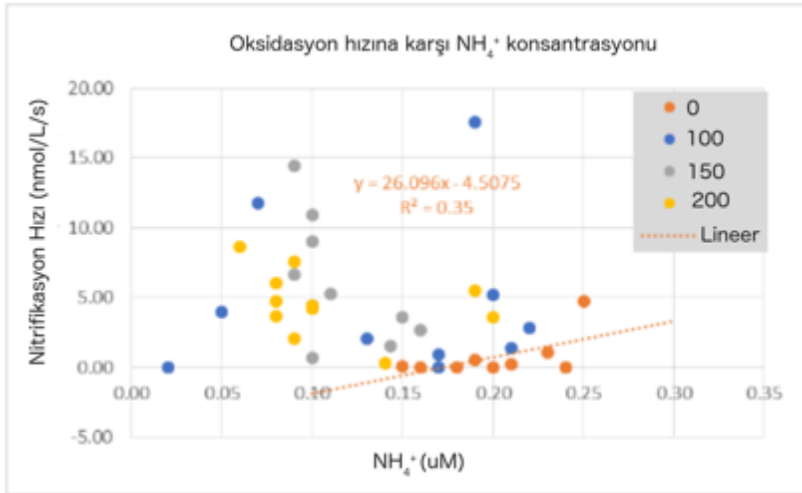
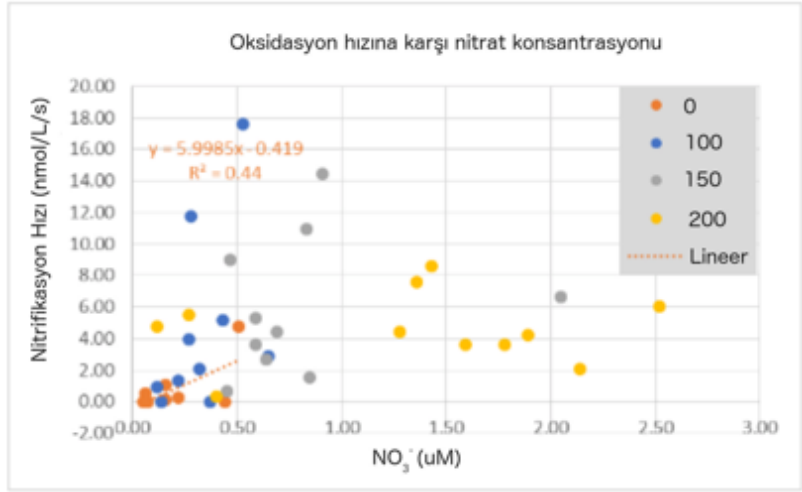
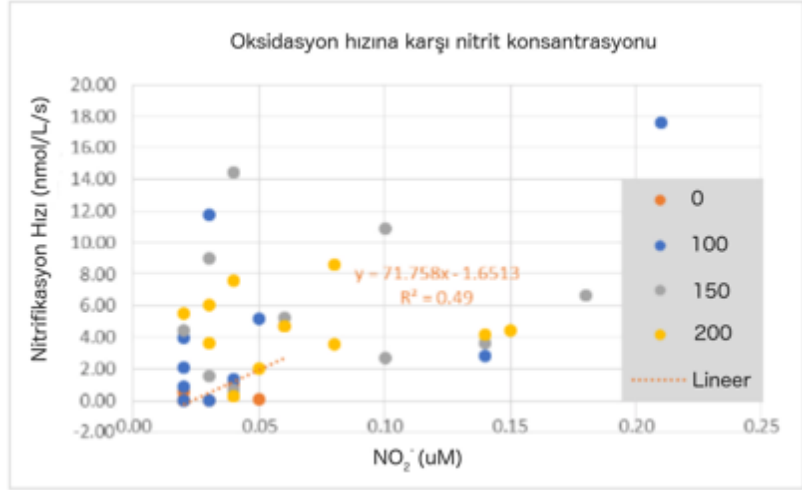
#### 3.5.1 Nitrifikasyon

Nitrifikasyon hızları tüm dönem ve derinliklerde 0,05 ile 17,61 nmol /L/saat arasında değişmektedir (Şekil 67). Yüzey sularında oranlar her zaman daha derin katmanlara göre daha düşüktür ( $0,74 \pm 0,77$ ) bulunmuştur. Su sütunu boyunca oksidasyon hızlarının en yüksek değerleri, 100 m ve 200 m arasındaki fark anlamlı olmasa da, 150 m derinlikte ( $5,92 \pm 4,38$  nmol / L / s) kaydedilmiştir. Yıl boyunca, en yüksek oranlar kışın gözlemlenmiştir (İlkbahar ile anlamlı fark var iken Yaz ve Sonbahar arasında yoktur). Sonbahara ilerlemenin ardından, oranlar düşerek en düşük seviyeye ulaşmaktadır ( $1,92 \pm 1,62$  nmol / L / s, Kış ile önemli fark). Sonbahar ve Kış arasında bildirilen nitrifikasyondaki büyük fark, fiziksel dinamiklerde kaydedilen ani değişimleri yansıtır (tabakalaşmadan dikey karışıma tüm su kolonunda). Kışın meydana gelen yüksek dinamik rejim nitrifikasyon süreçlerini desteklemektedir. Genel olarak, hem mevsimlere hem de derinliğe göre yüksek bir değişkenlik ölçülmüştür (varyasyon katsayısı % 51 ila 208 arasında değişmektedir).

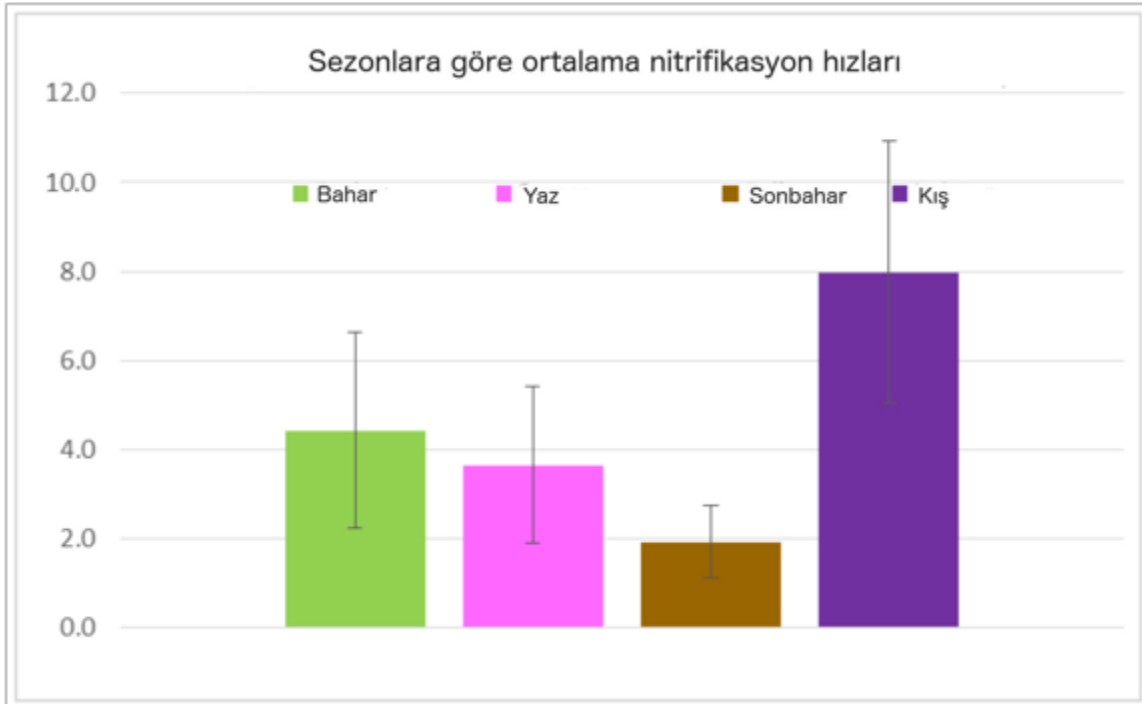
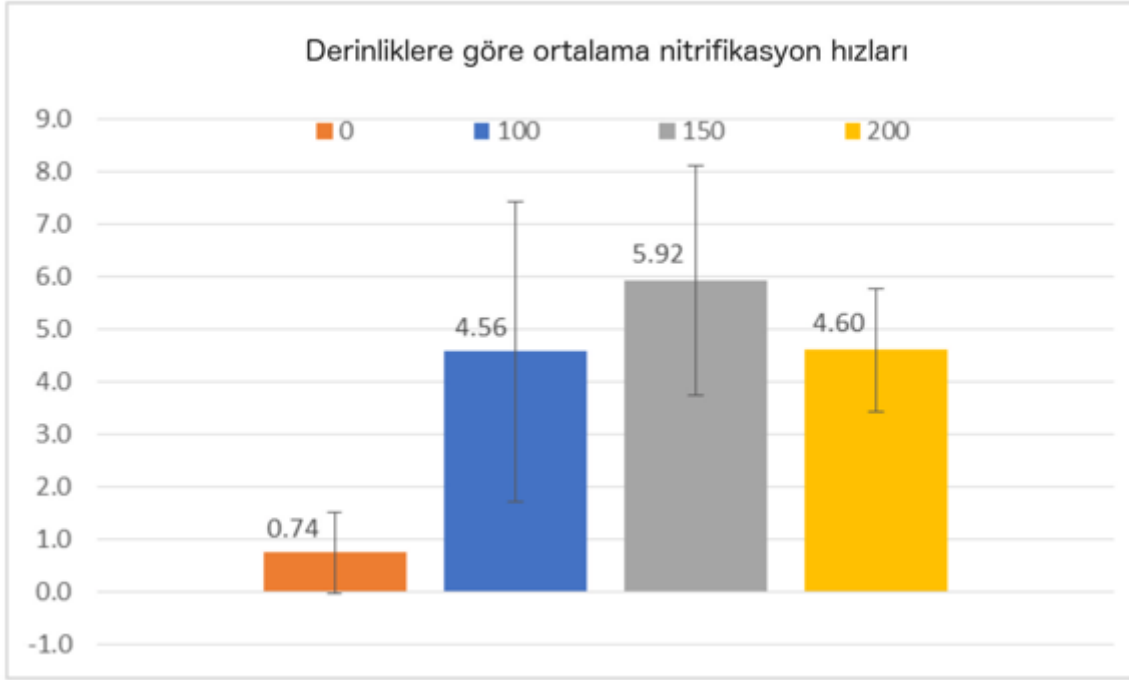
Nitrifikasyon oranları ve nitrit konsantrasyonlarının karşılaştırılması Şekil 68'de verilmiştir. Nitrifikasyon oranlarındaki (Haziran, Aralık) zirve ile üst üste gelen  $NO_2^-$ -maksimum ile birlikte, sporadik olarak ortak paternleri vurgulamış ve nitrit oksidasyonları açısından amonyum oksidasyonunun daha aktif olduğu özel durumları göstermektedir. Bununla birlikte, nitrifikasyon oranlarını ölçmek için bu çalışmada kullanılan yöntem, nitrifikasyonun iki fazını (amonyum ve nitrit oksidasyonu) ayırt edemediğinden, net bir ilişki gözlenememiştir.



Şekil 67. Ocak-Aralık 2017 arasında ETS-200'de nitrifikasyon hızlarının (nmol/l/s) dikey profilleri (üst), nitrit konsantrasyonlarına (alt) kıyaslaması.



Şekil 68. Nitrifikasyon oranları ile (N) besinlerin ilişkisi. Nitrit (üst), Nitrat (orta) ve Amonyum (alt)



Şekil 69. Ocak-Aralık 2017 tarihleri arasında ETS-200'de dört derinlikte nitrifikasyon hızlarının (nmol/l/s) ortalama ve standart sapması (üst) ve ETS-200'de mevsimsel nitrifikasyon hızlarının (nmol/l/s) ortalama ve standart sapması Ocak-Aralık 2017 (alt).

Tablo 10. Tekrarlar dahil olmak üzere tüm oksidasyon hızları (nitrifikasyon) verilerinin istatistikleri.

Örnekleme tarihi	Derinlik (m)	Ortalama oksidasyon Oranları (nmol / L / h)	St Dev	CV (%)	N Örnekler
Ocak-17	100	11,74	0,62	5,3	2
Ocak -17	200	5,49	0,95	17,2	2
Mart-17	0	4,73	0,13	2,7	3
Mart -17	100	2,07	0,18	8,9	2
Mart -17	150	0,67	0,33	48,7	2
Mart -17	200	0,30	0,11	36,4	2
Nisan-17	0	0,00	0,00	90,2	3
Nisan-17	100	5,17	0,22	4,2	2
Nisan -17	150	8,99	0,81	9,0	2
Nisan -17	200	3,64	0,16	4,4	3
Nisan -17	0	0,53			1
Mayıs-17	100	3,96	0,20	5,0	2
Mayıs-17	150	14,42	2,66	18,4	3
Mayıs-17	200	8,60	2,90	33,8	2
Haziran-17	0	0,00	0,01	277,0	3
Haziran -17	100	2,85	0,25	8,9	2
Haziran -17	150	6,67	4,55	68,2	3
Haziran -17	200	4,73	0,98	20,7	2
Temmuz-17	100	0,00	0,00	127,0	2
Temmuz -17	150	5,28	0,87	16,5	2
Temmuz -17	200	3,59	0,30	8,3	2
Ağustos-17	0	0,01	0,00	45,2	2
Ağustos -17	100	0,00	0,00	7,5	2
Ağustos -17	150	10,92	2,63	24,1	3
Ağustos -17	200	6,03	0,36	6,0	3
Eylül -17	0	0,25	0,18	71,8	2
Eylül -17	150	1,54	1,22	79,2	3
Eylül -17	200	2,05	0,27	13,2	3
Ekim-17	0	0,01	0,01	113,4	3

Ekim -17	100	1,34	0,70	52,2	3
Ekim -17	150	2,68	0,23	8,6	2
Ekim -17	200	4,19	0,68	16,2	3
Kasım -17	0	0,09	0,08	87,0	3
Kasım -17	100	0,90	0,63	69,8	3
Kasım -17	150	3,62	0,13	3,7	2
Kasım -17	200	4,43	0,16	3,6	3
Aralık 17	0	1,05	0,20	18,8	2
Aralık -17	100	17,61	0,82	4,7	3
Aralık -17	150	4,43	0,52	11,8	3
Aralık -17	200	7,58	0,78	10,3	3

Tablo 11. Mevsimlerin ve farklı derinliklerin oksidasyon hızları (nitrifikasyon) istatistikleri

		<b>Asgari (nmol/L/h)</b>	<b>Maksimu m (nmol/L/h)</b>	<b>Ortalama oksidasyo n oranları (nmol/L/h)</b>	<b>St Sap</b>	<b>CV (%)</b>	<b>N (count)</b>
Bütün bilgiler		0,00	17,61	4,05	4,18	103,2	40
Sezon	İlkbahar (Mar-May)	0,00	14,42	4,42	4,38	99,0	12
	Yaz (Haz-Auğ)	0,00	10,92	3,64	3,54	97,1	11
	Sonbahar (Eyl-Kas)	0,01	4,43	1,92	1,62	84,4	11
	Kış (Ara-Şub)	1,05	17,61	7,98	5,90	73,9	6
Derinlik (m)	0	0,00	4,73	0,74	1,54	207,5	9



	100	0,00	17,61	4,56	5,74	125,8	10
	150	0,67	14,42	5,92	4,38	73,9	10
	200	0,30	8,60	4,60	2,34	50,9	11

### 3.5.2 N<sub>2</sub>- Fiksasyonu

Azot fiksasyonu oranları, tüm mevsimler ve derinlikler için, tüm örnekleme periyodunda, genellikle 0,01 ve 3,31 (ortalama  $\pm$  SD: 0,56  $\pm$  0,71 nmol N l-1d-1, aşağıdaki tabloya bakınız) arasında çok düşük olarak seyretti. Toplanan tüm örneklerin büyük bir yüzdesi (53 örnek, % 45) yöntemin tespit limitinin altındadır.

Genel olarak, en yüksek N<sub>2</sub> sabitleme oranları tüm su sütunu boyunca Şubat ayında (1,32-1,93 nmol NI-1 d-1) kaydedilmiştir. Bu, örnekleme periyodu boyunca kaydedilen maksimum klorofil miktarıyla örtüşmektedir, bu dönemde Chl-a'nın tüm derinliklerdeki ortalaması 0,032  $\mu$ g/L, örnekleme periyodu boyunca diğer aylarla kıyaslandığında en yüksek değerdir. Sayısal olarak, bu maksimum N<sub>2</sub> fiksasyon oranları, NO<sub>2</sub>- + NO<sub>3</sub>-konsantrasyonları, kış karışımından dolayı, 0,19 ile 0,51  $\mu$ M arasında değişen çok yüksek değerler gösterdiğinde meydana gelmiştir.

Nisan-Ağustos 2017 arasında, minimum Chl-a konsantrasyonları kaydedildiğinde (0,004 $\mu$ g/L), N<sub>2</sub> fiksasyon oranları, minimum seviyede (0,01-0,68 nmol N-l-1 d-1) gözlemlenmiştir ve deteksiyon limiti altında çok sayıda örnek bulunmaktadır. Bununla birlikte, Mayıs ve Haziran örneklemesinin eksikliğinden dolayı, genel oligotrofik besin rejimine (NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub> ve fosfat) karşılık gelen tam yıllık trendin değerlendirilmesi mümkün olmamıştır. Temmuz ve Ağustos aylarında, hem N hem de fosforun minimum değerleri gözlemlendiğinde, N<sub>2</sub> fiksasyon oranları genellikle düşüktür ve yüzey altı tabakasında (100m derinlik) pikler görülmüştür.

NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub> konsantrasyonlarının (0,08 ila 0,16  $\mu$ M aralığındaki) kademeli bir düşüşten sonra artması, Eylül 2016'dan Kasım 2016'ya kadar gerçekleşmektedir, ardından tüm su sütunundaki (kış dikey karışıma bağlı) konsantrasyonların artması, ya N<sub>2</sub> fiksasyon hızını olumlu yada olumsuz etkilememiştir. Ayrıca N<sub>2</sub> fiksasyon hızı analiz edilen tüm biyokimyasal parametrelerle (besin tuzları, DO, çözülmüş organik madde) çok sınırlı bir korelasyon göstermiştir.

