

Ali UYAN



**İSKENDERUN TEKNİK**

ÜNİVERSİTESİ

MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

**DOKTORA  
TEZİ**

**VATOZ MUKUSUNDAN ELDE  
EDİLEN EKSTRAKTLARIN  
BİYOMEDİKAL OLARAK  
KULLANIM POTANSİYELİ**

**Ali UYAN**

SU ÜRÜNLERİ  
ANABİLİM DALI

EYLÜL 2020

EYLÜL 2020





**VATOZ MUKUSUNDAN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN  
BİYOMEDİKAL OLARAK KULLANIM POTANSİYELİ**

**Ali UYAN**

**DOKTORA TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EYLÜL 2020**

Ali UYAN tarafından hazırlanan “VATOZ MUKUSUNDAN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOMEDİKAL OLARAK KULLANIM POTANSİYELİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile İskenderun Teknik Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Cemal TURAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Başkan:** Prof. Dr. Cemal TURAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Prof. Dr. Birgül ÖZCAN

Biyoloji Anabilim Dalı, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Prof. Dr. Sefa Ayhan DEMİRHAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Doç. Dr. Deniz AYAS

Su Ürünleri Anabilim Dalı, Mersin Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt GÜRLEK

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 14/09/2020

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Tolga DEPCİ

Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

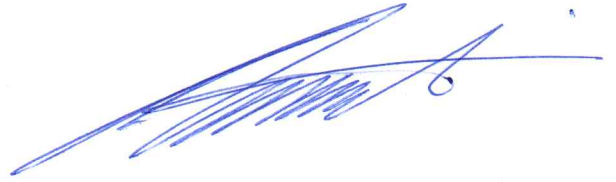
İskenderun Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza

Ali UYAN

14/09/2020





# VATOZ MUKUSUNDAN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOMEDİKAL OLARAK KULLANIM POTANSİYELİ

(Doktora Tezi)

Ali UYAN

İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2020

## ÖZET

Tez çalışmasında, vatoz epidermal mukusundan elde edilen çeşitli ekstraktların, biyomedikal alanlarda potansiyel kullanımı, bilimsel prensiplere bağlı olarak tespit edilmiş ve değerlendirilmiştir. İskenderun Körfezi'nde hem trol hem de uzatma ağlarıyla yapılan avcılıklarda elde edilen ve ilk yakalandığında oldukça yoğun bir şekilde mukus salgılayan dört vatoz türü *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* tercih edilmiştir. Dört bölümden oluşan tez çalışmasının birinci bölümünde, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait epidermal mukus örneklerinin Bradford analizi ile toplam protein miktarı, GC/MS analizi ile uçucu bileşikleri ve HPLC analizi ile *R. miraletus* mukusundaki vitamin E ( $\alpha$ - tokoferol) oranı tespit edilmiştir. *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* epidermal mukuslarındaki toplam protein miktarı sırasıyla 4,61, 4,87, 4,89 ve 3,94 mg/ml olarak bulunmuştur. GC/MS analizi sonucunda, *D. marmorata* mukusunda bulunan majör bileşikler; 2-İzopropil-5-metil-1-heptanol (%10,04), 2-tert-Butil-4-izopropil-5-metilfenol (%7,95), Dokosan (%7,98) ve Dodekanoik asit (%15,76); *D. pastinaca* mukusunda bulunan majör bileşikler, Siklooktasiloksan (%11,22), Siklononasiloksan (%14,49), 1H-Purin-6-amin, [(2-florofenil) metil] (%13,4), Siklodekasiloksan (%12,10), Lusenin-2 (%11,37) ve Oktasiloksan (%10,57); *G. altavela* mukusunda bulunan majör bileşikler, 1-Nonen (%8,13), 2-İzopropil-5-metil-1-heptanol (%12,24), 2-Hidroksi-3-fenil-2H-1-benzopiran (%11,83), Eikosan (%14,25) ve Dodekanoik asit (%21,37) ve *R. miraletus* mukusunda bulunan majör bileşikler, Tetrakoksametil (%36,08), Siklodekasiloksan (%31,56) ve Oktasiloksan (%32,36) olarak bulunmuştur. HPLC analizi sonucu *R. miraletus* mukusunda 13,78  $\mu$ g/ml oranında vitamin E tespit edilmiştir. İkinci bölümde, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* epidermal mukus örneklerinin gram negatif (*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) ve gram pozitif bakteri (*Bacillus subtilis* ve *Enterococcus faecalis*) suşlarına karşı antifungal aktivitesi disk difüzyon ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon metotlarıyla ortaya çıkartılmıştır. Disk difüzyon metodu için en güçlü antibakteriyel aktivite, *B. subtilis* üzerinde 2,90 mm'lik inhibisyon zon çapıyla *G. altavela* mukusunun asetik asit ekstraktında (GaAA) belirlenmiştir. Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon metodu için ise en güçlü antibakteriyel aktivite, *K. pneumoniae* üzerinde 8,99  $\mu$ l'lik MİK değeriyle *D. marmorata* mukusunun asetik asit ekstraktında (DmAA) belirlenmiştir. Üçüncü bölümde, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* epidermal mukus örneklerinin mantar (*Candida albicans* ve *Candida parapsilosis*) suşlarına karşı antifungal aktivitesi yine disk difüzyon ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon metotlarıyla ortaya çıkartılmıştır. Disk difüzyon metodu için en güçlü antifungal aktivite, *C. parapsilosis* üzerinde 2,40 mm'lik inhibisyon zon çapıyla yine *G. altavela* mukusunun asetik asit ekstraktında (GaAA) belirlenmiştir. Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon metodu için ise en güçlü antifungal aktivite, *C. albicans* üzerinde 9,40  $\mu$ l'lik MİK değeriyle *G. altavela* mukusunun asetik asit ekstraktında (GaAA) belirlenmiştir. Dördüncü

bölümde ise, *G. altavela* epidermal mukusunun hücre canlılığı testi (MTT analizi) ile akciğer kanseri hücre hattı (A549) üzerindeki antikanserojen aktiviteleri incelenmiştir. Ancak A549 hücre hattı üzerinde herhangi bir antikanserojen aktivite tespit edilememiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, vatoz epidermal mukusundan elde edilen ekstraktlardaki biyoaktif maddelerin daha detaylı analizlerle karakterize edilip geliştirilerek ilgili alanlarda prototip uygulamalarıyla desteklendiğinde, biyomedikal sektörlerindeki potansiyel iş alanlarında denizel kaynaklı doğal bir ürün olarak ticarileştirilebileceğini göstermiştir.

Bu çalışma TÜBİTAK 2211-C Yurtiçi Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı tarafından desteklenmiştir.



Anahtar Kelimeler : Vatoz epidermal mukusu, biyokimyasal yapı, antibakteriyel aktivite, antifungal aktivite, gram pozitif bakteri, gram negatif bakteri, mantar.

Sayfa Adedi : 97

Danışman : Prof. Dr. Cemal TURAN

# POTENTIAL USAGE OF RAYS' MUCUS EXTRACTS IN BIOMEDICAL APPLICATIONS

(Ph. D. Thesis)

Ali UYAN

ISKENDERUN TECHNICAL UNIVERSITY  
ENGINEERING AND SCIENCE INSTITUTE


September 2020

## ABSTRACT

In this study, the potential use of various extracts obtained from ray epidermal mucus in biomedical fields has been examined and evaluated based on scientific principles. Four stingray species *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela*, and *Raja miraletus* were preferred because of high abundance through commercial trawl and trammel nets operations in Iskenderun Bay and their intensive secretion of mucus when caught. The thesis study consists of four parts. In the first part of the thesis, the total protein content by the Bradford analysis, volatile compounds by GC/MS analysis in epidermal mucus samples of *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* and *R. miraletus*, and vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) concentration by HPLC analysis in *R. miraletus* mucus were determined. The total protein concentration in *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* and *R. miraletus* epidermal mucus was found to be 4.61, 4.87, 4.89 and 3.94 mg/ml, respectively. The major compounds obtained from the GC/MS analysis were determined 2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol (10.04%), 2-*tert*-Butyl-4-isopropyl-5-methylphenol (7.95%), Dokosan (7.98%) and Dodecanoic acid (% 15.76) for *D. marmorata* epidermal mucus; Cyclooctasiloxane (11.22%), Cyclononacyloxane (14.49%), 1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl) methyl] (13.4%), Cyclodeazyloxane (12.10%), Lucenin-2 (11.37%) and Octasiloxane (10.57%) for *D. pastinaca* epidermal mucus; 1-Nonene (8.13%), 2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol (12.24%), 2-Hydroxy-3-phenyl-2H-1-benzopyran (11.83%), Eicosan (14.25%) and Dodecanoic acid (21.37%) for *G. altavela* epidermal mucus; Tetracoxamethyl (36.08%), Cyclodeazyloxane (31.56%) and Octasiloxane (32.36%) for *R. miraletus* epidermal mucus. As a result of the HPLC analysis, the vitamin E concentration in *R. miraletus* mucus was detected as 13.78  $\mu$ g/ml. In the second part of the thesis, the antibacterial activity of *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* and *R. miraletus* epidermal mucus samples against gram negative bacteria strains (*Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*) and gram positive bacteria strains (*Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis*) were revealed by the disc diffusion and spectrophotometric broth microdilution methods. The strongest antibacterial activity for the disc diffusion method was determined in the acidic mucus extract of *G. altavela* (GaAC) with an inhibition zone diameter of 2.90 mm against *B. subtilis*. For the spectrophotometric broth microdilution method, the strongest antibacterial activity was determined in the acidic mucus extract of *D. marmorata* (DmAC) with a MIC value of 8.99  $\mu$ l against *K. pneumoniae*. In the third part of the thesis, the antifungal activity of *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* and *R. miraletus* epidermal mucus samples against fungal strains (*Candida albicans* and *Candida parapsilosis*) were also determined by the disc diffusion and spectrophotometric broth microdilution methods. The strongest antifungal activity for the disc diffusion method was also detected in the acidic mucus extract of *G. altavela* (GaAC) with an inhibition zone diameter of

2.40 mm against *C. parapsilosis*. For the spectrophotometric broth microdilution method, the strongest antifungal activity was also found in the acidic mucus extract of *G. altavela* (GaAC) with a MIC value of 9.40  $\mu$ l against *C. albicans*. In the fourth part of the thesis, anticarcinogenic activities of the epidermal mucus of *G. altavela* were investigated on the lung carcinoma cell line (A549) by cell viability test (MTT analysis). However, no anticarcinogenic activity was detected on the A549 cell line. The results have shown that bioactive substances in extracts obtained from ray epidermal mucus can be commercialized as a marine-derived natural product in potential areas in the biomedical sectors when the bioactive substances in the extracts are characterized and developed by more detailed analyzes and supported by prototype applications in related fields.

This study was supported by TÜBİTAK 2211-C Domestic Priority Areas Doctorate Scholarship Program.



Key Words : Ray epidermal mucus, biochemical structure, antibacterial activity, antifungal activity, gram positive bacteria, gram negative bacteria, fungus.

Page Number : 97

Supervisor : Prof. Dr. Cemal TURAN

## TEŞEKKÜR

İlk ve en çok olarak, tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile lisans hayatımdan bu yana büyük bir titizlik, sabır ve özveriyle bana yol gösterici olan, tez konumun belirlenmesinde, tez çalışmalarımın yürütülmesinde ve tezimin yazım aşamalarında bana her türlü desteği sağlayan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Cemal TURAN'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunmak isterim.

Tez çalışmalarımın yürütülmesi ve yazım aşamalarında bilgi ve önerilerini göstermekten çekinmeyen değerli Tez İzleme Komitesi üyesi hocalarım sayın Prof. Dr. Birgül ÖZCAN ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt GÜRLEK'e şükranlarımı sunarım.

Antibakteriyel ve antifungal analizlerimin gerçekleştirilmesinde gerekli her türlü laboratuvar desteğini sağlayan, analizlerin sonuçlandırılması ve teze uyarlanmasında kıymetli vaktini esirgemeyen Mersin Üniversitesi'nde görev yapmakta olan sayın Dr. Öğr. Üyesi Elif Ayşe ERDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimyasal analizlerimin yapılması için gerekli tüm imkânları seferber ederek tezime önemli katkılar sağlanmasına vesile olan Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi'nde görev yapan değerli hocam sayın Prof. Dr. Mustafa Kemal SANGÜN'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülmesi sırasında yardımlarından ötürü doktora öğrencisi çalışma arkadaşlarım Serpil KARAN ve Servet Ahmet DOĞDU'ya teşekkür ederim. Kıymetli katkılarından ve desteklerinden dolayı Dilek NAZLI'ya ayrıca teşekkür ediyorum.

Eğitim hayatımın başından sonuna kadar uzanan bu zorlu yolda bir an olsun benden ümitlerini kesmeden büyük bir sabırla yanımda olup desteklerini hiçbir zaman eksik etmeden bugünlere gelmemi sağlayan annem Berrin UYAN, babam Erdal UYAN ve kardeşim Ilgaz UYAN'a sonsuz minnettarım.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	7
2.1. Balık Mukusunun Biyokimyasal Yapısı ile İlgili Çalışmalar .....	7
2.1.1. Toplam Protein Miktarıyla İlgili Çalışmalar .....	7
2.1.2. GC/MS ve HPLC Analizi ile İlgili Çalışmalar .....	8
2.2. Balık Mukusunun Antibakteriyel Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar .....	9
2.3. Balık Mukusunun Antifungal Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar .....	12
2.4. Balık Mukusunun Antikanserojen Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar .....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal .....	15
3.1.1. Balık Materyali .....	15
3.1.2. Balık Örneklerinin Temini.....	18
3.1.3. Mukus Örneklerinin Toplanması .....	18
3.2. Yöntem .....	19
3.2.1. Biyokimyasal Yapı Analizleri .....	19
3.2.2. Antimikrobiyal Analiz.....	23
3.2.4. Antikanserojen Aktivite Analizi .....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	31
4.1. Biyokimyasal Yapı.....	31
4.1.1. Bradford Analizi Sonuçları.....	31
4.1.2. GC/MS Analizi Sonuçları.....	32

	<b>Sayfa</b>
4.1.3. HPLC Analizi Sonuçları.....	39
4.2. Antibakteriyel Aktivite.....	39
4.2.1. Disk Difüzyon Analizi Sonuçları .....	39
4.2.2. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Analizi Sonuçları.....	42
4.3. Antifungal Aktivite .....	54
4.3.1. Disk Difüzyon Analizi Sonuçları .....	54
4.3.2. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Analizi Sonuçları.....	56
4.4. Antikanserojen Aktivite .....	66
5. TARTIŞMA.....	67
5.1. Biyokimyasal Yapı.....	67
5.1.1. Bradford Analizi .....	67
5.1.2. GC/MS Analizi .....	68
5.1.3. HPLC Analizi .....	70
5.2. Antibakteriyel Aktivite.....	71
5.3. Antifungal Aktivite .....	75
5.4. Antikanserojen Aktivite .....	77
6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	79
6.1. Biyomedikal Potansiyel.....	79
KAYNAKLAR .....	82
ÖZGEÇMİŞ .....	90
DİZİN.....	97



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.1. HPLC çalışma koşulları .....	23
Çizelge 4.1. Türlerin epidermal mukus örneklerinin toplam protein miktarları.....	32
Çizelge 4.2. GC/MS ile tanımlanan <i>D. marmorata</i> epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri .....	33
Çizelge 4.3. GC/MS ile tanımlanan <i>D. pastinaca</i> epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri .....	34
Çizelge 4.4. GC/MS ile tanımlanan <i>G. altavela</i> epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri .....	36
Çizelge 4.5. GC/MS ile tanımlanan <i>R. miraletus</i> epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri .....	37
Çizelge 4.6. Disk difüzyon yöntemine göre, 24 saat boyunca <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>B. subtilis</i> ve <i>E. faecalis</i> ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarına bağlı inhibisyon zon çapları (mm).....	40
Çizelge 4.7. Spektrofometrik mikrodilüsyon yöntemine göre, 24 saat boyunca <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>B. subtilis</i> ve <i>E. faecalis</i> ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarının MİK değerleri .....	43
Çizelge 4.8. Disk difüzyon yöntemine göre, 24 saat boyunca <i>C. albicans</i> ve <i>C. parapsilosis</i> ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarına bağlı inhibisyon zon çapları (mm).....	55
Çizelge 4.9. Spektrofometrik mikrodilüsyon yöntemine göre, 24 saat boyunca <i>C. albicans</i> ve <i>C. parapsilosis</i> ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarının MİK değerleri .....	57

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Balıklarda antimikrobiyal savunma mekanizmasının şematik gösterimi (Rakers ve diğerleri, 2010).....	4
Şekil 4.1. Bradford yöntemine göre protein tayini için standart kalibrasyon grafiği .....	31
Şekil 4.2. Türlerle ait epidermal mukus örneklerinin toplam protein miktarları .....	32
Şekil 4.3. <i>D. marmorata</i> epidermal mukusunun majör bileşikleri .....	33
Şekil 4.4. <i>D. pastinaca</i> epidermal mukusunun majör bileşikleri.....	35
Şekil 4.5. <i>G. altavela</i> epidermal mukusunun majör bileşikleri.....	36
Şekil 4.6. <i>R. miraletus</i> epidermal mukusunun majör bileşikleri.....	37
Şekil 4.7. <i>D. marmorata</i> epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı.....	37
Şekil 4.8. <i>D. pastinaca</i> epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı .....	38
Şekil 4.9. <i>G. altavela</i> epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı.....	38
Şekil 4.10. <i>R. miraletus</i> epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı .....	38
Şekil 4.11. <i>R. miraletus</i> epidermal mukusunun HPLC kromatogramı .....	39
Şekil 4.12. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının <i>E. coli</i> ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi.....	41
Şekil 4.13. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi .....	41
Şekil 4.14. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının <i>B.</i> <i>subtilis</i> ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi.....	42
Şekil 4.15. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının <i>E.</i> <i>faecalis</i> ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi.....	42
Şekil 4.16. <i>D. marmorata</i> mukusunun ham ekstraktının (DmH) <i>E. coli</i> (Ec), <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> (Kp), <i>B. subtilis</i> (Bs) ve <i>E. faecalis</i> (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.. .....	44
Şekil 4.17. <i>D. marmorata</i> mukusunun sulu faz ekstraktının (DmS) <i>E. coli</i> (Ec), <i>K.</i> <i>pneumoniae</i> (Kp), <i>B. subtilis</i> (Bs) ve <i>E. faecalis</i> (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri..	45

## Sayfa

- Şekil 4.18. *D. marmorata* mukusunun asetik asit ekstraktının (DmAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri ..... 46
- Şekil 4.19. *D. pastinaca* mukusunun ham ekstraktının (DpH) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri ..... 47
- Şekil 4.20. *D. pastinaca* mukusunun sulu faz ekstraktının (DpS) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .... 47
- Şekil 4.21. *D. pastinaca* mukusunun asetik asit ekstraktının (DpAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .... 48
- Şekil 4.22. *G. altavela* mukusunun ham ekstraktının (GaH) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri ..... 49
- Şekil 4.23. *G. altavela* mukusunun sulu faz ekstraktının (GaS) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .... 50
- Şekil 4.24. *G. altavela* mukusunun asetik asit ekstraktının (GaAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .... 51
- Şekil 4.25. *R. miraletus* mukusunun ham ekstraktının (RmH) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri ..... 52
- Şekil 4.26. *R. miraletus* mukusunun sulu faz ekstraktının (RmS) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .... 53
- Şekil 4.27. *R. miraletus* mukusunun asetik asit ekstraktının (RmAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .... 54

Şekil 4.28. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının <i>C. albicans</i> ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antifungal zonların grafiksel gösterimi.....	56
Şekil 4.29. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının <i>C. parapsilosis</i> ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antifungal zonların grafiksel gösterimi.....	56
Şekil 4.30. <i>D. marmorata</i> mukusunun ham ekstraktının (DmH) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	58
Şekil 4.31. <i>D. marmorata</i> mukusunun sulu faz ekstraktının (DmS) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	59
Şekil 4.32. <i>D. marmorata</i> mukusunun asetik asit ekstraktının (DmAA) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	59
Şekil 4.33. <i>D. pastinaca</i> mukusunun ham ekstraktının (DpH) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	60
Şekil 4.34. <i>D. pastinaca</i> mukusunun sulu faz ekstraktının (DpS) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	61
Şekil 4.35. <i>D. pastinaca</i> mukusunun asetik asit ekstraktının (DpAA) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	61
Şekil 4.36. <i>G. altavela</i> mukusunun ham ekstraktının (GaH) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	62
Şekil 4.37. <i>G. altavela</i> mukusunun sulu faz ekstraktının (GaS) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	63
Şekil 4.38. <i>G. altavela</i> mukusunun asetik asit ekstraktının (GaAA) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	63

**Sayfa**

Şekil 4.39. <i>R. miraletus</i> mukusunun ham ekstraktının (RmH) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri.....	64
Şekil 4.40. <i>R. miraletus</i> mukusunun sulu faz ekstraktının (RmS) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .....	65
Şekil 4.41. <i>R. miraletus</i> mukusunun asetik asit ekstraktının (RmAA) <i>C. albicans</i> (Ca) ve <i>C. parapsilosis</i> (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri .....	65



**RESİMLERİN LİSTESİ**

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 3.1. <i>Dasyatis marmorata</i> 'nın genel görünüşü .....	15
Resim 3.2. <i>Dasyatis pastinaca</i> 'nın genel görünüşü.....	16
Resim 3.3. <i>Gymnura altavela</i> 'nın genel görünüşü .....	17
Resim 3.4. <i>Raja miraletus</i> 'un genel görünüşü.....	18
Resim 3.5. Balık henüz canlıyken yapılan mukus örneği toplanması işlemi.....	19
Resim 3.6. GC/MS analizinin yapıldığı cihaz .....	21
Resim 3.7. <i>R. miraletus</i> mukusunda bulunan $\alpha$ -tokoferol miktarının tespit edildiği HPLC cihazı.....	22
Resim 3.8. MHA'lı petrideki boş antimikrobiyal disklerle ekstraktların damlatılması...	25
Resim 3.9. Liyofilizasyon işlemi (a), liyofilize edilmiş <i>G. altavela</i> epidermal mukus örneği (b).....	29

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklamalar</b>
°C	Derece santigrat
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
gr	Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
nm	Nanometre
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklamalar</b>
<b>A549</b>	İnsan Akciğer Kanseri Hücre Hattı
<b>ATCC</b>	Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
<b>BSA</b>	Sığır Serum Albümini
<b>DmAA</b>	<i>D. marmorata</i> Mukusunun Asetik Asit Ekstraktı
<b>DMEM</b>	Dulbeco'nun Modifiye Eagle Besiyeri
<b>DmH</b>	<i>D. marmorata</i> Mukusunun Ham Ekstraktı
<b>DmS</b>	<i>D. marmorata</i> Mukusunun Sulu Faz Ekstraktı
<b>DMSO</b>	Dimetil Sülfoksit
<b>DpAA</b>	<i>D. pastinaca</i> Mukusunun Asetik Asit Ekstraktı
<b>DpH</b>	<i>D. pastinaca</i> Mukusunun Ham Ekstraktı
<b>DpS</b>	<i>D. pastinaca</i> Mukusunun Sulu Faz Ekstraktı
<b>FBS</b>	Fetal Bovin Serum
<b>GaAA</b>	<i>G. altavela</i> Mukusunun Asetik Asit Ekstraktı
<b>GaH</b>	<i>G. altavela</i> Mukusunun Ham Ekstraktı
<b>GaS</b>	<i>G. altavela</i> Mukusunun Sulu Faz Ekstraktı
<b>GC/MS</b>	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
<b>HPLC</b>	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>KCl</b>	Potasyum Klorür
<b>MHA</b>	Mueller Hinton Agar
<b>MHB</b>	Mueller Hinton Broth
<b>MİK</b>	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
<b>MTT</b>	Hücre Canlılığı Testi
<b>NaCl</b>	Sodyum Klorür
<b>OD</b>	Optik Dansite
<b>rcf</b>	Göreceli Santrifüj Kuvveti
<b>RmAA</b>	<i>R. miraletus</i> Mukusunun Asetik Asit Ekstraktı
<b>RmH</b>	<i>R. miraletus</i> Mukusunun Ham Ekstraktı
<b>RmS</b>	<i>R. miraletus</i> Mukusunun Sulu Faz Ekstraktı
<b>rpm</b>	Dakikadaki Devir Sayısı
<b>RT</b>	Alıkonma Süresi
<b>SDA</b>	Sabouraud Dextrose Agar



## 1. GİRİŞ

Okyanuslar ve denizler yerkürenin %70'ini kaplayan, toplam su kaynaklarının yaklaşık %97'sini içeren ve toplam küresel biyoçeşitliliğin yaklaşık %50'sini oluşturan zengin kaynaklardır. Denizel ortamda yaklaşık 300.000 tanımlanmış tür bulunmaktadır. Fakat bu rakam, daha tanımlanması gereken tür sayısının çok küçük bir bölümüdür (Pomponi, 1999, 2001; Schwartsmann, da Rocha, Berlinck ve Jimeno, 2001; Pomponi, Baden ve Zohar, 2007; Kim ve Wijesekara, 2010; Cardoso, Costa ve Mano, 2016; Snelgrove, 2016; Hu, Tao, Wang, Xiao ve Wang, 2016; Ruiz-Torres ve diğerleri, 2017; Cipolari, de Oliveira-Neto ve Conceição, 2019). Denizel ortamın bu benzersiz özelliği ile ilgili olarak, denizel organizmalar bu dinamik ve rekabetçi habitatta hayatta kalabilmek için bir dizi spesifik biyokimyasal ve fizyolojik sistemler geliştirmişlerdir (Pomponi, 2001; Najafian ve Babji, 2012; Kornprobst, 2014). Bu nedenle, deniz flora ve faunası, farklı biyolojik aktiviteleri ve biyoteknolojik yöntemlerle, endüstri, sağlık, eczacılık, besin, gıda katkıları, kozmetik, yetiştiricilik gibi alanlardaki kullanımları ile zengin çeşitli bileşiklerin kaynağı durumundadır (Zhang, Li ve Kim, 2012; Parte, Sirisha ve D'Souza, 2017; Coppola ve diğerleri, 2020).

Denizel biyoteknoloji, canlı denizel organizmalar ya da bu organizmalardan biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen biyoaktif maddelerin bilim ve mühendislik ilkeleri çerçevesinde değerlendirilerek tıp, eczacılık, endüstri, tarım, gıda, çevre, kozmetik gibi alanlardaki spesifik uygulamalarda ürün üretmek, modifiye etmek veya çeşitli mikroorganizmalar geliştirmek için kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Dünya genelinde denizel biyoteknoloji hızlı bir gelişim sürecinde olup, bu yolla elde edilen denizel biyomateryaller ve kullanım alanları heyecan verici bir noktaya ulaşmıştır. European Science Foundation-Marine Board, denizel biyoteknoloji ürün ve prosesleri için küresel pazarın 2010 yılında 2,8 milyar € olduğunu ve bunun 2020 yılına kadar yıllık %4-5 oranında, iyi tahminlere göre ise %10-12 arasında büyüyeceğini belirtmektedir (Querellou, Cadoret, Allen ve Collén, 2010; Garza-Gil, Varela-Lafuente ve Pérez-Pérez, 2019; Merquiol, Romano, Ianora ve D'Ambra, 2019). Denizel biyoteknoloji çok geniş bir uygulama alanına sahip olmasına rağmen ülkemizde bu konunun önemi yeni yeni fark edilmeye başlanmıştır. Üç tarafı denizlerle çevrili ve denizel biyoçeşitlilik açısından çok zengin olan ülkemizde biyoteknolojik yöntemlerle denizel biyomateryallerin elde edilmesi üzerine yeterli düzeyde çalışmalar

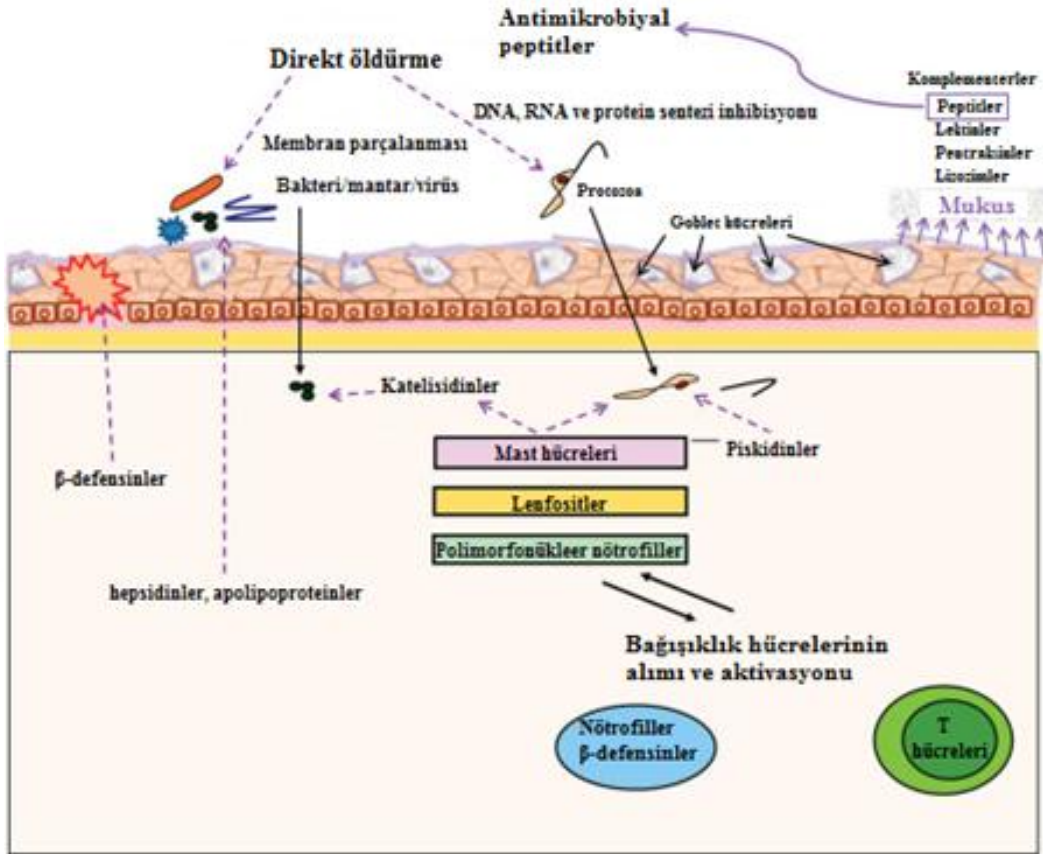
yürütülmemiş olup, Avrupa Birliği raporlarında da Türkiye'nin Ulusal denizel biyoteknoloji politikası ve stratejisi bulunmadığı belirtilmiştir. Ne yazık ki, sahip olduğumuz bu potansiyel dış ülkeler tarafından bilinmekte olup, Türkiye'deki araştırmacı veya kurumlardan örnek temini ve ortak proje adı altında faydalanılmaya çalışılmakta veya bu işin farkında olan melek yatırımcılar tarafından araştırmacıların fikirleri satın alınarak büyük gelirler elde edilebilmektedir.

