

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İSTANBUL'DA ÖNEMLİ TARİHİ ESERLERDEKİ TAŞ MALZEMENİN
MİKROBİYOLOJİK BOZUNMASI**

AYSUN ÖZDEMİR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. YAŞAR NUHOĞLU**

İSTANBUL, 2017

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İSTANBUL'DA ÖNEMLİ TARİHİ ESERLERDEKİ TAŞ MALZEMENİN
MİKROBİYOLOJİK BOZUNMASI**

Aysun ÖZDEMİR tarafından hazırlanan tez çalışması 06/06/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Yaşar NUHOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Mustafa S. YAZGAN
İstanbul Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Hürrem BAYHAN
Yıldız Teknik Üniversitesi



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2012-05-02-KAP01 no'lu BAP projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans çalışmamın tüm aşamasında değerli bilgi ve eleştirilerini esirgemeyen, her konuda bana yardımcı olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU'na, Çalışmalarım süresince deneyim ve bilgilerini bizimle paylaşan Sayın Yrd. Doç. Dr. Hürrem BAYHAN'a, Prof. Dr. İsmet HASENEKOĞLU'na ve Prof. Dr. M. Sinan BİLGİLİ'ye, Laboratuvar çalışmalarımda yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Gökhan Önder ERGÜVEN, Arş. Gör. Elanur ADAR ve Sultan Cansu GÖNENÇ'e, Çalışmalarım esnasında maddi, manevi ve her koşulda yanımda olan ailemin bütün bireylerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz, 2017

Aysun ÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	6
1.3 Hipotez	6
BÖLÜM 2	
İSTANBUL VE İNCELENEN TARİHİ YAPILAR.....	7
2.1 İstanbul'un Konumu ve Kültürel Önemi	7
2.2 Yıldız Teknik Üniversitesi.....	8
2.2.1 Y.T.Ü. Yıldız Kampüs ve Çevresindeki Tarihi Yapılar	9
2.2.1.1 Büyük Mabeyn Köşkü	9
2.2.1.2 Çit Kasrı	10
2.2.1.3 Çukur Saray	10
2.2.1.4 Ertuğrul Tekke Camii	10
2.2.1.5 Hamidiye Camii	10
2.2.1.6 Şehzade Köşkü.....	11
2.2.1.7 Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi	11
BÖLÜM 3	
KÜLTÜREL MİRAS VE TARİHİ YAPILARDA BOZUNMA	12

3.1	Bozulma Türleri	13
3.2	Biyolojik Bozunma Faktörleri	14
3.2.1	Biyolojik Bozunmaya Neden Olan Organizmalar	14
3.2.1.1	Heterotrof Organizmalar	15
3.2.1.2	Ototrof Organizmalar	16
3.2.2	Gelişmiş Bitkiler	16
3.2.3	Hayvanlar	17

BÖLÜM 4

MİKROBİYOLOJİK SAYIM YÖNTEMLERİ	18
4.1 Klasik Kültürel Sayım Yöntemleri	18
4.1.1 Agarlı Besiyerine Ekim ve Koloni Sayımı	18
4.1.1.1 Sürme Yöntemi.....	18
4.1.1.2 Dökme (Plak) Yöntemi.....	19
4.1.1.3 Yüzeyde Kültürel Ekim Yöntemi	20
I. Yayma Yöntemi20	
II. Damlatma Yöntemi	20
4.1.2 Koloni Sayım ve Hesaplanması	21
4.1.2.1 Dilüsyon Tekniği	21
4.1.2.2 Koloni Sayım ve Değerlendirme	22
4.1.3 Besiyerine Ekim ve İnkübasyon	22
4.1.3.1 Çalışmada Kullanılan Başlıca Besiyerleri	23
I. Standart Plate Count Agar	23
II. Malt Ekstrakt Agar	24
III. Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar	24
IV. Dextrose – Caseine-Peptone Agar	24
V. Sabouraud Dextrose Agar	25
VI. Czapek Dox Agar	25
4.2 Özel Kültürel Sayım Yöntemleri	26
4.2.1 Bakteri Sayımı	26
4.2.2 Maya ve Küf Sayımı.....	26
4.2.3 Mantar ve Aktinomisetlerin Sayımı	27
4.3 Moleküler Tanı Yöntemleri İle Mikrobiyal Tür Tayini	27
4.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	27
4.3.2 Denature Gradyan Jel Elektroforezi	29
4.3.3 Dizi (Sekans) Analizi	29
4.3.4 Filogenetik Analizler	30

BÖLÜM 5

MATERYAL VE METOD	32
5.1 Araştırma Alanının Meteorolojik Özellikleri	32
5.2 Araştırma Alanları	33
5.3 Örneklerin Toplanması ve Analizi	35
5.4 Mikroorganizmaları Tanımlamada Kullanılan Besiyerleri	38
5.5 X Işını Floresans (XRF) Analizi.....	39

5.6	Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi	39
5.7	Mikroskopta İnceleme	39
5.8	Kültürel (besiyeri) İncelemeler	40
5.8.1	Toplam Bakteri Sayısının Tespiti	40
5.8.2	Mantar ve Aktinomisetlerin Tespiti ve Sayımı	40
5.9	Mikrobiyal Tür Analizleri	41
5.9.1	DNA Ekstraksiyonu	42
5.9.2	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	43
5.9.2.1	Primerlerin Hazırlanması	43
5.9.2.2	Amplifikasyon İçin Master Mix Hazırlanması	44
5.9.3	Agarose ve Akrilamid Jellerde Nükleik Asitlerin Gözlenmesi	45
5.9.3.1	Agaroz Jelin Hazırlanması	45
5.9.3.2	DNA Marker Hazırlanması	45
5.9.3.3	Örneklerin Jele Yüklenmesi	46
5.9.3.4	Yürütme (Elektroforez)	46
5.9.3.5	Görüntüleme	46
5.9.4	Denature Gradyan Jel Elektroforez (DGGE) Tekniği	47
5.9.4.1	Poliakrilamid Jel Hazırlanması	47
5.9.5	DNA Dizi Analizi	48
5.9.5.1	DGGE Bantlarına PCR Uygulanması	49
5.9.6	Filogenetik Analiz	50
BÖLÜM 6		
BULGULAR VE DEĞERLENDİRME		51
6.1	XRF Çalışma Sonuçları: Kullanılan Taşların Bileşimi ve Mikroorganizma Gelişmesine Etkisi	53
6.2	Sem Çalışma Sonuçları ve Kullanılan Taşların Gözenekliliği ve Mikroorganizma Gelişmesine Etkisi	60
6.3	Mikroskopta İnceleme Sonuçları	64
6.4	Besiyeri Çalışmaları: Taşların Yüzeyinde Bulunan Mikroorganizmaların Tespiti	67
6.4.1	Taşların Yüzeyinde Tespit Edilen Mikroorganizma Sayıları	67
6.4.2	Besiyeri Çalışmalarına Dayalı Diagnostik İnceleme Çalışmaları ile Tespit Edilen Mantar Türü Analizleri	78
6.4.3	Besiyeri Çalışmalarına Dayalı Diagnostik İnceleme Çalışmaları ile Tespit Edilen Bakteri Türü Analizleri	88
6.5	PCR ve DGGE Çalışmaları ile Bakteri ve Mavi-Yeşil Alg Türü Analizleri	93
6.6	Filogenetik Ağaç	114
BÖLÜM 7		
SONUÇLAR.....		119
KAYNAKLAR.....		123
ÖZGEÇMİŞ.....		135

SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
Ca	Kalsiyum
CaCO ₃	Kalsiyumkarbonat (Kalsit)
CaSO ₄ .2H ₂ O	Jips
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NO _x	Azotoksit
pH	Ortam reaksiyonu
SO ₂	Kükürtdioksit
SO ₄	Sülfat
™	Ticaret Markası (Trademark)

KISALTMA LİSTESİ

APS	Ammonium Persulfate Solution (Amonyum persulfat)
bç	Baz Çifti
BSA	Protein Standartı Sığır Serum Albumin
CDA	Czapex Dox Agar
CFU	Koloni Oluşturan Ünite
CZ	Czapex Dox Agar
ÇS	Çukursaray
dATP	Deoksi Adenazin Trifosfat
D CPA	Dextrose-Casein-Peptone Agar
dCTP	Deoksi Sitidin Trifosfat
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
dGTP	Deoksi Guanozin Trifosfat
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DRBC	Dichloran Rose Bengal Chloromphenical Agar
dTTP	Deoksi Timidin Trifosfat
EDS	Enerji Dağılımı Spektrometresi
EPS	Ekstraselüler Polisakkaritler
ESEM	Çevresel Taramalı Elektron Mikroskopisi
EtBr	Ethidium Bromide
ETC	Ertuğrul Tekke Camii
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
HC	Hamidiye Camii
MCP	Mikrobiyal Karbonat Çökmesi
MEA	Malt Extract Agar
MEM-TEK	Ulusal Membran Teknolojileri Uygulama ve Araştırma Merkezi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	Potato Dextrose Agar
PM	Partiküler Madde
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
SDA	Sabouraud Dextrose Agar
SEM	Tarama Elektron Mikroskobu
SPCA	Standart Plate Count Agar

spp.	Taksonomide Bir Cinse Ait Tüm Türler
ŞK	Şehzade Köşkü
ŞMZT	Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi
T.A.E.K	Türkiye Atom Enerjisi Kurumu
TAE	Tris-Asetat-EDTA
Taq	Thermus Aquaticus
TEMED	Tetramethylenediamine
UV	Ultra Viyole
XRD	X-Işını Kırınım Analizi
XRF	X-ışını Floresans
YS-BM	Yıldız Sarayı Büyük Mabeyn
YS-ÇK	Yıldız Sarayı Çit Kasrı



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 İstanbul uydu görüntüsü	8
Şekil 2.2 Yıldız Teknik Üniversitesi Yıldız Kampüsü, Beşiktaş	8
Şekil 3.1 Tarihi yapılarda taşların arasındaki boşluklarda gelişerek taşların tahrip olmasına yol açan bitkiler	17
Şekil 4.1 Sürme yöntemi kullanılarak agarlı besiyerine ekim	19
Şekil 4.2 PCR amplifikasyonu basamakları [81]	28
Şekil 5.1 Araştırma alanları	33
Şekil 5.2 A-Yıldız Sarayı Büyük Mabeyn A1-0.5m yüksekliğe ait taş yüzeyi A2- 2m yüksekliğe ait taş yüzeyi.	34
Şekil 5.3 B-Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi B1-0.5 m yüksekliğe ait taş yüzeyi B2-2 m yüksekliğe ait taş yüzeyi.	34
Şekil 5.4 C-D Çit Kasrı C1-Çit Kasrı 0.5 m yüksekliğe ait taş yüzeyi, D2-Çit Kasrı 2 m yüksekliğe ait taş yüzeyi görüntüsü.	35
Şekil 5.5 a)1 gram taş örneği/100 ml fizyolojik tuzlu su ortamı, b)Hazır ticari besiyeri, Dichloran Rose-Bengal Chloromphenical (DRBC) Agar	38
Şekil 5.6 NucleoSpin® çalışma prosedürü	42
Şekil 5.7 Nucleospin bead tube görüntüsü	42
Şekil 5.8 DGGE jel yükleme görüntüsü ve DGGE cihazı	48
Şekil 6.1 Şehzade Köşkü XRF spektrumu	54
Şekil 6.2 Çukur Saray XRF spektrumu	54
Şekil 6.3 Ertuğrul Tekke Camii XRF spektrumu	55
Şekil 6.4 Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi XRF spektrumu	55
Şekil 6.5 Çit Kasrı XRF spektrumu	55
Şekil 6.6 A) Çit Kasrı'na ait 2m yükseklikten alınan örneğin SEM analizi, B) Çit Kasrı'na ait 0.5m yükseklikten alınan örneğe ait SEM analizi. Her iki örnekte de <i>Penicillium sp.</i> hifleri, mikrobiyal biyofilm, askospor ve basidiosporlar görülmektedir.	61
Şekil 6.7 C) Çit Kasrı'nın Sol cephesine ait örneğin SEM görüntüsü, D) Ertuğrul Tekke Camii 2m yükseklikten alınan örneğe ait SEM görüntüsü.	62
Şekil 6.8 E) Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi 2m yüksekliğine ait örneğin SEM görüntüsü, F) Çukur Saray 2m yükseklikten alınan örneğe ait SEM görüntüsü.	62
Şekil 6.9 G-H) Şehzade Köşkü 2m yüksekliğine ait örneklerin SEM görüntüsü.	63

Şekil 6.10 İ) Çit Kasrı'ndan (2m) alınan örneğin SEM görüntüsü, J) Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi'nden alınan (2m) örneğin SEM görüntüsü.	63
Şekil 6.11 K) Çukur Saray (2m) duvar yüzeyinden alınan örneğin SEM görüntüsü, L) Ertuğrul Tekke Camii (2m) duvar yüzeyinden alınan örneğin SEM görüntüsü.	64
Şekil 6.12 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri..	65
Şekil 6.13 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri..	65
Şekil 6.14 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri..	66
Şekil 6.15 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri..	66
Şekil 6.16 İki farklı besiyeri ortamına (A- SDA besiyeri, B- DRBCA besiyeri) paralel ekim tekniği ile belirlenen <i>Cladosporium cladosporoides</i> türüne ait koloni farklılığının makroskopik görüntüsü.	73
Şekil 6.17 Kültürel ekim tekniği ile Haziran ayında üç farklı besi ortamında (DRBC Agar, MEA, SDA) gelişme gösteren koloni farklılığının makroskopik görüntüsü.	75
Şekil 6.18 Kültürel ekim tekniği ile Şubat ayında üç farklı besi ortamında (DRBC Agar, SDA, MEA) gelişme gösteren koloni farklılığının makroskopik görüntüsü.	76
Şekil 6.19 Mantarların taşın bozunmasındaki metabolizmasının basit modeli [111].....	84
Şekil 6.20 Kültürel ekim yöntemiyle farklı besi ortamlarında saptanan çeşitli kolonilerin makroskopik görüntüleri A1- <i>Alternaria alternata</i> , B2- <i>Cladosporium cladosporioides</i> , C3- <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> D4- <i>Penicillium expansum</i> E5,E6- <i>Penicillium frequentans</i> , <i>Cladosporium cladosporoides</i> F7- <i>Penicillium jenseni</i>	86
Şekil 6.21 Kültürel ekim yöntemiyle farklı besi ortamlarında saptanan çeşitli kolonilerin makroskopik görüntüleri G8- <i>Geotrichum</i> sp. H9- <i>Penicillium expansum</i> I10- <i>Trichoderma koningii</i> İ11- <i>Geotrichum</i> sp. J12- <i>Ulocladium alternaria</i> . K13- <i>Penicillium expansum</i>	87
Şekil 6.22 Agaroz jel elektroforezi görüntüsü	93
Şekil 6.23 DGGE aşamasından elde edilen jel görüntüsü	94
Şekil 6.24 Poliakrilamid jel üzerinde görüntülen DNA bantları	95
Şekil 6.25 Siyanobakterilerin farklı taş malzemelerde oluşum yüzdeleri [134].....	113
Şekil 6.26 DNA dizilim analizi sonucu elde edilen 16S rRNA gen bölgesinin fragment kromatografisinden bir örnek.....	114
Şekil 6.27 Bant 27'ye ait DNA dizilim sonucu nükleotit baz diziliminin fragment kromatografisinden bir görüntü.	115
Şekil 6.28 Türlerle ait Gen bankası erişim numaraları ile oluşturulan filogenetik ağaç	116
Şekil 6.29 Siyanobakteri/bakteri türlerinin Neighbor Joining (NJ) modeli ile elde edilen filogenetik ağacı.	117
Şekil 6.30 Siyanobakteri/bakteri türlerinin aralarındaki uzaklığın gösterildiği filogenetik ağacı	118

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 Tarihi eserlerdeki taş malzemelerde biyolojik bozunma oluşturan mikroorganizma grupları ve biyolojik bozunma şekilleri [10].	2
Çizelge 4.1 Czapek-Dox Agar besiyerinin formülü	25
Çizelge 4.2 Bakteriyel tanımlama için 16S rDNA gen dizilimi analizinin prosedürleri ve çalışma süreleri [70]	30
Çizelge 5.1 Ortalama iklim ve hava kirliliği özellikleri, Beşiktaş-İstanbul (2010-2015)	33
Çizelge 5.2 Çalışmada incelenen örnek alanlar	36
Çizelge 5.3 Araştırmamızda kullanılan mikrobiyal analiz yöntemleri	37
Çizelge 5.4 Kullanılan katı besiyerleri ve hazırlanışı	38
Çizelge 5.5 PCR işleminde kullanılan reaksiyon protokolü	43
Çizelge 5.6 İleri-geri primerler	44
Çizelge 5.7 Polimeraz zincir reaksiyon döngüsü	45
Çizelge 5.8 Agaroz jel için gerekli malzemeler	45
Çizelge 5.9 DNA markerının hazırlanış prosedürü	46
Çizelge 5.10 Yükleme örneğinin hazırlanma prosedürü	46
Çizelge 5.11 DGGE jel hazırlama prosedürü	47
Çizelge 5.12 Stacking jel prosedür	48
Çizelge 5.13 Çalışmada son PCR aşamasında kullanılan primerler	49
Çizelge 5.14 PCR2 için gerekli reaktifler ve miktarları	49
Çizelge 5.15 Filogenetik ağaç oluşturmak için kullanılan türlere ait genbank erişim numaraları	50
Çizelge 6.1 2014 Haziran ayı çalışmasında incelenen örnekleme alanları	56
Çizelge 6.2 Tarihi eserlerdeki taşların XRF analiz sonuçları	58
Çizelge 6.3 2013 Şubat ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)	67
Çizelge 6.4 2013 Mart ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)	69
Çizelge 6.5 Taş yüzeylerde tespit edilen mantar türleri	70
Çizelge 6.6 2013 Aralık ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)	71
Çizelge 6.7 2014 Haziran ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)	73

Çizelge 6.8 2014 Temmuz ayı tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)..	76
Çizelge 6.9 Diagnostik tanılama ile belirlenen mantar türleri	80
Çizelge 6.10 Tarihi eserlerde bozunmaya yol açan mantar türleri	83
Çizelge 6.11 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Şubat ayı)	89
Çizelge 6.12 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Mart ayı)	89
Çizelge 6.13 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Aralık ayı)	89
Çizelge 6.14 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Haziran ayı)	90
Çizelge 6.15 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Temmuz ayı).....	90
Çizelge 6.16 Taş yüzeylerde tespit edilen bakteri türleri.....	91
Çizelge 6.17 DGGE profillerinden 16S rRNA gen dizilerinin kısmi tanımlanması.....	96
Çizelge 6.18 23 numaralı bandın <i>Anabaena cylindrica strain PCC 7122</i> (NR_102457.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları	98
Çizelge 6.19 21 numaralı bandın <i>Nostoc punctiforme strain PCC 73102</i> (NR_074317.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları	99
Çizelge 6.20 1 numaralı bandın <i>Calochaete cimrmanii strain RKST551</i> (NR_117712.2) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları.....	102
Çizelge 6.21 2 numaralı bandın <i>Cylindrospermum pellucidum strain CCALA 989</i> (NR_125683.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları.....	103
Çizelge 6.22 22 numaralı bandın <i>Halospirulina tapeticola CCC Baja-95 Cl.2</i> (NR_026510.1) ile 16S rRNA eşleştirme sonuçları	107
Çizelge 6.23 24 numaralı bandın <i>Fischerella thermalis strain PCC 7521</i> (NR_112178.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları	109
Çizelge 6.24 25 numaralı bandın <i>Bacillus thermoamylovorans strain LMG 18084</i> (NR_117028.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları.....	110
Çizelge 6.25 27 numaralı bandın <i>Acidicaldus organivorans Y008</i> (NR_042752.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları	111
Çizelge 6.26 26 numaralı bandın <i>Truepera radiovictrix RQ-24</i> (NR_074381.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları	112

İSTANBUL'DA ÖNEMLİ TARİHİ ESERLERDEKİ TAŞ MALZEMENİN MİKROBİYOLOJİK BOZUNMASI

Aysun ÖZDEMİR

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Yaşar NUHOĞLU

Bu çalışmada; Yıldız Teknik Üniversitesi Yıldız kampüsü ve çevresinde bulunan tarihi eserlerdeki taş malzemenin biyolojik bozunmasında rol oynayan mikroorganizmalar belirlenip biyolojik bozunmaya katkıları araştırılmıştır. Taş yüzeyinde bulunan mikroorganizmalar mikroskobik, klasik kültürel ekim, 16 S rRNA gen analizine dayalı PCR, XRF ve SEM analizleri yapılarak tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre örneklerin çoğunda alg, mantar ve siyanobakteriler olmak üzere çeşitli mikroorganizma türleri tespit edilmiş, 1 gr. taş örneğindeki sayıları (CFU-1) belirlenmiştir. XRF-SEM çalışmalarıyla taşların minerolojik bileşenleri ile mikroorganizmaların taşın yüzeyinde ve gözeneklerindeki bulunma şekilleri ortaya konmuştur. Mikroskobik çalışmalar ile mikroorganizmaların morfolojik özellikleri belirlenmiştir.

Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı moleküler tekniklerle 23 tür bakteri/siyanobakteri tespit edilmiştir. Klasik ekim yöntemleri ile 17 tür seviyesinde, 9 cins seviyesinde mantar ve 4 tür seviyesinde, 2 cins seviyesinde bakteri tespit edilmiştir. PCR analizleri ile taşlarda yaşayan mikroorganizmaların filogenetik soy ağacı oluşturulmuştur.

Tüm bu çalışmaların sonucunda tarihi eserlerdeki taş malzemenin yüzeyinde oluşan fiziksel ve mekanik bozunmanın yanında mikroorganizmaların da metabolik

faaliyetleri sonucunda oluşturdukları asitler, pigmentler ve metobolitler ile taşın bozunmasında önemli bir etmen oldukları belirlenmiştir.

Bu çalışma ile tarihi yapılarda oluşan bozunmaların önlenmesi ve tarihi eserlerin ayakta kalmasını sağlamak için “T.C. Başbakanlık Vakıflar Genel Müdürlüğü”nün yaptığı restorasyon ve onarım çalışmalarının çok önemli görölmüştür.

Anahtar Kelimeler: Tarihi taş yapılar, mikroorganizmalar, biyolojik bozunma, moleküler teknikler, İstanbul



**BIODETERIORATION OF STONE MATERIALS IN IMPORTANT HISTORICAL
MONUMENT IN İSTANBUL**

Aysun ÖZDEMİR

Department of Environmental Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU

In this study; microorganisms that play a role on the bio-deterioration of historical stone materials were characterized and their contribution to the microbial degradation was determined around Yıldız Campus in Yıldız Technical University. The microorganisms on the stone surface were determined by microscopic investigation, classic cultural method, microbial characterization based on denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and PCR-amplified 16S rRNA gene fragments, X-ray fluorescence (XRF) and scanning electron microscope (SEM) analyzes. The results from this study indicated that most of the microbial communities were the group member of algae, fungi, cyanobacteria and bacterial species. Moreover, the numbers of CFU were calculated as colony forming unit per gram of sample. The mineralogical components of the historical stones was analyzed by XRF, while the presence of microorganism on the stone surface and pores were morphologically characterized by SEM. Further, the morphological characteristics of microbes were carried out by using the microscopic observation. The 23 species of bacterium/cyanobacteria were detected by the molecular techniques based on PCR and DGGE, in addition 17 species plus 9 genus of fungi and 4 species plus 2 genus of bacteria were cultivated by basic bacterial cultivation methods. A phylogenetic tree was constructed for community of microorganism living on stone surfaces via 16S ribosomal RNA (or 16S rRNA) gene

sequencing results. The current work showed that microorganisms play an important role in the deterioration of stone due to producing several acids, pigments and metabolites besides the physical and mechanical degradation occurring on the surface of stone materials in historical monuments. Therefore, it is concluded that the restoration efforts by the "T.R. Prime Ministry Directorate General of Foundations" has a vital role in order to prevent the deterioration of historical monuments and survive historic buildings.

Keywords: Stone monuments, microorganisms, biodeterioration, molecular techniques, İstanbul



1.1 Literatür Özeti

Kültürel varlıklar, tarih öncesine dair yaşamla ilgili bilgileri taşıyan önemli evrensel değerlerdir. Gelecek nesillere, bu değerleri miras bırakma açısından kültür değerlerinin korunma bilincinin oluşturulması oldukça önemlidir. Bu eserlerin çeşitli faktörlerden olumsuz etkilenerek bozunmaya uğraması kültür varlıklarına sahip çıkma bilincinin güçlenmesine ve bu kültür mirasının kurtarılma/korunma yollarının araştırılmasına neden olmuştur. Türü yapı malzemelerinden inşa edilen anıtlar bozunmadan etkilenmektedir ve bu eserlerin birçoğunun bozunma süreci kaygı verici durumdadır. Bu bakımdan yapı malzemeleri bozunma mekanizmalarının bilimsel yöntem ve çalışmalarla araştırılıp değerlendirilmesi gerekir [1-7].

Tarihi yapılar temel yapı elemanı olarak taş ve ahşap malzemeden oluşmakta olup çoğunlukla ana taşıyıcı iskeleti taş malzemeler oluşturmaktadır. Yapıların ana taşıyıcı iskeleti olan taş malzemeler bulundukları ortamda çevresel tehditlerle karşı karşıya kalmaktadırlar. Bu tehditlerden önemli bir tanesi taşlar üzerinde gelişme göstermesi sonucu çeşitli zararlı etkilere neden olan bakteri, siyanobakteri, aktinomiset, alg, mantar, liken ve protozoalardan oluşan mikroorganizmalardır. Tarihi eserler ömürleri boyunca canlı organizmaların büyümesi ve aktiviteleri vasıtasıyla bozunmaya ve renk değişikliklerine uğramakta; mikroorganizmaların taş yüzeylerde metabolizma göstermesi ile yapısal bozunma, parçalanma, ufalanma ve görünüşlerinde estetik açıdan istenmeyen renk değişiklikleri oluşmaktadır [1], [4], [8]. İstenmeyen bu durumları belirlemek ve ortadan kaldırmanın ilk kademesi taşlarda bozunmaya neden

olan sebepleri tespit etme sürecidir. Bozulma türleri ve derecelerini belirleme tarihi eserlerdeki taş malzemeleri koruma çalışmaları açısından önem teşkil etmekte ve böylece acil müdahale kararlarının alınabilmesi sayesinde bu bozulmaların önlenmesi mümkün olmaktadır [3].

Tarihi yapılarda taşların biyolojik bozunması uzun yıllardır araştırılmasına rağmen geniş kapsamlı çalışmalar son otuz yıldır yapılmakta ve taşlarda oluşan bozunma kapsamlı olarak ortaya konmaktadır [1-9].

Birçok araştırmaya göre, tarihi ve kültürel nitelikler barındıran eski yapılar üzerindeki taşların bozunması fiziksel, kimyasal, biyolojik ve çevresel faktörlerin birlikteki (sinergist) etkisi ile oluştuğunu göstermiştir. Ve çoğu zaman hangisinin daha etkili olduğu konusunda karar vermede zorluklarla karşılaşmaktadır. Tarihi eserlerdeki taş malzemelerde oluşan biyolojik bozunma ve bozunmayı oluşturan mikroorganizma grupları Çizelge 1.1’de verilmiştir [1-3], [10].

Çizelge 1.1 Tarihi eserlerdeki taş malzemelerde biyolojik bozunma oluşturan mikroorganizma grupları ve biyolojik bozunma şekilleri [10]

Mikroorganizma Grubu	Biyolojik Bozunma Oluşturan Canlı Grubu veya Faktör	Bozunma Tipi	Bozunma Şekli / Mekanizması	Kaynaklar
Fotoototrof canlılar (Photoautotrophs)	Mavi-Yeşil Algler	Estetik ve Kimyasal Bozunma	Biofilm oluşumu, Renk değişimi, biyofilm oluşumu, Kabuk oluşumu, Kalsiyum aşındırması veya biriktirmesi sonucu Biyolojik bozunma.	[1, 11-16]
	Likenler	Kimyasal ve mekanik Bozunma	Taş yüzeyinden minerallerin alınması, okzalat oluşumu, Karbonik asit oluşumu, Küçük gözenek oluşturma	[1, 10, 17-21]
	Algler	Estetik ve Kimyasal Bozunma	Biyofilm oluşumu; renk değişimi, siyah kabuk oluşumu	[1, 22-24]
	Yosunlar ve Eğreltiler	Estetik ve Kimyasal Bozunma	Solma (renk değiştirme), Yeşil-gri noktalar	[23-24]
Kemoototrof Bakteriler (Chemoautotrophs)	Kükürt oksitleyen ve nitrifikasyon Bakterileri (Sulfur-oxidizing, Nitrifying bacteria)	Kimyasal Bozunma	Siyah Kabuk Oluşumu	[1,25-29]
Kemoheterotrof Mikroorganizmalar (Chemoheterotrophs)	Heterotrofik Bakteriler (Heterotrophic bacteria)	Estetik ve Kimyasal Bozunma	Kabuk oluşumu, Mavi/kahverengi film oluşumu, Pul-pul dökülme, renk değişimi	[1,25-27]
	Dallanan Bakteriler (Actinomycetes)	Estetik Bozunma	Beyaz-gri parçalanma, Mavi/kahverengi film oluşumu, Taş yüzeyinde tuz birikimi	[1, 3-7, 28-30]

Çizelge 1.1 Tarihi eserlerdeki taş malzemelerde biyolojik bozunma oluşturan mikroorganizma grupları ve biyolojik bozunma şekilleri [10] (devamı)

Mikroorganizma Grubu	Biyolojik Bozunma Oluşturan Canlı Grubu veya Faktör	Bozunma Tipi	Bozunma Şekli / Mekanizması	Kaynaklar
Kemoheterotrof Mikroorganizmalar (Chemoheterotrophs)	Mantarlar (Fungi)	Estetik, Kimyasal, Fiziksel ve Mekanik Bozunma	Karbonat birikimi, Renk değişimi, okzalit oluşumu, Asit Oluşumu ile biyolojik bozunma, Asit oluşumu ile mineral çözünmesi, Mantar hiflerini taş gözeneklerine girmesi ile kimyasal, biyolojik ve fiziksel bozunma	[31-37]
Kemoorganotrof bakteriler (Chemoorganotrophs)	Kükürt İndirgeyen Bakteriler (Sulfur-reducing bacteria)	Kimyasal Bozunma	Sülfatların sülfidlere dönüştürülmesi (Kükürt oksitleyen bakteriler besin kaynağı oluşturmak için)	[1-7, 25,27]
Higher Plants	Yüksek bitkiler (Higher Plants)	Mekanik Bozunma	Bitki köklerinin taş çatlak ve oyuklarına girerek çatlatma, Taşın yüzeyinin tahribi	[1, 4, 7]
Hayvanlar	Böcekler, kuşlar, diğer hayvanlar	Mekanik, estetik, kimyasal bozunma	Tipik şekilli delikler, metabolit birikimi, renklenme, Asit oluşumu ile mineral çözünmesi, çatlaklar.	[7, 10]
Diğer Faktörler	Çevresel Faktörler (Environment Factors)	Estetik Bozunma	Karbonat birikimi, toz ve diğer partikül birikimi, Kükürt ve azot bileşiklerinin parçalayıcı etkisi, Hava kirleticilerin birikimi ve tahribi.	[38-42]

Çizelge 1.1’de görüldüğü gibi mikroorganizmalar taşların bozunmasında önemli rol oynayarak estetik, kimyasal, fiziksel ve mekanik olmak üzere hemen hemen her çeşit bozunmaya neden olmaktadır.

Tüm bu faktörlerin etkisine katkı sağlama açısından hava kirleticiler ve yağışların etkisi de ayrıca gündeme gelmektedir. Hava kirleticisi ve yağışların katkısı taş yüzeyinde görülürken, yüzey ve taban suları eski yapıların zemin ve temel bölgelerinde bozunmaları hızlandırmaktadır. Özellikle kireçtaşı, kumtaşı, küfeki ve traverten gibi gözenekli tortul taşlarda yüksek oranda su emme ve buna bağlı olarak gelişen donma olayları nedeni ile meydana gelen hasarlar yüksek boyutlardadır. Zemin bölgesindeki su geçirimsizliğinin neden olduğu, sodyum, kalsiyum, potasyum ve magnezyum klorür ile sodyum ve kalsiyum sülfat ile sodyum karbonat gibi tuzların açığa çıkması da taşların zamanla genişleyerek yüzeysel erimelere uğramasına, taşın gözeneklerinde ve yüzeyinde ufalanmalara, parçalanmalara neden olmaktadır [1], [25], [43], [44]. Tarihi taşların yapı malzemeleri ve karakteristik yapısal özellikleri de çok önemlidir. Örneğin, işlenip şekil verilmesi kolay olduğundan kireçtaşları tarihi yapılarda çok yoğun kullanılan malzeme olmasına karşın çeşitli dış etkenlerden en çok etkilenen taş türüdür. Bu konu üzerine

yapılan bir çalışmada Eskişehir kurşunlu camii duvarlarında nemliliğin çok düşük seviyelerde bulunduğu batı cephesinde, hasara uğrayan taş sayısının oldukça az, nemliliğin çok yüksek seviyelerde bulunduğu doğu cephesinde ise, hasara uğrayan taş sayısının fazla olduğu tespit edilmiştir. Cephe yüzeylerinin zemine yakın olan bölgelerindeki kireçtaşı blokları üzerinde nem ve suyun etkisi ile mikrobiyolojik oluşumların gelişim gösterdiği belirtilmektedir [43].

Tarihi eserdeki taş malzemelerin bozunması üzerinde diğer önemli etkenler SO_2 , NO_x gibi hava kirleticiler ile partiküller, asitler, iklimsel bileşikler, mikrobiyolojik faktörler, metal oksitlere benzer katalizörler ve organik maddelerdir [4], [6], [7], [45]. Kirleticiler özellikle karbonatlı yapı malzemelerinin kimyasını değiştirerek bozunmasına sebep olmaktadır. Bu kirleticilerden SO_2 ve NO_x 'ler tarihi yapıları olumsuz etkilemektedir. Örneğin kireçtaşı atmosferde bulunan gazlardan en tehlikelisi olan SO_2 'ye karşı duyarlıdır [1], [3], [5], [40], [43]. SO_2 'nin taşa etkisinin ürünü jipstir ve diğer kirleticiler gazlar ile taş yüzeyleri üzerinde kuru ve yağ depolanma şekilde birikme gösterirler. SO_2 ve asit yağmurlarına maruz kalan karbonatlı kayalarda kalsiyum (Ca) kaybı ve SO_4 zenginleşmesi, birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir [45-49]. Karbonatlı kayalar diğer taşlara oranla asitli ortamlara daha fazla duyarlıdır, $CaCO_3$ içeren taşlar hava kirliliğinden ve çevresel faktörlerden önemli derecede etkilenmektedir [48]. Atmosferik parametreler ile yağmursuyu kirlenmede etkin faktörleri oluşturmaktadır [7], [43], [44].

Yüksek bitkiler, canlılar ve mikroorganizmalar kireç taşı, tuğla ve harç bozulmalarında önemli bir rol oynar. Daha yüksek bitkiler genel olarak duvar çatlaklarında büyür. Bu yüzden bu çatlakların onarımı ve sızdırmazlığı sağlanırsa boşlukların daha fazla büyümesi engellenmiş olur [50]. Bitkilerin tarihi yapılar üzerinde büyümesi o yapının korunma durumuna, yapı malzemesine ve iklime bağlıdır ve duvara tutunması 10 yıldan fazla sürebilir [47], [48].

Son yıllarda tarihi eserler, anıtlar ve geçmişten kalan emanetlerin bozulmasında mikrobiyolojik faktörler olan bakteri, alg, mantar ve likenlerin önemli görevler yaptığı ve bozunmada ilk sıralarda etki ettiği konusunda birçok araştırma yapılmıştır [1-50]. Bu durum, mikroorganizmaların sadece bütün organik maddelerin bozulma süreçlerinde değil aynı zamanda minerallerin, kayaların, cevher ve doğal ya da insan yapımı

camların ve metaller ile onların alaşımlarının bozunmasında da önemli bir rol oynadığını göstermektedir [50]. Bu çalışmalarda taş malzemelerin bozulması ile bağlantılı olarak şimdiye kadar bahsedilen mikroorganizma türlerinin her zaman her yerde görülen hızla büyüyen türler olduğu belirtilmektedir.

Kültürel mirasın bozulmasında mantarlar da büyük rol oynamaktadır. Muazzam enzimatik aktiviteleri, düşük ekolojik istekleri ve exterm koşullarda büyüme yetenekleri sayesinde tarihi sanat eserlerinde kullanılan taş, ahşap, resim, dokuma kumaşlar, kağıt, parşömen, deri, yağlı boya resim, kazein, tutkal ve diğer malzemeleri rahatlıkla ayırıştırıp çürütebilmektedirler. Taş anıtlarda epi- ve endolitic mantarlar önemli ölçüde ayrışmayı arttırmaktadırlar. Müzelerdeki sanat eserleri ile depolarda bekletilen malzemeler ciddi mantar tehdidi altında kalarak zarar görmektedir. Dış ortamlardaki mantar ve likenler taş, harç ve sıvadan yapılmış heykel ve tarihi eserlerin biyolojik tahribinde önemli etken olarak görev almaktadır. Mantarların yaşayabildiği tüm objelerdeki organik ve inorganik madderi parçalayabilir olduğu kanıtlanmıştır. Tarihi eser ve anıtların yapıldığı materyaller üzerinde sık karşılaşılan mantarlar; *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Mucor sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Cladosporium sp.*, *Epicoccum sp.*, *Phlebiopsis sp.* cinlerine ait birçok türden oluşmaktadır. Bu veriler özellikle 2000 yılından beri tarihi yapılar, anıtlar, heykeller ve müzelerde yürütülen çalışmalar ve geçmiş literatürden elde verilere dayanmaktadır [1-13], [51-53].

Müze ve anıtlardaki biyolojik tahribat üzerine mikolojik araştırmalar hâlâ ağırlıklı olarak çeşitli standart kültür ortamları kullanılarak klasik ekim yöntemleri yanında moleküler tekniklere dayalı PCR yöntemleri, SEM VE XRF gibi hassas ayırım kabiliyetine sahip modern tekniklerin kombinasyonu ile yürütülmektedir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda arkeolojik yüzeyler üzerinde büyüyen bakteriyel ve algisel biyofilmler ile oluşmuş mineral yapılar; çevresel taramalı elektron mikroskopisi (ESEM), X-ışını mikro kırınımı (XRD) ve X-ışını floresans (XRF) ile birleşmiş enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS) metodları, moleküler tekniklere dayalı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemleri gibi hassas ayırım özelliği gösteren çalışmalar kullanılarak yapılmaktadır dayanmaktadır [1-5], [13], [51-53].

Yıldız Teknik Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü Kapsamlı Araştırmalar Projeleri çerçevesinde 2012-05-02-KAP-01 nolu proje kapsamında yürütülen bu çalışmada tüm bu yöntemler kombine edilerek kullanılmış, elde edilen birçok veriden seçme yapılarak teze aktarılmıştır. Birçok veri de projede kullanılmıştır.

1.2 Tezin Amacı

Tarihi yapılarda kullanılmış olan taşlarda görülen bozulmaların nedenlerini ve türlerini öğrenmek; bu bilgilerin aracılığıyla tarihi eserlerde görülen bozulmaları ayırt edebilme yetisi kazanmak.

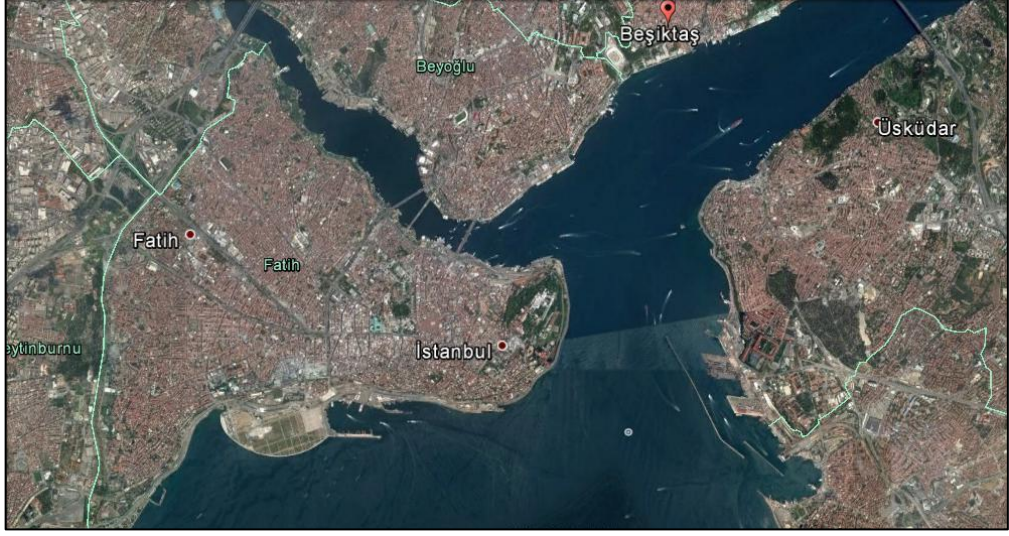
1.3 Hipotez

Mikroorganizmalar malzeme yüzeyinde etkin bir biyofilm tabakası oluşturarak biyokorozyon mekanizmalarının gelişimine neden olmakla beraber zaman içinde çeşitli etkenlerden dolayı (biyolojik, kimyasal ve fiziksel) taşlarda bozunma ve aşınma görülmektedir. Biyolojik ajanların taşın bozulmasında oynadıkları önemli rolleri aydınlatmak için ekim ve kültür yöntemleri ile bu mikroorganizmaların varlığını ortaya koyarak, SEM (elektron mikroskobu) ve XRF analizlerinden destek alarak taşların mikroyapısal özelliklerini, mineralojisini belirleyerek bu biyolojik ajanlarla aralarında nasıl bir bağlantı olduğu saptanacaktır. Koruma önlemlerinin alınabilmesi için tarihi yapılar üzerinde meydana gelen bu ayrışma düzeylerinin neden kaynaklandığını bulmak ve ona göre bir değerlendirme yapmak gerekmektedir. Bu nedenle PCR çalışma desteği ile de tür tespiti yoluna giderek hangi organizma türü, nasıl taşta, nasıl etkileşim içindedir araştırılacaktır. Biyolojik bozunmaya sebep olan faktörler tespit edilecektir.

İSTANBUL VE İNCELENEN TARİHİ YAPILAR

2.1 İstanbul'un Konumu ve Kültürel Önemi

İstanbul ili coğrafi konum olarak $28^{\circ} 01'$ ve $29^{\circ} 55'$ doğu boylamları ile $41^{\circ} 33'$ ve $40^{\circ} 28'$ kuzey enlemleri arasında yer almaktadır. Eski Dünyanın merkezinde yer alan İstanbul, tarihi yapıları ve şahane doğa manzaraları ile çok önemli bir megapoldür. Asya ile Avrupa Kıtaları'nın dar bir deniz geçidi ile ayrıldığı yerde, iki kıta üzerinde kurulu ve dünya üzerinde içinden deniz geçen tek şehirdir. 2500 yılı aşan bir tarihe sahip olan İstanbul, deniz ve karaların kucaklaştığı bu stratejik bölgede kuruluşunu takiben önemli bir ticaret merkezi olmuştur [54]. Dünyada eşsiz bir yere sahip olan şehir; tarihiyle, dünya çapında tarihi eserleriyle, müesseseleriyle, kültür ve gelenekleriyle apayrı bir tarihi merkez konumundadır [55]. İstanbul'un uydu fotoğrafı Şekil 2.1'de görülmektedir.



Şekil 2.1 İstanbul uydu görüntüsü

Tarihi Bizans, Roma ve Osmanlı imparatorluklarının başkenti olan İstanbul tarihi anıt ve yapılar bakımından zengin bir şehirdir [48]. İstanbul'daki sanayileşmenin hızla gelişmesi beraberinde tarihi eserlerde kullanılan taşların da bozunmasına neden olmaktadır.

2.2 Yıldız Teknik Üniversitesi



Şekil 2.2 Yıldız Teknik Üniversitesi Yıldız Kampüs, Beşiktaş

Yıldız Teknik Üniversitesi İstanbul'da bulunan devlet üniversitelerinden biridir. Ayrıca 1911'e uzanan tarihi ile Türkiye'nin en eski 2. teknik üniversitesidir. Türkiye'nin en iyi ve en köklü üniversitelerinden biri olarak kabul edilmektedir [56].

2.2.1 Y.T.Ü. Yıldız Kampüs ve Çevresindeki Tarihi Yapılar

Yıldız Sarayı Sultan Abdülhamit döneminde yapılmaya başlanmış yapılar kompleksidir. Başlıca Büyük Mabeyn, Şale Köşkü, Malta Köşkü, Çadır Köşkü, Yıldız Tiyatro ve Opera Evi, Yıldız Saray Müzesi ve İmparatorluk Porselen Üretimevi, Muayede Köşkü, Yaveran Dairesi, Çit Köşkü gibi binalardan oluşmaktadır [57]. Üniversitenin kullandığı saray bahçesinde şehzade ve sultan köşkleri bulunmaktadır. Genellikle bu yapılar iki katlı ve kagir yapılardır.

YTÜ Yıldız Kampüsü Beşiktaş tepesindeki koruluk ilk kez I. Ahmed tarafından küçük bir köşk yaptırılarak avlanma amacıyla kullanılmıştır. II. Abdülhamid tahta çıktığında, kardeşinin ve amcasının saltanatına son verildiği Dolmabahçe Sarayını güvenli bulmadığından, 1877 yılında Yıldız Sarayı'na taşınmıştır. Yıldız Sarayı, Osmanlı padişahlarının İstanbul'da devamlı oturduğu dördüncü saray olup, Beşiktaş'ta sahilden başlayarak kuzeybatıya doğru yükselip sırt çizgisine kadar tüm yamacı kaplayan yaklaşık 500.000 metrekare yüzölçümü olan bir bahçe ve koruluk içine yerleşmiş saraylar, köşkler, yönetim, koruma, servis yapıları ve parklar bütününden oluşmaktadır. Bu birleşimin önemli yapıları arasında yer alan Hünkar Dairesi (Valide Sultan Köşkü veya Hünkar Sofrası adıyla da anılmaktadır.), 1937 yılında Yıldız Teknik Okulu'nun kurulmasıyla okula verilmiş olup, bugün Yıldız Teknik Üniversitesi Rektörlük binası olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, Çukur Saray (Hanım Sultanlar Dairesi), Çit Kasrı, Şehzade Köşkleri, Sünnet Köşkü, Damatlar Dairesi, Agavat, Kileri-i Hümayun da Üniversite tarafından kullanılan binalar arasındadır [57].

2.2.1.1 Büyük Mabeyn Köşkü

Sarayın en ihtişamlı köşküdür. Sultan Abdülaziz tarafından 1866 yılında Balyan Ailesi mimarlarına inşa ettirilmiştir. Köşkün dış cephesi yivli ve kompozit başlıklar, sütunlar, konsollu ve dilimli arşitravlarla bezenmiştir. Köşkün iç planı ise, eski mimari geleneğe dayalıdır. Üst kat padişah tarafından kullanılırken, diğer bölümler ise üst düzey saray görevlileri tarafından kullanılmıştır. Sultan II. Abdülhamid döneminde (1876-1909) devletin yönetim binası olan köşk, gerek Osmanlı döneminde gerek Cumhuriyet'in ilanından sonra önemli davet ve ziyafetler için kullanılmıştır [58].

2.2.1.2 Çit Kasrı

Sultan Abdülaziz (1861-1876) ise Balyan ailesi mimarlarına Büyük Mabeyn Köşkü'nü inşa ettirmiştir. Daha sonra da dış bahçe denilen kısma Malta ve Çadır Köşklerini, asıl saray kısmına ise Çit Kasrı'nı ekletmiştir.