Tablo 12. Replikatlar dahil olmak üzere tüm azot fiksasyon oranlarının istatistikleri

Tarih	Derinlik (m)	Azot fiksasyonu Ortalama (nmol-N / l d)	SD	N örnekleri	CV (%)
Ocak -17	0				
Ocak -17	100	0,16	-	1	-
Ocak -17	150	N/A	-	-	-
Ocak -17	200	0,07	0,05	2	75
Şubat-17	0m	1,32	0,36	3	27
Şubat-17	50	1,92	0,56	3	29
Şubat-17	150	1,68	0,34	3	20
Şubat-17	200	N/A	-	-	-
Mar-17	0	0,44	0,07	2	16
Mar-17	100	0,34	0,23	2	68
Mar-17	150	0,05	-	1	-
Mar-17	200	BDL	-	-	-
Nisan-17	0	N/A	-	-	-
Nisan-17	100	N/A	-	-	-
Nisan-17	150	N/A	-	-	-
Nisan-17	200	1,13	1,88	3	166
Mayıs-17	0	N/A	-	-	-
Mayıs-17	100	N/A	-	-	-
Mayıs-17	150	N/A	-	-	-
Mayıs-17	200	N/A	-	-	-
Haziran-17	0	N/A	-	-	-
Haziran-17	100	N/A	-	-	-
Haziran-17	150	N/A	-	-	-
Haziran-17	200	N/A	-	-	-

4 Temmuz-17	0	0,30	0,34	3	113
4 Temmuz-17	100	1,28	1,46	2	115
4 Temmuz-17	150	0,03	0,03	2	115
4 Temmuz-17	200	BDL	-	-	-
20 Temmuz-17	0	BDL	-	-	-
20 Temmuz-17	100	BDL	-	-	-
20 Temmuz-17	150	0,21	0,01	2	5
20 Temmuz-17	200	0,46	0,14	3	30
Ağustos-17	0	0,32	0,03	3	8
Ağustos-17	100	0,28	0,06	3	21
Ağustos-17	150	0,69	0,16	3	23
Ağustos-17	200	BDL	-	-	-
Eylül-17	0	0,08	0,05	3	58
Eylül-17	100	0,18	0,02	3	12
Eylül-17	150	0,85	0,05	3	5
Eylül-17	200	0,70	0,01	3	2
Ekim-17	0	0,13	0,03	2	20
Ekim-17	100	0,03	-	1	-
Ekim-17	150	0,71	-	1	-
Ekim-17	200	BDL	-	-	-
Kasım-17	0	BDL	-	-	-
Kasım-17	100	BDL	-	-	-
Kasım-17	150	BDL	-	-	-
Kasım-17	200	BDL	-	-	-
Aralık-17	0	0,03	-	1	-
Aralık-17	150	0,55	-	1	-
Aralık-17	150	0,59	0,03	3	5
Aralık-17	200	0,67	0,02	3	2

Tablo 13. Ocak-Aralık 2017 dönemi için ETS-200'de azot fiksasyon oranları.

	Minimum	Maksimum	Azot fiksasyonu Ortalama (nmol-N / l d)	SD	CV (%)	n örnekleme
Tüm veriler	0,01	3,31	0,56	0,71	126	65

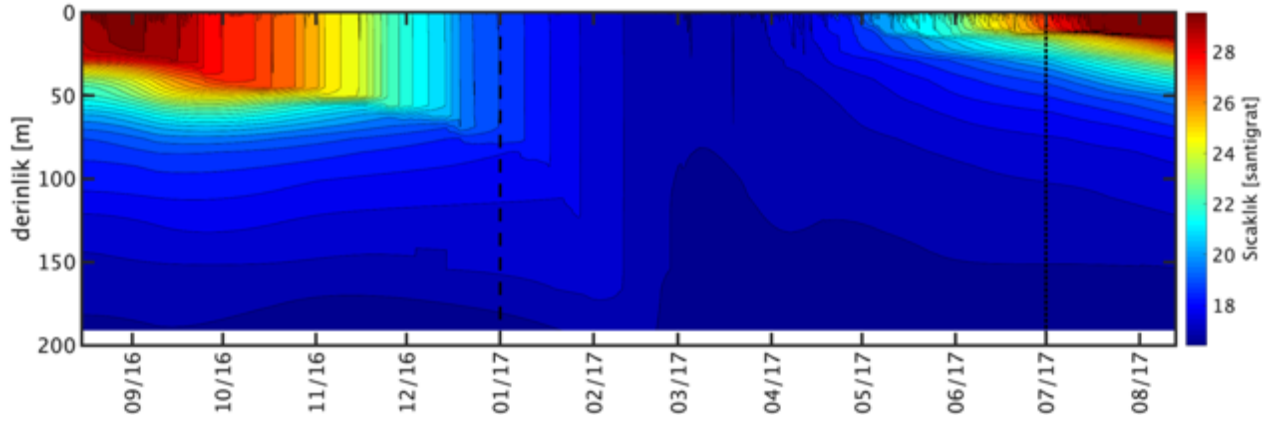
### 3.6 Mikroorganizmalar tarafından yürütülen reaksiyon hızlarının ölçümler ve ters modelleme yaklaşımı ile belirlenmesi

#### 3.6.1 Fiziksel modelin ETS istasyonuna uyarlanması ve çalıştırılması

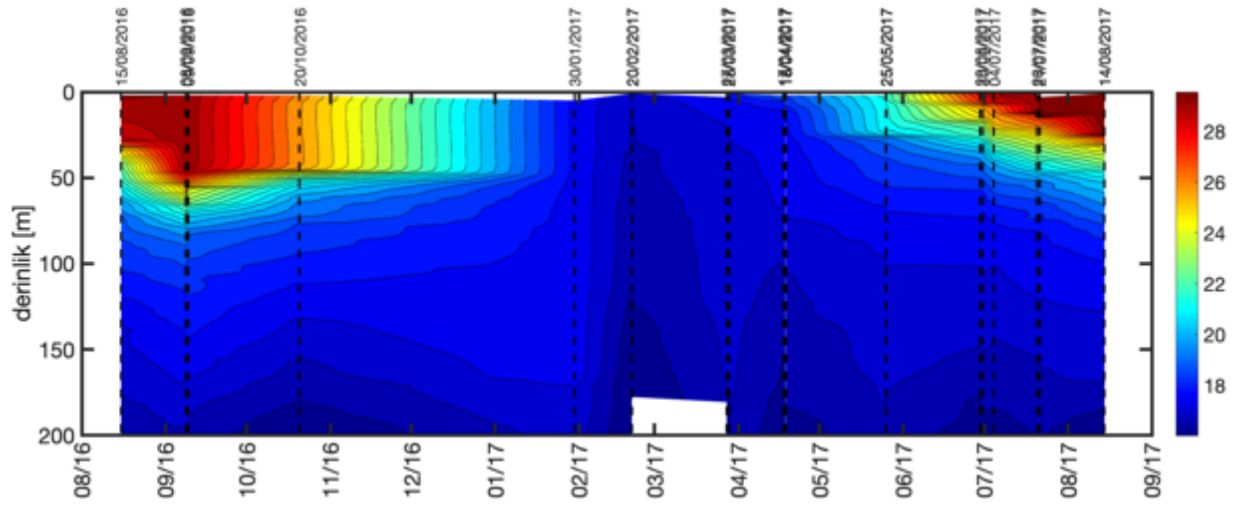
Proje kapsamında ETS 200m ölçüm istasyonuna uyarlanan fiziksel modelin sıcaklık ve tuzluluk için gerçekleştirdiği tahminler ve karşılaştırma için bu istasyonda yapılan yerinde ölçümler Şekil 70'de sunulmuştur. Modelin rahatlatma (relaxation) yöntemi ile ölçüm değerlerine itilmesi modelin ölçümlere yaklaşımda yüksek başarısının ana nedenidir. Burada önemli başarı kriterlerinden biri modelin ölçüm olamayan zamanlarda ürettiği sonuçların beklenen değer aralığında olmasıdır ve modelin bu hususta başarılı olduğu görülmektedir. Ayrıca model ölçülmeyen ancak biojeokimyasal model öğeleri için önem taşıyan değerler için de veri sağlamaktadır. Bu değerlere örnek besinlerin ve canlıların su kolonundaki taşınımını sağlayan türbülanslı kinetik enerjidir (Şekil 70 (E)).

Model çıktıları Akdeniz'in bu bölgesi için tipik bir döngü sergilemektedir. Mayıs-Haziran aylarında yüzey suları ısınır ve bu sebeple ortaya çıkan yoğunluk azalması tabakalaşmaya neden olur. Örnekleme periyodu başında termoklinin yaklaşık 30 metrede, yine Ağustos ayına denk gelen son ölçümlerde de 15-20 metrede olduğu görülmektedir. Ekim-Ocak aylarında artan rüzgarlar ve düşen su yüzeyi sıcaklıkları termoklinin erimesine neden olur ve Şubat-Mart aylarına gelindiğinde bu erimenin tamamlandığı ve su kolonunun neredeyse tamamen karışmış olduğu görülmektedir.

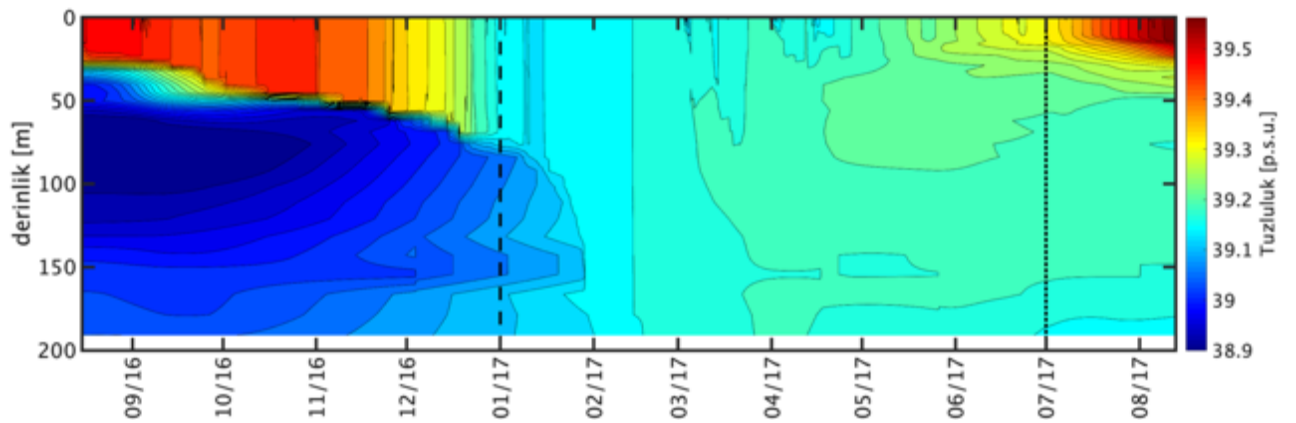
A)



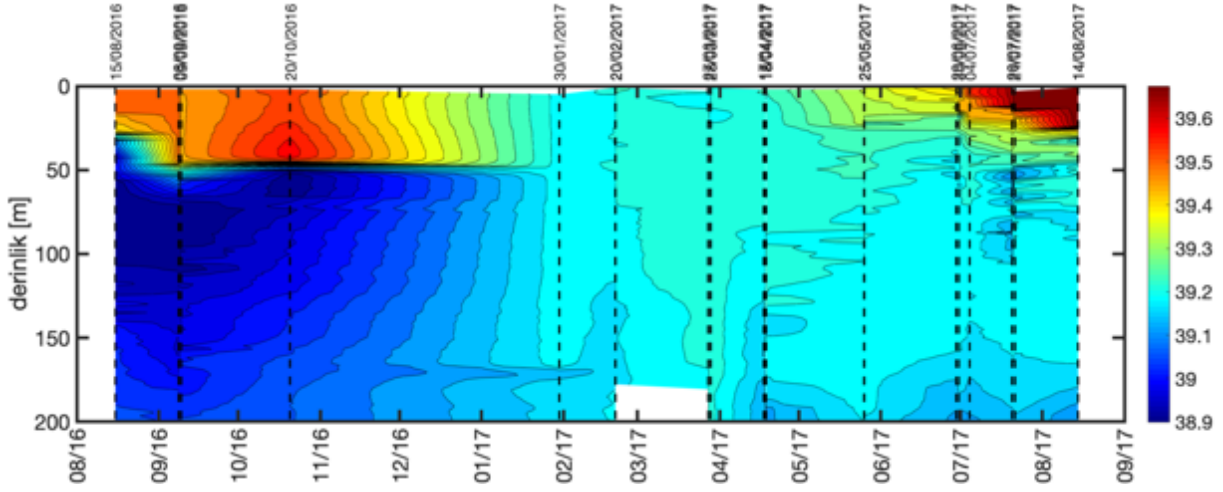
B)



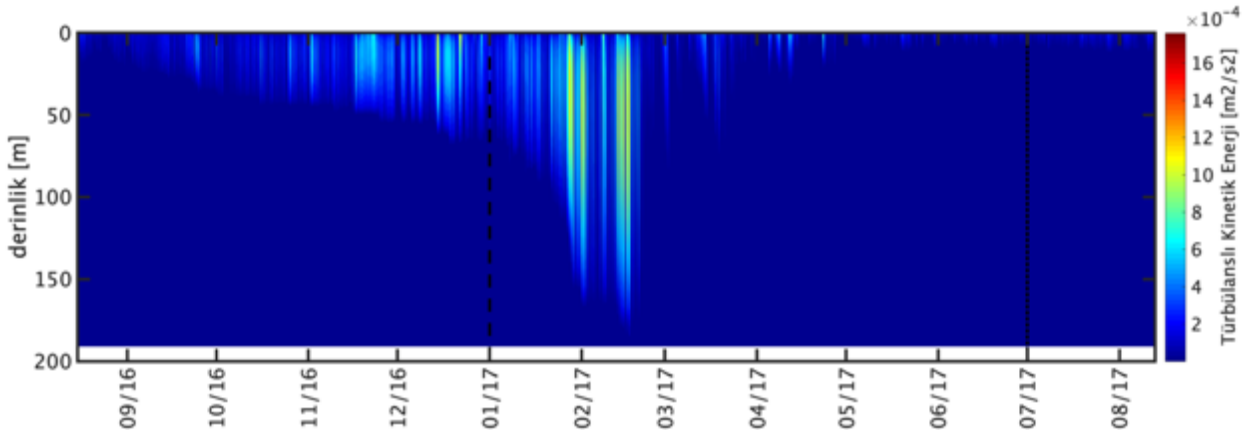
C)



D)



E)

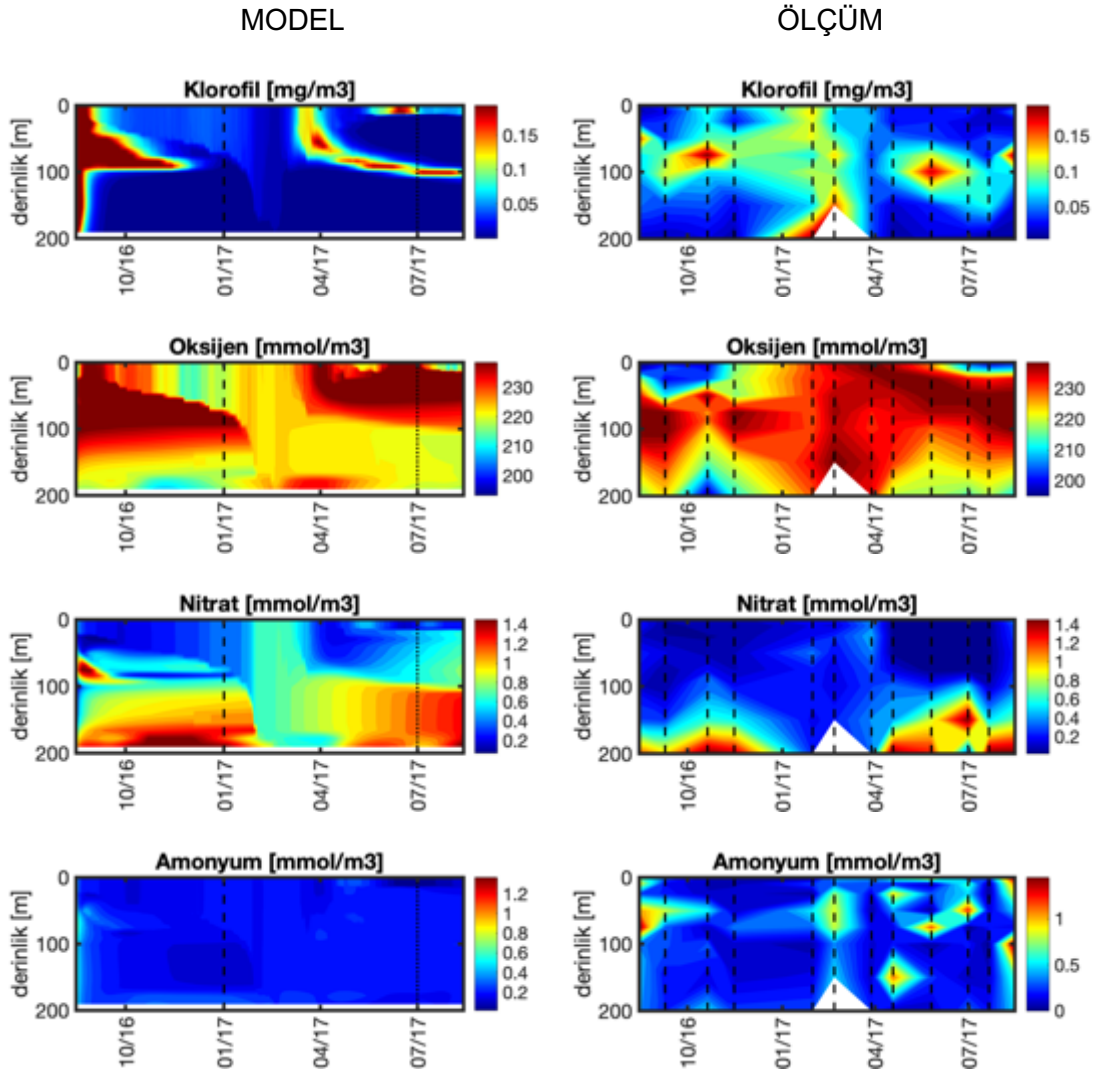


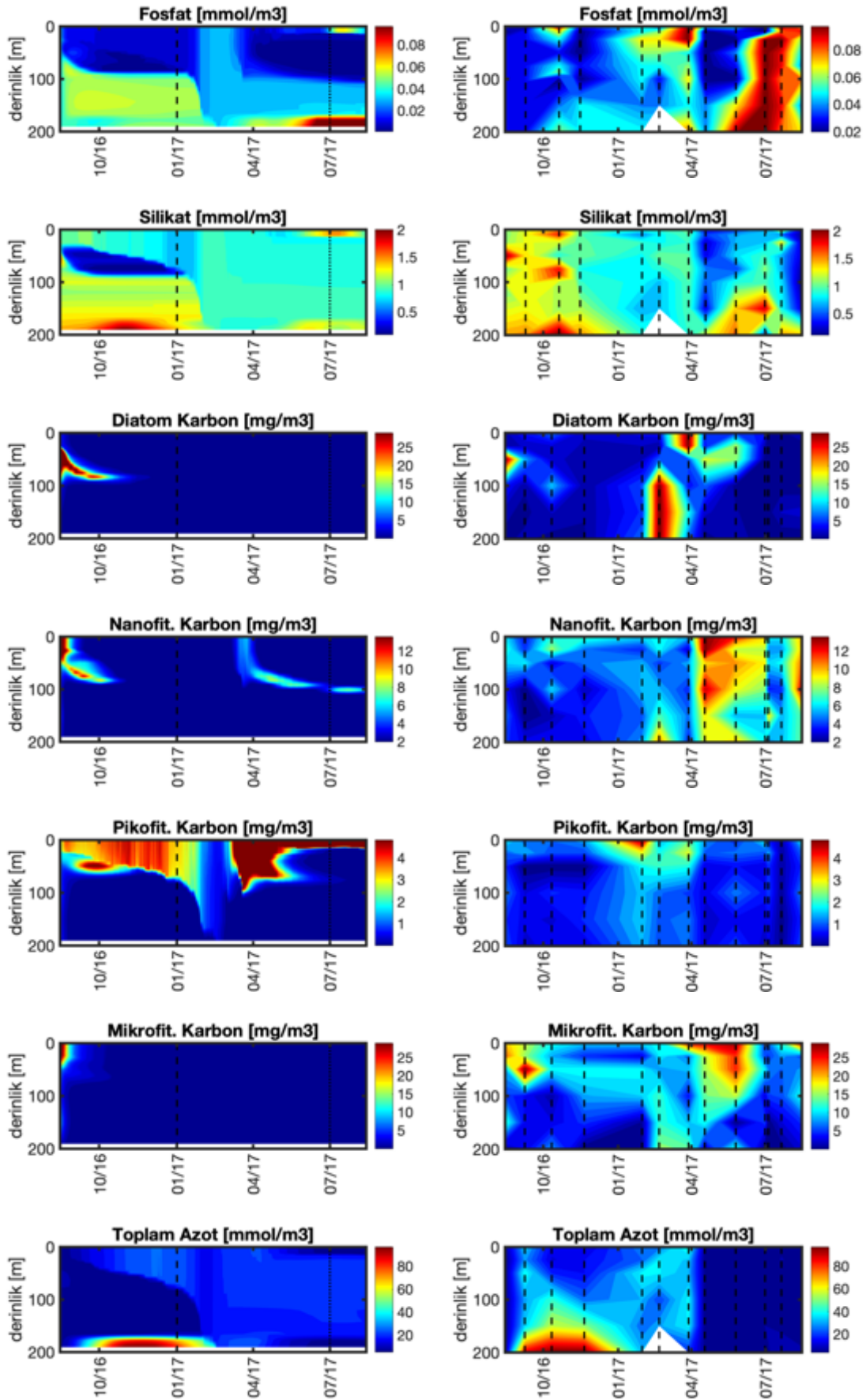
Şekil 70. Fiziksel modelin örnekleme yılı için tahmin ettiği (A) sıcaklık, (C) tuzluluk ve (E) türbülanslı kinetik enerji değerleri. Ek olarak karşılaştırma için yerinde ölçülen (B) sıcaklık ve (D) tuzluluk değerleri. Ölçüm grafiklerinde ölçüm yapılan zamanlar dikey çizgilerle ve tarihleriyle belirtilmiştir