Denizel biyomateryaller, denizel organizmalar tarafından üretilen, diğer organizmalara karşı biyolojik aktivite gösteren ve bilim ve mühendislik ilkeleri ışığında biyolojik sistemlerle etkileşime girecek şekilde tasarlanabilen kimyasal bileşikler olarak tanımlanabilir. Bu materyaller, sağlığı olumlu yönde etkileyici, hastalıkların tedavisi veya önlenmesinde yardım edici faydalar sağlayan özellikleri bakımından gıda veya içecek formundaki fonksiyonel gıdalarda (Sloan, 2000; Marchbank, Limdi, Mahmood, Elia ve Playford, 2008; Herrero, Mendiola, Plaza ve Ibañez, 2013; Martins ve diğerleri, 2013), hastalık riskini azaltan ve sağlık üzerinde yararlı etki gösteren besin maddeleri olarak saflaştırılmış önemli biyoaktif bileşenlerden konsantre edilerek elde edilen tablet, toz veya sıvı formlarda kullanılan nutrasötik ilaçlarda (Liu, 2003; Rasmussen ve Morrissey, 2007; Gupta ve Abu-Ghannam, 2011; Suleria, Osborne, Masci ve Gobe, 2015), antimikrobiyal, antioksidatif, antihipertansif, antikoagülan veya antikanser içerikleri sayesinde hastalık önleme veya tedavisindeki terapötik potansiyelleri bakımından farmasötiklerde (Pomponi, 1999; Kim ve Wijesekara, 2010; Wijesekara, Pangestuti ve Kim, 2011; Bellou ve diğerleri, 2014), tarımsal üretimde kayıplara neden olan böceklere karşı önleyici etkiye sahip özellikleri bakımından insektisitlerde (Xu ve diğerleri, 2015; Pasdaran, Hamedi ve Mamedov, 2016) ve denizlerde doğal bir sürecin sonunda gerçekleşen, deniz suyuna maruz kalan yüzeylerin bazı denizel organizmalarla kaplanmasının deniz araçlarında yarattığı olumsuz durumların giderilmesinde biyosidal özellikleri bakımından denizcilik sektöründe kullanılan özel boyalarda (Yebra, Kiil ve Dam-Johansen, 2004; Ciriminna, Bright ve Pagliaro, 2015) işlev göstermektedir.

Denizel bir biyomateryal olarak balık mucusu, içerdiği biyoaktif maddelerden dolayı multifonksiyonel bir materyaldir. Balıklarda solunum, iyonik ve ozmotik regülasyon, üreme, iletişim, boşaltım ve hastalık direncinde çok önemli fonksiyonlara sahip olup (Alexander ve Ingram, 1992, Shephard, 1994), antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde sucül ortamda patojenlere karşı balıklara geniş çaplı fiziksel bir koruma sağlar. Mukus salgıları deriye

açıklıklardan ulaşır. Mukus en çok balığın baş kısmında en az da yüzgeçlerden salgılanır. Mukus öncelikli olarak yaklaşık %95 oranında sudan ve geri kalan bölümü ise glikoproteinlerden oluşur (Shephard, 1994; Bansil ve Turner, 2006). Mukusun bu koruyucu işlevi, mekanik ve biyokimyasal özelliklerin kombine bir sonucudur. Mukus esas olarak epidermisteki goblet (kadeh) hücreleri tarafından salgılanarak fiziksel hasar ve enfeksiyona karşı ilk bariyer olarak işlev görür. Goblet hücreleri, yapısal olarak memelilerdekine benzerdir. Goblet hücrelerinin başlıca rolü, bulunduğu mukoza zarını korumak için çoğunlukla karbonhidratlardan oluşan büyük glikoproteinler olan müsinleri salgılamaktır. Müsinler, balıklarda epitelyal dokular tarafından üretilen yüksek moleküler ağırlıklı, mukusu kayganlaştırıcı işleve sahip, epitelyum hücrelerini mekanik zedelenmelere karşı koruyan ve glikoprotein-mukoprotein karışımından oluşan mukusun ana maddesidir. Müsinlerin temel özelliği jel oluşturma yetenekleridir; bu nedenle, jel benzeri salgıların çoğunda, lubrikasyondan (yağlama) hücre sinyalizasyonuna ve kimyasal bariyerler oluşturmaya kadar işlevler gösteren önemli bir bileşendir (Shephard, 1993; Ramsey, Rushton ve Ehre, 2016).

Balıkların mukus tabakasındaki biyoaktif maddelerin varlığı ektoparazitlerin, bakterilerin, kopepodların, siliatların veya ökaryotik parazitlerin oluşumuna ve çoğalmasına engel olabilir (Jones, 2001; Van der Marel ve diğerleri, 2010). Mukus, patojenler üzerinde etkisi olabilecek lektinler, pentraksinler, lizozimler, proteolitik enzimler, alkalik fosfataz, C-reaktif proteinler,  $\beta$ -defensinler, hepsidinler, apolipoproteinler, piskidinler, katelisinler, komplementler, antimikrobiyal peptitler ve immüoglobulinler gibi birtakım doğal bağışıklık bileşenleri içerir (Şekil 1.3.) (Shephard, 1994; Jones, 2001; Fast, Sims, Burka, Mustafa ve Ross, 2002; Alvarez-Pellitero, 2008; Guardiola, Cuesta, Arizcun, Meseguer ve Esteban, 2014).



Şekil 1.1. Balıklarda antimikrobiyal savunma mekanizmasının şematik gösterimi (Rakers ve diğerleri, 2010)

Günümüze kadar balık mukusunun çeşitli biyoaktif özellikleri tanımlanmıştır. Bu özellikler arasında; antibakteriyel (Hellio, Pons, Beaupoil, Bourgougnon ve Le Gal, 2002; Kuppulakshmi, Prakash, Gunasekaran, Manimegalai ve Sarojini, 2008; Subramanian, Ross ve MacKinnon, 2008; Manivasagan, Annamalai, Ashokkumar ve Sampathkumar, 2009; Ravi, Kesavan, Sandhya ve Rajagopal, 2010; Wei, Xavier ve Marimuthu, 2010; Kumari, Nigam, Mitial ve Mitial, 2011; Vennila ve diğerleri, 2011; Conceição ve diğerleri, 2012; Rao ve diğerleri, 2015; Fuochi ve diğerleri, 2017; Lirio, De Leon ve Villafuerte, 2019), antifungal (Hellio ve diğerleri, 2002; Subramanian ve diğerleri, 2008; Vennila ve diğerleri, 2011; Conceição ve diğerleri, 2012; Fuochi ve diğerleri, 2017; Pethkar ve Lokhande, 2017; Lirio ve diğerleri, 2019), antioksidatif (Hussin, Shaarani, Sulaiman, Ahmad ve Vairappan, 2017), antihipertansif (Kim, Choi, Park, Choi ve Moon, 2000), immunomodulator (Bragadeeswaran, Priyadarshini, Prabhu ve Rani, 2011) ve antikanserojen (Lin ve diğerleri, 2009; Arulvasu, Selvamathi, Babu ve Dhanasekaran, 2012; Kwak ve diğerleri, 2015; Balasubramanian, Revathi ve Gunasekaran, 2016; Raja ve diğerleri, 2020) özelliklerinin olduğu daha önce yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Tez çalışmasında amaçlanan tüm araştırmalar için, ince derili ve pullu balıklara göre oldukça yoğun bir miktarda epidermal mukus salgılama özelliklerinden dolayı (Negus, 1963; Conceição ve diğerleri, 2012) vatoz balıkları tercih edilmiştir. Kuzey Kutbu'ndan Antarktika'ya kadar tüm dünya deniz sularında yayılım gösteren vatozlar, çok çeşitli habitatlara adapte olmuştur. Genellikle sığ nehir ağızları ve deniz sularının sığlık bölgelerinden 3000 m'ye kadar ulaşan derinliklerde bulunurlar (McEachran, De Carvalho ve Carpenter, 2002). Vatozlar geceleri kendilerini kumluklara gömerek avlanırlar. Besin kompozisyonlarını genellikle küçük balıklar ve küçük kabuklular oluşturur (McEachran ve diğerleri, 2002; Rodrigues ve diğerleri, 2018). Dünya sularında, 20 familyaya ait 72 genus ve tanımlanmış 513 tür vatoz bulunmaktadır (McEachran ve Fechhelm, 1998; McEachran ve Aschliman, 2004; Cuevas, Pérez ve Méndez, 2013; da Silva Rodrigues Filho ve diğerleri, 2020). Türkiye denizlerinde ise, Rhinobatidae familyasına ait 2 tür (*Rhinobatos cemiculus* ve *R. rhinobatos*), Torpedinidae familyasına ait 3 tür (*Torpedo marmorata*, *T. torpedo* ve *T. nobiliana*), Rajidae familyasına ait 13 tür (*Dipturus. batis*, *D. oxyrinchus*, *Leucoraja circularis*, *L. fullonica*, *L. naevus*, *Raja asterias*, *R. clavata*, *R. miraletus*, *R. montagui*, *R. polystigma*, *R. radula*, *R. undulata* ve *Rostroraja alba*), Dasyatidae familyasına ait 8 tür (*Dasyatis centroura*, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *D. tortonesei*, *Pteroplatytrygon violacea*, *Himantura uarnak*, *H. leoparda* ve *Taeniura grabata*), Gymnuridae familyasına ait 1 tür (*Gymnura altavela*), Myliobatidae familyasına ait ise 3 tür (*Myliobatis aquila*, *Pteromylaeus bovinus* ve *Rhinoptera marginata*) ve Mobulidae familyasına ait 2 tür (*Mobula japonica* ve *M. mobular*) vatoz bulunmaktadır (Bilecenoğlu, Kaya, Cihangir ve Çiçek, 2014; Froese ve Pauly, 2019). Denizlerimizde bulunan bu türlerden *Dasyatis marmorata*, *Himantura leoparda* ve *Mobula japonica* yabancı türler olarak kayıtlara geçmiştir (Turan ve diğerleri, 2018).

Vatoz türleri genelde yoğun miktarlarda mukus salgılamasına rağmen (Negus, 1963; Conceição ve diğerleri, 2012), epidermal mukuslarına ait biyolojik aktivitelerin araştırıldığı az sayıda çalışma mevcuttur. Vennila ve diğerleri (2011) *D. pastinaca* ve *Himantura gerrardi*, Conceição ve diğerleri (2012) *Potamotrygon cf. henlei*, Fuochi ve diğerleri (2017) *D. pastinaca* ve Yemişken ve diğerleri (2018) ise *D. pastinaca*, *Myliobatis aquila* ve *Raja clavata* epidermal mukuslarının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini incelemiştir. Ritchie ve diğerleri (2017) ise *Rhinoptera bonasus*, *Mobula hypostoma*, *Dasyatis sabina* ve *Raja eglanteria* epidermal mukus izolatlarının yara tedavisindeki etkilerini incelemiştir.

Bu çalışmada, İskenderun Körfezi'nde hem trol hem de uzatma ağlarıyla yapılan avcılıklarda elde edilen dört vatoz türü, iğneli vatoz *Dasyatis marmorata*, dikenli vatoz *Dasyatis pastinaca*, kazıkkuyruk balığı *Gymnura altavela* ve aynalı vatoz balığı *Raja miraletus* tercih edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait mukus örneklerinin Bradford analizi ile toplam protein miktarı ve GC/MS analizi ile uçucu bileşiklerinin belirlenmesi ve aynı zamanda HPLC analizi ile *R. miraletus* epidermal mukusundaki, yara ve yanık tedavisindeki etkinliği ile bilinen vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)'nin incelenip oranının tespit edilmesi, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait mukus örneklerinin gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, gram pozitif bakteri suşlarından *Bacillus subtilis* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi ortaya çıkartılması, yine *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait mukus örneklerinin mantar suşlarından *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis*'e karşı antifungal aktivitesi tespit edilmesi ve *G. altavela* epidermal mukusunun hücre canlılığı testi (MTT analizi) ile küçük hücreli olmayan akciğer kanseri olarak da isimlendirilen A549 hücre hattı üzerindeki antikanserojen aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Balık mukusunun biyokimyasal yapısı, antibakteriyel aktiviteleri, antifungal aktiviteleri ve antikanserojen özellikleri ile ilgili literatürde pek çok çalışma mevcuttur.

### 2.1. Balık Mukusunun Biyokimyasal Yapısı ile İlgili Çalışmalar

#### 2.1.1. Toplam Protein Miktarıyla İlgili Çalışmalar

Manivasagan ve diğerleri (2009), Hindistan'ın güneydoğu kıyılarından topladıkları benekli yayın balığı *Arius maculatus* epidermal mukusunun protein miktarını 12,64 µg/g olarak bulmuşlardır.

Wei ve diğerleri (2010), Malezya'daki yerel bir balık pazarından elde ettikleri yılanbaş balığı *Channa striatus*'un ham, sulu faz ve asidik epidermal mukus ekstraktının protein konsantrasyonunu sırasıyla, 0,589, 0,291 ve 0,267 mg/ml olarak bulmuşlardır.

Arulvasu ve diğerleri (2012), Hindistan'ın Bengal Körfezi kıyılarından örneklemesini yaptıkları *Tachysurus dussumieri* türü kedi balığının, ham ve kısmen saflaştırılmış epidermal mukus ekstraktının protein oranları sırasıyla, 0,48 ve 0,82 mg/ml bulmuşlardır.

Adel, Amiri, Zorriehzahra, Nematolahi ve Esteban (2015), Hazar Gölü kıyılarından topladıkları levkit balığı *Rutilus frisii kutum* türünün epidermal mukusundaki protein oranını 1,84 mg/ml olarak bulmuşlardır.

Rao ve diğerleri (2015), Malezya'daki yerel bir balık çiftliğinden temin ettikleri yılanbaş balıkları *Channa micropeltes*, *C. striatus*, Nil tilapyası *Oreochromis niloticus* ve yayın balığı *Mystus nemurus* türlerinin epidermal mukuslarındaki protein miktarlarını; *C. micropeltes* için 0,432 mg/ml, *C. striatus* için 0,535 mg/ml, *O. niloticus* için 0,579 mg/ml ve *M. nemurus* için 0,466 mg/ml olarak bulmuşlardır.



Al-Rasheed ve diğeri (2018), Malezya’da yetiştiriciliği yapılan bir tatlısu levreği türü *Anabas testudineus*’un ham mukus ekstraktındaki protein miktarını 1,2 mg/ml olarak bulmuşlardır.

Mahadevan, Mohan, Vinoth ve Ravi (2019), Hindistan’ın güneydoğu kıyılarından temin ettikleri gobi balığı *Periophthalmodon schlosseri* türünün ham mukus ekstraktındaki toplam protein miktarını 0,66 mg/ml olarak bulmuşlardır.

### 2.1.2. GC/MS ve HPLC Analizi ile İlgili Çalışmalar

Chong, Ying, Foo, Jin ve Chong (2005), diskus balığı *Symphysodon discus*’un epidermal mukusundaki esansiyel aminoasit kompozisyonunu incelemişlerdir ve HPLC analizi sonucunda arginin oranını 8,28 µg/ml, histidin oranını 8,12 µg/ml, izolösin oranını 119,76 µg/ml, lösin oranını 45,04 µg/ml, lisin oranını 112,49 µg/ml ve treonin oranını ise 7,53 µg/ml bulmuşlardır.

Landsberg ve diğeri (2006), Florida’nın kuzey ve güney sahillerinden topladıkları *Pyrodinium bahamense* türü balon balığının, HPLC ile mukuslarındaki saksitoksin oranını kuzey sahili örnekleri için 2,407-9,039 µg/ml, güney sahili örnekleri için 6,25-140 µg/ml arasında bulmuşlardır.

Eckes, Siebeck, Dove ve Grutter (2008), lapin balığı türleri *Labroides dimidiatus*, *Thalassoma lunare* ve papağan balığı türleri *Chlorurus sordidus*, *Scarus flavipectoralis*, *S. niger*, *S. rivulatus* ve *S. schlegelii* mukuslarındaki mikosporin türevi aminoasitleri (mycosporine-like amino acids, MAAs) HPLC analizi ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda elde ettikleri mikosporin türevi aminoasitler, Asterina-330 ve Paliten olmuştur.

Van der Marel (2012), sazan balığı *Cyprinus carpio* epidermal mukusundaki fukoz, glukoz/manoz ve asetil nöraminik asit/galaktoz monosakkaritlerinin oranlarını HPLC ile analiz etmiştir. Çalışma sonucunda fukoz %68, glukoz/manoz %19,6 ve asetil nöraminik asit/galaktoz ise %12 oranında bulunmuştur.

Uthayakumar, Ramasubramanian, Senthilkumar, Priyadarisini ve Harikrishnan (2012), Hindistan’daki Kaveri Nehri’nden topladıkları *Mastacembelus armatus* türü yılan balığının

HLPC analizi ile epidermal mukusunda bulunan aminoasit miktarlarını; lösin için %8,54, glutamik asit için %6,87, sistein için %0,20, histidin için %0,4, izolösin için %6,92 ve tirosin için %0,72 olarak bulmuşlardır.

Manikantan, Lyla, Khan, Vijayanand ve Jothi (2016), kaya balığı *Epinephelus tauvina*'nın HPLC analizi ile mukusundaki aminoasit kompozisyonunu; arginin için 133,9 nmol/ml, glutamik asit için 73,5 nmol/ml, glisin için 5,3 nmol/ml ve lizin için 6,5 nmol/ml olarak bulmuşlardır.

Christy-Shaila, Kathireswari ve Saminathan (2018), GC/MS analizi ile zebra balığı *Danio rerio* epidermal mukusunda tamamı hidrokarbon türevi 18 adet biyokimyasal bileşik elde etmişlerdir.

Lirio ve diğerleri (2019) kedi balığı *Clarias batrachus* türünün HPLC analizi ile epidermal mukusundaki lizozim konsantrasyonunu 40,245 µg/ml ve pleurosidin konsantrasyonunu 13,83 µg/ml olarak bulmuşlardır.

## 2.2. Balık Mukusunun Antibakteriyel Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar

Hellio ve diğerleri (2002), mığrı *Conger conger*, morina balığı türlerinden *Trisopterus luscus*, *Pollachius pollachius*, *Pollachius virens*, *Gadus morhua*, istavrit *Trachurus trachurus*, uskumru *Scomber scombrus*, lapin *Labrus bergylta*, fener balığı *Lophius piscatorius*, çivisiz kalkan balığı *Scophtalamus rhombus*, pisi balığı türlerinden *Platichthys flesus* ve *P. platessa* ve dil balığı *Solea solea* mukuslarının sulu faz, metanolik ve diklorometan ekstraktlarının, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada test edilen 78 ekstraktan 15'i antibakteriyel aktivite gösterirken, sulu faz ekstraksiyonlarının hiçbirisi aktivite gösterememiştir.

Kuppulakshmi ve diğerleri (2008), benekli yılanbaş *Channa punctatus* ve beyaz sazan *Cirrhinus mrigala*'nın epidermal mukuslarından elde edilen sulu faz ekstraktlarının, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Lactobacillus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella typhi*,

*Staphylococcus aureus* ve *Vibrio cholera*'ya karşı antibakteriyel etkilerini inceledikleri çalışmalarında, her iki türün sulu faz ekstraktlarının test edilen tüm patojenlere karşı aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

Subramanian ve diğerleri (2008), kaynak alabalığı *Salvelinus fontinalis*, mezgit *Melanogrammus aeglefinus* ve asalak balığı *Myxine glutinosa* türlerinden elde ettikleri asidik mukus ekstraktlarının, insan patojenlerinden *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus epidermis* ve *Pseudomonas aeruginosa*, balık patojenlerinden *Aeromonas salmonicida*, *Listonella anguillarum* ve *Yersinia ruckeri* üzerindeki antibakteriyel aktivitelerini mikrodilüsyon yöntemiyle araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, MİK değerlerini *E. coli*'ye karşı sırasıyla, 19 µg/ml, 14 µg/ml ve 6,1 µg/ml; *S. enterica*'ya karşı sırasıyla 10 µg/ml, 14 µg/ml ve 8,3 µg/ml; *S. epidermis*'e karşı sırasıyla 136,5 µg/ml, 192,5 µg/ml ve 82,5 µg/ml; *P. aeruginosa*'ya karşı 34,1 µg/ml, 96,2 µg/ml ve 21 µg/ml; *A. salmonicida*'ya karşı 19 µg/ml, 27 µg/ml ve 8,3 µg/ml; *L. anguillarum*'a karşı 39 µg/ml, 27 µg/ml ve 16 µg/ml; *Y. ruckeri*'ye karşı ise 19 µg/ml, 14 µg/ml ve 6,1 µg/ml olarak bulmuşlardır.

Manivasagan ve diğerleri (2009), benekli kedi balığı *Arius maculatus* asidik mukus ekstraktının *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* spp. ve *Salmonella* spp.'ye karşı antibakteriyel etkisini araştırdıkları çalışmalarında, inhibisyon zon çaplarını sırasıyla, 7 mm, 10 mm, 6 mm, 8 mm ve 7 mm olarak bulmuşlardır.

Ravi ve diğerleri (2010), mavi benekli gobi balığı *Boleophthalmus boddarti*'nin ham mukus ekstraktının *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio* sp. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteous microbilus*, *Klebsiella oxytoca* ve *Lactobacillus vulgaris*'e karşı antibakteriyel aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, inhibisyon zon çaplarını *K. pneumoniae* için 4,9 mm, *S. paratyphi* için 4,3 mm, *S. typhi* için 4 mm ve *Proteous microbilus* için 3,2 mm bulmuşlardır.

Wei ve diğerleri (2010), yılanbaş balığı *Channa striatus* mukusunun asidik ekstraktlarının *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* patojen bakterilerine karşı inhibisyon zon çaplarını sırasıyla, 7 mm, 11 mm ve 10 mm; MİK değerlerini ise hepsinde 0,066 µg/ml oranında bulmuşlardır. Ham ve sulu faz ekstraktlarında inhibisyon zonu ve MİK değeri tespit edilememiştir.

Kumari ve diğeri (2011), yayın balığı *Rita rita* ve benekli yılanbaş balığı *Channa punctatus* mukuslarının sulu faz ve asetik asit ekstraktlarının, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi*'ye karşı disk difüzyon ve mikrodilüsyon metotlarıyla antibakteriyel etkilerini inceledikleri çalışmalarında, *R. rita* ve *C. punctatus* asidik ve sulu faz ekstraktlarının *S. aureus* ve *M. luteus*'a karşı aktivite gösterdiğini, ancak *E. coli*'ye karşı bir etki göstermediğini belirlemişlerdir.

Vennila ve diğeri (2011), vatoz türleri *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi* mukuslarının sulu faz ve asetik asit ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella paratyphi* üstündeki antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Her iki türün asidik mukus ekstraktları *S. typhi*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* ve *V. cholerae* üzerinde antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Conceição ve diğeri (2012), vatoz türü *Potamotrygon cf. henlei* mukusunun asidik ekstraktında *Micrococcus luteus* ve *Escherichia coli* patojenlerine karşı mikrodilüsyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, MİK değerlerini sırasıyla, 12 µM ve 4 µM olarak tespit etmişlerdir.

Rao ve diğeri (2015), Nil tilapyası *Oreochromis niloticus* ve yayın balığı türü *Mystus nemurus* mukuslarının asidik ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (Metisilin dirençli), *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus* patojenlerine karşı oluşturduğu MİK değerlerini *E. coli* için sırasıyla, 15,96 µg/ml ve 23,91 µg/ml; *S. enterica* için sırasıyla, 31,91 µg/ml ve 23,91 µg/ml; *K. pneumoniae* için sırasıyla 31,91 µg/ml ve 23,91 µg/ml; *A. hydrophila* için sırasıyla, 31,91 µg/ml ve 23,91 µg/ml; *P. aeruginosa* için sırasıyla, 0 µg/ml ve 23,91 µg/ml; *S. aureus* için sırasıyla 31,91 µg/ml ve 11,96 µg/ml; *M. luteus* için sırasıyla 15,96 µg/ml ve 11,96 µg/ml; *B. subtilis* için sırasıyla 15,96 µg/ml ve 11,96 µg/ml ve *B. cereus* için sırasıyla 31,91 µg/ml ve 11,96 µg/ml olarak bulmuşlardır.

Fuochi ve diğeri (2017), dikenli vatoz *Dasyatis pastinaca*'nın ham mukus ekstraktının *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212,

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ve *Streptococcus agalactiae* DSM 2134 bakteriyel suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. 16,50 µg/ml'lik konsantrasyonun *K. pneumoniae* ATCC 700603 gelişimini %40,44, *E. coli* ATCC 35218 gelişimini %27,05, *E. coli* ATCC 25922 gelişimini %23,15 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 gelişimini %17,02 oranında engellediğini bulmuşlardır.

Lirio ve diğerleri (2019), Nil tilapyası *Oreochromis niloticus*, kedi balığı *Clarias batrachus* ve çizgili yılanbaş balığı *Channa striata*'nın asidik mukus ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* ve *Serratia marcescens* patojenlerine karşı antibakteriyel aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, her üç türün ekstraktlarının oluşturduğu inhibisyon zon çapları *O. niloticus* için sırasıyla, 13,21 mm, 16,29 mm, 17,79 mm, 18,28 mm, 15,32 mm, 14,54 mm, 13,74 mm ve 12,69 mm; *C. batrachus* için sırasıyla, 15,53 mm, 16,20 mm, 19,40 mm, 17,81 mm, 16,07 mm, 15,73 mm, 15,36 mm ve 15,06 mm; *C. striata* için sırasıyla, 14,61 mm, 15,97 mm, 16,69 mm, 17,46 mm, 15,08 mm, 14,75 mm, 14,84 mm ve 15,97 mm olarak bulmuşlardır.

### 2.3. Balık Mukusunun Antifungal Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar

Hellio ve diğerleri (2002), mığrı *Conger conger*, morina balığı türlerinden *Trisopterus luscus*, *Pollachius pollachius*, *Pollachius virens*, *Gadus morhua*, istavrit *Trachurus trachurus*, uskumru *Scomber scombrus*, lapin *Labrus bergylta*, fener balığı *Lophius piscatorius*, çivisiz kalkan balığı *Scophthalmus rhombus*, pisi balığı türlerinden *Platichthys flesus* ve *P. platessa* ve dil balığı *Solea solea* mukuslarının sulu faz, metanolik ve diklorometan ekstraktlarının, *Candida brusei*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Issatchenkia orientalis* suşlarına karşı antifungal aktivitesini araştırmışlardır. Test edilen 78 ekstraktan 15'i antifungal aktiviteler gösterirken, sulu faz ekstraksiyonlarının hiçbirisi aktivite gösterememiştir.

Subramanian ve diğerleri (2008), kaynak alabalığı *Salvelinus fontinalis*, mezgit *Melanogrammus aeglefinus* ve asalak balığı *Myxine glutinosa* türlerinden elde ettikleri asidik mukus ekstraktlarının, *Candida albicans* üzerindeki antifungal aktivitelerini

mikrodilüsyon yöntemiyle araştırdıkları çalışma sonucunda, MİK değerlerini 136,5 µg/ml, 192,5 µg/ml ve 6,1 µg/ml olarak bulmuşlardır.

Vennila ve diğerleri (2011), vatoz türleri *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi* mukuslarının sulu faz ve asetik asit ekstraktlarının fungal patojenlerden *Candida tropicalis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Trichophyton mentagrophytes*, *Alternaria alternaria*, *Rhizopus* sp., *Mucor* sp., *Trichophyton rubrum*'a karşı aktivitelerini incelemiştir. Her iki türün asidik mukus ekstraktları test edilen tüm fungal patojenlere karşı aktivite göstermiştir.

Conceição ve diğerleri (2012), vatoz türü *Potamotrygon cf. henlei* mukusunun asidik ekstraktının *Candida tropicalis* mantarına karşı mikrodilüsyon yöntemiyle antifungal aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, MİK değerini 4 µM olarak belirlemiştir.

Fuochi ve diğerleri (2017), dikenli vatoz *Dasyatis pastinaca*'nın ham mukus ekstraktının *Candida* sp. mantar suşuna karşı antifungal aktivitesini inceledikleri çalışmalarında, 4,12 µg/ml'lik bir MİK değeri elde etmişlerdir.

Pethkar ve Lokhande (2017), Hint sazanı *Catla catla*, beyaz sazan *Cirrhinus mrigala* ve Avrupa yılan balığı *Anguilla anguilla* epidermal mukuslarının, mantar patojenlerinden *Aspergillus awamori*, *Colletotrichum falcatum* ve *Fusarium oxysporum* üzerindeki antifungal aktivitelerini disk difüzyon metoduyla inceledikleri çalışma sonucunda elde edilen inhibisyon zon çapları, *C. catla* mukusu için sırasıyla 20 mm, 10 mm ve 13 mm; *C. mrigala* mukusu için sırasıyla 20 mm, 15 mm ve 10 mm; *A. anguilla* mukusu için sırasıyla 10 mm, 20 mm ve 10 mm olarak bulmuşlardır.

Lirio ve diğerleri (2019), Nil tilapyası *Oreochromis niloticus*, kedi balığı *Clarias batrachus* ve çizgili yılanbaşı balığı *Channa striata*'nın asidik mukus ekstraktlarının *Candida tropicalis* mantarına karşı herhangi bir antifungal aktivite sergilemediğini bulmuşlardır.