2.2.1.3 Çukur Saray

Çukur Saray binası da sultan köşklerinden birisidir. Sultan Abdülmecid'in 1846-1847 yıllarında Çukur Saray adı verilen bir köşk yaptırarak gözdesi Yıldız'ı buraya yerleştirdiği ileri sürülmektedir. Yıldız Sarayı'na damgasını vuran ve adeta saray ile özdeşleşen Sultan II. Abdülhamid'in kızları ve kız kardeşlerinin oturduğu Çukur Saray, 19. yüzyıl mimari özelliğini taşımaktadır. Bina dikdörtgen biçiminde ve koridora açılan odalardan oluşan oldukça mütevazı bir yapıdır [59]. 1970 yılına kadar üniversitenin yurdu olarak kullanılan Çukur Saray binasının, bodrum katı ise yemekhane olarak kullanılmıştır. Çukur Saray 1983 yılına kadar İstanbul Devlet Mimarlık ve Mühendislik Akademisi'nin idari binası olarak hizmet vermiştir. 1985 yılından itibaren ise Sosyal Bilimler Enstitüsü ve Fen Bilimleri Enstitüsü bu binada çalışmalarını sürdürmektedir [60].

2.2.1.4 Ertuğrul Tekke Camii

Beşiktaş ilçesi Barbaros Bulvarı, Yıldız Caddesi, Serencebey Yokuşunda bulunan Ertuğrul Tekkesi içinde bulunan camidir. 1887 yılında 2. Abdülhamid tarafından Şazeli Tarikatı Medeni kolunun kurucusu Tunuslu Şeyh Muhammed Zafiri Efendi için yaptırılmıştır. Başlangıçta cami-tevhidhane ve selamlıktan oluşan "tekke" 1905-1906 yılında türbe kitaplık ve çeşme üçlüsü ile donatıldı. Caminin adını Osmanlı Devleti'nin kurucusu Ertuğrul Bey'den aldığı genel kabul görür. Genel olarak külliye vazifesi gören binaların duvarları kâgır, çatıları ahşaptır. Caminin minaresi taştandır. Türbe ve çeşme beyaz mermerden yapılmıştır [61]. Son yıllarda restore edilen yapı halen cami olarak işlevini sürdürmektedir [59].

2.2.1.5 Hamidiye Camii

Beşiktaş Barboros Bulvarı'nın kuzey kesiminde, Yıldız Sarayı yolu üzerindedir. 1885-1886 yılları arasında Sultan II. Abdülhamid'in isteği üzerine Serkis Balyan ve Dikran

Kalfa tarafından inşa edilmiştir. Tek şerefeli minaresi vardır. Dört kalın demir sütun üzerine oturan ve etrafı 16 pencereli olan kubbesinin saçakları oyma yıldızlarla çevrilidir. Camide 17 pencere vardır. Asıl adının Hamidiye olmasına karşılık daha çok Yıldız Camii olarak bilinmektedir. Yıldız Camii, II. Abdülhamid dönemi mimarlığı için önemli veriler barındıran örnek bir eserdir [59].

2.2.1.6 Şehzade Köşkü

II. Abdülhamid tarafından Yıldız Sarayı içerisine şehzadelerin yaşaması için yaptırılmıştır.

2.2.1.7 Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi

Beşiktaş Şeyh Zafir Türbe Beşiktaş Serencebey’de Ertuğrul Camii arazisi üzerinde bulunmaktadır. II. Abdülhamid tarafından Mimar Raimondo d’Aronco’ya yaptırılan türbe 1904-1905 yılında tamamlanmıştır. Türbe geleneksel ama batılı tarzda bir mimari yapı olarak karşımıza çıkmaktadır [59].

KÜLTÜREL MİRAS VE TARİHİ YAPILARDA BOZUNMA

İstanbul tarihi anıt ve yapılar bakımından zengin bir şehirdir. Endüstrileşmenin hızla artması ile İstanbul'daki tarihi anıt ve yapılarda kullanılmış olan taş malzemeler kirlenme ve bozunmaya maruz kalmıştır. Çevresel birçok faktör taşlara etki etmektedir. Bu etkileşimler taşların mineralojik, kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre değişim göstermektedir. Bu eserlerin kirlenmesi ve ayrışmaları kültürel zenginliklerimizin tahrip olmasına neden olmaktadır. Kültürel mirasın bozulması, özellikle dış ortam gibi fiziksel hava koşulları, organizmaların ayrıştırıcı özellikleri ile farklı abiyotik ve biyotik faktörlerin etkileşimi sonucu oluşur [10], [51].

Tarihi eserler ve tarihi binaların biyolojik bozulma sürecinde, mikroorganizmaların rolü uzun yıllardır çalışılan bir konu olmasına rağmen son otuz yıldır üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır [62]. Eserler, mikrobiyal gelişim periyodunda mikroorganizmalar tarafından çevresel faktörlerin de etkisiyle fiziksel ve kimyasal zararlara uğramaktadır. Mikroorganizmalar taş yüzeylerin ayrışması ve biyomineralizasyon süreçlerinde aktif rol oynamaktadır [52]. Yaşayan mikroorganizmaların büyümesi ve aktiviteleri sonucu kültürel miras yapıları renk değişimine uğrar ve bozunmalar meydana gelir [53]. Bu organizmaları içeren bakteriler (aktinomisetler ve siyanobakteri dahil), mantar ve alglerin yanısıra protozoa ve diğer küçük hayvanlar da yapılara zarar vermektedir.

Tarihi yapılarda süregelen bozulmalarda çevresel faktörler (sıcaklık, ışık, nispi nem, atmosferik kirleticiler, rüzgâr, yağış miktarı) belirleyici bir rol oynamaktadır. Kültürel

miras özelliği taşıyan tarihi eserler üzerinde yaşamsal faaliyet gösteren mikroorganizmalar ile biyolojik mekanizma açısından atmosferik ve çevresel etkiler arasında paralel bir ilişki vardır ve bir bütün olarak ele alınmalıdır.

3.1 Bozulma Türleri

Zaman içinde meydana gelen çeşitli çevresel faktörler nedeniyle tarihi yapılar çeşitli bozulmalara maruz kalmaktadır. Bozunmaya neden olan bu faktörler fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler olarak sıralanabilir. Dış faktörler olarak da adlandırılan bu faktörlere bağlı olarak zamanla taşların fiziksel ve mekanik özelliklerinde kayıplar meydana gelmektedir. Bunun yanında iç faktörler olarak da adlandırılan taş ve taşın yapısal özellikleri, bulunduğu konum ve zeminin özellikleri, taş seçimi, taş kullanımında yapılan hatalar da bozulmaya yol açmaktadır.

Taş malzemede meydana gelen bozunmaların malzeme yapısından, fiziksel, kimyasal değişimlerden, çevresel faktörlerden, iklim değişikliği gibi sebeplerden ileri geldiği düşünülmektedir [63]. Tarihi eserlerde meydana gelen bozunmalar üzerine yapılan araştırmalar ile mikroorganizmaların tarihi eserlerdeki taş, ahşap ve metal malzemeler üzerindeki bozunmada önemli derecede rolü olduğu ortaya koyulmuştur. Mantarlar, bakteriler, algler, likenler, protozoalar, bitkiler hatta kuşlar ve böcekler tarihi eserlerde bozulmaya neden olan başlıca biyolojik etkenler olarak sıralanabilir [63]. Bu organizmaların mekanik etkileri ile salgıladıkları asitlerin oluşturduğu kimyasal bozunmalar taşlarda delikler, çatlaklar ve oyuklar şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Taş yapısında bulunan tuzlar (suda çözünabilir), nem ve sıcaklık etkisiyle çözünerek taştaki kılcal çatlaklar arasında ilerleyerek farklı noktalara taşınırlar; taşındıkları yüzey üzerinde ya da yüzey altında suyun buharlaşması vasıtasıyla kristalize hâl alırlar bu durum taş içinde gerilmelerin artmasına neden olur. Bu gerilme taşın derinliklerinde gerçekleşiyorsa çatlaklar eğer yüzeye yakınsa kılcal çatlaklar, kabuk atma, pullanma ve tozlaşma gibi bozulmalar meydana getirmektedir. Kristallenme yüzey üzerinde gerçekleşirse kabuk oluşumu gözlenir ve zamanla ufalanmalar ortaya çıkar. Derinde gerçekleşen kristalleşme taş yüzeyinde beyaz renkli lekelenme olarak kendini göstermektedir [1], [64]. Taş içerisinde çözünabilir tuzların boşluklarda kristallenmesi şeklinde görülen çiçeklenme de bir bozunma türüdür [64]. Taşlarda oluşan bozulma

tipleri, bozulmaya neden olan etkenlere ve taşın cinsine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Örneğin, hava kirliliği kireçtaşlarında yüzeyde siyah bir kabuk oluştururken, volkanik tüf cinsi taşlarda oyuklanma şeklinde etkisini gösterir [65].

Hava kirliliğinin yoğun olduğu dönemlerde kabuklanma türü bozulma daha fazla görülmektedir. Taşlarda görülen sülfatlaşma olayı, kış aylarında artmaktadır. Sülfür dioksit kaynaklı bozulmalar kalkerli yüzeyler üzerinde beyaz, gri ve siyah bölge şeklinde kendilerini göstermektedir. Yağmur yağışlarına maruz kalan eser yüzeylerinde beyaz bölge, eserlerin ıslak olmayan alanlarında jips'in meydana getirdiği gri bölgeler ve siyanobakteriler ile algal kolonizasyonlar neticesinde ölü hücrelerin reaksiyonundan gerçekleşen renk değişimi de koyu kahverengi bölge olarak tarif edilmiştir [65].

3.2 Biyolojik Bozunma Faktörleri

Taş yapılarda zaman içinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlerden dolayı çeşitli bozunmalar ve aşınmalar oluşmaktadır. Bu faktörlerden en önemlisi biyolojik bozunmadır çünkü organizmalar her daim yapı taşları ile bir etkileşim içinde bulunarak yaşamlarını sürdürmektedir. Biyolojik aktivite fiziksel faktörlerle etkileşim halinde olduğunda taşların bozunma süreci hızlanmaktadır.

3.2.1 Biyolojik Bozunmaya Neden Olan Organizmalar

Biyolojik bozunmaya neden olan organizmalar olarak; mantarlar, mavi-yeşil algler dahil algler, likenler, bakteriler, protozolar, virüsler, bitkiler, kuşlar ve böcekler tarihi eserlerde bozulmaya neden olan başlıca biyolojik etkenlerdendir. Bu organizmalar biyolojik bozunmanın en önemli şekli olan oyukların oluşumunda rol almaktadır. Kayaç kristalleri arasında büyüyen organizmalar solunumla ortama CO₂ verir ve bu CO₂ kayaçlar ıslak olduğunda suya geçerek, organizmayla doğrudan temas halindeki kaya parçalarının çözünmesine neden olan zayıf karbonik asidi (H₂CO₃) oluşturur. Böylece kayaçlarda çözünme ve mini oyuklar oluşur [66].

Kemoorganotrofik bakteri, mantar ve kemolitotrofik nitrifikasyon bakterileri doğal yapı taşlarının biyolojik bozunması üzerinde en etkili epi ve endolitik mikroflorayı temsil ederler [67]. Tarihi binalar, anıtlar veya heykellerde biyolojik bozulmanın neden olduğu

tehlikeyi değerlendirmek için bu mikroorganizmaları, neden olduğu tahribat tiplerini bilmek gerekir. Bu tahrip tipleri ana hatlarıyla izelge 1.1’de verilmiştir. Organizmalar biyolojik bozunmada önemli rol oynayarak estetik olmayan alterasyonlara neden olmaktadır.

3.2.1.1 Heterotrof Organizmalar

Taşlarda ortaya çıkan mikrobiyolojik bozunmalarda etkisi oldukça önemli olan mikroorganizmalar bakterilerdir. Kimyasal aktivitelerinden dolayı taşla etkileşim içinde bulunan bakteri faaliyetleri sonucu taşlarda yaprağımsı toz halinde parçalanmalar, pul pul dökülmeler, siyah tortu tabakası oluşumları gibi bir takım alterasyonlar meydana gelmektedir.

Siyanobakteriler (mavi-yeşil yosun), taş üzerindeki bozulmaya sebebiyet veren mikroorganizmaların başında gelir ve biyofilm kolonisi oluşturan en büyük mikroorganizma grubudur. Siyanobakteriler diğer organizmalarla birlikte kolayca tarihi anıtların dış yüzeylerine kolonize olup, biyofilm oluşturarak yapıların görünümünü değiştirir ve diğer bozunma faktörlerinin gelişmesi için bir substrat olarak görev yaparlar [10].

Bakteriler ve mantarlar, örneğin biyolojik matrisi doğrudan gözlem yoluyla tespit edilemeyen değişikliklere (kohezyon kaybı, lekeler gibi) neden olmaktadır [70].

Mantarlar taş duvar yüzeylerinde renk değişimleri, kararmalar şeklinde alterasyonlara neden olmaktadır. Özellikle siyah renkli ve çıplak gözle görülemeyen mikro mantarlar taş yapı üzerinde krater şeklinde çukurlar oluşturarak taşın fiziksel görüntüsünde renk değişimlerine neden olmaktadır. Ayrıca taşın st yüzeylerinde ufalanma ve parçalanma gibi alterasyonlarla parça kayıplarının meydana gelmesinde ciddi rol oynamaktadır [44].

Sülfat bakterileri ürettikleri SO_4 ile bileşimi karbonat olan taşlarda jips oluşumuna yardımcı olan bir bakteridir. Nitrat bakterileri salgıladıkları enzimler sayesinde nitrat, nitritleri meydana getirerek taşları kemirmektedirler. Bunlar Ca^{2+} lu mineralleri kahverengi-pembe renklere dnştrrleri [64].

3.2.1.2 Ototrof Organizmalar

Bu grup canlıları olarak algler, likenler ve karayosunları sayılabilir. Basit bitkilerden olan yosun ve likenler atmosfere açık kayalar üzerinde belli bir adaptasyon sağlayarak gelişme gösterirler. Bunlar toz tanelerini yakalayıp organik madde içerikli ince bir zar oluşturarak, kayanın dayanıklılığının azalmasına yol açmaktadır [71]. Likenler en ekstrem koşullarda yaşayabilen canlılar olup yapılarında bulunan mantar hifleriyle asitler salgılayarak kayaya sıkıca tutunurlar ve zamanla aşınmaya neden olurlar [72]. Likenlerin yüzeyleri pürüzlü olduğundan ve süngersi yapıları nedeniyle suyu hapsederek taş yüzeyinin devamlı ıslak kalmasına neden olmakla birlikte bitki köklerinin CO₂ ve asit üretmesi sonucu taşlarda parçalanmalar oluşmaktadır. Ayrıca taş, suyu yüzeyinden atamadığından dolayı da ayrışmaya başlar [48], [73]. (Çakar [73]), Karatepe’de bulunan 8 adet bazaltik kayalar üzerinde gelişme gösteren likenleri ve ayrışmaya olan etkilerini incelemiştir. Yapılan mineralojik analizler neticesinde kayalarda liken kökenlerinin yüzeysel olarak kimyasal ayrışmaya oranla fiziksel ayrışmaya etkin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca incelenen örneklerin bazısında fiziksel ayrışmanın baskın olduğu ve kayalarda buna bağlı ufalanmaların ortaya çıktığı belirtilmiştir [73]. Yosunların taş yüzeylerini soldurma, gözenekleşme şeklinde etkileri vardır.

3.2.2 Gelişmiş Bitkiler

Substrat ve çevre koşulları elverişli olduğunda arkeolojik ve mimarideki taş eser yüzeylerinde yaygınca gelişirler [10]. Özellikle taş duvar çatlak ve yarıklarında biriken topraklar bu bitkilerin tutunup gelişmesine önemli katkı sağlar. Daha çok bahar ve yaz aylarında gelişerek biyolojik oluşum gösteren bu otlar ve bitkiler estetik açıdan görünümü etkilemektedir (Şekil 3.1) [65]. Bitki kök ve gövdeleri taşların arasındaki boşluklarda gelişerek taşların çatlamasına neden olur.



Şekil 3.1 Tarihi yapılarda taşların arasındaki boşluklarda gelişerek taşların tahrip olmasına yol açan bitkiler

3.2.3 Hayvanlar

Taşların bozunmasında rol oynayan faktörlerden birisi de hayvanlardır. Yapılara konan yuva yapan kuşlar dışkılarını bırakarak yapıyı kirletmekte, estetik değer kaybına yol açmakta, renklenme ve taşların ayrışmasına neden olmaktadır. Kuşların dışkısında bulunan fosforik ve nitrik asitler kimyasal olarak taştaki karbonatlarla reaksiyona girip kalsiyum fosfat ve bazı nitratları oluşturmakta, taşın bozunmasına neden olmaktadır. Biyolojik oyuk oluşumunda organizmaların etkisi oldukça fazladır. Güvercinler, tırmanıcılar, sürüngen ve solucan gibi diğer canlılar taşlarda kötü lekelenmeler, delikler ve oyuklar oluştururlar [10].

MİKROBİYOLOJİK SAYIM YÖNTEMLERİ

Tarihi eserlerindeki bozulmaları tespit etmek, bozunmalara karşı alınabilecek önlemleri belirlemek için bu eserler üzerinde yaşayan ve bozunmaya yol açan bakteri, mantar, mavi-yeşil algler, protozoa, yosunlar gibi çeşitli mikroorganizmaların öncelikle tespit edilmesi gerekmektedir. Zararın boyutu ile mikroorganizmalar arasında ilişkiyi pekiştirebilmek için de tespit edilen bu organizmaların yapı malzemesinin birim yüzeyi ve hacimindeki miktarının belirlenmesi gerekmektedir. Taş malzemelerde de rahatlıkla uygulanabilecek olan mikroorganizmaların sayım yöntemleri sistematik olarak aşağıda açıklanmıştır.

4.1 Klasik Kültürel Sayım Yöntemleri

4.1.1 Agarlı Besiyerine Ekim ve Koloni Sayımı

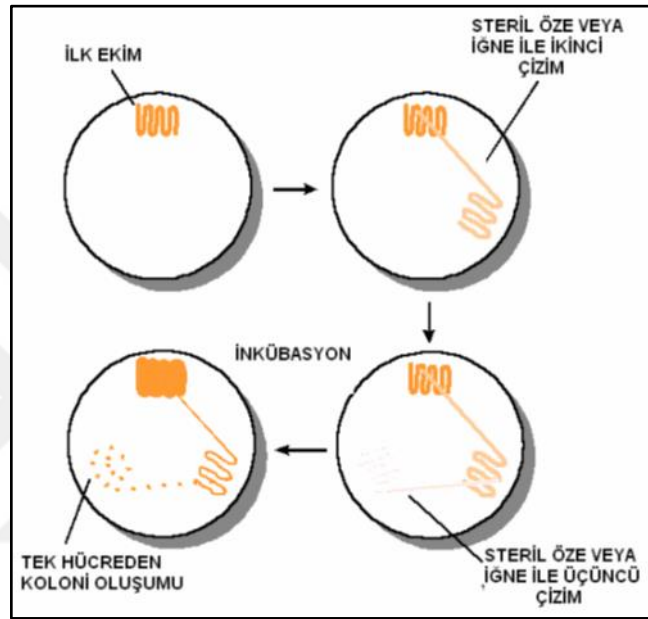
Agarlı besiyerinde kullanılan standart yöntemler sürme, dökme ve yayma olarak üç ana grupta ele alınmaktadır [74]. Petri kutularına dökülen agarlı besiyerlerine sürme, yayma, dökme plak yöntemlerinden birisi kullanılarak ekim yapılabilir.

4.1.1.1 Sürme Yöntemi

Bu yöntemle ekimde temel prensip malzemedan alınan her canlı mikroorganizma hücresinin inkübasyon sonucu katı besi ortamında bir (1) adet koloni oluşturmaktır. Petri kutusundaki katı besiyerinin belirlenen farklı bölgelerine numune ile temas ettirilen özenin sırayla sürülmesiyle numunenin miktarı ve içerdiği mikroorganizma

sayısı giderek azalır ve bakterilerin her sürme alanına bir önceki alandan daha az sayıda düşmeleri sağlanır. Böylece son sürme aşamasında bakteri sayısı teke düşüp bu bölgelerde çoğalarak tek koloni oluşturur [75].

Agarlı besiyerine ekimi yapılacak örnek öze veya pipet ile alınır ve öze ucunun örnek alınan kısmı agar yüzeyinin seçilen bölgesine temas ettirilir. Örnek hafifçe ezilerek yayılır, yayılma alanından itibaren sürme işlemine geçilir. Sürme işlemi bitince petri kutusu inkübasyona bırakılır.



Şekil 4.1 Sürme yöntemi kullanılarak agarlı besiyerine ekim

4.1.1.2 Dökme (Plak) Yöntemi

Analizi yapılacak olan örnekten, steril petri kutusuna 1 ml aktarılıp üzerine donma sıcaklığının biraz üzerinde (yaklaşık 45-50 °C) agarlı steril besiyeri dökülür. Standart petri kutuları için bu miktar 12-15 ml kadardır [74]. Hemen sonrasında düzgün bir zemin üzerinde dikkatli bir şekilde 3 kere 8 çizilerek petri kutusuna aktarılmış örnek ile besiyerinin homojen karışımı sağlanır. Agar donunca petri kutusu uygun sıcaklıktaki inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra petri kutuları koloni sayacına konarak - varsa- üreme olan koloniler sayılarak uygun bir şekilde değerlendirilir.

4.1.1.3 Yüzeyde Kültürel Ekim Yöntemi

Petri kutusuna önce besiyerinin dökülmesi, besiyeri donduktan sonra kültürün besiyeri üzerine pipetlenmesidir.

I. Yayma Yöntemi

Steril petri kutusuna önce agarlı steril besiyerinden en az 2mm kalınlıkta olacak şekilde dökülür. Besiyeri dökme sıcaklığı 45-50°C olmalıdır. Besiyeri petriye döküldükten sonra bir süre yüzeyin kuruması beklenmelidir. Müteakiben 0.1 – 1 ml örnek besiyeri üzerine pipetlenir. %76'lık (v/v) alkolde en az 2 dakika bekletilerek steril edilen Drigalski spatülü alevden geçirilerek alkol uzaklaştırılır ve spatül yardımıyla örnek tüm besiyeri yüzeyine homojen bir şekilde yayılır. Veya petri kutusu laboratuvar tezgahı üzerinde yuvarlak daire çizdirilecek şekilde hareket ettirilerek besiyeri üzerine yayılması sağlanır. Petri kutuları koloni sayacına konarak -varsa- üreme olan koloniler sayılarak uygun bir şekilde değerlendirilir. Dökme ve yayma kültürel sayım yöntemlerinde güvenilir sayım yapabilmek için 9 cm çapındaki bir petri kutusundaki koloni sayısının 30 – 300 arasında bulunması gerekir. Koloni sayısı fazla olma ihtimaline karşı seyreltme yapılarak ekim yapılır. Genellikle mikrobiyoloji laboratuvarlarında en yaygın olarak kullanılan yöntem yayma yöntemidir.

II. Damlatma Yöntemi

Bu yöntemin esası petri kutusundaki besiyeri üzerine 1'den fazla sayıda örneğin aktarılmasıdır. Daha önceden dökülüp katı hâle gelmiş besiyerine, yayma kültür yönteminde olduğu gibi petri kutuları 37 °C 'da 24 saat süre ile tutularak hem yüzey kuruması sağlanır hem de sterilite kontrolü yapılır. Petri kutusunun altı, dıştan eşit olarak 6 ya da 8'e bölünür ve her bölme numaralandırılır. Daha sonra her bölmeye özel mikro pipet (veya pastör pipeti) ile 0,02 ml örnek pipetlenir. İnkübasyon sonunda 2-3 cm çaplı (3-7 cm² alanlı) bölgelere yayılmış olan koloniler sayılır [76]. Ancak, kolonilerin sağlıklı bir şekilde sayılamaması nedeni ile bu yöntem hassas çalışmalarda kullanılmamaktadır [74].

4.1.2 Koloni Sayım ve Hesaplanması

Besiyerinde sayım, canlı hücrelerin koloni oluşturmaları ve bu kolonilerin sayılarak materyaldeki canlı hücre sayısının hesaplanması esasına dayanır. Bu amaçla sayım yapılacak materyalden belirli bir miktar alınır (örneğin 0.1-1 ml) ve petri kutusundaki besiyerine aktarılır. Yayma ve ekim işlemleri yapılarak koloni oluşması için gerekli inkübasyon süresinin sonunda petri kutusundaki koloniler sayılarak -seyreltme varsa seyreltme faktörü de dikkate alınarak- materyaldeki canlı hücre sayısı hesaplanır. Ölü hücreler üreyip koloni meydana getiremeyeceği için bu yöntemde sadece canlı hücreler sayılır.

Sayım sonuçları katı materyaldeadet/g şeklinde verilmelidir. Materyalden 1 ml alınıp petri kutusundaki besiyeri ile karıştırılarak, inkübasyondan sonra petri kutusunda oluşan koloniler sayılır. Katı besiyerinde yapılan sayım sonuçları koloni oluşturan birim (Colony forming unit: Cfu) olarak verilir.

Petri kutularında sayım inkübasyon sonunda hızla yapılmalıdır. Sayım yapılamayacak durumlar söz konusu ise petri kutuları +4 °C'da en fazla 24 saat muhafaza edilebilir.

4.1.2.1 Dilüsyon Tekniği

Mikroorganizmaların standart kültürel yöntemlerle sayımında genellikle seyreltme işlemi uygulanır ve sayım sonuçları bir anlamda istatistik kurallara göre "kabul edilen bir değer" olarak verilir [34]. Alınan numune ve kullanılan örnekte mikroorganizma sayısı çok fazla ise ve yapılacak olan ekimde petri kutusunda oluşacak mikroorganizma kolonisi 300 taneden fazla ise yapılacak sayımla doğru sonuçlar elde edilmesi mümkün olmayacağından seyreltme yapılır. Petri kutusunda sayılması olanaksız fazla sayıda koloni olmasından dolayı canlı mikroorganizma sayısı yüksek olan örneklerde dilüsyon (seyreltme) tekniği uygulanır. Tekniğin amacı; materyaldeki hücre sayısını bir seri seyreltme yapılarak kademeli bir şekilde azaltmak ve mikroorganizmaların aşırı üreyip fazla koloni oluşturmalarını engelleyerek sayım işlemlerinde kolaylık sağlamaktır. Genellikle dilüsyon 1:9 (10 misli) oranında yapılır. Bu 1 birim örnek + 9 ml FTS (fizyolojik tuzlu su) demektir.

Bu çalışmayla taş örneklerindeki mikroorganizmalar sıvı ortama (FTS) aktarıldıktan sonra içindeki mikroorganizma yoğunluğu bilinmediğinden 1/10 ve 1/100, ... oranlarında dilusyonlar hazırlanmaktadır. 1/100' lük süspansiyondan steril bir pipetle alınan 1ml'lik örnek 9 ml steril suya ilave edilerek 1/10 ve buradan alınan 1 ml'lik örnek yine 9 ml suya konularak 1/100'lük süspansiyonlar elde edilir. Süspansiyonlar elde edilirken taş parçacıkları dibe çökmeden pipetle örneklerin alımı gerçekleştirilir.

4.1.2.2 Koloni Sayım ve Değerlendirme

Farklı dilüsyon tüplerinden elde edilen koloni sayılarının değerlendirilmesi için seyreltilmiş tüplerde yapılan ekim sonuçlarına göre materyaldeki canlı hücre sayısı aşağıdaki formülle hesaplanır.

Örnekteki mikroorganizma sayısı (adet/ml) = (petri kutusundaki koloni sayısı X seyreltme faktörü) / dilüsyon tüpünden petri kutusuna aktarılan hacim(ml)

Seyreltme Faktörü = 1 / Seyreltme oranı

Ayrıca, ekim yapılan en derişik seyreltide bile koloni gelişmesi görülmezse sayının 0 (sıfır) olarak verilmesi hatalı olur. Petri kutularında koloni gelişmesi olmazsa, aşağıdaki formüle göre hesaplanan değer analiz sonucu olarak verilir:

Sayı: $< \{1 / [(seyreltme\ faktörü) \times (petri\ kutusuna\ pipetlenen\ hacim)]\}$

4.1.3 Besiyerine Ekim ve İnkübasyon

Besiyerine ekim dilüsyon işlemi tamamlandıktan sonra yapılır. Sayım sonuçlarının güvenilirliğini artırmak için paralel olarak aynı tüpten 2 ya da tercihen 3 petri kutusuna ekim yapılır. Sayım sonuçları paralel ekim sonuçları ortalaması olarak verilir. Ekim bitirildikten sonra vakit kaybetmeden petri kutuları inkübasyona bırakılmalıdır. Optimum gelişme sıcaklıkları farklı olabileceğinden inkübasyon işlemleri aynı anda farklı sıcaklık derecelerinde yapılabilir (yapılması uygun olacaktır). İnkübasyon bittiğinde petri kutularında oluşan kolonilerin hemen sayılması önerilir. Bununla beraber herhangi bir nedenle koloniler hemen sayılamıyorsa petri kutuları en çok 24 saat süre ile buzdolabında (+ 4 °C) depolanabilir.

4.1.3.1 Çalışmada Kullanılan Başlıca Besiyerleri

Laboratuvar ortamında, mikroorganizmalar doğal yaşam alanlarına benzer besiyeri denilen yapay ortamlarda üretilirler. Üretildikleri besi ortamından izole edilen mikroorganizmalar farklı besiyerlerinde fizyolojik, morfolojik ve biyolojik özellikleri incelenerek tanımlamaları yapılır. Mikroorganizmaların tanımlamasında, bileşimlerindeki maddeler yönünden farklılık gösteren çeşitli besiyerleri kullanılır. Mikroorganizmaların beslenmeleri için ihtiyaç duyduğu besin maddeleri de birbirinden farklıdır. Mikroorganizmaların belirlenmesi, gelişimlerinin sağlanması için uygun besiyerlerinin oluşturulması gerekmektedir.

Araştırmalarımızda kullandığımız besi ortamları aşağıda kısaca açıklanmıştır;

- Standart Plate Count Agar (SPCA) (Merck 1.05463)
- Malt Extract Agar (MEA) (Merck 1.05398)
- Dichloran Rose Bengal Chloromphenical Agar (DRBC) (Merck 1.00466)
- Dextrose-Casein-Peptone Agar (DCPA) (Merck 1.10860)
- Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Merck 1.05438)
- Czapex Dox Agar (CZ)

Bunlardan Standart Plate Count Agar (SPCA) ve Dextrose-Casein-Peptone Agar (DCPA) bakterilerin belirlenmesinde diğer besiyerleri ise mantarların belirlenmesi için tercih edilmiştir. Kullandığımız bu besiyerleri hazır ticari katı besiyerleri üzerindeki tarifnameye göre prospektüsünde belirtilen miktarda saf su eklenerek hazırlanmış ve kontaminasyon olmasının engellenmesi için otoklavda önerilen sıcaklık-basınç ve sürede bekletilerek steril edilmiştir.

I. Standart Plate Count Agar

In vitro (canlı hücre dışında) yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde, toplam aerobik mezofilik bakteri sayımında kullanılan genel katı besiyeridir. Bazı mayalar da bu besiyerinde gelişerek bakteri sayısına dâhil olabilir. Gereken miktar dehidre besiyeri tartılıp, üzerine distile su eklenir. Otoklav ile sterilizasyon sonrası agarlı bu besiyeri petri kutularına dökülerek farklı sıcaklıklarda inkübasyona bırakılır. Hazırlanmış besiyeri berrak renksiz sarımsı renktedir ve buzdolabında 2 ay depolanabilir.

Sterilizasyon işlemleri bittikten sonra otoklav açılarak alınan besiyerinde mantar (bakteri harici mikroorganizma) üremesini engellemek için aseptik koşullarda 50 mg/L oranında nystatin ilave edilerek çalkalanıp ve steril koşullarda bunzen beki alevi eşliğinde steril petri kutularına ortalama 12-15 ml dökülür.

II. Malt Extrakt Agar

Birçok mantarı izole etmek ve üretmek için kullanılan bir besi ortamıdır. Ticari dehidre formülasyonlardan hazırlanan besiyeri kullanılır. Bu besiyeri, üzerindeki hazırlanış tarifnamesine göre istenilen miktarda tartılarak ve gerekli hacimde (ml) distile suda çözüldükten sonra otoklavda 121 °C'de steril edilmektedir.

Sterilizasyon işlemleri bittikten sonra otoklav açılarak alınan besiyerinde bakteri (mantar harici mikroorganizma) üremesini engellemek için aseptik koşullarda 50 mg/L oranında streptomycin ilave edilerek çalkalanıp ve steril koşullarda bunzen beki alevi eşliğinde steril petri kutularına ortalama 12-15 ml dökülür.

III. Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar

Maya ve küflerin geliştirilmesi ve sayılması amacıyla kullanılmaktadır. Granül halindeki besiyeri karışımının hazırlama tarifesi 31.6 g kuru besiyeri/L saf su'dur. Çalışılacak şartlara göre tespit edilen hacimde besiyeri hesaplanarak tartılıp, ihtiyaç duyulan hacimde distile suda çözüldükten sonra mekanik karıştırıcı-ısıtıcıda eritildikten sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika süre ile steril edilmektedir. Sterilizasyon işlemleri bittikten sonra otoklav açılarak alınan besiyerinde bakteri (mantar harici mikroorganizma) üremesini engellemek için aseptik koşullarda 50 mg/L oranında streptomycin ilave edilerek çalkalanıp ve steril koşullarda bunzen beki alevi eşliğinde steril petri kutularına ortalama 12-15 ml dökülür.

IV. Dextrose – Caseine-Peptide Agar

Standart mikrobiyolojik analizlerde *Bacillus* türlerinin belirlenmesi, izolasyonu ve sayımı için kullanılan katı besiyeridir.

Dehidre besiyeri 27,0 g/L'dir. İstenilen miktarların hesaplanması sonucu elde edilen su ve besiyeri karışımı otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilir. Otoklav sonrası 45-50 °C'a soğutulup, steril petri kutularına 12,5'er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve menekşe renklidir.

V. Sabouraud Dextrose Agar

Yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde, maya ve küflerin geliştirilmesinde katı besiyeri olarak kullanılır. Eğer bakteri kontaminasyonu yoğun olan bir materyalden izolasyon yapılması gerekli ise otoklav sonrası besiyeri sıcaklığı 45 °C sıcaklığına düşünce (mantar harici mikroorganizma) üremesini engellemek için aseptik koşullarda 50 mg/L oranında streptomycin ilave edilerek çalkalanıp ve steril koşullarda bunzen beki alevi eşliğinde steril petri kutularına ortalama 12-15 ml dökülmektedir.

Dehidre besiyeri formülü 47,0 g/L 'dir. İstenilen hacim distile su içinde hesaplanan miktarda dehidre besiyerinin çözülüp, otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilir ve steril petri kutularına yaklaşık 12,5'er ml dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak, sarımsı kahverengidir.

VI. Czapek Dox Agar

Mikrofunguslar için kullanılan izolasyon kültür ortamlarından biri de Czapek-Dox Agar'dır. Czapek agarı, özellikle *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri için tür tanısı yapmak adına çok uygun bir geliştirme ortamıdır [78]. Laboratuvar koşullarında aşağıdaki terkibe göre hazırlanmıştır.

Çizelge 4.1 Czapek-Dox Agar besiyerinin formülü

Kimyasal Formül	Formül Adı	Gram
NaNO ₃	Sodyum Nitrat	2,0
K ₂ HPO ₄	Potasyum Hidrojen Fosfat	1,0
KCl	Potasyum Klorür	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum Sülfat	0,5
FeSO ₄	Demir Sülfat	0,01
C ₁₂ H ₂₄ O ₁₂	Sukroz	30,0

Çizelge 4.1 Czapek-Dox Agar Besiyerinin Formülü (devamı)

Kimyasal Formül	Formül Adı	Gram
Agar	Agar	15,0
H ₂ O	Su	1000

Çizelge 4.1’de verilen kimyasallar tartılıp, 1 litre hacimli cam malzemede mağnetik karıştırıcı kullanılarak çözündükten sonra, otoklavda 121 °C’da 15 dakika süre ile steril edilir. Otoklav sonrasında 45-50 °C’a soğutulup, 6 cm steril petri kutularına dökülür. Hazırlanmış besiyeri bulanık ve beyazımsıdır. Katılaştıran besiyerine önceden hazırlanmış ve üreme gerçekleşmiş olan besiyerlerinden ısıtılan öze yardımıyla sürtünme yoluyla mikroorganizma olarak bu CDA’ların yüzeyine ekim yapılarak inkübasyona bırakılır. inkübasyon sonucunda üreyen saf kolonilerden tür teşhisi yapılmaktadır.

4.2 Özel Kültürel Sayım Yöntemleri

4.2.1 Bakteri Sayımı

Bakteri sayımı yayma ekim yöntemiyle Standart Plate Count Agar ve Dextrose Casein-Peptone Agar besiyerine uygun seyreltmeler yapılarak petrilerin 30 °C’da 48-72 saatlik inkübasyona bırakılmasıyla gelişme gösteren kolonilerin değerlendirilmesi tekniğidir.

4.2.2 Maya ve Küf Sayımı

Maya ve küf sayısı, düşük pH’lı Malt Ekstrakt Agar ve Potato Dextrose gibi besiyerleri kullanılarak dökme kültürel sayım ya da standart yayma yöntemleri ile yapılmaktadır. Bu çalışmada en yaygın olarak kullanılan besiyerleri Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar katı besiyerleridir. Katı besiyerleri ile yürütülen klasik ekim yöntemlerinde bakterilerin gelişmelerini engellemek amacıyla antibiyotik kullanılmalıdır. Maya-küf sayımlarında genellikle 20-25 °C’da yaklaşık 5-6 gün süren bir inkübasyon süreci uygulanmaktadır. Inkübasyon sonrası petrilerde gelişme gösteren kolonilerin sayımları gerçekleştirilmektedir.

4.2.3 Mantar ve Aktinomisetlerin Sayımı

Mantarların ve aktinomisetlerin koloni sayılarının belirlenmesi, besiyeri sıcaklığı 45 °C sıcaklığına düşünce mantar ve aktinomiset harici mikroorganizma üremesini engellemek için aseptik koşullarda 50 mg/L oranında streptomycin ilave edilerek hazırlanmış Sabouraud Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar ve Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar olmak üzere besi yerlerinde gelişen kolonilerin sayılmasına bağlıdır. Mantar ve aktinomisetlerin optimum gelişme sıcaklıkları farklı olduğundan 4, 20 ve 25 °C'da inkübasyona tabii tutulması sonucu petrilere oluşan koloniler sayılmaktadır. Katı besiyerinde yapılan sayım sonuçları koloni oluşturan birim (Colony forming unit: Cfu) olarak verilir.

4.3 Moleküler Tanı Yöntemleri ile Mikrobiyal Tür Tayini

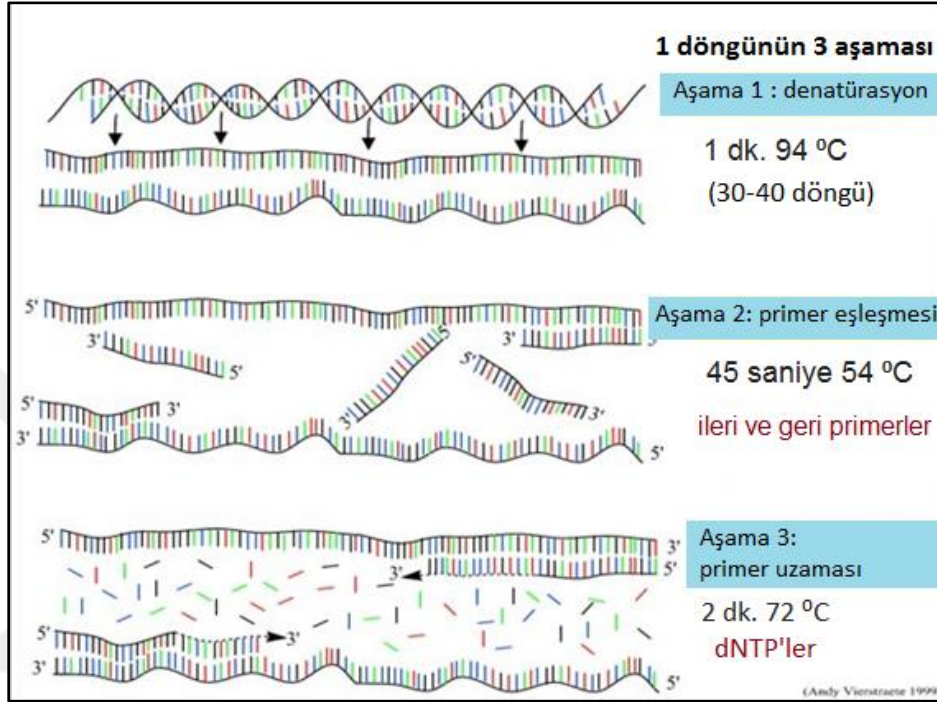
Moleküler tekniklerin mikrobiyoloji alanında kullanımı, her geçen gün daha da yaygınlaşmaktadır [70]. Mikroorganizmalarda genetik düzeyde teşhisin yaygınlaşması ile türlerin identifikasyonunu sağlamakla beraber bakteri ırklarının da ayrılmasına yardımcı olmaktadır [77].

4.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR)'ı gerçekleştirmek için gerekli prosedür 1993 yılında Nobel ödülü kazanmış Kerry Mullis tarafından ilk kez 1985 yılında ortaya koyulmuştur [80]. Polimeraz zincir reaksiyonu hedef nükleik asit zincirlerinin, primerler ile ısıya dayanıklı enzimlerin kullanılmasıyla laboratuvar ortamında çoğaltılmasına dayanan bir yöntemdir [70]. PCR reaksiyonunun prensibi çift zincirli DNA molekülüne ısı işlem uygulanarak zincirleri birbirine bağlayan hidrojen bağlarının kopması mantığına dayanmaktadır. Spesifik bir DNA'dan çoğaltılmak istenen bölgesinin iki ucuna özgü, baz dizilerini tamamlayıcı oligonükleotid primerler kullanılması ve primerler tarafından yönlendirilen genin DNA polimeraz enzimi tarafından sentezlenmesi yöntemidir.

Polimeraz zincir reaksiyonu, 3 temel adımdan oluşmaktadır ve çoğaltılmış ürünün miktarı bu 3 döngünün tekrarlanmasından meydana gelir. İlk adım denatürasyon iki zincirli olan DNA'nın yüksek sıcaklıkta zincirlerinin birbirinden ayrılarak tek sarmal hale

gelmesi, ikinci adım annealing (eşleşme) primerlerin hedef DNA'ya uygun sıcaklıkta bağlanmaları (primer bağlanması) ve üçüncü adım ise extension (uzama) primerler tarafından sınırlandırılmış olan bölgenin DNA'lar şeklinde uzatılarak çoğaltılmasıdır. Her bir reaksiyon aşaması farklı sıcaklıklarda döngüler halinde tekrar edilir. Her PCR döngüsünde DNA molekülü üzerinde çoğaltılmak istenilen bölge iki katına çıkar.



Şekil 4.2 PCR amplifikasyonu basamakları [81]

Çift iplikçikli DNA molekülünün, yüksek sıcaklıkla (92-95 °C) 1-2 dakika tutularak birbirinden ayrılmasından sonra reaksiyon sıcaklığı 37-65 °C'a düşürülür ve oligonükleotid primerler çoğaltılmak istenen DNA parçası üzerinde baz dizilimlerine karşılık gelen eşlenik sekanslara bağlanırlar. Oligonükleotid primerlerin açılan DNA zincirlerine yapışması işlemi 30-60 saniyede gerçekleşmektedir [82]. Primerlerin DNA zincirlerine bağlanmasından sonra DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) uygun tampon çözelti ve dNTP varlığında uygun sıcaklıkta (72 °C) primerlerin 3'OH ucundan uzamasını sağlar. DNA polimeraz enzimi denatürasyon sırasındaki yüksek sıcaklıkta (95 °C) çalışabilmektedir. Yüksek sıcaklığa dayanıklı bir enzimdir. Primerlerin uzatılıp ve arasında kalan bölgenin sentezlenmesi sonrası DNA sarmalları tekrar denatüre edilir, yeniden oligonükleotidler bağlanır ve aynı döngüde DNA sentezi tekrar etmektedir. PCR amplifikasyonunda hedef DNA'nın çoğaltılması işlemi 20-40 döngü arasında

gerçekleşmektedir. PCR ile beklenen DNA fragmentlerinin ya da amplifikasyon teknikleri kullanılarak sentezlenmiş DNA parçalarının üretilip üretilmediğinin kontrolünü sağlamak için agaroz jel elektroforezi yapılır [72]. PCR ürünleri; ethidium bromide (EtBr) ile boyanan agaroz veya poliakrilamit jellerde yürütüldükten sonra gözlemlenir [83].

PCR tekniği bazı dezavantajları ve zorluklarına rağmen günümüzde diagnostik mikrobiyoloji ve diğer alanlarda gittikçe artan önemde ve pratik bir yöntemdir.

4.3.2 Denature Gradyan Jel Elektroforezi

Denature gradyan jel elektroforezi, mikrobiyal çalışmalarda kullanılan aynı boyut fakat farklı DNA dizilimlerine sahip çift sarmallı DNA moleküllerinin ayrılmasını sağlayan elektroforetik bir yöntemdir.

Günümüzde hâlâ en çok kullanılan metotlardan olan DGGE, biyolojik mikrobiyal türlerin belirlenmesinde kültürün hangi bakteri türlerinden oluştuğunu belirlemek amacıyla 16SrRNA/16SrDNA hedef genlerinin incelenmesi işlemine dayanır. Kullanılan yöntemlerin hemen hemen tamamı hedef DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılmasını gerektirir.

4.3.3 Dizi (Sekans) Analizi

DNA dizi analizi, nükleotit baz dizilimlerinin belirlenmesi mikrobiyal tanımlamada kullanılan en iyi genotipik yöntemdir. Sekanslama ile birçok organizmanın genlerinin yapısı ve mekanizması hakkında önemli bilgiler sağlanmaktadır.

Bakteriler ve diğer mikroorganizma gruplarının filogenetik ilişkilerinin, moleküler düzeydeki benzerliklerinin DNA'nın nükleotid dizilerinin belirlenmesi ile tespit edilebilir olduğu ortaya koyulmuştur [70], [84]. Mikroorganizmaların tanımlanması veya sınıflamadaki yerlerinin, nükleotit baz dizilimlerinin belirlenmesi açısından önemli bir yöntemdir.

Çizelge 4.2 Bakteriyel tanımlama için 16S rDNA gen dizilimi analizinin prosedürleri ve çalışma süreleri [70]

Adım	Prosedür	Manuel çalışma süresi	Cihazda geçen süre
1	Hücrelerin elde edilmesi	3-5 dakika	
2	DNA ekstraksiyonu	30 dakika	10 dakika ve 3 dakika
3	PCR çalışması	30 dakika	2 saat
4	PCR ürününün analizi Yükleme, koşturma, jelin incelenmesi	20 dakika	1 saat
5	Saflaştırma (PCR ürünlerinin)	1 saat	
6	Döngü dizilimi	30 dakika	3 saat
7	Saflaştırma (PCR ürünlerinin)	1 saat	
8	16S rDNA geninin dizilenmesi, kapiler tepsinin yüklenmesi, koşturma	1 saat	2.5 saat
9	Analiz zamanı	5-15 dakika/örnek	
10	Organizmanın veritabanına göre incelenip isimlendirilmesi	30 dakika	
11	Elde edilen verilerin raporlanması		

DNA dizileme çalışmasında, PCR uygulaması ile sıcaklık yükseltilip DNA zincirlerinin birbirinden ayrılması sağlanır ardından sıcaklık düşürülerek primerlerin bağlanması sağlanmaktadır. Ortamdaki floresan işaretli dideoksi nükleotitlerin zincirlerin uzamasını sonlandırmaya dayalı dizilemede DNA polimeraz enzimi zincirlerin çoğaltılmasını sağlar. Sentezin herhangi bir noktasında zincire eklenen dideoksi baz varlığında zincirin uzama reaksiyonu durur. Böylece farklı uzunluklarda DNA parçaları oluşmaktadır. Oluşan ürünler poliakrilamid jel elektroforezi kullanılarak incelenir, farklı uzunluklardaki DNA fragmentlerinin birbirlerinden ayrılması ve ayrı konumlanması sağlanmaktadır. DNA dizisi jelden okunur [85].