### 3.6.2 Biyojeokimyasal modelin geliştirilmesi ve uygulanması

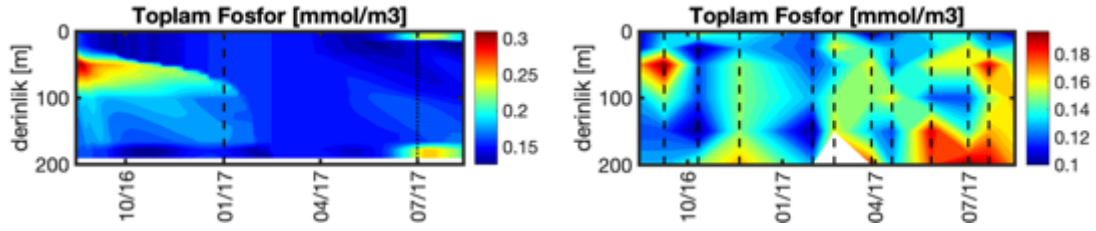
ERSEM modeli ile daha önce yapılan bir modelleme çalışmasından kullanılan parametre seti ile Yöntem bölümünde açıklanan başlangıç koşulları kullanılarak çalıştırılan modelin tahminlerinin ölçümlerle karşılaştırılması Şekil 71'de sunulmuştur. Model kış aylarında yüzeye yakın klorofil değerlerini ölçümlere kıyasla daha düşük, yaz aylarında yüzey altı (50-100m) klorofil değerlerini ise yüksek tahmin etmektedir. Bunun nedeni modelde herhangi bir zamanda yüzeyde kayda değer değerlere ulaşan tek türün Pikofitoplankton olması ve bu türün de biyokütle olarak yüksek değerlere çıkmamasıdır. Bunun aksine model tarafından yaz ayları için tahmin edilen Derin Klorofil Maksimumu (DKM)'ndeki yüksek klorofil değerleri modelin bu derinlik ve zamanlarda nanofitoplankton ve diatomların biyokütlelerini yüksek tahmin etmesinden kaynaklanmaktadır. Ölçümlerin aksine model mikrofıtoplankton için örnekleme

süresinin başı dışında düşük değerler sergilemektedir. Model oksijenin genel dinamiklerini doğru tahmin edebilse de yaz ve sonbahar aylarında yüzey altı değerleri ölçümlerin üstündedir ve bu zamanlardaki nanofitoplankton ve diatom biyokütlesinin yüksek tahmin edilmesinden kaynaklanmaktadır. Ölçümlere bakıldığında yaz-sonbahar döneminde yüzeye yakın sularda oksijenin göreceli olarak düşük olduğu gözlemlenebilir ancak model bu değerleri ölçümlerden yüksek tahmin etmektedir ve bunun nedeninin modelde pikofitoplankton biyokütlesinin bu dönemlerde ölçümlere kıyasla yüksek tahmin edilmesidir. Model inorganik besin tuzları nitrat, fosfat ve silikat'ı 75-150m arasında ölçümlerden yüksek tahmin etmektedir ve nanofitoplankton ve diatomlarda görülen yüksek biyokütlenin bu nedenle oluştuğu düşünülmektedir. Amonyak ölçümlere kıyasla modelde düşük değerlerde seyretmektedir. Bunun ve 75m derinliğin altındaki anorganik besin değerlerinin ölçümlere kıyasla yüksek olmasının yüksek nitrifikasyon ve fosfat dönüşümünden (remineralizasyonundan) olduğu düşünülmektedir.







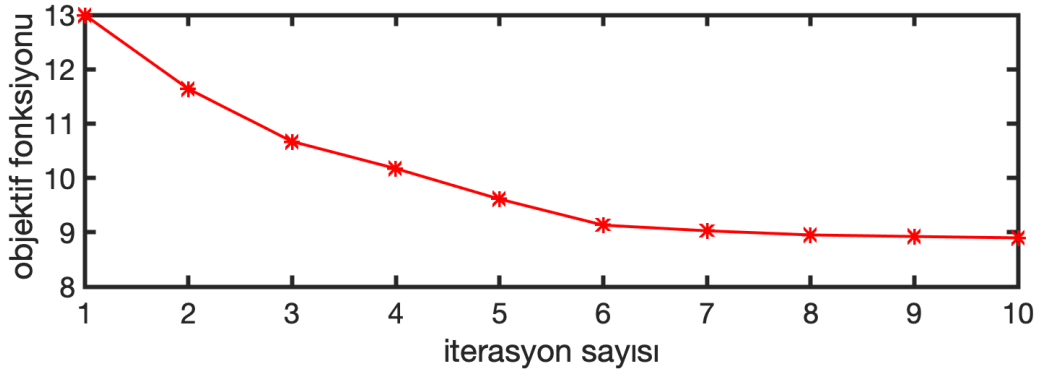


Şekil 71. Literatürden alınan parametre değerleri ile yapılan simülasyon tahminleri ile ölçülen değerlerin karşılaştırılması.

Kullanılan bu parametre seti ile genel olarak biyojeokimyasal modelin performansının düşük olduğu görülmektedir. Model fitoplankton dinamiklerini, oksijen kullanımını ve remineralizasyon süreçlerini doğru tahmin edememektedir. Bunun birkaç nedeni olduğu düşünülmektedir. Bunlardan biri biyojeokimyasal model parametrelerinin ETS istasyonu için kalibre edilmemiş olmasıdır. Parametre tahmini bu performans düşüklüğünü bir kademe gidermektedir (bkz. Şekil 68). Diğer bir unsur ise başlangıç koşullarındaki belirsizliktir. Bu belirsizlik ölçüm değerlerindeki deneysel belirsizlikten ve ölçüm yapılan değerleri modelin kullandığı birimlere çevirirken yapılan varsayımlardan kaynaklanmaktadır. Fitoplankton türleri ve heterotrofik bakteriler modelin birimi olan biyokütle olarak değil bolluk olarak ölçülmüş ve literatürden bulunan çarpanlar ile tahmini biyokütleyle dönüştürülmüştür. Zooplankton türleri için ise hiç veri bulunmamaktadır ve başlangıç koşulları tamamen tahminidir. Bunun yanı sıra çözünmüş organik madde için kullanılan değerler toplam azot ve toplam fosfor değerlerinden partikül organik madde ve inorganik azot ve fosforun çıkarılmasından elde edilmiştir. Farklı yöntemlerle ölçülen değerlerin birbirinden çıkarılarak elde edilmeleri çözünmüş organik madde değerlerinde belirsizliklere neden olmaktadır. Başlangıç koşullarındaki azot, fosfor, karbon ve silikon miktarlarının ve model öğeleri içinde dağılımlarının ölçümlerden biraz farklı olması model simülasyonunun ileri tarihler için yaptığı tahminlerin de ölçümlerden biraz uzak olmasına neden olmaktadır.

### 3.6.3 Optimizasyon tabanlı parametre tayini

Biyogeokimyasal model, temsil ettiği süreçlerin hızlarını ve bu süreçlerin hızlarının model öğelerinin derişimleri ile nasıl değiştiğini kontrol eden birçok parametre içermektedir. Parametre tahmin sistemi kullanılarak bu parametreler ETS 200m istasyonu için kalibre edilmiş ve modelin yapısı elverdiği miktarda ölçümlerle tahminlerin farkını en düşük kılan parametre değerleri elde edilmiştir. Model ile ölçümlerin farkını ölçen objektif fonksiyonunun parametre tahmin sisteminin iterasyonları ile azalması Şekil 72'de görülmektedir. Sistem sonuç parametrelere ulaşmak için 10 optimizasyon iterasyonu gerçekleştirmiştir ve objektif fonksiyonunda %30'luk bir azalma elde edilmiştir.



Şekil 72. PEST optimizasyon algoritmasının objektif fonksiyonu ve dolayısıyla tahmin-ölçüm farkını iteratif bir şekilde minimize etmesi

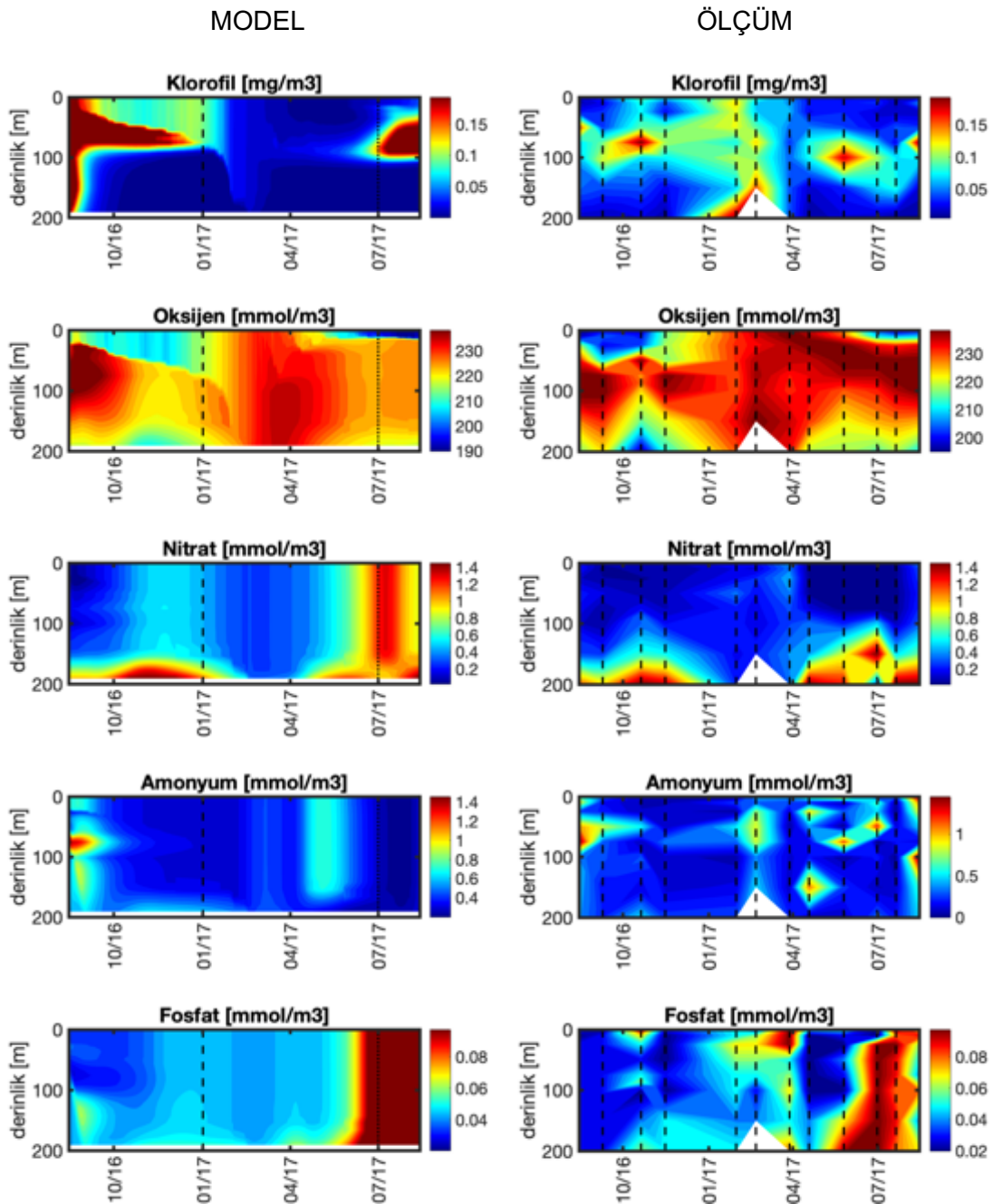
Parametre tahmin sistemine başlangıç koşulu olarak verilen parametreler, objektif fonksiyonunu minimize eden parametreler ve bunların yüzdelik farkları Tablo 15’de verilmiştir. Elde edilen yeni parametre değerleri ile çalıştırılan biyojeokimyasal modelin tahminleri, karşılaştırma için ölçümlerle birlikte Şekil 73’de gösterilmiştir. Yeni fitoplankton türleri tahminlerine bakıldığında mikrofıtoplankton biyokütlesinde kayda değer bir iyileşme olduğu görülmektedir. Başlangıç parametre setiyle yapılan simülasyonlarda mikrofıtoplankton örnekleme dönemi başı hariç hiçbir dönemde biyokütleyle sahip değilken yeni parametrelerle yapılan simülasyonda ölçümlere yaklaştığı gözlemlenmektedir. Ancak ölçümlerde şubat ayında deniz tabanında görülen biyokütle artışı model tarafından tahmin edilememiştir ve bu tüm fitoplankton grupları için de geçerlidir. Tüm fitoplankton gruplarında görülen bu artışın model tarafından temsil edilemesin nedeni olarak iki olasılık düşünülmektedir. Bunlardan biri burada sayılan hücrelerin ölü hücre olma ihtimalidir. İkinci bir ihtimal ise modelin bentik modülü olmaması nedeniyle karışım döneminde deniz tabanından su kolonuna karışan besin ve organik madde miktarını doğru tahmin edememesidir.

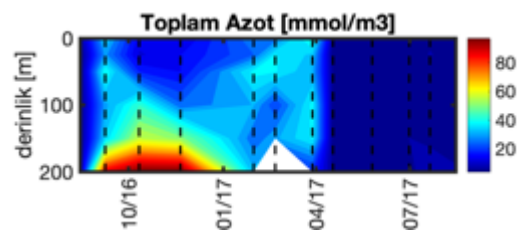
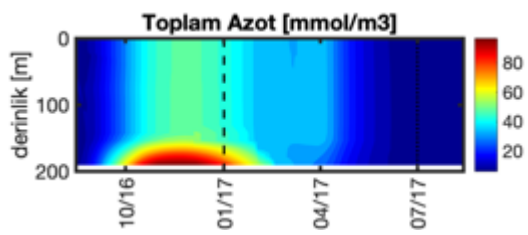
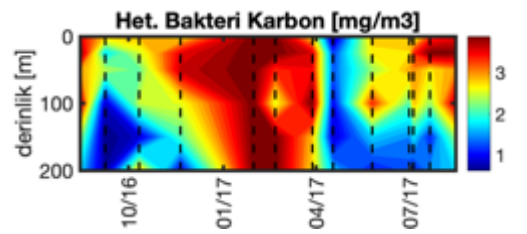
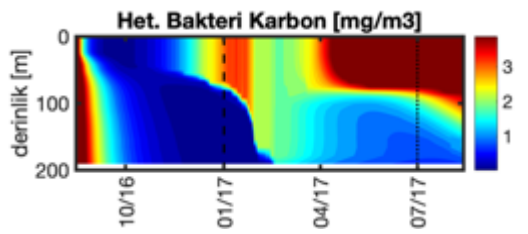
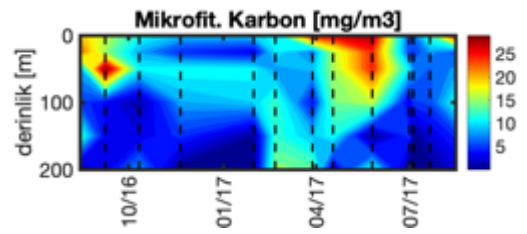
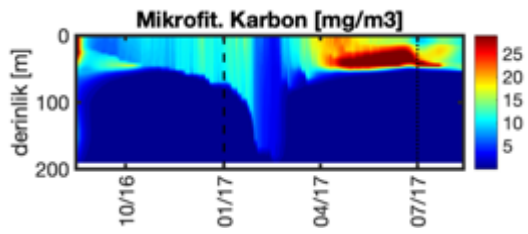
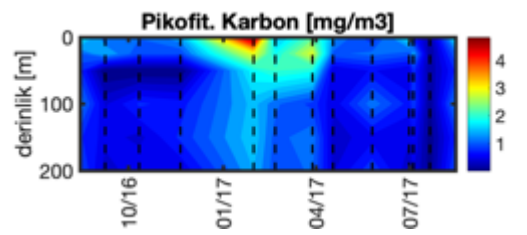
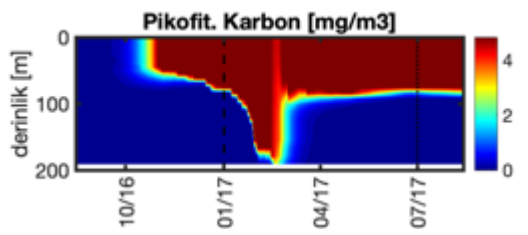
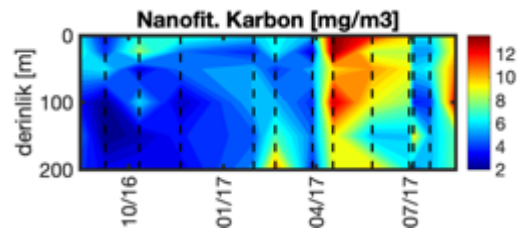
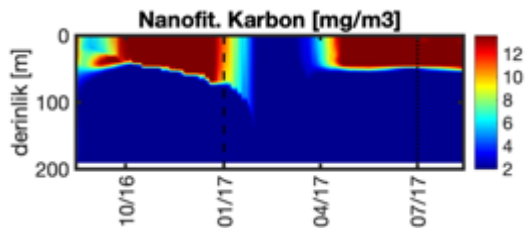
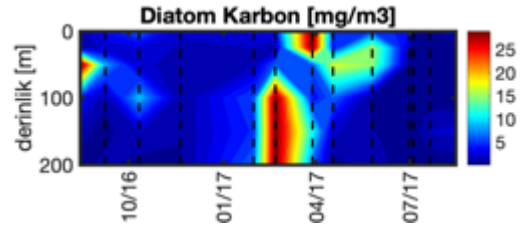
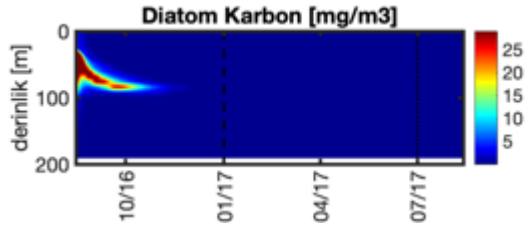
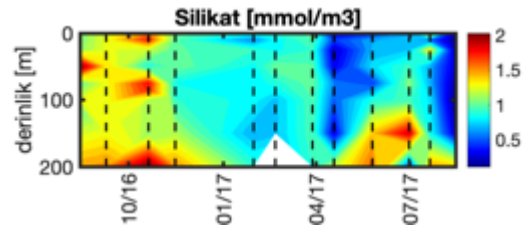
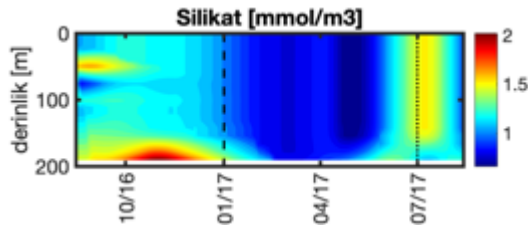
Model başlangıç parametre setinde olduğu gibi diatom biyokütlesini sadece ölçüm süresinin başındaki patlamada doğru tahmin edebilmiştir. Şubat-Mart aylarında su kolonu boyunca görülen yüksek biyokütle model tarafından temsil edilememiştir ve bunun olası nedenleri bir önceki paragrafta verilmiştir. Pikofıtoplankton değerleri bu parametre setinde de ölçülenden yüksektir. Ancak Ağustos-Kasım ayları arasındaki tahminlerde iyileşme vardır. Nanofıtoplankton patlamalarındaki zamanlama yeni parametre setinde eskisine göre daha doğru tahmin edilmiştir ancak modellenen değerler ölçülenlerden yüksek kalmıştır.