#### **2.4. Balık Mukusunun Antikanserojen Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar**

Lin ve diğerleri (2009), turuncu benekli kaya balığı *Epinephelus coioides* epidermal mukusunda karakterize edilmiş antimikrobiyal peptid Epinecidin-1'in akciğer kanseri

(A549), hepatoselüler karsinom (HA59T/VGH), rahim ağız kanseri (HeLa), karaciğer kanseri (HepG2), yumuşak doku kanseri (HT1080) ve lösemi (U937) hücre hatlarına karşı antikanserojen aktivitelerini incelemişlerdir. Epinecidin-1'in araştırılan tüm kanser hücre hatları üzerinde 2,5 µg/ml'lik dozdan sonra aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Arulvasu ve diğerleri (2012), *Tachysurus dussumieri* türü kedi balığının ham ve kısmen saflaştırılmış epidermal mukus ekstraktlarının A549 hücre hattına karşı antikanserojen aktivitelerini araştırmışlardır. Ham ve kısmen saflaştırılmış mukus ekstraktları için IC<sub>50</sub> (hücrelerin %50'sini öldüren maksimum konsantrasyon) değerini sırasıyla, 5 mg/ml ve 3 mg/ml bulmuşlardır.

Kwak ve diğerleri (2015), Japon yılan balığı *Anguilla japonica* epidermal mukusunun lösemi hücre hattı (K562) üzerindeki antikanserojen aktivitesini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, epidermal mukus ekstraktının 30 µg/ml'lik konsantrasyonun hücrelerin %5,9'unu, 50 µg/ml'lik konsantrasyonun hücrelerin %14,9'unu ve 100 µg/ml'lik konsantrasyonun ise hücrelerin %39'unu inhibe ettiğini bulmuşlardır.

Balasubramanian ve diğerleri (2016), kefal balığı *Mugil cephalus* ham epidermal mukus ekstraktının gırtlak kanseri hücre hattı (HEP-2) üzerindeki antikanserojen etkilerini inceledikleri çalışmalarında, konsantrasyonlara göre hücrelerin ölüm yüzdelerini; 1000 µg/ml için %86,33, 500 µg/ml için %80,92, 250 µg/ml için %74,44, 125 µg/ml için %70,19 ve 62,5 µg/ml için ise %64,46 olarak bulmuşlardır.

Raja ve diğerleri (2020), kedi balığı *Tachysurus dussumieri* ham mukus ekstraktının kolon kanseri hücre hattına (HT 29) karşı antikanserojen aktivitesini inceledikleri çalışmalarında, mukus ekstraktının HT 29'a karşı IC<sub>50</sub> değerini 400 µg/ml olarak bulmuşlardır.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Balık Materyali

Tez çalışmasında iğneli vatoz *Dasyatis marmorata*, dikenli vatoz *Dasyatis pastinaca*, kazıkkuyruk balığı *Gymnura altavela* ve aynalı vatoz balığı *Raja miraletus* türleri kullanılmıştır.

#### Türlerin Sistematikteki Yerleri ve Ayırt Edici Özellikleri

*Dasyatis marmorata* (Steindachner, 1892)

ALEM : Animalia  
 ŞUBE : Chordata  
 SINIF : Elasmobranchii  
 ALT SINIF : Neoselachii  
 ÜST TAKIM : Batoidea  
 TAKIM : Myliobatiformes  
 FAMILYA : Dasyatidae  
 CİNS : *Dasyatis*  
 TÜR : *Dasyatis marmorata*

Altın kahverengi bir disk üzerinde göze çarpan parlak mavi lekeler ve dallanan çizgiler bulunur. Burun ve disk köşelidir. Kuyruk, vücut uzunluğunun iki katından daha azdır. Disk dikensizdir. Genellikle bir tane iğnesi vardır. Maksimum boyları 60 cm'dir.



Resim 3.1. *Dasyatis marmorata*'nın genel görünüşü

*Dasyatis pastinaca* (Linnaeus, 1758)

ALEM : Animalia  
 ŞUBE : Chordata  
 SINIF : Elasmobranchii  
 ALT SINIF : Neoselachii  
 ÜST TAKIM : Batoidea  
 TAKIM : Myliobatiformes  
 FAMILYA : Dasyatidae  
 CİNS : *Dasyatis*  
 TÜR : *Dasyatis pastinaca*

Kuyruğun üst ve alt tarafında, dikenden kuyruk ucuna doğru karina şeklinde boyuna bir deri kıvrımı bulunur. Kuyruk boyu disk boyunun bir buçuk katı kadardır. Maksimum boyları 150 cm'dir.



Resim 3.2. *Dasyatis pastinaca*'nın genel görünüşü

*Gymnura altavela* (Linnaeus, 1758)

ALEM : Animalia  
 ŞUBE : Chordata  
 SINIF : Elasmobranchii  
 ALT SINIF : Neoselachii  
 ÜST TAKIM : Batoidea  
 TAKIM : Myliobatiformes  
 FAMILYA : Gymnuridae  
 CİNS : *Gymnura*  
 TÜR : *Gymnura altavela*

Disk çok geniş olup boyunun en az iki katıdır. Kuyruk kısa ve dikenli olup üst ve alt kısımlarında sertleşmiş deri kıvrımları bulunur. Maksimum boyları 140 cm'dir.



Resim 3.3. *Gymnura altavela*'nın genel görünüşü

*Raja miraletus* (Linnaeus, 1758)

ALEM : Animalia  
ŞUBE : Chordata  
SINIF : Elasmobranchii  
ALT SINIF : Neoselachii  
ÜST TAKIM : Batoidea  
TAKIM : Rajiformes  
FAMİLYA : Rajidae  
CİNS : *Raja*  
TÜR : *Raja miraletus*

Burun kısa ve sivri uçludur. Başın hemen gerisinde ortada 2-3 adet diken vardır. Kuyrukta 3 tane sıralı diken veya tüberkül bulunur. Yüzgeçlerin tabanında mavi göz şeklinde bir leke vardır. Maksimum boyları 63 cm'dir.



Resim 3.4. *Raja miraletus*'un genel görünüşü

### 3.1.2. Balık Örneklerinin Temini

Çalışmada *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerinin mukusları, İskenderun Körfezi'nde trol ve uzatma ağları kullanan teknelerle bire bir çıkılarak elde edilmiş ve mukus örnekleri toplandıktan sonra doğaya geri salınmıştır.

### 3.1.3. Mukus Örneklerinin Toplanması

Epidermal mukus örneklerinin yeterli miktarda toplanabilmesi için öncelikle yakalanan balık canlıyken bir süre bekletilerek mukus salınımı sağlanmıştır. Mukus, balığın dorsal bölgesinden dikkatli bir şekilde hafifçe kazınarak toplanmıştır (Resim 3.5). Bağırsak kontaminasyonunu önlemek için kazıma işlemi ventral bölgeden uzak yapılmıştır. Yeterli mukus örneği toplandıktan sonra balık canlı bir şekilde yeniden denize bırakılmıştır. Toplanan materyal, dikkatlice steril falkon tüpleri içerisine konulup etiketlenerek -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Resim 3.5. Balık henüz canlıyken yapılan mukus örneği toplanması işlemi

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Biyokimyasal Yapı Analizleri

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinden ayrı ayrı toplanan mukus örneklerinin Bradford analizi ile toplam protein miktarı, GC/MS analizi ile de uçucu bileşikleri tespit edilmiştir. Aynı zamanda *R. miraletus* epidermal mukusunun HPLC analizi ile vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) miktarı tespit edilmiştir.

#### Bradford Analizi

##### *Örneklerin Analize Hazır Hale Getirilmesi*

Toplam protein miktarı analizinde öncelikle *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* için toplanan mukus örneklerinden ham ekstrakt elde edilmesi işlemi İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Moleküler Ekoloji ve Balıkçılık Genetiği Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Pastör pipeti vasıtasıyla

eppendorf tüplerine 1000 µl mukus örneği konulmuştur. Eppendorf tüplerine konulan mukus örnekleri 10 dakika 10000 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutularak katman oluşumu sağlanmıştır. Santrifüj işleminin ardından mukus örneklerinin üst katmanları yeni tüplere alınmıştır. Alınan örnekler analize kadar -20°C'de saklanmıştır.

### *Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi*

Bradford analiziyle toplam protein miktarlarının tespit edilmesi işlemi Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür. Mukus içerisindeki toplam protein tayininde, 595 nm'de görünür hale gelecek şekilde proteinlerin bağlanması için Coomassie Brilliant Blue G250 (CBG-250) kullanılmıştır. 0,1 gr CBG-250, 5 ml %95'lik etanol içerisinde çözdürülmüş ve üzerine 5 ml %95 fosforik asit ilave edilerek saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra süzgeç kâğıdı yardımıyla süzülerek hazır hale getirilmiştir. Standart solüsyon olarak Bovin Serum Albmin (BSA) çözeltisi kullanılmıştır. 0,1 gr BSA 100 ml saf suda çözdürülerek bir ana stok elde edilmiştir. Hazırlanan ana stoktan 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5 ve 2,0 mg/ml konsantrasyonlarında BSA çözeltileri elde edilmiştir. Standart BSA çözeltilerinin tümü 595 nm'de okutularak absorbans değerleri elde edilmiş ve elde edilen bu absorbans değerlerine göre standart eğri çizilmiştir. Mukus örneklerinin spektrofotometrik okumasının yapılabilmesi için 1 ml mukus örneğinin üzerine 1 ml CBG-250 eklenerek 595 nm'de 3 tekrarlı olarak spektrofotometrik okuması yapılmıştır. Okuması yapılan örneklerin absorbans değerleri önceden oluşturulan 0-2,0 mg/ml arasındaki standart BSA çözeltilerine ait absorbans değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiğindeki regresyon denkleminde yerine konularak protein miktarları hesaplanmıştır.

### GC/MS Analizi

GC/MS analizi ile uçucu bileşiklerin tespit edilmesi işlemi Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. GC/MS analizinde, uçucu bileşikleri epidermal mukustan ayırmak için Christy-Shaila ve diğerleri (2018)'in hekzan ekstraksiyonu protokolü modifiye edilerek kullanılmıştır. 2 ml mukus örneğinin üzerine 2 ml hekzan ilave edilmiştir. 1 dakika ultrasonik banyoda bekletilen örnekler daha sonra 1 dakika vortekslenerek ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır. Hekzan



fazı, laboratuvar koşulları altında 30 dakika bekledikten sonra sudan ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hekzan ekstraktı, 0,45 µm'lik bir şırınga filtresi yardımıyla süzülerek GC/MS analizine hazır hale getirilmiştir.

GC/MS analizi, otomatik örnekleyici ile donatılmış Finnigan-Trace GCMS (Thermo, ABD) markalı cihaz kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Resim 3.6). GC/MS analizi için, Zebron ZB-5 (Phenomenex, ABD; %5 fenil-% 95 dimetilpolisiloksan) kapiler kolon (0,25 mm x 60 m, 0,25 µm), splitless enjeksiyon (1 µl) ve taşıyıcı gaz olarak da helyum (2,0 ml/dakika, sabit akış hızında) kullanılmıştır. Kullanılan sıcaklık programı ise, kolon fırını başlangıç sıcaklığı 70°C'dir. Bu sıcaklıkta 1 dakika bekletildikten sonra, dakikada 6°C'lik artışla 260°C'ye çıkılmıştır. Bu sıcaklıkta da 5 dakika bekledikten sonra, dakikada 25°C'lik artışla 300°C'ye ulaşılmıştır. Enjektör ve detektör sıcaklığı ise 230°C'dir. Kütle spektrometresi elektron darbeleri (EI) modunda (70 eV) çalıştırılmış 50-550 m/z arasında tam tarama modunda veri toplamıştır. Elde edilen veriler, bileşik tanıma ve miktar tayini için toplam iyon sayısı (TIC) kullanılarak değerlendirilmiştir. Bileşenlerin spektrumları, GC/MS kütüphanesinde bilinen bileşenlere ait veritabanındaki spektrumlar ile karşılaştırılmıştır.



Resim 3.6. GC/MS analizinin yapıldığı cihaz

### HPLC Analizi

HPLC analizi ile *R. miraletus* epidermal mukusunda bulunan  $\alpha$ - tokoferol (vitamin E) miktarı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve

Araştırma Merkezi'nde tespit edilmiştir. Mukus içerisindeki  $\alpha$ - tokoferol miktarının belirlenebilmesi için öncelikle  $\alpha$ - tokoferol stok standart çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için:

- 10 mg standart 100 ml'lik balon jöjeye alınmıştır.
- Üzerine hekzan ilave edilip çözündürüldükten sonra hacmine tamamlanmıştır.
- Bu çözeltiden 10 ml pipetle balona alındıktan sonra, rotary evaporatörde 40°C'yi geçmeyecek şekilde çözücü uçurulmuştur.
- Çözücü uçurulduktan hemen sonra  $\alpha$ - tokoferol 10 ml metanol ile iyice çözündürülmüştür.
- Çözeltinin absorbansı 292 nm'de ölçülmüş ve sonuç absorbans değerine (0,0076) bölünerek standardın konsantrasyonu ( $\mu\text{g/ml}$   $\alpha$ - tokoferol) hesaplanmıştır.

Mukus örneklerinin analize hazır hale getirilmesi ve enjeksiyonu için:

- 2 ml mukus örneği 25 ml'lik volumetrik balona alınmıştır.
- Üzerine 2 ml hekzan ilave edilmiş ve örnek iyice çözünene kadar çalkalanmıştır.
- Örnek, üzeri balon hacmine kadar hekzan ile tamamlandıktan sonra 20  $\mu\text{l}$ 'si HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

HPLC analizi için, SHIMADZU (Shimadzu Corporation) marka cihaz kullanılmıştır (Resim 3.7). HPLC analizinde uygulanan çalışma koşulları Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.



Resim 3.7. *R. miraletus* mukusunda bulunan  $\alpha$ - tokoferol miktarının tespit edildiği HPLC cihazı



Çizelge 3.1. HPLC çalışma koşulları

Marka	SHIMADZU
Degazör	SHIMADZU DGU- 20A3
Gradient Pompa	SHIMADZU LC- 20AD SP
Diyot Dizi Detektörü	SHIMADZU RF-10A XL
Kolon Fırını	SHIMADZU CTO-20A
Mobil Faz	Propan-2-ol/hekzan (1:99) (v/v)
Akış Hızı	0,7 ml/dk
Kolon Sıcaklığı	30°C
Enjeksiyon Miktarı	20 µl

### 3.2.2. Antimikrobiyal Analiz

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinden ayrı ayrı elde edilen epidermal mukus örnekleri, ham, sulu faz ve asidik faz ekstraksiyon metotları kullanılarak antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmek üzere ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işlemleri İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Moleküler Ekoloji ve Balıkçılık Genetiği Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Epidermal mukus ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması işlemi Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEİTAM), Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

#### Ham Ekstraktın Elde Edilmesi

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinden elde edilen epidermal mukus örneklerinden ham ekstrakt eldesi için; pastör pipeti vasıtasıyla eppendorf tüplerine 1000 µl ham mukus örneği konulmuştur. Eppendorf tüplerine konulan mukus örnekleri 10 dakika 10000 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutularak katman oluşumu sağlanmıştır. Santrifüj işleminin ardından mukus örneklerinin üst katmanları yeni tüplere alınmıştır. Örnekler -20°C'de saklanmıştır.

### Sulu Faz Ekstraktının Elde Edilmesi

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinden elde edilen epidermal mukus örneklerinin sulu faz ekstraktı eldesi için; pastör pipeti vasıtasıyla eppendorf tüplerine 500 µl ham mukus örneği konulmuştur. Üzerlerine aynı oranda 500 µl %0,85 NaCl çözeltisi eklenmiştir. Örnekler 10 dakika 10000 rpm’de santrifüj işlemine tabi tutularak katman oluşumu sağlanmıştır. Santrifüj işleminin ardından mukus örneklerinin üst katmanları yeni tüplere alınmıştır. Örnekler -20°C’de saklanmıştır.

### Asetik Asit Ekstraktının Elde Edilmesi

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinden elde edilen epidermal mukus örneklerinin asetik asit ekstraksiyonu için; her bir türden ayrı ayrı falkon tüplerine toplanan 25 ml mukus örneği örneğinin üzerine 25 ml %3 asetik asit eklenmiştir ve tüpler 5 dakika sıcak suyun içerisinde bekletilmiştir. Sıcak suyun içerisinde alınan falkon tüpü buz içerisinde soğutulmuştur. Ardından örnek 10 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Falkon tüpü içerisinde homojenize edilmiş mukus-asetik asit karışımı daha sonra 18000 rcf’de 35 dakika boyunca santrifüj işlemine tabi tutularak katman oluşumu sağlanmıştır. Elde edilen üst katmanlar yeni falkon tüpüne aktarılmıştır. Örnekler +4°C’de saklanmıştır.

*D. marmorata* mukusunun, ham (DmH), sulu faz (DmS) ve asetik asit (DmAA), *D. pastinaca* mukusunun ham (DpH), sulu faz (DpS) ve asetik asit (DpAA), *G. altavela* mukusunun ham (GaH), sulu faz (GaS) ve asetik asit (GaAA) ve *R. miraletus* mukusunun ham (RmH), sulu faz (RmS) ve asetik asit (RmAA) ekstraktlarının antimikrobiyal (antibakteriyel ve antifungal) aktiviteleri Disk Difüzyon ve Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır.

### Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinden elde edilen epidermal mukus ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri, gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Klebsiella pneumoniae*, gram pozitif bakteri suşlarından *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) ve *Enterococcus faecalis* kullanılarak

belirlenmiştir. Test öncesi suşların Mueller-Hinton Agar (MHA) katı besiyerlerine ekimleri yapılmıştır ve 37°C’de 18-24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bir günlük inkübasyon sonunda agar plağındaki tek düşmüş kolonilerden doğrudan bir öze yardımıyla koloni alınarak serum fizyolojik ile McFarland 0,5 standardına göre yoğunluk ayarlanmıştır (McFarland, 1987). Pozitif kontrol için antibiyotik olarak Ampisilin kullanılmıştır.

### *Disk Difüzyon Yöntemi*

McFarland 0,5’e göre ayarlanmış belirli miktardaki bakteri süspansiyonu, MHA’lı petriye yayılmış ve üç farklı bölgeye boş antimikrobiyal diskler (6 mm çapında) yerleştirilmiştir. Her bir diske 20 µl (v/v) ekstrakt damlatılmış ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Resim 3.8). Sonuçlar değerlendirilirken, inhibisyon zon çapları milimetre cinsinden kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Negatif kontrollerin de kullanıldığı tüm testler üç kez tekrarlanmıştır.



Resim 3.8. MHA’lı petrideki boş antimikrobiyal disklere ekstraktların damlatılması

### *Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Yöntemi*

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* epidermal mukuslarının ham, sulu faz ve asidik ekstraktlarının her biri için ayrı ayrı steril 96 kuyucuklu plakalar hazırlanmıştır. Mikroplakalardaki tüm kuyucuklara Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerinden 50 µl (v/v) konulmuştur. Daha sonra, ilk kuyucuğa epidermal mukus ekstraktlarından 100 µl (v/v) olacak şekilde konularak ilk on sıra sonuna kadar iki katlı dilüsyonu yapılmıştır. Besiyeri kontrol ve negatif kontroller son iki sütuna hazırlanmıştır. Pozitif kontroller ayrı bir plakada çalışılmıştır. Son olarak ekstrakt ve antibiyotik bulunan kuyucuklara 5 µl mikroorganizma eklenmiştir. Daha sonrasında hazırlanan besiyeri inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon öncesi ( $t_0$ . saat) ve inkübasyon sonrasında ( $t_{24}$ . saat) 600 nm’de optik dansite (OD) değerleri (absorbans) alınmış ve ortalama değerlerin yüzde inhibisyon değerleri Eş. 3.1 ile gösterildiği gibi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \left( \frac{\text{OD}_{\text{test}}_{t_{24}-t_0}}{\text{OD}_{\text{kontrol}}_{t_{24}-t_0}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

Microsoft Excel vasıtasıyla inhibisyon grafiği çizilip, elde edilen doğrusal eğim çizgisi üzerinden  $R^2$  ve ardından MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu; mikroorganizmaların %99,9’unun üremesini engelleyen minimum madde konsantrasyonu) hesabı yapılmıştır. Deneyler 3 kez tekrar edilmiştir (Patton, Barrett, Brennan ve Moran, 2006; Erdoğan-Eliuz, Ayas ve Gökşen, 2017).

### Antifungal Aktivitenin Belirlenmesi

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinden elde edilen epidermal mukus ekstraktlarının antifungal aktiviteleri, *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis* suşları kullanılarak belirlenmiştir. Test öncesi suşların Sabouraud Dextrose Agar (SDA) katı besiyerlerine ekimleri yapılmıştır ve 37°C’de 18-24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bir günlük inkübasyon sonunda agar plağındaki tek düşmüş kolonilerden doğrudan bir öze yardımıyla koloni alınarak serum fizyolojik ile McFarland 0,5 standardına göre yoğunluk ayarlanmıştır (McFarland, 1987). Pozitif kontrol için antifungal olarak Flukonazol kullanılmıştır.

### *Disk Difüzyon Yöntemi*

McFarland 0,5'e göre ayarlanmış belirli miktardaki mikroorganizma çözeltisi, SDA'lı petriye yayılmış ve üç farklı bölgeye boş antimikrobiyal diskler (6 mm çapında) yerleştirilmiştir. Her bir diske 20 µl (v/v) ekstrakt damlatılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar değerlendirilirken, inhibisyon zon çapları milimetre cinsinden kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Negatif kontrollerin de kullanıldığı tüm testler üç kez tekrarlanmıştır.

### *Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Yöntemi*

*Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* epidermal mukuslarının ham, sulu faz ve asidik ekstraktlarının her biri için ayrı ayrı steril 96 kuyucuklu plakalar hazırlanmıştır. Mikroplakalardaki tüm kuyucuklara Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerinden 50 µl (v/v) konulmuştur. Daha sonra, ilk kuyucuğa epidermal mukus ekstraktlarından 100 µl (v/v) olacak şekilde konularak ilk on sıra sonuna kadar çift katlı dilüsyonu yapılmıştır. Besiyeri kontrol ve negatif kontroller son iki sütuna hazırlanmıştır. Pozitif kontroller ayrı bir plakada çalışılmıştır. Son olarak ekstrakt ve antifungal bulunan kuyucuklara 5 µl mikroorganizma eklenmiştir. Daha sonrasında hazırlanan besiyeri inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon öncesi ( $t_0$ . saat) ve inkübasyon sonrasında ( $t_{24}$ . Saat) 415 nm'de optik dansite (OD) değerleri (absorbans) alınmış ve ortalama değerlerin yüzde inhibisyon değerleri Eş. 3.2 ile gösterildiği gibi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \left( \frac{\text{OD}_{\text{test}}_{t_{24}-t_0}}{\text{OD}_{\text{kontrol}}_{t_{24}-t_0}} \right) \times 100 \quad (3.2)$$

Microsoft Excel vasıtasıyla inhibisyon grafiği çizilip, elde edilen doğrusal eğim çizgisi üzerinden  $R^2$  ve ardından MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu; mikroorganizmaların %99,9'unun üremesini engelleyen minimum madde konsantrasyonu) hesabı yapılmıştır. Deneyler 3 kez tekrar edilmiştir (Patton ve diğerleri, 2006; Erdoğan-Eliuz ve diğerleri, 2017).

### *İstatistiksel Analiz*

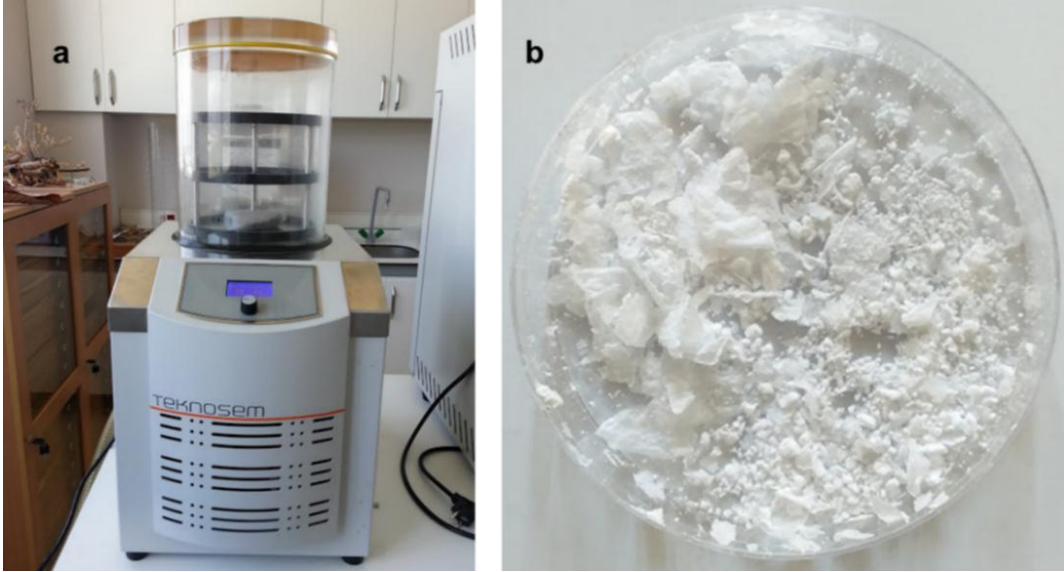
Antibakteriyel ve antifungal analizlerden elde edilen % inhibisyon verileri ve inhibisyon zon çapları Tukey's testi ve ardından Tek Yönlü Anova testleri ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir ( $p < 0,05$ ).

#### **3.2.4. Antikanserojen Aktivite Analizi**

*Gymnura altavela* türünden alınan epidermal mukus örneklerinin antikanserojen aktivite analizleri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri olarak da isimlendirilen A549 hücre hattı üzerinde araştırılmıştır.

##### Antikanserojen Aktivite Deneyi İçin Örnek Hazırlığı

Antikanserojen aktivite deneyi için örnek hazırlama işlemi İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Moleküler Ekoloji ve Balıkçılık Genetiği Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Toplanan mukus örneğinden pastör pipeti vasıtasıyla 15 ml alınarak 0,013 M Tris, 0,12 M NaCl ve 0,003 M KCl (pH 7,4) içeren 10 ml tampon çözeltisi içeren falkon tüpüne aktarılmış ve burada homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Saklanan mukus örnekleri daha sonra Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde liyofilizasyon işlemi için getirilmiştir. Öncelikle oda sıcaklığında çözdürülen örnekler 1000 rcf, 10 dakika ve  $4^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüjlenmiştir. Üst katmanlar yeni tüplere aktarılmış ve 20000 rcf, 10 dakika ve  $4^{\circ}\text{C}$ 'de yeniden santrifüjlenmiştir. Santrifüjden çıkartılan örneklerin üst katmanları yeni tüplere alınarak liyofilize edilmiştir (Resim 3.9).



Resim 3.9. Liyofilizasyon işlemi (a), liyofilize edilmiş *G. altavela* epidermal mukus örneği (b)

Liyofilize edilen örnekler falkon tüplere alınıp üzerlerine 20 ml distile su eklenmiştir. Falkon tüpleri içerisindeki örnekler 5 dakika 100°C'deki sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Örnekler daha sonra 10000 rcf, 5 dakika ve 4°C'de santrifüjlenip üst katmanları yeni tüplere aktararak deney için hazır hale getirilmiştir (Flik, Vanrijs ve Bonga, 1984).

### Hücre Kültürü

Deneyleerde kullanılan A549, *in vitro* çalışmalarda yaygın olarak kullanılan adenokarsinomik insan alveol epitel hücre dizileridir. Bu hücre dizileri 175 cm<sup>2</sup>'lik kültür kaplarında (flask) %10 Fetal Bovin Serum (FBS) (Gibco, USA) ve %1 penisilin/streptomisin (Gibco, USA) içeren Dulbecco'nun modifiye eagle besiyerinde (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM, Gibco, UK), ortam şartları %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C olan inkübatörde kültüre alınmıştır. Kültür vasatı haftada iki kez değiştirilmiş ve hücreler yeterli sayıya ulaştıklarında deneyde kullanıma hazır hale getirilmiştir.

### Liyofilize Edilmiş Mukus Örneklerinin Hücre Canlılığı Testi (MTT Analizi) İçin Hazırlanması

Mukus örnekleri 1000-500-250-125-62,5-31,25 µg/ml en yüksek dozun %1 oranında DMSO (Dimethyl Sulfoxide, SIGMA) içerdiği serumsuz DMEM besiyeri içinde çözündürülüp yarı yarıya oranda dilüe edilerek hazırlanmıştır.

### MTT Analizi

MTT analizi için hücreler, 24 kuyucuklu plakalara %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM vasat  $1 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde ekilmiştir ve %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C sağlayan inkübatör koşullarında inkübasyona bırakılmıştır. Hücreler kültür kaplarının yüzeyini yaklaşık %70-80 oranında kapladıktan sonra, üzerlerine %10 FBS içeren besiyerinin yerine serumsuz besiyeri eklenerek 24 saat süreyle yine aynı koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Hücreler 24 saatin sonunda 1000-500-250-125-62,5-31,25 µg/ml'lik dozlardaki liyofilize edilmiş mukus örneklerine 24 saat süreyle maruz bırakılmıştır.

24 saatlik süre sonunda aşağıdaki MTT protokolü adımları takip edilmiştir.