4.3.4 Filogenetik Analizler

DNA ya da protein dizileri kullanılarak türler/organizma grupları arasındaki genetik benzerliklerin ve farklılıkların belirlenmesi, taksonların tanımlanması ve uygun bir sınıflandırma sistemi dahilinde bu organizma gruplarının birbirleriyle ilişkilerinin, evrimsel akrabalıklarının araştırılmasıdır. Genomik bilgi kullanılmasıyla canlılar arasındaki ilişkilerin moleküler düzeyde incelenildiği bir çalışmadır [86]. Dizi sekans analizi ile elde edilen nükleotit dizilerine ait bilgilerin özetlenerek görsel olarak ifade edilebilmesi maksadıyla filogenetik ağaçlar oluşturulmaktadır. Oluşturulan bu

filogenetik ağaç ortak bir atadan gelen bireyler arasındaki evrimsel ilişkileri göstermektedir [86].



BÖLÜM 5

MATERYAL VE METOD

Bu araştırmada; Yıldız Teknik Üniversitesi, Yıldız Kampüsü ve çevresinde bulunan tarihi yapılardaki taş malzemelerdeki mikrobiyolojik hasarı değerlendirmek için, taşların bozulmasında etkili olan mikroorganizma türlerinin belirlenmesi ve mikrobiyolojik olarak bozunmaya katkıları araştırılmıştır. Bu çalışmanın ilk aşamasında Y.T.Ü. Yıldız Kampüsünde bulunan tarihi eserlerden alınacak örnek alanları tespit edilmiştir. Taşların mikrobiyolojik bozunması üzerinde iklim faktörleri, taşın gözenekliliği -minerolojik yapısı, havada bulunan kirleticiler- diğer etmenler etkili olduğundan araştırma alanı çevresindeki bu özellikler incelenmiştir.

5.1 Araştırma Alanının Meteorolojik Özellikleri

Yıldız Teknik Üniversitesi, Yıldız Kampüsü ve çevresindeki klimatolojik faktörleri belirlemek için Meteoroloji Bölge Müdürlüğü'ne bağlı Beşiktaş Meteoroloji istasyonuna ait veriler temin edilmiştir. 2010-2015 yılları arasındaki meteorolojik veriler Çizelge 5.1'de verilmiştir. Çizelgede ayrıca İstanbul Büyükşehir Belediyesi Hava Kirliliği Ölçüm İstasyonuna ait hava kalitesi değerleri de verilmiştir.

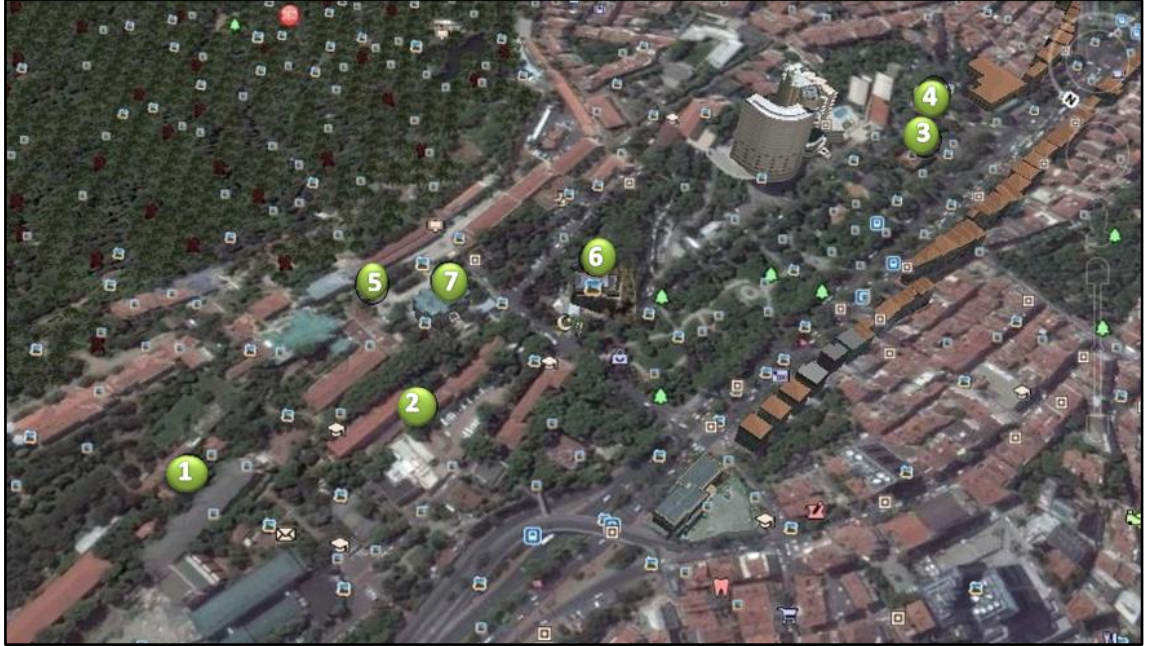
Çizelge 5.1 Ortalama iklim ve hava kirliliği özellikleri, Beşiktaş-İstanbul (2010-2015)

Meteorolojik Parametreler	Aylar												Ort.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Sıcaklık (°C)	6,5	7,1	9,1	12,9	18,6	22,8	26,3	26,9	22,6	16,7	13,3	8,6	15.95
Yağış (mm)*	104.4	78.2	71.5	46.1	34.2	35.9	32.5	40.1	60.6	87.8	101.2	122.7	815.2
Nem (%)	75,4	74,4	69,1	67,7	66,7	63,5	59,8	59,5	62,3	69,6	71,7	73,6	67.77
Rüzgar hızı (m/s)	4,5	4,4	3,8	3,6	3,3	3,8	4,2	4,3	4,0	4,3	3,8	4,4	4.03
Hava Kirliliği Parametreleri (µg/m³)													
Kükürt dioksit (SO ₂)	6,2	6,7	7,3	7,7	6,8	5,5	4,2	5,4	6,3	4,6	4,6	6,4	5.975
PM (Partiküler madde)	47,3	51,6	52,9	52,9	51,9	42,8	41,5	44,9	43,8	40,2	53,9	51,7	47.95
Azot oksitler (NO _x)	202,8	175,0	204,5	219,7	219,5	196,3	149,3	153	188,9	203,9	260,2	259	202.6

*Toplam

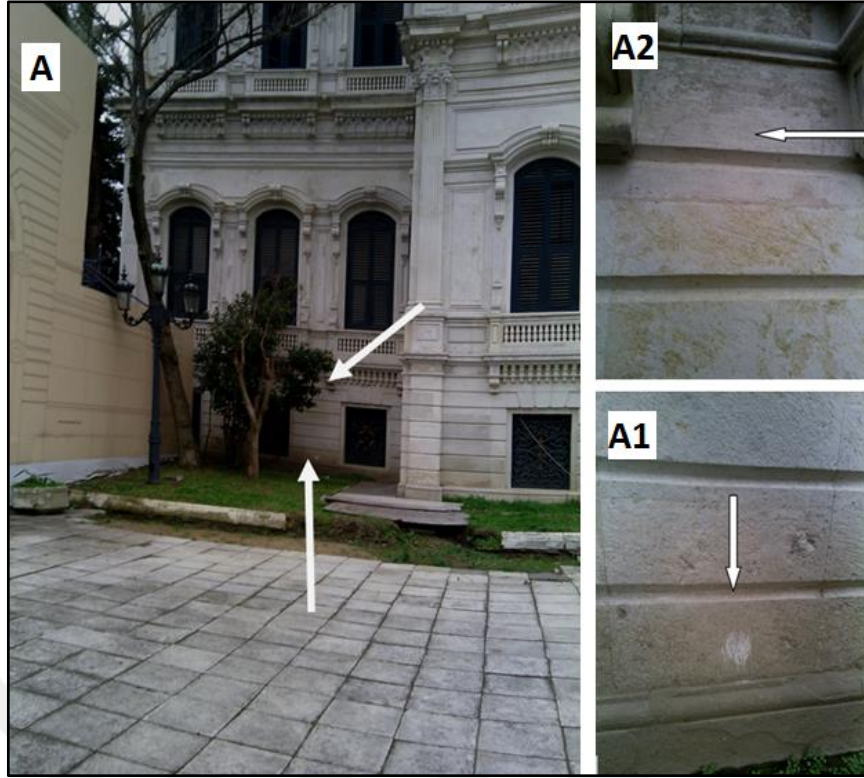
5.2 Araştırma Alanları

Bu araştırma Y.T.Ü. Yıldız Kampüsü ve çevresinde bulunan 7 (yedi) adet tarihi yapıda gerçekleştirilmiştir. Araştırma alanları Şekil 5.1’de verilmiştir.

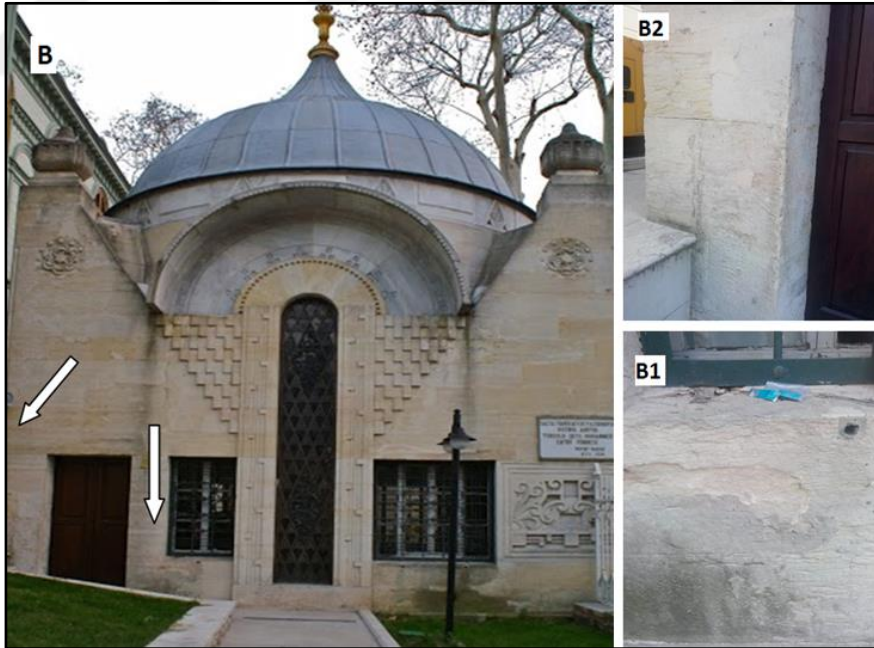


Şekil 5.1 Araştırma alanları

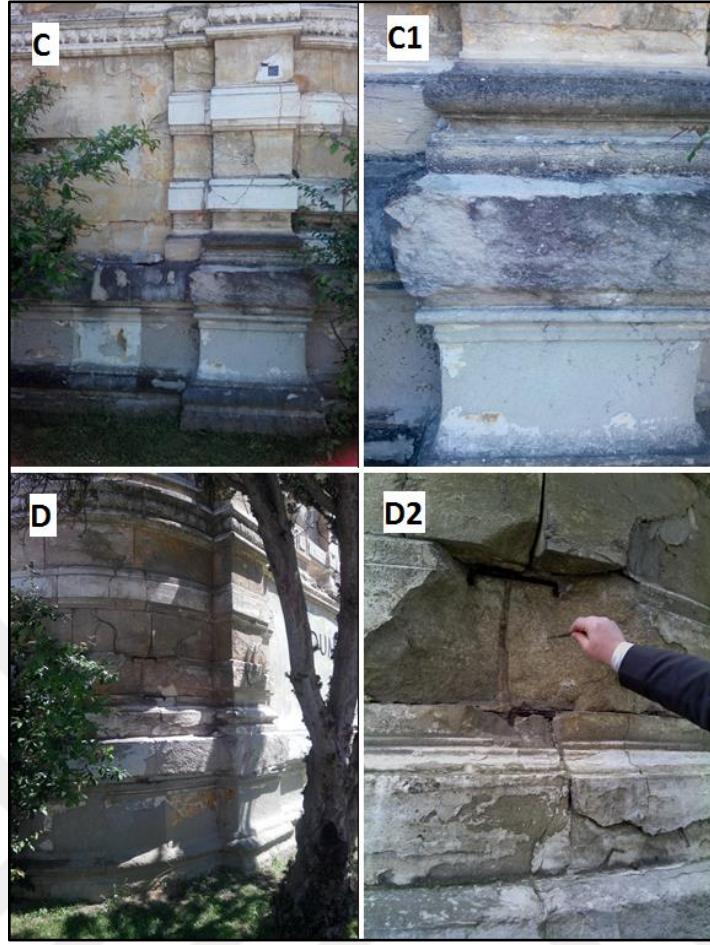
Araştırma alanları ile ilgili detaylı bilgi bölüm 2, İstanbul ve incelenen tarihi yapılar başlığı altında verilmiştir. Ayrıca bazı araştırma alanlarındaki örnekleme noktaları Şekil 5.2 A(A1, A2), Şekil 5.3 B(B1, B2) ve Şekil 5.4 C(C1, D2)’de gösterilmiştir.



Şekil 5.2 A-Yıldız Sarayı Büyük Mabeyn A1-0.5m yüksekliğe ait taş yüzeyi A2- 2m yüksekliğe ait taş yüzeyi



Şekil 5.3 B-Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi B1-0.5 m yüksekliğe ait taş yüzeyi B2-2 m yüksekliğe ait taş yüzeyi



Şekil 5.4 C-D Çit Kasrı C1-Çit Kasrı 0.5 m yüksekliğe ait taş yüzeyi, D2-Çit Kasrı 2 m yüksekliğe ait taş yüzeyi görüntüsü

5.3 Örneklerin Toplanması ve Analizi

Çalışmanın bu aşamasında öncelikle örnek alınacak deneme alanları belirlenmiş ve örneklemenin yapılabilmesi için yaklaşık 10 deneme alanının alınmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Tarihi yapı özelliğini taşımaya devam eden ve herhangi bir restorasyon çalışması nedeniyle değişikliğe uğramayan yapılar belirlenmiş, bazı deneme alanlarında taş yapı olmaması nedeniyle 7 (yedi) deneme alanından alınacak örneklerin sağlıklı sonuçlar vereceği görülmüştür. Yıldız Kampüsü ve çevresinde çalışılmak üzere tarihi eserlerden yüzeyleri sıvalı olan ve örnek almaya müsait olmayan binalar elimine edilmiş ve örnek almaya uygun binalar olarak Çukur Saray, Şehzade Köşkü, Yıldız Hamidiye Camii, Yıldız Sarayı-Büyük Mabeyn Köşkü ve Yıldız Sarayı-Çit Kasrı, Ertuğrul Tekke Camii, Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi seçilmiştir. Seçilen bu alanlardan 0.5 metre ve 2.0 metre yükseklikteki taş yüzeylerinden örnekler alınmıştır.

Her örnek noktasındaki taş yüzeyinde iki tip örnekleme yapılmıştır. Birinci tip örnekler taş yüzeyinde parçalanmakta olan kısımlar bistüri ile kazınarak, ikinci tip örnekler parçalanmadan kütle halinde alınarak steril-aseptik koşullarda petri kutusuna veya steril klipsli poşetlere konulmuştur. Mikroorganizma türlerinin tespiti ve taşların bozunmasındaki rollerinin belirlenmesi çalışmalarında birinci tip örnekler besiyerlerinde mikrobiyal tür tespitinde, ikinci tip örnekler SEM ve XRF analizlerinde kullanılmıştır. Örnekleme noktaları Çizelge 5. 2'de verilmiştir.

Çizelge 5.2 Çalışmada incelenen örnek alanlar

No	Örnek Alma Alanları	Yükseklik	Simgeler
1	Yıldız Sarayı, Şehzade Köşkü duvarı	0.5 m	YS- ŞK1
		2.0 m	YS- ŞK2
2	Yıldız Sarayı, Çukursaray	0.5 m	YS- ÇS1
		2.0 m	YS- ÇS2
3	Ertuğrul Tekke Camii	0.5 m	ETC1
		2.0 m	ETC2
4	Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi	0.5 m	ŞMZT1
		2.0 m	ŞMZT2
5	Yıldız Sarayı, Çit Kasrı	0.5 m	YS- ÇK1
		2.0 m	YS- ÇK2
6	Yıldız Hamidiye Camii	0.5 m	HC1
		2.0 m	HC2
7	Yıldız Sarayı, Büyük Mabeyn Köşkü	0.5 m	YS- BM1
		2.0 m	YS- BM2

Mikrobiyolojik analizi yapılacak taş örnekleri 2013-2014 ve 2015 yılları Şubat ve Mart aylarında; Şehzade Köşkü, Çukur Saray, Ertuğrul Tekke Camii, Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi, Yıldız Sarayı-Çit Kasrı, Yıldız Hamidiye Camii, Yıldız Sarayı-Büyük Mabeyn Köşkü duvar yüzeylerinden; zeminden 0.5 m ve 2.0 m yükseklikten bistüri ile kazınarak çok küçük taş parçacıkları şeklinde alınarak tarihi eserlere en ufak zarar verilmemiştir. Tüm örnek alma ve laboratuvar çalışmaları steril-aseptik şartlarda gerçekleştirilmiştir. Katı besiyeri içeren ortamlara ekim yapabilmek için laboratuvarında havanda ezilen toz halindeki taş örneklerden birer gram tartılarak, taş örneklerindeki mikroorganizmaları sıvı ortama geçirebilmek amacıyla, içerisinde 100 ml steril fizyolojik tuzlu su (9 g/L NaCl) bulunan erlenlere konulmuş, çalkalayıcıda 15 dakika karıştırılmıştır. Taş örneklerindeki mikroorganizmalar sıvı ortama (fizyolojik tuzlu su ortamına)

aktarıldıktan sonra içerisindeki mikroorganizma yoğunluğu bilinmediğinden bu örneklerden 1/10, 1/100, 1/1000, ... oranlarında dilusyonlar (seyreltmeler) hazırlanmış ve bu dilusyonlardan 1'er ml. katı besiyerlerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 4, 20 ve 35°C'da inkübasyona konulmuştur. İnkübasyon sonucunda üremeyi görmek için duruma göre 1-6 gün süreyle her gün üreme gözlenmiştir. Koloniler olgunlaşınca besiyerleri inkübatörden alınarak koloni sayacında sayım yapılmıştır. Yapılan sayımlarda tespit edilen kolonilerden seyreltme faktörü dikkate alınmak suretiyle 1 gr. taş örneğindeki mikroorganizma sayısı (CFU: coloni forming unit olarak) hesaplanmıştır. İkinci tip örnekler ise her yapının yüzeyinden daha büyük parçalar şeklinde özellikle dökülmekte olan yerlerden alınarak yapının dokusuna zarar verilmemeye çalışılmıştır. SEM ve XRF analizlerinde kullanılmıştır.

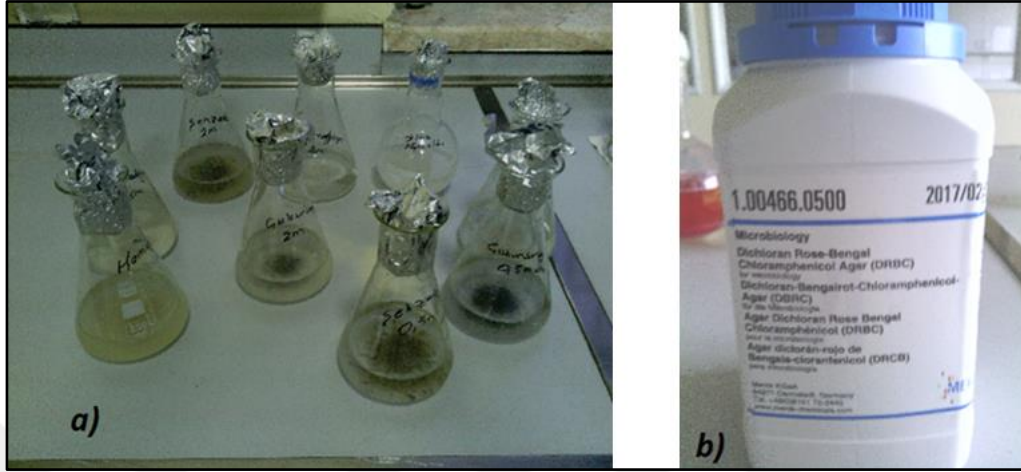
Bu araştırmada yapılacak mikrobiyal analizlerde aşağıdaki yöntemlerin kullanılması planlanmıştır.

Çizelge 5.3 Araştırmamızda kullanılan mikrobiyal analiz yöntemleri

Mikroorganizma Grubu	Analiz Yöntemi
Bakteriler	Mikroskopik inceleme, PCR–genetik analiz yöntemi
Mantarlar	Mikroskopik inceleme, Diagnostik inceleme, Biyokimyasal testler
Mavi-yeşil algler	Mikroskopik inceleme, Diagnostik inceleme, PCR–genetik analiz Yöntemi

Taşların bozunmasına etki edecek mikroorganizmaların belirlenmesi, gelişimlerinin sağlanması için uygun besiyerlerinin oluşturulması ve sonrasında taş bozunmasında aktif rol alan türlerin tespiti çalışması yürütülmüştür. Mikroorganizmaların gelişimlerini sağlayacak hazır ticari besiyerleri olarak, mantarların belirlenmesi için Malt Extract Agar (MEA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Dichloran Rose Bengal Chloromphenical Agar (DRBC) (Şekil 5.5) ve bakterilerin belirlenmesi için Standart Plate Count Agar (SPCA) ve Dextrose-Casein-Peptone Agar (DCPA) besiyeri kullanımı tercih edilmiştir. Bu

ticari katı besiyerleri üzerindeki tarifnameye göre istenen ml saf su miktarına eklenip hazırlanan besiyerleri magnetik-karıştırıcılı ısıtıcıda 50-60 °C'da çözündürüldükten sonra otoklavda steril edilmiştir.



Şekil 5.5 a)1 gram taş örneği/100 ml fizyolojik tuzlu su ortamı, b)Hazır ticari besiyeri, Dichloran Rose-Bengal Chloromphenical (DRBC) Agar

5.4 Mikroorganizmaları Tanımlamada Kullanılan Besiyerleri

Mikroorganizmaların gelişimlerinin sağlanması ve belirlenmesi için Çizelge 5.4'deki besiyerleri hazırlanmış ve kullanılmıştır.

Çizelge 5.4 Kullanılan katı besiyerleri ve hazırlanışı

Kullanılan Ticari Katı Besiyerleri	Kullanılan Miktar (g/L)	Otoklavda Kalma Süresi (dakika)	Sıcaklık °C	pH
Standart Plate Count Agar (SPCA)*	23,5	15	121	7,0±0,2
Malt Extract Agar (MEA)	48	10	121	5,6
Sabouraud 4% Dextrose Agar (SDA)	65	15	121	5,6
Dichloran Rose Bengal Chloromphenical Agar (DRBC)	31.6	15	121	5,6
Dextrose Casein–Peptone Agar (DCPA)	27	15	121	6,8

*Toplam bakteri sayısı tespiti için kullanılan uygun katı besiyeri

Bunlardan Standart Plate Count Agar (SPCA) ve Dextrose-Casein-Peptide Agar (DCPA), bakterileri belirlemek amacıyla diğer besiyerleri ise mantarların belirlenmesinde kullanılmıştır. Granül-toz şekillerinde bulunan bu hazır ticari katı besiyerleri tarifnamesinde belirtilen oranda steril saf su ile karıştırılarak hazırlanmıştır. Mikroorganizma gelişimlerini sağlamak için gerekli kültür ortamları hazırlanıp her biri otoklavda uygun koşullar sağlandıktan sonra steril edilmiştir.

5.5 X Işını Floresans (XRF) Analizi

Taşların mineralojik bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla ufalanmamış parçacıklar şeklinde, taşın yüzeyini temsil eden taş örnekleri T.A.E.K Çekmece Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi ve İ.T.Ü. MEMTEK-Ulusal Membran Teknolojileri Araştırma Merkezi laboratuvarlarında analiz edilmiştir.

XRF analizleri Super Q software programı ile kontrol edilen Axios Advanced dalga boyuna (wavelength) sahip enerji dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry (WDXRF) cihazında analiz edilmiştir. XRF cihazı 4kW çıkışa sahip X-ışını tüpü ile çalışan yüksek hassasiyete sahiptir.

5.6 Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi

Tarihi yapılara zarar verilmeden her bir örnek alanından alınan ufalanmamış parçacıklar şeklindeki taş örnekleri, sterilize edilmiş pens yardımıyla steril torbalara konularak laboratuvara getirilmiştir. Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) mikroorganizmaların taş yüzeyde bulunma şeklinin incelenmesi çalışmaları T.A.E.K Çekmece Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezine ve İ.T.Ü. MEMTEK-Ulusal Membran Teknolojileri Araştırma Merkezi laboratuvarlarında yapılmıştır. Analiz öncesi ön işlemleri yapılan örneklerin SEM analizleri JEOL JSM-6390LV Scanning Electron Microscope cihazında 10 kV çalışma voltajı, 100X-3000X büyütme gücü ve 100 µm-5 µm objektif açıklığı bandında görüntüleri elde edilmiştir.

5.7 Mikroskopta İnceleme

Araştırmada Y.T.Ü. Çevre Mühendisliği Bölümü laboratuvarında bulunan OLYMPUS BX51 model flouresans mikroskobu kullanılmıştır. Yapılan incelemelerde 10 x (10-100)

büyütme yapılmıştır. Işık şiddeti ve ışık dalga boyu ayarlanabilen bu mikroskop yüksek çözünürlük ve renk kontrastı sağlayarak objelerin ve organellerin ayırımını yapabilmektedir.

Araştırma alanlarından alınan taş örnekleri 1 gr taş/100 ml steril fizyolojik tuzlu su olacak şekilde seyreltilerek taşlarda bulunan mikroorganizmalar suya geçirilmiştir. Her bir numuneden mikro pipet yardımıyla alınarak hazırlanan preparatlar bilgisayar destekli OLYMPUS BX51 model mikroskopta incelenmiş, farklı ışık spektrumları ve ışık şiddetleri ile alınan çeşitli büyütme oranlarındaki görüntüler incelenerek bilgisayara kaydedilmiş ve değerlendirilmiştir.

5.8 Kültürel (Besiyeri) İncelemeler

5.8.1 Toplam Bakteri Sayısının Tespiti

Toplam bakteri sayısının tespiti için Standart Plate Count Agar ve Dextrose-Casein-Peptone Agar (DCPA) besiyerleri kullanılmıştır. Üzerindeki tarifnameye göre hazırlanan besiyerlerine mantarların üremesini engellemek için içerisine 50 mg/L nistatin ilave edilmiştir. Sterilizasyon işlemi sonucunda otoklavdan çıkarılan besiyeri sıcaklığı 45 °C'a ulaşınca besiyerinden 12-15 ml steril petri kutularına dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığında katılaştıktan sonra besiyerine ispierto ocağı alevi ile aseptik hale getirilmiş laboratuvar koşullarında taş örneklerinden izole edilmiş FTS'lerden ekim yapılmış, 4, 20, 30 ve 35 °C'da inkübasyona konulmuştur. İnkübasyon işlemi sonucunda oluşan koloniler sayılıp seyreltme oranları dikkate alınarak taşın 1 gramındaki bakteri sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Örnekteki mikroorganizma sayısı (adet/gram) = (petri kutusundaki koloni sayısı X seyreltme faktörü) / dilüsyon tüpünden petri kutusuna aktarılan hacim(ml) bağıntısı ile hesaplanmıştır.

5.8.2 Mantar ve Aktinomisetlerin Tespiti ve Sayımı

Tarihi eserlerdeki taş örneklerindeki mantarların ve aktinomisetlerin koloni sayısının belirlenmesi amacı ile Malt Extract Agar (MEA), Sabouraud Dekstroz Agar (SDA),

Dichloran Rose Bengal Chloromphenical Agar (DRBC) ve Potato Dextrose Agar (PDA) katı besiyerleri kullanılmıştır.

Her bir besiyerinden Çizelge 5.4 'de belirtilen miktarda tartılıp saf su ile istenilen kültür ortamları hazırlanmıştır. Gerekli homojenlik sağlandıktan sonra besiyeri üzerindeki tarifnamedeki sıcaklıklara göre steril edilmek üzere otoklava yerleştirilmiştir. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika süre ile steril edilmiştir. Otoklav süreci tamamlanan besiyerlerinden MEA, SDA, DRBC ve PDA besiyerlerine Mantar ve Aktinomisetler sayılacağından bakteri florasının baskılanması için 30 mg/L streptomycin ilave edilmiştir. Her besiyerine, dilusyonlardan 1'er ml ekim yapılarak 4, 20, 30 ve 35 °C'da üreme gerçekleşene kadar inkübe edilmiştir. Koloniler olgunlaşınca kadar her gün kontrol edilerek 2-6 gün süren bir inkübasyona tabi tutulmuştur.

İnkübasyon işlemi sonucunda oluşan kolonilerden faydalanarak taşın 1 gramındaki mantar ve aktinomcetes sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Örnekteki mikroorganizma sayısı (adet/gram) = (petri kutusundaki koloni sayısı X seyreltme faktörü) / dilüsyon tüpünden petri kutusuna aktarılan hacim(ml) bağıntısı ile hesaplanmıştır. Sonrasında bu petri kutuları 4°C'da muhafaza edilmiştir.

5.9 Mikrobiyal Tür Analizleri

Yıldız Teknik Üniversitesi, Yıldız Kampüsü ve çevresinde bulunan tarihi yapılara ait 7 örnek noktasından alınan taş numunelerde DNA ekstraksiyon sonrası 16S ribosomal RNA genlerine PCR ve DGGE temelli moleküler teknikler uygulanarak bakteri ve mavi-yeşil alg türleri belirlenmiştir.

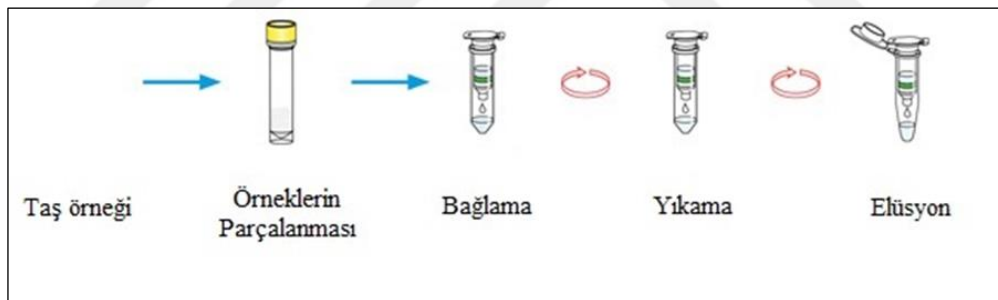
Mikrobiyal tür teşhisi; DNA ekstraksiyonu, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), DGGE (Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi) ve Nükleik asit Dizi analizi aşamalarından oluşmaktadır. Araştırma alanlarından alınan taş numuneleri moleküler tekniklerde kullanılmak üzere hazırlanıp numunelerdeki bakterilere ait nükleik asitler NucleoSpin® DNA Isolation Kit kullanılarak ekstrakte edilip bir sonraki analiz aşamasına kadar -20°C'da muhafaza edilmiştir. PCR yöntemi kullanılarak ekstrakte edilen nükleik asitlerdeki 16S rRNA genleri, forward ve reverse primerler (357F-GC, 907R) kullanılarak Termal döngü cihazı (Thermal Cycler) ile çoğaltılmıştır. Mikrobiyal tür çeşitliliğini ortaya

koymak adına DGGE çalışması yapılarak Nükleik Asit Dizisinin belirlenmesi sağlanmıştır. Moleküler teknik bazlı yürütülen bu çalışmada; PCR (BIO-RAD T100™ Thermal Cycler System) cihazı, Elektroforez Cihazı (SCIE-PLUS), DGGE (BIO-RAD D-Code™ Universal Mutation Detection System) ekipmanı ve Jel Görüntüleme Sistemi (WiseDoc) kullanılmıştır.

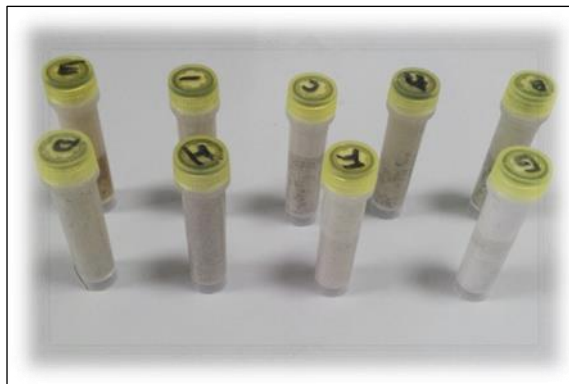
Analiz sonucu oluşan bantların 16S ribosomal RNA nükleotit dizilimleri A-G-C-T dizin dosyaları biçiminde kopyalanıp <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> internet sitesinde **BLAST** programında değerlendirilip muhtemel mikroorganizma türleri tespit edilmiştir. İşlem aşağıda genişçe açıklanmıştır.

5.9.1 DNA Ekstraksiyonu

DNA izolasyonunda, araştırma alanlarından temin edilen numuneler NucleoSpin®DNA Isolation Kit prosedürüne uygun olarak saflaştırılmıştır. Tür tespitleri NucleoSpin® çalışma prosedürü takip edilerek yapılmıştır. Son olarak; izole edilen DNA'lar -20 °C'da PCR yapılincaya kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 5.6 NucleoSpin® çalışma prosedürü



Şekil 5.7 Nucleospin bead tube görüntüsü

5.9.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR amplifikasyonu ile BIO-RAD Termal döngü cihazı kullanılarak 16S rRNA genleri çoğaltılmıştır.

PCR aşamasında kullanılan ileri-geri primerler ve diğer kimyasallar Çizelge 5.5’de; sıcaklıklar, döngü sayıları ve süreleri içeren ısıl çevrim prosedürü Çizelge 5.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.5 PCR işleminde kullanılan reaksiyon protokolü

Solüsyon	Hacim (µl)	Fonksiyon
10X Buffer	2.5	Tampon çözelti
dNTP (10mM)	0.25	Nükleotid karışımı
357F–GC (100µM)	0.12	Forward Primer
907R (100µM)	0.12	ReversePrimer
BSA	0.5	PCR inhibitör etkisini azaltma
dH2O	20.46	Distile su
TaqDNApol.	0.05	DNA çoğaltıcı enzim
Template	1	DNA
Toplam	25	

Belirtilen reaksiyon protokolü ve PCR döngü koşullarında çoğaltılan DNA’lar %1’lik agaroz jele yüklenerek 100 voltta 60 dakika boyunca yürütülmüştür. Görüntülenmek üzere jel görüntüleme sistemine aktarılmıştır. Burada UV ışık altında fotoğraflanarak istenilen band görüntüsü elde edilmiştir.

5.9.2.1 Primerlerin Hazırlanması

Primerlerden Alpha DNA (kodu 584823) olan Universal 357F-GC (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG3')GCclamp(5'CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGGACGGGGG-3') ve Alpha DNA (kodu 584821) olan Universal 907R (5'-CCGTC AATTCMTTTRAGTTT) Primerleri sırasıyla Alpha DNA protokolüne göre, 451 µl ve 811 µl moleküler biyolojik su eklenerek sulandırılmıştır. Hazırlanan 100 µM

konsantrasyonlarında primerlerin ardından master mix hazırlanmıştır. Master mix için gerekli prosedür Çizelge 5.5’de verilmiştir.

Çizelge 5.6 İleri-geri primerler

Primer Adı	Primer Dizini
357F–GC	5’-CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGG CCTAC GGGAGGCAGCAG-3’
907R	5’ CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3’

5.9.2.2 Amplifikasyon İçin Master Mix Hazırlanması

Her 25 µl PCR reaksiyon çözeltisi, 20.46 µl moleküler biyolojik suya 1 µl Template DNA, 0.12 µl 100 mM primer, 2.5 µl 10x buffer (tampon çözelti), 0.25 µl 10 mM dNTP, 0.05 µl Taq DNA polymerase ve 0.5 µl bovine serum albumin (BSA) katılarak elde edilmiştir. Protokole göre, toplam hacmi 75 µl olacak şekilde bütün solüsyonların hacimleri ayarlanmıştır. Çalışmada kullanılacak 9 tane örneğe uygulanan DNA ekstraksiyon ürünleri olan soğutucuda muhafaza edilmiş ve parçalanmış olan bakteri hücreleri çıkartılıp spin edilmiştir.

Çalışma boyunca dikkat edilmesi gereken önemli husus reaksiyona enzimin en son katılmasıdır. Enzim ve primerler reaksiyon süresince +4 °C’da muhafaza edilmelidir. Ayarlanan hacimlerde master mix tüpüne eklenen reaksiyon ürünleri ve son olarak primerler ve enzimin de eklenmesi ile 10 saniye spin edilmiştir. PCR tüplerine, master mix tüpünden 72 µl koyulup ve spin down edilen DNA ekstraksiyon örneklerinden de 3’er µl eklenmiştir. Bir tane de Negatif kontrol hazırlanmıştır. Negatif kontrol, örnekler arası kontaminasyonu kontrol etmek amaçlı kalıp DNA içermeyen bir tüp olacak şekilde hazırlanır. PCR amplifikasyonu, BIORAD T100™ PCR Thermal Cycler cihazıyla Çizelge 5.7’de belirtilen sıcaklıkta ve sürelerde işleme tabi tutulur. PCR cihazında uygun programın ayarlanması için sıcaklıklar, döngü sayıları ve süreleri aşağıda (Çizelge 5.7) düzenlenmiştir.

Çizelge 5.7 Polimeraz zincir reaksiyon döngüsü

Basamaklar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	5 dak	1
Denatürasyon	94	30 sn	30
Primer Bağlanma	50	1 dak	
Primer Uzama	72	2 dak	
Son Uzama	72	10 dak	1
Saklama	4	∞	1

5.9.3 Agarose ve Akrilamid Jellerde Nükleik asitlerin Gözlenmesi

5.9.3.1 Agaroz Jelin Hazırlanması

Çizelge 5.8 Agaroz jel için gerekli malzemeler

Malzemeler	%1'lik 450 ml
Agaroz	4.5 g
1 X TAE	450 ml
EtBr	4.5 µl

4.5 gram agaroz hassas terazi (Precisa-XB220A) ile tartılmıştır ve üzerine 450 ml 1X Tris-Asetat-EDTA (TAE) tampon çözeltisi eklenmiştir. Mikrodalga fırın yardımı ile kaynatılarak agarozun çözünmesi sağlanmıştır. Çözelti içerisine 4.5 µl Ethidium Bromide (EtBr) eklenerek ve yavaşça çalkalanarak homojenize hale gelmesi sağlanmıştır. Çözelti jel tablasına yavaşça dökülerek ve taraklar kalıba yerleştirildikten sonra 20-30 dakika, oda sıcaklığında jel donana kadar beklenmiştir. %1'lik agaroz jel, içerisinde 1X TAE bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

5.9.3.2 DNA Marker Hazırlanması

100 bp 1 µl DNA Ladder üzerine 1 µl 6X Loading Dye ve 4 µl distile su ilave edilmiştir. Vorteks (Labnet Vortex Mixer VX-200) cihazı yardımı ile yüksek hızda karıştırılmıştır.

Çizelge 5.9 DNA markerının hazırlanış prosedürü

DNA Markörü	6µl
Distile su	4 µl
6X blue yükleme boyası	1 µl
100 bp DNA ladder	1 µl

5.9.3.3 Örneklerin Jele Yüklmesi

Çizelge 5.10 Yükleme örneğinin hazırlanma prosedürü

Yükleme örneği	6 µl
6X yükleme boyası	1 µl
Örnek	5 µl

Parafilminden küçük bir parça alınarak yüklenecek örnek sayısı kadar yükleme boyası (1'er µl) üstüne koyulmuştur. 5 µl DNA örneği, 6X yükleme boyası ile pipetaj yoluyla karıştırılıp jele yüklenmiştir. Her örnekten 6 µl birbirini izleyen kuyulara yüklenmiştir. İlk kuyuya da DNA marker (Çizelge 5.9) yüklenen jel, elektroforez tankına aktararak üzerine jeli kapatacak şekilde, 1X'lik TAE tampon çözeltisi eklenmiştir.

5.9.3.4 Yürütme (Elektroforez)

DNA varlığını görüntülemek için jel elektroforezi yöntemi kullanılmıştır. Jel Elektroforezine başlamadan önce agaroz jel ve gerekli çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan jeldeki kuyulara, istenilen örnekler ve markerların yükleme yapıldıktan sonra elektroforez tankının kapağı kapatılıp, elektrotlar uygun pozisyonlara bağlanarak (anottan katoda gidecek şekilde) 100 Volt (V)'luk akımda 1 saat yürütülmüştür.

5.9.3.5 Görüntüleme

Görüntülenmek üzere, 1 saat sonunda elektroforez işlemi ardından elde edilen jel bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki uygun yüzeye yerleştirilerek, jel görüntüleme sistemine aktararak UV ışığı altında fotoğraflanıp, değerlendirilmiştir.

PCR, jelin hazırlanması, örneklerin yüklenmesi, yürütme ve görüntüleme işlemleri yukarıda anlatılan prosedürlere göre uygulanmış ve değerlendirme sonucunda, 8. banttaki örneğin pozitif bant verdiği gözlemlenmiştir. DNA'nın var olduğu gözlemlendiğinden diğer aşama olan Denature Gradyan Jel Elektroforez tekniğine geçilmiştir.

5.9.4 Denature Gradyan Jel Elektroforez (DGGE) Tekniği

Genetik yapısı birbirinin tıpatıp aynı olan canlı topluluklarının tür farklılıkları ve bu farklılıkların ayırt edilebilmesi dizi analizi öncesi denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE) tekniği ile tespit edilmiştir. DGGE, PCR amplifikasyonu ile üretilen DNA ürünlerini ayıran moleküler genetik analiz yöntemidir. Çevresel DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu, baskın mikroorganizmaların çoğunu temsil eden farklı DNA sekansı kalıplarını üretebilir [87].

Tez çalışmasında, PCR kademesinden sonra elektroforez görüntüsü alınan ürünlerde DNA varlığı tespit edildiğinden DGGE aşamasına geçilmiştir.

5.9.4.1 Poliakrilamit Jel Hazırlanması

DGGE jeli için iki farklı yoğunluğa sahip jel (casting jel) hazırlanmış olup bu aşamada uygulanan prosedür Çizelge 5.11'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.11 DGGE jel hazırlama prosedürü

Kimyasal	Az yoğun çözelti (%25)	Yoğun çözelti (%65)
Üre	10.5 g	27.3 g
50X TAE	2 ml	2 ml
%40 Acrylamide/Bis(37,5:1)	20 ml	20 ml
Formamide	10 ml	10 ml
dH ₂ O	100ml'e tamamlanır.	100ml'e tamamlanır.

Hazırlanan çözeltiye 7.5 µl TEMED ve 75 µl %20'lik APS (Amonyum persülfat) eklenerek karıştırılmıştır. DGGE camları arasına doldurma işlemi gerçekleştirilerek beklemeye bırakılmıştır. Jelin düzgün şekilde donmasını sağlamak için havayla bağlantısını kesmek üzere jel üzerine ultra saf su eklenebilir ve işlem sonrasında öncelikle jel üzerindeki saf su alınır. Ardından 6 µl TEMED ve 100 µl APS eklenmiş stacking jel (Çizelge 5. 12), PCR

ürünleri yüklenecek olan alanları (kuyu) açmak için gerekli tarakların yerleştirildiği tarak aralarına, casting jel üzerine pipet yardımıyla doldurulmuştur.

Çizelge 5.12 Stacking jel prosedür

Kimyasal	Miktar
%40 Acrylamide / bis,	2 ml
50X TAE	200 µl
Steril su	7.8 ml

30 dakika bekledikten sonra tarak oyuntuları 1XTAE çözeltisi ile şırınga yardımıyla temizlenmiştir. Kuyulara 75 µl örnek ve 15 µl boya (6X yükleme boyası) karıştırılarak yüklenmiştir. DGGE yürütme işlemi öncelikle 60 °C'da 60 voltta 30 dk, ardından 60 °C'da 120 voltta 4 saat olarak uygulanmıştır. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra DGGE jeli 150 ml 1XTAE ve 50 µl SYBR GOLD karışımıyla 30 dakika boyanmıştır. Daha sonra Jel Görüntüleme Sistemi (WiseDoc) kullanılarak görüntüleme işlemi yapılmıştır. Elde edilen bantlar numaralandırılıp tek tek kesilmiştir. Moleküler biyolojik su koyulmuş PCR tüpleri içine, kesilen jeller koyulup ve tekrar PCR yapılarına kadar -20 °C'da saklanmıştır.



Şekil 5.8 DGGE jel yükleme görüntüsü ve DGGE cihazı

5.9.5 DNA Dizi Analizi

Dizi analizinde kullanılacak PCR ürünlerinin saflaştırılması işlemine dayanmaktadır.

5.9.5.1 DGGE Bantlarına PCR Uygulanması

DGGE'den kesilen bantlar 0,2 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine konarak, her birine 20 µL DNA'sız moleküler biyolojik su eklenmiş ve 24 saat 4°C'da inkübe edilmiştir. İnkübe edilen her bir numuneye Çizelge 5.13'de gösterilen ileri – geri primerler kullanılarak PCR2 ile aynı prosedür uygulanmıştır. Dizi analizi öncesi DGGE ürünlerine uygulanacak PCR aşamasında kullanılacak primerler Alpha DNA protokolüne göre hazırlanmıştır.

Çizelge 5.13 Çalışmada son PCR aşamasında kullanılan primerler

Primerler	Sekans
907 R	5'CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3'
357 F	5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'

Protokolden primerlerin koduna göre ne kadar hacimde moleküler biyolojik su ile sulandırılması gerektiğine bakılarak 907R (Reverse primer); 811 µl moleküler biyolojik su ile 357F (Forward primer) ise 451 µl moleküler biyolojik su ile sulandırılmıştır. PCR için diğer gerekli reaktiflere kullanmadan önce spin down yapılmıştır.

Çizelge 5.14 PCR2 için gerekli reaktifler ve miktarları

Reaktifler	Miktar (µl)
357F (ileri primer)	0.12
907R (geri primer)	0.12
dNTPs	0.25
BSA 100X	0.5
Taq DNA polimeraz enzimi	0.05
10X Buffer	2.5
Template DNA	2
dH ₂ O	19.46

Çizelge 5.14'deki karışımdan her bir tüpe 23 µl konulup üzerine 2 µl örneğe ait template DNA eklenerek toplam 25 µl'lik final hacim hazırlanmıştır. Hazırlanan bu örnekler saklanma koşulları sağlanarak gerekli DNA dizilemenin yapılması için, REFGEN Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji merkezine gönderilerek hizmet alımı gerçekleştirilmiştir. Bantlarda yeterli DNA bulunamadığından PCR işlemi tekrarlanmıştır. Reaktiflerin toplam hacmi 100 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Küçük

PCR tüplerine 92 µl master mix'ten ve DGGE'den kesilen bantlardan 8 µl eklenmiştir. BIORAD T100™ PCR Thermal Cyler cihazına hazırlanmış set yerleştirilip ve uygun program (Çizelge 5.7) ayarlanıp cihaz çalıştırılmıştır. 2 saat 40 dakikalık süre sonunda PCR setleri uygun soğutma şartları sağlanarak REFGEN (Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Merkezi)'nden dizi analizleri için hizmet alımı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veri sonuçları A-G-C-T dizin dosyaları biçiminde kopyalanarak, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> internet sitesinde **BLAST** tür teşhis programında değerlendirilip, veri tabanında tanımlanmış olan mevcut türlerin benzerlik derecesi muhtemel farklılıklara göre de raporlanarak tür teşhisi yapılmıştır.