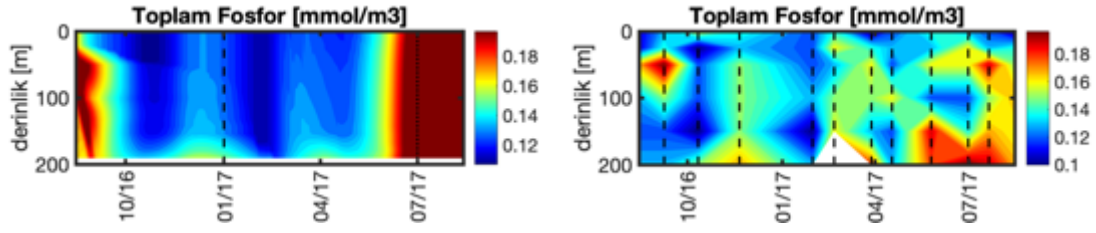
Yeni parametre setiyle yapılan simülasyonlarda fitoplankton gruplarındaki iyileşme klorofil değerlerine de yansımıştır. Model yeni parametre setiyle Ağustos-Ocak ayları yüzey suları klorofil değerlerine daha iyi yakalayabilmiştir. Ancak eski parametre setinde olduğu gibi model tahminleri ölçümlere göre yüksektir ve karışım ayları olan Subat ve Ocak’ta ölçümlerde görülen

yüksek değerler temsil edilememiştir. Aynı şekilde fitoplankton gruplarındaki iyileşme oksijen tahminleri için de olumlu bir etki yaratmıştır. Oksijen değerleri yeni parametre setinde neredeyse her dönem ve derinlikle ölçümlere daha yakındır.

Yeni parametre seti inorganik besin tuzları değerlerinde de ölçümlere yaklaşmayı sağlamıştır. Başlangıç parametre setinde bu öğelerde 75-150m arasında gözlemlenen yüksek değerlerin gözlemlere yakınlaşarak düştükleri görülmektedir. Özellikle amonyum, fosfat ve silikat ölçülen değerle kaydı değer bir miktarda yaklaşmıştır. Bu durum nitrat için de geçerli olsa da nitrat değerleri Aralık ve Temmuz aylarında yüksek yüzey değerleri sergilemektedir.

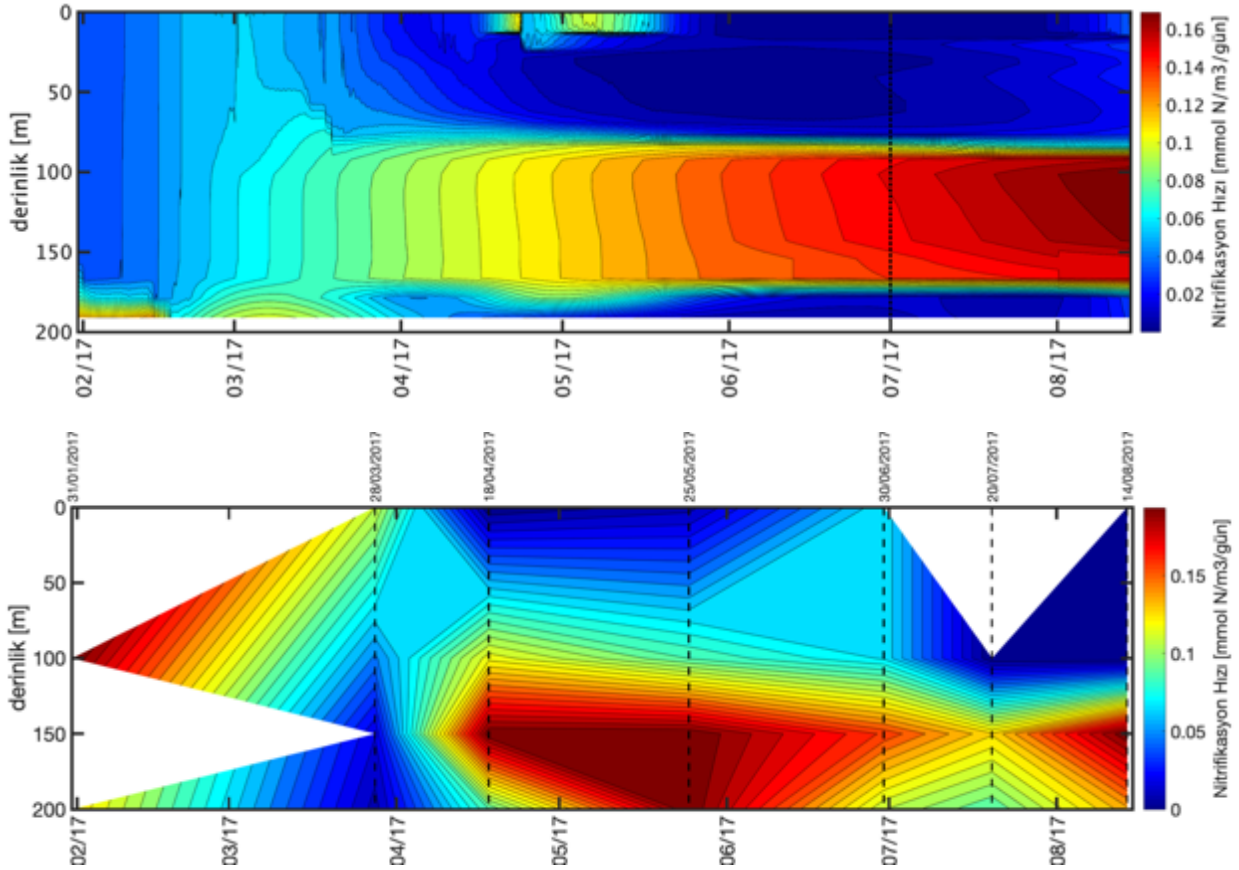






Şekil 73. PEST ile tahmin edilen parametre değerleri kullanılarak yapılan simülasyon tahminleri ile ölçülen değerlerin karşılaştırılması.

Şekil 74’de parametre tahmin sistemi ile tahmin edilen parametre değerleri kullanılarak yapılan simülasyonun nitrifikasyon hızı için yaptığı tahminler proje kapsamında izotop yöntemi ile yapılan ölçümlerle karşılaştırılmıştır. Model yaklaşık değerleri ve yüzey suları ile derin sular arasındaki farkı doğru temsil edebilmiştir ancak görüldüğü üzere ölçülen değerler modellene göre daha fazla değişkenlik göstermektedir.



Şekil 74. Yeni parametre değerleri kullanılarak yapılan simülasyonun nitrifikasyon hızı için yaptığı tahminlerin proje kapsamında izotop yöntemi ile ölçülen değerlerle karşılaştırılması

Genel olarak parametre tahmin sistemi ile değerleri bulunan parametreler model tahmin başarısında kayda değer bir iyileşme sağlamıştır. Fitoplankton gruplarının zamansal

dinamikleri model tarafından daha gerçekçi tahmin edilmiştir ve nitrifikasyon ve remineralizasyon gibi heterotrofik bakteriler tarafından gerçekleştirilen süreçlerde yaşanan iyileşmeler inorganik besin değerlerine de yansımıştır. Bununla birlikte model birincil üretim miktarını ölçülenden yüksek tahmin etmektedir ve bu tüm diğer öğelerin tahmin başarısını düşürmektedir. Modelin parametre tahmini öncesi ve sonrası nitrat, fosfat ve klorofil a için yaptığı tahminlerin başarısı sayısal olarak Tablo 14'de gösterilmiştir.

Tablo 14. Parametre tahmini öncesi ve sonrası modelin nitrat, fosfat ve klorofil a değerleri için tahmin kapasitesini gösteren hataların ortalama kare kökü (*ing.* root mean squared error), sapma (*ing.* bias) ve korelasyon (*ing.* correlation) değerleri.

	HOKK		Sapma		Korelasyon	
	Öncesi	Sonrası	Öncesi	Sonrası	Öncesi	Sonrası
<b>Nitrat [mmol/m<sup>3</sup>]</b>	0,33	0,19	+0,61	+0,44	0,42	0,47
<b>Fosfat [mmol/m<sup>3</sup>]</b>	0,05	0,03	+0,05	+0,07	0,55	0,63
<b>Klorofil a [mg/m<sup>3</sup>]</b>	0,22	0,18	+0,16	+0,16	0,30	0,28

Model tahminlerinde yaşanan iyileşmenin potansiyel iyileşmeden az olduğu düşünülmektedir. Parametre tahmin sisteminin başarısını sınırlayan en önemli faktörler arasında sisteme başlangıçta verilen parametre değerleri ve parametre alt/üst limitlerindeki belirsizliklerdir. Bu faktörlerin minimize edilmesinde atılabilecek adımlar Tartışma bölümünde verilmiştir.

Tablo 15. Parametre tahmin sistemine başlangıç koşulu olarak verilen parametreler, objektif fonksiyonunu minimize eden yeni parametre değerleri ve bunların yüzdelik farkları

Parametre	Sembol	Birim	Başlangıç Değeri	Yeni Değer	Yüzdelik Değişim
<b>Nitrifikasyon</b>					
Q10 sıcaklık çarpanı	'NITq10'	-	2	1,5	-25
Maximum nitrifikasyon hızı	'NITsN4N3'	1/gün	0,5	0,02852954	-94,294092

Oksijen limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'NITchN3o'	(mmol O <sub>2</sub> /m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	2700	2707,97088	0,29521778
Amonyum limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi dependence of nitrification	'NITchN4n'	(mmol N/m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	0,5	1	100
<b>Organik Madde</b>					
Küçük partikül organik maddenin çöküş hızı	'R4rm'	m/gün	1	1	0
Orta boy partikül organik maddenin çöküş hızı	'R6rm'	m/gün	5	5	0
Büyük partikül organik maddenin çöküş hızı	'R8rm'	m/gün	10	10	0
<b>Heterotrofik Bakteri</b>					
Q10 sıcaklık çarpanı	'B1q10'	-	2,95	2	-32,20339

Oksijen limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'B1chdo'	mmol O/m <sup>3</sup>	0,31	0,31	0
Nitrat limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'B1chn'	mmol N/m <sup>3</sup>	0,5	0,5756694	15,13388
Fosfat limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'B1chp'	mmol P/m <sup>3</sup>	0,1	0,01	-90
Referans sıcaklıkta maksimum ölüm hızı	'B1sd'	1/gün	0,05	0,01	-80
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'B1sum'	1/gün	8,38	8,38	0
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'B1srs'	1/gün	0,01	0,01	0
Çözünmüş organik madde için maksimum dönüşüm hızı	'B1sR1'	1/gün	0,0001	0,00015548	55,48
Maksimum fosfor karbon oranı	'B1qpc'	mmol P/mg C	0,0019	0,0019	0



Maksimum azot karbon oranı	'B1qnc'	mmol N/mg C	0,0167	0,0167	0
Değişken çözülmüş organik fosforun mineralizasyon hızı	'B1sR1N1'	1/gün	0,0001	6,11E-05	-38,9
Değişken çözülmüş organik azotun mineralizasyon hızı	'B1sR1N4'	1/gün	0,0001	1,00E-05	-90
Küçük partikül organik maddenin çözülmüş organik maddeye dönüşüm hızı	'B1sRP1R1'	1/gün	0,01	0,02	100
Orta boy partikül organik maddenin çözülmüş organik maddeye dönüşüm hızı	'B1sRP2R1'	1/gün	0,0025	0,00634401	153,7604
Büyük partikül organik maddenin çözülmüş organik maddeye dönüşüm hızı	'B1sRP3R1'	1/gün	0,001	0,0005	-50
<b>Diatom</b>					

Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P1sum'	1/gün	2,5	1,5	-40
Q10 sıcaklık çarpanı	'P1q10'	-	2	3	50
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P1srs'	1/gün	0,1	0,1	0
Birincil üretimin salgılanan oranı	'P1pu_ea'	-	0,05	0,05	0
Birincil üretimin solunan oranı	'P1pu_ra'	-	0,1	0,1	0
Minimum azot karbon oranı	'P1qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,00687	0
Minimum fosfor karbon oranı	'P1qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0004288	0
Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P1xqcp'	-	1	1	0
Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P1xqcn'	-	1	1	0

Maksimum fosfor karbon oranı	'P1xqp'	-	2	2	0
Maksimum azot karbon oranı	'P1xqn'	-	2	2	0
Nitrat afinitesi	'P1qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,0025	0,00501503	100,6012
Amonyum afinitesi	'P1qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,0025	0,00229618	-8,1528
Fosfat afinitesi	'P1qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,003	0,00051673	-82,775667
Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P1snplux'	1/gün	1	1	0
Maksimum silikon karbon oranı	'P1qsc'	mmol Si/mg C	0,0118	0,0118	0
Silikat limitasyonu için Michaelis-Menten parametresi	'P1chs'	mmol/m <sup>3</sup>	0,1	0,1	0

Minimum liziz hızı	'P1sdo'	1/gün	0,05	0,05	-40
PI-eğrisinin başlangıç eğimi	'P1alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	4	3	50
Fotoinhibisyon parametresi	'P1beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,07	0,08907275	0
Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P1phim'	mg Chl/mg C	0,06	0,001	0
Besin limitasyonundan doğan maksimum çökme hızı	'P1resm'	m/gün	5	5,11236972	0
Çökmenin başladığı minimum besin seviyesi	'P1esni'	-	0,7	0,4243526	0
<b>Nanofitoplankton</b>					
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P2sum'	1/gün	3	1,5	-50
Q10 sıcaklık çarpanı	'P2q10'	-	2	1,5	-25

Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P2srs'	1/gün	0,05	0,05	0
Birincil üretimin salgılanan oranı	'P2pu_ea'	-	0,1	0,1	0
Birincil üretimin solunan oranı	'P2pu_ra'	-	0,1	0,1	0
Minimum azot karbon oranı	'P2qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,00687	0
Minimum fosfor karbon oranı	'P2qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0004288	0
Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P2xqcp'	-	1	1	0
Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P2xqcn'	-	1	1	0
Maksimum fosfor karbon oranı	'P2xqp'	-	2	2	0
Maksimum azot karbon oranı	'P2xqn'	-	1,075	1,075	0

Nitrat afinitesi	'P2qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,004	0,00089305	-77,67375
Amonyum afinitesi	'P2qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,004	0,00263889	-34,02775
Fosfat afinitesi	'P2qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,004	0,00145459	-63,63525
Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P2snplux'	1/gün	1	1	0
Minimum liziz hızı	'P2sdo'	1/gün	0,05	0,05	0
PI-eğrisinin başlangıç eğimi	'P2alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	5	6	20
Fotoinhibisyon parametresi	'P2beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,1	0,2	100
Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P2phim'	mg Chl/mg C	0,025	0,012	-52

<b>Pikofitoplankton</b>					
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P3sum'	1/gün	3,5	1,5	-57,142857
Q10 sıcaklık çarpanı	'P3q10'	-	2	2,99550601	49,7753005
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P3srs'	1/gün	0,1	0,1	0
Birincil üretimin salgılanan oranı	'P3pu_ea'	-	0,1	0,1	0
Birincil üretimin solunan oranı	'P3pu_ra'	-	0,2	0,2	0
Minimum azot karbon oranı	'P3qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,00687	0
Minimum fosfor karbon oranı	'P3qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0004288	0
Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P3xqcp'	-	1	1	0

Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P3xqcn'	-	1	1	0
Maksimum fosfor karbon oranı	'P3xqp'	-	1,5	1,5	0
Maksimum azot karbon oranı	'P3xqn'	-	1,05	1,05	0
Nitrat afinitesi	'P3qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,006	0,01272162	112,027
Amonyum afinitesi	'P3qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,007	0,01533964	119,137714
Fosfat afinitesi	'P3qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/ gün	0,006	0,00428246	-28,625667
Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P3snplux'	1/gün	1	1	0
Minimum liziz hızı	'P3sdo'	1/gün	0,055	0,055	0



PI-eğrisinin başlangıç eğimi	'P3alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	6	4,76503285	-20,582786
Fotoinhibisyon parametresi	'P3beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,12	0,2	66,6666667
Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P3phim'	mg Chl/mg C	0,015	0,0079	-47,333333
<b>Mikrofitoplankton</b>					
Referans sıcaklıkta maksimum büyüme hızı	'P4sum'	1/gün	1,5	1,5	0
Q10 sıcaklık çarpanı	'P4q10'	-	2	1,5	-25
Referans sıcaklıkta sulunum hızı	'P4srs'	1/gün	0,1	0,1	0
Birincil üretimin salgılanan oranı	'P4pu_ea'	-	0,15	0,15	0
Birincil üretimin solunan oranı	'P4pu_ra'	-	0,1	0,1	0
Minimum azot karbon oranı	'P4qnlc'	mmol N/mg C	0,00687	0,00687	0

Minimum fosfor karbon oranı	'P4qplc'	mmol P/mg C	0,0004288	0,0004288	0
Fosfor limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P4xqcp'	-	1	1	0
Azot limitasyon eşiği (Redfield oranına kıyasla)	'P4xqcn'	-	1	1	0
Maksimum fosfor karbon oranı	'P4xqp'	-	2,7	2,7	0
Maksimum azot karbon oranı	'P4xqn'	-	1,1	1,1	0
Nitrat afinitesi	'P4qun3'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,002	0,00010473	-94,7635
Amonyum afinitesi	'P4qun4'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,002	0,0038924	94,62
Fosfat afinitesi	'P4qurp'	m <sup>3</sup> /mg C/gün	0,002	0,00181894	-9,053

Besinlerin lüks alımının maksimum kotaya doğru spesifik eğilimi	'P4snplux'	1/gün	1	1	0
Minimum liziz hızı	'P4sdo'	1/gün	0,045	0,045	0
PI-eğrisinin başlangıç eğimi	'P4alpha'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	3	6	100
Fotoinhibisyon parametresi	'P4beta'	mg C m <sup>2</sup> /mg Chl/W/gün	0,06	0,2	233,333333
Fotosentez için maksimum efektif klorofil karbon oranı	'P4phim'	mg Chl/mg C	0,045	0,01622406	-63,946533

## 4 TARTIŞMA- SONUÇ

### 4.1 Sonuçların Özeti

Raporun “Amaçlar” bölümde verilen proje amaçlarından biri Akdeniz’deki biyojeokimyasal döngülerde önemli rol oynayan bakteri topluluklarını tanımlamak, topluluk yapılarını ve bu yapılardaki mevsimsel değişiklikleri belirlemektir. Bu kapsamda Mersin Körfezi’nde bulunan ETS200m istasyonunda altı farklı derinlikten (yüzey, 25m, 50m, 100m, 150m ve 200m) bir yıl boyunca aylık periyotlarda deniz suyu örnekleme yapılmış ve yeni nesil dizileme yönteminin kullanıldığı ampikon dizilemesi (metagenomik) analizleri uygulanmıştır.