- 1 mg/ml MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) (Sigma-Aldrich, USA) solüsyonu hazırlanmıştır.
- 24 kuyucuklu plakadaki mevcut solüsyon vakumlanarak uzaklaştırılmış ve her bir kuyuya 500 µl MTT solüsyonu eklenmiştir.
- 4 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon süresi sonunda plaka içindeki MTT solüsyonu dökülmüştür.
- Her bir kuyuya 500 µl DMSO eklenmiş ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- Spektrofotometrede 590 nm'de 670 nm referans dalga boyuna karşı renkteki değişim okutulmuştur.
- Hücrelerin % cinsinden canlılık ve inhibisyon oranları sırasıyla Eş. 3.3 ve Eş. 3.4'te gösterildiği gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Hücre canlılığı \%} = \text{GA}_{\text{OD}} \times (100 / \text{K}_{\text{OD}}) \quad (3.3)$$

GA<sub>OD</sub>: GA (*Gymnura altavela*) uygulama grubu optik dansite

K<sub>OD</sub>: Kontrol grubu optik dansite

$$\text{Hücre canlılığının \% inhibisyonu} = 100 - (\% \text{ hücre canlılığı}) \quad (3.4)$$



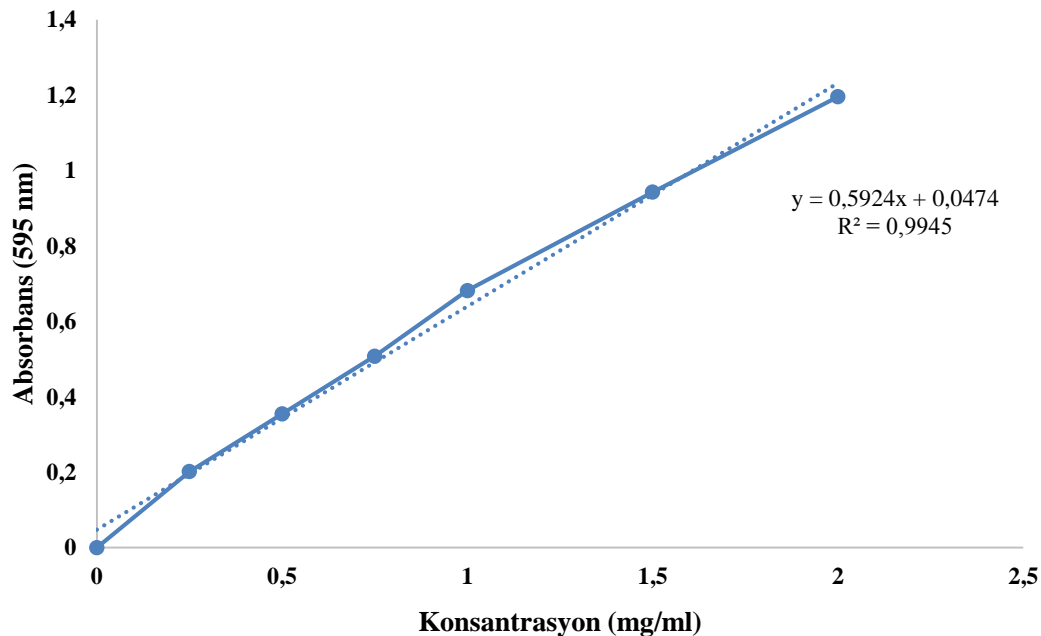
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Tez çalışması dört bölüm halinde gerçekleştirilmiş olup, balık mukusunun biyokimyasal yapısı, antibakteriyel aktivitesi, antifungal aktivitesi ve antikanserojen aktivitesinden elde edilen bulgular her bir bölüme göre ayrı başlıklar halinde ele alınmıştır.

### 4.1. Biyokimyasal Yapı

#### 4.1.1. Bradford Analizi Sonuçları

Mukus örneklerinin toplam protein miktarı, Bradford (1976)'ya göre tespit edilmiştir. Bradford yöntemine göre Microsoft Excel vasıtasıyla standart kalibrasyon grafiği çizilip, grafiğin eğimi hesaplanmıştır (Şekil 4.1). Elde edilen doğrusal eğim çizgisi üzerindeki  $y = 0,5924x + 0,0474$  denkleminde faydalanılarak hesaplama yapılmıştır. Bu denklemde, mukus örneğinin absorbans değerine (y) göre protein miktarı (x) mg/ml cinsinden belirlenmiştir.

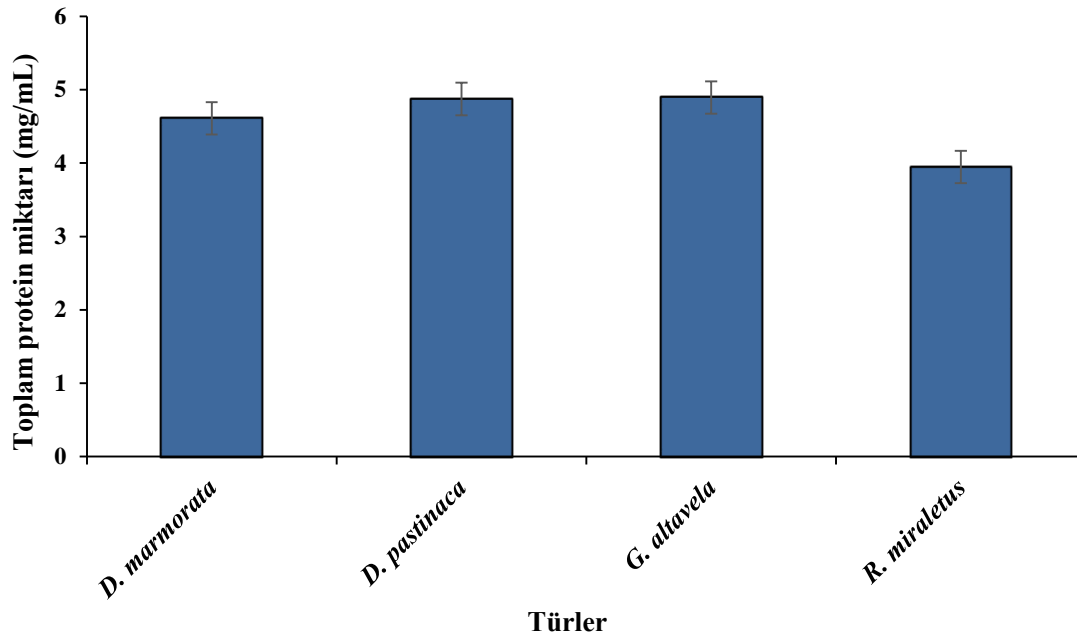


Şekil 4.1. Bradford yöntemine göre protein tayini için standart kalibrasyon grafiği

Buna göre, *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerinin epidermal mukus örneklerine ait toplam protein miktarları Çizelge 4.1'de verilmiş ve Şekil 4.2'de grafiklendirilmiştir.

Çizelge 4.1. Türlerin epidermal mukus örneklerinin toplam protein miktarları

Tür	Toplam Protein Miktarı (mg/ml)
<i>Dasyatis marmorata</i>	4,61±0,08
<i>Dasyatis pastinaca</i>	4,87±0,03
<i>Gymnura altavela</i>	4,89±0,08
<i>Raja miraletus</i>	3,94±0,05



Şekil 4.2. Türlerle ait epidermal mukus örneklerinin toplam protein miktarları

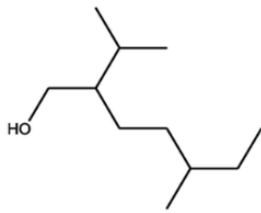
#### 4.1.2. GC/MS Analizi Sonuçları

GC/MS analizi ile *D. marmorata* epidermal mukusundan 16 adet biyokimyasal bileşik elde edilmiştir (Çizelge 4.2). Elde edilen bu bileşikler içerisinde 2-İzopropil-5-metil-1-heptanol (%10,04), 2-*tert*-Butil-4-izopropil-5-metilfenol (%7,95), Dokosan (%7,98) ve Dodekanoik asit (%15,76) majör bileşikler olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3). Diğer bileşikler ise İzotridekanol (%7,45), 1,2,3,5-tetrametilsikloheksan (%4,58), Dodekan (%2), Tridekan (%3,17), 2-Heksil-1-oktanol (%7,47), 1-oktanol (% 5,79), Octadekan (%4,25), 1-Dekanol (%3,29), Heptakosan (%4,88), 1-Nonadesen (%5,98), 10-Heneikosen (%5,79) ve 17-Pentatriakonten (%3,6) olarak belirlenmiştir.

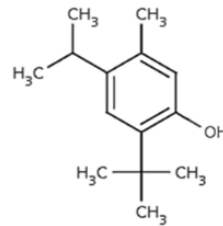
Çizelge 4.2. GC/MS ile tanımlanan *D. marmorata* epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri

No	RT	Bileşim oranı %	Moleküler Formül	Bileşik adı
1	16,52	7,45	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> O	İzotridekanol
2	16,71	10,04	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O	2-İzopropil-5-metil-1-heptanol
3	16,89	4,58	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	1,2,3,5-tetrametilsikloheksan
4	19,88	2,00	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	Dodekan
5	20,55	3,17	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	Tridekan
6	21,04	7,95	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	2- <i>tert</i> -Butil-4-izopropil-5-metilfenol
7	21,47	7,98	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	Dokosan
8	21,70	7,47	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> O	2-Heksil-1-oktanol
9	21,90	5,79	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	1-Oktanol
10	23,26	15,76	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Dodekanoik asit
11	24,69	4,25	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	Oktadekan
12	25,24	3,29	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	1-Dekanol
13	25,48	4,88	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	Heptakosan
14	25,75	5,98	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	1-Nonadesen
15	26,13	5,79	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	10-Heneikosen
16	26,33	3,6	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub>	17-Pentatriakonten

RT (Retention time): Alıkönma süresi (dakika)



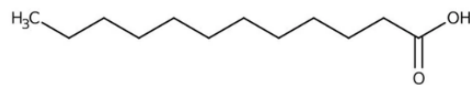
2-İzopropil-5-metil-1-heptanol



2-*tert*-Butil-4-izopropil-5-metilfenol



Dokosan



Dodekanoik asit

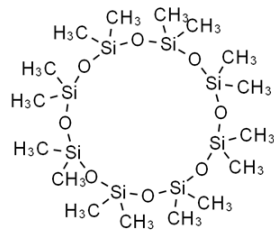
Şekil 4.3. *D. marmorata* epidermal mukusunun majör bileşikleri

*D. pastinaca* epidermal mukusundan 12 adet biyokimyasal bileşik elde edilmiştir (Çizelge 4.3). Elde edilen bu bileşikler içerisinde Siklooktasiloksan (%11,22), Siklononasiloksan (%14,49), 1H-Purin-6-amin, [(2-florofenil) metil] (%13,4), Siklodekasiloksan (%12,10), Lusenin-2 (%11,37) ve Oktasiloksan (%10,57) majör bileşikler olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4). Diğer bileşikler ise Sikloheptasiloksan (%4,5), Dokosan (%0,96), İzobütül ftalat (%1,64), 1,2-Benzensikarboksilik asit, bütül oktil ester (%1,03), Heptasiloksan (%8,32), Bis (2-etilheksil) ftalat (%6,41) ve Siklotetrasiloksan (%3,99) olarak belirlenmiştir.

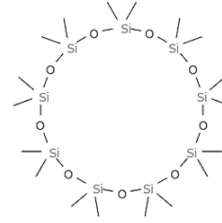
Çizelge 4.3. GC/MS ile tanımlanan *D. pastinaca* epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri

No	RT	Bileşim oranı %	Moleküler formül	Bileşik adı
1	19,88	4,5	C <sub>14</sub> H <sub>42</sub> O <sub>7</sub> Si <sub>7</sub>	Sikloheptasiloksan
2	23,12	11,22	C <sub>16</sub> H <sub>48</sub> O <sub>8</sub> Si <sub>8</sub>	Siklooktasiloksan
3	24,71	0,96	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	Dokosan
4	25,91	14,49	C <sub>18</sub> H <sub>54</sub> O <sub>9</sub> Si <sub>9</sub>	Siklononasiloksan
5	28,38	13,4	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> FN <sub>5</sub>	1H-Purin-6-amin, [(2-florofenil) metil]
6	29,31	1,03	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	1,2-Benzensikarboksilik asit, bütül oktil ester
7	30,63	12,10	C <sub>20</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub> Si <sub>10</sub>	Siklodekasiloksan
8	32,65	11,37	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	Lusenin-2
9	34,18	10,57	C <sub>16</sub> H <sub>50</sub> O <sub>7</sub> Si <sub>8</sub>	Oktasiloksan
10	35,43	8,32	C <sub>14</sub> H <sub>44</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>8</sub>	Heptasiloksan
11	36,62	6,41	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	Bis (2-etilheksil) ftalat
12	37,83	3,99	C <sub>8</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> Si <sub>4</sub>	Siklotetrasiloksan

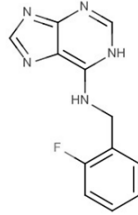
RT (Retention time): Alınma süresi (dakika)



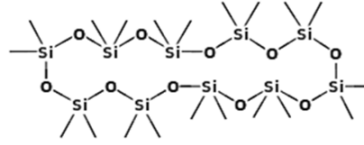
Siklooktasiloksan



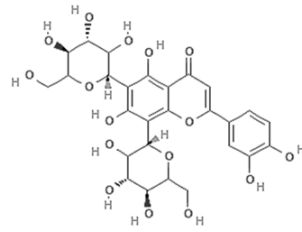
Siklononasiloksan



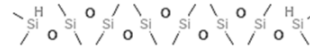
1H-Purin-6-amin, [(2-florofenil) metil]



Siklodekasiloksan



Lutenin-2



Oktasiloksan

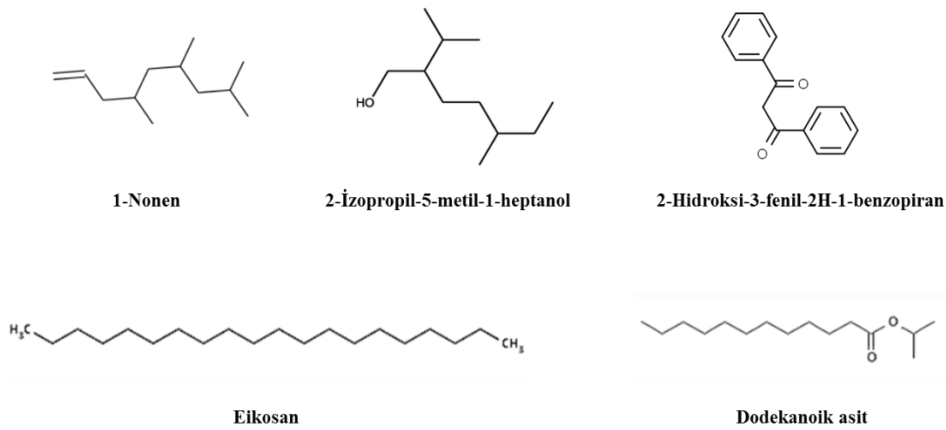
Şekil 4.4. *D. pastinaca* epidermal mukusunun majör bileşikleri

*G. altavela* epidermal mukusundan 14 adet biyokimyasal bileşik elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Elde edilen bu bileşikler içerisinde 1-Nonen (%8,13), 2-İzopropil-5-metil-1-heptanol (%12,24), 2-Hidroksi-3-fenil-2H-1-benzopiran (%11,83), Eikosan (%14,25) ve Dodekanoik asit (%21,37) majör bileşikler olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5). Diğer bileşikler ise Undekan (%2,24), Pentadekan (%2,38), 2-Heksil-1-oktanol (%4,63), tert-Hekzadekanetirol (%4,18), 2-izopropil-5-metil-1-heptanol (%4,65), Oktadekan (%3,25), Heptakosan (%3,58), 2-Oktadesiloksietanol (%3,98) ve Oktasiloksan (%3,29) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. GC/MS ile tanımlanan *G. altavela* epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri

No	RT	Bileşim oranı %	Moleküler formül	Bileşik adı
1	15,13	2,24	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	Undekan
2	15,31	2,38	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	Pentadekan
3	16,53	8,13	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	1-Nonen
4	16,72	12,24	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O	2-İzopropil-5-metil-1-heptanol
5	21,05	11,83	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	2-Hidroksi-3-fenil-2H-1-benzopiran
6	21,17	4,63	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> O	2-Heksil-1-oktanol
7	21,72	14,25	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	Eikosan
8	23,27	21,37	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Dodekanoik asit
9	25,26	4,18	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> S	tert-Hekzadekanetiol
10	26,35	4,65	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O	2-izopropil-5-metil-1-heptanol
11	29,87	3,25	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	Octadekan
12	30,1	3,58	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	Heptakosan
13	33,24	3,98	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	2- Oktadesiloksietanol
14	36,43	3,29	C <sub>16</sub> H <sub>50</sub> O <sub>7</sub> Si <sub>8</sub>	Oktasiloksan

RT (Retention time): Alıkonma süresi (dakika)



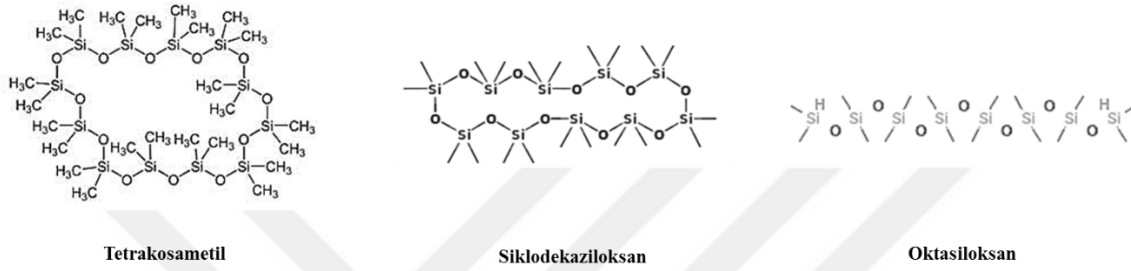
Şekil 4.5. *G. altavela* epidermal mukusunun majör bileşikleri

*R. miraletus* epidermal mukusundan yalnızca Tetrakoksametil (%36,08), Siklodekasiloksan (%31,56) ve Oktasiloksan (%32,36) majör bileşikleri elde edilmiştir (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.6).

Çizelge 4.5. GC/MS ile tanımlanan *R. miraletus* epidermal mukusunun biyokimyasal bileşikleri

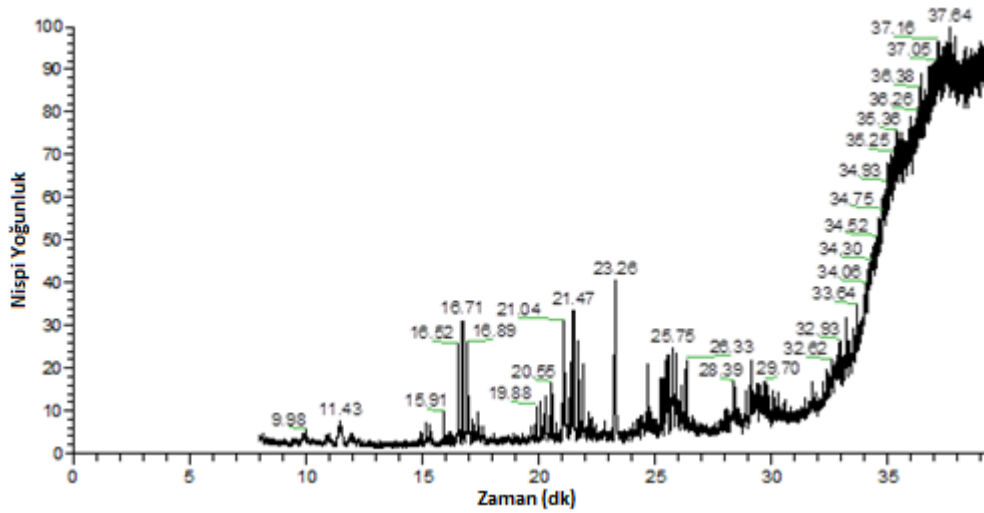
No	RT	Bileşim oranı %	Moleküler formül	Bileşik adı
1	32,77	36,08	C <sub>24</sub> H <sub>72</sub> O <sub>12</sub> Si <sub>12</sub>	Tetrakosametil
2	35,42	31,56	C <sub>20</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub> Si <sub>10</sub>	Siklodekaziloksan
3	37,97	32,36	C <sub>16</sub> H <sub>50</sub> O <sub>7</sub> Si <sub>8</sub>	Oktasiloksan

RT (Retention time): Alıkonna süresi (dakika)

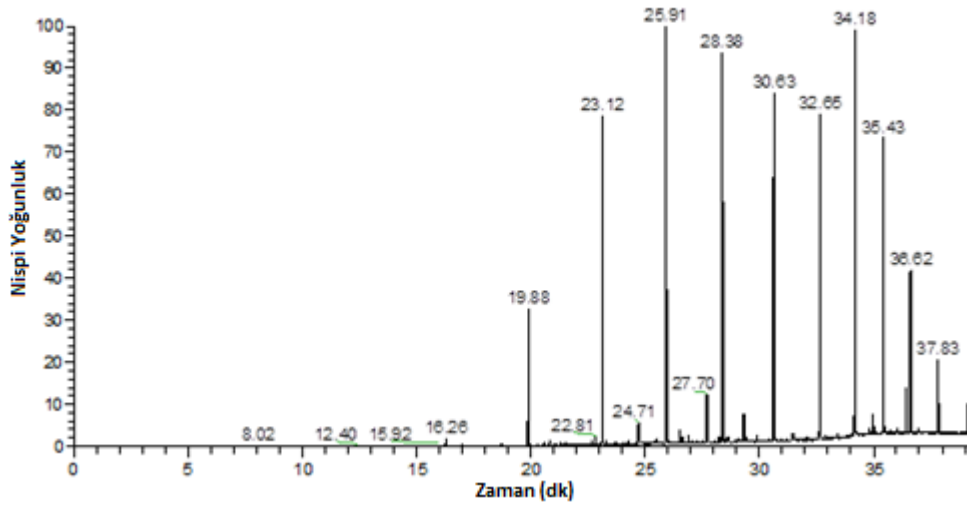


Şekil 4.6. *R. miraletus* epidermal mukusunun majör bileşikleri

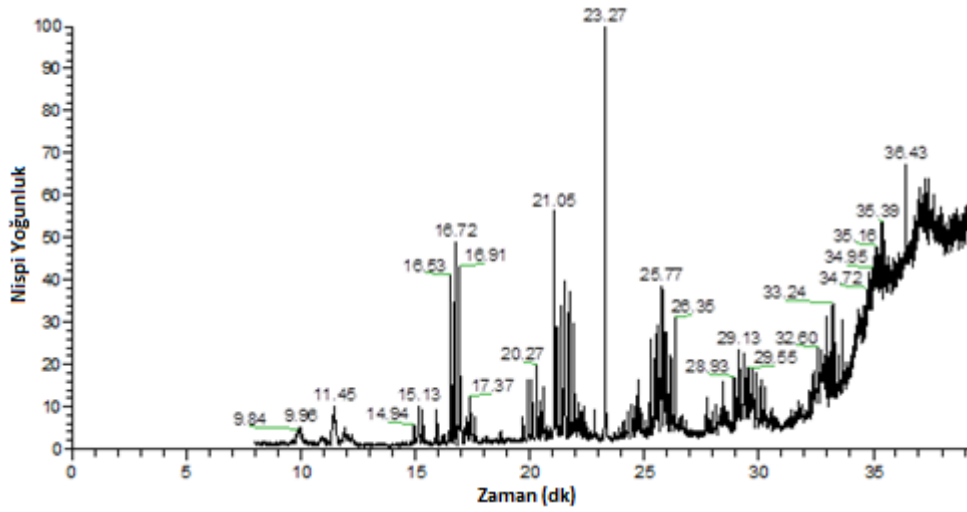
GC/MS analizi sonucunda *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* epidermal mukuslarının kromatogramları ve kütle spektrumları sırasıyla Şekil 4.7, 4.8, 4.9, ve 4.10'da verilmiştir. Kromatogramdaki pikler, GC/MS kütüphanesinde bilinen bileşenlere ait veritabanındaki spektrumlarla birleştirilmiş ve karşılaştırılmıştır.



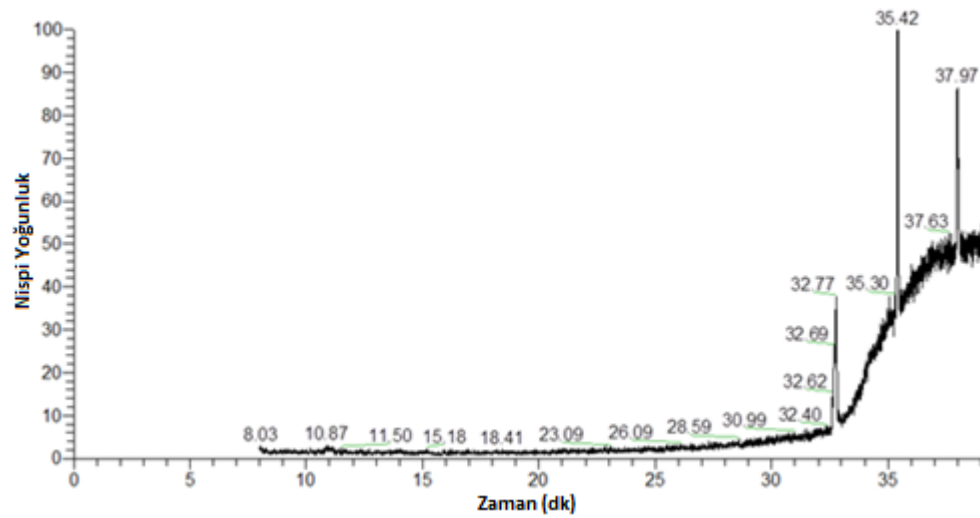
Şekil 4.7. *D. marmorata* epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı



Şekil 4.8. *D. pastinaca* epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı



Şekil 4.9. *G. altavela* epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı

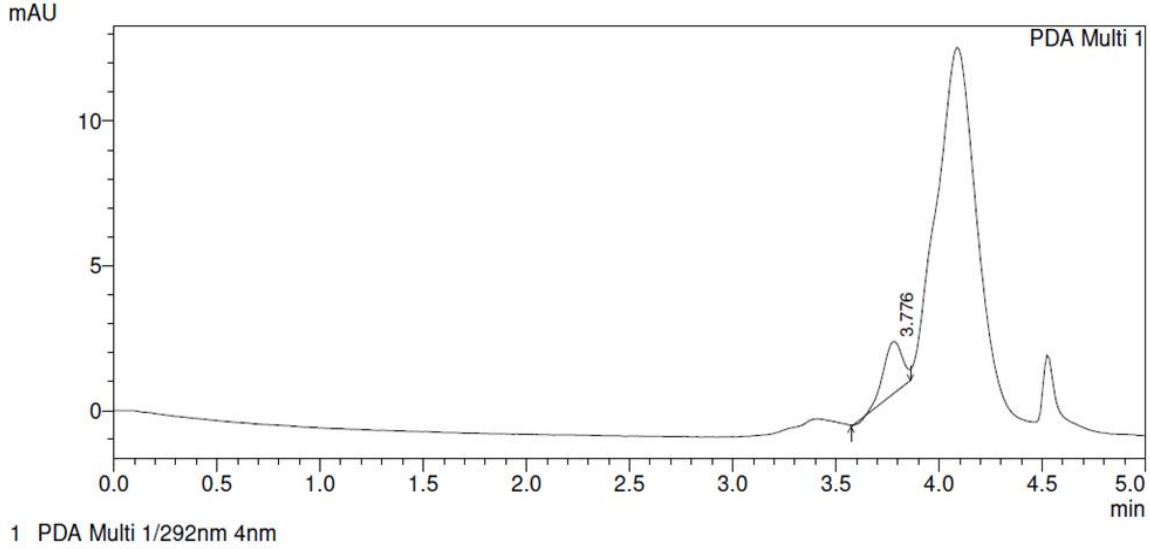


Şekil 4.10. *R. miraletus* epidermal mukusunun GC/MS kromatogramı



### 4.1.3. HPLC Analizi Sonuçları

HPLC analizi sonucunda *R. miraletus* epidermal mukusunun  $\alpha$ -tokoferol konsantrasyonu 13,78  $\mu\text{g/ml}$  olarak bulunmuştur. Elde edilen HPLC kromatogramları ve kütle spektrumları Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. *R. miraletus* epidermal mukusunun HPLC kromatogramı

## 4.2. Antibakteriyel Aktivite

*D. marmorata* epidermal mukusunun, ham (DmH), sulu faz (DmS) ve asetik asit (DmAA), *D. pastinaca* epidermal mukusunun ham (DpH), sulu faz (DpS) ve asetik asit (DpAA), *G. altavela* epidermal mukusunun ham (GaH), sulu faz (GaS) ve asetik asit (GaAA) ve *R. miraletus* epidermal mukusunun ham (RmH), sulu faz (RmS) ve asetik asit (RmAA) ekstraktlarının gram negatif bakteri suşlarından *E. coli* ve *K. pneumoniae*, gram pozitif bakteri suşlarından *B. subtilis* ve *E. faecalis* ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu ortaya çıkan sonuçlar inhibisyon zonu ve MİK açısından değerlendirilmiştir.