5.9.6 Filogenetik Analiz

Dizi analizi sonrası elde edilen tüm örneklerle ait diziler, Chromas 2.6.2, Unipro UGENE yazılımları kullanılarak sıralanmıştır. 16S rRNA geni baz dizileri elde edilmiş ve BLAST analiziyle tiplendirilmiştir. Sıralanan diziler BLAST programında referans dizilerle karşılaştırılmış olup GenBank veri tabanında kayıtlı erişim numaraları (Çizelge 5.15) belirlenmiştir. Unipro UGENE yazılımı kullanılarak “neighbor-joining” metoduyla filogenetik analizler gerçekleştirilmiş ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Çizelge 5.15 Filogenetik ağaç oluşturmak için kullanılan türlere ait genbank erişim numaraları

Türlere Ait GenBank Erişim Numaraları				
NR_117712.2	NR_125683.1	NR_125686.1	NR_102467.1	NR_102891.1
NR_102460.1	NR_117192.1	NR_125711.1	NR_114680.1	NR_118590.1
NR_102464.1	NR_112176.1	NR_112180.1	NR_074310.1	NR_116034.1
NR_102469.1	NR_074317.1	NR_026510.1	NR_102457.1	NR_112178.1
NR_117028.1	NR_074381.1	NR_042752.1		

BULGULAR VE DEĞERLENDİRME

Tarihi eserlerde kullanılan taşlar genellikle sağlam yapılı ve dayanıklı bir malzeme olmakla birlikte, dayanıklılığı taşın yapısına ve dış ortam koşullarına bağlıdır. Kayaçlar oluşum şekline göre; magmatik, tortul ve metamorf olmak üzere 3 gruba ayrılır. Magmatik kayaçların büyük bir çoğunluğu sert, dayanıklı ve yoğun bir yapıda olduklarından çok iyi birer doğal taş ve agrega malzemesidirler. Ancak çok sert olduklarından dekoratif işleme yapılması zor bir işlemdir. Başkalaşım kayaçları orta derecede dayanıklıdır. Çökel kayaçlar daha az mukavemetli olmasına rağmen Tüfler ve lavlar gaz kabarcıklarından dolayı gözeneklidirler. Bu kayaçlar genellikle düşük mukavemetlidir ancak yumuşak olduklarından dekoratif işleme yapılması kolaydır. Mimar Sinan'ın da çok kullandığı bir çökel taş olan Küfeki taşı (veya İstanbul taşı) taş ocağından ilk çıkarıldığında yumuşak ve rahat işlenebilir bir taş olmasına rağmen bekleyip kuruyunca mukavemeti artmakta ve tarihi yapılarda tercih edilerek kullanılmaktadır [88].

Mikroorganizmalar tarihi önemi olan bina ve anıtlardaki taşlar üzerinde gelişerek çeşitli zararlı etkilere neden olurlar [71]. Bu durum, hem estetik olarak istenmeyen, hem de taşın giderek şekil değiştirmesine, dağılmasına neden olan ve malzemenin ömrünü azaltan bir durumdur. Mikroorganizmaların taşlar üzerindeki gelişmeleri; iklim koşulları ve atmosferik kirlilik gibi çevre faktörleri ile taşın yapısı ve besleyici maddelerin varlığı gibi parametrelere bağlıdır [89]. Fosil yakıtların yanması, otomobiller ve sanayileşmenin oluşturduğu partiküller, kükürdioksitler ve azotoksitler (özellikle NO₂) atmosferdeki konsantrasyonunu arttırmaktadır. Havadaki bu kirleticileri kullanan

kükürt oksitleyici ve nitrifikasyon bakterileri atmosferdeki azot ve kükürt bileşiklerini kullanarak nitrik ve sülfirik asite dönüştürmektedir. Aşındırma derecesi yüksek olan bu asitler taşıdaki karbonatları çözerek taşı parçalamaktadır. Böylece taşların yüzeyinde gözenekler oluşarak zaman içerisinde taşlar estetik değerini kaybetmektedir [10].

İstanbul'daki Beşiktaş ilçesine ait iklim şartları ile kirlilik konsantrasyonlarının değerlendirilmesi neticesinde 2010-2015 yılları arasında en düşük ortalama sıcaklık değeri 6,5°C, en yüksek ortalama sıcaklık değeri ise 26,9°C bulunmuştur (Çizelge 5.1). Sıcaklık değerlerinin azalma gösterdiği aylarda kirlletici konsantrasyonlarının arttığı görülmüştür. Bu durum ise yakıt tüketimine bağlı olarak atmosfere daha fazla kirlleticinin salındığının göstergesidir. Aynı zamanda sıcaklıkla-rüzgar hızı arasında negatif bir ilişki vardır. Sıcaklık arttığında rüzgar hızında azalmalar görülmüştür. Rüzgar hızının en düşük olduğu ay 3,3 m/s ortalama değeriyle Mayıs, en yüksek görüldüğü ay ise 4,5 m/s ortalama değerle Ocak ayıdır. Rüzgar hızının düşmesiyle orada bulunan kirlleticilerin dağılımı etkilenmekte ve kirlletici yoğunluğu artmaktadır. Nem ile kükürtdioksit arasında ise ters bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Kış mevsiminde sıcaklık düşmekte buna bağlı olarak kirlleticilerden SO₂ miktarında artış meydana gelmiştir. Beşiktaş ilçesi için diğer aylarla karşılaştırıldığında en yağışlı ay 122,7 mm olarak Aralık, en kurak ay ise 32,5 mm olarak Temmuz ayında görülmüştür. Yağış kirlleticilerin atmosferden yıkanıp temizlenmesine katkı sağladığından buna bağlı olarak kirlletici miktarlarında azalma olmuştur. SO₂ konsantrasyonu 4,2 µg/m³, PM 41,5 µg/m³, NO_x ise 149,3 µg/m³ olarak bulunduğundan klasik kültürel ekim yöntemiyle analizi gerçekleştirilen taş örneklerin temmuz ayındaki koloni sayımlarında atmosferdeki kirlletici miktarındaki azalmanın etkisiyle birey sayısı az bulunmuştur.

Beşiktaş ilçesinde, kışın nem yüzdesi diğer aylarla karşılaştırıldığında yüksek gözlenmekle birlikte bu durumun taş malzemelerin nemli kalmasına yol açması taş yüzey ve gözeneklerinde hem hava kirlleticilerinin hem de mikroorganizmaların yerleşmesine uygun bir ortam sağladığı tespit edilmiştir. Bu nedenle mikroorganizma tür sayısının soğuk aylarda az, birey sayısının fazla olduğu, bunun aksine yaz aylarında tür sayısının fazla, birey sayısının az olduğu bulunmuştur. Gelişme gösteren mikroorganizmalar salgıladıkları enzimlerle ve diğer metabolik aktiviteleri aktive etmesiyle taşların zaman içinde bozunmasına neden olmuştur.

Bir taş malzemenin biyolojik bozunmasının incelenmesi, gerçekte tek başına ele alınabilecek bir konu değildir. Bu olay daima birbiriyle sıkı sıkıya ilişkili fiziksel, kimyasal ve fiziko - kimyasal bozunma işlemleri ile birlikte düşünülmelidir. Tarihi binalardaki taş yüzeylerinde biyolojik bozunmaya neden olan mikroorganizmalar olarak bakteriler, aktinomisetler, algler, mantarlar ve likenler sayılabilir [90].

Tarihi eserlerdeki taşlarda bulunan minerallerin çözünmesi yüzlerce hatta binlerce yıldır devam eden bir proses olup özellikle son 30 yılda üzerine eğinilen bir konudur. Biodeterioration (biyolojik bozunma) olarak adlandırılan bu proseste mikroorganizmalar taşların yüzeyi ve gözeneklerinde yaşayarak taşlarda bozunmaya neden olur. Mikroorganizmaların taşlardaki bozunmaya neden olan birçok fonksiyonundan önemlileri olarak; asidoliz (bir asit reaksiyonu ile parçalanma), kompleksasyon (oluşturulan kompleks moleküllerin iyonlara ayrışması yoluyla katyonların parçalanması), taş yüzeyindeki katyonların oksidasyonu olarak sayılabilir.

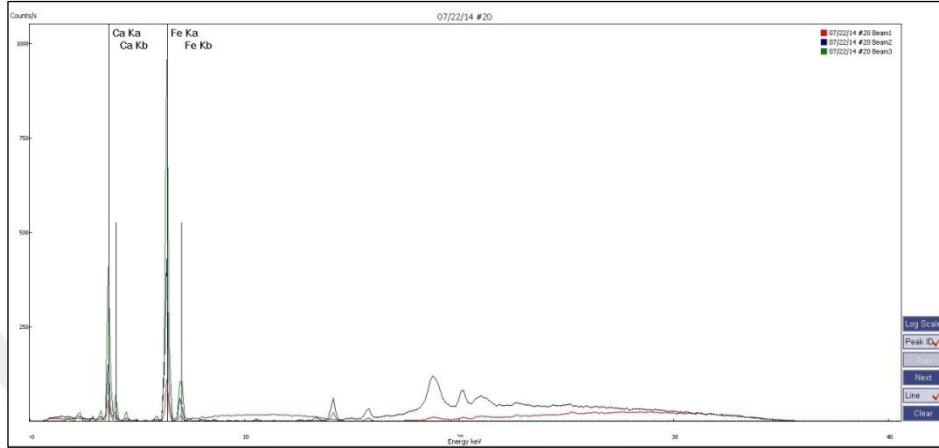
Bu çalışmada; İstanbul'da özellikle Y.T.Ü. Yıldız kampüsü ve çevresinde bulunan Şehzade Köşkü, Çukur Saray, Hamidiye Camii, Yıldız Sarayı-Çit Kasrı, Ertuğrul Tekke Camii ve Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi eserlerindeki taş malzemenin bozunmasında etkin rol oynayan mikroorganizma türleri belirlenerek mikrobiyolojik olarak bozunmaya katkıları araştırılmıştır.

Y.T.Ü. Yıldız kampüsü ve çevresinde bulunan tarihi eserlerdeki taşların mikrobiyolojik bozunmasının araştırıldığı bu çalışma başlıca 6 başlık altında yürütülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

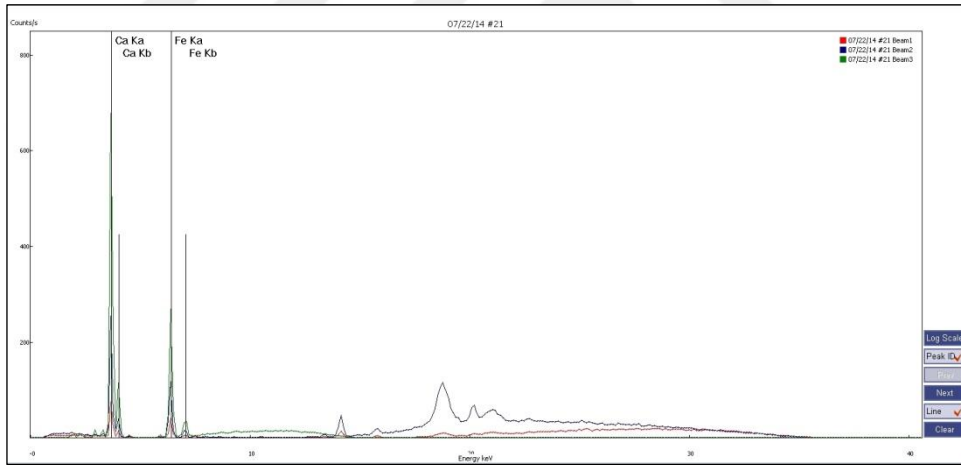
6.1 XRF Çalışma Sonuçları: Kullanılan Taşların Bileşimi ve Mikroorganizma Gelişmesine Etkisi

Tarihi eserlerdeki taşların sertliği ve gözenekliliğinin yanı sıra taşın minerolojik bileşimi de önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Taş üzerinde yaşayan organizmalar salgıladıkları enzimlerle taşlarda bulunan mineral ve elementleri çözerek yapılarına almakta ve metabolizmalarında kullanmaktadır. Bu nedenle taşların minerolojik yapısı mikroorganizmaların gelişmesi üzerinde etkili faktörlerden birisidir. Bu etkileşimi ortaya çıkarabilmek için araştırmamızda incelediğimiz taşların elementel bileşimi

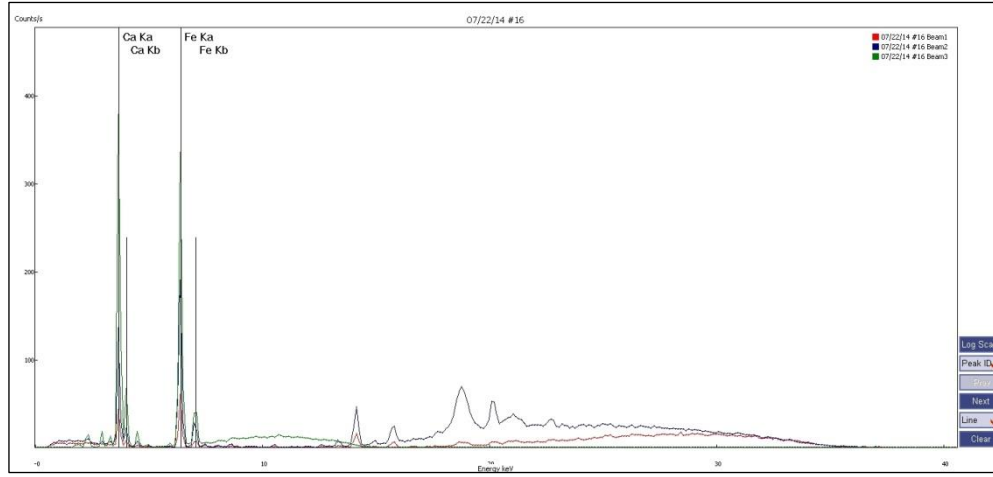
araştırılmıştır. Bu araştırmada X-ışınları Floresans (XRF) spektroskopisi yöntemi kullanılmıştır. XRF yöntemi materyallerin elementel kompozisyonun belirlenmesinde kullanılan en hassas yöntemlerden biridir. Araştırma alanlarındaki taşların elementel yapısını gösteren XRF spektrumları sırasıyla Şekil 6.1-Şekil 6.5’de, örneklere ait deneme alanları Çizelge 6.1 ve XRF sonuçları Çizelge 6.2’de verilmiştir.



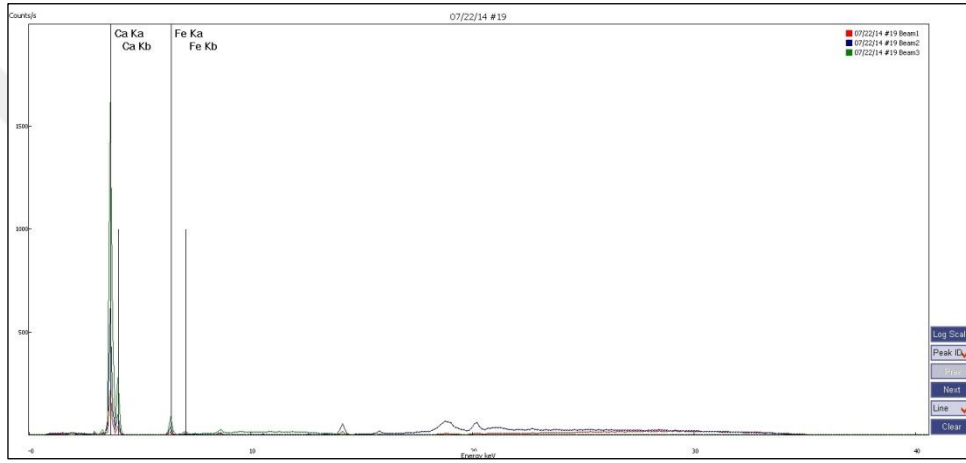
Şekil 6.1 Şehzade Köşkü XRF spektrumu



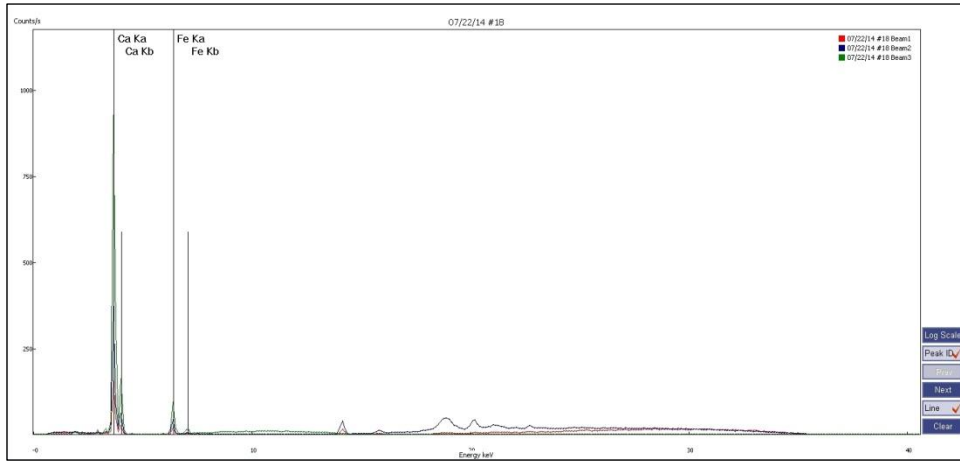
Şekil 6.2 Çukur Saray XRF spektrumu



Şekil 6.3 Ertuğrul Tekke Camii XRF spektrumu



Şekil 6.4 Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi XRF spektrumu



Şekil 6.5 Çit Kasrı XRF spektrumu

Çizelge 6.1 2014 Haziran ayı çalışmasında incelenen örnekleme alanları

Örnek No	Araştırma alanı	Yükseklik (m)	Simgeler
1	Çukur Saray	0.5	ÇS1
2	Çukur Saray	2	ÇS2
3	Şehzade Köşkü	0.5	ŞK1
4	Şehzade Köşkü	2	ŞK2
5	Ertuğrul Tekke Camii	0.5	ETC1
6	Ertuğrul Tekke Camii	2	ETC2
7	Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi	0.5	ŞMZT1
8	Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi	2	ŞMZT2
9	Çit Kasrı	0.5	ÇK1
10	Çit Kasrı	2	ÇK2

Günümüzde bilinen 118 elementin 92 tanesi doğada bulunur ve bu elementlerden 26-33 tanesi insan, hayvan ve bitki ve mikroorganizmaların metabolizmasında kullanılır. Bunlar; C, H, O (temel bileşenler), N, P, K, S, Ca, Mg, Na, Cl, (makro Elementler), Fe, Mn, Cu, Zn, Ni, Co, Se, Cr, I, F, Sn, Si, As, Bo, Mo, V (mikro elementler) olarak sıralanabilir. Mikroorganizmalar bu elementlerden (karbon, oksijen, hidrojen, nitrojen, sülfür, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve demir) bazılarını çok yoğun olarak kullanırlar. Aynı zamanda bunlara gereksinim duyduklarından bulundukları ortamdan da fazla miktarlarda alırlar. Mikroorganizmaların daha az ihtiyaç duydukları maddeler arasında manganez (Mn), çinko (Zn), kobalt (Co), nikel (Ni), molibden (Mo) ve bakır (Cu) mikro elementlerdir. Ortamlarda çok az bulunan ve hücreler tarafından da çok az miktarda ihtiyaç duyulan böyle elementler, iz elementleri olarak tanımlanmaktadırlar [1], [3], [4], [5].

Taş yüzeyinde yaşayan mikroorganizmaların taşlarda bulunan elementler ile ilişkisini açıklayabilmek için araştırma alanlarından alınan taş örnekleri XRF (X-Işını Floresans Spektrometresi) analizi yapılmış ve bu elementlerin taşlarda bulunma oranları tespit edilmiştir. İncelenen örneklerin alındığı yükseklikler Çizelge 6.1’de, yapılan XRF analiz

sonuçları Çizelge 6.2’de verilmiştir. Çizelgeler incelendiğinde tarihi yapılardaki taşlarda Ca, K, Fe, Ti, Sr, Ni, Ba, Mn, Sn, Pb, W, Zr, Cu, Rb, Se, S, Bi, As, Co, Cl, Zn, V, Cr, P elementlerinin olduğu tespit edilmiştir. Bu tespitler sonucunda incelenen her araştırma alanlarına ait taş numunelerinde Ca, Fe, K, Ti, Sr, Ba, Mn, Pb, Zr ve Rb elementleri bulunarak bu elementlerin mikroorganizmal metabolizmada görev aldığı ve mikroorganizmaların taş yüzeyinde gelişmesine katkı sağladığı tespit edilmiştir.

Çit Kasrı’nda yapılan analizlerde Sn (Kalay) oranının diğer örneklerle karşılaştırıldığında yüksek olduğu bulunmuştur. Kalay’ın varlığı numunenin alındığı ortamda korozyon faaliyetinin olduğunu göstermektedir. Çukur Saray ve Şehzade Köşkü’nün 0.5 m yüksekliğinde, Ertuğrul Tekke Camii, Şehzade Köşkü, Şeyh Muhammed Zafiri Türbe’sinin 2.0 m yüksekliğinden alınan örneklerde Sn elementine rastlanmamıştır.

Kalsiyum klorür (CaCl_2), sodyum klorür, potasyum klorür gibi maddeler kaya içinde yer alıyorsa su etkisiyle zaman içerisinde eriyerek kayaç içerisinde boşluklar oluşmasına neden olurlar. Bunun dışında boşluklu ve gözenekli kayaçların içerisine girip bu boşlukları dolduran kalsiyum sülfat (CaSO_4) su ile reaksiyona girdiği zaman şişer boşlukların çeperlerine basınç yapar. Bunun sonucu önce ince kılcal çatlaklar daha sonra bunların genişleyip kayaçtan parça kopmaları görülür [91], [92]. 1 ve 3 numaralı taş örneklerde klor, potasyum ve kalsiyum bulunması halinde aktif bir bozunma olduğu, klor olmadığı durumlarda ise pasif bozunmalar olduğundan bahsedebiliriz. 3 numaralı örnek olan Şehzade Köşkü’ne ait 0.5 m yükseklikten alınan taşlarda Pb değeri diğer taşlardan daha yüksektir. Pb malzemenin yumuşak ve esnek olmasını sağlar.

Çizelge 6.2 Tarihi eserlerdeki taşların XRF analiz sonuçları

Elementler ve PPM Değerleri																								
Örnek No	Ca	K	Fe	Ti	Sr	Ni	Ba	Mn	Sn	Pb	W	Zr	Cu	Rb	Se	S	Bi	As	Co	Cl	Zn	V	Cr	P
1	>10%	9984	5692	1068	183	-	113	167	-	19.9	-	32.6	-	22.5	-	5.60 %	15	6.5	5.1	549	28	-	-	-
3	>10%	7173	8172	1459	123	-	103	234	-	95	-	31.9	-	10.3	-	5.01 %	14	9.9	9.6	4690	61	-	14	-
4	>10%	1.45 %	1.94 %	3227	263	-	303	450	-	39.4	-	70	51	40.5	3.0	>10%	33	10.1	19.7	-	56	186	62	8826
6	>10%	9358	1.60 %	3675	325	-	199	168	-	55	-	108	26	54.1	-	>10%	-	5.8	18.4	-	92	200	27	-
8	>10%	1.55 %	3009	485	319	-	54	88	-	69	-	36	12	15.7	-	3.69 %	-	9.1	-	-	361	177	-	-
9	>10%	1.68 %	4583	704	380	102	100	86	51	30	20	20	20	12.8	3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Kemoliototrof mikroorganizmalar taştaki inorganik maddeleri okside ederek elde ettikleri enerji ile metabolizmalarını yürütmektedir. Katı minerallerdeki metallerde bulunan demir ve mangan gibi mineraller mikroorganizmalara solunum için elektron sağlayıcısı olarak görev yaparlar. Bu mekanizma taş yüzeyindeki anoksik zondaki azot, kükürt ve karbon devri gibi biyogeokimyasal dolaşımları destekler. *Pseudomonas*, *basillus*, *argobakter* gibi bakteriler mangan ve organik karbonu oksitleyerek anoksik ortamda mangan(IV) redüksiyona uğratarak (indirgeyerek) karbon fiksasyonuna katkıda bulunur. Katı mineraller aynı zamanda kobalt, nikel ve demir gibi mikronütrientlerin kaynağıdır. Kobalt, metil transferaz mekanizmasının önemli bir ko-faktörü olup metanogenik mikroorganizmaların önemli bir hidrojen (hydrogenases aktiviti) sağlayıcısıdır. Demir ise cytochromes, nitrogenases ve monooxygenases gibi metalo enzimlerin makronütrientlerinin önemli bileşinidir (keycomponents). Bu yollarla mikroorganizmalar taş yüzeyinde önemli mineralleri temin ederler. Aynı zamanda organik asit, karboksilik asitler ve siyanitler gibi mikrobiyal metabolitler taş yüzeyinde minerallerin çözünmesini sağlarlar [10], [93]. Böylece taş yüzeyinde “bio-pitting” olarak adlandırılan ve siyah mantarlar tarafından oluşturulan bozunmalara neden olur. Bu bozunmalar özellikle mermer ve kireçtaşı (limestone) çok yoğun olarak görülür. *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.* ve *Phoma sp.* bu bozunmalara neden olan en önemli mantar cinsleri olarak cinsleri gösterilir [94]. Mantarlar biyosferdeki canlı organizmaların büyümesi için gerekli olan nütrientler (C,N,P) ve metallerin (Na, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Co ve Ni) biyogeokimyasal dönüşümünde de temel bir rol oynamaktadır. Gerekli olmayan metallerin (Cs, Al, Cd ve Pb) harekete geçirilmesi ve immobilizasyonu (sabitleştirme) için de tamamlayıcı bir rol oynarlar [35], [95], [96].

Çözünen taştaki fosfat, sülfat, iz elementler ve metabolitler taş yüzeyinde yaşayan mikrobiyal topluluğun (consortia) önemli besin maddeleridir. Bu maddeleri kullanan mantarlar yüksek aşındırıcı özellikte inorganik ve organik asitlerle çözücüler (chelating) üreterek taşın parçalanmasına neden olur [10].

Taşın yapısında %3 den fazla CaCO_3 bulunması durumunda bakteriler ve diğer mikroorganizmalar taş yüzeyinde yaygın olarak gelişerek yaşama imkanı bulurlar [1]. Bu anlamda kireçtaşı, mermer, kumtaşı, kireç harçları bakteriler, likenler ve mantarlar için çok uygun ortamlardır. Aynı zamanda feldspar, kil ve demir mineralleri içeren

taşlar içerdikleri nütrientlerden dolayı birçok mikroorganizma grubu için ideal yaşam ortamlarıdır. Bunun yanında tarihi eserlerde kullanılan kireç bileşenli yapıştırma harcı da mikroorganizmalar için ideal üreme alanıdır. Hidrojen ve karbonu enerji kaynağı olarak kullanan kemootrofik bakteriler kompleks aşındırıcı organik asitler üreterek demir ve mangan minerallerini okside etmektedir. Bakteriler kireçtaşlarında $(Ca(NO_3))_2$ kalsiyum nitrat oluşmasında rol almaktadır [48].

Eriyebilir tuz ve asılı maddeler de taş yüzeyinde siyah kabuk oluşturmaktadır [48]. Siyah kabuk Ca, Si ve C bakımından zengindir [97]. Taşın gözenğinde biriken tuzların (NaCl) konsantrasyonu taşın su emme kapasitesini artırır. Tuz konsantrasyonu koyu renkli taşlarda çiçeklenme şeklinde görülmektedir [48].

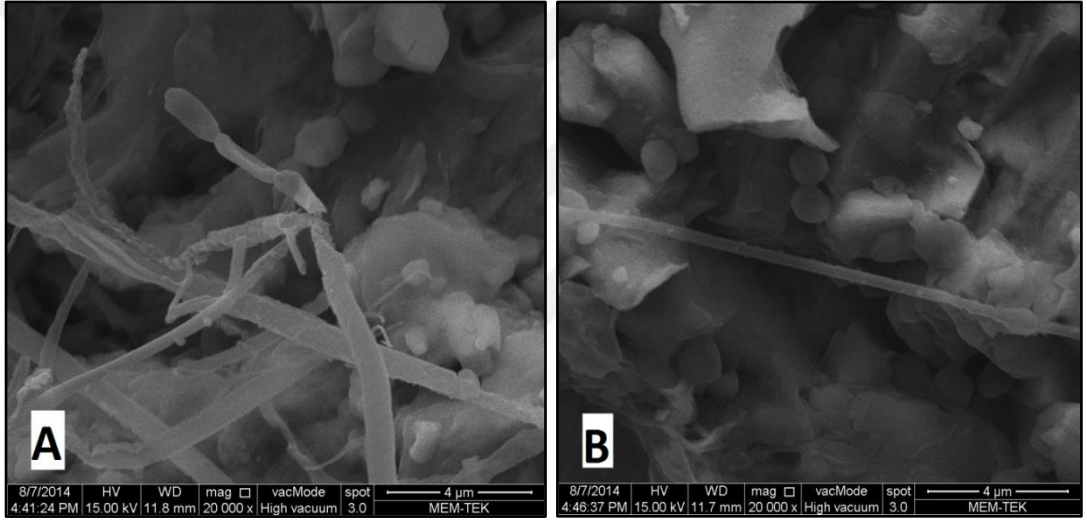
6.2 Sem Çalışma Sonuçları ve Kullanılan Taşların Gözenekliliği ve Mikroorganizma Gelişmesine Etkisi

Mikroorganizmaların taş malzemeyi biyolojik olarak bozması taşın sertliği, gözenekliliği ve minerolojik yapısıyla ilgilidir. Gözenekli ve yumuşak taş malzeme işlenerek tarihi yapılarda kolay kullanılabilmesine rağmen tez bozunma özelliğine sahiptir. Bu araştırmada taşın sertliği, gözenekliliği ve minerolojik yapısını belirlemek için SEM ve XRF çalışmaları yapılmıştır. SEM çalışmaları sonucunda elde edilen görüntülerden bazıları aşağıda sunulmuştur. Bu çalışmalar taş malzeme üzerinde bozunma tespiti ve bozunmaların mikroorganizmalarla olan yapısal ilişkilerini görsel olarak incelenme imkanı sağlamıştır.

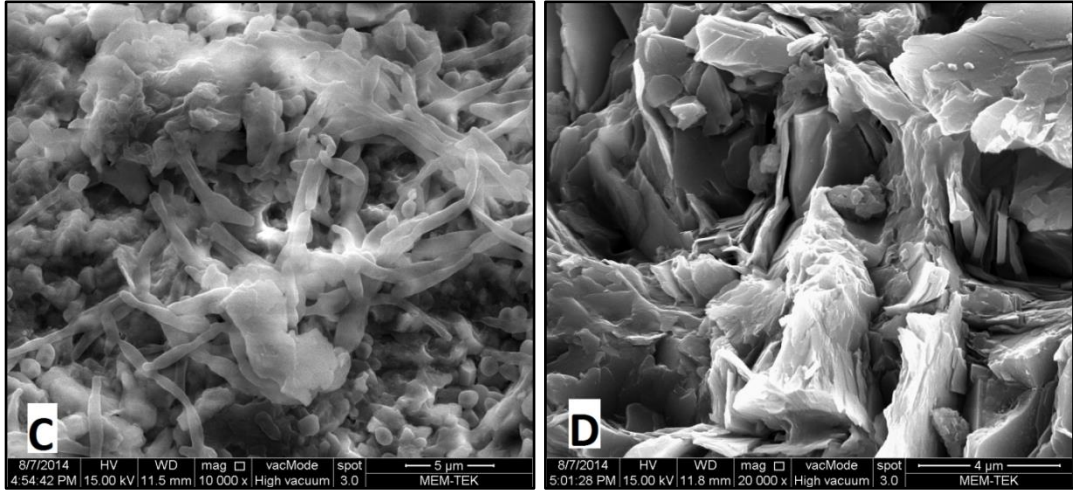
Taramalı elektron mikroskop fotoğrafları incelendiğinde, tarihi eserlerdeki biyolojik bozulma taşların yüzeylerinde açık olarak görülmektedir. Şekil (6.6-6.7) incelendiğinde Çit Kasrı ve Ertuğrul Tekke Camiindeki kayaçların gözenekli olduğu ve mikroorganizmaların yerleşmesine uygun ortam oluşturduğu görülmektedir. Şekil 6.2A ve 2B, Şekil 6.3 C ve 3D'de taş yüzeyinde *Penicillum sp.* ve *Micromycetes* grubu mantarına ait hif ve spor keselerinin yaygın olduğu görülmektedir. Özellikle *Basidiospor*, *Askospor* ve *Penicillum sporları* yaygın olarak görülmektedir. D şikkında ise *Micromycetes* grubuna ait mantarların taş yüzeyinde bulunduğu görülmektedir. Özellikle A, B ve C'de oluşan spor ve mikro mantarların taş gözeneklerinin içine doğru

girerek geliştiği görülmektedir. Mikroorganizmaların bu gelişmesinin taşın bozunmasına katkı yaptığı düşünülmektedir.

SEM görüntüleri incelendiğinde Şekil 6.6A ve B, Şekil 6.9G ve Şekil 6.8E görüntülerinde mikrobiyal biyofilm net olarak görülmektedir. Taş yüzeyinde oluşan mikrobiyal biyofilmde gelişen mikroorganizmalar taş yapısında bulunan mineralleri enzimatik-kimyasal yolla çözerek taşı parçaladığı gibi diğer taraftan taş yüzeyindeki bu mikrobiyal tabaka; taşın dış ortam ile temasını kestiği için taşın parçalanmasını engellemektedir. Bu iki karşıt tezin hangisinin ağır bastığı günümüzde tartışılmaktadır. Ancak baskın görüş taş yüzeyinde oluşan mikrobiyal biyofilmin taşı parçalama etkisinin daha fazla olduğu yönündedir.

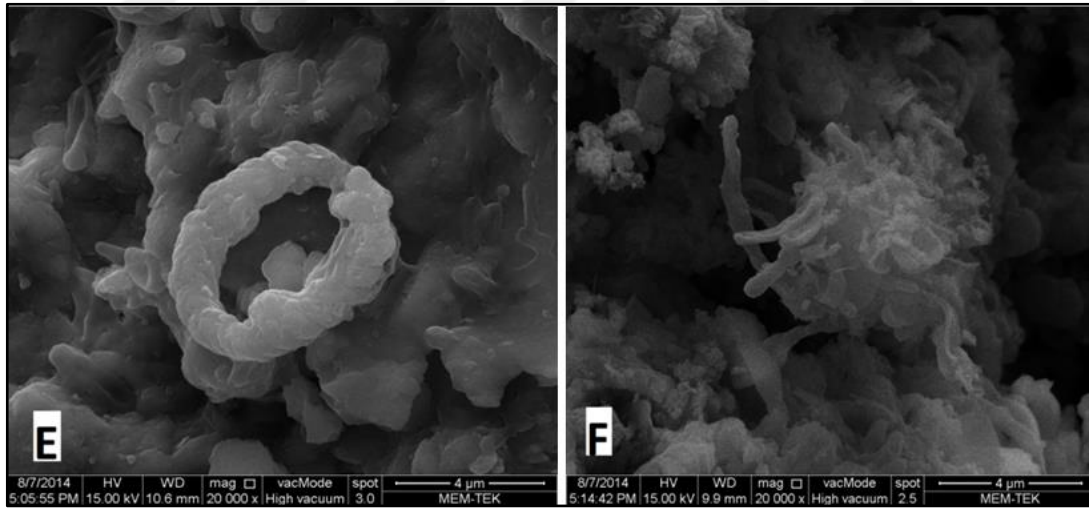


Şekil 6.6 A) Çit Kasrı'na ait 2m yükseklikten alınan örneğin SEM analizi, B) Çit Kasrı'na ait 0.5m yükseklikten alınan örneğe ait SEM analizi. Her iki örnekte de *Penicillium sp.* hifleri, mikrobiyal biyofilm, askospor ve basidiosporlar görülmektedir.



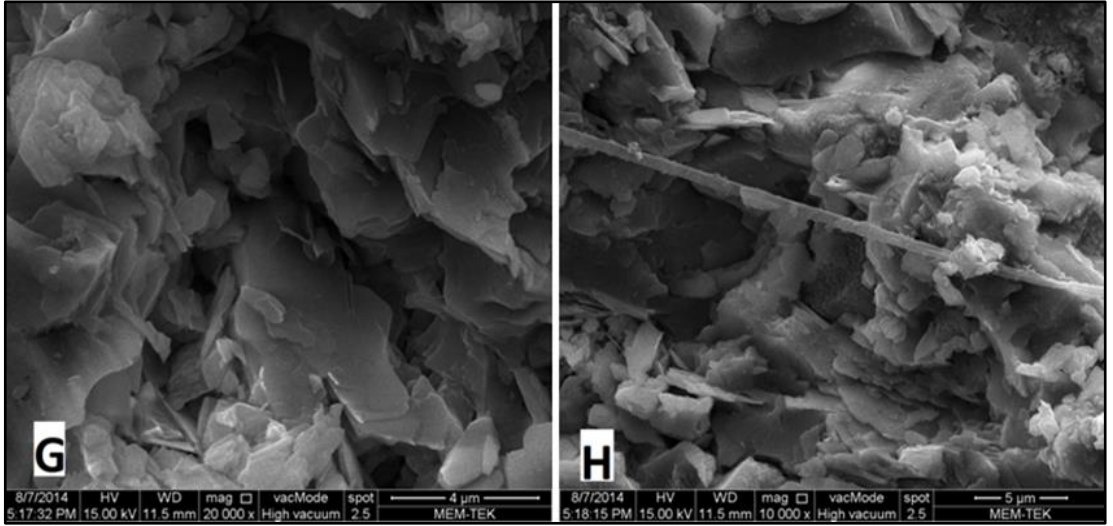
Şekil 6.7 C) Çit Kasrı'nın Sol cephesine ait örneğin SEM görüntüsü, D) Ertuğrul Tekke Camii 2m yükseklikten alınan örneğe ait SEM görüntüsü.

C örneğinde *Penicillium sp.* hifleri, mikrobiyal biyofilm, askospor ve basidiosporlar görülmektedir. Özellikle “mikrobiyal konsortia” adı verilen ortak yaşam şekline örnektir. D örneği yeni parçalanmış taşın kırılma halindeki gözenek oluşumuna örnektir, ancak kırılmadan önce büyük gözeneklerdeki vegetatif mantar kısımları görülmektedir.

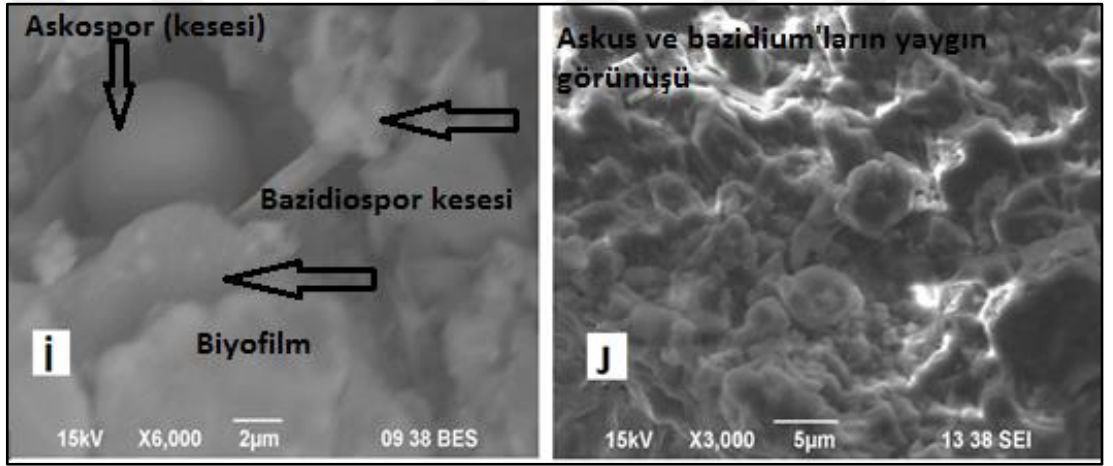


Şekil 6.8 E) Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi 2m yüksekliğine ait örneğin SEM görüntüsü, F) Çukur Saray 2m yükseklikten alınan örneğe ait SEM görüntüsü.

E örneğinde dikkat çeken en önemli özellik taş yüzeyinde oluşan mikrobiyal biyofilmin baskınlığıdır. Biyofilmin içerisinde özellikle bakteriler olmak üzere yerleşmiş mikroorganizmalar vardır. F örneğinde *Penicillium sp.* hifleri, askospor ve basidiosporlar görülmektedir. Özellikle “microbial konsortia” adı verilen ortak yaşam şekline örnektir.

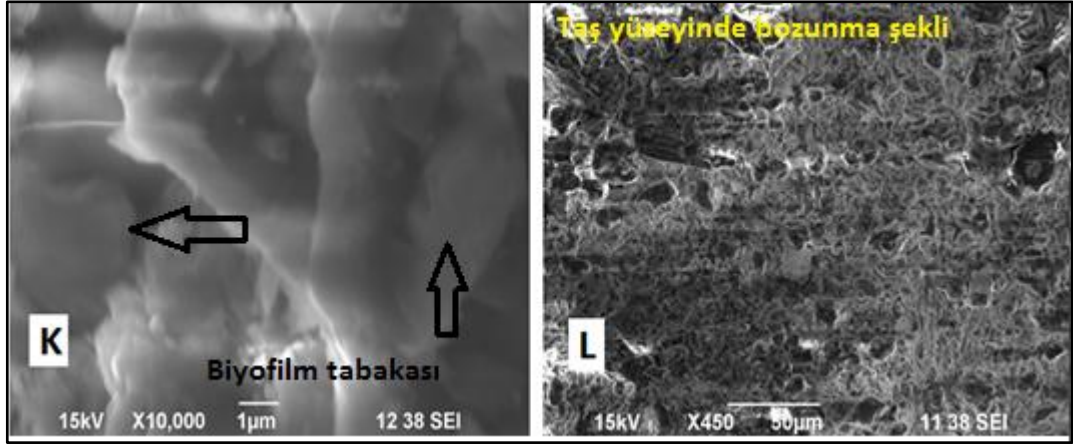


Şekil 6.9 G-H) Şehzade Köşkü 2m yüksekliğine ait örneklerin SEM görüntüsü.



Şekil 6.10 i) Çit Kasrı'ndan (2m) alınan örneğin SEM görüntüsü, j) Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi'nden alınan (2m) örneğin SEM görüntüsü.

İ. Taş yüzeyinde Askospor (ascospore) ve çubuk şeklinde basidiospor oluşumu görülmektedir. J. Mikromantar (micromycetes) ve mikroorganizmaların yaygın görünümü ve biyofilm tabakası.



Şekil 6.11 K) Çukur Saray (2m) duvar yüzeyinden alınan örneğin SEM görüntüsü, L) Ertuğrul Tekke Camii (2m) duvar yüzeyinden alınan örneğin SEM görüntüsü.

K örneği mikrobiyal biyofilm oluşumunu, L örneği taş yüzeyinde oluşan bozunma görülmektedir.

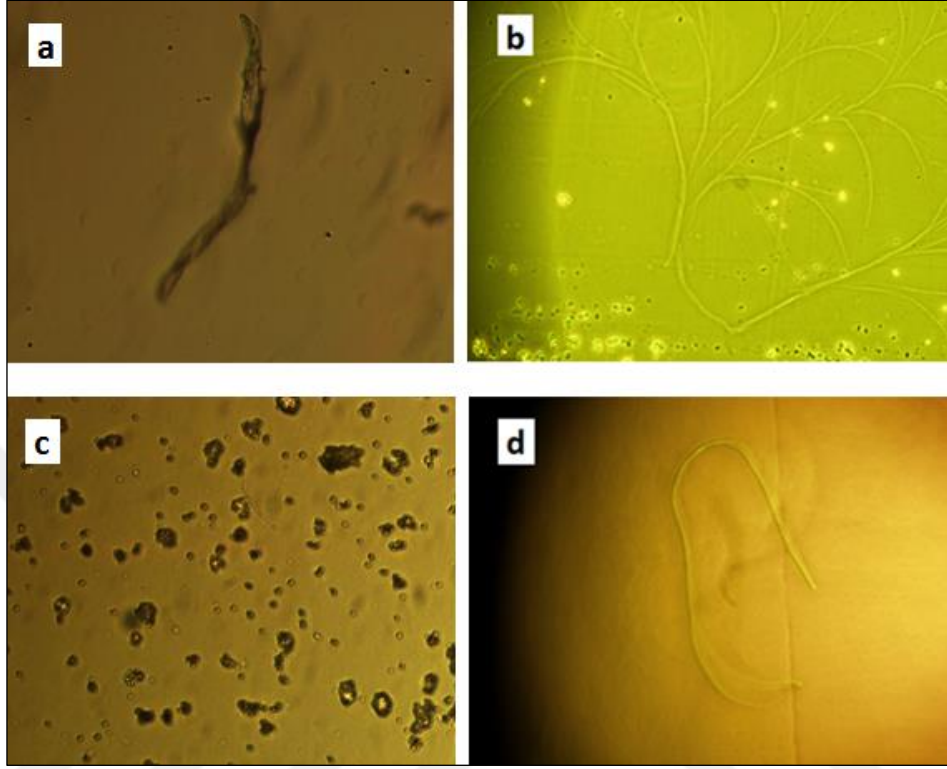
6.3 Mikroskopta İnceleme Sonuçları

Mikroskobik incelemeler OLYMPUS BX51 model flouresans mikroskobu ile yapılmış farklı ışık spektumları ve ışık şiddetleri ile alınan 400x büyütme oranlarındaki görüntüler incelenerek bilgisayara kaydedilmiş ve değerlendirilmiştir. Bu görüntüler Şekil 6.12 - 6.15’de verilmiştir.

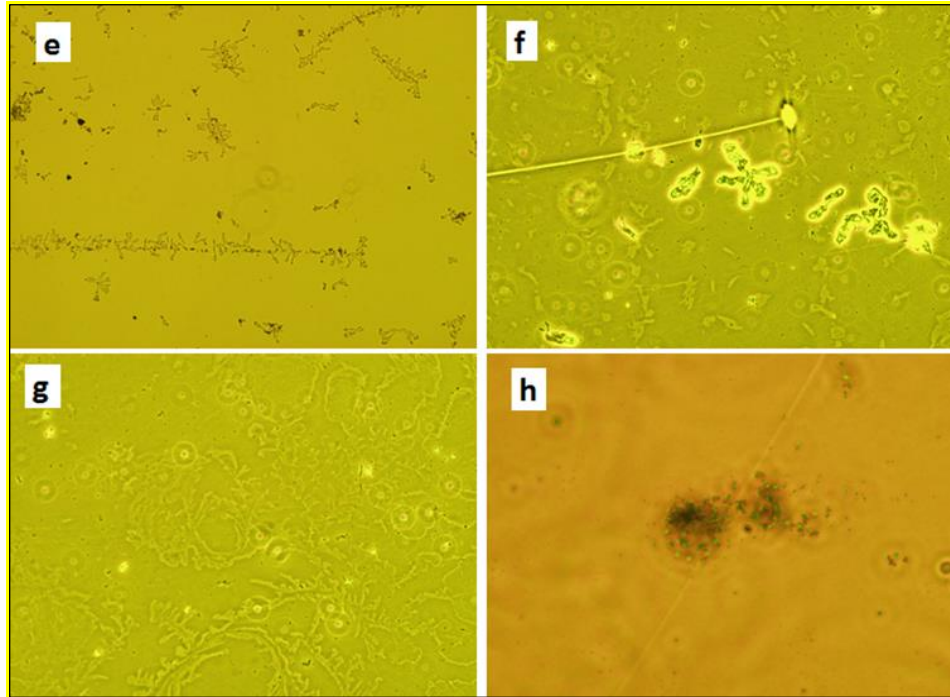
Şekiller incelendiğinde mikroskobik görüntülerde tek hücreli ve filamentli (ipliksi) mavi yeşil algler, mantarlar ve likenlerin olduğu görülmektedir. Mikroskobik görüntülerden tür tespit etmek zor olmasına rağmen Şekil 6.12 a’da liken, b’de filamentli mavi-yeşil alg (*Oscillatoria* veya *Nostoc* Sp), c’de *Chroococcidiopsis*, d’de *Chitinophaga* veya *Oscillatoria*, Şekil 6.13 e ve g görüntülerinde filamentli mavi-yeşil alg, f görüntülerinde koloni halinde silisli alg ve h görüntülerinde dağıldığı düşünülen spor keseleri görülmektedir.