Metagenomik analizler sonucu ortaya çıkan türler arasında *Pelagibacteriacea* taksonuna ait olan SAR11 kladının tüm derinlikler ve aylarda baskınlığı gözlemlenmiştir. Bu kladın üyeleri fonksiyonel olarak organik maddeyi oksitleyerek karbondioksit üreten heterotrofik bakterilerdir ve dolayısıyla biyojeokimyasal döngünün remineralizasyon ayağında rol almaktadırlar (Şekil 3, Süreç 5). SAR11 kladının bolluğu yıl boyunca %22 ve %64 arasında değişim göstermiştir. SAR11 kladının ekotipleri olan Clade Ia ve Clade Ib ise derinliğe bağlı yayılım göstermektedirler. Clade Ia yüzey sularında baskınlık gösterirken Clade Ib’nin derin sularda komüniteye katkısı daha fazla olmaktadır, bu da bu iki ekotipin farklı adaptasyonlara sahip olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra ETS200m istasyonunda halihazırda ölçülen ve bu proje kapsamında ölçülen birçok değişkenin komünite yapısıyla korelasyonu KKA kullanılarak irdelenmiştir. Komünite yapısını belirleyen en önemli çevresel faktörler sıcaklık, nitrat, görünür oksijen kullanımı, sezon ve ışıklı tabaka derinliği olarak belirlenmiştir. Mevsimler arasındaki filogenetik çeşitlilik, belirgin olarak farklı bulunmuştur.

Ototrofik bakteriler (Şekil 3, *Fitoplankton*) arasında *Synechococcus* ve *Prochlorococcus* taksonlarının sistemde baskınlığı gözlemlenmiştir. Bu da onları besin ağı dinamiklerinde ve biyojeokimyasal döngülerde önemli bir rol vermektedir. Kış aylarında *Prochlorococcus* ve *Synechococcus* taksonlarının görece bollukları oldukça düşük iken diğer aylarda/sezonlarda derinliğe göre dağılım göstermektedirler. *Prochlorococcus* derin sularda baskındır, buna karşın *Synechococcus*’un yüzey derinliklerini tercih ettiği görülmektedir, bu da bu iki tür arasındaki niş ayrımını göstermektedir.

Bunun yanı sıra bakterilerin aktif metabolizmalarını tayin etmek için sezonluk olarak mRNA örnekleme yapılmış ve örnekler metatranskriptom yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu yöntem aracılığı ile bakteriler tarafından gerçekleştirilen biyokimyasal reaksiyonların aktif ve inaktif oldukları dönemler saptanmıştır. Azotun remineralizasyon sürecinin (Şekil 60, Süreç 5) bir parçasını teşkil eden nitrifikasyonun ilk basamağı olan amonyak oksitlenmesi Kasım ayında oldukça yüksek bulunmuştur. Ancak nitrifikasyonun ikinci basamağı olan nitritin nitrata

oksitleme sürecine ait olan belirteç genlere herhangi bir örnekte rastlanmamıştır. Sisteme yeni azot girdisi sağlayan azot fiksasyonuna mRNA ifadelerinde rastlanmamıştır.

Metatranskriptom yöntemine elde edilen bulgulara ek olarak nitrifikasyon ve azot fiksasyon süreçleri izotop yöntemi ile de her ay dört farklı derinlikten yapılan örneklemeler ile araştırılmıştır. Nitrifikasyonun sadece afotik bölgede gerçekleştiği görülmüştür. Azot fiksasyonu belirteç genlerine rastlanmadığı halde izotop yöntemi ile yapılan çalışmada azot fiksasyonu tüm yıl boyunca ve tüm derinliklerde çok düşük miktarlarda da olsa tespit edilmiştir. Azot döngüsüne ek olarak, metatranskriptom çalışması ile kısıtlı inorganik fosfat varlığında aktive olan alkalın fosfataz'ın sezonluk değişimi de göstermiştir. Buna göre, ortamda düşük fosfat konsantrasyonları gözlemlendiğinde bakterilerin diğer fosfor kaynaklarına yöneldiği gözlemlenmiştir.

Projenin ana amaçlarından bir başkası biyojeokimyasal döngülerde önemli roller oynayan bakteriler tarafından gerçekleştirilen reaksiyonların hızlarındaki mevsimsel değişiklikleri açıklığa kavuşturacak, sayısal modelleri, yüksek sıklıkta yapılan fiziksel, kimyasal ve biyolojik gözlemleri ve genetik analizleri birleştiren yeni bir yöntem geliştirmek olarak belirtilmiştir. Bu amaç doğrultusunda bu sistemin parçalarını teşkil eden su kolonu fiziksel modeli, bölgeye uyarlanan biyojeokimyasal model ile birleştirilmiş ve daha sonra bu modelleme sistemi parametre tahmin sistemi ile entegre edilmiştir. Model değişkenlerinin birçoğu proje kapsamında yüksek sıklıkta ölçülmüştür ve bu da parametre tahmin sistemi için modelin değişkenlerini karşılaştıracak ölçüm verisi sağlamıştır.

Parametre tahmin sistemi kullanılarak tahmini yapılan parametrelerin modelin ölçümleriyle karşılaştırıldığında başarısını kayda değer miktarda arttırdıkları gözlemlenmiştir. Objektif fonksiyonunda bu iyileşmenin yaklaşık olarak %30 oluşu görülmektedir (Şekil 72). Modelin azot döngüsünün önemli bir parçası olan ve bakteriler tarafından gerçekleştirilen nitrifikasyon süreci için tahmin ettiği reaksiyon hızları izotop yöntemi ile ölçülen değerler ile karşılaştırıldığında (Şekil 74), modelin bu reaksiyon hızının derinliğe ve zamana göre dağılımını ana hatlarıyla doğru tahmin ettiği ortaya çıkmaktadır. Bu da geliştirilen bu yeni yöntemin reaksiyon hızlarını tahminde deneysel olarak zor olan izotop yöntemine alternatif bir yöntem olma potansiyelini göstermektedir.

## 4.2 Tartışma

Sıcaklığa ve tuzluluk verilerine bağlı olarak, Levant ara suyu veya Mofiyeye Atlantik Suyu'ndan gelen yanal transferlerin baskın olmadığı görülmektedir. 200m derinlikli istasyon, bazı dönemlerde, baskın rüzgâr yönüne ve hızına bağlı olarak Lamas Nehri'nden gelen tatlı su girişinden etkilenebilmektedir. Bununla birlikte, bu durum çalışma süresince gözlenmemiştir.

Bir yandan, N ila P oranı gibi bazı özellikler açık okyanusun karakteristiğini yansıtırken, akarsu akıntısının etkilerinin olduğu dönemlerde, hafif kıyı özellikleri de temsil edilmektedir. Mevcut durumlar dikkate alındığında, ETS-200m istasyonu açık okyanus ya da kıyı suları olarak tanımlamaktan kaçınılmıştır. Bu, karmaşık bir sistem etkileşimlerinin özelliklerini temsil etmekte ve belirli süreçlerin incelemesini zorlaştırırsa da organizma çeşitliliğinin bu dinamik yapıya nasıl tepki verdiği konusunda önemli bilgiler sağlayabilir.

Fotik bölgede bulunan besleyici element konsantrasyonları, dikey karışımın hâkim olduğu dönemler hariç tükenmiştir. Bu nedenle, fotik bölgedeki daha az N ila P oranı yüzey sularının N ve P ile ortak sınırlı olduğu hipotezini desteklemektedir. Özellikle karışık tabaka derinliğinin altındaki doymuş oksijen içeriğinden daha düşük oksijen konsantrasyonları, sınırlı yanıl taşınım durumunda mineralizasyon işlemlerine işaret etmektedir. Ayrıca, çalışma alanında gözlemlenen düşük POK-POA oranı, organik maddenin hızlı dönüşüm oranlarını göstermektedir. Derin su kolonundaki mineralizasyon işleminin varlığı ayrıca izotop yöntemi kullanılarak elde edilen nitrifikasyon hızı sonuçlarından da gözlenmektedir.

Heterotrofik bakteriler ve prokaryotik ototroflar çalışma alanında bolluk açısından dominantlardır. Bununla birlikte, bölgedeki önemli bir eksik bilgi, bakterilerin K, A, ve F döngüleriyle alakalı metabolik aktiviteleri ve komünite kompozisyonlarının yapıları idi. Ancak bu proje kapsamında bu bilgilere de ışık tutulmuştur.

*Alphaproteobacteria*'ya ait SAR11 kladının tüm dünya denizlerinde yayılım gösterdiği ve bolluk açısından da en yüksek değerlere sahip olduğu gösterildi (Brown vd., 2012; Morris vd., 2002). Sargasso denizinde ilk kez keşfedilmelerinden sonra (Giovannoni vd., 1990), tüm denizlerde ve tatlı su sistemlerinde de buldukları hızlıca rapor edilmeye başlandı. Her ne kadar çoğu çalışmada ekosistemdeki rolleri tam olarak anlaşılamasa da yayılımları ve tüm denizlerdeki başarıları oldukça açıktır (Brown vd., 2012; Giovannoni vd., 1990; Morris vd., 2002). Tüm diğer çalışmalarla uyumlu olarak, ETS-200m'lik istasyonda yaptığımız çalışmada da yıl boyunca ve tüm derinliklerde bolluk bakımından baskınlıkları (min 22%, max 64%) açıktır. Bir diğer yandan SAR 11 kaladına ait ekotiplerin dağılımı su kolonu boyunca değişiklik göstermektedir. Clade Ia'nın yüksek görece bolluğu yüzey sularında gözlemlenirken Clade Ib ve Clade II daha çok derin sularda (150m ve 200m) baskındırlar. Farklı sezonlara ait dağılımlar göz önüne alındığında, kışın rölatif bolluğu %1'in altında olan taksa sayısının örnekteki tüm taksa sayısına oranı yaz ayları ile kıyaslandığında oldukça fazladır. Kışın, %1'den az bolluğa sahip olan taksa payı oldukça yüksek iken Ocak ayından nisan ayına doğru bu pay daha da azalır ve yaz aylarında bu tüm komünitenin bolluğunun %10'undan daha az olur. Aynı zamanda, yazın su kolonu tabakalaşması kuvvetli iken gözlemlenen çeşitlilik diğer sezonlara göre daha düşüktür. Diğer yandan kış aylarındaki çeşitlilik en yüksek olarak gözlemlenmiştir. Sonbahar ve ilkbahar

aylarında çeşitlilik açısından bir fark bulunmamıştır (Kruskal-Wallis pairwise comparison  $H = 0,40$ ,  $p = 0,52$ ,  $q = 0,52$ ). Çeşitliliğin kışın en çok ve yazın en az olması Salter vd. (2015) sonuçları ile örtüşmektedir.

Sayısal olarak dominant olan SAR 11 üzerinde yapılan hücre-spesifik substrat alımı deneyi sonuçları, SAR11 grubunun denizlerdeki organik karbon oksidasyonundaki rollerini ortaya koymaktadır (Mou vd., 2007). *Pelagibacteriaceae* taksonuna ait olan SAR 11 kladı örnekleme yapıldığı tüm yıl boyunca ve tüm derinliklerde bolluk açısından oldukça baskındır. Bununla birlikte, farklı özelliklere sahip olan farklı ekotiplerin (niş spesifitesinin imzası olan fizyolojik detaylarda farklı olan benzer filogenetik alt-gruplar olarak tanımlanan) farklı derinliklerde baskınlıkları gözlemlenmiştir.

Sonbahar mevsiminde, yüzeyden 100 m derinliğe kadar baskın ekotip Clade Ia idi. İlginçtir ki, topluluktaki Clade Ia'nın 50m derinlikteki oranı Eylül'den Kasım'a (%21'den %15'e) giderek azalmıştır. Daha derin su kolonunda (150m ve 200m) baskın ekotip Clade Ib ve Clade II idi. Ancak kış aylarında, sonbaharın tersine, SAR11 kladına ait olan Clade Ia, su sütunu boyunca en çok bulunan takson olmuştur. Clade Ib ve Clade II, farklı derinliklerde farklı eğilimleri gösteren bir sonraki dominant gruptur. Ocak ve şubat aylarıyla karşılaştırıldığında mart, nisan ve mayıs aylarında ilk 25m de Clade Ia'nın rölatif bolluğu artış göstermektedir. Yaz aylarında su kolonu tabakalaşması ile ilk 50m'de dominant olan klad Clade Ia ve Clade Ib'nin rölatif bolluğu ise %1-6 arasında değişim göstermekte idi. Ağustos ayında alınan 200m'lik örnek haricinde (Clade Ia, Clade Ib ve Clade II yaklaşık aynı paya sahiptirler), Clade Ib, 150m ve 200m'de daha fazla baskınlık göstermektedir. Bu noktada, Clade Ia yüzey sularında bolluk gösterirken Clade Ib ve Clade II ise daha derin sularda bulunmaktadır. Mevcut veri ışığında, SAR11 kladının farklı ekotiplerinin dağılımının sezonluk döngülerden etkilendiği düşünülmektedir. Sezonluk su kolonundaki döngüler (tabakalaşma ve karışım gibi) aynı zamanda sıcaklık ve nitrit konsantrasyonlarındaki değişimlere de sebebiyet vermektedir. Yapılan diğer çalışmalarda da Clade Ia'nın yüzey ekotipi olduğu ortaya konulmuştur. Hatta besin tuzları açısından fakir yaz aylarında yüzey sularındaki baskınlıkları gözlemlenmiştir. <bu çalışma sonuçları da literatür ile uyum göstermektedir. Clade Ia sıcaklık ile pozitif korelasyon gösterirken Clade Ib ise negatif korelasyon göstermektedir. Aynı zamanda besin tuzlarından olan nitrat ile de bu iki farklı ekotip ters ilişki göstermektedir. Clade Ia negatif korelasyon gösterirken Clade Ib pozitif korelasyona sahiptir. Farklı niş tercihleri açıkça görülmektedir.

Sonbaharda, yüzey sularında Prochlorococcus MIT 9313, Synechococcus CC9902'den daha fazla rölatif bolluğa sahiptir. Diğer taraftan, eylül ayında 50 m ve 100m'lik derinliklerden alınan örneklerde Prochlorococcus MIT 9313'nin göreceli bolluğu sırasıyla %15 ve %12'lere kadar artmıştır. Ekim ve Kasım ayları arasında, Prochlorococcus MIT 9313 bolluğu 100m'de azalma

eğiliminde ve *Synechococcus* CC9902 bolluğu oranla daha fazla gözlemlenmiştir. Kış ve ilkbahar aylarında her iki Siyanobakteri cinsi bollukları %5'den daha az gözlemlendi. Mayıs ayında ise su kolunu tabakalaşması başlar ve ilk 25m daha derinlerden daha sıcaktır. *Synechococcus* CC9902 ilk 25m de daha baskın iken 50m ve altında *Prochlorococcus* MIT 9313 baskınlığı gözlemlenmektedir. Haziran ayında ise 100m derinlikten alınan örnek haricinde *Prochlorococcus* MIT 9313 bolluğu %1'in altında iken 100m'de yaklaşık %9 civarında gözlemlenmiştir. *Synechococcus* CC9902 ise yüzey ve 25m'de gözlemlenmiştir. *Prochlorococcus* MIT 9313 görece bolluğu temmuz ayında da 100m'de oldukça fazladır (%7). *Synechococcus* CC9902'ye ait olan dizi varyantları ise sadece yüzeyde ve 100m'de (<%1) bulunmuştur. Ağustos ayında ise, yüzey suları hariç *Prochlorococcus* MIT 9313 baskınlığı söz konusudur. Yüzeyde ise *Synechococcus* CC9902 görece bolluğu %3'tür.

Besin tuzu alımı hücre boyutundan etkilenebildiği için, kıyasal alanlarda daha büyük hücre boyutuna sahip olan *Synechococcus* daha baskın olarak bulunmakta iken oligotrofik denizlerde *Prochlorococcus* daha baskındır (Partensky vd., 1999). Picosiyanobakterilerin global dağılımını inceleyen bir başka çalışmada gösterilmiştir ki bölgesel düzeyde dağılımı etkileyen faktör besin tuzu konsantrasyonları değil de PAR değeridir (Flombaum vd., 2013). Ancak çalışmamızda varlığını gösterdiğimiz *Prochlorococcus* MIT 9313 ve *Synechococcus* CC9902, PAR değeri ile herhangi bir korelasyon göstermemiştir. Yaptığımız istatistik testler sonucunda *Prochlorococcus* MIT 9313 ve *Synechococcus* CC9902 ile PAR değerleri arasında herhangi bir korelasyona rastlanmamıştır. Ancak, *Prochlorococcus* MIT 9313'nin daha çok derinlerde bulunduğu daha önceki bölümlerde gösterilmiştir ve bu grupların derinliğe göre bir niş seçiminde bulunduğu açıktır. *Synechococcus* CC9902'un ayrıca ışıklı tabaka ile olan ilişkisinin anlamlı olması (Flombaum vd., 2013)'nin çalışmalarıyla uyum göstermektedir. Bu noktada, fotosentetik prokaryotların dinamiklerinin daha detaylı bir şekilde incelenebilmesi için elde ettiğimiz sonuçların üzerine bu grupların kendilerine spesifik bir DNA bölgesi kullanılarak ya da primer seçimi yapılarak araştırılmasında fayda vardır.

16S rDNA sonuçları göstermiştir ki sıcaklık, nitrat ve görünür oksijen kullanımı parametreleri komünite kompozisyonunu açıklayan en önemli parametrelerdir. Genel olarak komünite yapısını şekillendiren en önemli çevresel faktörler sıcaklık, nitrat ve GOK'u iken toplam fosfat, inorganik fosfat, çözülmüş organik fosfat ve nitrit göreceli olarak daha az etkiye sahiptir.

Bir yıl boyunca, heterotrofik bakterilerin komünite yapılarının araştırılması için ETS-200m'lik istasyonda örneklemeler yapılmıştır. 16S rRNA amplikon dizileme çalışmalarındaki hedef her ne kadar bakterilerin tür düzeyinde sınıflandırılması hedeflense de, bu noktada araştırmacılar referans veri bankalarına (Greengenes yada Silva gibi) bağlı kalmaktadır. Referans veri bankaları geliştikçe ve detaylandıkça daha yüksek taksonomi düzeyinde sınıflandırma



yapmam mümkün olacaktır. Proje dahilinde elde edilen verilerin taksonomi atamaları yapılırken her iki referans veri bankası (Greengenes ve Silva) da kullanılmıştır. Sonuç olarak Silva veri bankasından daha detaylı bilgi edinilebilmiştir. Örneğin SAR11 kladına ait, Clade Ia ve Ib ekotipleri Greengenes veri bankasında çözümlenemezken Silva bu noktada bilgi sağlamıştır.