### 4.2.1. Disk Difüzyon Analizi Sonuçları

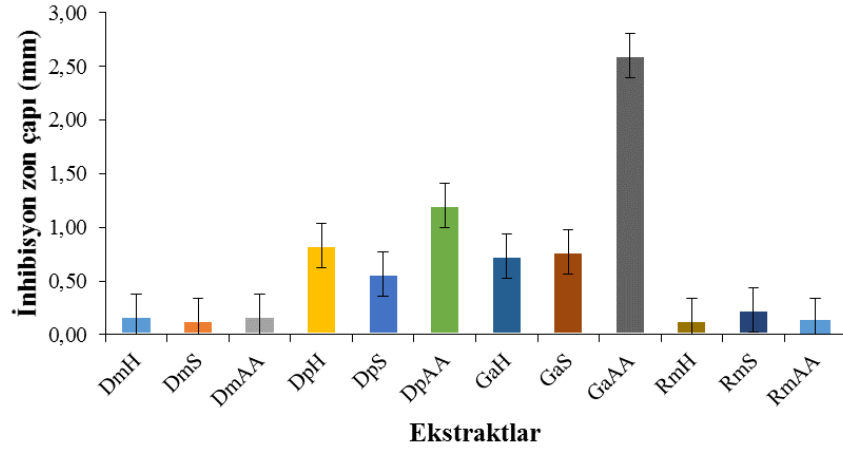
Disk difüzyon analizi sonucunda epidermal mukus ekstraktlarının *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *E. faecalis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı ölçümleri Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Disk difüzyon yöntemine göre, 24 saat boyunca *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *E. faecalis* ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarına bağlı inhibisyon zon çapları (mm)

Ekstraktlar 20 µl (v/v)/zon	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>
DmH	0,17 <sup>a</sup> <sub>±0,09</sub>	0,40 <sup>b</sup> <sub>±0,2</sub>	0,97 <sub>±0,6</sub>	0,83 <sub>±0,5</sub>
DmS	0,13 <sup>a</sup> <sub>±0,04</sub>	0,43 <sup>b</sup> <sub>±0,12</sub>	0,80 <sub>±0,4</sub>	1,07 <sub>±0,7</sub>
DmAA	0,17 <sup>a</sup> <sub>±0,09</sub>	0,87 <sub>±0,5</sub>	1,30 <sub>±0,5</sub>	1,57 <sub>±0,5</sub>
DpH	0,83 <sub>±1,03</sub>	0,27 <sup>b</sup> <sub>±0,16</sub>	0,83 <sub>±1,03</sub>	0,70 <sub>±0,8</sub>
DpS	0,57 <sub>±0,6</sub>	0,13 <sup>b</sup> <sub>±0,04</sub>	1,33 <sub>±1,2</sub>	0,17 <sub>±0,09</sub>
DpAA	1,20 <sub>±0,07</sub>	1,27 <sub>±0,5</sub>	1,87 <sub>±0,8</sub>	1,90 <sub>±0,4</sub>
GaH	0,73 <sub>±0,8</sub>	1,03 <sub>±0,6</sub>	0,77 <sub>±0,9</sub>	1,00 <sub>±1,06</sub>
GaS	0,77 <sub>±0,9</sub>	0,47 <sup>b</sup> <sub>±0,5</sub>	0,13 <sub>±0,04</sub>	0,87 <sub>±0,8</sub>
GaAA	2,60 <sub>±0,4</sub>	2,47 <sub>±0,6</sub>	2,90 <sub>±1,9</sub>	2,80 <sub>±2,1</sub>
RmH	0,13 <sup>a</sup> <sub>±0,04</sub>	0,13 <sup>b</sup> <sub>±0,04</sub>	0,47 <sub>±0,4</sub>	0,20 <sub>±0,08</sub>
RmS	0,23 <sup>a</sup> <sub>±0,18</sub>	0,13 <sup>b</sup> <sub>±0,04</sub>	0,13 <sub>±0,04</sub>	0,17 <sub>±0,09</sub>
RmAA	0,13 <sup>a</sup> <sub>±0,04</sub>	0,73 <sup>b</sup> <sub>±0,8</sub>	0,77 <sub>±0,9</sub>	0,50 <sub>±0,5</sub>
Ampisilin (16 µg/ml)	10,10 <sub>±0,1</sub>	12,00 <sub>±0,4</sub>	4,30 <sub>±0,8</sub>	9,70 <sub>±1,1</sub>

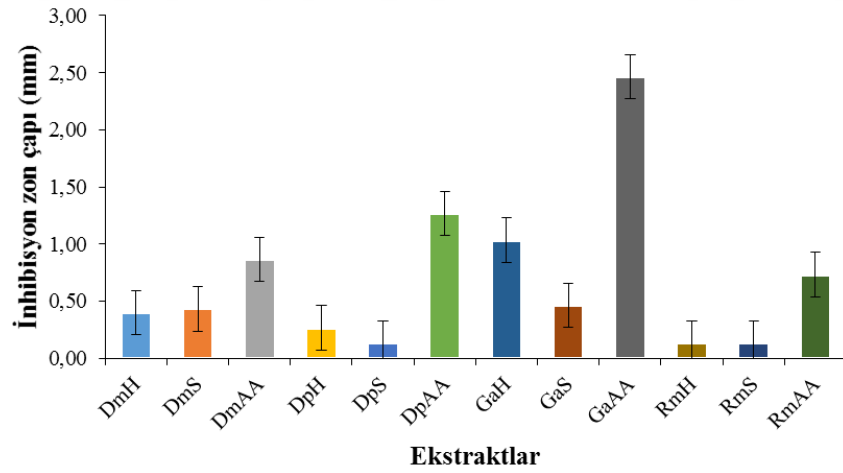
a: GaAA ile olan farklılıkları (*E. coli*), b: GaAA ile olan farklılıkları (*K. pneumoniae*) göstermektedir.

Gram negatif bakteri suşlarından *E. coli* ve *K. pneumoniae* ve gram pozitif bakteri suşlarından *B. subtilis* ve *E. faecalis*'e karşı en yüksek ortalama inhibisyon zon çapı 2,90 mm ile GaAA ekstraktının *B. subtilis* üzerinde gösterdiği aktivitede elde edilirken, en düşük zon çapı ise DmS, RmH ve RmAA ekstraktlarının *E. coli*'ye, DpS, RmH ve RmS ekstraktlarının *K. pneumoniae*'ye ve GaS ve RmS ekstraktlarının ise *B. subtilis*'e karşı gösterdiği aktivitede (0,13 mm) belirlenmiştir. İstatistiksel olarak GaAA ekstraktının *E. coli*'ye karşı oluşturduğu antibakteriyel zon çapı (2,60 mm) diğer ekstraktlara (DmH, DmS, DmAA, RmH, RmS, RmAA) göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). GaAA ekstraktının *K. pneumoniae*'ye karşı antimikrobiyal zon çapı (2,47 mm) diğer ekstraktlara (DmH, DmS, DpH, DpS, GaS, RmH, RmS, RmAA) göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Çizelge 4.6). *E. coli*'ye karşı inhibisyon zonlarına bakıldığında, tüm epidermal mukus ekstraktlarının içerisinde en yüksek aktivite GaAA ekstraktlarında görülmüştür. GaAA ekstraktını takiben DpAA ve DpH ekstraktları da *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Şekil 4.12).



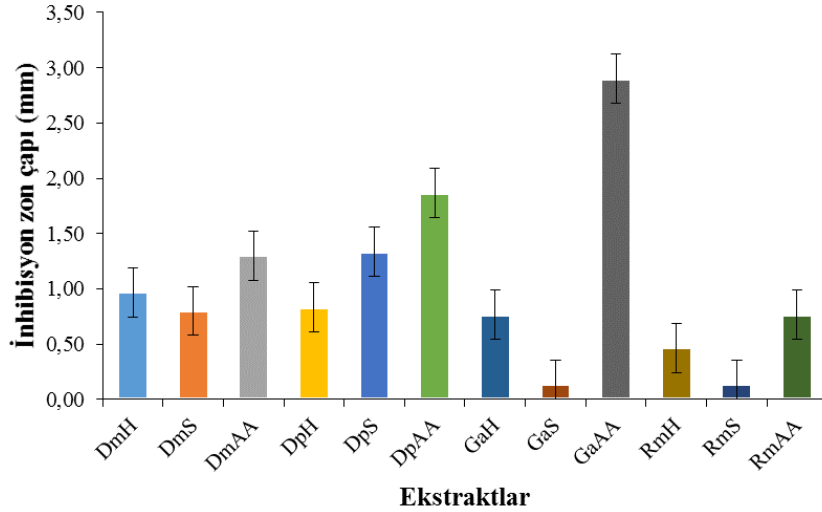
Şekil 4.12. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının *E. coli* ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi

*K. pneumoniae*'ye karşı inhibisyon zonlarına bakıldığında, tüm epidermal mukus ekstraktlarının içerisinde en yüksek aktivite GaAA ekstraktlarında görülmüştür. GaAA ekstraktını takiben DpAA, GaH ve DmAA ekstraktları da *K. pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Şekil 4.13).



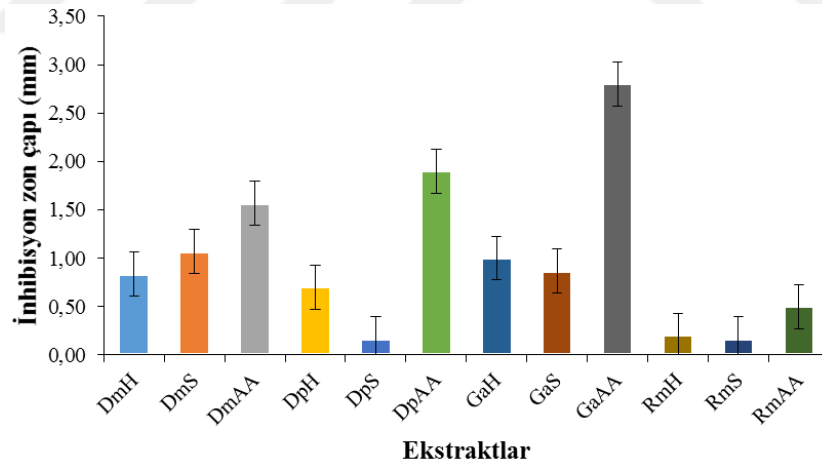
Şekil 4.13. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının *K. pneumoniae* ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi

*B. subtilis*'e karşı inhibisyon zonlarına bakıldığında, tüm epidermal mukus ekstraktlarının içerisinde en yüksek aktivite GaAA ekstraktlarında görülmüştür. GaAA ekstraktını takiben DpAA, DpS ve DmAA ekstraktları da *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının *B. subtilis* ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi

*E. faecalis*'e karşı inhibisyon zonlarına bakıldığında, tüm epidermal mukus ekstraktlarının içerisinde en yüksek aktivite GaAA ekstraktlarında görülmüştür. GaAA ekstraktını takiben DpAA, DmAA ve DmS ekstraktları da *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının *E. faecalis* ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antibakteriyel zonların grafiksel gösterimi

#### 4.2.2. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Analizi Sonuçları

Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizi sonucu MİK bakımından belirlenen değerler Çizelge 4.7'de gösterilmiştir ( $p < 0,05$ ). Genel olarak 100 µl (v/v)'nin altında tüm ekstraktlar mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. En yüksek MİK değeri 8,99

$\mu\text{l}$  (v/v) ile DmAA ekstraktının *K. pneumoniae*'ye karşı gösterdiği etki olurken, en düşük MİK değeri 80,88  $\mu\text{l}$  (v/v) ile RmAA ekstraktının *E. coli*'ye karşı gösterdiği aktivite olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak DpS ekstraktının *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi (MİK= 92,63  $\mu\text{l}$  (v/v)) diğer ekstraktlara (DmH, DmS, DmAA, DpH, GaS, GaAA, RmH, RmS, RmAA) göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). DpH ekstraktının *K. pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel aktivitesi (MİK= 60,17  $\mu\text{l}$  (v/v)) diğer ekstraktlara (DmH, DmS, DmAA, GaS, GaAA, RmH, RmS, RmAA) göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). DpS ekstraktının ise *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi (MİK= 22,76  $\mu\text{l}$  (v/v)) diğer ekstraktlara (DmH, DmS, DmAA, DpH, DpAA, GaH, GaS, GaAA, RmH, RmS, RmAA) göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Spektrofometrik mikrodilüsyon yöntemine göre, 24 saat boyunca *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *E. faecalis* ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarının MİK değerleri

Ekstraktlar	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>
DmH	12,78 $\pm$ 2,9	14,22 <sup>b</sup> $\pm$ 5,6	14,69 <sup>a</sup> $\pm$ 3,5	24,17 <sup>c</sup> $\pm$ 9,1
DmS	37,03 $\pm$ 24,2	19,02 <sup>b</sup> $\pm$ 3,7	22,15 <sup>a</sup> $\pm$ 6,6	16,54 <sup>c</sup> $\pm$ 5,2
DmAA	9,30 $\pm$ 0,08	8,99 <sup>b</sup> $\pm$ 0,5	10,23 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1	9,19 <sup>c</sup> $\pm$ 0,06
DpH	33,22 $\pm$ 6,3	60,17 $\pm$ 36,4	22,06 <sup>a</sup> $\pm$ 3,1	38,45 <sup>c</sup> $\pm$ 6,8
DpS	25,39 $\pm$ 1,4	31,32 $\pm$ 2,9	92,63 $\pm$ 56,0	22,76 $\pm$ 0,5
DpAA	26,72 $\pm$ 2,9	33,74 $\pm$ 2,6	34,55 $\pm$ 1,1	50,38 <sup>c</sup> $\pm$ 7,7
GaH	18,97 $\pm$ 2,5	27,84 $\pm$ 3,3	41,13 $\pm$ 8,9	23,26 <sup>c</sup> $\pm$ 6,0
GaS	22,58 $\pm$ 0,02	14,88 <sup>b</sup> $\pm$ 4,1	16,97 <sup>a</sup> $\pm$ 6,3	16,16 <sup>c</sup> $\pm$ 2,5
GaAA	8,64 $\pm$ 0,1	9,017 <sup>b</sup> $\pm$ 0,1	9,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1	9,13 <sup>c</sup> $\pm$ 0,2
RmH	23,07 $\pm$ 10,8	10,70 <sup>b</sup> $\pm$ 0,1	26,59 <sup>a</sup> $\pm$ 7,5	11,17 <sup>c</sup> $\pm$ 0,9
RmS	26,70 $\pm$ 5,3	19,57 <sup>b</sup> $\pm$ 9,01	16,67 <sup>a</sup> $\pm$ 6,3	11,03 <sup>c</sup> $\pm$ 0,9
RmAA	80,88 $\pm$ 94,3	10,21 <sup>b</sup> $\pm$ 0,7	12,01 <sup>a</sup> $\pm$ 0,7	9,78 <sup>c</sup> $\pm$ 0,4
Ampisilin ( $\mu\text{g/ml}$ )	16 $\pm$ 0,06	16 $\pm$ 0,1	32 $\pm$ 0,4	32 $\pm$ 0,3

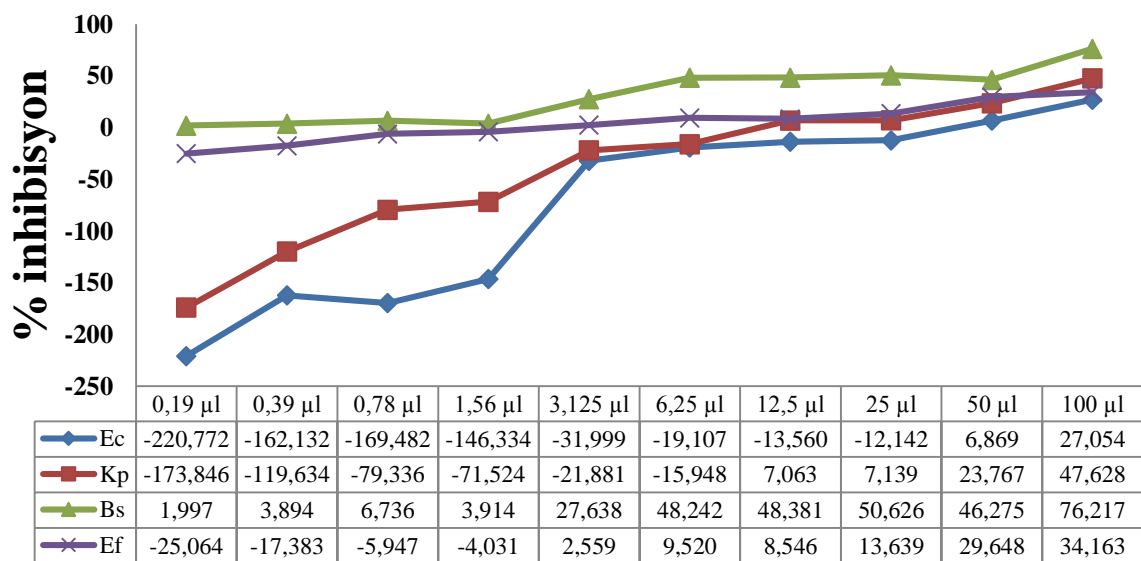
a: DpS ile olan farklılıkları (*B. subtilis*), b: DpH ile olan farklılıkları (*K. pneumoniae*), c: DpS ile olan farklılıkları (*E. faecalis*) göstermektedir.

*D. marmorata* epidermal mukusunun, ham (DmH), sulu faz (DmS) ve asetik asit (DmAA), *D. pastinaca* epidermal mukusunun ham (DpH), sulu faz (DpS) ve asetik asit (DpAA), *G. altavela* epidermal mukusunun ham (GaH), sulu faz (GaS) ve asetik asit (GaAA) ve *R. miraletus* epidermal mukusunun ham (RmH), sulu faz (RmS) ve asetik asit (RmAA) ekstraktlarının gram negatif bakteri suşlarından *E. coli* ve *K. pneumoniae* ve gram pozitif bakteri suşlarından *B. subtilis* ve *E. faecalis*'e karşı inhibisyon etkileri genel olarak konsantrasyonları arttıkça artma yönünde eğilim göstermiştir.

### *Dasyatis marmorata* Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

#### *Ham Ekstrakt*

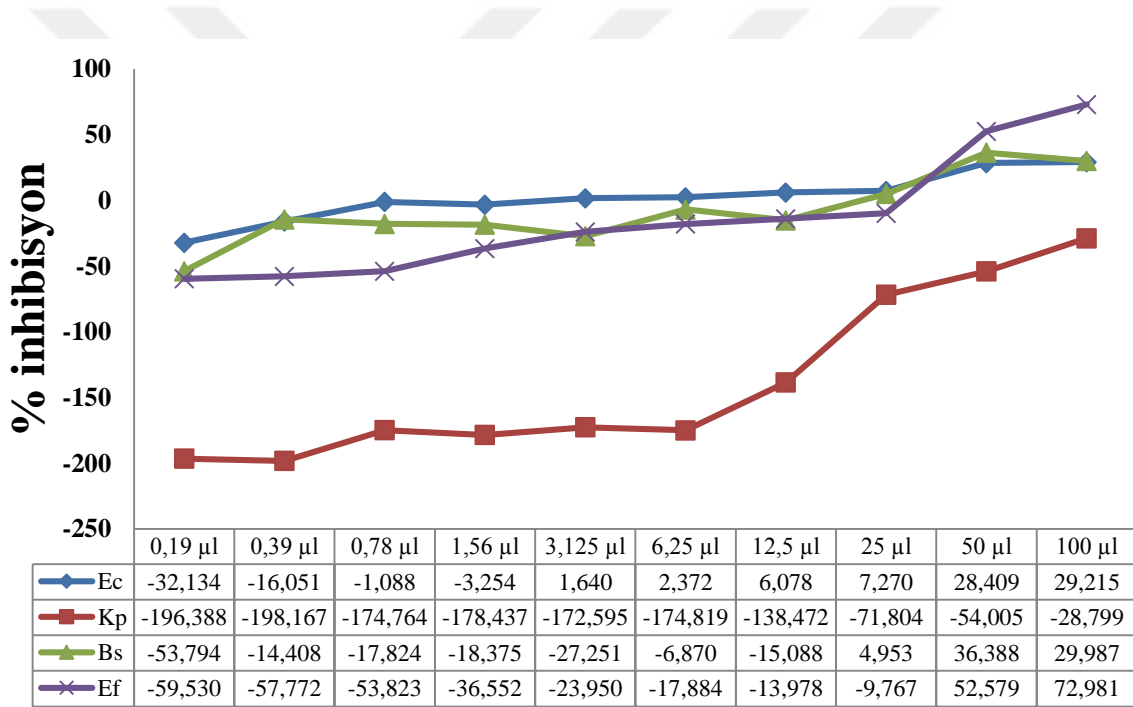
*D. marmorata* epidermal mukusunun ham ekstraktı *E. coli*'ye karşı 50 µl'de (% inhibisyon=6,869) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=27,054), *K. pneumoniae*'ye karşı 12,5 µl'de (% inhibisyon=7,063) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=47,628), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=1,997) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=76,217), *E. faecalis*'e karşı 3,125 µl'de (% inhibisyon=1,997) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=34,163) ulaşmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. *D. marmorata* mukusunun ham ekstraktının (DmH) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### Sulu Faz Ekstraktı

*D. marmorata* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *E. coli*'ye karşı 3,125 µl'de (% inhibisyon=1,640) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=29,215), *B. subtilis*'e karşı 25 µl'de (% inhibisyon=4,953) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 50 µl'de (% inhibisyon=36,388), *E. faecalis*'e karşı 50 µl'de (% inhibisyon=52,579) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=72,981) ulaşmıştır. *K. pneumoniae*'ye karşı hiçbir konsantrasyonda aktivite gösterememiştir (Şekil 4.17).

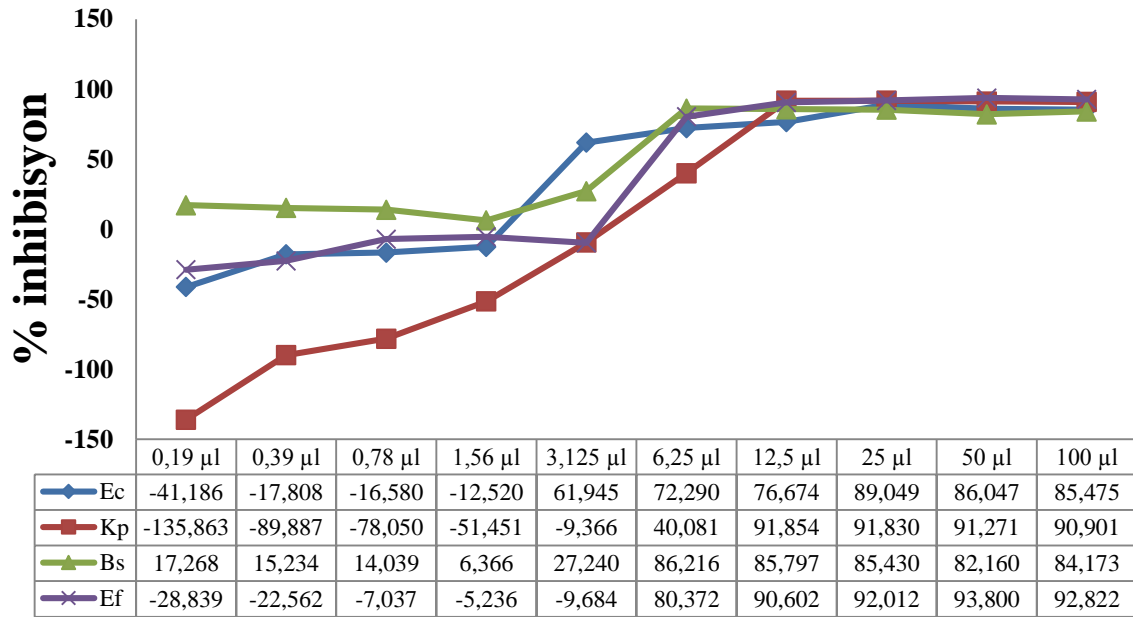


Şekil 4.17. *D. marmorata* mukusunun sulu faz ekstraktının (DmS) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### Asetik Asit Ekstraktı

*D. marmorata* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *E. coli*'ye karşı 3,125 µl'de (% inhibisyon=61,945) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=89,049), *K. pneumoniae*'ye karşı 6,25 µl'de (% inhibisyon=40,081) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 12,5 µl'de (% inhibisyon=91,854), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=17,268) aktivite

göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 6,25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=86,216), *E. faecalis*'e karşı 6,25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=80,372) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 50  $\mu$ l'de (% inhibisyon=93,800) ulaşmıştır (Şekil 4.18).



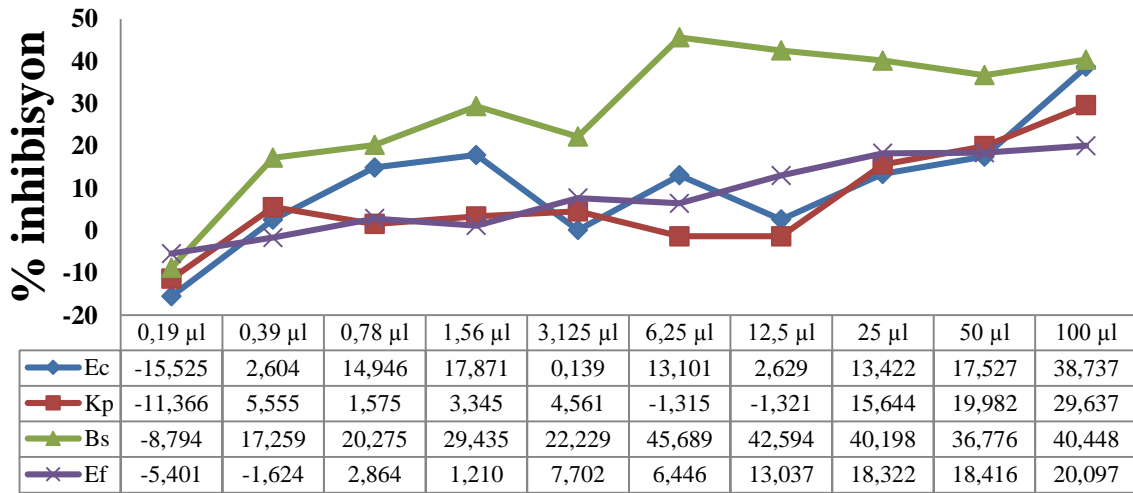
Şekil 4.18. *D. marmorata* mukusunun asetik asit ekstraktının (DmAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### *Dasyatis pastinaca* Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

##### *Ham Ekstrakt*

*D. pastinaca* epidermal mukusunun ham ekstraktı *E. coli*'ye karşı 0,39  $\mu$ l'de (% inhibisyon=2,604) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=38,737), *K. pneumoniae*'ye karşı 0,39  $\mu$ l'de (% inhibisyon=5,555) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=29,637), *B. subtilis*'e karşı 0,39  $\mu$ l'de (% inhibisyon=17,259) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 6,25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=45,689), *E. faecalis*'e karşı 0,78  $\mu$ l'de (% inhibisyon=2,864) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=20,097) ulaşmıştır (Şekil 4.19).

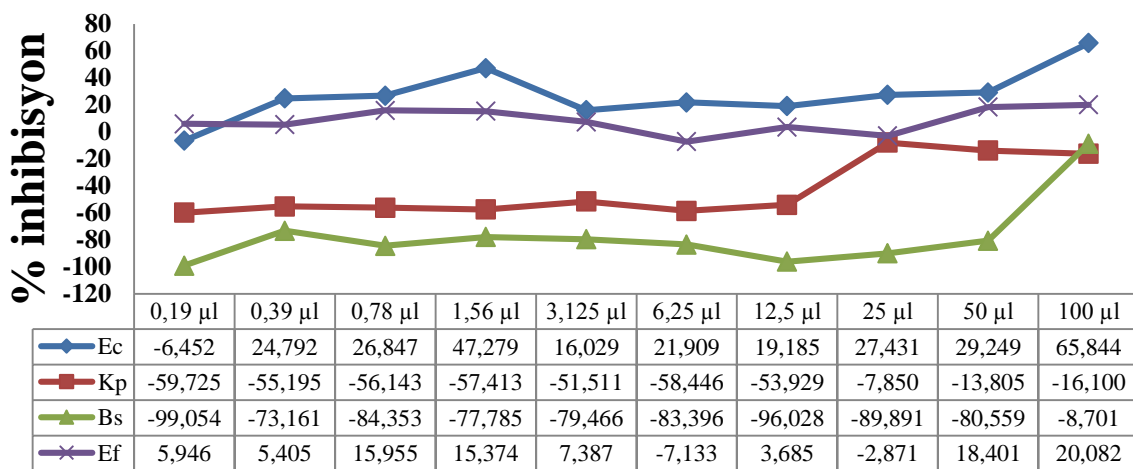




Şekil 4.19. *D. pastinaca* mukusunun ham ekstraktının (DpH) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Sulu Faz Ekstraktı

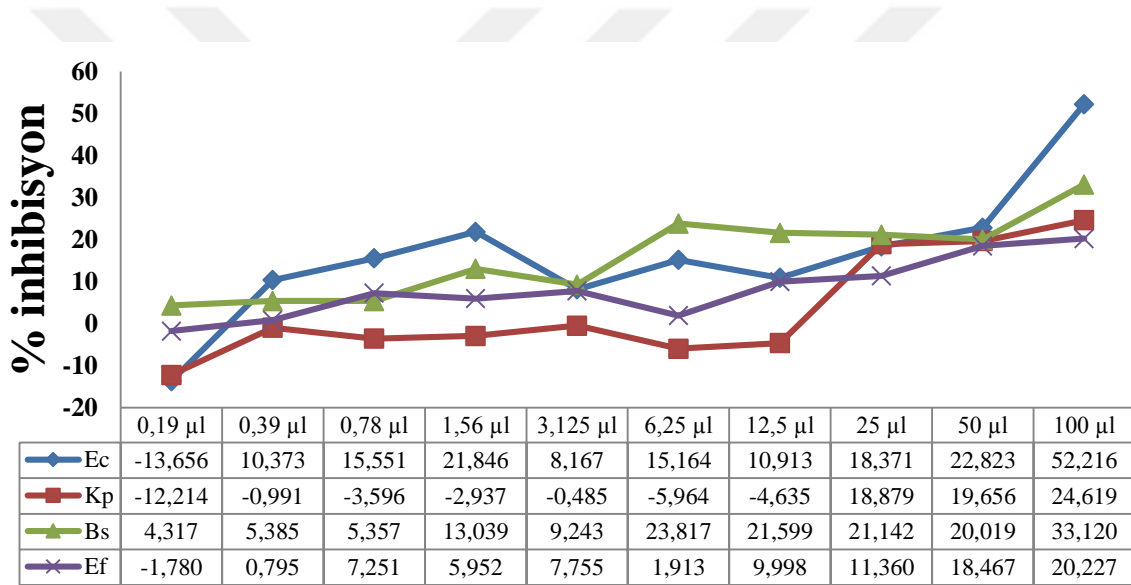
*D. pastinaca* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *E. coli*'ye karşı 0,39 µl'de (% inhibisyon=24,792) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=65,844), *E. faecalis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=5,946) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=20,082) ulaşmıştır. *K. pneumoniae* ve *B. subtilis*'e karşı hiçbir konsantrasyonda aktivite gösterememiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. *D. pastinaca* mukusunun sulu faz ekstraktının (DpS) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### Asetik Asit Ekstraktı

*D. pastinaca* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *E. coli*'ye karşı 0,39 µl'de (% inhibisyon=10,373) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=52,216), *K. pneumoniae*'ye karşı 25 µl'de (% inhibisyon=18,879) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=24,619), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=4,317) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=33,120), *E. faecalis*'e karşı 0,39 µl'de (% inhibisyon=0,795) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=20,227) ulaşmıştır (Şekil 4.21).