(Şekil 6.14) ı, i, j ve k görüntülerinde tek hücreli ve koloni halinde yaşayan mavi-yeşil alglere, özellikle j görüntüsünde içerdiği silis görüntüsüyle ışık kırınımına neden olan algin mevcut olduğu görülmektedir.

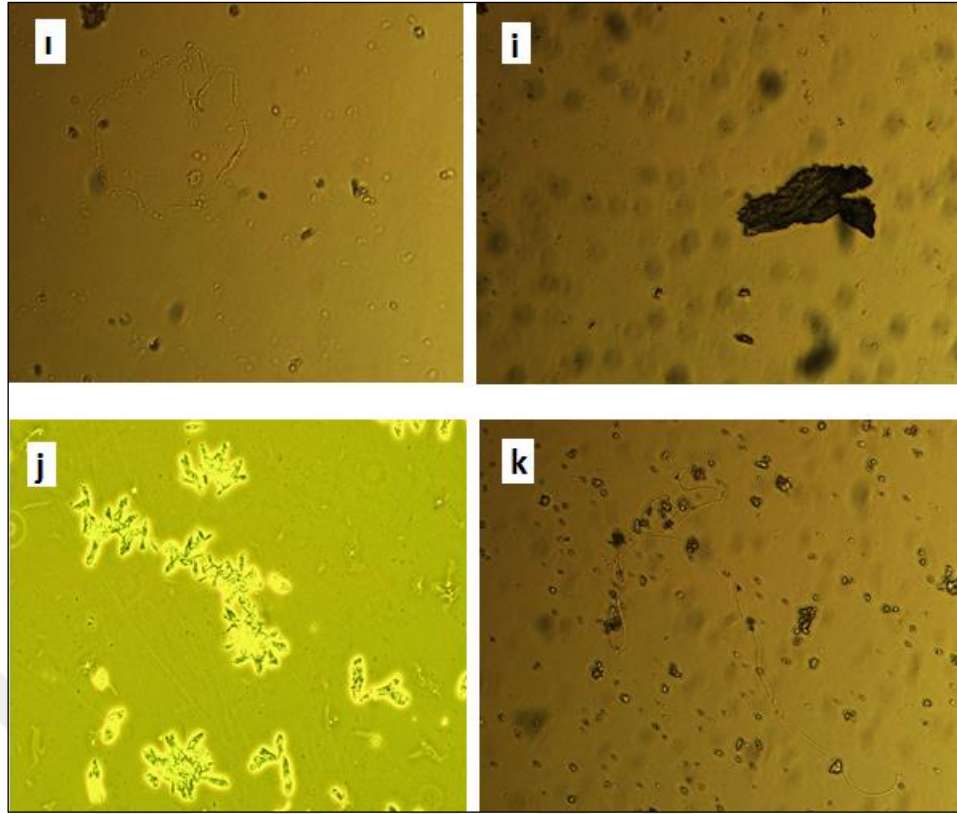
Şekil 6.15 l, m, n ve o görüntülerinde *Chlorogloeopsis sp.*, *Gloeocapsa sp.* cinslerine ait mavi-yeşil alglerin olduğu görülmektedir. Ancak net tür teşhisleri ancak DGGE yöntemi ile verilebilir.



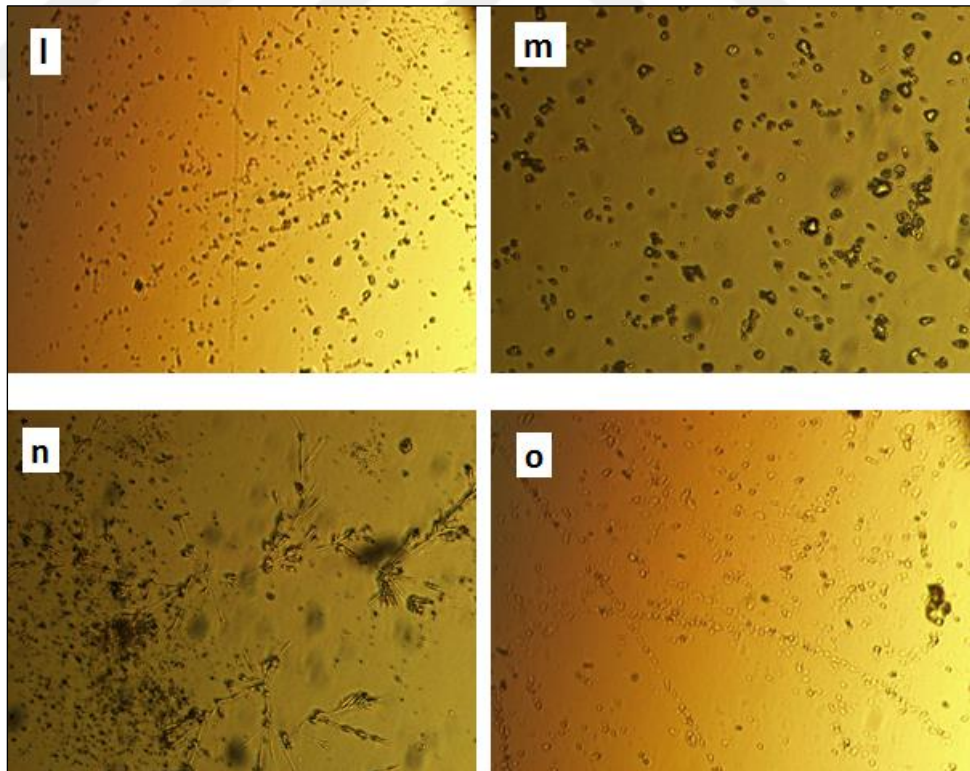
Şekil 6.12 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri



Şekil 6.13 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri



Şekil 6.14 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri



Şekil 6.15 Araştırma alanlarında oluşan mikroorganizmaların mikroskop görüntüleri

6.4 Besiyeri Çalışmaları: Taşların Yüzeyinde Bulunan Mikroorganizmaların Tespiti

Bu çalışmadaki amaç, tarihi eserlerde kullanılan taş malzemelerde oluşan bozunmalarda etkin olabilecek mikroorganizmaları belirleyip, taş malzeme üzerindeki biyolojik bozulmaya katkılarını araştırmaktır. Çalışmanın ilk aşamasında özellikle; taşların biyolojik bozunmasında rol oynayan mikroorganizma türlerinin tespiti üzerinde durulmaktadır. Bir sonraki aşamasında ise, PCR yöntemi kullanılarak mikroorganizmaların (bakterilerin) tür tayini üzerinde çalışmaların gerçekleştirilmesi söz konusudur.

İstanbul'daki Yıldız Teknik Üniversitesi Kampüsü ve çevresinde bulunan tarihi eserlerdeki taş yüzeylerinde bulunmakta olan mikroorganizmaları tespit etmek için yapılan bu araştırmada, 2013 yılından itibaren Şubat, Mart, Mayıs-Haziran ve Temmuz, Kasım-Aralık aylarında Yıldız Sarayı (Büyük Mabeyn), Hamidiye Camii, Çukur Saray, Şehzade Köşkü, Ertuğrul Tekke Camii, Çit Kasrı ve Şeyh Muhammed Türbesinden alınan taş örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler ile örneklerin çoğunda bakteriler, aktinomisetler ve mantarların taşın 1 gramındaki sayıları, türleri ve taş yüzeyindeki kolonizasyon şekilleri tespit edilmiştir.

6.4.1 Taşların Yüzeyinde Tespit Edilen Mikroorganizma Sayıları

Yapılan besiyeri çalışmalarında taşlarda mevcut mikroorganizmalardan bakteri ve aktinomisetler ile mantarların tür ve sayılarını tespit edecek besiyerleri kullanılmıştır. Bu çalışmalarla, 2013 Şubat ayında tarihi eserlerde tespit edilen bakteri ve mantarların taşların 1 gramında bulunan sayıları Çizelge 6.3'de verilmiştir. Toplam mikroorganizma sayısı olarak bakteri besiyerlerinde en fazla üreme görülen SPCA besiyerinde oluşan koloniler ile mantar besiyerlerinde en fazla üreme görülen MEA besiyerindeki kolonilerin toplamı alınmıştır.

Çizelge 6.3 2013 Şubat ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)

Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1	
DRBC	808	606	13736	3333	5050	1111	1919	Mantar

Çizelge 6.3 2013 Şubat ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği) (devamı)

Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1	
SDA	505	505	17271	2525	4949	505	1212	Mantar
MEA	505	303	29997	5151	5151	707	4646	Mantar
DCPA	2222	404	12928	3434	4242	12928	1818	Bakteri
SPCA	25630	40265	126520	54234	60852	36780	52640	Bakteri
TOPLAM	26135	40568	156517	59385	66003	37487	57286	
Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2	
DRBC	1302	10908	606	-	-	-	-	Mantar
SDA	705	9999	1313	-	-	-	-	Mantar
MEA	4330	15554	5151	-	-	-	-	Mantar
DCPA	1080	6161	1212	-	-	-	-	Bakteri
SPCA	6420	26580	12500	92700	65980	31650	22340	Bakteri
TOPLAM	10750	42134	17651	92700	65980	31650	22340	

- : Örnek alınmamıştır.

2013 Mart ayında tarihi eserlerde tespit edilen bakteri ve mantarların taşların 1 gramında bulunan sayıları Çizelge 6.4'de verilmiştir. Bu çalışmada optimum gelişme sıcaklığını tespit etmek için 4, 20, 30 ve 35 °C'da ekimler yapılmış ve inkübasyon sonucunda en iyi (optimum) üremenin 20 °C'da olduğu bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalar Y.T.Ü. Yıldız kampüsü ve çevresi için optimum gelişme sıcaklığı olan 20 °C'da yürütülmüştür.

2013 Mart ayında 0.5 m ve 2.0 m yüksekliğinden alınmış olan deneme alanlarındaki taş örneklerde kültürel ekim sonucu oluşan koloniler incelendiğinde küf kolonilerinde geniş bir renk açılımı spektrumuna rastlanmıştır. Bir fungus türü farklı besiyerinde farklı renkte koloni oluşturmuştur.

Çizelge 6.4 2013 Mart ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)

Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	ÇS1	ÇS2	ŞK1	ŞK2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1	
DRBC	1212	1212	6161	10201	29088	1515	4949	Mantar
SDA	909	505	2424	10504	30704	5252	1313	Mantar
MEA	2020	707	4141	14544	9494	6969	2121	Mantar
DCPA	707	<10 ²	707	11413	3939	2929	1313	Bakteri
SPCA	47470	604990	518635	85345	93425	57065	8080	Bakteri
TOPLAM	49490	605697	522776	99889	102919	64034	10201	
Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2	
DRBC	3111	4545	6767	6209	6605	2929	1870	Mantar
SDA	910	3636	8181	3122	2789	404	890	Mantar
MEA	1645	5151	11312	3500	2500	1717	2160	Mantar
DCPA	730	3636	7676	912	836	1313	1110	Bakteri
SPCA	6420	325725	138370	212350	172340	30300	26780	Bakteri
TOPLAM	8065	330876	149682	215850	174840	32017	28940	

Malt Extract Agar besi ortamında ve 25 °C'da 5 günlük inkübasyon sonucunda ortaya çıkan beyaz koloni; hiçbir üreme yapısı yok sadece hif olarak değerlendirilirken, pembe koloni sadece hif, siyah koloni; *Penicillium jensenii*, simsiyah koloni; *Alternaria alternata* küflerine ait iken, DCPA besi ortamında, simsiyah koloni olarak adlandırdığımız tür; *Alternaria alternata*, siyah renkteki koloni; *Cladosporium herbarum*, beyaz koloni; *Penicillium jensenii*'dir. DRBC Agar besi ortamında, siyah koloni; *Cladosporium herbarum*, beyaz koloni; *Penicillium jensenii* ve grimsi-yeşil koloni ise *Cladosporium sphaerospermum* olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca bazı türler bazı kültür ortamlarında gelişme göstermemiştir. Çizelge 6.4'de gösterilen Mart ayında alınan taş örnekleri czapek dox agara ekim yapılarak incelendiğinde, bozunmuş

yüzeylerden alınan örneklerde 8 tane mantar türünün varlığı Çizelge 6.5’de ortaya konmuştur.

Çizelge 6.5 Taş yüzeylerde tespit edilen mantar türleri

MANTAR TÜRLERİ	ÖRNEKLEME ALANLARI						
	ŞK	ÇS	YS-BM	YS-ÇK	HC	ETC	ŞMZT
<i>Alternaria alternata</i>	-	+	+	+	+	-	+
<i>Penicillium jensenii</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cladosporium herbarum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium brevi-compactum</i>	-	-	+	-	-	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+	+	+	+	-	+
<i>Trichoderma harzianum</i>	+	-	-	-	-	+	-
<i>Aspergillus sp.</i>	+	-	+	-	-	-	+

(+): Tespit edildi, (-): Tespit edilemedi.

Çizelge 6.5 incelendiğinde örnekleme alanlarında *Alternaria alternata*, *Penicillium jensenii*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicilliumbrevi-compactum*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus sp.* cins ve türlerine ait mantarların bulunduğu ve taşın mikrobiyolojik bozunmasına katkı yaptığı görülmektedir.

Çizelge 6.3’e göre, en fazla mikroorganizma sayısına Çukur Saray (ÇS1) 0.5 m yükseklikten alınan taş örneklerde rastlanmıştır. En az ise Yıldız Sarayı Çit Kasrı’nda (YS-ÇK2) görülmektedir. Bunun nedeni olarak Çit Kasrı örnekleme noktasının açık alanda ve rüzgâra açık olması nedeniyle taş yüzeyinde oluşan kurumalar nedeniyle mikroorganizma gelişmesinin sınırlı kalması, Çukur Saray örnekleme noktasının üç taraftan kapalı ve durgun havaya sahip olması sonucu taş yüzeyinin mikroorganizma gelişmesine uygun olması olarak açıklanabilir. Ayrıca şubat ayında taş yüzeylerden

alınan örneklerdeki koloni sayımları ile mart ayında alınan örnekler karşılaştırıldığında mart ayındaki mikroorganizma sayılarının daha fazla olduğu görülmektedir. Mikroorganizmaların gelişimlerini sağlayan koşullar uygun olsa bile ortalama sıcaklığın düşmesi mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen sebeplerdendir. Mart ayında mikroorganizmaların sayısının fazla olması şubat ayına nazaran hava sıcaklığının yüksek olması ile açıklanabilir.

Çizelge 6.4'e göre; Çukur Saray'dan alınan örneklerde oluşan mikroorganizmalara yaklaşık olarak her iki yükseklikte de rastlanmıştır. Ancak 0.5 m yükseklikten alınan örneklerde sayıca daha fazladır. Ve en fazla mikroorganizma sayısı Çukur Saray 0.5m yüksekliğinden alınan taşlarda görülmektedir. En az ise Yıldız Sarayı Çit Kasrı 0.5 m yüksekliğinde tespit edilmiştir.

Çizelge 6.6 2013 Aralık ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)

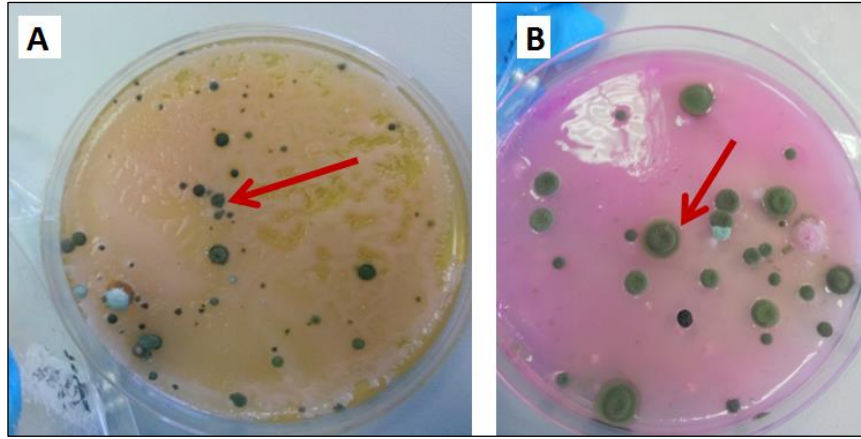
Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1	
DRBC	6902	1818	4135	5050	7654	6790	2963	Mantar
SDA	3131	2390	12255	5420	8514	7645	2222	Mantar
MEA	5454	2054	6329	7104	9980	7824	2289	Mantar
PDA	2828	0	5443	2626	4830	3856	1465	Mantar
DCPA	101	1044	3299	2592	12460	8760	1683	Bakteri
SPCA	141000	232000	39000	13635	480964	354520	39895	Bakteri
TOPLAM	146454	234054	45329	20739	490944	362344	42184	
Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2	
DRBC	23769	9540	8560	2150	1212	7320	6565	Mantar
SDA	19645	14530	12300	3250	2778	9834	8686	Mantar
MEA	38178	11654	9264	584	438	9430	8737	Mantar
PDA	7878	7860	5760	1860	1111	6300	4949	Mantar
DCPA	35114	9864	10250	830	606	10250	8838	Bakteri

Çizelge 6.6 2013 Aralık ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği) (devamı)

Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2	
SPCA	397435	598654	650120	12430	12120	560250	545400	Bakteri
TOPLAM	435613	610308	659384	13014	12558	569680	554137	

Çizelge 6.6 incelendiğinde Aralık ayı verilerine göre genel seyir olarak Çukur Saray'dan alınan taş örneklerde Şehzade Köşkü'ne nazaran daha fazla sayıda mikroorganizma kolonilerine rastlanılmıştır. Çizelge 6.6 'da 1 gram taş malzemede tespit edilen koloni sayıları hesaplarına göre, Hamidiye Camii'nde daha fazla koloniler gelişme göstermiştir. En az koloniler ise Ertuğrul Tekke Camii'nde görülmektedir. Bunu nedeni olarak Çukur Saray örnekleme noktasının üç taraftan kapalı ve durgun havaya sahip olması nedeniyle taş yüzeyinin mikroorganizma gelişmesine uygun olması olarak açıklanabilir. Şehzade köşkündeki örnek noktasındaki taşlar Çukur Saray'dakilerden daha gözenekli olmasına rağmen Çukur Saray'ın kapalı ve durgun havaya sahip olması olumsuz gelişme koşullarını olumluya çevirmiştir. Bu örnek taş yüzeyindeki mikroorganizmaların gelişmesinin iklim faktörlerine birinci derecede bağlı olduğunu göstermektedir.

Besiyeri çalışmalarında tarihi yapılardaki mikroorganizmaların optimum gelişme sıcaklıklarının mikroorganizma türüne göre birbirinden farklı olması göz önüne alınmış olup, yapılan çalışmalarda 4, 20 ve 35 °C sıcaklıklarda ekimler yapılmıştır. Böylece değişik optimum sıcaklıklarda gelişen mikroorganizmalar belirlenmeye çalışılmıştır. Farklı besi ortamlarında aynı cinse ait mantar türleri farklı şekil ve renklerde koloniler oluşturmuştur. Şekil 6.16'da SDA ve DRBC besi ortamlarında gelişme gösteren aynı tür mantarların (*Cladosporium cladosporoides*) farklı renklerde koloni oluşturduğu, SDA kültür ortamında siyahımsı yeşil koloniler şeklinde, DRBC kültür ortamında ise açık yeşil koloni oluşumları görülmüştür.



Şekil 6.16 İki farklı besiyeri ortamına (A- SDA besiyeri, B- DRBCA besiyeri) paralel Ekim tekniği ile belirlenen *Cladosporium cladosporioides* türüne ait koloni farklılığının makroskobik görüntüsü.

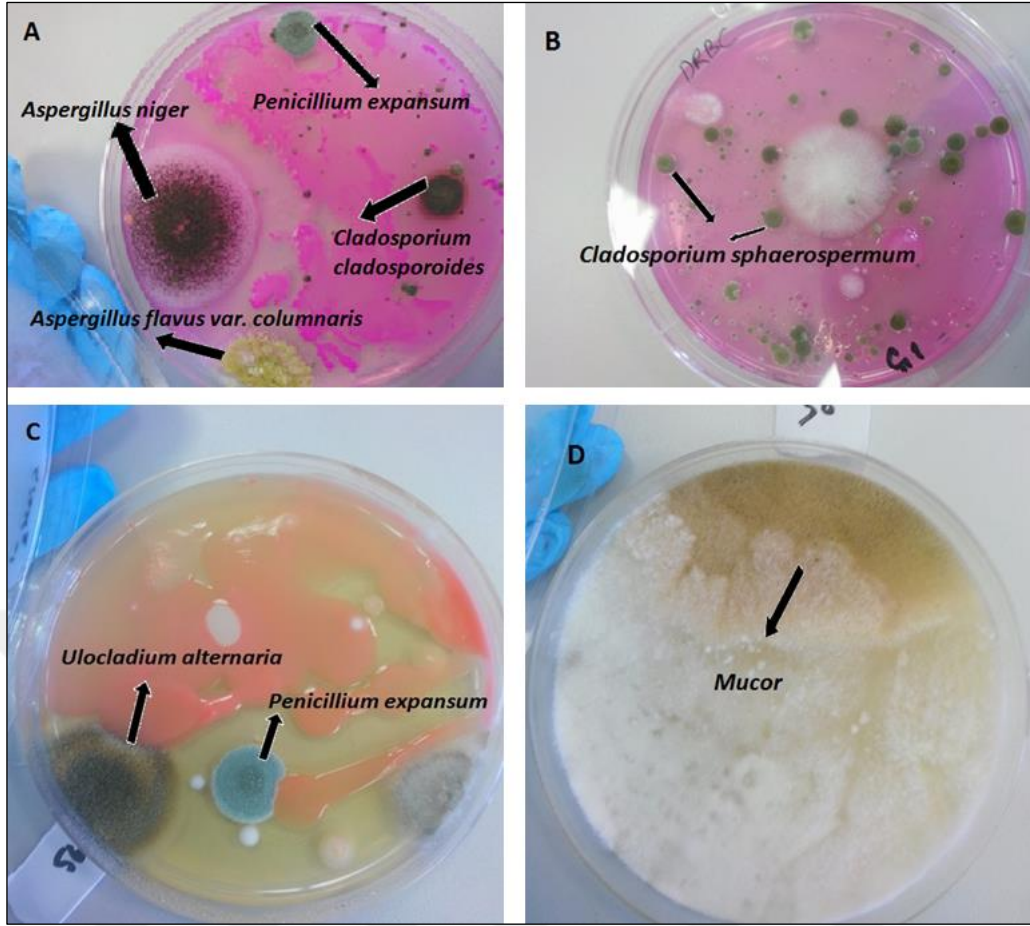
Çizelge 6.7 2014 Haziran ayında tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)

Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1	
DRBC	1616	4848	19493	6868	-	-	1515	Mantar
SDA	2424	4343	14140	6565	-	-	1717	Mantar
MEA	2222	4949	5252	1313	-	-	808	Mantar
PDA	1515	303	23230	5252	-	-	1111	Mantar
DCPA	1212	5858	11918	3535	-	-	1616	
SPCA	900	1800	200	400	-	-	1400	
TOPLAM	3122	6749	5452	1713	-	-	2208	
Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2	
DRBC	2727	-	-	202	606	8080	3737	Mantar
SDA	2626	-	-	909	505	2828	3131	Mantar
MEA	3838	-	-	505	2828	5757	4848	Mantar
PDA	3030	-	-	1818	1212	6060	1717	Mantar
DCPA	3535	-	-	1212	2020	7878	5050	Bakteri
SPCA	1000	-	-	200	1400	7200	900	Bakteri
TOPLAM	4838	-	-	705	4228	12957	5748	

Çizelge 6.7’de Araştırma alanlarından alınan örneklerin farklı kültür ortamlarına ekimi sonucu elde edilen haziran ayına ait sonuçlar verilmiştir. Daha önceki aylarda alınan örneklerden elde edilen sonuçlar Şubat-Mart aylarında elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak değerlendirildiğinde araştırma alanları arasında mikroorganizma sayı ve türlerinin farklılık gösterdiği görülmektedir. Haziran ayında araştırma alanları arasındaki tür çeşitliliği fazla, ancak toplam mikroorganizma sayısı az olarak bulunmuştur. Bazı mikroorganizma türleri yaz sonlarına doğru en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Ancak birey sayısı az olarak bulunmuştur ki bu bulgu ekosistemlerdeki tür ve birey ilişkileri ilkesine uygundur.

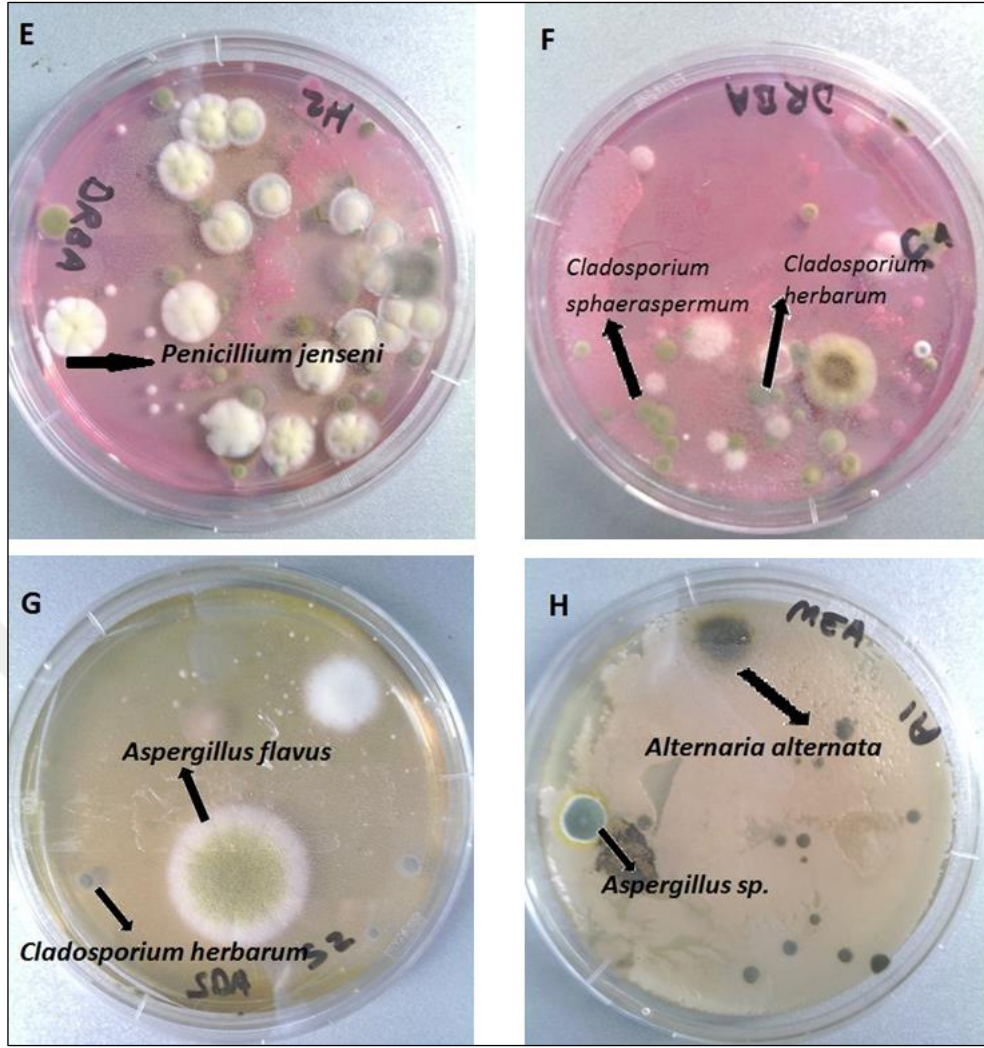
Mayıs-Haziran ayında tarihi eserlerin 0.5 m ve 2.0 m yüksekliğinden alınan örneklerin kültürel ekim sonucu gelişme gösteren bakteri ve mantarların yapılan koloni sayım ve tür teşhisi çalışmaları ile tespit edilen mikroorganizmaların biyolojik bozulmaya yol açan mikroorganizmalar olduğu net bir şekilde ortaya çıkmıştır. Bu bozulmalarda aktif rol oynayan mikroorganizmalar; mavi-yeşil algler, aktinomisetler, mantarlar ve bakterilerdir.

Mikroorganizmaların CFU değerleri 0.5 m yükseklikten alınan örneklerde 2.0 m yükseklikteki taş yüzeylerden alınan örneklerden çoğunlukla daha fazla bulunmuştur. Bunun nedeni olarak yer seviyesine yakın kısımlarda yağmur ve sıçrama sonucu toprak partiküllerinin bulaşmış olması ve bulaşan bu partiküllerin içerdiği organik ve anorganik bes elementleri ile mikroorganizmaların gelişmesine olumlu yönde katkı sağlaması olarak açıklanabilir.



Şekil 6.17 Kültürel ekim tekniği ile Haziran ayında üç farklı besi ortamında (DRBC Agar, MEA, SDA) gelişme gösteren koloni farklılığının makroskobik görüntüsü.

A- Çukur Saray (2m): *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus flavus var. columnaris*, *Cladosporium cladosporoides*. B- Çukur Saray (0.5m): *Cladosporium sphaerospermum*. C- Çit Kasrı (0.5m): *Ulocladium alternaria*, *Penicillium expansum*. D- Çit Kasrı (0.5m): *Mucor sp.* (Şekil 6.17).



Şekil 6.18 Kültürel ekim tekniği ile Şubat ayında üç farklı besi ortamında (DRBC Agar, SDA, MEA) gelişme gösteren koloni farklılığının makroskobik görüntüsü.

E- Hamidiye Camii: *Penicillium jensenii*, F- Çukur Saray: *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium herbarum*, G-Büyük Mabeyn Köşkü: *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum*, H- Çit Kasrı: *Alternaria alternata*, *Aspergillus sp.* (Şekil 6.18).

Çizelge 6.8 2014 Temmuz ayı tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)

Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1	
DRBC	5151	4444	26866	7878	58760	46210	1717	Mantar
SDA	3333	9898	20402	7676	274620	76345	1919	Mantar
MEA	2727	2424	28482	29290	183640	67520	2121	Mantar
PDA	2525	2929	20604	26058	4523	6534	3232	Mantar

Çizelge 6.8 2014 Temmuz ayı tarihi eserlerden alınan taş örneklerinde farklı besiyerlerinde üreyen koloni sayıları (koloni adeti (CFU)/1 gr. taş örneği)(devamı)

Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1	
DCPA	4545	27270	9898	3232	73652	69620	3838	Bakteri
SPCA	31310	58580	1313	3939	2250	1406	33330	Bakteri
TOPLAM	34037	61004	29795	33229	185890	68926	35451	
Kullanılan besiyeri	Örnekleme alanları							Koloni türü
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2	
DRBC	6969	-	-	4545	9393	62620	4242	Mantar
SDA	2525	-	-	1212	1010	393900	3737	Mantar
MEA	3232	-	-	1212	2626	292900	5151	Mantar
PDA	3737	-	-	2929	5656	6262	2020	Mantar
DCPA	8282	-	-	2222	6464	84840	7474	Bakteri
SPCA	3434	-	-	21210	36360	2626	9898	Bakteri
TOPLAM	6666	-	-	22422	38986	295526	15049	

-Restorasyonda olduğu için örnek alınamadı.

Temmuz ayında yapılan koloni sayımlarına göre en fazla koloni Şeyh Muhammed Zâfiri Türbesi 0.5 m yüksekliğinden alınan taş örnekte, en az ise 0.5 m yüksekliğinden alınan Ertuğrul Tekke Camii yan duvar taş örneğinde rastlanılmıştır. Bunun nedeni olarak birincisi Şeyh Muhammed Zâfiri Türbesi'nin çok gözenekli ve yumuşak bir taş olan küfeki taşından yapılması, Ertuğrul Tekke Camii yan duvar taşlarının sert volkanik taş olması ve ikincisi taş rüzgâra tam açık alanda mikroorganizmaların daha iyi gelişmesi olarak gösterilebilir.

Ilıman iklimlerde hava kirliliği mikrobiyal biyolojik bozulmayı önemli ölçüde desteklerken, tropikal ve subtropikal iklimler, mikroorganizmaların yıkıcı aktivitelerini arttırmaktadır [97]. Hava kirliliği özellikle kalsiyum karbonat içeren taş yüzeylerinde taşın direncini düşüren ve gözenekliliği arttıran jips oluşturarak bozunmalara neden olmaktadır. Ayrıca, hava sirkülasyonu olan bir ortamda kirlenme daha azdır ve fazla

yağış almayan nemli bölgeler özellikle daha fazla ayrışma, bozunmaların görüldüğü yerlerdir çünkü yağmur suyu taşın yüzeyinin temizlenmesinde etkilidir [48].

Warscheid'e göre [98] de yarı kurak iklimler, daha az yağışlı ve daha yüksek sıcaklıklarda, siyanobakteri, siyah maya ve likenler gibi daha özel mikroorganizmaların büyümesini desteklerken, düzenli yağış alan ılıman iklimlere maruz kalan taş yüzeylerde bir karışık mikroorganizmaların konsorsiyumunun artışına neden olmaktadır [98]. Tayler ve May tarafından [99] da United Kingdom'da eski anıtların kumtaşındaki mikrobiyal toplulukta kışın ve ilkbaharın erken dönemlerinde, yaz ve sonbaharın son aylarına kıyasla daha yüksek bakteri sayılarına neden olan mevsimsel değişiklerin olduğu belirtilmiştir. Mevsimsel iklim değişiklikleri, yaz aylarında ılıman iklim koşullarında gram pozitif bakterilerin sayısının ve çeşitliliğinin artmasına neden olmuştur [99]. Wollenzien vd. tarafından [100] de yüksek nem ve daha az güneş ışığı altında hızla büyüyen miyaljik mantarların özellikle *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Phoma sp.* ve *Ulocladium sp.* cinsleri baskın, kurak mevsimde ise nadiren bulunur [100]. Su rejimine oldukça bağımlı olduğu bilinen nitrifikasyon bakterilerinin kapalı ortamlar ve yağışlı mevsimlerde daha bol bulunduğu tespit edilmiştir [101].

6.4.2 Besiyeri Çalışmalarına Dayalı Diagnostik İnceleme Çalışmaları ile Tespit Edilen Mantar Türü Analizleri

Kirlenmemiş taş yüzeylerde mikrobiyal topluluk oluşumu genellikle karbon ve enerji kaynağı olarak atmosferdeki CO₂'yi ve güneş ışığını kullanan fototrofik organizmalarla (alg, siyanobakteri) ile başlar [102-104]. Heterotrofik organizmalar büyümeleri için organik kaynağa ihtiyaç duyarlar ve bu ihtiyaçları fototrofik organizmaların metabolitleri tarafından sağlanır [105]. Fototrofik mikroorganizmalardan alg ve siyanobakterilerin büyümesi taşların dış yüzeylerinde renk değişikliğine ve fizikokimyasal bozulmalara neden olabilir [106]. Taşların estetik görüntüsünü bozan yeşil, kahverengi ve siyah siyanobakteriyel/algal matrixlerin büyük bölümlerini oluşturan siyah kabuklarda sıklıkla fototrofik mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bu bölümler büyük oranda biyofilmlerden oluşmaktadır [107]. Taş malzemelerin yüzeyinde oluşan biyofilmler algler, siyanobakteriler, heterotrofik bakteri, mantar,

likenler, protozoa ve çeşitli küçük hayvanlar, yosunlar ve bitkilerden oluşan kompleks yaşam ortamları (konsortia) içerir [106]. Biyofilmler aynı zamanda alt tabakada (kuvartz, kalsiyum karbonat, kil) ve döküntüden (ölü hücreler, mikrobik yan ürünler vb.) kaynaklanan önemli miktarda absorbe edilmiş inorganik materyaller de ihtiva eder [107]. Taşta oluşan biyofilmlerdeki EPS'ler hidrofilik özellik göstererek suyu absorbe etmek suretiyle kuru havalarda mikroorganizmaların çoğalmasına imkan sağlamaktadır. Taşın yapısı ve çevresel faktörler biyofilm kolonizasyonunun ve biyolojik bozunma süreçlerinin boyutunu etkiler [97]. Taş üzerindeki biyofilmlerin yapısında gram-negatif bakterilerin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir [103].

Mikroorganizmalar taşlardaki bozunmaya neden olan birçok fonksiyona sahiptir. Mantarların tarihi eserlerdeki taş malzeme bozunması üzerindeki etkilerinin temel mekanizması ürettikleri glukonik asit, sitrik asit, humarik asit, okzalik asit, malik asit ve suksinik (succinic) asitlerle taştaki katyonları çözerek metabolizmasına alması yoluylaadır. Bu asitler içerisinde en yaygın üretilen asit, glukonik asit olarak belirlenmiştir. Sitrik asit, humarik asit, okzalik asit, malik asit ve suksinik gibi diğer asitler de üretilmekle beraber glukonik aside karşı daha az miktarda üretilmektedirler. Bunun yanında itakonik aside de nadir olarak rastlanmıştır. Bu asidi *Penicillium requefortii*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma sp.* ve *Penicillium sp.* cins/türü mikroorganizmalar salgılamaktadır [1], [108], [110].

Filamentli mantarlar taş yüzeyinde gelişirken salgıladıkları asitlerle taştaki katyonları çözerek metabolizmalarına almak suretiyle kullanmaktadır. Bu çalışmada da tespit ettiğimiz *Penicillium frequentans* kumtaşı (sadtstone), kireçtaşı (limestone) ve granitin tozlaştırılmış partiküllerindeki katyonları kullanarak glikoz ve nitrat asimile ettikleri tespit edilmiştir. Bu asimilasyonda yani gelişmede en uygun taş tipi kireçtaşı (limestone) olarak tespit edilmiştir [109].

Yapılan bir laboratuvar çalışmalarında mantarların ürettiği organik asitlerden oxalik, glukonik ve sitrik asidin kumtaşı, kireçtaşı ve granit olmak üzere üç taş tipinde de etkili ayrıştırıcı olduğu belirlenmiş ve demir ve alüminyum en rahat çözdüğü, bunun yanında sitrik asidin sodyumu, glukonik asidin kalsiyumu, oksalik asidin potasyumu çözdüğü bulunmuştur [109]. Bu asitlerin her üç tip taşta da aynı zamanda çok miktarda

kalsiyum ve magnezyumu da çözdüğü bulunmuştur. Bu mikroorganizmaların kullandıkları bu mekanizmalarla kumtaşı ve granitte kil kısımlarında bulunan silikat, feldispat ve mika kısımları, kireçtaşı karbondioksit ve dolomit kısımları tahrip ettiği bulunmuştur [109]. Araştırdığımız tarihi yapılar içerisinde en çok bozunmaya maruz kalan Çit Kasrı'nda yapı malzemesi olarak kireç taşı ve kumtaşı benzer taş yaygın olarak kullanılmıştır. Şekil 6.11'de görüldüğü gibi bu taşlar mantar, bakteri ve mavi-yeşil alglerin yoğun saldırısına maruz kalmış ve şiddetli derecede zarar görmüştür.

Kemoorganotrofik mantarlar taş yüzeyi ve gözeneklerine yerleşerek ürettikleri organik asit ve enzimlerle demir ve mangan katyonlarını çözerek mikroorganizmalar için kullanılabilir hale getirir. Bu konuda özellikle *Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Aerobasidium sp.*, *Ulacladium sp.* ve *Phoma sp.* örnek gösterilebilir [1].

Bu çalışmada tespit edilen mantar türü analizleri diagnostik tanılama yöntemi ile yapılmış, bunun için kültür ortamlarına yapılan ekimler sonucu oluşan kolonilerden Czapek-Dox Agar besiyerine ekim yapılarak tanı için Kilis Yedi Aralık üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmet Hasenekoğlu hocamıza gönderilerek tür teşhisi yapılmıştır. Çizelge 6.9'da tanımlanan mantar türleri gösterilmektedir.

Çizelge 6.9 Diagnostik tanılama ile belirlenen mantar türleri

Araştırma Alanı	Yerden Yükseklik (m)	Mantar Türü
Şehzade Köşkü	0.5 m	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium jensenii</i> <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Trichoderma koningii</i> <i>Ulacladium alternaria</i> <i>Geotrichum sp.</i> <i>Alternaria sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i>

Çizelge 6.9 Diagnostik tanılama ile belirlenen mantar türleri (devamı)

Araştırma Alanı	Yerden Yükseklik (m)	Mantar Türü
Şehzade Köşkü	2 m	<i>Cladosporium cladosporoides</i> <i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium jenseni</i> <i>Cunninghamella ramose</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Geotrichum spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Aspergillus sp.</i> <i>Alternaria sp.</i>
Çukur Saray	0.5 m	<i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Cladosporium cladosporoides</i> <i>Ulocladium alternaria</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Penicillium jenseni</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Geotrichum sp.</i>
	2 m	<i>Ulocladium alternaria</i> <i>Cladosporium cladosporoides</i> <i>Aspergillus flavus</i> var. <i>columnaris</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium jenseni</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Cladosporium herbarum</i>
Yıldız Saray-Büyük Mabeyn	0.5 m	<i>Alternaria alternata</i> <i>Penicillium jenseni</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Aspergillus flavus</i>
	2 m	<i>Penicillium brevi-compactum</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i>
Yıldız Saray- Çit Kasrı	0.5 m	<i>Penicillium jenseni</i> <i>Ulocladium alternaria</i> <i>Cladosporium cladosporoides</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Cunninghamella ramose</i> <i>Mucor sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i> <i>Geotrichum sp.</i> <i>Fusarium spp.</i>

Çizelge 6.9 Diagnostik tanılama ile belirlenen mantar türleri (devamı)

Araştırma Alanı	Yerden Yükseklik (m)	Mantar Türü
Yıldız Saray - Çit Kasrı	2 m	<i>Ulocladium alternaria</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium jenseni</i> <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Aspergillus sp.</i> <i>Cunninghamella sp.</i> <i>Geotrichum sp.</i>
Hamidiye Camii	0.5 m	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Cladosporium sphaerospermum</i> <i>Penicillium jenseni</i>
	2 m	<i>Cladosporium herbarum</i> <i>Cladosporium sphaerospermum</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium jenseni</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i>
Ertuğrul Tekke Camii	0.5 m	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium steckii</i> <i>Geotrichum sp.</i>
	2 m	<i>Penicillium expansum</i> <i>Ulocladium alternaria</i> <i>Geotrichum sp.</i>
Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi	0.5 m	<i>Penicillium expansum</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Geotrichum spp.</i> <i>Ulocladium alternaria</i> <i>Trichoderma koningii</i> <i>Alternaria alternata</i>
	2 m	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium frequentani</i> <i>Penicillium jenseni</i> <i>Ulocladium alternaria</i> <i>Trichoderma koningii</i> <i>Cladosporium sphaeraspermum</i> <i>Alternaria spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Mucor sp.</i> <i>Cunninghamella sp.</i> <i>Geotrichum sp.</i>

Bu çalışmalar sonucunda araştırma alanlarında haziran ayında aşağıda belirlenen mantar türleri tespit edilmiştir:

Cladosporium sphaeraspermum, *Trichoderma koningii*, *Penicillium expansum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Alternaria alternata*, *Ulocladium alternaria*, *Cladosporium cladosporoides*, *Aspergillus flavus* var. *Columnaris*, *Aspergillus niger*, *Penicillium steckii*, *Cunninghamella ramosa*, *Penicillium frequentani*, *Penicillium jenseni*. Bunların yanında

aşağıdaki mantarlar da tür seviyesinde teşhis edilemeyip cins seviyesinde tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmaların hemen hemen hepsi taşlarda biyolojik bozunmaya neden olduğu ispatlanan türlerdir [108], [109], [110].

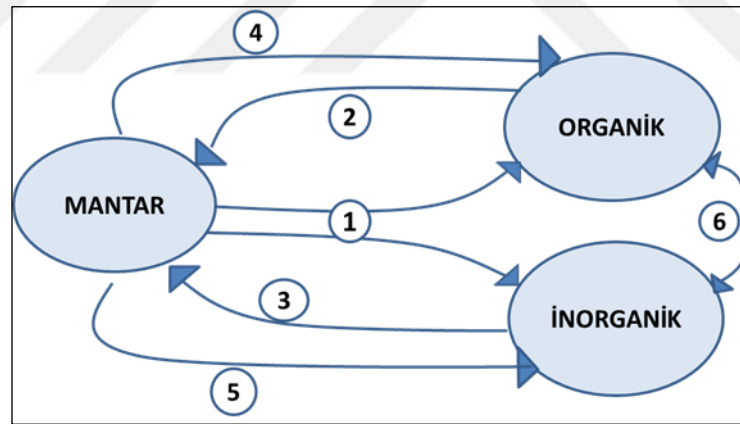
Fusarium spp. (cinsine ait tür teşhisi yapılamayan iki ayrı mantar), *Mucor sp.*, *Geotrichum sp.* *Geotrichum sp.* *Alternaria spp.* *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Alternaria sp.*, cins/türü mantarlar tespit edilmiştir. Haziran ayına ait alınan örneklerle uygulanan kültürel ekim sonucu gelişme gösteren mantar türleri ve gruplarının ait olduğu tarihi eserler Çizelge 6.1’de, mantar türleri Çizelge 6.10’da verilmiştir.

Çizelge 6.10 Tarihi eserlerde bozunmaya yol açan mantar türleri

Tespit edilen mantar türleri	Tarihi Eserler									
	ÇS1	ÇS2	ŞK1	ŞK2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2	YS-ÇK1	YS-ÇK2
<i>Cladosporium sphaeraspermum</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-
<i>Trichoderma koningii</i>	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
<i>Trichoderma harzianum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Penicillium expansum</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>Ulocladium alternaria</i>	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>Aspergillus flavus var. columnaris</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Penicillium steckii</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Cunninghamella ramosa</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Penicillium frequentanti</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Penicillium jensenii</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Fusarium spp.</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>Mucor sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Geotrichum sp.</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Alternaria spp.</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>Aspergillus sp.</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+

Şubat, Mart aylarında belirlenen mantar türleri; *Alternaria alternata*, *Penicillium jensenii*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium brevi-compactum*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus sp.* cins/türü mantarlardır.

Bakteriler ve mavi yeşil algler gibi mantarlar da tarihi eserlerdeki taşların yüzeyi, oyuk ve çatlaklarına girerek fiziksel, kimyasal parçalanma, siyah kabuk ve renklenmeye neden olmaktadır. Mantarlar taş ve minerallerin yüzeyinde ekstraselüler polimer oluşturmaktadır. Ekstraselüler polimerlerdeki yüksek molekül ağırlıklı asidik polisakkaritler proton üreterek mineral yüzeyiyle reaksiyona girmek suretiyle metal iyonlarını metabolizmada kullanılabilir hale dönüştürmektedir. Aynı mekanizmayı *Nostoc punctiforme* mavi yeşil algi ile *ascomycetes* grubu mantarlar da silika minerallerinden kalsiyum ve magnezyumu açığa çıkararak yapmaktadır. Bunun yanında bakteri biyofilmleri Ca, P, Cu ve As (asmiyum) minerallerini metabolizmada kullanılabilir hale dönüştürmektedir [10], [93]. Karbonatlı taşlar ve özellikle kireç taşı ve dolomit mantarların yaşaması için en ideal yaşam ortamlarıdır [10].



Şekil 6.19 Mantarların taşın bozunmasındaki metabolizmasının basit modeli [111].