Mikroorganizmaların yürüttükleri reaksiyonlara ışık tutmak amacıyla iki farklı yaklaşım uygulanmıştır. Biri örneklemenin yapıldığı andaki aktif reaksiyonların genetik yöntemlerle (metatranskriptom) incelenmesi yöntemine dayanırken bir diğeri de izotop yöntemleri kullanılarak nitrifikasyon ve N<sub>2</sub>-fiksasyon hızlarının tayinini temel almaktadır. Azot döngüsünün önemli basamaklarından biri olan nitrifikasyon (amonyağın nitrate oksidasyonu) değerlendirildiğinde her iki yaklaşımda amonyağın oksidasyonunun kış aylarında yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte izotop yönteminde, nitrifikasyon oranlarını ölçmek için kullanılan yöntem, nitrifikasyonun iki fazını (amonyum ve nitrit oksidasyonu) ayırt edememektedir. Ancak, yapılan genetik analizler (her bir basamağı yürüten genlerin incelenmesi) sonucunda, amonyum oksidasyonunun ilk basamağını yürüten genlerin varlığı açıkça belirlenmişken (*amoA* geni), ikinci basamak olan nitritin nitrate oksitlenmesinin yürüten genlere (*hao* geni) örneklerde rastlanmamıştır. Amonyak oksitlenme oranları ve bunun yanında POK/PON oranları sistemin yeni üretilen organik maddeyi kullandığı sonucuna işaret etmektedir.

Akdeniz'de yapılan son çalışmalar (Galand vd.,2010, Yakimov vd.,2011, Del Corte vd.,2009), nitrifikasyon sürecine katkıda bulunan mikropların çeşitliliğinin, daha önce değerlendirilenlerden çok daha büyük olduğunu göstermiştir. Bakteri'ye ek olarak, bazı kemoototrof Archaea (Crenarchaeota) (Herndl ve ark., 2005; Kirchman ve ark., 2007), CO<sub>2</sub>'yi fixlemek için bir elektron verici ve enerji kaynağı olarak amonyak kullanmaktadır (Francis vd., 2005; Könneke vd., 2005). Bununla birlikte, biyojeokimyasal döngülerdeki önemli rolüne rağmen, nitrifiye eden grupların bolluğu, çeşitliliği, dağılımı ve zamansal değişkenliği hakkında birçok bilgi hala eksiktir. Önceki oksidasyon oranları, Bianchi vd., (1994, 1999) tarafından batı akdeniz için ölçülmüştür. Mezotrofik alanlar (Ligurya Denizi ve Lions Körfezi) ve oligotrofik alanlardaki (Balear Adaları) oranlar 72 ila 144 nmol oksitlenmiş N l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> değerleri arasında değişmektedir. Rhone River plume alanında (264-504 nmol l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) azotun nehir girdileri nedeniyle maksimum hızları bildirilmiştir. Bu proje sırasında gözlenen oksidasyon hızları Doğu Akdeniz'deki açık sulardaki ilk gözlemlerdir. 0,01 ve 422,5 nmol oksidize N l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> arasında değişen ve ortalama 97,28 ± 100,41 nmol l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> arasında bulunan bu değerler, Batı havzasında Bianchi tarafından rapor edilenlerle uyumludur.

Bu çalışma aynı zamanda Nitrifikasyondan sorumlu olan aktörler hakkında da ipuçları vererek, bu sürecin Akdeniz'de de Archaea ve Bakteriler tarafından paylaşıldığını doğrulamaktadır. İstasyonların çoğunda nitrifikasyon reaksiyonlarından sorumlu genler tespit edilmiştir. Metatranscriptomik analizden elde edilen nitrifikasyon aktivitesi, direkt ölçümlerden oksidasyon hızlarının paternini doğrulamıştır.

Nitrifikasyon işlemi için nitrojen fiksasyonu söz konusu olduğunda, bu proje sırasında yeni önemli bilgiler keşfedilmiştir. Gözlemlerimize göre, sadece apotik bölgede nitrifikasyon gerçekleşmemektedir. Işığın engelleyici etkisi kısmen tespit edilmiştir. Yüzeydeki oksidasyon hızları, derinliklerde kaydedilenlerden ortalama olarak daha düşüktür, ancak yıl boyunca yüksek bir değişkenlik gözlemlenmektedir. Bunun, ışığa olan duyarlılıkları açısından tamamlayıcı nişleri kapsayan nitrifikasyondan sorumlu olan topluluktaki Archaea ve Bakterilere bağlanması gerekir.

Daha önce yapılan bir çalışmanın (Yakimov vd.,2011) vurguladığı gibi, derin tabakalardaki yüksek nitrifikasyon bolluğu sadece N döngüsünde değil, aynı zamanda C döngüsünde de önemli bir rol oynar. Afotik bölgede, kemo-ototrof organizmalar tarafından yürütülen organik maddenin sentezi, birincil üretime ve sonuç olarak CO<sub>2</sub> sekestrasyonuna ekstra bir katkıda bulunur. Tiren Denizi'nde, derin deniz CO<sub>2</sub> fiksasyon hızlarının fotosentetik biyokütle üretiminin medyan değeri ile karşılaştırılabilir olduğu bulunmuştur (Yakimov vd.,2011). Gelecekteki araştırmalar, afotik deniz ekosistemlerinde nitrifierların K döngüsündeki rolünü değerlendirmek için, bu projede uygulanan yöntemleri (doğrudan oksidasyon hızları, metagenomiks ve metatranscriptomik analizler) birincil üretim ölçümlerine (izotopik K izleyicileri ile) ilişkilendirmelidir.

Azot fiksasyonu, izotop yöntemleri dikkate alındığında tüm yıl boyunca ve tüm derinliklerde çok düşük oranlar göstermektedir. Genel olarak, bu sonuçlar Akdeniz'de ve özellikle doğu bölgelerinde yapılan önceki çalışmalarla iyi bir uyum içindedir (Garcia vd., 2006, Rees vd., 2006, Sandroni vd., 2007, Ibello vd., 2010, Rahav vd., 2013, 2014, 2015; Bonnet vd.,2013). Gözlenen düşük oranlar N<sub>2</sub> fiksasyonunun, eupotik bölgede yeni nitrojen sağlayan önemli bir süreci temsil etmediğini doğrulamaktadır. Bu nedenle, azot fiksasyonu, bu bölgenin deniz azot döngüsündeki A dönüşüm süreçlerinde önemli bir rol oynamaz. Ayrıca bu bulgular, proje kapsamında yapılan Metatranskriptom çalışması sonuçlarıyla da desteklenmektedir. Azot fiksasyonu indikatör genleri olan *NifD*, *NifK*, *NifH* ve *AnfG* örneklem sezonları olan Kasım, Şubat, Haziran ve Temmuz aylarında gözlemlenmemiştir.

Daha önce hiç görülmeyen ilginç bir özellik ise, kışın anormal yüksek N<sub>2</sub> fiksasyon hızlarının oluşması, dikey karışım ve yüksek besin konsantrasyonu mevcudiyeti ile örtüşmesidir. Dikey olarak yarı homojen oranlar, ya dikey karışım nedeni ile derin katmana iletilen, ototrofik

diazotroplardan gelen bir sinyali göstermektedir. Ya da tersine, su sütununun derin kısmında bol miktarda bulunan heterotrofik bakteriler, yoğun dikey dinamikler nedeniyle üst tabakaya aktarılmıştır. Diazotrofik genler nadiren ve az miktarda (metagenomik analiz) tespit edilmiştir. Ayrıca, tüm dönem için diazotroplar aktivitesi (metatranscriptomik analiz) ortaya çıkmamıştır. Ancak, örneklem döneminde metatranscriptomik analizler sadece 4 kez gerçekleştirilmiştir. Şubat ayında en yüksek  $N_2$  fiksasyon hızı değerleri gözlemlendiğinde metatranscriptomik örneklerde herhangi bir indikatör gen aktivitesine rastlanmamıştır. Bunun nedeni şubat ayına ait mRNA örneğinde derin örneklerin (150m ve 200m) düşük oranda temsil edilmesi olabilir. Ayrıca mRNA çalışmaları, mRNA'ların çok hızlı bozunmasından dolayı, deniz araştırmalarında oldukça zor yürütülür. Örneklerin denizden toplanıp yüzeyde örneklenmesine kadar geçen sürede bozunma ihtimalleri de oldukça fazladır. Bu nedenle izotop yöntemi ile kaydedilen yüksek  $N_2$  fiksasyon oranlardan sorumlu organizmaların doğasını (ototrofik veya heterotrofik) doğrulamak tam anlamıyla mümkün değildir.

Azot fiksasyon ölçümleri için kabul edilen örnekleme stratejisi ile iki ana ders öğrenilebilir. Çok az nitrojen fiksasyon oranları tespit edilmesine rağmen, sinyal mevcut olduğunda, sadece euphotic tabakada meydana gelmemiştir. Dolayısıyla, ilk önemli sonuç, afotik bölgenin diazotrofidan bağımsız olamamasıdır. Ekolojik rolün hala ele alınması gereken heterotrofik fiksasyonun, azot döngüsündeki işlevini anlamak için daha fazla araştırılması gerekmektedir. İkincisi, zaman serileri çalışmaları tamamen anlaşılmamış olan  $N_2$  fiksasyonu gibi süreçlerin özelliklerini tespit etmek için son derece önemlidir. Şubat ayında, beslenmenin tamamlandığı koşullarda en yüksek  $N_2$  fiksasyon oranlarının ortaya çıkması, bu yüksek büyümeden sorumlu olan diazotropların ekolojisine pek çok soru açmakta, yine de tamamen açığa çıkmamaktadır. Ayrıca, nispeten yüksek  $N_2$  fiksasyon oranlarının ortaya çıkması, Akdeniz'deki  $N_2$  fiksasyonunun, tetikleme koşullarının hala tanımlanması gereken davranışa sahip olduğunu göstermektedir.

Ekolojik rolünün ele alınması gereken heterotrofik fiksasyonun, nitrojen döngüsünün işleyişi ele alınırken dikkate alınması gerekir. Spesifik odaklanma, metatranskriptomik analizi ile izotopik yöntemlerin doğrudan ölçümlerini birleştirerek, apotik tabakalara uygulanmalıdır. Metagenomik ve metatranscriptomik çalışmalar, son derece zahmetli ve çok pahalı olmasına rağmen, son derece yararlı araçlardır. Bu analizlerin etkisini en üst düzeye çıkarmak ve  $N_2$  fiksasyonundan sorumlu bakterileri tanımlamak için, örnekler su sütunu boyunca çeşitli derinliklerden toplanabilir ve daha sonra birleştirilerek entegre bir bilgi elde edilir. Bu yaklaşım, mekânsal çözünürlüğün azalmasına yol açsada, diğer taraftan, zamanın çözünürlüğünü arttırabilir, ki buda, mevcut durumdaki haliyle,  $N_2$  fiksasyon hızındaki açıklanamayan 'tanımlanmamış' diazotrof türlerini tanımlamak için Akdeniz ve DA için daha uygundur.

Prokaryotların düşük inorganik  $PO_4^-$  konsantrasyonlarına cevap olarak organik fosfat kaynaklarına yönelerek bu strese karşı adapte oldukları söylenebilir hem *phoX* gen aktivitesi hem de yapılan CCA sonuçlarından görülmektedir.

Deniz araştırmalarında genetik (metatranskriptom ve metagenomik) yaklaşımların ve izotop tayin yöntemlerinin entegre edilerek araştırılması oldukça zahmetlidir. Proje kapsamında bu iki yöntem deniz koşullarında uygulanmaya çalışılırken oldukça önemli deneyimler elde edilmiştir. Bu deneyimler ışığında yeni örnekleme (özellikle metatranskriptom çalışmaları için) araçlarının geliştirilmesi önemli görülmektedir.

Fonksiyonel grup atamaları 16S rRNA verisinden PICRUST programı kullanılarak elde edilmiştir. PICRUST sonuçları ile metatranskriptom sonuçları karşılaştırıldığında (metatranskriptom) ciddi bir uyumsuzluk tespit edilmiştir. Her ne kadar metatranskriptom çalışması sezonluk örnekler üzerinden yapılmış olsa da aktif *amoA* geninin varlığına rastlanmıştır (özellikle kasım ayında oldukça yüksektir). Öte yandan, 16S rRNA verisi sonuçları amonyak oksitleyen bakteri gruplarının varlığını tespit edememiştir. Bu nedenle, modelde fonksiyonel grupların gösterimi için genlerin bollukları kullanılmamıştır. Bunun yerine bakteri hücre sayımlarından elde edilmiş karbon ve azot biyokütle değerleri kullanılmıştır. Bu noktada elde edilen uyumsuz sonucun, PICRUST programının referans veri bankası olarak Greengenes'in eski versiyonunu kullanması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Proje sonucunda elde edilen bu önemli bilgi, fonksiyonel grupların belirlenmesinde başka hangi genetik yöntemlerin kullanılabileceği sorusunu doğurmaktadır. Bu sorunun cevabının araştırılması için farklı bir çalışma gerekliliği gelişmiştir.

Proje kapsamında yapılan modelleme çalışması, yüksek sıklıkta yapılan ve birçok ekosistem ögesini içeren zaman serisi ölçümleri ile parametre tahmin sistemleri kullanarak biyojeokimyasal modellerin tahmin kapasitelerinin kayda değer bir şekilde arttırılabileceğini göstermektedir. Biyojeokimyasal model çıktıları deniz ekosistemlerinin atmosferdeki karbon artışına tepkileri ve iklim değişikliğinin ekonomik açıdan önemli balık stokları üzerindeki etkisi gibi birçok konuda yönetsel ve politik karar almakta kullanılmaktadır. Projede kullanılan yöntem ile tahmin yeteneği arttırılan modellerin bu alanlarda doğru kararların alınması konusunda katkı verebileceği düşünülmektedir.

Parametre tahmin sisteminin başarısını sınırlayan birçok faktör bulunmaktadır ve ileride yapılacak çalışmalarda bu faktörlere önem vererek daha başarılı sonuçlar elde edilebilir. Bunlardan biri ölçülen değerlerin modelle uyumlu olmasıdır. Proje kapsamında yapılan bolluk ölçümleri yaklaşık değerlerle biyokütleye dönüştürülmüştür. Zooplankton grupları gibi bazı öğelerin değerleri ise hiç bilinmemektedir. İleride yapılacak ölçüm çalışmalarında tüm biyolojik öğelerin değerleri biyokütle olarak ölçüldüğü takdirde model parametre tahmin başarısının

artacağı düşünülmektedir. Bunun dışında parametre tahmin sistemine verilen başlangıç parametreleri objektif fonksiyonu minimize eden parametre değerlerinden uzak olamamalıdır. Bunun nedeni tahmin sisteminin parametreleri küçük değişimlerle iteratif bir şekilde değiştirmesidir. Algoritma objektif fonksiyonunun lokal bir minimumuna rastlandığında bunun tüm parametre değerleri kombinasyonları arasında bu fonksiyonun en küçük değere ulaştıran parametre seti olmaması mümkündür. Bu sorunun optimizasyon algoritması seçimi ile giderilebileceği düşünülmektedir. Genetik Algoritmalar gibi yöntemler objektif fonksiyonun olası parametre değerleri arasında mümkün olan en küçük değeri (global minimum) almasını sağlayan parametreleri bulma yetisine sahiptirler ve ileride parametre tahmini için kullanılmaları yararlı olacaktır. Ancak bu yöntemler hesaplama yönünden pahalıdır ve yüksek performanslı bilgisayar sistemleri kullanımı gerektirmektedir. Parametre tahmin sürecinde karşılaşılan problemlerden bir diğeri ise parametrelere verilen alt ve üst limitlerin belirsizliğidir. Literatürden bulunan değerler genellikle Akdeniz dışındaki denizlerdeki organizmalar için yapılmıştır ve bu değerler kullanıldığında parametre tahmin sistemi tüm organizmaların sistemden yok olduğu parametre değerleri gibi gerçek dışı sonuçlar ortaya çıkarabilmektedir. Bu parametre limitleri Akdeniz için mikrokosm veya mezokosm deneyleriyle ölçüldüğü takdirde parametre tayini de daha gerçekçi sonuçlar verecektir.

## 5. Ekler

### 5.1. KKA Sonuçları:

Tablo 16. KKA Sonuçları

	Inertia	Proportion (Oran)	Rank							
<b>Total (Toplam)</b>	1.5551	1								
<b>Constrained (Sınırlanmış)</b>	0.6915	0.4447	11							
<b>Unconstrained (Sınırlanmamış)</b>	0.8636	0.5553	47							
Inertia is mean squared contingency coefficient (Atalet, ortalama kare olasılık katsayısıdır)										
<b>Eigenvalues for constrained axes (Sınırlanmış eksenler için öz değerler):</b>										
CCA1	CCA2	CCA3	CCA4	CCA5	CCA6	CCA7	CCA8	CCA9	CCA10	CCA11
0.3277	0.1323	0.0605	0.0362	0.0329	0.0315	0.0195	0.0156	0.0132	0.0126	0.0095
<b>Eigenvalues for unconstrained axes (Sınırlanmamış eksenler için öz değerler):</b>										
CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CA8			
0.1099	0.0860	0.0796	0.0531	0.0501		0.0344				
7	5	5	1	7	0.0372	9	0.0305			
(Shown only 8 of all 47 unconstrained eigenvalues) (47 kısıtlanmamış özdeğerin sadece 8'inde gösterilmektedir)										

## 6. KAYNAKLAR

- Agawin, N. S. R., Duarte, C. M., & Agustí, S. (1998). Growth and abundance of *Synechococcus* sp. in a Mediterranean Bay: seasonality and relationship with temperature. *Marine Ecology Progress Series*, 170, 45–53. <https://doi.org/10.3354/meps170045>
- Arin, L., Moran, X. A. G., & Estrada, M. (2002). Phytoplankton size distribution and growth rates in the Alboran Sea ( SW Mediterranean ): short term variability related to mesoscale hydrodynamics. *Journal of Plankton Research*, 24(10), 1019–1033. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.10.1019>
- Azam, F., & Malfatti, F. (2007). Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 5(12), 966–966. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1798>
- Berman-Frank, I., & Rahav, E. (2012). Nitrogen fixation as a source for new production in the Mediterranean Sea: a review. *Life in the Mediterranean Sea: A Look at Habitat Changes*, 199–226.
- Béthoux, J. ., Morin, P., Chaumery, C., Connan, O., Gentili, B., & Ruiz-Pino, D. (1998). Nutrients in the Mediterranean Sea, mass balance and statistical analysis of concentrations with respect to environmental change. *Marine Chemistry*, 63(1–2), 155–169. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(98\)00059-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(98)00059-0)
- Béthoux, J. P., Morin, P., & Ruiz-Pino, D. P. (2002). Temporal trends in nutrient ratios: chemical evidence of Mediterranean ecosystem changes driven by human activity. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49(11), 2007–2016. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(02\)00024-3](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(02)00024-3)
- Boran, L. J. (2017). *Natural And Human Induced Nutrient Impacts On Phytoplankton Communities In Mersin Bay, NE Mediterranean*. Middle East Technical University.
- Braak, C. J. F. F., & Verdonschot, P. F. M. M. (1995). Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology. *Aquatic Sciences*, 57(3), 255–289. <https://doi.org/10.1007/BF00877430>
- Brown, M. V., Lauro, F. M., Demaere, M. Z., Muir, L., Wilkins, D., Thomas, T., Cavicchioli, R. (2012). Global biogeography of SAR11 marine bacteria. *Molecular Systems Biology*, 8(595), 1–13. <https://doi.org/10.1038/msb.2012.28>
- Bryant, J. A., Clemente, T. M., Viviani, D. A., Fong, A. A., Thomas, K. A., Kemp, P., DeLong, E. F. (2016). Diversity and Activity of Communities Inhabiting Plastic Debris in the North Pacific Gyre. *MSystems*, 1(3), e00024-16. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00024-16>
- Burchard, H., Bolding, K., Rippeth, T. P., Stips, A., Simpson, J. H., & Sündermann, J. (2002).