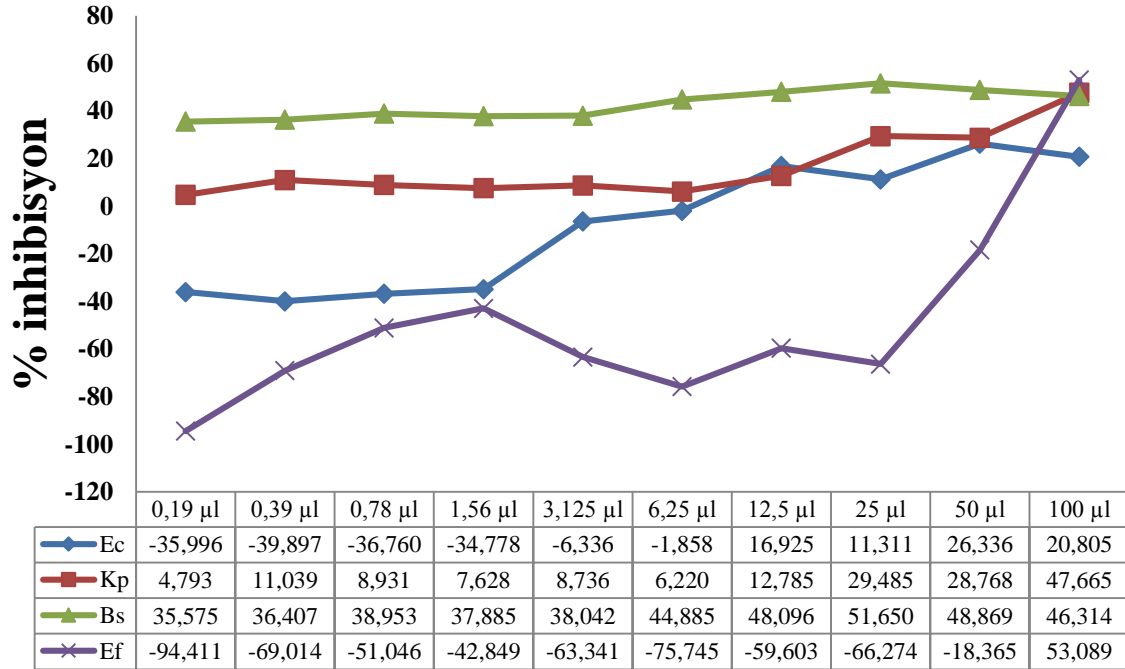
Şekil 4.21. *D. pastinaca* mukusunun asetik asit ekstraktının (DpAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### *Gymnura altavela* Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

#### Ham Ekstrakt

*G. altavela* epidermal mukusunun ham ekstraktı *E. coli*'ye karşı 12,5 µl'de (% inhibisyon=16,925) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 50 µl'de (% inhibisyon=26,336), *K. pneumoniae*'ye karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=6,227) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=47,665), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=35,575) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (%

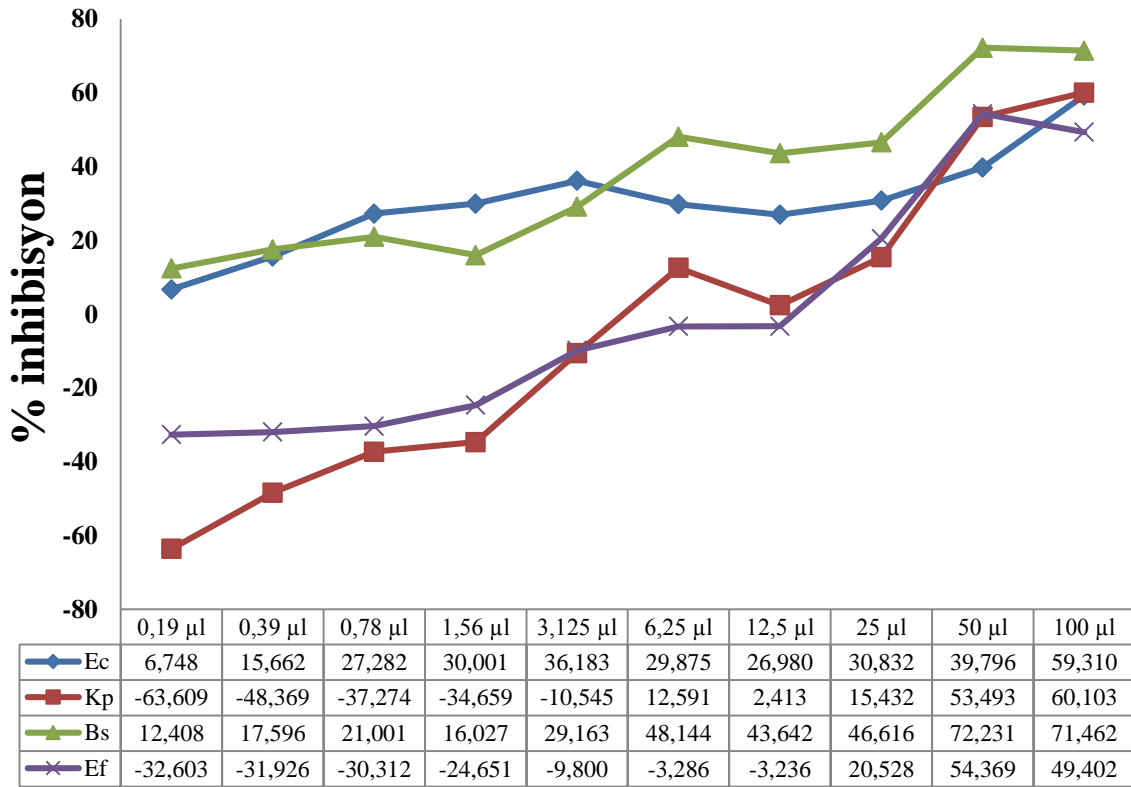
inhibisyon=51,650) ulaşmıştır. *E. faecalis*'e karşı yalnızca 100 µl'de (% inhibisyon=53,089) aktivite göstermiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. *G. altavela* mukusunun ham ekstraktının (GaH) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Sulu Faz Ekstraktı

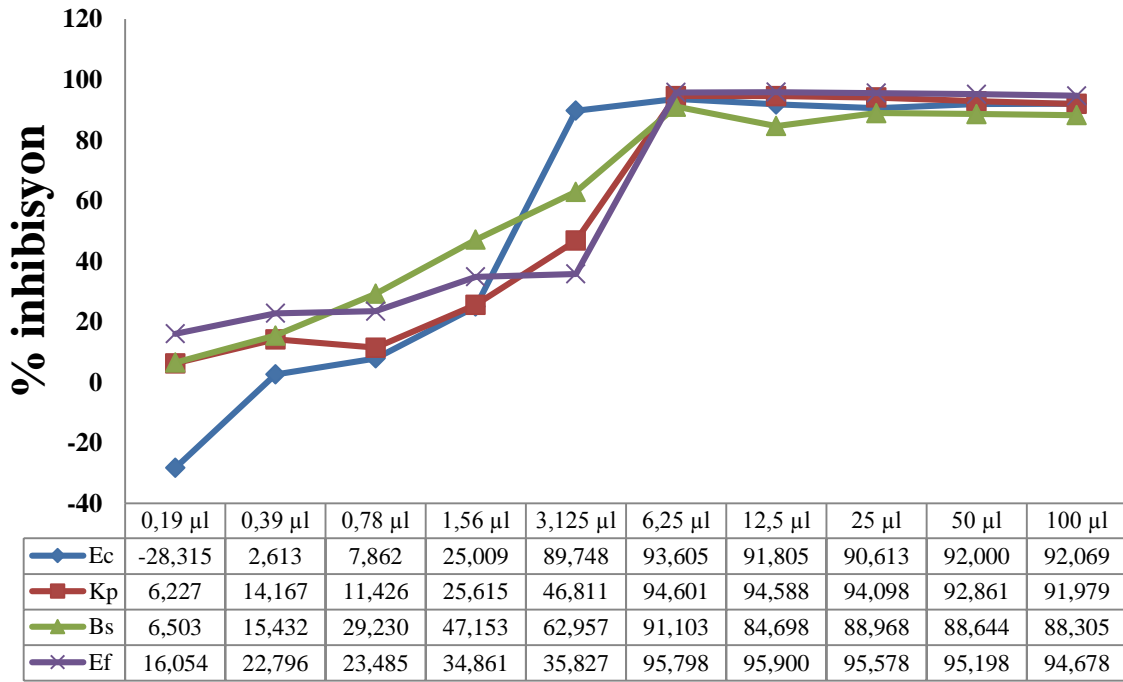
*G. altavela* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *E. coli*'ye karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=6,748) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=59,310), *K. pneumoniae*'ye karşı 6,25 µl'de (% inhibisyon=12,591) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=60,103), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=12,408) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 50 µl'de (% inhibisyon=72,231), *E. faecalis*'e karşı 25 µl'de (% inhibisyon=20,528) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 50 µl'de (% inhibisyon=54,369) ulaşmıştır (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. *G. altavela* mukusunun sulu faz ekstraktının (GaS) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Asetik Asit Ekstraktı

*G. altavela* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *E. coli*'ye karşı 0,39 µl'de (% inhibisyon=2,613) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 6,25 µl'de (% inhibisyon=93,605), *K. pneumoniae*'ye karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=6,227) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 6,25 µl'de (% inhibisyon=94,601), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=6,503) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 6,25 µl'de (% inhibisyon=91,103), *E. faecalis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=16,054) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 12,5 µl'de (% inhibisyon=95,900) ulaşmıştır (Şekil 4.24).

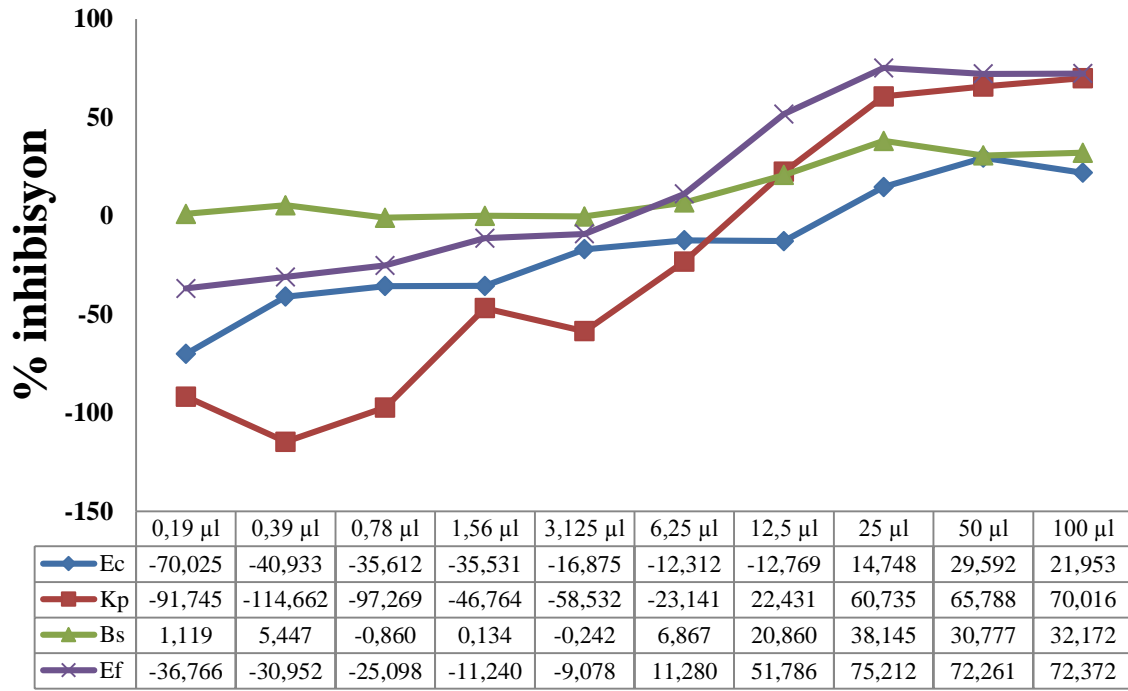


Şekil 4.24. *G. altavela* mukusunun asetik asit ekstraktının (GaAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### *Raja miraletus* Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

##### *Ham Ekstrakt*

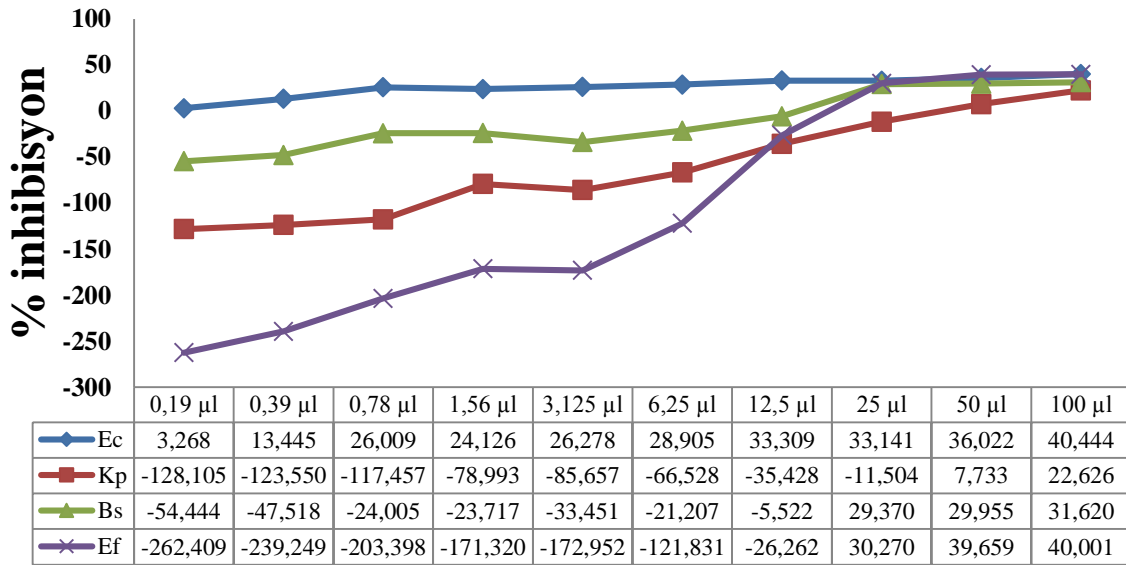
*R. miraletus* epidermal mukusunun ham ekstraktı *E. coli*'ye karşı 25 µl'de (% inhibisyon=14,748) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 50 µl'de (% inhibisyon=29,592), *K. pneumoniae*'ye karşı 12,5 µl'de (% inhibisyon=22,431) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=70,016), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=1,119) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=38,145), *E. faecalis*'e karşı 6,25 µl'de (% inhibisyon=11,280) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=75,212) ulaşmıştır (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. *R. miraletus* mukusunun ham ekstraktının (RmH) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Sulu Faz Ekstraktı

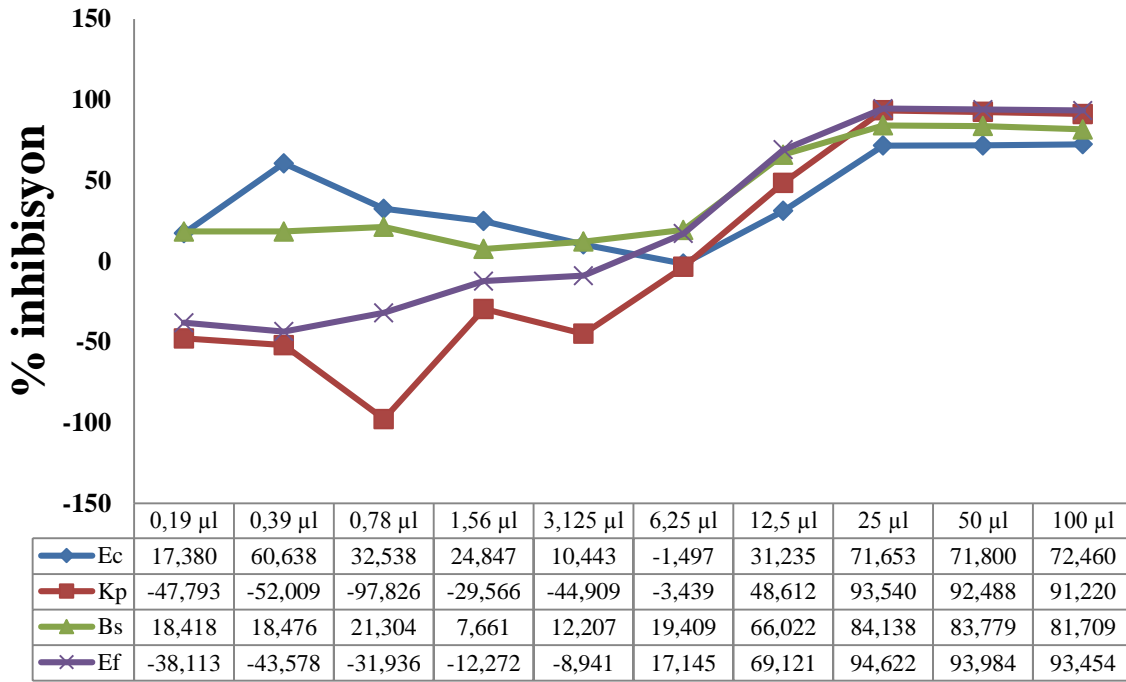
*R. miraletus* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *E. coli*'ye karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=3,268) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=40,444), *K. pneumoniae*'ye karşı 50 µl'de (% inhibisyon=7,733) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=22,626), *B. subtilis*'e karşı 25 µl'de (% inhibisyon=29,370) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=31,620), *E. faecalis*'e karşı 25 µl'de (% inhibisyon=30,270) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=40,001) ulaşmıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. *R. miraletus* mukusunun sulu faz ekstraktının (RmS) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Asetik Asit Ekstraktı

*R. miraletus* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *E. coli*'ye karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=17,380) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=72,460), *K. pneumoniae*'ye karşı 12,5 µl'de (% inhibisyon=48,612) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=93,540), *B. subtilis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=18,418) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=84,138), *E. faecalis*'e karşı 6,25 µl'de (% inhibisyon=17,145) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=94,622) ulaşmıştır (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. *R. miraletus* mukusunun asetik asit ekstraktının (RmAA) *E. coli* (Ec), *K. pneumoniae* (Kp), *B. subtilis* (Bs) ve *E. faecalis* (Ef) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antibakteriyel etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### 4.3. Antifungal Aktivite

*D. marmorata* epidermal mukusunun, ham (DmH), sulu faz (DmS) ve asetik asit (DmAA), *D. pastinaca* epidermal mukusunun ham (DpH), sulu faz (DpS) ve asetik asit (DpAA), *G. altavela* epidermal mukusunun ham (GaH), sulu faz (GaS) ve asetik asit (GaAA) ve *R. miraletus* epidermal mukusunun ham (RmH), sulu faz (RmS) ve asetik asit (RmAA) ekstraktlarının mantarlardan *C. albicans* ve *C. parapsilosis* ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu ortaya çıkan sonuçlar inhibisyon zonu ve MİK açısından değerlendirilmiştir.

#### 4.3.1. Disk Difüzyon Analizi Sonuçları

Disk difüzyon analizi sonucunda epidermal mukus ekstraktlarının *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu çapı ölçümleri Çizelge 4.8'de verilmiştir.



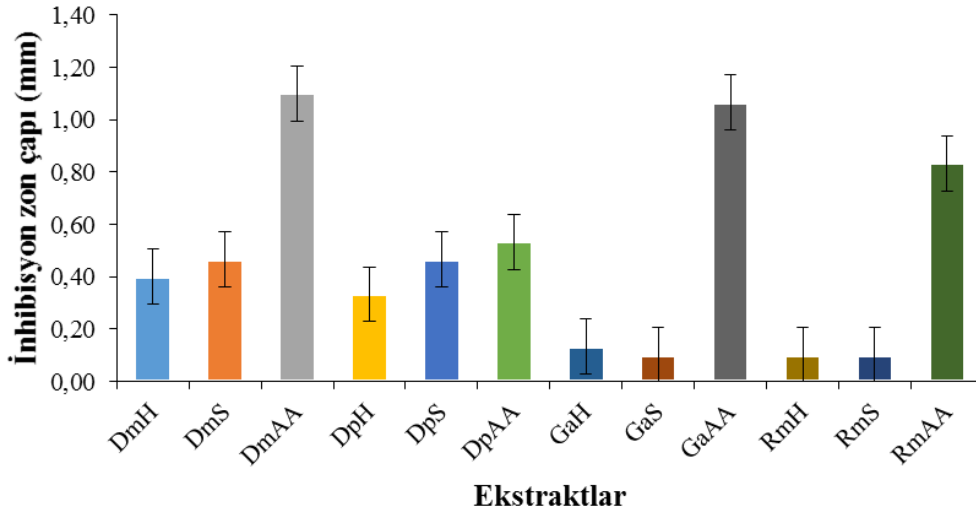
Çizelge 4.8. Disk difüzyon yöntemine göre, 24 saat boyunca *C. albicans* ve *C. parapsilosis* ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarına bağlı inhibisyon zon çapları (mm)

Ekstraktlar 20 µl (v/v) /zon	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
DmH	0,40±0,4	0,50 <sup>a</sup> ±0,6
DmS	0,47±0,5	0,47 <sup>a</sup> ±0,5
DmAA	1,10±0,3	1,07±0,7
DpH	0,33±0,3	0,47±0,4
DpS	0,47±0,4	0,23 <sup>a</sup> ±0,1
DpAA	0,53±0,6	0,80±0,6
GaH	0,13±0,0	0,53 <sup>a</sup> ±0,5
GaS	0,10±0,0	0,43 <sup>a</sup> ±0,5
GaAA	1,07±0,8	2,40±0,4
RmH	0,10±0,0	0,10 <sup>a</sup> ±0,0
RmS	0,10±0,0	0,10 <sup>a</sup> ±0,0
RmAA	0,83±0,6	0,97±0,7
Flukanozol (1280 µg/ml)	1,10±0,18	2,40±0,1

a: GaAA ile olan farklılıkları (*C. parapsilosis*) göstermektedir.

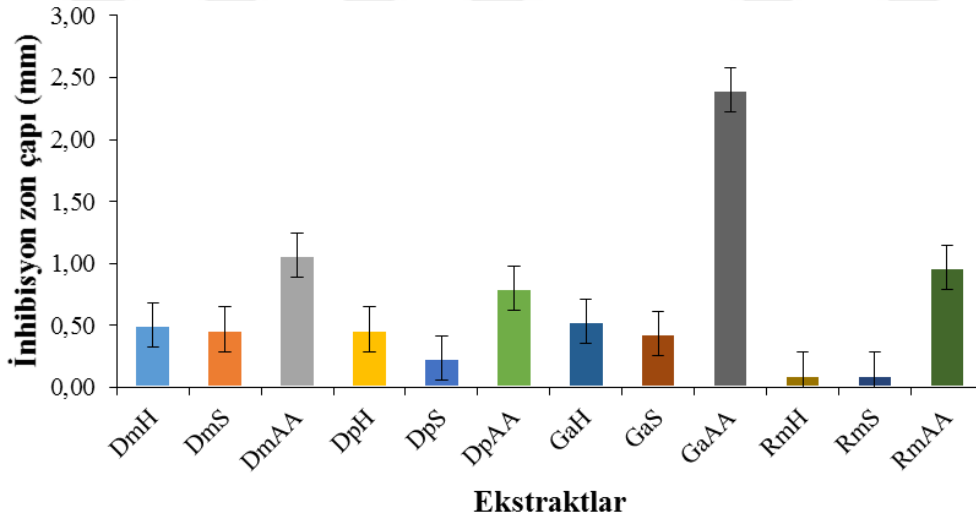
Mantar suşlarından *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'e karşı en yüksek ortalama inhibisyon zon çapı 2,40 mm ile GaAA ekstraktının *C. parapsilosis* üzerinde gösterdiği aktivitede elde edilirken, en düşük zon çapı ise GaS, RmH ve RmS ekstraktlarının *C. albicans*'a ve RmH ve RmS ekstraktlarının *C. parapsilosis*'e karşı gösterdiği aktivitede (0,10 mm) belirlenmiştir. İstatistiksel olarak GaAA ekstraktının *C. parapsilosis*'e karşı oluşturduğu antifungal zon çapı (2,40 mm) diğer ekstraktlara (DmH, DmS, DpH, DpS, GaH, GaS, RmH, RmS) göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p<0,5$ ) (Çizelge 4.8).

*C. albicans*'a karşı inhibisyon zonlarına bakıldığında, tüm epidermal mukus ekstraktlarının içerisinde en yüksek aktivite DmAA ekstraktlarında görülmüştür. DmAA ekstraktını takiben GaAA ve RmAA ekstraktları da *C. albicans*'a karşı antifungal aktivite göstermiştir (Şekil 4.28).



Şekil 4.28. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının *C. albicans* ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antifungal zonların grafiksel gösterimi

*C. parapsilosis*'e karşı inhibisyon zonlarına bakıldığında, tüm epidermal mukus ekstraktlarının içerisinde en yüksek aktivite GaAA ekstraktlarında görülmüştür. GaAA ekstraktını takiben DmAA ve RmAA ekstraktları da *C. parapsilosis*'e karşı antifungal aktivite göstermiştir (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Disk difüzyon yöntemine göre, tüm epidermal mukus ekstraktlarının *C. parapsilosis* ile 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan antifungal zonların grafiksel gösterimi

#### 4.3.2. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Analizi Sonuçları

Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizi sonucu MİK bakımından belirlenen değerler Çizelge 4.9'da gösterilmiştir ( $p < 0.05$ ). Genel olarak 100  $\mu$ l (v/v)'nin altında tüm ekstraktlar

mikroorganizmalara karşı antifungal aktivite göstermiştir. En yüksek MİK değeri 9,40 µl (v/v) ile GaAA ekstraktının *C. albicans*'a karşı gösterdiği etki olurken, en düşük MİK değeri 38,05 µl (v/v) ile DmS ekstraktının *C. parapsilosis*'e karşı gösterdiği aktivite olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak DmS ekstraktının *C. parapsilosis*'e karşı antifungal aktivitesi (MİK= 38,05 µl (v/v)) diğer ekstraktlara (DmH, DmAA, DpH, DpS, DpAA, GaH, GaS, GaAA, RmH, RmS, RmAA) göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.9. Spektrofometrik mikrodilüsyon yöntemine göre, 24 saat boyunca *C. albicans* ve *C. parapsilosis* ile ayrı ayrı inkübe edilmiş mukus ekstraktlarının MİK değerleri

Ekstraktlar	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
DmH	15,53 $\pm$ 2,3	9,81 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1
DmS	20,60 $\pm$ 4,06	38,05 $\pm$ 15,2
DmAA	9,57 $\pm$ 0,2	9,77 <sup>a</sup> $\pm$ 0,3
DpH	24,74 $\pm$ 3,8	13,96 <sup>a</sup> $\pm$ 0,6
DpS	27,97 $\pm$ 15,2	15,72 <sup>a</sup> $\pm$ 0,6
DpAA	20,49 $\pm$ 1,9	13,92 <sup>a</sup> $\pm$ 0,4
GaH	21,99 $\pm$ 17,8	16,92 <sup>a</sup> $\pm$ 7,6
GaS	10,86 $\pm$ 0,9	21,39 <sup>a</sup> $\pm$ 7,6
GaAA	9,40 $\pm$ 0,01	9,44 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1
RmH	14,79 $\pm$ 2,5	11,91 $\pm$ 0,6
RmS	19,81 $\pm$ 4,6	13,01 $\pm$ 1,4
RmAA	10,02 $\pm$ 0,2	10,02 <sup>a</sup> $\pm$ 0,2
Flukanozol (µg/ml)	128 $\pm$ 3,5	128 $\pm$ 0,5

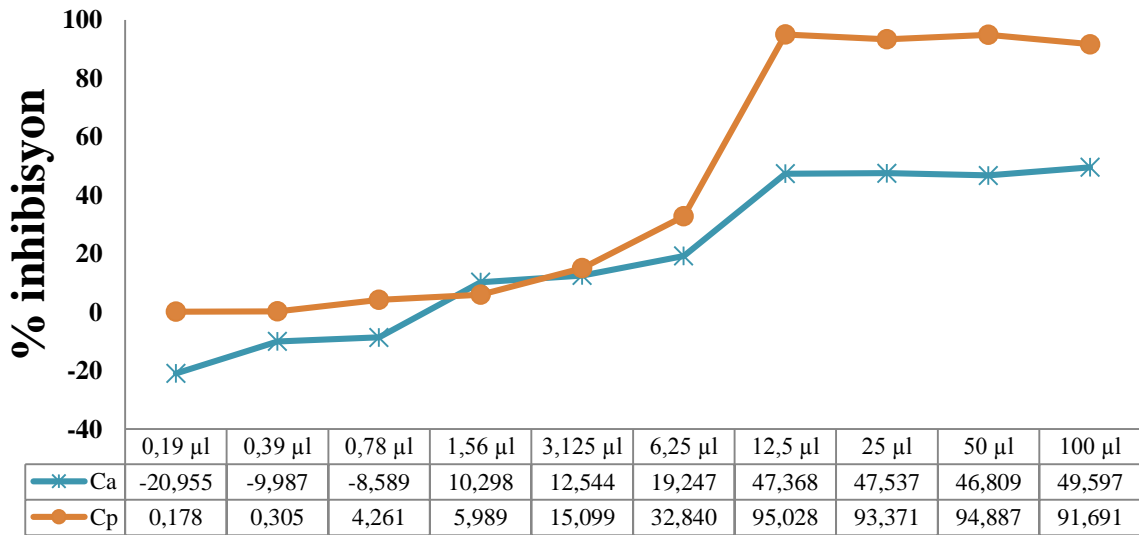
a:DmS ile olan farklılıkları (*C. parapsilosis*) göstermektedir.

*D. marmorata* epidermal mukusunun, ham (DmH), sulu faz (DmS) ve asetik asit (DmAA), *D. pastinaca* epidermal mukusunun ham (DpH), sulu faz (DpS) ve asetik asit (DpAA), *G. altavela* epidermal mukusunun ham (GaH), sulu faz (GaS) ve asetik asit (GaAA) ve *R. miraletus* epidermal mukusunun ham (RmH), sulu faz (RmS) ve asetik asit (RmAA) ekstraktlarının mantar suşlarından *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'e karşı inhibisyon etkileri, genel olarak konsantrasyonları arttıkça artma yönünde eğilim göstermiştir.