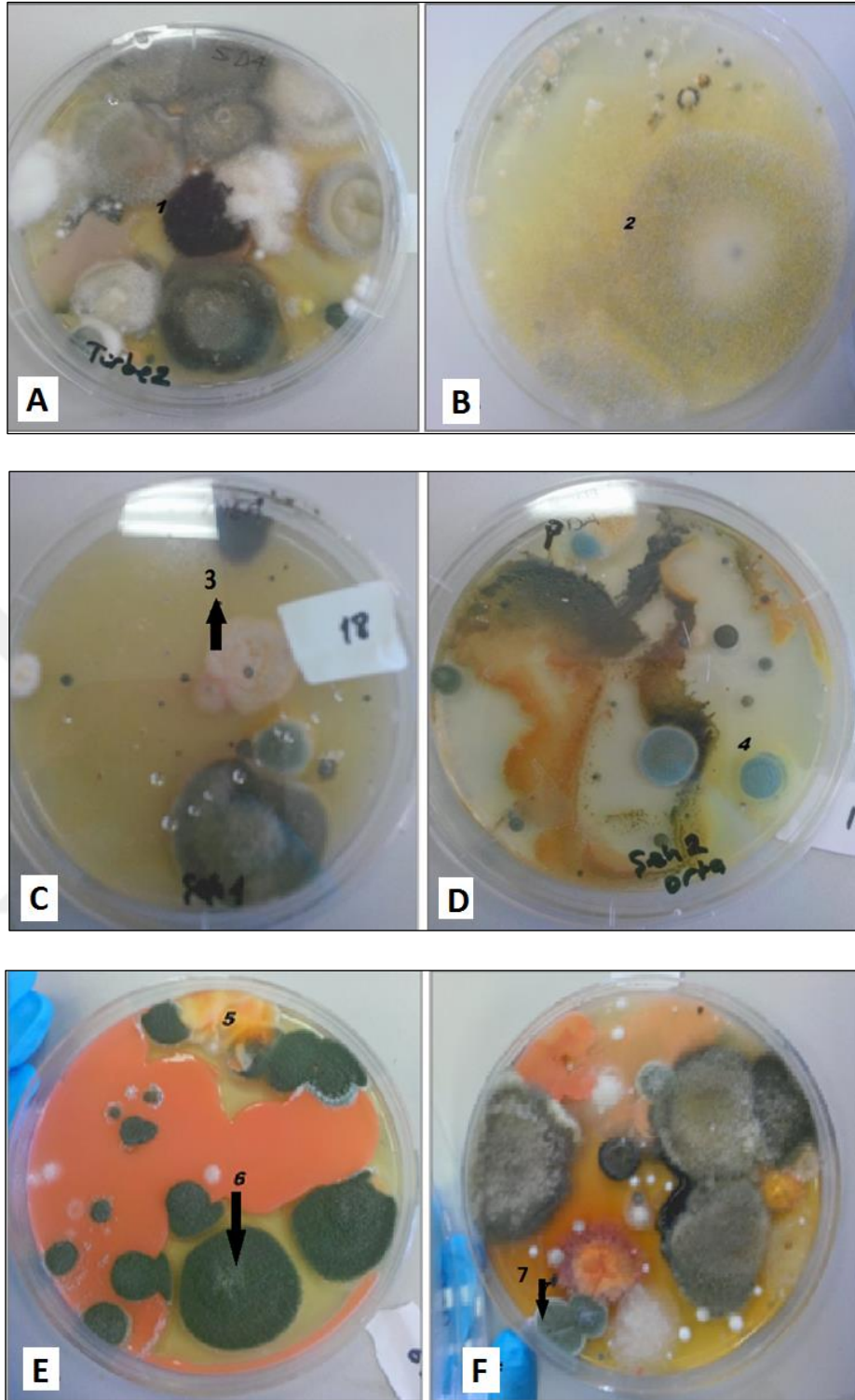
1-Enzimler ve metabolitler (protonlar (H⁺), karbondioksit (CO₂) ve organik asitler, metabolizmanın sonucu olarak ortaya çıkan fizikokimyasal değişiklikler) aracılığıyla organik ve inorganik dönüşümler; 2-Organik substratların bozunması veya metabolizması; 3-İnorganik substratların metabolizması, emilmesi, birikmesi; 4-Organik metabolitlerin üretimi, ekzopolimerler ve biyokütle; 5-İnorganik metabolitlerin üretimi, ikincil mineraller ve dönüştürülmüş metaloidler; ve 6-Organik ve inorganik maddeler arasındaki kimyasal etkileşimler (kompleksleşme ve şelasyon) [111].

Yapılan laboratuvar deneylerinde *Alternaria sp.* cinsine ait mantarların çimento ve taş yüzeyinde ilk gelişen mantar türleri olduğu, oluşturduğu misel ve hiflerle taş yüzeyini kaplayarak çatlak ve oyuklara girmek suretiyle taşın biyolojik bozunmasında etki ettiği ve oluşturduğu organik maddelerle taş yüzeyinde daha sonra gelecek olan mikroorganizmalara yaşam alanı sağladığı tespit edilmiştir [112]. Diğer besi elementlerinin yanında mangan (Mn) ve demir (Fe) de mikrobiyal metabolizma üzerinde etkili nütrientlerdir. *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.*, *Phoma sp.* organik asitler ve ekstraselüler enzimler üreterek taş yüzeyindeki mangan ve demiri okside edip çözmek suretiyle kendilerinin ve diğer mikroorganizmaların metabolik gelişmesine katkı sağlamaktadır [113].

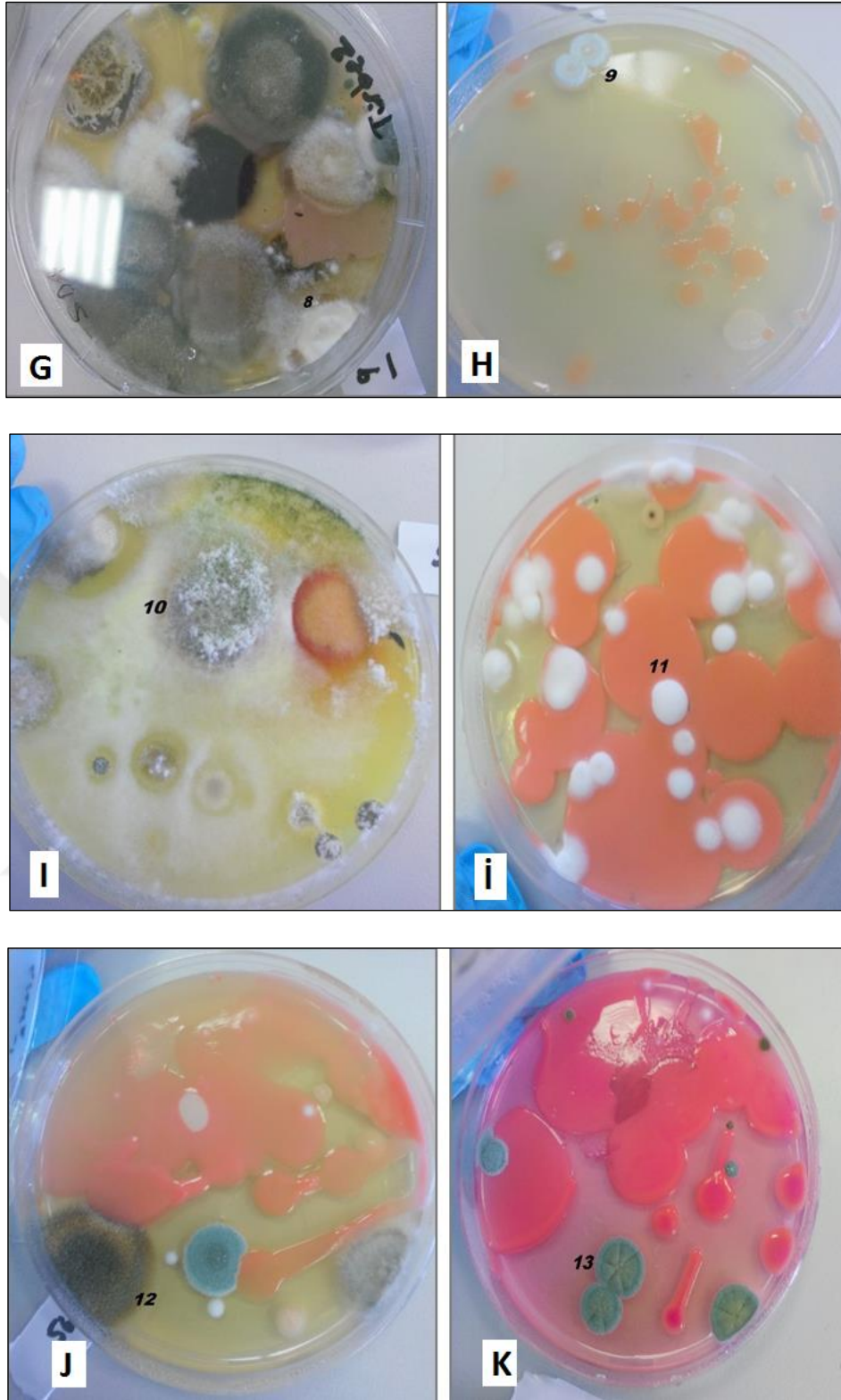
Cladosporium sp. ve *Aspergillus sp.* cinslerine ait mantarlar melanoid pigmentler üreterek özellikle hava kirliliğinin de olduğu alanlarda mikrobiyal ekzo polimerler ile hava kirleticilerini yakalayarak siyah renk ve zamanla siyah kabuk oluşturur. Siyah kabuk diğer mikroorganizmalara yaşam alanı teşkil eder. Bu ortamda gelişen mikroorganizmalar (thiobacillus, sulfobacillus, nitrosomonas ve nitrobakter) çok düşük pH'larda yaşayabilir ve taşın aşınmasına neden olur. Aynı zamanda bazı mantarlar da kükürt bileşiklerini oksitleyip asit üreterek taşın bozunmasına neden olur. Birçok mikroorganizma karbondioksit üreterek zayıf bir asit olan karbonik asidin oluşmasına neden olmak suretiyle taşların bozunmasına katkıda bulunur. Mantar hifleri taş çatlak ve gözeneklerine girip gelişmesi esnasında taşlarda mekanik bozunmaya neden olabilir. (Şekil 6.11'deki L ye ait SEM görüntüsü) [114].

Kısaca mantarlar, pigmentler ve organik asitler üretmeleri nedeniyle tarihi eserlerdeki farklı taş türlerinde meydana gelen renk kayıpları ve bozulmalarda önemli rol oynamaktadır [104]. Ürettikleri bu karbonik, nitrik, sülfürik, oksalik, gluconik, glucronik, laktik ve fumarik asitlerle taş yüzey ve oyuklarında fiziksel ve kimyasal parçalanmaya neden olur. Aynı zamanda silika, demir ve magnezyum mineralleri ile biotite, olivine ve çeşitli fosfat bileşiklerini çözmek suretiyle taşın bozunmasına da katkıda bulunur [115].

Diagnostik tanılama yöntemi ile yapılan ekimler sonucu besiyerlerinde üreyen mantar kolonileri Şekil (6.20 ve 6.21)'de verilmiştir.



Şekil 6.20 Kültürel ekim yöntemiyle farklı besi ortamlarında saptanan çeşitli kolonilerin makroskobik görüntüleri A1- *Alternaria alternata*, B2- *Cladosporium cladosporioides*, C3- *Scopulariopsis brevicaulis* D4-*Penicillium expansum* E5,E6- *Penicillium frequentans*, *Cladosporium cladosporioides* F7- *Penicillium jensenii*.



Şekil 6.21 Kültürel ekim yöntemiyle farklı besi ortamlarında saptanan çeşitli kolonilerin makroskobik görüntüleri G8- *Geotrichum* sp. H9- *Penicillium expansum* I10- *Trichoderma koningii* İ11- *Geotrichum* sp. J12- *Ulocladium alternaria*. K13- *Penicillium expansum*.

Bu çalışmada; Şehzade Köşkü, Çukur Saray, Yıldız Sarayı-Büyük Mabeyn, Yıldız Sarayı-Çit Kasrı, Hamidiye Camii, Ertuğrul Tekke Camii ve Şeyh Muhammed Zafiri Türbesine ait deneme alanlarında *Ulocladium Alternaria*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Fusarium sp.*, *Mucor sp.* tespit edilmiştir. Bu mantarların oxzalik, gulukonik, malik ve sitrik asit gibi organik asitleri üreten asidogenik mantarlar olup kalkerli kayalarda ürettikleri asitlerle özellikle katyonları çözmek suretiyle taşı parçalayıp gözenekli hale getirerek taşın mikrobiyolojik bozunmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Şehzade Köşkü, Çukur Saray, Yıldız Sarayı-Büyük Mabeyn, Yıldız Sarayı-Çit Kasrı, Hamidiye Camii ve Şeyh Muhammed Zafiri Türbesine ait deneme alanlarında tespit ettiğimiz *Alternaria sp.* taşta bulunan mangan ve demiri oksidize etmek suretiyle biyolojik bozunmaya ve taşın yüzeyinde kabuk oluşmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Şehzade Köşkü, Çukur Saray, Yıldız Sarayı-Çit Kasrı, Ertuğrul Tekke Camii ve Şeyh Muhammed Zafiri Türbesine ait deneme alanlarında tespit ettiğimiz *Ulocladium sp.* melanin üretmek suretiyle taş yüzeyinde renk bozunmasına neden olmaktadır [116]. *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.* ve *Aspergillus sp.* tür çeşitleri hidrokarbonların asimilasyonunda özellikle aktiftirler [107].

6.4.3 Besiyeri Çalışmalarına Dayalı Diagnostik İnceleme Çalışmaları ile Tespit Edilen Bakteri Türü Analizleri

Tarihi eserlerdeki taşların bozulmasına birçok mikroorganizma türü birlikte neden olmakla beraber, bakteriler önemli etkiye sahiptir [1], [3-7]. Bakteriler, taşın yapısındaki mineralleri ayrıştırmaları sırasında ototrofik ve heterotrofik metabolik faaliyet gösterirler. Bu araştırma kapsamında yapılan çalışmalarının ilk aşamasında mikroorganizmalardan bakteri, mavi-yeşil alg ve mantarlar gibi mikroorganizmaların taş malzemenin 1 gramında bulunan ve besiyerlerinde üreme kabiliyetinde olanların gelişen kolonilerden gidilerek sayıları tespit edilmiştir. Müteakiben tür veya cins tespiti yapılmıştır. Toplu örnek olması açısından tüm mikroorganizmaların sayıları Bölüm 6'da Çizelge 6.3, Çizelge 6.4, Çizelge 6.6, Çizelge 6.8'de verilmiştir. Tüm mikroorganizmaların topluca verildiği bu değerlerden bakterilere ait olanlar Çizelge 6.11-Şekil 6.15'de özetlenmiştir.

Çizelge 6.11 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Şubat ayı)

Şubat Ayı							
Kullanılan Besiyeri	Örnekleme Alanları						
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1
SPCA	25630	40265	126520	54234	60852	36780	52640
Kullanılan Besiyerleri	Örnekleme Alanları						
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2
SPCA	6420	26580	12500	92700	65980	31650	22340

Çizelge 6.12 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Mart ayı)

Mart Ayı							
Kullanılan Besiyeri	Örnekleme Alanları						
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1
SPCA	47470	604990	518635	85345	93425	57065	8080
Kullanılan Besiyerleri	Örnekleme Alanları						
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2
SPCA	6420	325725	138370	212350	172340	30300	26780

Çizelge 6.13 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Aralık ayı)

Aralık Ayı							
Kullanılan Besiyeri	Örnekleme Alanları						
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1
SPCA	141000	232000	39000	13635	480964	354520	39895
Kullanılan Besiyerleri	Örnekleme Alanları						
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2
SPCA	397435	598654	650120	12430	12120	560250	545400

Çizelge 6.14 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Haziran ayı)

Haziran Ayı							
Kullanılan Besiyeri	Örnekleme Alanları						
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1
SPCA	900	1800	200	400	-	-	1400
Haziran ayı							
Kullanılan Besiyerleri	Örnekleme Alanları						
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2
SPCA	1000	-	-	200	1400	7200	900

Çizelge 6.15 Araştırma alanlarında tespit edilen bakteri sayıları (Temmuz ayı)

Temmuz Ayı							
Kullanılan Besiyeri	Örnekleme Alanları						
	ŞK1	ŞK2	ÇS1	ÇS2	YS-BM1	YS-BM2	YS-ÇK1
SPCA	31310	58580	1313	3939	2250	1406	33330
Kullanılan Besiyerleri	Örnekleme Alanları						
	YS-ÇK2	HC1	HC2	ETC1	ETC2	ŞMZT1	ŞMZT2
SPCA	3434	-	-	21210	36360	2626	9898

Çizelge 6.11-6.15 incelendiğinde taşlarda yaşayan mikroorganizmaların özellikle suya bağımlılığının ön plana çıktığı görülmektedir. Yağmurun az olduğu haziran-temmuz aylarında mikroorganizma sayısı az olduğu, mart ve aralık aylarında taş yüzeyinde çok daha fazla geliştiği görülmektedir. Bunun nedeninin suyun taş yüzeyinde tutulma kabiliyetinin zor olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelgelere (Çizelge 6.11-6.15) bakarak şu değerlendirme yapılabilir: Daha önceki aylarda alınan örneklerden elde edilen sonuçlar şubat-mart aylarında elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak değerlendirildiğinde araştırma alanları arasında mikroorganizma sayı ve türlerinin farklılık gösterdiği görülmektedir. Haziran ve temmuz aylarında araştırma alanlarında arasında görülen tür çeşitliliği fazla iken toplam mikroorganizma sayısı az olarak tespit edilmiştir. Bazı mikroorganizma türleri yaz sonlarına doğru en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Ancak birey sayısı az olarak bulunmuştur ki bu bulgu ekosistemlerde genel kural olan “Yaşam Birliğinin Temel

İlkeleri” kuralına uygundur. Bu kurala göre ekolojik koşullar ne kadar çeşitli ise ortamdaki tür sayısı fazla birey sayısı az olur.

Çalışmamız esnasında Çit Kasrı örnekleme alanından alınan örneklerde bakteri tür/cins tespiti yapılmış ve tespit edilen bakteriler Çizelge 6.16’de verilmiştir. Bu bakteriler çoğu yapılarda tespit edilmiştir. Yapılan mikrobiyal ekim ve tanı çalışmaları ile tarihi eserlerde; *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus agri* ve *Paenibacillus sp.* ve *Staphylococcus sp.* bakterileri tespit edilerek, hava kirliliğinin taşların mikrobiyolojik bozulması üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskop fotoğrafları incelendiğinde, biyolojik bozulma tarihi eserlerdeki *Bacillus sp. cinsine ait bakteriler* taşların yüzeyinde açık olarak görülmektedir. Tespit edilen bakteriler içerisinde *Bacillus sp.*, *Paenibacillus sp.*, *Staphylococcus sp.* taşlarda biyolojik bozunmaya katkı sağlayan bakterilerdendir.

Çizelge 6.16 Taş yüzeylerde tespit edilen bakteri türleri

	DENEME ALANLARI						
MİKROORGANİZMALAR	ŞK	ÇS	YS-BM	YS-ÇK	HC	ETC	ŞMZT
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	-	+	+	+	-	+
<i>Bacillus agri</i>	-	+	-	+	-	+	-
<i>Paenibacillus sp</i>	+	+	+	+	-		-
<i>Staphylococcus sp.</i>	-	+	-	+	+	-	+

Taş üzerinde tespit ettiğimiz bakterilerden bazıları, tarihi eserlerin biyolojik olarak korunmasına katkı sağlamaktadır. Örneğin, *Bacillus subtilis* taşın su geçirgenliğini önemli ölçüde azaltır bu yüzden de taş yüzeyleri yağmur ve kirli suların aşındırıcı etkisine daha az maruz kalırlar. *Bacillus cereus* suşları anıt özelliği taşıyan taşların güçlendirilmesinde kalsit çökeltisinin sağlanması için biyolojik indüklemeye aktif olarak kullanılmaktadır [94], [117] ve *Bacillus cereus* muamelesi gören taşın önemli derecede su kaybına uğradığı görülmektedir. Aynı zamanda yüksek kalsiyum oksit nedeniyle bakteri metabolizmaları sonucu özellikle *B. cereus* tarafından taşta bir çimento tabakası (taşlaşma) oluşturulmaktadır oluşan bu çimento tabakasının taş yüzeyinde meydana gelmesi taşı fiziksel strese karşı daha dirençli kılmaktadır [118]. *Bacillus cereus* bakterilerinin indüklediği MCP (Microbial carbonate precipitation), Cr miktarını belirgin

şekilde düşürmektedir bu da taşta meydana gelebilecek korozyonluğu azaltmaktadır [119]. Mikrobiyal karbonat çökmesi (MCP), kalkerli anıtların onarımı amacıyla kullanılmaktadır [120].

Bakteriler nemli ortamlarda gelişebilirler ve taşların gözenekleri içinde biyofilm oluştururlarken kurak-yarıkurak ortamlarda gelişimleri sınırlanmaktadır. Kemoheterotroflar sadece taş aşınmasında bulunmazlar aynı zamanda bu mikroorganizma gruplarının kalsiyum karbonat çökmesini artırma özelliği olmasından dolayı da kayaların sağlamlaştırılması üzerine etkileri olduğu görülmektedir [94]. Kemoheterotrofik bakterilerden olan *Bacillus cereus* kalsiyum karbonat çökeltisini artırarak sıva ve kayaç konsolidasyonuna katılmaktadır [121-123]. Heterotrofik bakteriler olan *Bacillus sp.*, *Paenibacillus sp.*, *Staphylococcus sp.* özellikle duvar resimleri, mağara ve yeraltı mezarlığında sık rastlanan türlerdir [94].

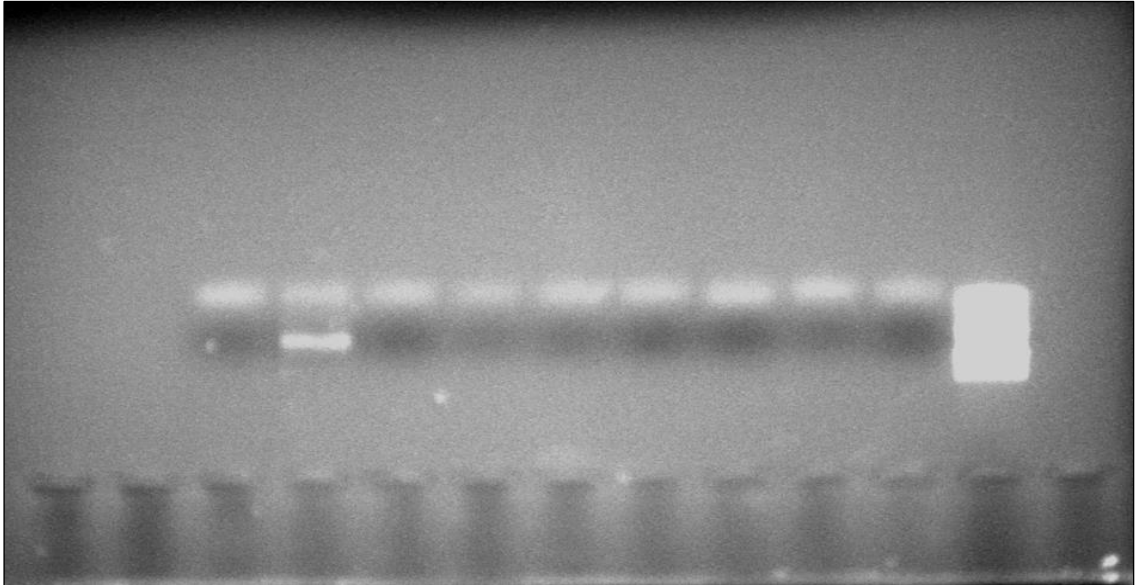
Çeşitli *Bacillus sp.* suşları EPS ve mineraller üreterek taş içerisindeki gözenekleri tıkarlar [119]. EPS taşın mineral yapısının gözenekleri boyunca mekanik zorlamalara neden olabilir [121]. EPS tarihi yapıların yüzeyinde siyah renklenmeye neden olan hava kirlenici partikülleri yakalamaktadır.

Bacillus subtilis bakterileri pürüzlü biyofilmler oluştururlar ve bu biyofilmden dolayı taş yüzeylerde oluşan renk değişimlerinin çıplak gözle görülebilir olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bakteriyel biyofilmler sporlu yapılara dönüşerek kalsifikasyonu (kireçlenme) arttırmaktadır [69]. *Bacillus subtilis* bakterilerinin granit taş yüzeylerde görünmesi öncelikle granit mineral bileşenlerinin çözünmesiyle başlar. Metabolitleri arasında oksalik asit varlığında Ca^{2+} ve $[C_2O_4]^{2-}$ iyonları yüzey çözeltisinde görülüp oksalat kristalleşmesi başlar oksalit asitler Ca iyonları ile birleşir $CaOx$ kristalleşmeleri ortaya çıkmaktadır. Ayrıca mantar oksalagenesis yoluyla da salınan kalsiyum oksalat, mantarlar ve oksalotrofik bakteriler tarafından metabolize edilmektedir [124].

Bazı *Bacillus sp.* türleri kendiliğinden emülsiyonlaştırıcı aktiviteye sahip yüzey aktif maddeler ve asitler üreterek taş bozunmasını hızlandıran bir etki gösterirler [125].

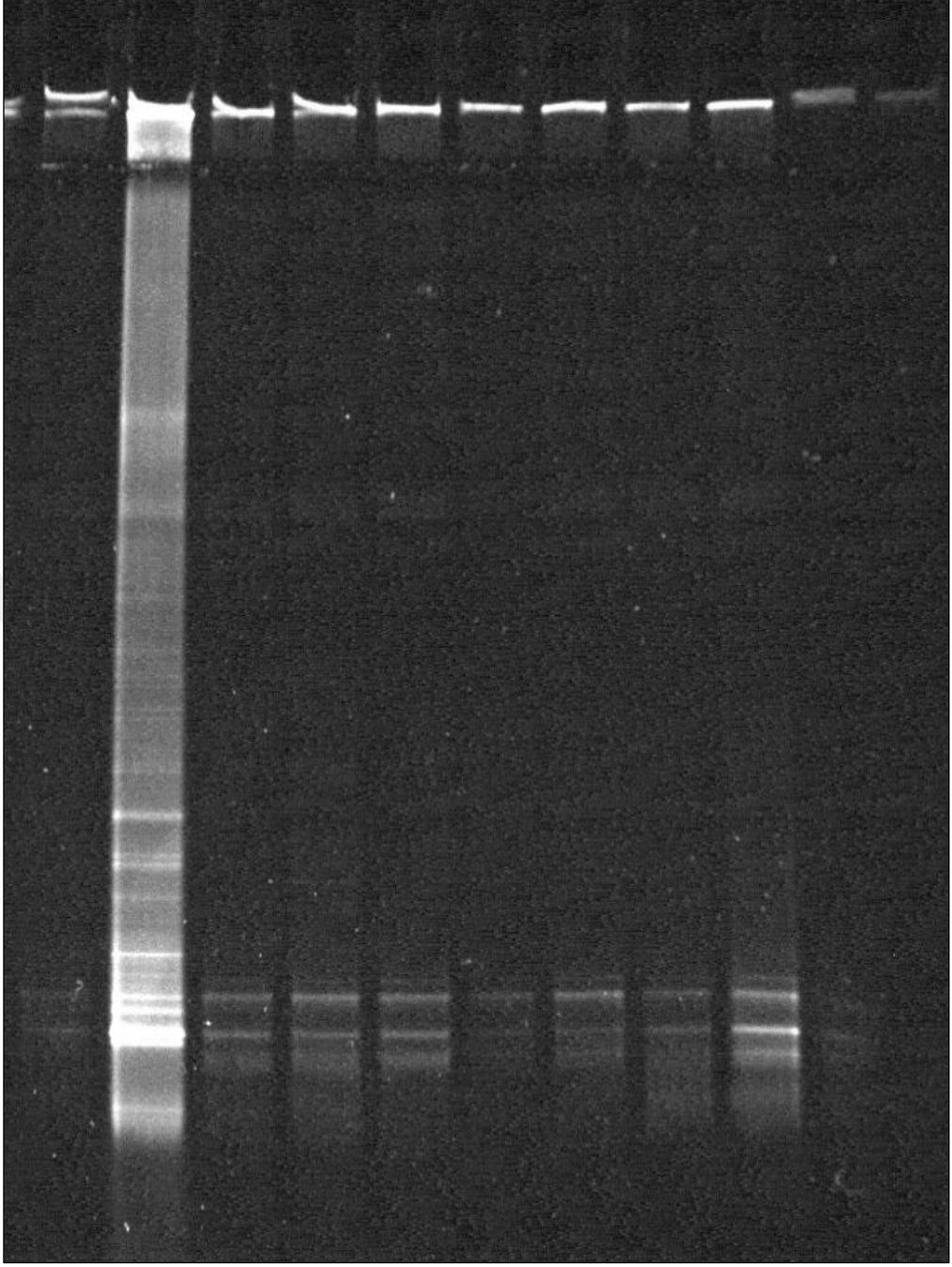
6.5 PCR ve DGGE Çalışmaları ile Bakteri ve Mavi-Yeşil Alg Türü Analizleri

Çalışmanın bu aşamasında tarihi eserlerdeki taş malzemelerin bozunmalarına yol açan bakteri türlerini tespit etmek amacıyla PCR ve DGGE çalışmaları yapılmıştır. 7 araştırma alanından alınan örneklerde NucleoSpin® DNA Isolation Kit prosedürü uygulanmıştır. Bu prosedürle ekstrakte edilen numuneler PCR aşamasına alınmıştır. PCR işlemleri ile elde edilen çoğaltılmış DNA zincirlerine DGGE uygulaması yapılmıştır. PCR işleminden sonra DNA'yı görüntülemek için agaroz jel elektroforezi gerçekleştirilmiştir. Şekil 6.22'de görüldüğü üzere jel üzerinde açılan kuyularda ilk kuyuya ait sütuna DNA işaretleyici (Ladder) yüklenmiştir. Ladder yüklenmiş kuyudan sonraki kuyulara sırasıyla Şehzade Köşkü 0.5 m, Şehzade Köşkü 2 m, Çukur Saray 0.5 m, Çukur Saray 2 m, Ertuğrul Tekke Camii 0.5 m, Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi 0.5 m, Yıldız-Hamidiye Camii, Çit Kasrı 0.5 m, Çit Kasrı 2 m yüksekliklerinden alınan araştırma alanlarına ait PCR örnekleri yüklenmiştir.

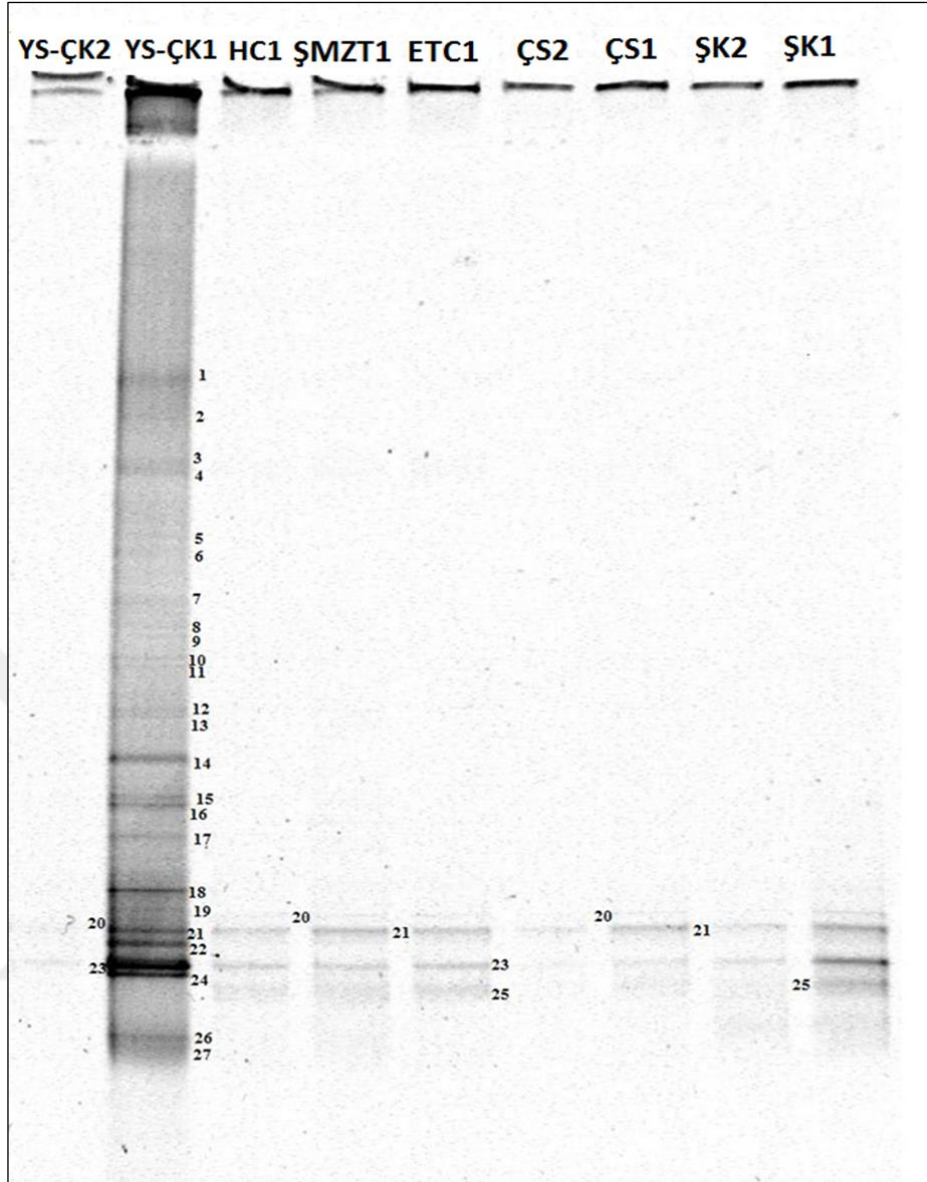


Şekil 6.22 Agaroz jel elektroforezi görüntüsü

Çalışmada bu aşamadan sonra DGGE kademesine geçilmiş olup, DGGE aşamasından elde edilen jelin görüntüsü Şekil 6.23'de gösterilmiştir.



Şekil 6.23 DGGE aşamasından elde edilen jel görüntüsü



Şekil 6.24 Poliakrilamid jel üzerinde görüntülenen DNA bantları

Şekil 6.24’de de görüldüğü üzere poliakrilamid jel elektroforezi neticesinde bakterilerin DNA’larının yoğunluğuna göre oluşan 27 bant tespit edilmiştir. Tespit edilen her bir bant kesilip PCR2 aşaması uygulanmıştır. PCR işlemi tamamlanan ürünler, nükleotit dizi analizinin belirlenmesi için REFGEN Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuvarına gönderilmiştir. Elde edilen DNA dizileri **BLAST** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) programı kullanılarak Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi veritabanındaki mevcut dizi bilgileri ile karşılaştırılıp; DGGE bant numaraları ile beraber gen bankası sekans dizilimleri erişim numaraları, mikrobiyal türler, benzerlik yüzdeleri raporlanmıştır (Çizelge 6.17).

Çizelge 6.17 DGGE profillerinden 16S rRNA gen dizilerinin kısmi tanımlanması

Bantlar	Örnekler	Blast Referans Suşları		Gen Bankası Erişim Numaraları	16S rRNA Benzerlik %
		En yakın akrabalık suşu	Suş (strain)		
1	YS-ÇK1	Calochaete cimrmanii	RKST551	NR_117712.2	94
2	YS-ÇK1	Cylindrospermum pellucidum	CCALA 989	NR_125683.1	93
3	YS-ÇK1	Cylindrospermum licheniforme	CCALA 995	NR_125686.1	93
4	YS-ÇK1	Microcoleus sp. PCC 7113	PCC 7113	NR_102467.1	92
5	YS-ÇK1	Calothrix sp. PCC 7507	PCC 7507	NR_102891.1	93
6	YS-ÇK1	Gloeocapsa sp. PCC 7428	PCC 7428	NR_102460.1	93
7	YS-ÇK1	Scytonema hofmanni	PCC 7110	NR_112180.1	89
8	YS-ÇK1	Arthrospira platensis	PCC 7345	NR_125711.1	91
9	YS-ÇK1	Lyngbya aestuarii	PCC 7419	NR_114680.1	91
14	YS-ÇK1	Chitinophaga jiangningensis	JN53	NR_118590.1	90
15	YS-ÇK1	Chroococcidiopsis thermalis	PCC 7203	NR_102464.1	87
16	YS-ÇK1	Chlorogloeopsis fritschii	PCC 6912	NR_112176.1	90
17	YS-ÇK1	Hassallia antarctica	CCALA 957	NR_117192.1	83
18	YS-ÇK1	Nostoc sp. PCC 7120	PCC 7120	NR_074310.1	82
19	YS-ÇK1	Brasilonema terrestre	CENA116	NR_116034.1	94
20	YS-ÇK1, ŞK1, ÇS1, ETC1, ŞMZT1, HC1, ŞK2, ÇS2	Oscillatoria nigro-viridis	PCC 7112	NR_102469.1	91
21	YS-ÇK1, ŞK1, ÇS1, ETC1, ŞMZT1, HC1, YS-ÇK2, ŞK2, ÇS2	Nostoc punctiforme	PCC 73102	NR_074317.1	89
22	YS-ÇK1	Halospirulina tapeticola	CCC Baja-95 Cl.2	NR_026510.1	93
23	YS-ÇK1,ŞK1 ÇS1,ETC1, ŞMZT1,HC1 ŞK2, YS-ÇK2	Anabaena cylindrica	PCC 7122	NR_102457.1	91
24	YS-ÇK1	Fischerella thermalis	PCC 7521	NR_112178.1	94
25	ŞK1,ÇS1, ETC1, ŞMZT1,HC1	Bacillus thermoamylovorans	LMG 18084	NR_117028.1	91
26	YS-ÇK1	Truepera radiovictrix	RQ-24	NR_074381.1	86
27	YS-ÇK1	Acidicaldus organivorans	Y008	NR_042752.1	83

Elde edilen tür teşhisi sonuçlarına göre tarihi yapılara ait taşlar üzerindeki bakteri türlerinin değişimlerini gösteren DGGE profilinde (Şekil 6.24), en az mikroorganizma türleri Şehzade Köşkü (2 m) ve Çukur Saray (2 m) dış duvar yüzeylerinden alınan örneklerde görülmüştür. ŞK2 ve ÇK2 numaralı sütunlarda sadece 2 bakteri türü (sırasıyla 21, 23 ve 20, 21 bantları) görülmüştür. Bu çalışmada tespit ettiğimiz bakteri, mavi yeşil algler ve kahverengi pigmentli mantarlar taş yüzeyinde oluşturdukları biyofilm ile mikroorganizmaların ihtiyacı olan besi maddelerinin taş yüzeyinde depolanmasını sağlayarak mikroorganizmalara uygun yaşama ortamı oluştururlar [1].

Şehzade Köşkü 2 m yükseklikteki duvar yüzeyinden alınan örnekte *Nostoc punctiforme* strain PCC 73102 (bant 21) ve *Anabaena cylindrica* strain PCC 7122 (bant 23); Çukur Saray'da ise *Oscillatoria nigro-viridis* strain PCC 7112 (bant 20) ve *Nostoc punctiforme* strain PCC 73102 (bant 21) cinslerine ait siyanobakteriler tespit edilmiştir.

Eşleşme sonucuna göre 23 numaralı bandın *Anabaena cylindrica* strain PCC 7122 (NR_102457.1) suşu ile 24 nükleotit bakımından farklılık olduğu ve %94 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 6.18).

21 numaralı bant %93 benzerlik oranı ile *Nostoc punctiforme* strain PCC 73102 (NR_074317.1) suşu olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 6.19'da referans suşu ile 21 nolu bant arasındaki 27 nükleotit farkı belirtilmiştir.

Çizelge 6.18 23 numaralı bandın *Anabaena cylindrica strain PCC 7122 (NR_102457.1)* ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları

Bant23: 7	GCGT-CT-CCCAGGCGGGATACTTA-CGCGTTAGCTACGGCACAGCTCGGGTCGATACGA	63
Ref: 836	GCGTACTCCCCAGGCGGGATACTTAACGCGTTAGCTACGGCACGGCTCGGGTCGATACAA	777
Bant23: 64	GCTACGCCTAGTATCCATCGTTTACGGCTAGGACTACTGGGGTATCTAATCCCATTTCGCT	123
Ref: 776	GCCACGCCTAGTATCCATCGTTTACGGCTAGGACTACTGGGGTATCTAATCCCATTTCGCT	717
Bant23:124	CCCCTAGCTTTCGTCCATGAGTGTCTAGTTACGGCCTAGCAGAGCGCTTTCGCCACCGGTG	183
Ref: 716	CCCCTAGCTTTCGTCCCTCAGTGTCTAGTTACGGCCTAGCAGAGCGCTTTCGCCACCGGTG	657
Bant23: 184	TTCTTCCCAATCTCTACGCATTTACCGCTACACTGGGAATTCCTCTGCCCCCACCACA	243
Ref: 656	TTCTTCCGTATATCTACGCATTTACCGCTACACAGGAATTCCTCTGCCCCGAACGTA	597
Bant23:244	CTCTAGCTGTGTAGTTTCCACTGCTGT-TCAGGGTTGAGCCCTGAC-CTTTGACAGCAG	301
Ref: 596	CTCTAGCTCTGTAGTTTCCACTGCTTTTATCA-TGTTGAG-CATGACTCTTTAACAGCAG	539
Bant23:302	ACTTACACTGCCACCTGCGGACGCTTTACGCCCAATCATTCGGGATAACGCTTGCACTCT	361
Ref: 538	ACTTACAAGGCCACCTGCGGACGCTTTACGCCCAATCATTCGGGATAACGCTTGCACTCT	479
Bant23:362	CCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGATGCTGATTCCTCAGGTACCGTCAT	421
Ref: 478	CCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGATGCTGATTCCTCAGGTACCGTCAT	419
Bant23:422	TGTATTCTTCCCTGAGAAAAGAGGTTTACGACCCAAGAGCCTTCCTCCCTCACGCGGTAT	481
Ref: 418	TTTCTTCTTCCCTGAGAAAAGAGGTTTACGACCCAAGAGCCTTCCTCCCTCACGCGGTAT	359
Bant23:482	TGCTCCGTCAGGCTTTCGCCCATTCGCGAAAATCCCCACTGCTGC	527
Ref: 358	TGCTCCGTCAGGCTTTCGCCCATTCGCGAAAATCCCCACTGCTGC	313

Ref: Referans suş

Çizelge 6.19 21 numaralı bandın *Nostoc punctiforme* strain PCC 73102 (NR_074317.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları

Bant21:12	ATGGGCG- CG GCCTGACGGAGC-ATACCGCGT G GGGAGG-AGGCTCTTGGGTCGT-AAC	67
Ref: 341	ATGGGCGA AA GCCTGACGGAGCAATACCGCGT G AGGAGGAAGGCTCTTGGGTCGTAAAC	400
Bant21:68	CTCTTTTCTCAGGGAAGAA T ACAATGACGGTACCTGAGGAAT C AGCATCGGCTAACTCCG	127
Ref: 401	CTCTTTTCTCAGGGAAGAA C ACAATGACGGTACCTGAGGAAT A AGCATCGGCTAACTCCG	460
Bant21:128	TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAG	187
Ref: 461	TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAG	520
Bant21:188	CGTCCGCAGGTGGCA G TGTAAGTCTGCTGT C AAAG-GTC AG GGCTCAAC C CTGA-ACAG G	245
Ref: 521	CGTCCGCAGGTGGCA A TGTAAGTCTGCTGT T AAAGAGT C TAG-CTCAAC T A-GATACA A G	578
Bant21:246	CAGTGGAAACTAC A CAGCTAGAGT G CG G TGGGGCAGAGGAATTCC C AGTGTAGCGGTG	305
Ref: 579	CAGTGGAAACTAC A TAGCTAGAGT A CG T CGGGCAGAGGAATTCC T GGTGTAGCGGTG	638
Bant21:306	AAATGCGTAGAGAT T GGGAAGAACACCGGTGGCGAA A AGCGCTCTGCTAGGCCG C AACTGA	365
Ref: 639	AAATGCGTAGAGAT C AGGAAGAACACCGGTGGCGAA G AGCGCTCTGCTAGGCCG T AACTGA	698
Bant21:366	CAC T CATGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGT	425
Ref: 699	CAC T GAGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGT	758
Bant21:426	AAACGATGGATACTAGGCGT A GCT C GTATCGACCCGAG C TGTGCCGTAGCTAACGCGTTA	485
Ref: 759	AAACGATGGATACTAGGCGT G GCT T GTATCGACCCGAG C CGTGCCGTAGCTAACGCGTTA	818
Bant21:486	AGTATCCCGCCTGGGGAGTACGC	508
Ref: 819	AGTATCCCGCCTGGGGAGTACGC	841

Nostoc punctiforme nispeten yüksek ışık yoğunluğu alan yüzeylerde yaygın olarak bulunan bir cinstir [126]. Her örnek alanda tespit edilen bu tür baskın olarak bulunmuştur. Filamentli siyanobakterilerin bir türü olan *Nostoc punctiforme* taş eserlerin dış cephelerinde siyah-kahverengi biyofilm şeklinde yüzeyi kaplamış olarak

görülmektedir [127], [128]. *Nostoc sp.* cinsine ait mavi-yeşil algler metabolizmaları esnasında musilaj “yapışkan” maddeler üreterek kendilerinin ve diğer mikroorganizmaların taşın yüzeyine yapışmasına olanak sağlamakta ve *Oscillatoria sp.* cinsine ait mavi-yeşil alglerle beraber taşların biyolojik parçalanmasında görev almaktadır [2], [92]. *Nostoc sp.* siyanobakterileri nitrojen dönüşümünde de önemli rol oynamaktadır. Bir azot bağlayıcı olarak bu bakteriler, beslenme koşulları çok extem olan yani besin maddeleri bulunmayan (çok az bulunan) taşların yüzeyinde yaşayan diğer mikroorganizmalara besin maddesi sağlama görevini üstlenmektedir. *Nostoc sp.* aynı zamanda karasal ekosistemlerde de azot bağlayıcı olarak simbiyotik yaşama katılan mantar, liken, yosun ve eğrelti otu da dahil olmak üzere diğer canlılara yardımcı rol üstlenmektedir [7]. *Nostoc sp.* (bant 18) ve *Gloeocapsa sp.* (bant 6) havanın azotunu amonyum ve nitratlara dönüştürerek fikse ettiği için kendinden sonra taş yüzeyine gelecek olan diğer mikroorganizmalara ve heterotrofik bakterilere yaşam alanı sağlamaktadır [129]. Fototrof mikroorganizmalar aynı zamanda primer üretici olduklarından taş yüzeyi gibi ekstrem ekosistemlerde öncü canlılar olarak kabul edilirler heterotrofik mikroorganizmalar bu canlıların ürettiği ekstra selüler polimerik organik maddeleri kullanarak gelişmelerini sağlarlar. Aynı zamanda ölen fototrofik mikroorganizmalar da heterotroflara besin kaynağı teşkil ederler. Bu nedenlerle taş yüzeyindeki biyolojik bozunmayı araştıran birçok çalışma mavi yeşil algler gibi fotosentetik canlılar üzerinde yoğunlaşmıştır [129].

Bant 20 ve 21’e ait türler; Ertuğrul Tekke Camii, Şeyh Muhammed Zafiri Türbesi, Yıldız-Hamidiye Camii ve Çit Kasrı’nın dış duvar yüzeylerinden alınan örneklerde de tespit edilmiştir. Şehzade köşkü ve Çukur Saray tarihi yapılarına ait 0.5m yükseklikteki duvarlarından alınan örneklerde *Nostoc punctiforme strain PCC 73102*, *Anabaena cylindrica strain PCC 7122* ve *Oscillatoria nigro-viridis strain PCC 7112* türleri 20, 21, 23 numaralı bantlar ortak olarak bulunurken, Şehzade Köşkü duvarında buna ilave olarak diğer tarihi yapıdan farklı 25 nolu bant ortaya çıkmıştır. Bu bantta tür olarak *Bacillus thermoamylovorans strain LMG 18084* şusu tespit edilmiştir. Taş yüzeyindeki *Bacillus* türleri metabolizmaları esnasında organik asitler oluşturmakta ve bu organik asitler taşlardaki Fe, Mg, Mn, Si, Al, Ca gibi elementleri çözmemektedir [130]. Çözünen bu elementler mikroorganizmaların büyüme ve gelişmesinde kullanılmaktadır. Bu

yapılarda çokça kullanılan küfeki taşı olarak bildiğimiz kalker, silis ve fosil çökeltilerinden oluşan yapı malzemesi *Bacillus sp.* türü bakterilerin salgıladığı organik asitlerle karşılaşmadıklarında çok daha dayanıklı olarak kalmaktadır. Literatür çalışmalarında da görülmüştür ki *Bacillus sp.* türü bakteriler kalkerli taşlara zarar veren mikroorganizmaların başında gelmektedir [130].