- Microstructure of turbulence in the northern North Sea: A comparative study of observations and model simulations. *Journal of Sea Research*, 47(3–4), 223–238. [https://doi.org/10.1016/S1385-1101\(02\)00126-0](https://doi.org/10.1016/S1385-1101(02)00126-0)
- Butenschön, M., Clark, J., Aldridge, J. N., Icarus Allen, J., Artioli, Y., Blackford, J., ... Torres, R. (2016). ERSEM 15.06: A generic model for marine biogeochemistry and the ecosystem dynamics of the lower trophic levels. *Geoscientific Model Development*, 9(4), 1293–1339. <https://doi.org/10.5194/gmd-9-1293-2016>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Capone, D. G., Bronk, D. A., Mulholland, M. R., Carpenter, E. J., & Bange, H. W. (2008). Gaseous Nitrogen Compounds (NO, N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>) in the Ocean. *Nitrogen in the Marine Environment*, 51–94. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372522-6.00002-5>
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., ... Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Publishing Group*, 7(5), 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth0510-335>
- Carlson, C. a, Bates, N. R., Ducklow, H. W., & Hansell, D. a. (1999). Estimations of bacterial respiration and growth efficiencies in the Ross Sea, Antarctica. . *Aquat. Microb. Ecol.*, 19(3), 229–244. <https://doi.org/10.3354/ame019229>
- Carniel, S., Vichi, M., & Sclavo, M. (2007). Sensitivity of a coupled physical-biological model to turbulence: High-frequency simulations in a northern Adriatic station. *Chemistry and Ecology*, 23(2), 157–175. <https://doi.org/10.1080/02757540701197903>
- Chang, Q., Luan, Y., & Sun, F. (2011). Variance adjusted weighted UniFrac: a powerful beta diversity measure for comparing communities based on phylogeny. *BMC Bioinformatics*, 12(1), 118. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-118>
- Cros, L., Fortuño, J. M., & Fortuño, J. M. (2002). Atlas of Northwestern Mediterranean Coccolithophores. *Scientia Marina*, 66(S1), 1–182. <https://doi.org/10.3989/scimar.2002.66s11>
- D. M. Sigman, \*, †, K. L. Casciotti, †, M. Andreani, ‡, C. Barford, §, M. Galanter, † and, & Böhlke, J. K. (2001). A Bacterial Method for the Nitrogen Isotopic Analysis of Nitrate in Seawater and Freshwater. <https://doi.org/10.1021/AC010088E>
- Dee, D. P., Uppala, S. M., Simmons, A. J., Berrisford, P., Poli, P., Kobayashi, S., ... Vitart, F. (2011). The ERA-Interim reanalysis: Configuration and performance of the data



- assimilation system. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, 137(656), 553–597. <https://doi.org/10.1002/qj.828>
- Dore, J. E., Popp, B. N., Karl, D. M., & Sansone, F. J. (1998). A large source of atmospheric nitrous oxide from subtropical North Pacific surface waters. *Nature*, 396(6706), 63–66. <https://doi.org/10.1038/23921>
- Ediger, D., Tuğrul, S., & Yilmaz, A. (2005). Vertical profiles of particulate organic matter and its relationship with chlorophyll-a in the upper layer of the NE Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems*, 55(3–4), 311–326. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2004.09.003>
- Ediger, D., & Yilmaz, A. (1996). Characteristics of deep chlorophyll maximum in the Northeastern Mediterranean with respect to environmental conditions. *Journal of Marine Systems*, 9(3–4), 291–303. [https://doi.org/10.1016/S0924-7963\(96\)00044-9](https://doi.org/10.1016/S0924-7963(96)00044-9)
- Estrada, M., Marrasé, C., Latasa, M., Berdalet, E., Delgado, M., & Riera, T. (1993). Variability of deep chlorophyll maximum characteristics in the Northwestern Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 92(3), 289–300. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/24832534>
- Fanuko, N., & Valčić, M. (2009). Phytoplankton composition and biomass of the northern Adriatic lagoon of Stella Maris, Croatia. *Acta Botanica Croatica*, 68(1), 29–44.
- Fernández-Pinos, M.-C., Casado, M., Caballero, G., Zinser, E. R., Dachs, J., & Piña, B. (2015). Clade-Specific Quantitative Analysis of Photosynthetic Gene Expression in Prochlorococcus. *PLOS ONE*, 10(8), e0133207. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133207>
- Flombaum, P., Gallegos, J. L., Gordillo, R. A., Rincon, J., Zabala, L. L., Jiao, N., ... Martiny, A. C. (2013). Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria Prochlorococcus and Synechococcus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(24), 9824–9829. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307701110>
- Gačić, M., Civitarese, G., Eusebi Borzelli, G. L., Kovačević, V., Poulain, P. M., Theocharis, A., ... Zarokanellos, N. (2011). On the relationship between the decadal oscillations of the northern Ionian Sea and the salinity distributions in the eastern Mediterranean. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 116(12), 1–9. <https://doi.org/10.1029/2011JC007280>
- Gačić, M., Civitarese, G., Miserocchi, S., Cardin, V., Crise, A., & Mauri, E. (2002). The open-ocean convection in the Southern Adriatic: a controlling mechanism of the spring phytoplankton bloom. *Continental Shelf Research*, 22(14), 1897–1908. [https://doi.org/10.1016/S0278-4343\(02\)00050-X](https://doi.org/10.1016/S0278-4343(02)00050-X)

- Garcia, N., Raimbault, P., Gouze, E., & Sandroni, V. (2006). Fixation de diazote et production primaire en Méditerranée occidentale. *Comptes Rendus Biologies*, 329(9), 742–750. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2006.06.006>
- Giovannoni, S. J., Britschgi, T. B., Moyer, C. L., & Field, K. G. (1990). Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. *Nature*, 345(6270), 60–63. <https://doi.org/10.1038/345060a0>
- Goericke, R., & Repeta, D. (1993). Chlorophylls a and b and divinyl chlorophylls a and b in the open subtropical North Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 101, 307–313. <https://doi.org/10.3354/meps101307>
- Hagström, Å., et al. (1988). "Microbial loop in an oligotrophic pelagic marine ecosystem: possible roles of cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes." *Marine Ecology Progress Series* 49: 171-178.
- Herlemann, D. P., Labrenz, M., Jürgens, K., Bertilsson, S., Waniek, J. J., & Andersson, A. F. (2011). Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *The ISME Journal*, 5(10), 1571–1579. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.41>
- Huertas, I. E., et al. (2012). "Atlantic forcing of the Mediterranean oligotrophy." *Global Biogeochemical Cycles* 26(2)
- Ibello, V., Cantoni, C., Cozzi, S., & Civitarese, G. (2010). First basin-wide experimental results on N<sub>2</sub> fixation in the open Mediterranean Sea. *Geophysical Research Letters*, 37(3), n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2009GL041635>
- Ignatiades, L., Gotsis-Skretas, O., Pagou, K., & Krasakopoulou, E. (2009). Diversification of phytoplankton community structure and related parameters along a large-scale longitudinal east-west transect of the Mediterranean Sea. *Journal of Plankton Research*, 31(4), 411–428. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbn124>
- Ignatiades, L., Psarra, S., Zervakis, V., Pagou, K., Souvermezoglou, E., Assimakopoulou, G., & Gotsis-Skretas, O. (2002). Phytoplankton size-based dynamics in the Aegean Sea (Eastern Mediterranean). *Journal of Marine Systems*, 36(1–2), 11–28. [https://doi.org/10.1016/S0924-7963\(02\)00132-X](https://doi.org/10.1016/S0924-7963(02)00132-X)
- Jari Oksanen, F. G. B., Michael Friendly, R. K., Pierre Legendre, Dan McGlinn, P. R., Minchin, R. B. O'Hara, G. L., Simpson, Peter Solymos, M. H. H., Stevens, E. S. and H., & Wagner. (2007). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-5.
- Jeffrey, S. W., & Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochimie*

*Und Physiologie Der Pflanzen*, 167(2), 191–194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)

Jodłowska Sabina, & Adam, L. (2011). The Comparison of Spectrophotometric Method and High-Performance Liquid Chromatography in Photosynthetic Pigments Analysis. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 11(2), 63–69. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2011.63.69>

Karydis, M. and D. Kitsiou (2012). "Eutrophication and environmental policy in the Mediterranean Sea: a review." *Environ Monit Assess* 184(8): 4931-4984.

Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

Kirk, J. T. O. (1994), *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*, Cambridge Univ. Press, New York.

Koçak, M., Kubilay, N., Tuğrul, S., & Mihalopoulos, N. (2010). Atmospheric nutrient inputs to the northern levantine basin from a long-term observation: sources and comparison with riverine inputs. *Biogeosciences*, 7(12), 4037–4050. <https://doi.org/10.5194/bg-7-4037-2010>

Koçak, M., Nimmo, M., Kubilay, N., & Herut, B. (2004). Spatio-temporal aerosol trace metal concentrations and sources in the Levantine Basin of the Eastern Mediterranean. *Atmospheric Environment*, 38(14), 2133–2144. <https://doi.org/10.1016/J.ATMOSENV.2004.01.020>

Kress, N., & Herut, B. (2001a). Spatial and seasonal evolution of dissolved oxygen and nutrients in the Southern Levantine Basin (Eastern Mediterranean Sea): Chemical characterization of the water masses and inferences on the N : P ratios. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 48(11), 2347–2372. [https://doi.org/10.1016/S0967-0637\(01\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0967-0637(01)00022-X)

Kress, N., & Herut, B. (2001b). Spatial and seasonal evolution of dissolved oxygen and nutrients in the Southern Levantine Basin (Eastern Mediterranean Sea): chemical characterization of the water masses and inferences on the N:P ratios. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 48(11), 2347–2372. [https://doi.org/10.1016/S0967-0637\(01\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0967-0637(01)00022-X)

Krom, M. D., Emeis, K.-C., & Van Cappellen, P. (2010). Why is the Eastern Mediterranean phosphorus limited? *Progress in Oceanography*, 55(3–4), 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2010.03.003>

- Krom, M. D., Kress, N., Brenner, S., & Gordon, L. I. (1991). Phosphorus Limitation of Primary Productivity in the Eastern Mediterranean-Sea. *Limnology and Oceanography*, 36(3), 424–432. <https://doi.org/10.4319/lo.1991.36.3.0424>
- Krom, M. D., Woodward, E. M. S., Herut, B., Kress, N., & Carbo, P. (2005). Nutrient cycling in the south east Levantine basin of the eastern Mediterranean : Results from a phosphorus starved system. *Deep-Sea Research Part II*, 52, 2879–2896. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2005.08.009>
- Krom, M. D., Woodward, E. M. S., Herut, B., Kress, N., Carbo, P., Mantoura, R. F. C., ... Zodiatis, G. (2005). Nutrient cycling in the south east Levantine basin of the eastern Mediterranean: Results from a phosphorus starved system. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 52(22–23), 2879–2896. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2005.08.009>
- Kudela, R., Pitcher, G., Probyn, T., Figueiras, F., Moita, T., & Trainer, V. (2005). Harmful Algal Blooms in Coastal Upwelling Systems. *Oceanography*, 18(2), 184–197. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2005.53>
- Kumari, B. (2005). Comparison of High Performance Liquid. *Society*, 33(4).
- Lascaratos, A., Roether, W., Nittis, K., & Klein, B. (1999). Recent changes in deep water formation and spreading in the Eastern Mediterranean Sea: A review. *Progress in Oceanography*, 44(1–3), 5–36. [https://doi.org/10.1016/S0079-6611\(99\)00019-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6611(99)00019-1)
- Lemmen, C., et al. (2018). "Modular System for Shelves and Coasts (MOSSCO v1.0) – a flexible and multi-component framework for coupled coastal ocean ecosystem modelling." *Geoscientific Model Development* 11(3): 915-935.
- Li, W. K. W. (2002). Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern North Atlantic Ocean. *Nature*, 419(September), 154–157. <https://doi.org/10.1038/nature00983.1>
- Li, W. K. W., Zohary, T., Yacobi, Y. Z., & Wood, A. M. (1993). Ultraphytoplankton in the eastern Mediterranean Sea - Towards deriving phytoplankton biomass from flow cytometric measurements of abundance, fluorescence and light scatter. *Marine Ecology Progress Series*, 102(1–2), 79–88. <https://doi.org/10.3354/meps102079>
- Libes, S. 2009. Introduction to Marine Biogeochemistry (2nd edition). Academic Press. pp 561-608
- Loureiro, S., Jauzein, C., Garcés, E., Collos, Y., Camp, J., & Vaqué, D. (2009). The significance of organic nutrients in the nutrition of *Pseudo-nitzschia delicatissima*

- (Bacillariophyceae). *Journal of Plankton Research*, 31(4), 399–410. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbn122>
- Lozupone, C., Lladser, M. E., Knights, D., Stombaugh, J., & Knight, R. (2011). UniFrac: an effective distance metric for microbial community comparison. *The ISME Journal*, 5(2), 169–72. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.133>
- Magazzu, G., & Decembrini, F. (1995). Primary production, biomass and abundance of phototrophic picoplankton in the Mediterranean Sea: A review. *Aquatic Microbial Ecology*, 9(1), 97–104. <https://doi.org/10.3354/ame009097>
- Malanotte-Rizzoli, P., Artale, V., Borzelli-Eusebi, G. L., Brenner, S., Crise, A., Gacic, M., ... Triantafyllou, G. (2014). Physical forcing and physical/biochemical variability of the Mediterranean Sea: A review of unresolved issues and directions for future research. *Ocean Science*, 10(3), 281–322. <https://doi.org/10.5194/os-10-281-2014>
- Malanotte-Rizzoli, P., & Hecht, A. (1988). Large-scale properties of the eastern Mediterranean: a review. *Oceanologica Acta*, 11(4), 323–335. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(99\)00020-X](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(99)00020-X)
- Marty, J.-C., & Chiavérini, J. (2002). Seasonal and interannual variations in phytoplankton production at DYFAMED time-series station, northwestern Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49(11), 2017–2030. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(02\)00025-5](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(02)00025-5)
- Marty, J. C., Chiavérini, J., Pizay, M. D., & Avril, B. (2002). Seasonal and interannual dynamics of nutrients and phytoplankton pigments in the western Mediterranean Sea at the DYFAMED time-series station (1991-1999). *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49(11), 1965–1985. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(02\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(02)00022-X)
- Menden-Deuer, S., & Lessard, E. J. (2000). Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography*, 45(3), 569–579. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.3.0569>
- Michelou, V. K., Lomas, M. W., & Kirchman, D. L. (2011). Phosphate and adenosine-5'-triphosphate uptake by cyanobacteria and heterotrophic bacteria in the Sargasso Sea. *Limnology and Oceanography*, 56(1), 323–332. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.1.0323>
- Montoya, J. P., Holl, C. M., Zehr, J. P., Hansen, A., Villareal, T. A., & Capone, D. G. (2004). High rates of N<sub>2</sub> fixation by unicellular diazotrophs in the oligotrophic Pacific Ocean. *Nature*, 430(7003), 1027–1032. <https://doi.org/10.1038/nature02824>

- Montoya, J. P., Voss, M., Kahler, P., & Capone, D. G. (1996). A Simple, High-Precision, High-Sensitivity Tracer Assay for N( $\text{inf}2$ ) Fixation. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(3), 986–93. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16535283>
- Moore, L. R., Post, A. F., Rocap, G., & Chisholm, S. W. (2002). Utilization of different nitrogen sources by the marine cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Limnology and Oceanography*, 47(4), 989–996. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.4.0989>
- Moore, L. R., Rocap, G., & Chisholm, S. W. (1998). Physiology and molecular phylogeny of coexisting *Prochlorococcus* ecotypes. *Nature*, 393(6684), 464–467. <https://doi.org/10.1038/30965>
- Morris, R. M., Rappé, M. S., Connon, S. A., Vergin, K. L., Siebold, W. A., Carlson, C. A., & Giovannoni, S. J. (2002). SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities. *Nature*, 420(6917), 806–810. <https://doi.org/10.1038/nature01240>
- Mou, X., Hodson, R. E., & Moran, M. A. (2007). Bacterioplankton assemblages transforming dissolved organic compounds in coastal seawater. *Environmental Microbiology*, 9(8), 2025–2037. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01318.x>
- Moutin, T., & Raimbault, P. (2002). Primary production, carbon export and nutrients availability in western and eastern Mediterranean Sea in early summer 1996 (MINOS cruise). *Journal of Marine Systems*, 33–34, 273–288. [https://doi.org/10.1016/S0924-7963\(02\)00062-3](https://doi.org/10.1016/S0924-7963(02)00062-3)
- Moutin, T., Thingstad, T. F., Van Wambeke, F., Marie, D., Slawyk, G., Raimbault, P., & Claustre, H. (2002). Does competition for nanomolar phosphate supply explain the predominance of the cyanobacterium *Synechococcus*? *Limnology and Oceanography*, 47(5), 1562–1567. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.5.1562>
- Ni, Y., Li, J., & Panagiotou, G. (2016). COMAN: a web server for comprehensive metatranscriptomics analysis. *BMC Genomics*, 17(1), 622. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2964-z>
- Omnes, P., Slawyk, G., Garcia, N., & Bonin, P. (n.d.). Evidence of denitrification and nitrate ammonification in the River Rhone plume (northwestern Mediterranean Sea). *Marine Ecology Progress Series*. Inter-Research Science Center. <https://doi.org/10.2307/24857211>
- Paliy, O., & Shankar, V. (2016). Application of multivariate statistical techniques in microbial ecology. *Molecular Ecology*, 25(5), 1032–1057. <https://doi.org/10.1111/mec.13536>
- Partensky, F., Blanchot, J., & Vaulot, D. (1999). Differential distribution and ecology of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* in oceanic waters: a review. Retrieved from

[http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/divers15-02/010019788.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers15-02/010019788.pdf)