### *Dasyatis marmorata* Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

#### *Ham Ekstrakt*

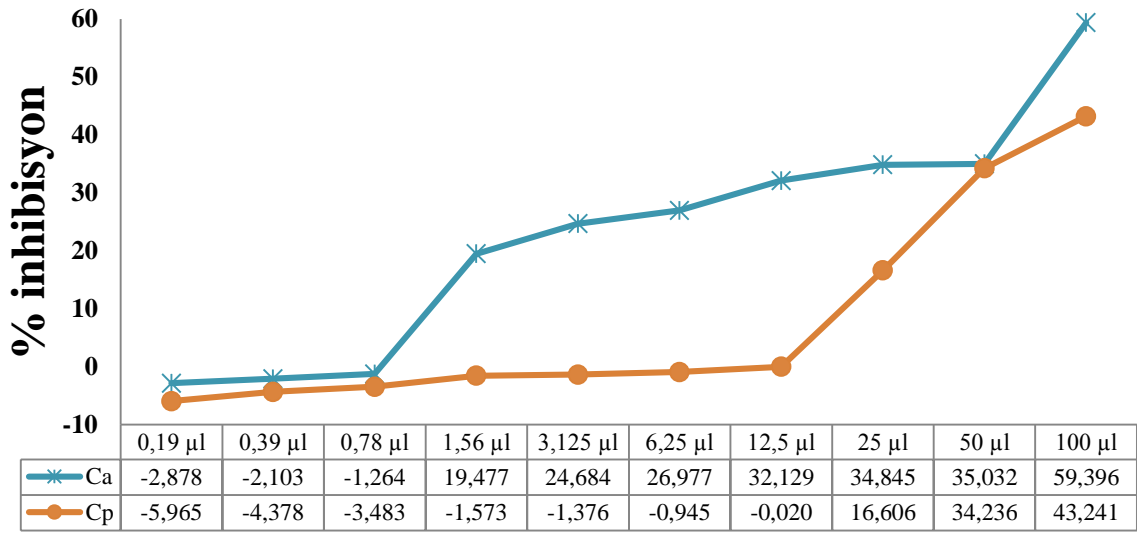
*D. marmorata* epidermal mukusunun ham ekstraktı *C. albicans*'a karşı 1,56 µl'de (% inhibisyon=10,298) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=49,597) ve *C. parapsilosis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=0,178) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 12,5 µl'de (% inhibisyon=95,028) ulaşmıştır (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. *D. marmorata* mukusunun ham ekstraktının (DmH) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### *Sulu Faz Ekstraktı*

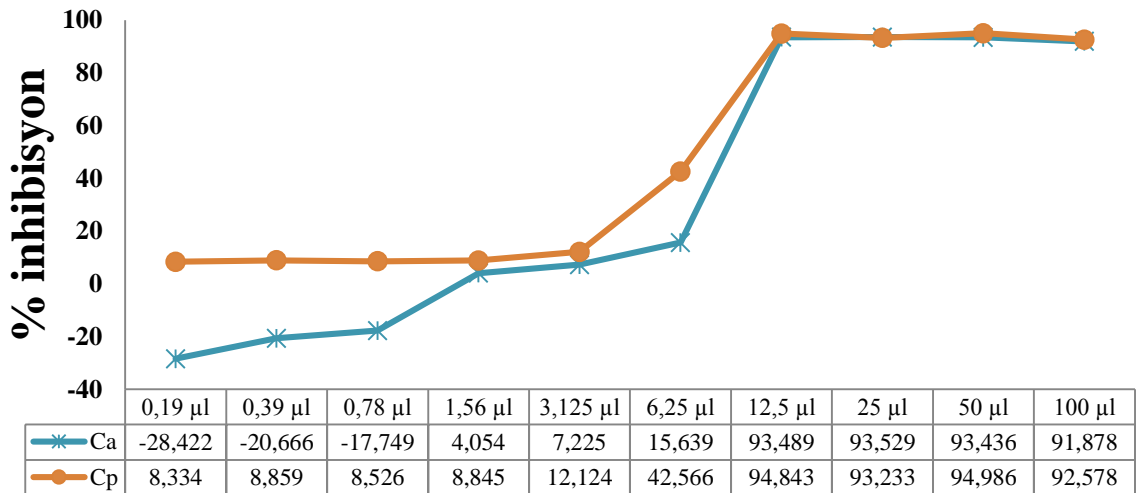
*D. marmorata* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *C. albicans*'a karşı 1,56 µl'de (% inhibisyon=19,477) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=59,396) ve *C. parapsilosis*'e karşı 25 µl'de (% inhibisyon=16,606) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=43,241) ulaşmıştır (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. *D. marmorata* mukusunun sulu faz ekstraktının (DmS) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Asetik Asit Ekstraktı

*D. marmorata* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *C. albicans*'a karşı 1,56 µl'de (% inhibisyon=4,054) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=93,529) ve *C. parapsilosis*'e karşı 0,19 µl'de (% inhibisyon=8,334) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 50 µl'de (% inhibisyon=94,986) ulaşmıştır (Şekil 4.32).

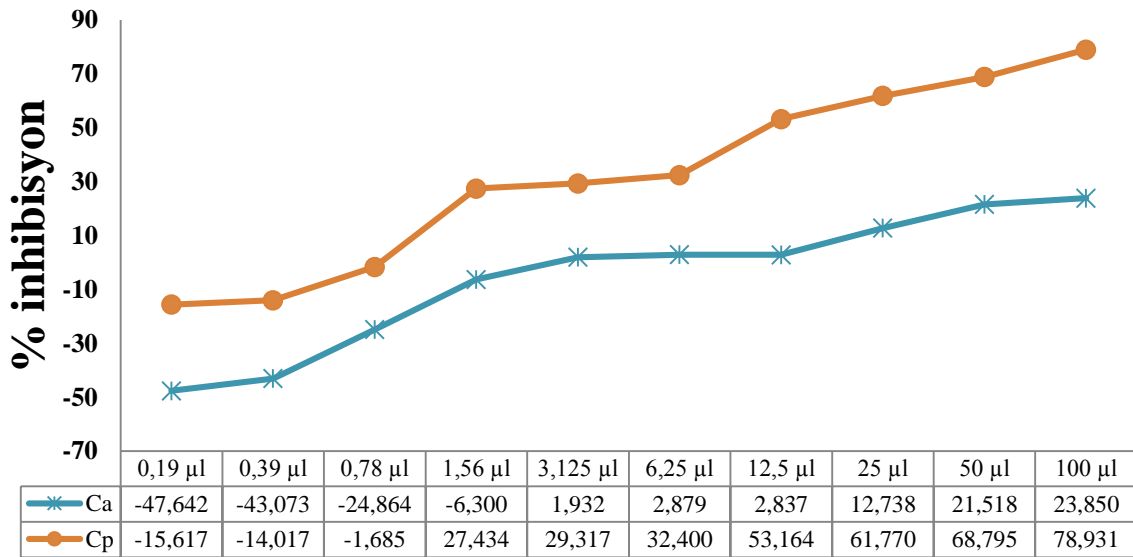


Şekil 4.32. *D. marmorata* mukusunun asetik asit ekstraktının (DmAA) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### *Dasyatis pastinaca* Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

#### *Ham Ekstrakt*

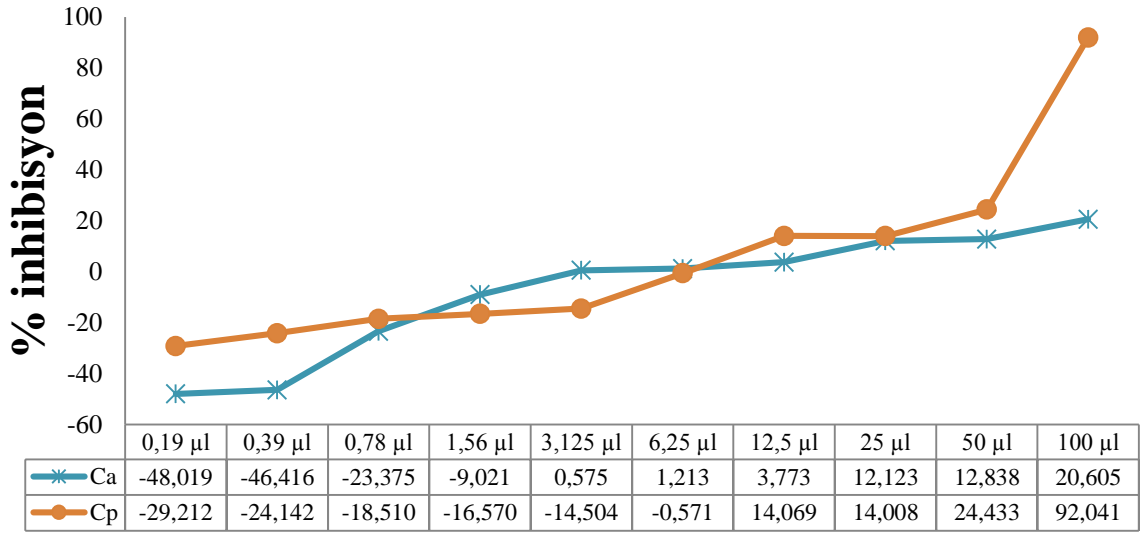
*D. pastinaca* epidermal mukusunun ham ekstraktı *C. albicans*'a karşı 3,125 µl'de (% inhibisyon=1,932) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=23,850) ve *C. parapsilosis*'e karşı 1,56 µl'de (% inhibisyon=27,434) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=78,931) ulaşmıştır (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. *D. pastinaca* mukusunun ham ekstraktının (DpH) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### *Sulu Faz Ekstraktı*

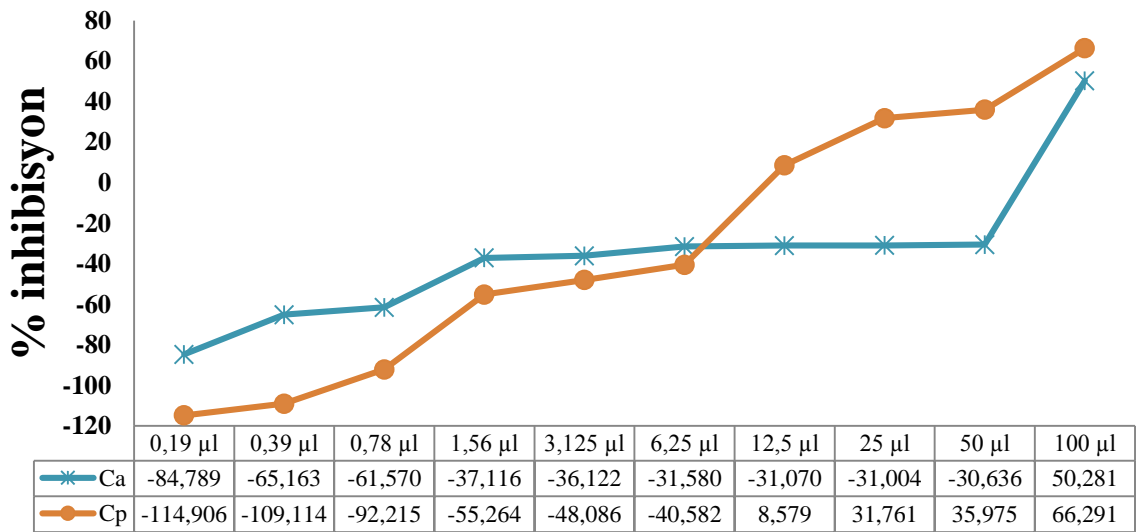
*D. pastinaca* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *C. albicans*'a karşı 3,125 µl'de (% inhibisyon=0,575) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=20,605) ve *C. parapsilosis*'e karşı 12,5 µl'de (% inhibisyon=14,069) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=92,041) ulaşmıştır (Şekil 4.34).



Şekil 4.34. *D. pastinaca* mukusunun sulu faz ekstraktının (DpS) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Asetik Asit Ekstraktı

*D. pastinaca* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *C. parapsilosis*'e karşı 12,5 µl'de (% inhibisyon=8,579) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=66,291) ulaşmıştır. *C. albicans*'a karşı yalnızca 100 µl'de (% inhibisyon=50,281) aktivite göstermiştir (Şekil 4.35).

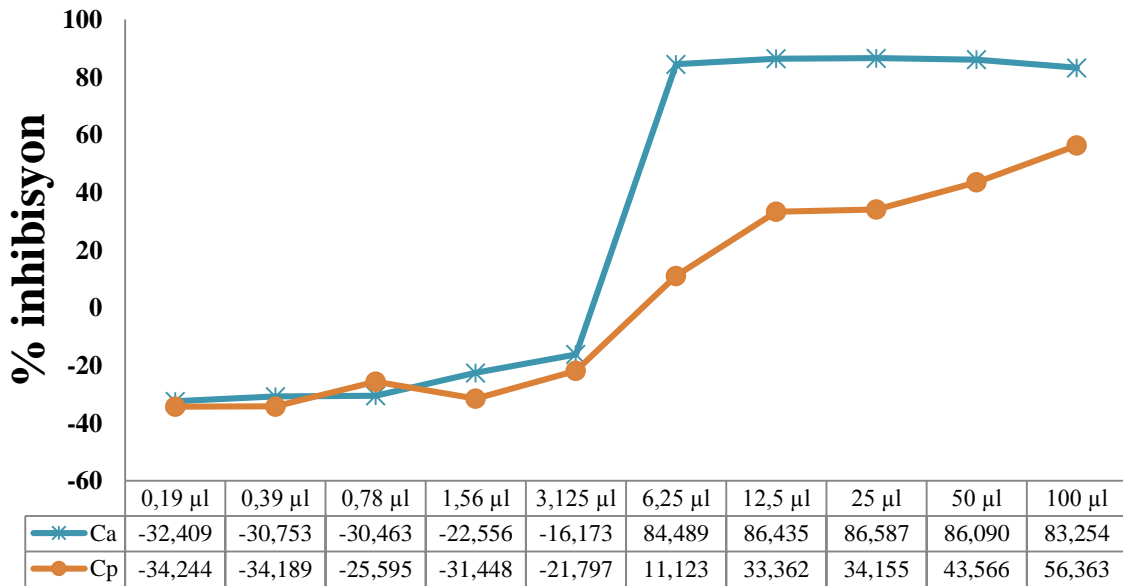


Şekil 4.35. *D. pastinaca* mukusunun asetik asit ekstraktının (DpAA) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

## *Gymnura altavela* Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

### *Ham Ekstrakt*

*G. altavela* epidermal mukusunun ham ekstraktı *C. albicans*'a karşı 6,25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=84,489) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=86,587) ve *C. parapsilosis*'e karşı 6,25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=11,123) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=56,363) ulaşmıştır (Şekil 4.36).

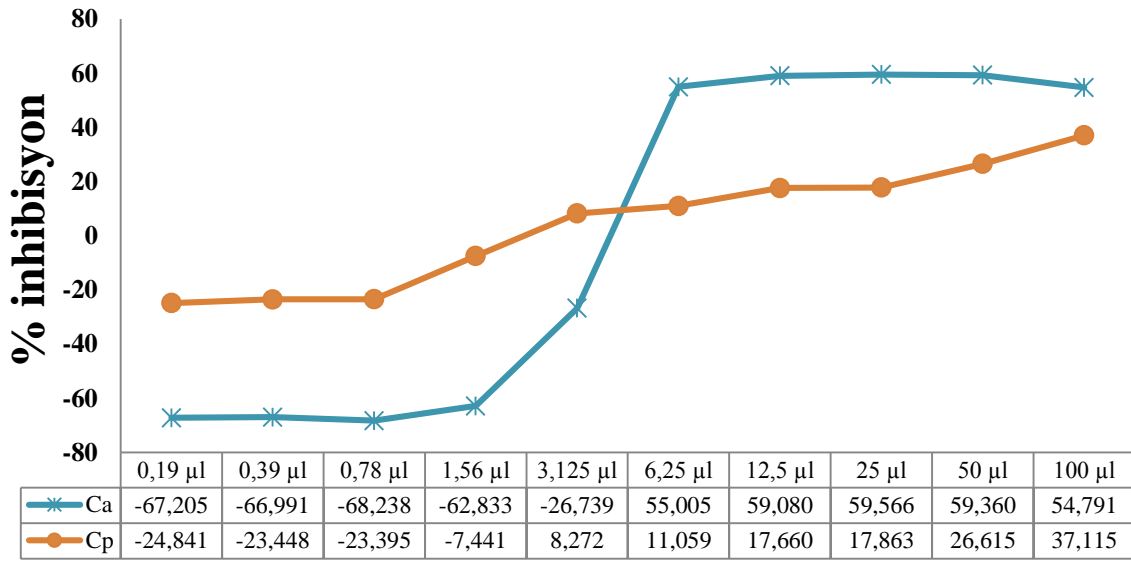


Şekil 4.36. *G. altavela* mukusunun ham ekstraktının (GaH) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### *Sulu Faz Ekstraktı*

*G. altavela* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *C. albicans*'a karşı 6,25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=55,005) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25  $\mu$ l'de (% inhibisyon=59,566) ve *C. parapsilosis*'e karşı 3,125  $\mu$ l'de (% inhibisyon=8,272) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=37,115) ulaşmıştır (Şekil 4.37).

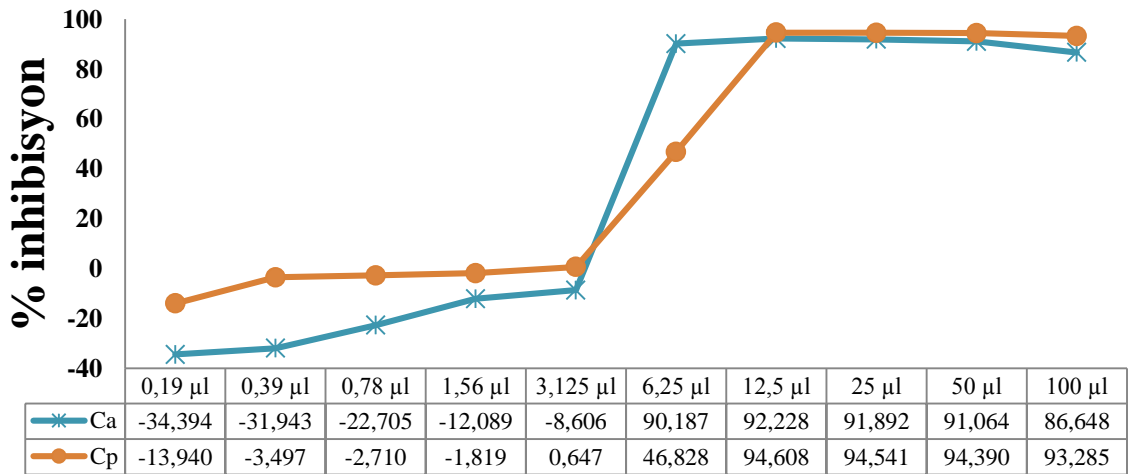




Şekil 4.37. *G. altavela* mukusunun sulu faz ekstraktının (GaS) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Asetik Asit Ekstraktı

*G. altavela* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *C. albicans*'a karşı 6,25 µl'de (% inhibisyon=90,187) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 12,5 µl'de (% inhibisyon=92,228) ve *C. parapsilosis*'e karşı 3,125 µl'de (% inhibisyon=0,647) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 12,5 µl'de (% inhibisyon=94,608) ulaşmıştır (Şekil 4.38).

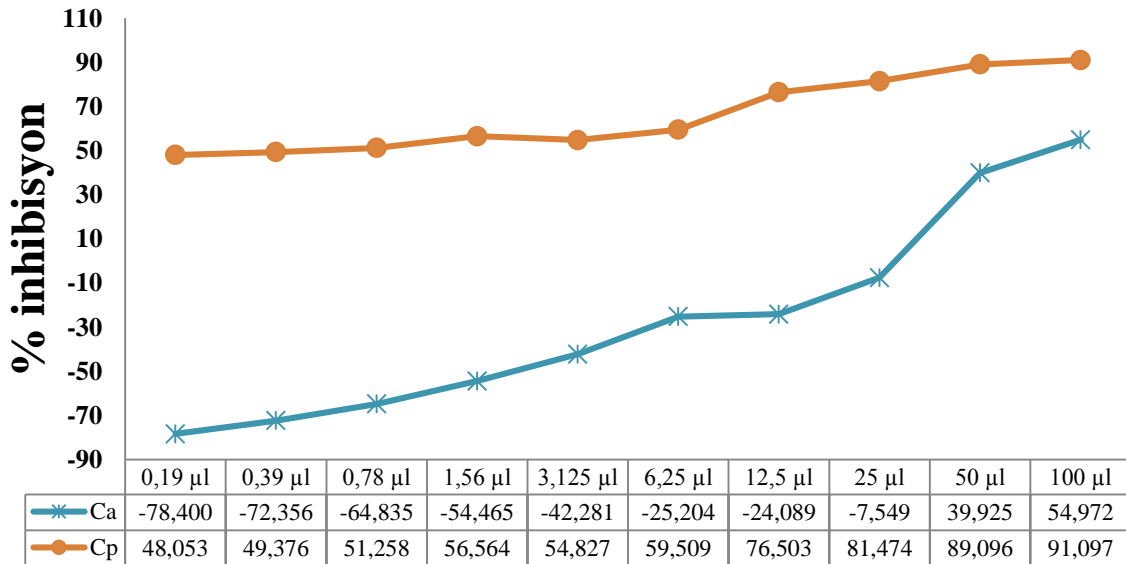


Şekil 4.38. *G. altavela* mukusunun asetik asit ekstraktının (GaAA) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

### Raja miraletus Epidermal Mukus Ekstraktlarının Yüzde İnhibisyon Değerleri

#### Ham Ekstrakt

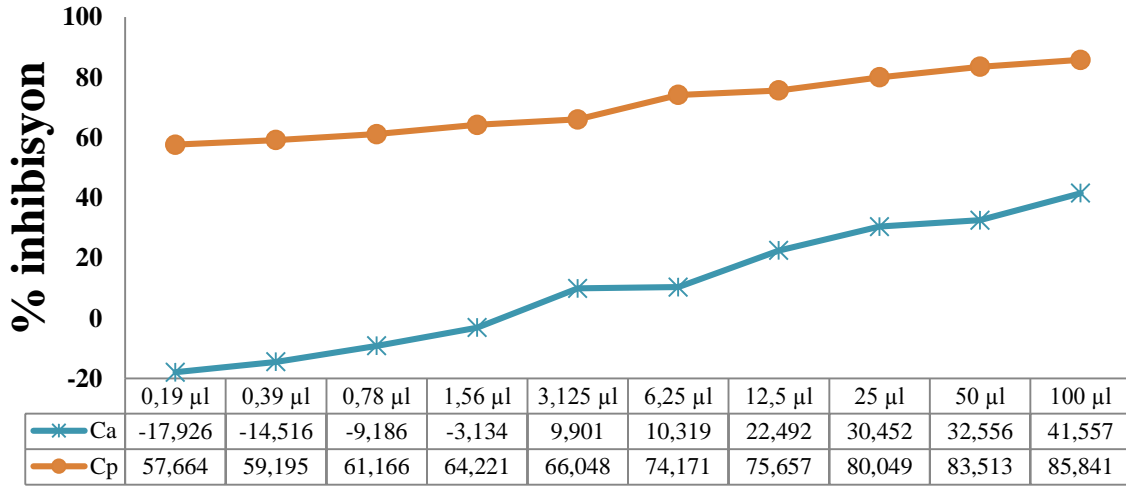
*R. miraletus* epidermal mukusunun ham ekstraktı *C. albicans*'a karşı 50  $\mu$ l'de (% inhibisyon=39,925) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=54,972) ve *C. parapsilosis*'e karşı 0,19  $\mu$ l'de (% inhibisyon=48,053) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=91,097) ulaşmıştır (Şekil 4.39).



Şekil 4.39. *R. miraletus* mukusunun ham ekstraktının (RmH) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Sulu Faz Ekstraktı

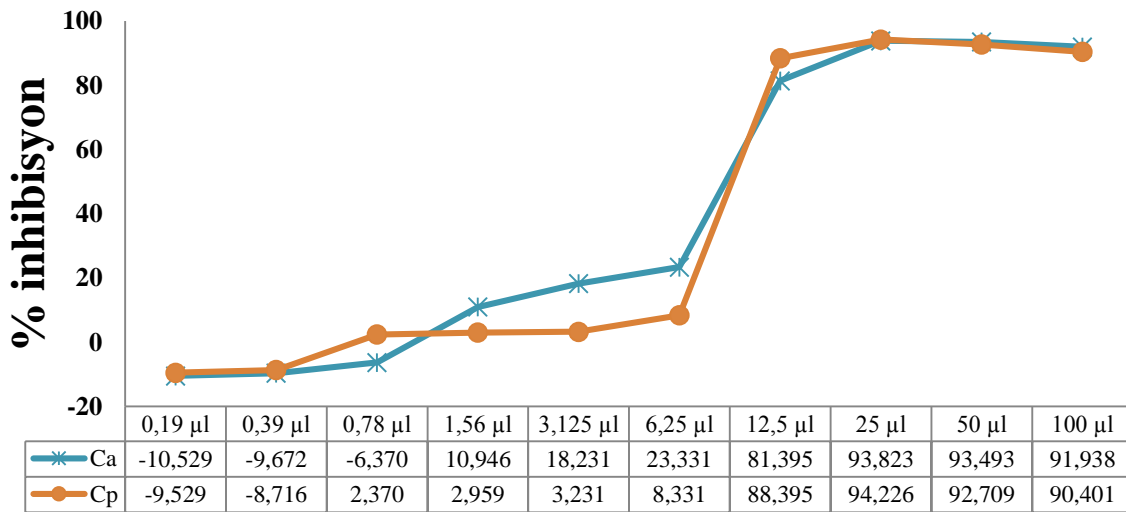
*R. miraletus* epidermal mukusunun sulu faz ekstraktı *C. albicans*'a karşı 3,125  $\mu$ l'de (% inhibisyon=9,901) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=41,557) ve *C. parapsilosis*'e karşı 0,19  $\mu$ l'de (% inhibisyon=57,664) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100  $\mu$ l'de (% inhibisyon=85,841) ulaşmıştır (Şekil 4.40).



Şekil 4.40. *R. miraletus* mukusunun sulu faz ekstraktının (RmS) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### Asetik Asit Ekstraktı

*R. miraletus* epidermal mukusunun asetik asit ekstraktı *C. albicans*'a karşı 1,56 µl'de (% inhibisyon=10,946) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 100 µl'de (% inhibisyon=93,823) ve *C. parapsilosis*'e karşı 0,78 µl'de (% inhibisyon=2,370) aktivite göstermeye başlamış ve en yüksek yüzde inhibisyon oranına 25 µl'de (% inhibisyon=94,226) ulaşmıştır (Şekil 4.41).



Şekil 4.41. *R. miraletus* mukusunun asetik asit ekstraktının (RmAA) *C. albicans* (Ca) ve *C. parapsilosis* (Cp) ile 24 saatlik inkübasyon sonunda doza bağlı antifungal etkisini gösteren % inhibisyon eğrileri

#### 4.4. Antikanserojen Aktivite

*Gymnura altavela* türünden elde edilen epidermal mukusun, A549 hücre hattı üzerindeki antikanserojen aktivitesinin tespit edilebilmesi için, İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Moleküler Ekoloji ve Balıkçılık Genetiği Laboratuvarı'nda homojenize edilip hazırlandıktan sonra Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bir dizi liyofilizasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. MTT analizi ile herhangi bir madde maruziyetine bırakılmamış olan sağlıklı A549 hücre grubunun (kontrol grubu) canlılık oranı %100 kabul edilmiştir. Buna göre, besiyeri içerisinde çözündürülüp MTT analizi için hazır hale getirilen *G. altavela* epidermal mukusuna ait liyofilize örnekler, A549 hücre hatları üzerinde 1000-500-250-125-62,5-31,25 µg/ml'lik dozlarda 24 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Ancak, *G. altavela* epidermal mukus örneğinin farklı dozlarına maruz bırakılan hücrelerde herhangi bir antikanserojen aktivite gözlenmediği için deneylere devam edilememiştir. Böylelikle, *G. altavela* epidermal mukusunun A549 hücre hattı üzerinde herhangi bir antikanserojen aktivitesinin bulunmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

## 5. TARTIŞMA

Tez çalışmasının birinci bölümünde, *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerine ait epidermal mukus örneklerinin Bradford analizi ile toplam protein miktarı, GC/MS analizi ile uçucu bileşikleri belirlenmiştir. HPLC analizi ile *R. miraletus* türünün epidermal mukusunda bulunan  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E) oranı da tespit edilmiştir. İkinci bölümde, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait epidermal mukus örneklerinin gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi tespit edilmiştir. Üçüncü bölümde, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait epidermal mukus örneklerinin mantar suşlarına karşı antifungal aktivitesi ortaya çıkartılmıştır. Dördüncü bölümde ise, *G. altavela* türüne ait mukus örneğinin MTT analizi ile A549 hücre hattı üzerindeki antikanserojen aktiviteleri araştırılmıştır.