20, 21, 23 numaralı bantlarda da fotosentetik bir bakteri grubu olan ve mavi-yeşil alg olarak da adlandırılan siyanobakterilere (Cyanobacteria) rastlanmıştır. Siyanobakteriler; gram-negatif fotosentetik prokaryot mikroorganizma olup [131]'de taş anıtlarda ışığa maruz kalan yüzeylerde koloni oluşturan başlıca organizmalardır [2]. Siyanobakteriler fototrofik mikroorganizma olduğu ve klorofil-a, betakarotin, flavianin, fikosistein fotosentetik pigmentlerini taşıdığı için tarihi yapıların dış yüzeylerinde büyümesi esnasında oluşturduğu biyofilmler ile taşlarda renk değişikliğine ve fiziko-kimyasal bozulmalara neden olmaktadır [132], [106]. Tarihi yapılarda tahrip olmuş ve tahrip olmamış taşlar üzerinde yaşayan mikrobiyal topluluğun incelendiği bir araştırmada hem bozulan hem de bozulmamış taş yüzeylerinde siyanobakterilerin bulunduğu ve bu ortamlardaki mikrobiyolojik aktivitelerde önemli derecede rol aldığı ortaya konmuştur. Özellikle bozulmaya uğramamış yüzeylerde baskın organizma türü *Anabaena cylindrica*, bozulmaya uğrayan yüzeylerde ise baskın organizma *Chroococcidiopsis sp.* olduğu belirlenmiştir [133]. *Anabaena cylindrica* (bant 23), tatlı sularda yaygın olarak bulunan filamentli ve azot tespit eden bir mavi-yeşil algdır. Azot fiksasyonundan sorumlu olan bu mavi-yeşil algler heterosit adı verilen özel kalın duvarlı hücrelere sahip türlerdir. 15 numaralı bantta tespit edilen *Chroococcidiopsis thermalis strain PCC 7203* ise zorlu çevre şartlarına (örneğin; aşırı sıcak ve soğuk, kurak koşullar) toleranslı olan tek hücreli bir Cyanobacterium'dur [133-135]. *Chroococcidiopsis sp.* gibi kriptoenolitik siyanobakteriler kaya yüzeylerinin altında kriptoenolitik likenler, mantarlar ve bakteriler ile birlikte yaşarlar [134], [135].

1 numaralı bantta toprak yüzeylerinde yaşayan filamentli bir siyanobakteri olan Cyanophyceae sınıfına ait *Calochaete cimirmanii strain RKST551* 16S türü tespit edilmiştir. Bu mavi-yeşil alg hidrate polisakkaritlerden (hydrated polysaccharides) oluşan yapışkan bir musilaj oluşturarak hücre dışına vermektedir [136]. Oluşan bu musilaj tabaka içerisinde onlarca mikroorganizma türünün barındığı kolonilerin

oluşmasına katkı sağlar [1]. Çizelge 6.20’de sekans analizi ile belirlenen dizinin referans alınan dizi ile eşleşme sonuçları verilmiştir.

Çizelge 6.20 1 numaralı bandın *Calochaete cimrmanii* strain RKST551 (NR_117712.2) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları

Bant1:	1	CTGACGGAGC-ATACCGCGTGAGGGAGG-AGGCTCTTGGGT	CGT-AACCTCTTTTCTCAG	57
Ref:	28	CTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGAGGAAGGCTCTTGGGT	TGTAAACCTCTTTTCTCAG	87
Bant1:	58	GGAAGAAC	CAATGACGGTACCTGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCG	117
Ref:	88	GGAAGAA	AAATGACGGTACCTGAGGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCG	147
Bant1:	118	CGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGTG		177
Ref:	148	CGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGTG		207
Bant1:	178	GCA	GTGTAAGTCTGCTGTCAAAG-GTCAGGGCTCAACC-CTGAACAGGCAGTGGAACATA	235
Ref:	208	GCT	GTGTAAGTCTGCTGTAAAGAGTGAGG-CTCAACCTCATAGA-GCAGTGGAACATA	265
Bant1:	236	CACAGCTAGAGTGCG	GTGGGGCAGAGGGAATTCCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG	295
Ref:	266	CACAGCTAGAGTGCG	TTCGGGGCAGAGGGAATTCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG	325
Bant1:	296	AT	TGGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCTGCTAGGCCGTAACTGACACTCATGGACG	355
Ref:	326	AT	CAGGAAGAACACCGATGGCGAAAGCGCTCTGCTAGGCCGCAACTGACACTGAGGGACG	385
Bant1:	356	AAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGATA		415
Ref:	386	AAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGATA		445
Bant1:	416	CTAGGCGT	AGCTCGTATCGACCCGAGCTGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCGCCT	475
Ref:	446	CTAGGCGT	GGCTTGTATCGACCCGAGCCGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCGCCT	505
Bant1:	476	GGGGAGTACGC		486
Ref:	506	GGGGAGTACGC		516

Ref: Refererans suş

Eşleştirme sonucuna göre 1 nolu bandın *Calochaete cimrmanii* strain RKST551 (NR_117712.2) suşu ile arasında 23 nükleotit bakımından farklılık olduğu ve %94 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 6.21 2 numaralı bandın *Cylindrospermum pellucidum* strain CCALA 989 (NR_125683.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları

Sample	Position	Sequence	Length
Bant2	1	CCTGACGGAGC-ATACCGCGTGAGGGAGG-AGGCTCTTGGGT CGT -AACCTCTTTTCTCA	57
Ref	27	CCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGAGGAAGGCTCTTGGGT TGT AAACCTCTTTTCTCA	86
Bant2	58	GGGAAGAA TACA ATGACGGTACCTGAGGAAT CAG CATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCC	117
Ref	87	GGGAAGAA AAAA ATGACGGTACCTGAGGAAT AAG CATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCC	146
Bant2	118	GCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGT	177
Ref	147	GCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGT	206
Bant2	178	GGC AGT GTAAGTCTGCTGT CAAA GG TCAG GGCTCAAC CTGA AC AGGCAGTGGA AACTAC	237
Ref	207	GGC TAT GTAAGTCTGCTGT TAAAG AG CAAG GGCTCAAC CTTG TAA AGGCAGTGGA AACTAC	266
Bant2	238	ACAG CTAGAGTGCG GTG GGGGCAGAGGGAATTCC CAG TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGA	297
Ref	267	ATGG CTAGAGTGCG TTT CGGGGCAGAGGGAATTCC TG GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGA	326
Bant2	298	TTG GGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCTGCTAGGCC CTAA CTGACACT CAT GGACGA	357
Ref	327	TCAG GAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCTGCTAGGCC CA ACTGACACT GAG GGACGA	386
Bant2	358	AAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGATAC	417
Ref	387	AAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGATAC	446
Bant2	418	TAGGCGT AGCT CGT ATCGACCCGAG CTGT GCCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCGCCTG	477
Ref	447	TAGGCGT GGCT TGT ATCGACCCGAG CCGT GCCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCGCCTG	506
Bant2	478	GGGAGTACG CTCG CAAG AGT GAA-CTCAAAGGGAAATTGACGGG	520
Ref	507	GGGAGTACG CA CGCAAG TGT GAAACTCAAAGG-AA-TTGACGGG	548

Çizelge 6.21’de 2 numaralı bantta yine topraklarda yaşayan filamentli bir siyanobakteri olan *Cylindrospermum pellucidum strain CCALA 989* şusu 29 nükleotit farkı ile % 93 benzerlik oranında tespit edilmiştir. Sao Francisco kilisesinde endolitik mikroorganizma büyümesinin araştırıldığı çalışmada siyanobakterilerin granit taşta siyah bir patina halinde büyüme gösterdiği bulunmuştur. Siyanobakteriler kaya yarık ve çatlaklarında ve kumtaşı, mermer gibi gözenekli şeffaf kayalarda oluşan oyuklarda yaşayabilir ancak yoğun koyu renkli volkanik kayalarda bulunmayabilirler [134]. Çalışmada incelenen yapılardan biri olan Çukur Saray duvarları volkanik bir kayaç olduğundan siyanobakteri türlerine daha az sayıda rastlanmıştır.

4 numaralı bantta *Microcoleus sp. PCC 7113 strain PCC 7113* suşu tespit edilmiştir. *Microcoleus sp.* (bant 4), sularda yaygın olarak bulunan filamentli ve azot tespit eden bir mavi-yeşil algdir. Azot fiksasyonunda önemli görev alan bu mavi-yeşil alg taş yüzeyinde yaşayan "mikrobiyal mat" olarak da adlandırılan mikrobiyal kolonizasyonun gelişmesinde önemli derecede etkilidir. Aynı zamanda oluşturduğu fotosentetik pigmentlerle taşların bozunması üzerinde de etkilidir. Taş yüzeylerinde oluşan renk değişimleri taşın estetik görünümünü bozmaktadır. Özellikle siyahımsı renklerin ortaya çıkması fototrofik biyofilm oluşumlarına bağlıdır. Bu biyofilmlerin yağmurla ıslanmasından hemen sonra *Hassallia sp.*, *Tolypothrix sp.*, *Scytonema sp.*, *Lyngbya sp.* ve *Calothrix sp.* türü siyanobakteriler üreyerek ortaya çıkmaktadır [137]. Çalışmada 5 numaralı bant *Calothrix sp. PCC 7507 strain PCC 7507*, 17 numaralı bant *Hassallia antarctica strain CCALA 957* ve 9 numaralı bantta *Lyngbya aestuarii strain PCC 7419*, 7 numaralı bantta da *Scytonema hofmanni strain PCC 7110* türleri tespit edilmiştir. *Scytonema hofmanni* cinsi mavi-yeşil algler taş yüzeylerde, topraklaşmış kabuklarda gelişme göstermektedir [138]. Çit kasrı 0.5 m yükseklikten alınan örnekte tespit edilen *Calothrix sp.* (bant 5), taşın üst yüzeylerinde düz siyah bir biyofilm oluşturan heterosit yapıya sahip olabilen bir mavi-yeşil algdir [139]. Literatürde *Hassallia Antarctica strain CCALA 957* (bant 17) ile eşleşen tür tanımlamalarına rastlanmamıştır. Farklı çalışmalardaki elde edilen bilgilere dayanarak taş yarıklarında yerleşme gösterdiğinden bahsedilmiştir [139]. Siyanobakteriler arasında en yaygın olanları *Nostoc sp.*, *Calothrix sp.* ve *Hyella sp.*’dir [140]. Bu bakteriler, yeterince nemli olan ve güneş ışığına maruz kalmayan bölgelerde üreme gerçekleştirerek likenik formda da görülmektedirler [141].

Çalışmada incelenen taş yüzeylerde yaygın bir alg florası tespit edilmiş, bu alg florasına da *Oscillatoria sp.* (bant 20) gibi hareketli alg örnekleri gözlenmesinin yanında, *Anabaena* (bant 23) gibi hareketsiz formlar da gözlenmiştir. Kurak kaya yüzeylerini genellikle Cyanophyceae türleri, nemli bölgelerde ise kaya yüzeylerini *Gloeocapsa sp.* (bant 6) ve *Nostoc sp.* (bant 21) üyeleri örtmektedir. Mavi-yeşil algler içerisinde, *Anabaena sp.*, *Nostoc sp.*, *Cylindrospermum sp.* gibi cinsler (tüm Nostacaceae familyasına ait örnekler) atmosfer azotunun fiksasyonunu sağlamaktadır [7], [145]. Böylece mikroorganizma gelişmesi için uygun olamayan koşullar taşıyan taş yüzeyleri mikrobiyal gelişme için nispeten uygun ortamlar haline gelmektedir.

8 numaralı bantta görülen *Arthrospira platensis* strain PCC 7345 şusu yüksek protein içerikli azot bağlamayan (non-nitrogen fixing), ortamdaki nitratları kullanan iplikli, spiral şekilli prokaryotik bir organizmadır [143], [144]. Bunun gibi birçok siyanobakteriyel tür nitrojenaz enzimine sahiptirler ve gelişimleri için atmosferik azotu fikse edebilirler [145].

Siyanobakteri sınıfları arasında kaya ve taş duvar yüzeylerine yapışık olarak yaşayanların çoğunluğunun genelde yuvarlak, renkli, yapışkan tabaka oluşturan heterosistik tiplerinin biyokütle açısından baskın olduğu belirtilmektedir [146]. Organik asit üretme kabiliyetinde olan bu siyanobakteriler diğer bakteri ve mantarlar için organik besinler de sağlayarak taş parçalanma oranını daha da arttırmaktadır [147]. 6 numaralı bantta tespit edilen ve kokoid bir siyanobakteri olan *Gloeocapsa sp.* PCC 7428 strain PCC 7428 şusu *Microcoleus sp.* cinsleri gibi tüm doğal ortamlarda (hava-su-toprak) bulunan mavi-yeşil alglerdir. *Gloeocapsa sp.* aşırı renkli yoğun jelatinli kılıflara sahip olduğundan taş yüzeylerine yapışması kolay olmaktadır ve bu kılıf kuru hava şartlarında dahi taş yüzeylerinde koloni oluşturmalarına neden olmaktadır [134]. *Gloeocapsa sp.* ve *Scytonema sp.* cinsine ait mavi-yeşil alglerin bulunduğu ortamlarda sıcaklık, nem ve güneş ısınları varlığında taş yüzeyinde bulunan bu mikroorganizmalar siyah kabuk oluşturan mikroorganizmalara yaşam alanı sağlayarak taş yüzeyinde siyah kabuk oluşmasına neden olmaktadır [148]. Taşların mikrobiyolojik bozunmasının göstergesi olan siyah kabuğun baskın mikroorganizmaları; mantarlar olmasına karşın yeşil subaral noktaların baskın mikroorganizmaları alglerdir [10], [93]. Siyah kabuklarda oluşan biyofilmlerde bol miktarda Chroococcales (*Gloeotheca sp.*,

Gloeocapsa sp., vb.) bulunmaktadır [149]. Yapılan bir araştırmada siyah kabukların mineral içeriğinin siyanobakterilerin gelişimini desteklemek için yeterli olduğu ifade edilmektedir [107].

Bu iki türün oluşturduğu yaşam alanı ardından gelecek olan ve “mikrobiyal konsortia” adı verilen *Scytonema sp.*, *Asterocapsa sp.*, *Calothrix sp.*, *Gloeocapsa sp.*, *Chroocococcus sp.*, *Chroococcidiopsis sp.*, *Cylindrospermum sp.*, *Leptolyngbya sp.*, *Pseudophormidium sp.*, *Blennothrix sp.*, *Plectonema sp.*, *Tolypothrix sp.*, *Hassallia sp.*, *Coleodesmium sp.* cinslerine ait mikroorganizmaların ortama yerleşmesine öncülük etmektedir [126], [136], [145]. 3 numaralı bantta tespit edilen *Cylindrospermum licheniforme strain CCALA 995* Cyanophyceae grubunda bulunmaktadır. Bu tür de taş yüzeyinde yer alan mikrobiyal ekosistemin önemli bireylerindendir. Yapılan bir araştırmada tarihi eserlerdeki taşların elemental bileşimi ile üzerinde yaşayan mikro-makro organizma toplulukları arasında pozitif ilişki bulunmuştur. Bu anlamda taşlarda bulunan Mg^{+2} , Na^{+} , K^{+} elementleri, organik karbon, karbonat ve klor iyonları ile mavi-yeşil algler arasında pozitif ilişki bulunmuştur [79].

Taş yapıtların üzerinde oluşan siyanobakterilerin tüm türleri azot bağlama kapasitesine sahiptir ve çöller ve tuzlu ortamlar da dahil tropik ortamın tüm koşulları altında hayatta kalabilmektedirler [126]. Kayaçlarda yaşayan siyanobakteriler ve yeşil algler taşların küçük parçalara ayrılması ve toprak oluşumu sağlayarak toprağın su tutma kapasitesini arttırmaktadır [134]. Siyanobakteri ve alglerin büyümesiyle taş yüzeyinde oluşan kabuklar ve aynı zamanda taş yüzeyindeki mikrobiyal ekosistem gözeneklerde bulunan nemin dışarıya çıkmasını engelleyerek taşın daha uzun süre nemli kalarak taş kolonizasyon potansiyelini arttırmakla sonuçlanır.

Brasilonema terrestre strain CENA116, periyodik olarak ıslak kalan kayalar ve duvarlar üzerinde [150], *Halospirulina tapeticola strain CCC Baja-95 Cl.2* tuzluluk oranı yüksek ortamlarda yaygın olarak karşılaşılan bir mavi-yeşil alg türüdür [151]. Ayrıca, *Spirulina sp.* (*Arthrospira*), *Oscillatoria sp.* ve *Anabaena sp.* gibi hızlı gelişen mavi-yeşil algler; protein, pigment, yağ asitleri, karbonhidratlar gibi nütrientleri üretmektedir [142]. Tarihi eserlerdeki taş yüzeyindeki mikroorganizmalar konusunda yapılan çalışmalarda *Brasilonema sp.* tür ve şuşlarına zaman zaman rastlanmamıştır. Literatürün çalışmaları

çoğu ağırlıklı olarak avrupa'ya özgü siyanobakteriler üzerinde yoğunlaşmıştır. Çizelge 6.22'de tespit edilen 22 numaralı bandın *Halospirulina tapeticola* ile 16S rRNA eşleştirme sonuçları gösterilmiştir.

Çizelge 6.22 22 numaralı bandın *Halospirulina tapeticola* CCC Baja-95 Cl.2 (NR_026510.1) ile 16S rRNA eşleştirme sonuçları

Bant22:11	AATGGAGCG-AAGCCTGACGGAGC-ATACCGCGTG	GGGGA	GAAGG	CTCTTGGG	TCGT-A	67
Ref: 314	AATGG-GCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTG	AGGGA	AGAAGG	TCCTTGG	ATCGTAA	372
Bant22:68	ACCTCTTTTCTCAGGGAAGAA-T	ACAATGACGGTACCTGAGGAAT	CAGC	ATCGGCTAACT		126
Ref: 373	ACCTCTTTTCTCAGGGAAGAAGT	TC--TGACGGTACCTGAGGAAT	AAGC	CTCGGCTAACT		430
Bant22:127	CCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGA	TGCAAGCGTTATCCGGAAT	GATTGGGCGTA			186
Ref: 431	CCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGA	GGCAAGCGTTATCCGGAAT	TATTGGGCGTA			490
Bant22:187	AAGCGTCCGCAGGTGGC	AGTGTAAAGTCTGCTGTCAAAG	GTAGGCT	CAAC-CTGAACA		245
Ref: 491	AAGCGTTCGCAGGTGGC	TGTTCAAAGTCTGCTGTCAAAG	ACCGAGCT	TAACTCCGAA-A		549
Bant22:246	GGCAGTGGAACTACACAGCTAGAGTGCGGT	GGGGCAGAGGGAATTCCCACTGTAGCGG				305
Ref: 550	GGCGGTGGAACTGAAGAGCTAGAGTGCGGT	AGGGGTAGAGGGAATTCCCACTGTAGCGG				609
Bant22:306	TGAAATGCGTAGAGATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCT	GCTAGGCCG	TAACT			365
Ref: 610	TGAAATGCGTAGAGATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCT	ACTAGGCCG	CAACT			669
Bant22:366	GACACTCA	TGGACGAAAGCTAGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCC				425
Ref: 670	GACACTCA	GGGACGAAAGCTAGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCT				729
Bant22:426	GTAAACGATGG	ATACTAGGCGTAGCTCGTATCGACCCGAGCTGTGCCG	TAGCTAACGCGT			485
Ref: 730	GTAAACGATGG	TACTAGGCGTAGCTTGTATCGACCCGAGCTGTGCCG	AAGCTAACGCGT			789
Bant22:486	TAAGTA	TCCCGCCTGGGGAGTACGCTCGCAAG	AGTGAAACTCAA			529
Ref: 790	TAAGTA	CCCCGCCTGGGGAGTACGCAAG	TGTGAAACTCAA			833

Microcoleus sp., *Anabaena Cylindrica* suşlarına benzer şekilde 16. Banttta tespit edilen *Chlorogloeopsis fritschii* PCC 6912 suşu, taş ortamında uygun organik madde varlığında gelişim göstermekte ve azot fiksasyonunda görev almaktadır [152].

Chitinophaga jiangningensis strain JN53, potasyum içeren kayalarda ayrışmaya neden olabilir ve Si, Al, K ve Fe'nin serbest bırakılması sağlanır. Oksidaz ve katalaz aktiviteler için pozitif reaksiyonlar göstermektedir [153]. *Fischerella thermalis* strain PCC 7521, ışık kaynağına en yakın yerde biyofilm oluşturarak biyolojik bozunmaya bir katkısı vardır [10]. Çizelge 6.23'de 24 nolu bandın *Fischerella thermalis* ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları ve benzerlik oranı ile nükleotit farkları gösterilmiştir.



Çizelge 6.23 24 numaralı bandın *Fischerella thermalis strain PCC 7521 (NR_112178.1)* ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları

Bant24:25	GCCTGACGGAGC-ATACCGCGTGGGGAGGAAGGCTCTTGGGTCTG-AACCTCTTTTCTC	82
Ref: 242	GCCTGACGGAGCAATACCGCGTGGGGAGGAAGGCTCTTGGGTGTGTAAACCTCTTTTCTC	301
Bant24:83	AGGGAAGAA-TACAATGACGGTACCTGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAG	141
Ref: 302	AAGGAAGAAGTTC--TGACGGTACTTGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAG	359
Bant24:142	CCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAG	201
Ref: 360	CCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAG	419
Bant24:202	GTGGCAGTGTAACTCTGCTGTCAAAGG-TCAGGGCTCAACCCTGA-ACAGGCAGTGGAAA	259
Ref: 420	GTGGTTGTGTGTGTCTATTGTCAAAGCATCATG-CTTAACA-TGATAAAGGCAGTAGAAA	477
Bant24:260	CTACACAGCTAGAGTGCGGTGGGGCAGAGGGAATTCCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTA	319
Ref: 478	CTACACGACTAGAGTGCGTTCGGGGCAGAGGGAATTCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTA	537
Bant24:320	GAGATGGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCTGCTAGGCCGCAACTGACACTCATGG	379
Ref: 538	GAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCTGCTAGGCCGCAACTGACACTGAGGG	597
Bant24:380	ACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGG	439
Ref: 598	ACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGG	657
Bant24:440	ATACTAGGCGTAGCTCGTATCGACCCGAGCTGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCG	499
Ref: 658	ATACTAGGCGTAGCTAGAGTATCGACCCCTCTAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTATCCCG	717
Bant24:500	CCTGGGGAGTACGCTCGCAAGAGTGAA-CTCAA-GGAA	535
Ref: 718	CCTGGGGAGTACGCAAGTGTGAACTCAAAGGAA	755

Ref: Refererans suş

Çizelge 6.24 25 numaralı bandın *Bacillus thermoamylovorans* strain LMG 18084 (NR_117028.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları

Bant25: 12	ATGGACG-AGTCTTGACGCAGC-CCGCCGCGTGAC TGATG -AGGTCTTCGGATCGT-AA	67
Ref: 355	ATGGACGAAAGTC-TGACGGAGCAACGCCGCGTGAC YGAAGA AGGTCTTCGGATCGTAAA	413
Bant25:68	GCTCTGTTGTTAGGGACGATA ATG -ATCGGAGG-AATGCCGGTACCTTGACGGT TC CTGA	125
Ref: 414	GCTCTGTTGTTAGGGAA AGAACA AGTATCGGAGGAAATGCCGGTACCTTGACGGT AC CTGA	473
Bant25:126	CCAGAAAGCCACGGCTTACTACTTGCCACTAGCC TT GGTAATACT T TACGTGGCA TA CGTT	185
Ref: 474	CGAGAAAGCCACGGCT A ACTACGTGCC AGC AGCC GC GGTAATAC G TAGGTGGCA AG CGTT	533
Bant25:186	GTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCTTT TC ATCTGATGTGAAATCT	245
Ref: 534	GTCCGGAWTTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCTTT AAG TCTGATGTGAAATCT	593
Bant25:246	TGCGGCTCAACCGC CTT CGGTCATTGGAACTGGGGGACTTGAGTG T -GAAGAGGAAAA AA	304
Ref: 594	TGCGGCTCAACCGC AAG CGGTCATTGGAACTGGGGGACTTGAGTG C AGAAGAGGAA AGC	653
Bant25:305	T TGAATTCATCTTGTA AG AGTGAAATGGGTAAAGATGTGGA AGA ACACC C GTGGCTGAAG	364
Ref: 654	G -GAATTC CA CGTGTA GCG GTGAAATG CG TA G AGATGTGGA G GAACACC A GTGGC-GAAG	711
Bant25:365	GCTGCTTTCTGGTC CG TAACTGACC CT CAGGATCAAA TA CTGGGGAGCAAAC GC GATTA	424
Ref: 712	GC GG CTTTCTGGTC T GTA A CTGAC G CT GAGGCG GAA AGC GTGGGGAGCAAAC AG GATTA	771
Bant25:425	A ATACCCTGGTA AT CCACC CC GTA A CTATGA AT GTCTAAGTGTGG A AGGTTTCCGCCCT	484
Ref: 772	G ATACCCTGGTA G TCCAC G CCGTA A CTGATGA G TGCTAAGTGTGG G GGTTTCCGCCCT	831
Bant25:485	TTC -TGCTGCG GG GTAACG CT T CA CACTCCGCCTGG A AGTACGTGTCGGAAGACTGA	543
Ref: 832	T CAGTGCTGC AG GCTAACGC AT TA AG CACTCCGCCTGG G GAGTACG-GTCGC-AAGACTGA	889
Bant25:544	AACTCAA G GGAATTTGACGGG	564
Ref: 890	AACTCAA A GGAATT-GACGGG	909

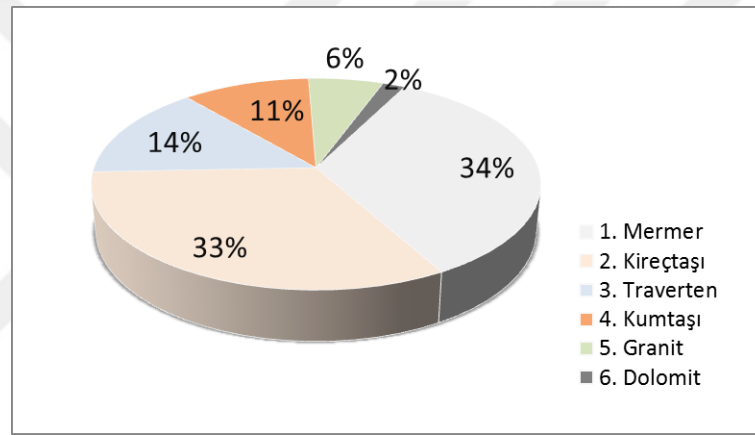
24 numaralı bant %91 benzerlik oranı ile 36 nükleotit farkıyla *Fischerella thermalis* strain PCC 7521 (NR_112178.1) suşu tespit edilmiştir. 25 nolu banda ait izolatın *Bacillus thermoamylovorans* strain LMG 18084 (NR_117028.1) suşu ile 66 nükleotit bakımından farklılık olduğu ve %86 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 6.25 27 numaralı bandın *Acidicaldus organivorans* Y008 (NR_042752.1) ile 16S rRNA dizi eşleştirme sonuçları

Bant27:	11	ATGGGCG-CAGCCTGATCCAGC-ATGCCGCGTGGGTGATGAAGGTCTTCGGATTGT-AAG	67
Ref:	284	ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGGGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG	343
Bant27:	68	CCCTTTCGGCGGGGACGATGATGACGGTACCCGAGAGAAGCCCCGGCTAACTTCCTTGC	127
Ref:	344	CCCTTTCGGCGGGGACGATGTGACGGTACCCGAGAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGC	403
Bant27:	128	CGCCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTGGCGTTGCTCGGAATGACTGGGCGTAAAGGGC	187
Ref:	404	CAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATGACTGGGCGTAAAGGGC	463
Bant27:	188	GCGTAGGCGG-T-TCGTACAGTCGGGCGTGAAATTCCTGGGCTCAACCTGGGGACTGCGT	245
Ref:	464	GCGTAGGCGGCTCTCAT-C-GTCGGGCGTGAAATTCCTGGGCTTAACCTGGGGGTGCGT	521
Bant27:	246	TCGAGACGTTTGGTCTAGAGTGGGAATAGGGTCGTGGAATCCCAGTGTAGAGGTGAAA	305
Ref:	522	TCGATACGTGGGGCTTGAGTGTGGGAGAGGGTCGTGGAATCCCAGTGTAGAGGTGAAA	581
Bant27:	306	TTCGTAGATATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCGACCTGGTCCCTGACTGACGC	365
Ref:	582	TTCGTAGATATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCGACCTGGTCCATGACTGACGC	641
Bant27:	366	TGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTGGTATGCCACGCCGTAAA	425
Ref:	642	TGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTGGTATGCCACGCTGTAAA	701
Bant27:	426	CGATGTGCGCTGGATGTTGGGCGGCTTACCCGCTCAGTGTGCTATCTAACTCGATAAGCA	485
Ref:	702	CGATGTGCGCTGGATGTTGGGTGGCGTAGCTGCTCAGTGTGCTAGCTAACGTGGTAAGCG	761
Bant27:	486	CACCGCCCGGGGAGTACGGCCGCGC-GGTTGATA-TCAA	521
Ref:	762	CACCGCCTGGGGAGTACGCCGCGCAAGGTTGAAACTCAA	799

(NR_074381.1) suşu ile 78 nükleotit bakımından farklılık olduğu ve %83 oranında benzerlik tespit edilmiştir.

Acidicaldus organivorans strain Y008, Asidofilik heterotrofik bir Proteobakteri olan bu tür, literatür çalışmalarında daha önceden tanımlanan tüm asidofilik proteobakterilere kıyasla daha termofilik özellik göstermektedir [154]. Gelişme gösterdiği optimum sıcaklık 50 ve 55 °C arasında maksimum sıcaklık ise 65 °C'dır. Asitofil, çeşitli monosakaritler, alkoller, amino asitler ve fenol de dahil olmak üzere bir dizi organik substrat üzerinde heterotrofik olarak büyümektedir. Ayrıca oksijen yokluğunda ferrik demir solunumu ile büyüyen fakültatif anaerob mikroorganizma olan Y008, birçok heterotrofik asidofil gibi demir ve kükürt çevriminde rol oynamaktadır [154].



Şekil 6.25 Siyanobakterilerin farklı taş malzemelerde oluşum yüzdeleri [134].

Gözeneklilik, pürüzlülük, higroskopik ve kılcal su emme gibi durumların mikroorganizmaların taş yüzeylerde koloni oluşturmalarında büyük bir etkisi vardır [6], [155]. Çok düşük gözenekli ve pH'ya sahip granit taş, siyanobakterilerin gelişim göstermeleri için elverişsiz bir taş yüzeyidir [9], [134]. Granit taş, kalker ya da mermer ile karşılaştırıldığında çok daha az sayıda farklı taksonla kolonize olmaktadır [134]. Yüzey pürüzlülüğü arttıkça mikrobiyal kolonizasyon oranı da artmaktadır. Yüksek taş gözenekliliği ve pürüzlü yüzey çevresel faktörlerle birlikte mikrobiyal oluşumların teşvikinde taşın mineral içeriğinden daha önemli bir rol oynamaktadır [2].

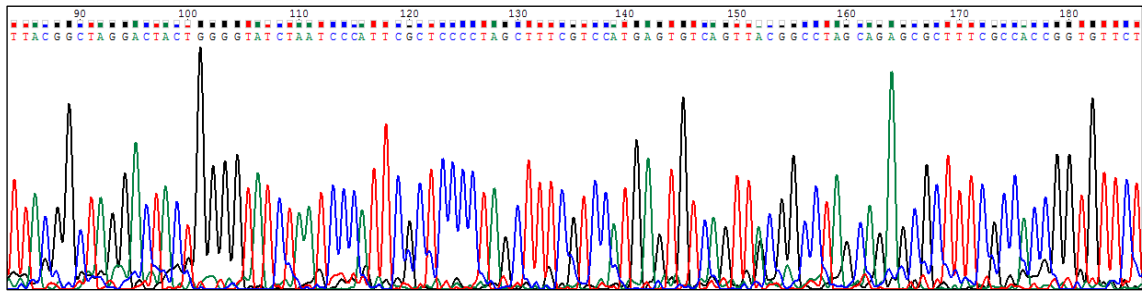
Çalışmada elde edilen diğer 10, 11, 12, 13 numaralı bantlarda hizmet satın alınan firma tarafından tür tespit edilememiş ve tanımlanmamıştır. Bunun sebebi yeterli DNA

olmamasından kaynaklanabilir ya da UV görüntüleme ışığı altında çalışılırken bakteri DNA'ları UV ışığından zarar görmüş olabilir.

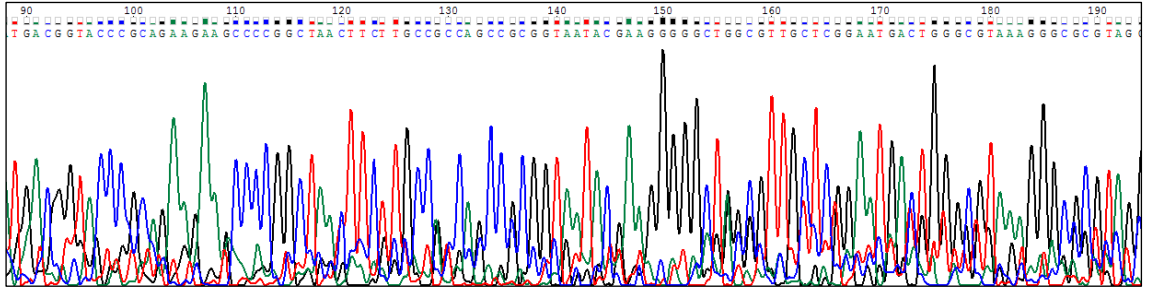
Polimeraz Zincir Reaksiyonu tekniği kullanılarak yürütülen çalışmanın sonucunda Mikrobiyal tür analizleri gerçekleştirilen örnekleme alanlarında bozunmadan sorumlu bakteriler olarak *Bacillus thermoamylovorans*, *Truepera radiovictrix*, *Acidicaldus organivorans*; mavi-yeşil alg olarak ise *Nostoc punctiforme*, *Anabaena cylindrica*, *Scytonema hofmanni*, *Calochaete cimrmanii*, *Cylindrospermum pellucidum*, *Cylindrospermum licheniforme*, *Arthrospira platensis*, *Lyngbya aestuarii*, *Chitinophaga jiangningensis*, *Chroococcidiopsis thermalis*, *Chlorogloeopsis fritschii*, *Hassallia antarctica*, *Brasilonema terrestre*, *Oscillatoria nigro-viridis*, *Halospirulina tapeticola*, *Fischerella thermalis*, *Calothrix sp.*, *Gloeocapsa sp.*, *Microcoleus sp.*, *Nostoc sp.* cinslerine ait türler belirlenmiştir.

6.6 Filogenetik Ağaç

Dizi analizi sonuçlarıyla GenBank'dan bulunan türlerin filojesi UGENE 1.26.1 (Unipro UGENE: Integrated Bioinformatics Tools) programı kullanılarak genetik ilişkileri gösteren filojenik ağaç oluşturulmuştur. Çizelge 6.17'de türlerin her birinin gen bankası erişim numaralarının hangi türe ait olduğu verilmiştir. Dizi analizi sonrası elde edilen 16S rRNA geni nükleotit baz dizilimleri kromatografisinden örnekler (Şekil 6.26, 6.27) Chromas version 2.6.2 programı kullanılarak belirlenmiştir.

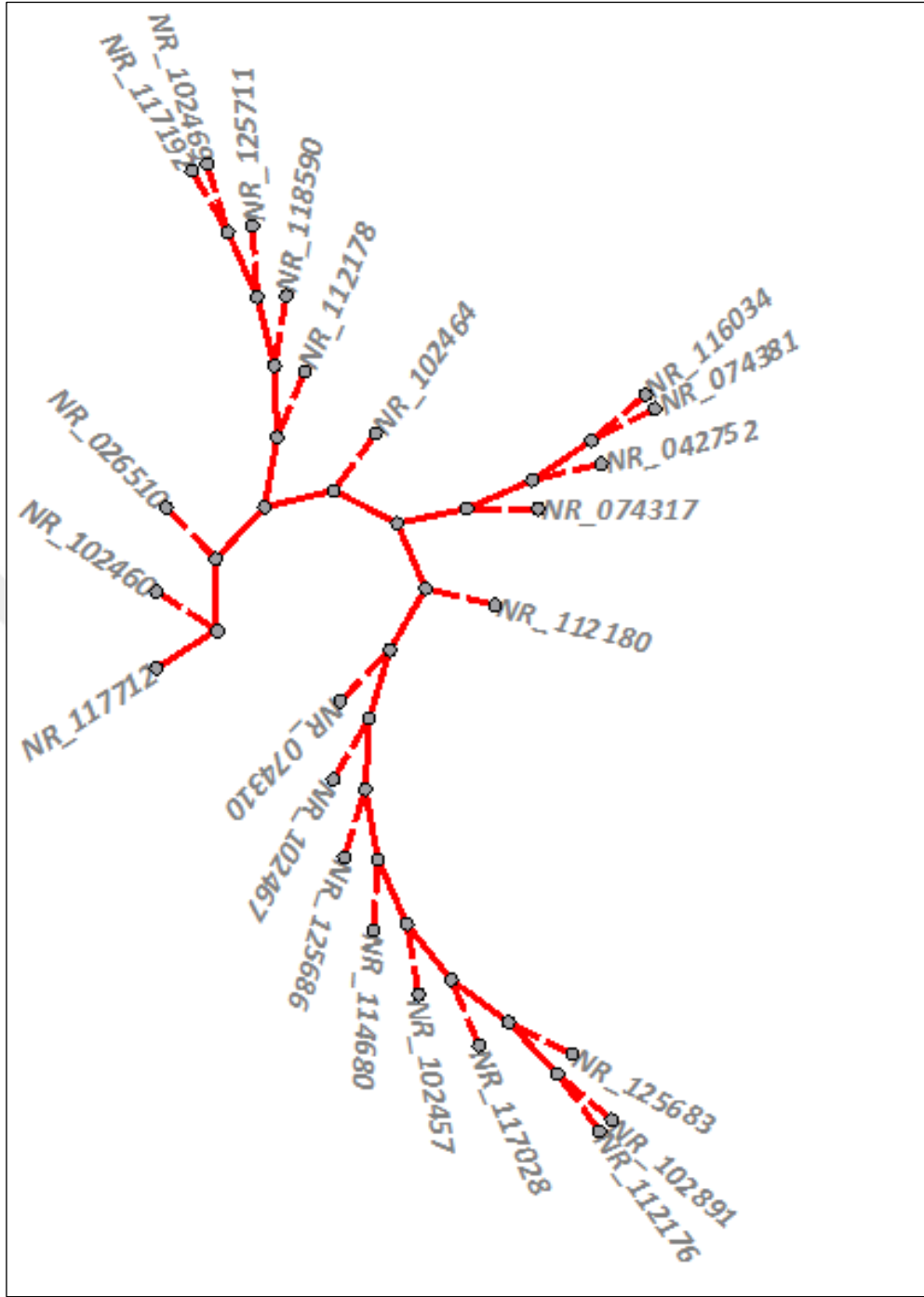


Şekil 6.26 DNA dizilim analizi sonucu elde edilen 16S rRNA gen bölgesinin fragment kromatografisinden bir örnek.

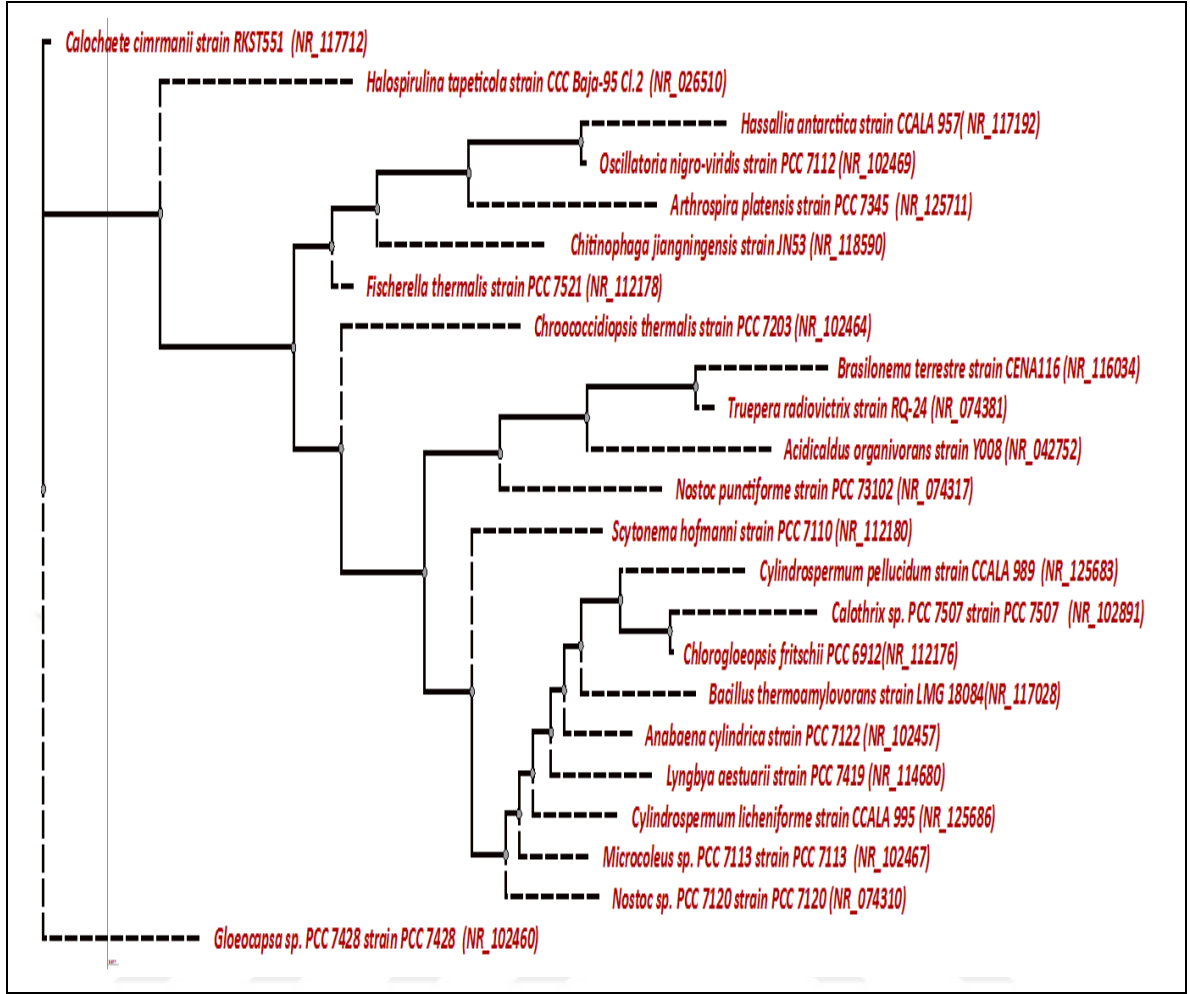


Şekil 6.27 Bant 27'ye ait DNA dizilim sonucu nükleotit baz diziliminin fragment kromatografisinden bir görüntü.

DNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla filogenetik analizler sonucunda türler arasındaki evrimsel akrabalık ilişkileri, organizmalar arasındaki genom benzerlikleri veya farklılıkları ortaya koyulmuştur. Bu bilgilerin kullanılmasıyla filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik analizler Neighbor-Joining (NJ) modeline göre UniproUGENE programında yapılmış olup aşağıdaki (Şekil 6.28, Şekil 6.29 ve Şekil 6.30) ağaçlar oluşturulmuştur.

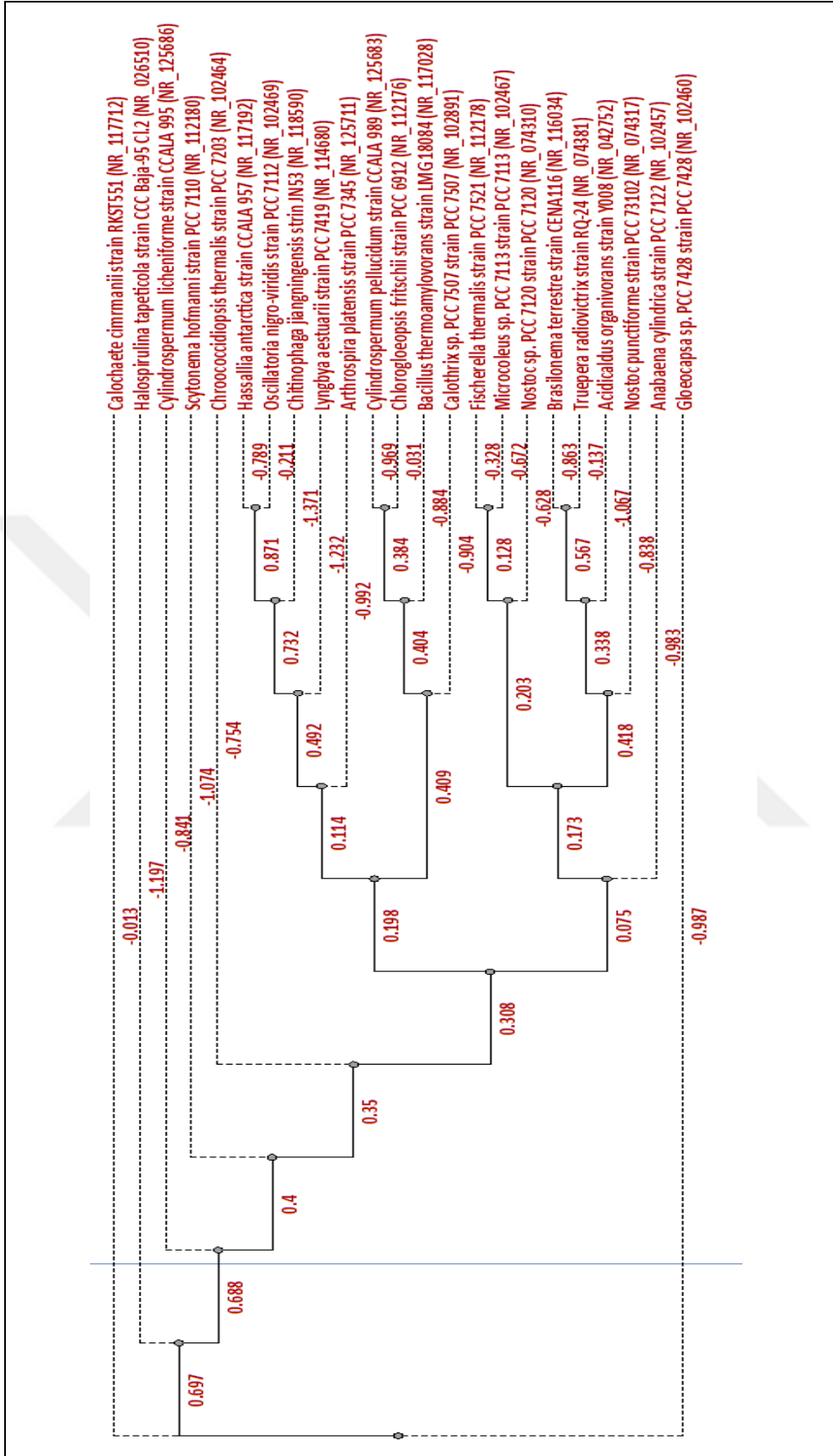


Şekil 6.28 Türlerle ait Gen bankası erişim numaraları ile oluşturulan filogenetik ağaç



Şekil 6.29 Siyanobakteri/bakteri türlerinin Neighbor Joining (NJ) modeli ile elde edilen filogenetik ağacı.