- Partensky, F., Hess, W. R., & Vaultot, D. (1999). Prochlorococcus, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol.Mol Biol.Rev.*, 63(1), 106–127. [https://doi.org/doi:1092-2172/99/\\$04.00](https://doi.org/doi:1092-2172/99/$04.00)
- Paz, G., Douek, J., Mo, C., Goren, M., & Rinkevich, B. (2003). Genetic structure of *Botryllus schlosseri* (Tunicata) populations from the Mediterranean coast of Israel. *Marine Ecology Progress Series*, 250, 153–162. <https://doi.org/10.3354/meps250153>
- Petihakis, G., Triantafyllou, G., Korres, G., Pollani, a., & Hoteit, I. (2006). Eastern Mediterranean biogeochemical flux model: simulations of the pelagic ecosystem. *Ocean Science Discussions*, 3(4), 1349–1398. <https://doi.org/10.5194/osd-3-1349-2006>
- Popp, B. N., Sansone, F. J., Rust, T. M., & Merritt, D. A. (1995). Determination of Concentration and Carbon Isotopic Composition of Dissolved Methane in Sediments and Nearshore Waters. *Analytical Chemistry*, 67(2), 405–411. <https://doi.org/10.1021/ac00098a028>
- Powley, H. R., Krom, M. D., & Van Cappellen, P. (2017). Understanding the unique biogeochemistry of the Mediterranean Sea: Insights from a coupled phosphorus and nitrogen model. *Global Biogeochemical Cycles*. <https://doi.org/10.1002/2017GB005648>
- Price, M. N., Dehal, P. S., & Arkin, A. P. (2010). FastTree 2 – Approximately Maximum-Likelihood Trees for Large Alignments. *PLoS ONE*, 5(3), e9490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490>
- Pujo-Pay, M., Conan, P., Oriol, L., Cornet-Barthaux, V., Falco, C., Ghiglione, J. F., ... Prieur, L. (2011). Integrated survey of elemental stoichiometry (C, N, P) from the western to eastern Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 8(4), 883–899. <https://doi.org/10.5194/bg-8-883-2011>
- Quero, G. M., & Luna, G. M. (2017). Surfing and dining on the “plastisphere”: Microbial life on plastic marine debris. *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(2), 199–207. <https://doi.org/10.4081/aiol.2017.7211>
- Ragueneau, O., Tréguer, P., Leynaert, A., Anderson, R. ., Brzezinski, M. ., DeMaster, D. ., ... Quéguiner, B. (2000). A review of the Si cycle in the modern ocean: recent progress and missing gaps in the application of biogenic opal as a paleoproductivity proxy. *Global and Planetary Change*, 26(4), 317–365. [https://doi.org/10.1016/S0921-8181\(00\)00052-7](https://doi.org/10.1016/S0921-8181(00)00052-7)
- Rahav, E., Herut, B., Levi, a., Mulholland, M. R., & Berman-Frank, I. (2013). Springtime contribution of dinitrogen fixation to primary production across the Mediterranean Sea. *Ocean Science*, 9(3), 489–498. <https://doi.org/10.5194/os-9-489-2013>

- Ramette, A. (2007). Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(2), 142–160. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00375.x>
- Rasigraf, O., Schmitt, J., Jetten, M. S. M., & Lüke, C. (2017). Metagenomic potential for and diversity of N- - cycle driving microorganisms in the Bothnian Sea sediment, (February), 1–13. <https://doi.org/10.1002/mbo3.475>
- Redfield, A.C., Ketchup B.H., Richards F.A., 1963. The influence of organisms on the composition of sea-water. In N.M. Hill (ed.), *The sea*, vol. 2, Wiley: 26-77
- Rees, A. P., Law, C. S., & Woodward, E. M. S. (2006). High rates of nitrogen fixation during an in-situ phosphate release experiment in the Eastern Mediterranean Sea. *Geophysical Research Letters*, 33(10), n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2006GL025791>
- Riegman, R., Stolte, W., Noordeloos, A. A. M., & Slezak, D. (2000). Nutrient uptake and alkaline phosphatase (ec 3:1:3:1) activity of emiliania huxleyi (prymnesiophyceae) during growth under n and p limitation in continuous cultures. *Journal of Phycology*, 36(1), 87–96. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2000.99023.x>
- Sandroni, V., Raimbault, P., Migon, C., Garcia, N., & Gouze, E. (2007). Dry atmospheric deposition and diazotrophy as sources of new nitrogen to northwestern Mediterranean oligotrophic surface waters. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 54(11), 1859–1870. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2007.08.004>
- Schweiger, B., Hansen, H. P., & Bange, H. W. (2007). A time series of hydroxylamine (  $\text{NH}_2\text{OH}$  ) in the southwestern Baltic Sea, 34(November), 1–5. <https://doi.org/10.1029/2007GL031086>
- Sebastián, M., Pitta, P., González, J. M., Thingstad, T. F., & Gasol, J. M. (2012). Bacterioplankton groups involved in the uptake of phosphate and dissolved organic phosphorus in a mesocosm experiment with P-starved Mediterranean waters. *Environmental Microbiology*, 14(9), 2334–2347. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02772.x>
- Siokou-Frangou, I., Christaki, U., Mazzocchi, M. G., Montresor, M., Ribera D'Alcala, M., Vaque, D., & Zingone, A. (2010). Plankton in the open mediterranean Sea: A review. *Biogeosciences*, 7(5), 1543–1586. <https://doi.org/10.5194/bg-7-1543-2010>
- Socal, G., Boldrin, A., Bianchi, F., Civitarese, G., De Lazzari, A., Rabitti, S., ... Turchetto, M. M. (1999). Nutrient, particulate matter and phytoplankton variability in the photic layer of the Otranto strait. *Journal of Marine Systems*, 20(1–4), 381–398. [https://doi.org/10.1016/S0924-7963\(98\)00075-X](https://doi.org/10.1016/S0924-7963(98)00075-X)



- Strickland, J. D. H., & Parsons, T. R. (1972). A Practical Handbook of Seawater Analysis. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, 167, 185. <https://doi.org/10.1002/iroh.19700550118>
- Strokal M., Kroeze C., 2012, Nitrogen and phosphorus inputs to the Black Sea in 1970–2050, 13: 179. <https://doi.org/10.1007/s10113-012-0328-z>
- Talarmin, A., Van Wambeke, F., Lebaron, P., & Moutin, T. (2015). Vertical partitioning of phosphate uptake among picoplankton groups in the low Pi Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 12(4), 1237–1247. <https://doi.org/10.5194/bg-12-1237-2015>
- Tanaka, T., Zohary, T., Krom, M. D., Law, C. S., Pitta, P., Psarra, S., ... Zodiatis, G. (2007). Microbial community structure and function in the Levantine Basin of the eastern Mediterranean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 54(10), 1721–1743. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2007.06.008>
- Tanhua, T., Hainbucher, D., Schroeder, K., Cardin, V., Álvarez, M., & Civitarese, G. (2013). The Mediterranean Sea system: A review and an introduction to the special issue. *Ocean Science*, 9(5), 789–803. <https://doi.org/10.5194/os-9-789-2013>
- Thingstad, T. F., Krom, M. D., Mantoura, R. F. C., Flaten, G. A. F., Groom, S., Herut, B., ... Zohary, T. (2005). Nature of phosphorus limitation in the ultraoligotrophic eastern Mediterranean. *Science (New York, N.Y.)*, 309(5737), 1068–71. <https://doi.org/10.1126/science.1112632>
- Thingstad, T. F., Zweifel, U. L., & Rassoulzadegan, F. (1998). P limitation of heterotrophic bacteria and phytoplankton in the northwest Mediterranean. *Limnology and Oceanography*, 43(1), 88–94. <https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.1.0088>
- Turley, C. M., Bianchi, M., Christaki, U., Conan, P., Harris, J. R. W., Psarra, S., ... Van Wambeke, F. (2000). Relationship between primary producers and bacteria in an oligotrophic sea - The Mediterranean and biogeochemical implications. *Marine Ecology Progress Series*, 193, 11–18. <https://doi.org/10.3354/meps193011>
- Tyrrell, T., & Merico, A. (2004). *Emiliania huxleyi*: bloom observations and the conditions that induce them. In *Coccolithophores* (pp. 75–97). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-06278-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-662-06278-4_4)
- Umlauf, L., Burchard, H., & Bolding, K. (2012). GOTM-Sourcecode and Test Case Documentation. *Software Manual*, 346. Retrieved from <http://www.gotm.net/pages/documentation/manual/stable/pdf/a4.pdf>
- UNESCO. (1986). *Progress on oceanographic tables and standards 1983–1986: work and*

*recommendations of the UNESCO/SCOR/ICES/IAPSO Joint Panel.*

- Uysal, Z. (2006). Vertical distribution of marine cyanobacteria *Synechococcus* spp. in the Black, Marmara, Aegean, and eastern Mediterranean seas. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 53(17–19), 1976–1987. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.03.016>
- Uysal, Z., & Köksalan, I. (2006). The annual cycle of *Synechococcus* (cyanobacteria) in the northern Levantine Basin shelf waters (Eastern Mediterranean). *Marine Ecology*, 27(3), 187–197. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2006.00105.x>
- Van Cappellen, P., Powley, H. R., Emeis, K. C., & Krom, M. D. (2014). A biogeochemical model for phosphorus and nitrogen cycling in the Eastern Mediterranean Sea: Part 1: Model development, initialization and sensitivity. *Journal of Marine Systems*, 139, 460–471. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2014.08.016>
- Vázquez-Baeza, Y., Pirrung, M., Gonzalez, A., & Knight, R. (2013). EMPeror: a tool for visualizing high-throughput microbial community data. *GigaScience*, 2(1), 16. <https://doi.org/10.1186/2047-217X-2-16>
- Vidussi, F., Claustre, H., Manca, B. B., Luchetta, A., & Jean-Claude, M. (2001). Phytoplankton pigment distribution in relation to upper Francesca Claustre For the whole Tchl a concentration mg estimated production value being mg m and the highest picophytoplankton contribution of Tchl a •. gyres by low Tchl a concentrations and. *Journal of Geophysical Research*, 106, 939–956. <https://doi.org/10.1029/1999JC000308>
- Wang, X., Hu, M., Xia, Y., Wen, X., & Ding, K. (2012). Pyrosequencing analysis of bacterial diversity in 14 wastewater treatment systems in china. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(19), 7042–7047. <https://doi.org/10.1128/AEM.01617-12>
- Ward, B. B. (1996). Nitrification and denitrification: Probing the nitrogen cycle in aquatic environments. *Microbial Ecology*, 32(3), 247–261. <https://doi.org/10.1007/BF00183061>
- Ward, B. B. (2000). Nitrification and the marine nitrogen cycle. *Microbial Ecology of the Oceans*, 427–453.
- Wassmann, P., Ypma, J. E., & Tselepidis, A. (2000). Vertical flux of faecal pellets and microplankton on the shelf of the oligotrophic Cretan Sea (NE Mediterranean Sea). *Progress in Oceanography*, 46(2–4), 241–258. [https://doi.org/10.1016/S0079-6611\(00\)00021-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6611(00)00021-5)
- Waterbury, J. B., Watson, S. W., Guillard, R. R. L., & Brand, L. E. (1979). Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic, cyanobacterium. *Nature*, 277(5694), 293–

294. <https://doi.org/10.1038/277293a0>

- Weiss, R. F. (1970). The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. *Deep-Sea Research*, (17), 721–735.
- Werner, J. J., Koren, O., Hugenholtz, P., DeSantis, T. Z., Walters, W. A., Caporaso, J. G., ... Ley, R. E. (2012). Impact of training sets on classification of high-throughput bacterial 16s rRNA gene surveys. *The ISME Journal*, 6(1), 94–103. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.82>
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 6578–6583. Retrieved from <http://www.pnas.org/content/95/12/6578.abstract>
- Yacobi, Y. Z., Zohary, T., Kress, N., Hecht, A., Robarts, R. D., Waiser, M., ... Li, W. K. W. (1995). Chlorophyll distribution throughout the southeastern Mediterranean in relation to the physical structure of the water mass. *Journal of Marine Systems*, 6(3), 179–190. [https://doi.org/10.1016/0924-7963\(94\)00028-A](https://doi.org/10.1016/0924-7963(94)00028-A)
- Yakushev, E. V., Kuznetsov, I. S., Podymov, O. I., Burchard, H., Neumann, T., & Pollehne, F. (2011). Modeling the influence of oxygenated inflows on the biogeochemical structure of the Gotland Sea, central Baltic Sea: Changes in the distribution of manganese. *Computers and Geosciences*, 37(4), 398–409. <https://doi.org/10.1016/j.cageo.2011.01.001>
- Yalçın B., Artüz M. L., Pavlidou A., Çubuk S., Dassenakis M., 2017, Nutrient dynamics and eutrophication in the Sea of Marmara: Data from recent oceanographic research, *Science of The Total Environment*, Volumes 601–602, p 405-424, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.179>.
- Yilmaz, A., & Tugrul, S. (1998). The effect of cold- and warm-core eddies on the distribution and stoichiometry of dissolved nutrients in the northeastern Mediterranean. *Journal of Marine Systems*, 16(3–4), 253–268. [https://doi.org/10.1016/S0924-7963\(97\)00022-5](https://doi.org/10.1016/S0924-7963(97)00022-5)
- Yogev, T., Rahav, E., Bar-Zeev, E., Man-Aharonovich, D., Stambler, N., Kress, N., ... Berman-Frank, I. (2011). Is dinitrogen fixation significant in the Levantine Basin, East Mediterranean Sea? *Environmental Microbiology*, 13(4), 854–71. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02402.x>
- Zafiriou, O. ., Blough, N. ., Micinski, E., Dister, B., Kieber, D., & Moffett, J. (1990). Molecular probe systems for reactive transients in natural waters. *Marine Chemistry*, 30, 45–70. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(90\)90061-G](https://doi.org/10.1016/0304-4203(90)90061-G)



- Zeev, E. B., et al. (2008). "Seasonal dynamics of the endosymbiotic, nitrogen-fixing cyanobacterium *Richelia intracellularis* in the eastern Mediterranean Sea." *ISME J* 2(9): 911-923.
- Zenetos, A.; Siokou-Frangou, I.; Gotsis-Skretas, O.; Groom, S. (2002). Seas around Europe: the Mediterranean Sea: blue oxygen-rich, nutrient-poor waters. Europe's biodiversity: biogeographical regions and seas. European Environment Agency: Copenhagen. pp 22.
- Zohary, T., Herut, B., Krom, M. D., Fauzi, R., Pitta, P., Psarra, S., ... Malcolm, E. (2005). P-limited bacteria but N and P co-limited phytoplankton in the Eastern Mediterranean - A microcosm experiment. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 52(22–23), 3011–3023. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2005.08.011>

**TÜBİTAK**  
**PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. BARIŞ SALİHOĞLU
Proje No:	115Y629
Proje Başlığı:	Denizlerdeki Mikrobiyal Reaksiyonların Yeni Yaklaşımlar Kullanılarak Araştırılması: Genetik, Biyojeokimya ve Modelleme
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	30
Araştırmacılar:	VALERIA IBELLO, HASAN ÖREK, ARZU KARAHAN
Danışmanlar:	SÜLEYMAN TUĞRUL
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/04/2016 - 15/10/2018
Onaylanan Bütçe:	578985.0
Harcanan Bütçe:	505360.11

TÜBİTAK

Öz:	<p>ODTÜ Deniz Bilimleri Enstitüsü tarafından Mersin Körfezi'nde 1997 yılından bu yana sürdürülen Erdemli Zaman Serisi (ETS) programı dahilinde ölçülen değişkenlere ek olarak, bu proje kapsamında toplam su kolonu derinliği 200 metre olan istasyonda altı farklı derinlikten bir yıl boyunca aylık periyotlarda deniz suyu örnekleme yapılmıştır. Bu örneklerde yeni nesil dizileme yönteminin kullanıldığı ampikon dizilemesi (metagenomik) analizleri yapılarak biyojeokimyasal döngülerde önemli roller oynayan bakteri türleri tayin edilmiş, topluluk yapıları ve bolluklarının zamansal değişimi belirlenmiştir. Taksalar arasında Pelagibacteriacea'ya ait olan SAR11 kladının tüm derinlikler ve aylarda baskınlığı gözlenmiştir. Bu kladın üyeleri fonksiyonel olarak organik maddeyi oksitleyerek karbondioksit üreten heterotrofik bakterilerdir ve dolayısıyla biyojeokimyasal döngülerin remineralizasyon ayağında rol almaktadırlar. SAR11 kladının bolluğu yıl boyunca %22 ve %64 arasında değişim göstermiştir. SAR11 kladının ekotipleri olan Clade Ia ve Clade Ib ise derinliğe bağlı yayılım göstermektedirler. Clade Ia yüzey sularında baskınlık gösterirken Clade Ib'nin derin sulara komüniteye katkısı daha fazla olmaktadır. Bunun yanı sıra komünite yapısını belirleyen en önemli çevresel faktörler sıcaklık, nitrat, görünür oksijen kullanımı, sezon ve ışıklı tabaka derinliği olarak belirlenmiştir. Sezonlar arasındaki filogenetik çeşitlilik, belirgin olarak farklı bulunmuştur. Bunun yanı sıra bakterilerin aktif metabolizmalarını tayin etmek için sezonluk olarak mRNA örnekleme yapılmış ve örnekler metatranskriptom yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu yöntem aracılığı ile bakteriler tarafından gerçekleştirilen biyokimyasal reaksiyonların aktif ve inaktif oldukları dönemler saptanmıştır. Nitrifikasyonun ilk basamağı olan amonyak oksitlenmesi Kasım ayında oldukça yüksek bulunmuştur. Ancak nitrifikasyonun ikinci basamağı olan nitritin nitrate oksitlenme sürecine ait olan belirteç genlere herhangi bir örnekte rastlanmamıştır. Sisteme yeni azot girdisi sağlayan azot fiksasyonuna mRNA ifadelerinde rastlanmamıştır. Metatranskriptom yöntemine elde edilen bulgulara ek olarak nitrifikasyon ve azot fiksasyon süreçleri izotop yöntemi ile de her ay dört farklı derinlikten yapılan örnekleme ile araştırılmıştır. Nitrifikasyonun sadece afotik bölgede gerçekleşmediği görülmüştür. Azot fiksasyonu belirteç genlerine rastlanmadığı halde izotop yöntemi ile yapılan çalışmada azot fiksasyonu tüm yıl boyunca ve tüm derinliklerde çok düşük de olsa tespit edilmiştir. Azot döngüsüne ek olarak, metatranskriptom çalışması ile kısıtlı inorganik fosfat varlığında aktive olan alkalın fosfataz'ın sezonluk değişimi de göstermiştir. Buna göre, ortamda düşük fosfat konsantrasyonları gözlemlendiğinde bakterilerin diğer fosfor kaynaklarına yöneldiği gözlemlenmiştir.</p> <p>Bunlara ek olarak denizdeki biyokimyasal döngüleri sayısal olarak temsil eden ve tahminleri direkt olarak ölçümlerle karşılaştırılabilecek bir modelleme sistemi bölgeye uyarlanmıştır. Bu modelleme sistemi bir parametre tahmin algoritması ve proje kapsamında yapılan ölçüm verileri ile birleştirilerek modelde reaksiyon hızlarını kontrol eden parametrelerin tahmini yapılmıştır. Bu tahmin sonucunda ortaya çıkan nitrifikasyon hızları izotop yöntemi ile yapılan nitrifikasyon hızları ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma reaksiyon hızları tahmini için modelleme sistemi ve parametre tahmini kullanımının zor olan izotop yöntemine alternatif bir yöntem olma potansiyelini göstermiştir.</p> <p>Yapılan bir yıllık gözlemler, kullanılan izotop yöntemleri ve modelleme yaklaşımı bölgedeki bilimsel bilgiye önemli katkılar sağlamıştır. Bakteri topluluk yapıları Türkiye kıyılarında ilk defa kültür bağımsız yöntemlerle ortaya konmuştur. Bunun yanı sıra izotop yöntemleri ve yapılan metatranscriptom çalışması bölgede azot fiksasyonunun baskın bir süreç olmadığını ortaya koymuştur. Biyojeokimyasal bir modelleme sistemi başarıyla bölgeye uyarlanmıştır.</p>
Anahtar Kelimeler:	Akdeniz, denizel bakteriler, metagenom, metatranscriptom, sayısal deniz modelleri, biyojeokimya
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Proje Yapılan Yayınlar:	<p>1- Levant Baseninde Nitrifikasyon ve Azot Fiksasyonu: Zaman Serisi Çalışması (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>2- DENİZLERDEKİ MİKROBİYAL DÖNGÜLERİN GENETİK YAKLAŞIMLAR KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>3- Kuzey Doğu Levant Baseni'nin Prokaryotik Biyolojik Çeşitliliğinin 16S rRNA Ampikon Dizileme Yöntemi ile Araştırılması- Öncül Sonuçlar (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>4- Investigating marine microbial reactions using novel approaches: Genetics, Biochemistry and Modeling (Bildiri - Ulusal Bildiri - Poster Sunum),</p>