Bu türler incelendiğinde teşhis edilen çoğu türlerin taş malzemenin bozunmasında etkili olduğu görülmektedir.



Şekil 6.30 Siyanobakteri/bakteri türlerinin aralarındaki uzaklığın gösterildiği filogenetik ağacı

BÖLÜM 7

SONUÇLAR

Bu çalışmada, morfolojik ve moleküler analizlerin kullanılmasıyla Yıldız Teknik Üniversitesi Yıldız Kampüs ve çevresindeki tarihi yapılardaki taş yüzeylerinde mikrobiyolojik bozunmalara yol açan bakteri, mantar ve mavi-yeşil alg topluluğu karakterize edilerek birbirleriyle olan ilişkileri ve çevresel faktörlerle olan bağlantıları ve bozunmaya olan katkıları değerlendirilmiştir. Taş yüzeyinde bulunan mikroorganizmalar mikroskopik, klasik kültürel ekim, 16 S rRNA gen analizine dayalı PCR, XRF ve SEM analizleri yapılarak tespit edilmiştir.

Taş yüzeyindeki mikroorganizma sayılarını tespit etmek için yapılan klasik kültürel ekim sonucu taş yüzeyinde mevsim ve aylara göre değişmek üzere mantar sayısının 300-400 000 C.F.U. /gr, bakteri sayısının 400-700 000 C.F.U. /gr arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Optimum gelişme sıcaklığını tespit etmek için 4, 20, 30 ve 35 °C'da ekimler yapılmış ve inkübasyon sonucunda en iyi (optimum) üremenin 20 °C'da olduğu bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalar Y.T.Ü. Yıldız kampüsü ve çevresi için optimum gelişme sıcaklığı olan 20 °C'da yürütülmüştür. Optimum sıcaklığı belirleme çalışmaları ile elde edilen bulgulara göre:

- 20 °C sıcaklıkta gelişme gösteren mantarlar olarak; *Cladosporium sphaerospermum*, *Trichoderma koningii*, *Penicillium expansum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Alternaria alternata*, *Ulocladium alternaria*, *Cladosporium cladosporoides*, *Aspergillus flavus* var. *columnaris*, *Penicillium steckii*, *Mucor* sp., *Geotrichum* sp., *Alternaria* sp. mantarları,

- 30 °C sıcaklıkta gelişme gösteren mantarlar; *Ulocladium alternaria*, *Cladosporium cladosporoides*, *Cunninghamella ramose*, *Penicillium expansum*, *Geotrichum sp.*; 25 °C sıcaklıkta gelişme gösteren mantarlar *Penicillium frequentani*, *Penicillium expansum*, *Geotrichum sp.* mantarları,
- +4 °C'da gelişme gösteren mantar ise *Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Cladosporium cladosporoides* mantarları tespit edilmiştir.

Klasik ekim yöntemleri ile 17 tür seviyesinde, 9 cins seviyesinde mantar ve 4 tür seviyesinde, 2 cins seviyesinde bakteri tespit edilmiştir. Taşların bir gramında yaklaşık 300-700000 arasında mikroorganizma yaşadığı, en fazla mikroorganizma Çukur Saray'da, en az ise Yıldız Sarayı Çit Kasrı'nda yaşadığı tespit edilmiştir. Taşlarda yaşayan mikroorganizmaların özellikle suya bağımlılığının ön plana çıktığı görülmektedir. Yağmurun az olduğu haziran-temmuz aylarında mikroorganizma sayısının az olduğu, mart ve aralık aylarında taş yüzeyinde çok daha fazla geliştiği tespit edilmiştir. Taş yüzeyinde; *Cladosporium sphaeraspermum*, *Trichoderma koningii*, *Penicillium expansum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Alternaria alternata*, *Ulocladium alternaria*, *Cladosporium cladosporoides*, *Aspergillus flavus var. columnaris*, *Aspergillus niger*, *Penicillium steckii*, *Cunninghamella ramosa*, *Penicillium frequentani*, *Penicillium jenseni* türüne ait mantarların geliştiği, bu mantarların hemen hemen hepsinin taşlarda biyolojik bozunmaya neden olduğu, aynı zamanda tarihi eserlerdeki taşların yüzeyi, oyuk ve çatlaklarına girerek fiziksel, kimyasal parçalanma, siyah kabuk ve renklenmeye neden olduğu, *Bacillus subtilis* bakterilerinin pürüzlü biyofilmler oluşturduğu ve bu biyofilmden dolayı taş yüzeylerde oluşan renk değişimlerinin çıplak gözle görülebilir olduğu tespit edilmiştir.

Sıcaklıkla rüzgar hızı arasında negatif bir ilişki olduğu, sıcaklık arttığında rüzgar hızında azalmalar olduğu görülmüştür. Kış mevsiminde sıcaklık azalmasına bağlı olarak kirleticilerden SO₂ miktarında artış olduğu bulunmuştur.

Yağışlar kirleticilerin atmosferden temizlenmesine katkı sağladığından yağışlı havalarda kirletici miktarlarında azalma olduğu tespit edilmiştir. Taş örneklerde temmuz ayındaki koloni sayımlarında atmosferdeki kirletici miktarındaki azalmanın etkisiyle mikroorganizma sayısı az bulunmuştur.

Deneme alanları çevresinde kış aylarında nem yüzdesinin diğer aylara oranla yüksek olduğu, bu durumun taş malzemelerin nemli kalmasına yol açtığı ve taş yüzeyinde hem hava kirleticilerinin hem de mikroorganizmaların yerleşmesine uygun bir ortam sağladığı tespit edilmiştir. Bu nedenle mikroorganizma tür sayısının soğuk aylarda az, birey sayısının fazla olduğu, bunun aksine yaz aylarında tür sayısının fazla, birey sayısının az olduğu bulunmuştur.

Yapılan XRF elementel analizleri ile tarihi yapılardaki taşlarda Ca, K, Fe, Ti, Sr, Ni, Ba, Mn, Sn, Pb, W, Zr, Cu, Rb, Se, S, Bi, As, Co, Cl, Zn, V, Cr, P elementlerinin olduğu tespit edilmiştir. Bu elementlerin mikroorganizmalara nütrient görevi yaparak taş yüzeyinde gelişmesine katkı sağladığı tespit edilmiştir. Bu minerallerden fosfat, sülfat, iz elementleri taş yüzeyinde yaşayan mantar ve diğer mikroorganizmalar tarafından metabolik olarak kullanılarak taştaki yüksek aşındırıcı özellikte inorganik ve organik asitlerle çözücüler üretilip parçalanmaya neden olduğu, eriyebilir tuz ve asılı maddelerin taş yüzeyinde siyah kabuk (Ca, Si ve C bakımından zengin) oluşturduğu, kalsiyum klorür (CaCl_2), sodyum klorür, potasyum klorür gibi maddeler kaya içinde yer alıyorsa su etkisiyle zaman içerisinde eriyerek kayaç içerisinde boşluklar oluşmasına neden olduğu, NaCl taşın su emme kapasitesini artırıp, çiçeklenme denilen deformasyona neden olduğu bulunmuştur.

Yapılan SEM çalışmaları ile mikroorganizmaların taş yüzeyindeki yerleşim şekli ortaya konmuş, taşta oluşan estetik ve yapısal değişiklikler görsel olarak gösterilmiştir. Kullanılan taşların gözenekliliği ve mikroorganizmaların taş malzeme üzerinde oluşturduğu bozunmalar, taş yüzeyinde oluşan estetik ve yapısal değişiklikler, mikroorganizmaların taş yüzeyinde kolonizasyon ve tahribatı ortaya konulmuştur.

Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı moleküler tekniklerle 23 tür bakteri/siyanobakteri tespit edilerek taşın mikrobiyolojik bozunmasına katkıları ortaya konulmuştur. Bu mikroorganizmalar salgıladıkları enzimlerle taşlarda bulunan mineral ve elementleri çözerek yapılarına almak suretiyle taşlarda biyolojik bozunmaya neden olmaktadır. Oluşturdukları biyofilmler ile taşlarda renk değişikliğine ve fiziko-kimyasal bozulmalara neden olmakta, hidrate polisakkaritlerden (hydrated polysaccharides) oluşan yapışkan bir musilaj oluşturarak hücre dışına vererek oluşan bu musilaj tabaka

içerisinde onlarca mikroorganizma türünün barındığı ve kolonilerin oluşmasına katkı sağlamaktadır. Mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri sonucunda oluşturdıkları asitler, pigmentler ve metobolitler taşın bozunmasında katkı sağlamakta, taş yüzeylerinde renk değişimleri oluşturarak taşın estetik görünümünde bozunmalara neden olmaktadır. Mantar, Siyanobakteri ve alglerin büyümesiyle taş yüzeyinde oluşan kabuklar taş yüzeyindeki bulunan nemin dışarıya çıkmasını engelleyerek taşın daha uzun süre nemli kalarak taş üzerindeki mikrobiyal kolonizasyon potansiyelini arttırdığı tespit edilmiştir.

Taş üzerinde yaşayan organizmaların salgıladıkları enzimlerle taş yüzeyindeki mineral ve elementleri çözerek yapılarına almak suretiyle taşlarda biyolojik bozunmaya neden olduğu görülmüştür. PCR ve DGGE dizi analizleri ile taşlarda yaşayan mikroorganizmaların filogenetik soy ağacı oluşturulmuştur.

Sonuç olarak; tüm bu çalışmaların sonucunda tarihi eserlerdeki taş malzemenin yüzeyinde oluşan fiziksel ve mekanik bozunmanın yanında mikroorganizmaların da metabolik faaliyetleri sonucunda oluşturdıkları asitler, pigmentler ve metobolitler ile taşın bozunmasında önemli bir etmen oldukları belirlenmiştir. Bu çalışma ile tarihi yapılarda oluşan bozunmaların önlenmesi ve tarihi eserlerin ayakta kalmasını sağlamak için “T.C. Başbakanlık Vakıflar Genel Müdürlüğü”nün yaptığı restorasyon ve onarım çalışmalarının çok önemli olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- [1] Warscheid, T.H. ve Braams, J., (2000). "Biodeterioration of Stone: A Review", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46: 343-363.
- [2] Tomaselli, L., Lamenti, G., Bosco, M. ve Tiano, P., (2000). "Biodiversity of Photosynthetic Microorganisms Dwelling on Stone Monuments. *Int Biodeterioration & Biodegradation*, 46: 251-258.
- [3] Nuhoglu, Y., (2004). "The Biodeteriorative Action of Microorganisms and the Effects on Stone Monuments under Air Pollution and Continental-Cold Climatic Condition in Erzurum, Turkey", *Fresenius Environmental Bulletin*, 13: 591-599.
- [4] Nuhoglu, Y., Oguz, E., Uslu, H., Ozbek, A., Ipekoglu, B., Ocak, I. ve Hasenekoglu, I., (2006) "The Accelerating Effects of The Microorganisms on Biodeterioration of Stone Monuments Under Air Pollution and Continental-Cold Climatic Conditions in Erzurum, Turkey", *Science of the Total Environment*, 364: 272-283.
- [5] Zanardini, E., Abbruscato, P., Ghedini, N., Realini, M. ve Sorlini, C., (2000). "Influence of Atmospheric Pollutants on Biodeterioration of Stone", *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 45: 35-42.
- [6] Urzı, C. ve Realini, M., (1998). "Colour Changes of Noto's Calcareous Sandstone as Related to its Colonisation by Microorganisms", *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 42: 45-54.
- [7] Kumar, R. ve Kumar, AV., (1999). *Biodeterioration of Stones in Tropical Environments: An Overview*, The Getty Conservation Institute.
- [8] Talu, I., (2005). *Classification and Visual Analysis of Weathering Forms of Stone in Kadıkalesi, Kuşadası*, Yüksek Lisans Tezi, İzmir Institute of Technology, Faculty of Architecture, İzmir.
- [9] Ortega-Calvo, J. J., Arino, X., Hernandez-Marine, M. ve Saiz-Jimenez, C., (1995). "Factors Affecting The Weathering and Colonization of Monuments by Phototrophic Microorganisms", *Sci. Total Environ.*, 167: 329-341.

- [10] Dakal, T.C. ve Cameotra, S.S., (2012). "Microbially Induced Deterioration of Architectural Heritages: Routes and Mechanisms Involved", *Dakal and Cameotra Environmental Sciences Europe*, 24: 36.
- [11] Cuzman, O.A., Ventura, S., Sili, C., Mascali, C., Turchetti, T., D'Acqui, L.P. ve Tiano, P., (2010). "Biodiversity of Phototrophic Biofilms Dwelling on Monumental Fountains", *Microb. Ecol.*, 60: 81-95.
- [12] Crispim, C.A. ve Gaylarde, C.C., (2005). "Cyanobacteria and Biodeterioration of Cultural Heritage: A Review", *Microb. Ecol.*, 49: 1-9.
- [13] Gaylarde, C.C. ve Morton, L.H.G., (1999). "Deteriogenic Biofilms on Buildings and Their Control: A Review. *Biofouling*", 14: 59-74.
- [14] Hernandez-Marine, M., Clavero, E. ve Roldan, M., (2003). Why There is Such Luxurious Growth in The Hypogean Environments., *Arch. Hydrobiol. Suppl. Algol. Stud.*, 109: 229-239.
- [15] Ramírez, M., Hernandez-Marine, M., Novelo, E. ve Roldan, M., (2010). "Cyanobacteria-Containing Biofilms from A Mayan Monument in Palenque, Mexico", *Biofouling*, 26: 399-409.
- [16] Tomaselli, L., Lamenti, G., Bosco, M. ve Tiano, P., (2000). "Biodiversity of Photosynthetic Microorganisms Dwelling on Stone Monuments", *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 46: 251-258.
- [17] Adamo, P. ve Violante, P., (2000). "Weathering of Rocks and Neogenesis of Minerals Associated with Lichen Activity", *Appl. Clay. Sci.*, 16: 229-256.
- [18] Del Barrio, S.V., Garcia-Vallès, M., Pradell, T. ve Vendrell-Saz, M., (2002). "The Red–Orange Patina Developed on A Monumental Dolostone", *Engg. Geol.*, 63: 31-38.
- [19] Favero-Longo, S.E., Castelli, D., Salvadori, O., Belluso, E. ve Piervittori, R., (2005). "Pedogenetic Action of The Lichens *Lecidea Atrobrunnea*, *Rhizocarpon Geographicum* gr. and *Sporastatia Testudinea* on Serpentinized Ultramafic Rocks in an Alpine Environment", *Int. Biodet. Biod.*, 56: 17-27.
- [20] Oksanen, I., (2006). "Ecological and Biotechnological Aspects of Lichens", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 73: 723-734.
- [21] Seneviratne, G. ve Indrasena, I.K., (2006). "Nitrogen Fixation in Lichens is Important for Improved Rock Weathering", *J. Biosci.*, 31: 639-643.
- [22] Zurita, Y.P., Cultrone, G., Sanchez-Castilo, P., Sebastain, E. ve Boliver, F.C., (2005). "Microalgae Associated with Deteriorated Stonework of The Fountain of Bibatauin in Granada, Spain", *Int. Biod. Biodegr.*, 55: 55-61.
- [23] Altieri, A. ve Ricci, S., (1997). "Calcium Uptake in Mosses and its Role in Stone Biodeterioration", *Int. Biod. Degra.*, 40: 201-204.
- [24] Saiz-Jimenez, C., (1994). Biodeterioration of Stones in Historic Building and Monuments, In *Biodeterioration Research 4: Mycotoxins, Wood Decay, Plant Stress, Biocorrosion, and General Biodeterioration*. Edited by Llewellyn G.C., Dashek W.W., O'Rear C.E. The Netherlands: Plenum, 4: 587-604.

- [25] Böke, H., Gokturk, EH., Caner-Saltik, EN. ve Demirci, S., (1999). "Effect of Airborne Particle on SO₂-calcite Reaction", *Appl. Surf. Sci.*, 140: 70-82.
- [26] Cultrone, G., Arizzi, A., Sebastain, E. ve Rodriguez-Navarro C., (2008). "Sulfation of Calcitic and Dolomitic Lime Mortars in The Presence of Diesel Particulate Matter", *Environ. Geol.*, 56: 741-752.
- [27] McAlister, JJ., Smith, BJ. ve Torok, A., (2006). "Element Partitioning and Potential Mobility within Surface Dusts on Buildings in A Polluted Urban Environment", *Budapest, Atmos. Environ.*, 40: 6780-8790.
- [28] Rodriguez-Navarro, C. ve Sebastian, E., (1996). "Role of Particulate Matter Form Vehicle Exhaust on Porous Building Stones (Limestone) Sulfation", *Sci. Tot. Environ.*, 187: 79-91.
- [29] Saarela, M., Alakomi, HL., Suihko, ML., Maunuksela, L. ve Mattila-Sandholm, T., (2004). "Heterotrophic Microorganisms in Air and Biofilm Samples From Roman Catacombs with A Special Emphasis on Actinobacteria and Fungi", *Int. Biod. Biodeg.*, 1: 27-37.
- [30] Albertano, P. ve Urzì, C., (1999). "Structural Interactions Among Epilithic Cyanobacteria and Heterotrophic Microorganisms in Roman Hypogea", *Microb. Ecol.*, 38: 244-252.
- [31] Burford, EP., Kierans, M. ve Gadd, GM., (2003). "Geomycology: Fungal Growth in Mineral Substrata", *Mycologist*, 17: 98-107.
- [32] Crispim, CA., Gaylarde, PM. ve Gaylarde, CC., (2003). "Algal and Cyanobacterial Biofilms on Calcareous Historic Buildings", *Curr. Microbiol.*, 46: 79-82.
- [33] Harley, AD. ve Gilkes, RJ., (2000). "Factors Influencing The Release of Plant Nutrient Elements From Silicate Rock Powders: A Geochemical Overview", *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 56: 11-36.
- [34] Monte, M., (2003). "Oxalate Film Formation on Marble Specimens Caused by Fungus", *J. Cul. Herit*, 4: 255-258.
- [35] Burford, EP., Fomina, M. ve Gadd, GM., (2003). "Fungal Involvement in Bioweathering and Biotransformation of Rocks and Minerals", *Journal of Mineral Science, Mineralogical Magazine*, 67: 1127-1155.
- [36] Pavía, S. ve Caro, S., (2006). "Origin of Films on Monumental Stone", *Stud. Conserv.*, 51: 177-188.
- [37] Sterflinger, K., (2000). "Fungi as geologic agents", *Geomicrobiol. J.*, 17: 97-124.
- [38] Grossi, CM., Brimblecombe, P., Esbert, RM. ve Alonso, FJ., (2006). "Color changes in architectural limestones from pollution and cleaning", *Color Res Appl.*, 32: 320-331.
- [39] Brimblecombe, P. ve Grossi, CM., (2004). The Rate of Darkening of Material Surfaces. In *Air Pollution and Cultural Heritage*, Edited by Saiz-Jimenez C. Lisse: A.A. Balkema.

- [40] Cicek, A., Aslan, A., Yazici, K. ve Koparal, AS., (2009). "Effects of Environmental Conditions on Historical Buildings: Lichens and NO_x Gases", Environ. Monit. Assess., 154: 187-195.
- [41] Mansch, R. ve Bock, E., (1998). "Biodeterioration of Natural Stone with Special Reference to Nitrifying Bacteria", Biodegradation, 9: 47-64.
- [42] Seaward, MRD. ve Edwards, HGM., (1995). Lichen-Substratum Interface Studies, with Particular Reference to Raman Microscopic Analysis: 1. Deterioration of Works of Art by Dirinia Massiliensis Forma Sorediata, Cryptogam. Bot., 5: 282-287.
- [43] Gökaltun, E., (2010). "Eskişehir Tarihi Kurşunlu Camiinin Duvarlarında Yüzey Suyunun Etkisi", Trakya Univ. J. Sci., 11(2): 70-80.
- [44] Sert, H., Sümbül, H. ve Sterflinger, K., (2007). "A New Species of Capnobotryella from Monument Surfaces", Mycological Research, 111: 1235-1241.
- [45] Zammit, G., Sánchez-Moral, S. ve Albertano, P., (2011). "Bacterially Mediated Mineralisation Processes Lead to Biodeterioration of Artworks in Maltese Catacombs", Science of The Total Environment, 409: 2773-2782.
- [46] Portillo, M.C., Gonzalez, J.M. ve Saiz-Jimenez, C., (2008). "Metabolically Active Microbial Communities of Yellow and Grey Colonizations on the Walls of Altamira Cave, Spain", Journal of Applied Microbiology, 104: 681-691.
- [47] Lisci, M., Monte, M. Ve Pacini, E., (2003). "Lichens and Higher Plants on Stone: A Review", International Biodeterioration & Biodegradation, 51: 1-17.
- [48] Tuğrul, A., Zarif, İ.H., Yıldırım, M. ve Gürpınar, O., (1999). "İstanbul'daki Tarihi Anıt ve Yapılarda Kullanılan Kireçtaşlarının Kirlenme ve Ayrışmasında Etkin Faktörler", İstanbul Üniv. Müh. Fak. Yerbilimleri Dergisi, 12.
- [49] Sterflinger, K. ve Krumbein, WE., (1997). "Dematiaceous Fungi As a Majör Agent of Biopitting for Mediterranean marbles and limestones", Geomicrobiology Journal, 14: 219-230.
- [50] Gorbushina, A.A. ve Palinska, A.P., (1999). "Biodeteriorative Processes on Glass: Experimental Proof of The Role of Fungi and Cyanobacteria", Aerobiologia, 15: 183-191.
- [51] Dolar, A. ve Yılmaz, E.Ş., (2014). "Kültürel Yapılarda Biyolojik Bozunma Mekanizmaları", Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, 12 (1): 1-19.
- [52] Garcia-Vallès, M., Urzì, C. ve Vendrell-Saz, M., (2002). "Weathering Processes on the Rock Surface in Natural Outcrops: The Case of An Ancient Marble Quarry (Belevi, Turkey)", Environmental Geology, 41: 889-897.
- [53] Gaylarde, C.C. ve Gaylarde, P.M., (2002). "Brazil Biodeterioration of Historic Buildings In Latin America", www.irbnet.de/daten/iconda/CIB9274.pdf.
- [54] Karabacak, O., (2010). İstanbul Büyükşehir Belediyesi, Coğrafi Konum ve Stratejik Önem, <http://ibb.gov.tr/sites/ks/tr-TR/0-Istanbul>

- [Tanitim/konum/Pages/Cografi Konum ve Stratejik Onem.aspx](http://www.ibb.gov.tr/sites/ks/tr-TR/0-Istanbul-Tanitim/konum/Pages/Cografi_Konum_ve_Stratejik_Onem.aspx), 15 Ekim 2011.
- [55] Karabacak, O., (2010). İstanbul Büyükşehir Belediyesi, Kültür, <http://www.ibb.gov.tr/sites/ks/tr-TR/0-Istanbul-Tanitim/konum/Pages/Kultur.aspx>, 15 Ekim 2011.
- [56] Öcal, A.D. ve Dal, M., (2012). Doğal Taşlardaki Bozunmalar, Mimarlık Vakfı İktisadi İşletmesi, 1, Kırklareli.
- [57] Cihan, S., 06 Nisan 2012, Yıldız Sarayı ve Kompleksi, <http://www.edebiyatvesanatakademisi.com/Forum/Detay/saraylar-camiler-yapilar/yildiz-sarayi-ve-kompleksi-33776.aspx>, 8 Mayıs 2017.
- [58] Taş Saraylar, Yıldız Sarayı Büyük Mabeyn, <http://www.tas-istanbul.com/portfolio-view/yildiz-sarayi-buyuk-mabeyn/>, 8 Mayıs 2017.
- [59] Duymaz, A.Ş., (2003). II. Abdülhamid Dönemi İmar Faaliyetleri (Türkiye Örnekleri), Doktora Tezi, Isparta.
- [60] Y.T.Ü. Sosyal Bilimler Enstitüsü, Saray Bahçesinde Üniversite: Yıldız Teknik Üniversitesi, <http://www.sbe.yildiz.edu.tr/sayfa/1/Tarih%C3%A7e/18>, 8 Mayıs 2016.
- [61] Beyoğlu Müftülüğü, Ertuğrul Tekke Cami, <http://www.istanbul.net.tr/istanbul-Rehberi/dini-mekanlar/ertugrul-tekke-cami/117/5>, 1 Haziran 2012.
- [62] Şahiner, A., (2006). “Tarihi Yapıların Biyolojik Düşmanı Küfler Sanat Tarihi Dergisi”, XV: 167-176.
- [63] T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı ve Akdeniz Üniversitesi, (2014). Phaselis ve Teritoryumu Botanik (Flora) Araştırma Raporu, <http://www.phaselis.org/phaselis-arastirmalari/flora-fauna-arastirmalari/2014-raporu>, 8 Mayıs 2016.
- [64] Dal, M., (2010). “Trakya Bölgesi Tarihi Yapılarında Kullanılan Karbonatlı Taşların Bozunma Nedenleri”, Vakıflar Genel Müdürlüğü Yayınları Vakıflar Dergisi, 34: 47-59.
- [65] Tintin, Z., (2012). Arkeolojik Alanda Taş Koruma: Sağlamaştırma Yöntemleri, Uzmanlık Tezi, Kültür ve Turizm Bakanlığı Ankara Anadolu Medeniyetleri Müzesi Müdürlüğü, Uzmanlık Tezi, Ankara.
- [66] Dannin, A., (1992). “Pitting of Calcareous Rocks by Organisms Under Terrestrial Conditions”. Isr. J. Earth Sci., 41: 201-207.
- [67] Warscheid, TH. ve Krumbein, W.E., (1996). “Biodeterioration of İnorganic Nonmetallic Materials-General Aspects and Selected Cases”; Derleyen: Warscheida, Th., Braams, J., (2000). “Biodeterioration of stone: a review”, International Biodeterioration & Biodegradation 46: 343-368.
- [68] Dal, M. ve Irgas, C., (2012). “Doğal Taşlar Üzerindeki Biyolojik Organizmaların Alterasyondaki Rolü”, Trakya Univ J Eng Sci, 13(1): 41-55.

- [69] Koç, H.H., (2014). *Escherichia Coli ve Bacillus Thuringiensis Türlerinin Bazı Mermer Çeşitleri Üzerindeki Canlı Kalım Sürelerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Niğde.
- [70] Çetinkaya, E. ve Ayhan, K., (2012). *Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler*, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi/Karaelmas Science and Engineering Journal 2(1): 53-62.
- [71] Richardson, B.A., (1975). "Control of Moss, Lichen and Algae on Stone", Bologna, 225-231, June, 19-21.
- [72] Puri, S., Tiwari, I.K. ve Saraf, R.K., (2015). "Role of Polymerase Chain Reaction in Plant Pathology, PCR in Plant Pathology", International Journal of Science and Nature, 6(1): 115-118.
- [73] Çakar, T., (2009). *Likenlerin Karatepe Aslantaş Açık Hava Müzesi Bazaltik Kayaç Eserler Üzerindeki Ayrışmaya/Bozunmaya Etkisi*, Çukurova Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- [74] Halkman, A.K., (2005). *Mikroorganizma Analiz Yöntemleri*, Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 89-124.
- [75] MEB, (2007). *Kültür Elde Etme*, MEGEP, Gıda Teknolojisi, Ankara.
- [76] Gürgün, V. ve Halkman, K., (1990). *Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri*, 2, Gıda Teknolojisi Derneği, Ankara.
- [77] Gürel, F., 02 Jun. 2007, *Mikroorganizmalarda Genetik Düzeyde Teşhisin Yaygınlaşması ve Önemi*, <https://genotyping.wordpress.com/2007/06/02/mikroorganizmalarda-genetik-duzeyde-teshisin-yayginlasmasi-ve-onemi/>, 08 Mayıs 2017.
- [78] Hasenekoğlu, İ., (1989). *Toprak Mikrofunguslarının İzolasyon ve Kültür Metotları*. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, 54.
- [79] Gorbushina, AA., (2007). "Life on the Rocks", Environmental Microbiology, 9(7): 1613-1631.
- [80] Dorak, M.T., (2006). *Real-Time PCR, BIOS Advance Methods*, 1, New York.
- [81] Vierstraete, Andy., (1999). "Principle of the PCR." 11 Aug. 1999. University of Ghent. <http://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.html>, 04 Mayıs 2017.
- [82] Innis, M.A. ve Gelfand, D.H., (1990). "Optimization of PCRs; Derleyen: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. ve White T.J (eds.). "PCR Protocols A guide to Methods and Applications", Academic Press., 3-12.
- [83] Hadidi, A., Levy, L. ve Podleskis, E.V., (1995). "Polymerase Chain Reaction Technology in Plant Pathology; Derleyen: Singh, R.P. ve Singh, U.S., "Molecular Methods in Plant Pathology", 167-187.
- [84] Woese, CR., (1987). *Bacterial Evolution*, Microbiol. Rev., 51: 221-271
Derleyen: Çetinkaya, E., ve Ayhan, K., (2012). *Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler* Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi/Karaelmas Science and Engineering Journal, 2(1): 53-62.

- [85] Mergen, H.B., Proteomik & Genomik, DNA Dizi Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi,
http://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/index_dosyalar/Page580.htm, 04 Mayıs 2017.
- [86] Gürel F., (2012). "Moleküler Evrim", Ders Notu, 83.
- [87] Yılmaz, S. ve Devran, Z., Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Bitki Biyoteknolojisinde Yaygın Uygulamaları, Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü, Antalya, <http://www.derim.com.tr/download/article-file/52904>, 4 Mayıs 2017.
- [88] Karakaş, A.S., Bozkurt, T.S., Sayın, B., Akçay, C. Ve Yıldızlar, B., (2015). "Tarihi Yapılarda Restorasyon Uygulamaları: Bir Durum Çalışması", 3rd International Symposium on Innovative Technologies in Engineering and Science (ISITES 2015), Valencia, 2375-2378.
- [89] Caneva, G., Marco de G. ve Pontrandolfi, M.A., (1993). "Plant Communities on the Walls of Venosa Castle (Basilicata, Italy) as Biodeteriogens and Bioindicators"; Derleyen: Conservation of Stone and Other Materials, UNESCO Congress, Paris, 263-270, June 29-July 1, 1993.
- [90] Vero, L.B., Bianchi, R., Sila, M.M. ve Tiano, P., (1975). "Proposal of a Method of Investigation for the Study of the Presence of Bacteria in Exposed Works of Art in Stone", Conservation of Stone I, International Symposium, Bologna, 257-266, June, 19-21.
- [91] İpekoglu, B. ve Nuhoglu. Y., (2003). "Erzurum'da Hava Kirliliği Nedeniyle Tarihi Eserlerde Taş Malzemenin Biyolojik Bozunması", Türkiye'de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu IV (GYTE), Gebze, Kocaeli, 52-58.
- [92] Zucconi, L., Gagliardi, M., Isola, D., Onofri, S., Andaloro, M.C., Pelosi, C., Pogliani, P. ve Selbmann, L., (2012). "Biodeterioration Agents Dwelling in or on the Wall Paintings of the Holy Saviour's Cave (Vallerano, Italy)", International Biodeterioration & Biodegradation, 70: 40-46.
- [93] Ng, HPD., Kumar, A., Cao, B., (2016). Microorganisms Meet Solid Minerals: Interactions and Biotechnological Applications, Applied Microbiology and Biotechnology, 100(16): 6935-6946.
- [94] Sterflinger, K. ve Pinar, G., (2013). "Microbial Deterioration of Cultural Heritage and Works of Art-Tilting at Wind mills?", Appl. Microbiol. Biotechnol., 97: 9637-9646.
- [95] Gadd, GM., (2007). "Geomycology: Biogeochemical Transformations of Rocks, Minerals, Metals and Radionuclides by Fungi", Bioweathering and Bioremediation, Mycological Research III, 3-49.
- [96] Watkinson, SC., Boddy, L. ve Money, NP., (2016). The Fungi, Third Edition, Academic Press (Elsevier),UK.
- [97] Scheerer, S., Ortega-Morales, O. ve Gaylarde, C. (2009). Chapter 5 Microbial Deterioration of Stone Monuments-An Updated Overview, Advances in Applied Microbiology, 66: 97-139.

- [98] Warscheid, T., (2003). The evaluation of Biodeterioration Processes on Cultural Objects and Approaches for Their Effective Control; Derleyen: "Art, Biology and Conservation: Biodeterioration of Works of Art" (Koestler, R.J., Koestler, V.H., Charola A.E. ve Nieto Fernandez, F.E., Eds.), 14-27. The Metropolitan Museum of Art, New York.
- [99] Tayler, S., ve May, E., (1991). "The Seasonality of Heterotrophic Bacteria on Sandstones on Ancient Monuments", *Int. Biodeterior.*, 28: 49-64.
- [100] Wollenzien, U., De Hoog, G.S., Krumbein, W.E., ve Urzi, C., (1995). "On The Isolation of Colonial Fungi Occurring on and in Marble and Other Calcareous Rocks", *Sci. Total Environ.*, 167, 287-294.
- [101] Ortega-Morales, B.O., (1999). *Approche des Communautés Microbiennes et leur Rôle Dans la Biodeterioration des Monuments Mayas du Site Archéologique d'Uxmal (Yucatan, Mexique)*. PhD Thesis. France: University of Brest, Brest.
- [102] Páramo-Aguilera, L., Ortega-Morales, BO. ve Narváez-Zapata, JA., (2012). "Culturable Fungi Associated with Urban Stone Surfaces in Mexico City", *Environmental Biotechnology*, 15(4), Issue of July 15.
- [103] Lupan, L. ve Popescu, O., (2012). "Metagenomics and Future Perspectives for Biodeterioration and Biodegradation Studies", *Annals of RSCB*, XVII (2).
- [104] Grbic, MVL. ve Vukojevic, JB., (2009). "Role of Fungi in Biodeterioration Process of Stone in Historic Buildings", *Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad*, 116: 245-251.
- [105] Suhko, L.M., Alakomi, L.H., Gorbushina, A.A., Fortune, I., Marquardt, J. ve Saarela, M., (2007). "Characterization of Aerobic Bacterial and Fungal Microbiota on Surfaces of Historic Scottish Monuments". *Systematic and Applied Microbiology*, 30(6): 494-508.
- [106] Grbic, ML., Subakov-Simic, G., Krizmanic, J. ve Ladic, V., (2009). "Cyanobacterial, Algal and Fungal Biofilm on Sandstone Substrata of Eiffel's Lock in Bečej (Serbia)", *Botanica Serbica*, 33(1): 101-105.
- [107] Saiz-Jimenez, C., (1997). Biodeterioration & Biodegradation: The Role of Microorganisms in the Removal of Pollutants Deposited on Historic Buildings, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 40(2): 225-232.
- [108] Ahmed, AS., Farag, SS., Hassan, IA. ve Botros, HW., (2015). Production of Gluconic Acid by Using Some Irradiated Microorganisms, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, July 2015, 8(3): 374-380.
- [109] Singh, J., (2006). *Building Mycology: Management of Decay and Health in Buildings*, Dr Jagjit Singh Taylor & Francis, 16 Oca 2006, 356.
- [110] Farooq, M., Hassan, M. ve Gull, F., (2015). "Mycobial Deterioration of Stone Monuments of Dharmarajika, Taxila", *Journal of Microbiology and Experimentation*, 2(1): 36.

- [111] Gadd, GM., (2004). "Mycotransformation of Organic and Inorganic Substrates", *Mycologist* 18: 60-70.
- [112] Wiktor, V., De Leo, F., Urzi, C., Guyonnet, R., Grosseau, Ph. ve Garcia-Diaz, D., (2009). "Accelerated Laboratory Test to Study Fungal Biodeterioration of Cementitious Matrix", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63: 1061-1065.
- [113] De la Torre, MA. ve Gomez-Alarcon, G., (1994). Manganese and Iron Oxidation by Fungi Isolated from Building Stone, *Microbial Ecology*, 27: 177-188.
- [114] Mihajlovski, A., Seyer, D., Benamara, H., Bousta, F. ve Di Martino, P., (2015). An Overview of Techniques for The Characterization and Quantification of Microbial Colonization on Stone Monuments, *Ann. Microbiol.*, 65: 1243-1255.
- [115] Fazio, A.T., Cavicchioli, A., Penna, DSA., Chambergo, FS. ve de Faria, DLA., (2015). Towards A Better Comprehension of Biodeterioration in Earthen Architecture: Study of fungi Colonisation on Historic Wall Surfaces, in Brazil, *Journal of Cultural Heritage*, 16: 934-938.
- [116] Gomez-Alarcon, G., Cilleros, B. ve Lorenzo, J., (1995). "Microbial Communities and Alteration Processes in Monuments at Alcala de Henares, Spain", *The Science of the Total Environment*, 167: 231-239.
- [117] Andrei, AS., Păușan, MR., Tămaș, T., Har, N., Barbu-Tudoran, L., Leopold, N. ve Banciu, HL., (2017). "Diversity and Biomineralization Potential of the Epilithic Bacterial Communities Inhabiting the Oldest Public Stone Monument of Cluj-Napoca (Transylvania, Romania)", *Frontiers in Microbiology*, 8: 372.
- [118] Cameotra, S.S. ve Dakal, T.C., Carbonatogenesis: Microbial Contribution to The Conservation of Monuments and Stone Artwork, *Conservation Science in Cultural Heritage*. <https://conservation-science.unibo.it/article/viewFile/3383/2748>, 4 Mayıs 2017.
- [119] Zhu, T. ve Dittrich, M., (2016). "Carbonate Precipitation Through Microbial Activities in Natural Environment, and Their Potential in Biotechnology: A Review", *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 20 January 2016.
- [120] Jimenez-Lopez, C., Jroundi, F. ve Pascolini, C., (2008). "Consolidation of Quarry Calcarenite by Calcium Carbonate Precipitation Induced by Bacteria Activated Among The Microbiota Inhabiting The Stone". *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 62: 352-363.
- [121] Martino, PD., (2016). "What About Biofilms on the Surface of Stone Monuments?", *The Open Conference Proceedings Journal*, 7: 14-28.
- [122] Tiano, P., Biagiotti, L. ve Mastromei, G., (1999). "Bacterial Bio Mediated Calcite Precipitation for Monumental Stones Conservation: Methods of Evaluation", *J. Microbiol. Methods*, 36(1-2): 139-145.
- [123] Ettenauer, J., Piñar, G., Sterflinger, K., Gonzalez-Muñoz, M.T. ve Jroundi, F., (2011). Molecular Monitoring of The Microbial Dynamics Occurring on Historical Limestone Buildings During and After The in Situ Application of

- Different Bio Consolidation Treatments., *Sci. Total Environ.*, 409(24): 5337-5352.
- [124] Frank-Kamenetskaya, OV., Panova, E.G. ve Vlasov D.Yu., (2014). Biogenic-Abiogenic Interactions in Natural and Anthropogenic Systems, Lecture Notes in Earth System Sciences, 20-22 October 2014, Russia.
 - [125] Modaresi, H., Bahador, N. ve Baserisalehi, M., (2014). "Biodeterioration of Some Cultural Heritage in Isfahan City, Iran", *Nature Environment and Pollution Technology*, 13(1): 141-146.
 - [126] Keshari, N. ve Adhikary, S.P., (2013). "Characterization of Cyanobacteria Isolated from Biofilms on Stone Monuments at Santiniketan India", *Biofouling.*, 29(5): 525-536.
 - [127] Adhikary, SP., Keshari, N., Urzì, C. ve De Philippis, R., (2015). "Cyanobacteria in Biofilms on Stone Temples of Bhubaneswar, Eastern India", *Algological Studies* 147: 67-93, Stuttgart, March 2015.
 - [128] Mandal, S. ve Rath, J., (2013). "Algal Colonization and its Ecophysiology on The Fine Sculptures of Terracotta Monuments of Bishnupur, West Bengal, India", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 84: 291-299.
 - [129] Miller, AZ., Laiz, L., Dionisio, A., Macedo, MF. ve Saiz-Jimenez, C., (2009). "Growth of Phototrophic Biofilms From Limestone Monuments Under Laboratory Conditions", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63: 860-867.
 - [130] Dhami, N.K., Reddy, M.S. ve Mukherjee, A., (2014). "Application of Calcifying Bacteria for Remediation of Stones and Cultural Heritages", *Frontiers in Microbiology*, 5, June 2014.
 - [131] Crispim, C.A., Gaylarde, C.C. ve Gaylarde, P.M., (2004). "Biofilms on Church Walls in Porto Alegre, RS, Brazil, with Special Attention to Cyanobacteria, *International Biodeterioration & Biodegradation* 54: 121-124.
 - [132] Gaylarde, PM. ve Gaylarde, CC., (2000). "Algae and Cyanobacteria on Painted Buildings in Latin America", *International Biodeterioration & Biodegradation* 46: 93-97.
 - [133] Mitchell, R., McNamara, C.J., Bearce Lee, K. ve Ross, B., (2007). "Development of a Rapid Indicator of Biodeterioration of Historic Stone", Harvard University, National Center for Preservation Technology and Training, 1-15.
 - [134] Macedo, M.F., Miller, A.Z., Dionísio, A. Ve Saiz-Jimenez, C., (2009). "Biodiversity of Cyanobacteria and Green Algae on Monuments in the Mediterranean Basin: An Overview", *Microbiology*, 155: 3476-3490.
 - [135] Graham, L.E. ve Wilcox, L.W., (2000). *Algae*, 1st edn. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall.
 - [136] Komárek, J. ve Johansen, J.R., (2015). Chapter 4: Filamentous Cyanobacteria, *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*, Second Edition, Elsevier, 135-235, USA.

- [137] Keshari, N. ve Adhikary, SP., (2014). "Diversity of Cyanobacteria on Stone Monuments and Building Facades of India and Their Phylogenetic Analysis", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 90: 45-51.
- [138] Mühlsteinova, R. ve Hauer, T., (2013). "Pilot Survey of Cyanobacterial Diversity From the Neighborhood of San Gerardo de Rivas, Costa Rica with a Brief Summary of Current Knowledge of Terrestrial Cyanobacteria in Central America", *Braz. J. Bot*, 36(4): 299-307.
- [139] Elster, J., Nedbalová, L., Vodrážka, R., Láska, K., Haloda, J. ve Komárek, J., (2016). "Unusual biogenic calcite structures in two shallow lakes, James Ross Island, Antarctica", *Biogeosciences*, 13: 535-549.
- [140] Tiano, P., (2002). "Biodegradation of Cultural Heritage: Decay Mechanisms and Control Methods", *Czechoslovakia*; Derleyen: Dolar, A. Ve Yılmaz, E.Ş., (2014). "Kültürel Yapılarda Biyolojik Bozunma Mekanizmaları", *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 12 (1): 1-19.
- [141] Tomaselli, L., Margheri, M.C. ve Florenzano, G., (1979). "Indagine Sperimentale Sul Ruolo Dei Cianobatteri e Delle microalghe Nel Deterioramento di Monumenti e Affreschi"; Derleyen: Dolar, A. Ve Yılmaz, E.Ş., (2014). "Kültürel Yapılarda Biyolojik Bozunma Mekanizmaları", *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 12 (1): 1-19.
- [142] Tekdal, D., (2009). "Spirulina Platensis (Cyanophyta)'e Elektroporasyon Yolu ile Gen Aktarım Olanaklarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [143] Kuru, E. ve Çirik, S., (2003). "Spirulina Platensis (Cyanophyceae) Mikroalg'ının Büyümesine ve Bazı Biyokimyasal Özelliklerine Sıcaklığın Etkisi", *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 20: 419-422; Derleyen: Tekdal, D., (2009). "Spirulina Platensis (Cyanophyta)'e Elektroporasyon Yolu ile Gen Aktarım Olanaklarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [144] Lochab, S., Kumar, P.A. ve Raghuram, N., (2014). "Molecular Characterization of Nitrate Uptake and Assimilatory Pathway in Arthrospira Platensis Reveals Nitrate Induction and Differential Regulation", *Arch Microbiol*, 196: 385-394.
- [145] Yamada, T., (1994). "Cyanobacteria and Algae/Recombinant Microbes for Industrial and Agricultural Applications", *Marcel Dekker, Inc.*, 701-712.
- [146] Hauer, T., Mühlsteinova, R., Bohunicka, M., Kastovsky, J. ve Mares, J., (2015). "Diversity of Cyanobacteria on Rock Surfaces", *Biodivers Conserv.*, 24: 759-779.
- [147] Gaylarde, PM., Gaylarde, CC., Guimmet, PS., Gomez de Saravia, SG. ve Videla, HA., (2001). "Biodeterioration of Mayan Buildings at Uxmal and Tulum, Mexico", *Biofouling*, 17(1): 41-45.
- [148] Caneva, G., Bartoli, F., Ceschin, S., Salvadori, O., Futagami, Y. ve Salvati, L., (2015). Exploring Ecological Relationships in the Biodeterioration Patterns of

Angkor Temples (Cambodia) Along a Forest Canopy Gradient, *Journal of Cultural Heritage*, 16: 728-735.

- [149] Tease, B.E., Jurgens, U. J. M., Golecki, J.R., Heinrich, U.R., Rippka, R. ve Weckesser, J., (1991). Fine Structural and Chemical Analyses on inner and outer sheath of The cyanobacterium *Gloeotheca* sp. PCC 6909. *Antonie Leeuwenhoek, International Journal of General Molecular, Microbiology*, 59: 27-34.
- [150] Becerra-Absalón, I., Rodarte, B., Osorio, K., Alba-Lois, L., Segal-Kischinevsky, C. ve Montejano, G., (2013). A new species of *Brasilonema* (Scytonemataceae, Cyanoprokaryota) from Tolantongo, Hidalgo, Central Mexico, *Fottea, Olomouc*, 13(1): 25-38.
- [151] Stan-Lotter, H. ve Fendrihan, S., (2012). "Adaption of Microbial Life to Environmental Extremes", *Novel Research Results and Application*.
- [152] Fay, P., (1965). "Heterotrophy and Nitrogen Fixation in *Chlorogloea fritschii*", *Journal of General Microbiology*, 39: 11-20.
- [153] Wang, Q., Cheng, C., He, L.Y., Huang, Z. ve Sheng, X.F., (2014). "Chitinophaga Jiangningensis sp. nov., a Mineral Weathering Bacterium", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64: 260-265.
- [154] Johnson, D.B., Stallwood, B., Kimura, S. ve Hallberg, K.B., (2006). Isolation and Characterization of *Acidicaldus organivorus*, gen. nov., sp. nov.: A Novel Sulfur-Oxidizing, Ferric Iron- Reducing Thermo-Acidophilic Heterotrophic Proteobacterium, *Arch. Microbiol.*, 185: 212-221.
- [155] Miller, A.Z. ve Macedo, M.F., (2006). Mapping and Characterization of A Green Biofilm Inside of Vilar de Frades Church (Portugal). In *Heritage, Weathering and Conservation*, 329-335; Derleyen: Fort, R., Alvarez de Buergo, M., Gomez-Heras, M. ve Vazquez-Calvo, C., London: Taylor & Francis, 2.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Aysun ÖZDEMİR
Doğum Tarihi ve Yeri : 04.12.1986 - Bakırköy
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : aysun.ozdemr@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Çevre Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2010
Lise	Fen Bilimleri	Bahçelievler Lisesi (Y.D.A.)	2005

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2012/2015	Yıldız Teknik Üniversitesi	BAP Projesinde Araştırmacı

YAYINLARI

Bildiri

1. Nuhoglu, Y., Özdemir, A., Erguven, G., Adar, E. ve Bayhan, H., (2016). “Biodeterioration of Stone Monuments on Historical Buildings in Yıldız Technical University Besiktas Campus”, Eurasia Waste Management Symposium, Mayıs 2016, YTÜ Davutpaşa Kongre Merkezi, İstanbul/Türkiye.

Proje

1. Nuhoglu, Y., Özdemir, A., Karadağ, D., Koçak, E., Bayhan, H. ve Ergüven, GÖ., (2012). “Y.T.Ü. Yıldız Kampüsündeki Tarihi Eserlerdeki Taş Malzemenin Biyolojik Bozunmasının Tespit Edilmesi”, 2012-05-02-KAP01 no’lu BAP Projesi.

ÖDÜLLERİ

1. Yüksek Onur Belgesi - Kocaeli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü- 2006.