### 5.1. Biyokimyasal Yapı

#### 5.1.1. Bradford Analizi

Bradford analizi ile *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* epidermal mukuslarından elde edilen ham ekstraktların protein konsantrasyonları sırasıyla, 4,61, 4,87, 4,89 ve 3,94 mg/ml bulunmuştur. Manivasagan ve diğerleri (2009) çalışmalarında, Hindistan'ın güneydoğu kıyılarından elde ettikleri benekli yayın balığı *Arius maculatus* epidermal mukusunun protein miktarını 12,64  $\mu$ g/g bulmuşlardır. Wei ve diğerleri (2010) Malezya'daki yerel bir balık pazarından örnekleme yaptıkları yılanbaş balığı *Channa striatus*'un ham, sulu faz ve asidik epidermal mukus ekstraktının protein konsantrasyonunu sırasıyla, 0,589, 0,291 ve 0,267 mg/ml olarak bulmuşlardır. Arulvasu ve diğerleri (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada Hindistan'ın Bengal Körfezi kıyılarından elde edilen kedi balığı *Tachysurus dussumieri* türünün ham ve kısmen saflaştırılmış epidermal mukus ekstraktının protein oranları sırasıyla, 0,48 ve 0,82 mg/ml bulunmuştur. Adel ve diğerleri (2015), İran'ın Hazar Gölü kıyılarından topladıkları levkit balığı *Rutilus frisii kutum* türünün epidermal mukusundaki protein düzeyini 1,84 mg/ml bulmuşlardır. Rao ve diğerleri (2015), Malezya'daki yerel bir balık çiftliğinden elde ettikleri yılanbaş balığı türleri *Channa micropeltes*, *C. striatus*, Nil tilapyası *Oreochromis niloticus* ve yayın balığı türü *Mystus*

*nemurus* epidermal mukuslarındaki protein miktarlarını sırasıyla, 0,432, 0,535, 0,579 ve 0,466 mg/ml olarak bulmuşlardır. Al-Rasheed ve diğerleri (2018), Malezya Putra Üniversitesi'nde bulunan Sucul Hayvan Sağlığı Araştırma Merkezi'nden temin ettikleri tatlısu levreği *Anabas testudineus* türünün ham epidermal mukus ekstraktındaki protein miktarını 1,2 mg/ml olarak bulmuşlardır. Mahadevan ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmada, Hindistan'ın güneydoğu kıyılarından topladıkları gobi balığı *Periophthalmodon schlosseri* türünün ham mukus ekstraktındaki toplam protein miktarını 0,66 mg/ml bulmuşlardır. Farklı balık türleri üzerine yapılan çalışmalara kıyasla, elde ettiğimiz sonuçlar bu dört vatoz türünün mukuslarının daha yüksek bir protein konsantrasyonuna sahip olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla bu durum, genel olarak kıkırdaklı balıkların mukusundaki protein oranlarının kemikli balıklara göre oldukça yüksek olduğunu da göstermektedir. Epidermal mukustaki protein içeriği, balıkların çeşitli stres faktörlerine, su kalitesi (çözünmüş O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, amonyak, pH vb.) gibi çeşitli çevresel faktörlere, sucul ortamda kirliliğe neden olan çeşitli maddelere, habitat yapısına ve balık türleri arasındaki farklılıklara bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Subramanian ve diğerleri (2008) balıkların epidermal ve epitel tabakalarındaki mukus üreten hücrelerin özellikle balık türleri arasında farklılıklar gösterebileceğini ve bu nedenle mukusun protein kompozisyonunu etkileyebileceğini belirtmiştir.

### 5.1.2. GC/MS Analizi

GC/MS analizi, çalışmamızdaki her bir vatoz türünden elde edilen epidermal mukusun heksan ekstraktlarının birçok biyoaktif bileşik içerdiğini ortaya çıkarmıştır. *D. marmorata*'nın epidermal mukusunda tespit edilen majör bileşiklerden 2-İzopropil-5-metil-1-heptanol ve alkanlardan Dokosan için antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler oldukları bildirilmiştir (Selvin ve diğerleri, 2009; Geetha, Jayashree ve Rajeswari, 2019). Dayrit (2015) doymuş yağ asidi olan Dodekanoik asitte antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellikler gözlemlemiştir. 2-*tert*-Butil-4-izopropil-5-metilfenolün biyolojik aktivitesi net olarak bilinmemektedir (Sangeetha, Krishnamoorthy, Nakkeeran, Ramakrishnan ve Amirtham, 2015). *D. pastinaca*'nın epidermal mukusunda tespit edilen majör bileşiklerden biyoaktif bileşik Siklononasiloksan için antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktivitelere sahip olduğu belirlenmiştir (Gunasena ve Senarath, 2017). Alkaloid 1H-Purin-6-amin, [(2-florofenil) metil] ve biyoaktif bileşik Oktasiloksan antikanserojen aktiviteye sahip bileşiklerdendir (Subbaiyan, Samyurai, Karthik-Prabu ve Thangapandian, 2014; Marrez,

Sultan ve Embaby, 2017). Oktasiloksan aynı zamanda antimikrobiyal aktivite gösteren bir bileşiktir (Zoué, Bédikou, Gonnety, Faulet ve Niamké, 2012). Biyoaktif bileşik Siklodekasiloksan için antihepatotoksik (Babalola, Ojo ve Oloyede, 2011) ve antimikrobiyal (Ahsan, Chen, Zhao, Irfan ve Wu, 2017) özellikler bildirilmiştir. Flavonoidlerden Lusenin-2’de antihepatotoksik (Al-Olayan ve diğerleri, 2014) ve antimikrobiyal (Basile, Giordano, López-Sáez ve Cobianchi, 1999) aktiviteler belirlenmiştir. Organosiloksanlardan Siklooktiloksan, hacim arttırıcılar, koruyucu kaplamalar, kayganlaştırıcı maddeler, emülgatörler ve yapıştırıcılar gibi çeşitli nesnelere için kullanılmaktadır (Kung, Riofski, Missaghi ve Kung, 2014; Rucker ve Kummerer, 2015). *G. altavela*’nın epidermal mukusunda tespit edilen majör bileşiklerden, alkan 1-Nonen antibakteriyel ve antifungal aktivitelere sahiptir (Giwanon, Thubthimthed, Rerkam ve Sunthorntanasart, 2000). Yine alkan Eikosan’ın antikanserojen ve antimikrobiyal etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Yu ve diğerleri, 2005; Chuah, Okechukwu, Amini ve Teo, 2018). Yukarıda bahsedilen *D. marmorata* epidermal mukusun majör bileşiklerinden 2-izopropil-5-metil-1-heptanol ve Dodekanoik asit, *G. altavela*’nın epidermal mukusunda da benzer şekilde majör bileşik olarak belirlenmiştir. 2-Hidroksi-3-fenil-2H-1-benzopiridin için herhangi bir aktivite rapor edilmemiştir. *R. miraletus*’un epidermal mukusunda tespit edilen politerpen Tetrakosametil antagonistik (Ghebleh ve Naghavi, 2014), antihepatotoksik, antispazmodik ve antiromatizmal (Babalola ve diğerleri, 2011) aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir. Yukarıda bahsedilen *D. pastinaca* epidermal mukusunun majör bileşiklerinden Siklodekasiloksan ve Oktasiloksan, *R. miraletus*’un epidermal mukusunda da bulunmuştur.

GC/MS analizi, çalışmamızdaki dört vatoz türünün epidermal mukusundan elde edilen tüm biyoaktif bileşiklerin hidrokarbon türevi bileşikler olduğunu göstermiştir. *D. pastinaca* ve *R. miraletus* epidermal mukusta tespit edilen Siklononasiloksan, Siklodekasiloksan ve Siklooktiloksan, çoğunlukla çeşitli denizel canlıların dokularında sıklıkla bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlardır (PAH) (Zhang ve diğerleri, 2016). PAH’lar deniz ortamına esas olarak denizcilik faaliyetleri, balast suları, petrol endüstrisi faaliyetleri, belediyelerin sıvı ve katı atıkları vb. yollarla girebilirler (Öztürk, Altuğ, Çardak ve Çiftçi, 2007). Deniz ortamına salınan PAH’lar, askıdaki maddeler ve çökeltiler üzerinde hızla emilme eğilimindedir ve gıda zincirindeki balıklar ve diğer deniz organizmaları tarafından su bazlı bileşiklerden ve kontamine sedimanlardan biyolojik olarak kullanılırlar (Perugini ve diğerleri, 2007). Tez çalışması kapsamında İskenderun Körfezi’nden örneklenen dört vatoz türü tipik olarak sığ kıyı sularının kumlu veya çamurlu yaşam alanlarında kendilerini

çökeltilere gömerek yaşamaktadır. İskenderun Körfezi'nde demir ve çelik, ferrokrom, boya, plastik, gıda, gübre, petrol endüstrisi ve denizcilik gibi yoğun endüstriyel faaliyetler, PAH'lara ve deniz suyundaki diğer hidrokarbon türevlerinin sedimentlere gömülmesine neden olmuştur (Doğun ve Alphan, 2006). Bu nedenle, GC/MS analizi ile dört vatoz türünde saptanan PAH'lar ve hidrokarbon türevleri, bu türlerin habitatlarıyla ilişkilendirilebilir. Elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde, Christy-Shaila ve diğerleri (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada zebra balığı *Danio rerio*'nun mukusundan 18 adet biyokimyasal bileşik elde etmişlerdir ve bunların hepsi hidrokarbon ve PAH'lardan oluşan bileşiklerdir.

### 5.1.3. HPLC Analizi

HPLC analizi ile *R. miraletus* epidermal mukusundaki  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E) oranı 13,78  $\mu\text{g/ml}$  olarak tespit edilmiştir. Balık mukusunda bulunan  $\alpha$ -tokoferol miktarının araştırıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Ancak farklı balık türleri üzerine yapılan çalışmalarda HPLC analizi ile balık mukusunda bulunan çeşitli biyokimyasal bileşenler incelenmiştir. Chong ve diğerleri (2005), Malezya'da bulunan University of Science Araştırma Merkezi'nden temin ettikleri diskus balığı *Symphysodon discus*'un epidermal mukusundaki esansiyel aminoasit kompozisyonunu incelemişlerdir ve HPLC analizi sonucunda arginin (8,28  $\mu\text{g/ml}$ ), histidin (8,12  $\mu\text{g/ml}$ ), izolösin (119,76  $\mu\text{g/ml}$ ), lösin (45,04  $\mu\text{g/ml}$ ), lisin (112,49  $\mu\text{g/ml}$ ) ve treonin (7,53  $\mu\text{g/ml}$ ) olarak bulunmuştur. Landsberg ve diğerleri (2006), Florida'nın kuzey ve güney sahillerinden topladıkları *Pyrodinium bahamense* türü balon balığının HPLC ile mukuslarındaki saksitoksin oranını kuzey sahili örnekleri için 2,407-9,039  $\mu\text{g/ml}$ , güney sahili örnekleri için 6,25-140  $\mu\text{g/ml}$  arasında bulmuşlardır. Eckes ve diğerleri (2008), Avusturalya'nın Lizard Adası mercan resiflerinden topladıkları lapin balığı türleri *Labroides dimidiatus*, *Thalassoma lunare* ve papağan balığı türleri *Chlorurus sordidus*, *Scarus flavipectoralis*, *S. niger*, *S. rivulatus* ve *S. schlegelii* mukuslarındaki mikosporin türevi aminoasitleri (mycosporine-like amino acids, MAAs) HPLC analizi ile incelemişlerdir ve elde edilen mikosporin türevi aminoasitler çeşitli oranlarda Asterina-330 ve Paliten olmuştur. Van der Marel (2012) doktora tezi çalışmasında Wageningen Üniversitesi Araştırma Merkezi'nden topladığı *Cyprinus carpio* türü sazan balığının epidermal mukusundaki fukoz, glukoz/manoz ve asetil nöraminik asit/galaktoz monosakkaritlerinin oranlarını HPLC ile analiz etmiştir ve fukoz %68, glukoz/manoz %19,6 ve asetil nöraminik asit/galaktoz ise %12 oranında bulunmuştur. Uthayakumar ve diğerleri



(2012), Hindistan'daki Kaveri Nehri'nden topladıkları *Mastacembelus armatus* türü yılan balığının HLPC analizi ile epidermal mukusunda bulunan aminoasit miktarlarını araştırdıkları çalışmalarında; lösin (%8,54), glutamik asit (%6,87), sistein (%0,20), histidin (%0,4), izolösin (%6,92) ve tirozin (%0,72) oranında bulunmuştur. Manikantan ve diğerleri (2016), Hindistan'ın Parangipettai sahillerinden örnekleme yaptıkları kaya balığı *Epinephelus tauvina*'nın HPLC ile mukusundaki aminoasit kompozisyonunu; arginin (133,9 nmol/ml), glutamik asit (73,5 nmol/ml), glisin (5,3 nmol/ml) ve lisin (6,5 nmol/ml) olarak bulmuşlardır. Lirio ve diğerleri (2019) Filipinler'de bulunan Laguna Gölü'nden örneklemedikleri kedi balığı *Clarias batrachus* türünün epidermal mukusundaki lizozim ve pleurosidin konsantrasyonlarını HPLC analizi sonucunda sırasıyla, 40,245 ve 13,83 µg/ml olarak bulmuşlardır.

## 5.2. Antibakteriyel Aktivite

Çalışmada, gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, gram pozitif bakteri suşlarından *Bacillus subtilis* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı, *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* epidermal mukuslarının farklı derecelerde antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, en iyi antibakteriyel aktivite *D. marmorata* ve *G. altavela* mukuslarının asetik asit ekstraktlarında (DmAA ve GaAA) görülmüştür.

Disk difüzyon analizi bulgularına göre, çalışmamızda analiz edilen epidermal mukus örneklerine ait ham ekstraktlar (DmH, DpH, GaH ve RmH) kullanılan tüm patojen bakterilere karşı farklı oranlarda inhibisyon zonu oluşturmuştur. Ravi ve diğerleri (2010), *E. coli*'ye karşı, Hindistan'daki Vellar Nehri'nden avlanan mavi benekli gobi balığı *Boleophthalmus boddarti*'nin ham mukus ekstraktının inhibisyon zonu oluşturmadığını ve bundan dolayı antibakteriyel aktivite elde edilemediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Wei ve diğerleri (2010), Malezya'nın yerel balık pazarından temin ettikleri yılanbaş balığı *Channa striatus*'un ham mukus ekstraktında *B. subtilis* ve *K. pneumoniae*'ye karşı hiçbir antibakteriyel etki bulamamışlardır. Ancak Ravi ve diğerleri (2010), çalışmalarında test ettikleri bir diğer patojen olan *K. pneumoniae*'ye karşı ham mukus ekstraktının oluşturduğu inhibisyon zon çapını 4,9 mm bulmuş olup, çalışmamızla kıyaslandığında ham

ekstraktlarımızın *K. pneumoniae*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı değerlerinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda analiz edilen sulu faz ekstraktları (DmS, DpS, GaS ve RmS), test edilen tüm patojen bakterilere karşı farklı oranlarda inhibisyon zonu oluşturmuştur. Hellio ve diğerleri (2002) tarafından yapılan çalışmada, Fransa'nın Bretonya sahillerinden topladıkları mığrı *Conger conger*, morina balığı türlerinden *Trisopterus luscus*, *Pollachius pollachius*, *Pollachius virens*, *Gadus morhua*, istavrit *Trachurus trachurus*, uskumru *Scomber scombrus*, lapin *Labrus bergylta*, fener balığı *Lophius piscatorius*, çivisiz kalkan balığı *Scophthalmus rhombus*, pisi balığı türlerinden *Platichthys flesus* ve *P. platessa* ve dil balığı *Solea solea* mukuslarının sulu faz ekstraktlarının *B. subtilis*, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı ve dolayısıyla antibakteriyel aktivite bulunmadığı belirlenmiştir. Wei ve diğerleri (2010), yılanbaş balığı *Channa striatus* mukusundan elde ettikleri bir diğer ekstrakt olan sulu faz ekstraktlarının *B. subtilis* ve *K. pneumoniae* üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadığını ve bu yüzden antibakteriyel aktivite göstermediğini bildirmişlerdir. Kumari ve diğerleri (2011) tarafından yapılan çalışmada, Hindistan'ın Ganj Nehri'nden toplanan yayın balığı *Rita rita* ve benekli yılanbaş balığı *Channa punctatus* mukuslarının sulu faz ekstraktlarının *E. coli*'ye karşı inhibisyon zonu oluşturmayarak hiçbir antibakteriyel etki sergilemediği tespit edilmiştir. Vennila ve diğerleri (2011), Hindistan'ın Portonovo sahillerinden örnekledikleri vatoz türleri *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi* mukuslarının sulu faz ekstraktlarında *K. pneumoniae* ve *E. coli*'ye karşı inhibisyon zonu oluşmadığından dolayı hiçbir antibakteriyel etki gözlemlenmemişlerdir. Hellio ve diğerleri (2002), Wei ve diğerleri (2010) ve Vennila ve diğerleri (2011) tarafından yapılan çalışmaların aksine, çalışmamızda kullanılan sulu faz ekstraktlarının, test edilen tüm patojen bakterilere karşı inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Öte yandan, Kuppulakshmi ve diğerleri (2008), benekli yılanbaş *Channa punctatus* ve beyaz sazan *Cirrhinus mrigala*'nın epidermal mukuslarından elde edilen sulu faz ekstraktlarının *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir ve *Channa punctatus* mukus ekstraktı için inhibisyon zon çapını sırasıyla 11 mm ve 18 mm, *Cirrhinus mrigala* mukus ekstraktı için ise inhibisyon zon çapını sırasıyla 13 mm ve 11 mm olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda, sulu faz ekstraktlarının *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı değerleri, Kuppulakshmi ve diğerleri (2008) tarafından belirtilen sonuçlara göre düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda analiz edilen asetik asit ekstraktları (DmAA, DpAA, GaAA ve RmAA), diğer tüm ekstraktlarda olduğu gibi yine çalışmamızda test edilen tüm patojen bakterilere karşı farklı oranlarda inhibisyon zonu oluşturmuştur. Kumari ve diğerleri (2011), çalışmalarında analiz ettikleri *R. rita* ve *C. punctatus* mukuslarının diğer bir ekstraktı olan asidik mukus ekstraktlarının da *E. coli* üzerinde hiçbir inhibisyon zonu oluşturmadığı için herhangi bir antibakteriyel aktivite gözlemlenmediğini bildirmişlerdir. Ancak diğer yandan, Manivasagan ve diğerleri (2009) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Hindistan'ın güneydoğu kıyılarından toplanan benekli kedi balığı *Arius maculatus* asidik mukus ekstraktının 10 mm'lik bir inhibisyon zon çapı ile *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir. Vennila ve diğerleri (2011), çalışmalarında kullandığı *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi*'nin bir diğer ekstraktı olan asidik mukus ekstraktlarının *K. pneumoniae* ve *E. coli* karşı inhibisyon zon çapını *D. pastinaca* için sırasıyla, 9,21 mm ve 13,06 mm; *H. gerrardi* için sırasıyla, 11,01 mm ve 15,54 mm olarak bulmuşlardır. Lirio ve diğerleri (2019), Filipinler'deki Laguna Gölü'nden topladıkları Nil tilapyası *Oreochromis niloticus*, kedi balığı *Clarias batrachus* ve çizgili yılanbaşı balığı *Channa striata*'nın asidik mukus ekstraktlarının *K. pneumoniae*, *E. faecalis* ve *E. coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zon çaplarını sırasıyla, *O. niloticus* için, 18,28 mm, 16,29 mm ve 13,74 mm; *C. batrachus* için, 17,81 mm 16,20 mm ve 15,36 mm; *C. striata* için 17,46 mm, 15,97 mm ve 14,84 mm olarak bulmuşlardır. Manivasagan ve diğerleri (2009), Vennila ve diğerleri (2011) ve Lirio ve diğerleri (2019) tarafından yapılan çalışmalarla kıyaslandığında, tüm asidik mukus ekstraktlarımızın *K. pneumoniae*, *E. faecalis* ve *E. coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı değerleri düşük olduğu sonucu ortaya çıkmıştır.

Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizi bulgularına göre ise, çalışmamızda analiz edilen epidermal mukus örneklerine ait ham ekstraktlar (DmH, DpH, GaH ve RmH) ve sulu faz ekstraktları (DmS, DpS, GaS ve RmS) test edilen tüm patojen bakterilerde farklı oranlarda MİK değeri oluşturmuştur. Hellio ve diğerleri (2002), Fransa'nın Bretonya sahillerinden topladıkları mığrı *Conger conger*, morina balığı türlerinden *Trisopterus luscus*, *Pollachius pollachius*, *Pollachius virens*, *Gadus morhua*, istavrit *Trachurus trachurus*, uskumru *Scomber scombrus*, lapin *Labrus bergylta*, fener balığı *Lophius piscatorius*, çivisiz kalkan balığı *Scophthalmus rhombus*, pisi balığı türlerinden *Platichthys flesus* ve *P. platessa* ve dil balığı *Solea solea* mukuslarının ham ve sulu faz ekstraktlarının *B. subtilis*, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı MİK oluşturmadığını ve dolayısıyla bu 13 balık türünün mukuslarında bu patojenlere karşı antibakteriyel aktivite tespit edilemediğini bildirmişlerdir.

Benzer şekilde Wei ve diğeri (2010), Malezya'daki yerel bir balık pazarından temin ettikleri yılanbaş balığı *Channa striatus* mukusunun ham ve sulu faz ekstraktlarında *B. subtilis* ve *K. pneumoniae*'ye karşı MİK oluşmadığından dolayı antibakteriyel etki belirleyememişlerdir.

Çalışmamızda analiz edilen asetik asit ekstraktları da (DmAA, DpAA, GaAA ve RmAA), test edilen tüm patojen bakterilerde yine farklı oranlarda MİK değeri oluşturmuştur. Subramanian ve diğeri (2008), Kanada'da bulunan Fraser Nehri'nden topladıkları kaynak alabalığı *Salvelinus fontinalis* ve yine Kanada'da bulunan Institute for Marine Biosciences'ten temin ettikleri mezgit *Melanogrammus aeglefinus* türlerinin asidik mukus ekstraktlarının *E. coli*'ye karşı MİK değerlerini sırasıyla, 19 µg/ml ve 14 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Vennila ve diğeri (2011) yaptıkları çalışmada, Hindistan'ın Portonovo sahillerinden örnekledikleri vatoz türleri *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi* mukuslarının asidik ekstraktlarında *K. pneumoniae* ve *E. coli*'ye karşı MİK değerlerini *D. pastinaca* için sırasıyla, 48,54 µg/ml ve 32,34 µg/ml olarak; *H. gerrardi* için ise sırasıyla, 40,02 µg/ml ve 16,04 µg/ml olarak bulmuşlardır. Rao ve diğeri (2015), Malezya'daki bir balık çiftliğinden temin ettikleri Nil tilapyası *Oreochromis niloticus* ve yayın balığı türü *Mystus nemurus* mukuslarının asidik ekstraktlarının *E. coli*, *B. subtilis* ve *K. pneumoniae* karşı oluşturduğu MİK değerlerini *O. niloticus* için sırasıyla, 15,96 µg/ml, 31,91 µg/ml ve 15,96 µg/ml; *M. nemurus* için ise sırasıyla, 23,91 µg/ml, 23,91 µg/ml ve 11,96 µg/ml olarak bulmuşlardır. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar Subramanian ve diğeri (2008), Vennila ve diğeri (2011) ve Rao ve diğeri (2015) ile karşılaştırıldığında, GaAA, DmAA, RmAA ve DpAA ekstraktları MİK değeri bakımından *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *B. subtilis*'e karşı daha güçlü bir antibakteriyel aktivite sergilediği görülmüştür. Diğer yandan, Subramanian ve diğeri (2008), çalışmalarında analiz ettikleri diğer bir tür olan Atlantik asalak balığı *Myxine glutinosa* mukusunun asidik ekstraktlarında *E. coli*'ye karşı 6,1 µg/ml'lik bir MİK değeri ile antibakteriyel etki elde etmişlerdir. Wei ve diğeri (2010), çalışmalarında kullandıkları diğer bir ekstrakt olan *Channa striatus*'un asidik ekstraktının *B. subtilis* ve *K. pneumoniae*'ye karşı, her iki bakteri için de 0,066 µg/ml oranında bir MİK değeriyle, güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Conceição ve diğeri (2012), Brezilya'da bulunan Manuel Alves Nehri'nden temin ettikleri vatoz türü *Potamotrygon cf. henlei* mukusunun asidik ekstraktında *E. coli*'ye karşı 12 µM'lık MİK değeriyle kuvvetli bir antibakteriyel etki gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda, asidik ekstraktlarımızdan tespit ettiğimiz MİK değerleri, Subramanian ve diğeri (2008),

Wei ve diğeri (2010) ve Conceição ve diğeri (2012)'ye kıyasla düşük olduğu görülmektedir.

Genel olarak çalışmamızda, mukus ekstraktlarının tüm patojenler üzerinde farklı derecelerde antibakteriyel etkilere sahip oldukları gözlemlenmiştir. Çalışmada analiz edilen epidermal mukus ekstraktlarının antibakteriyel etkilerindeki farklılıkların, balık türleri ve kullanılan ekstraksiyon metotları arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Balıkların epidermal ve epitel bölümlerinde mukus içeren hücrelerin tür içi ve/veya türler arasında değişkenlik gösterdiği ve böylece mukusun biyoaktif bileşiklerinin bundan etkilenebileceği Shephard (1993) tarafından da bildirilmiştir. Bununla beraber, Blackstock ve Pickering (1982), mukus bileşiklerinin tuzluluk, pH, stres faktörü ve büyüme ve olgunluk aşamaları gibi ekolojik ve fizyolojik koşullar nedeniyle de değişebileceğini öne sürmüşlerdir. Öte yandan, epidermal mukusların inhibitör fonksiyonlarındaki farklılığın, bakteri çeşitliliğine göre de değişebileceği Pickering (1974), Shephard (1993), Shephard (1994) ve Subramanian ve diğeri (2008) tarafından ortaya konmuştur. Hatta Blackstock ve Pickering (1982) ve Caruso ve diğeri (2011) tarafından ekstraksiyon aşamasında kullanılan laboratuvar protokollerindeki veya numune saklama koşullarındaki farklılıklardan da kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

### 5.3. Antifungal Aktivite

Çalışmada, mantar suşlarından *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis*'e karşı, *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* epidermal mukuslarının farklı derecelerde antifungal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, en iyi antifungal aktivite yine *D. marmorata* ve *G. altavela* mukuslarının asetik asit ekstraktlarında (DmAA ve GaAA) görülmüştür.

Disk difüzyon analizi bulgularına göre, çalışmamızda analiz edilen sulu faz ekstraktları (DmS, DpS, GaS ve RmS), tüm patojen mantarlara karşı farklı oranlarda inhibisyon zonu oluşturmuştur. Hellio ve diğeri (2002), Fransa'nın Bretonya sahillerinden örneklemesini yaptıkları mığrı *Conger conger*, morina balığı türlerinden *Trisopterus luscus*, *Pollachius pollachius*, *Pollachius virens*, *Gadus morhua*, istavrit *Trachurus trachurus*, uskumru *Scomber scombrus*, lapin *Labrus bergylta*, fener balığı *Lophius piscatorius*, çivisiz kalkan balığı *Scophthalmus rhombus*, pisi balığı türlerinden *Platichthys flesus* ve *P. platessa* ve dil

balığı *Solea solea* mukuslarının sulu faz ekstraktlarının *C. albicans*'a karşı inhibisyon zonu oluşturmadığını ve dolayısıyla antifungal aktivite tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Vennila ve diğerleri (2011) tarafından yapılan çalışmada, Hindistan'ın Portonovo sahillerinden toplanan vatoz türleri *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi* mukuslarının sulu faz ekstraktlarında *C. albicans*'a karşı inhibisyon zonu oluşmadığından dolayı hiçbir antifungal etki gözlemlenmediği bildirilmiştir. Hellio ve diğerleri (2002) ve Vennila ve diğerleri (2011) tarafından yapılan çalışmaların aksine, çalışmamızda analiz edilen sulu faz ekstraktlarının, test edilen tüm patojen mantarlara karşı inhibisyon zonu oluşturarak antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda analiz edilen asetik asit ekstraktları (DmAA, DpAA, GaAA ve RmAA), test edilen mantar patojenlerine karşı farklı oranlarda inhibisyon zonu sergilemiştir. Vennila ve diğerleri (2011), *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi*'nin asidik mukus ekstraktlarının *C. albicans*'a karşı inhibisyon zon çaplarını sırasıyla, 11,78 mm ve 12,78 mm olarak bulmuşlardır. Çalışmamızla kıyaslandığında, tüm asidik mukus ekstraktlarımızın *C. albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı değerleri düşük bulunmuştur.

Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizi bulgularına göre ise, çalışmamızda analiz edilen epidermal mukus örneklerine ait ham ekstraktlarda (DmH, DpH, GaH ve RmH) test edilen mantar patojenlerine karşı değişik oranlarda MİK değerleri belirlenmiştir. Hellio ve diğerleri (2002), Fransa'nın Bretonya sahillerinden topladıkları miğri *Conger conger*, morina balığı türlerinden *Trisopterus luscus*, *Pollachius pollachius*, *Pollachius virens*, *Gadus morhua*, istavrit *Trachurus trachurus*, uskumru *Scomber scombrus*, lapin *Labrus bergylta*, fener balığı *Lophius piscatorius*, çivisiz kalkan balığı *Scophthalmus rhombus*, pisi balığı türlerinden *Platichthys flesus* ve *P. platessa* ve dil balığı *Solea solea* mukuslarının ham ekstraktlarında *C. albicans*'a karşı MİK oluşmadığı için antifungal aktivite tespit edememişlerdir. Öte yandan, Fuochi ve diğerleri (2017), İtalya'nın Avola sahillerinden topladıkları dikenli vatoz *Dasyatis pastinaca*'nın ham mukus ekstraktının *C. albicans*'a karşı 4,12 µg/ml MİK değeri gösterdiğini bulmuşlardır. Buna göre, çalışmamızdaki ham mukus ekstraktlarımızda belirlediğimiz MİK değerlerinin Fuochi ve diğerleri (2017)'nin tespit ettiği MİK değerinden daha düşük olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda analiz edilen asetik asit ekstraktlarında da (DmAA, DpAA, GaAA ve RmAA), test edilen patojen mantarlara karşı değişik miktarlarda MİK değerleri tespit

edilmiştir. Subramanian ve diğerleri (2008), Kanada'da bulunan Fraser Nehri'nden topladıkları kaynak alabalığı *Salvelinus fontinalis* ve yine Kanada'da bulunan Institute for Marine Biosciences'ten temin ettikleri mezgit *Melanogrammus aeglefinus* türlerinin asidik mukus ekstraktlarının *C. albicans*'a karşı MİK değerlerini 136,5 µg/ml ve 192,5 µg/ml olarak bulmuşlardır. Vennila ve diğerleri (2011) tarafından yapılan çalışmada, Hindistan'ın Portonovo sahillerinden örneklenen vatoz türleri *Dasyatis pastinaca* ve *Himantura gerrardi* türlerine ait asidik mukus ekstraktlarının *C. albicans*'a karşı MİK değerleri sırasıyla, 40,13 µg/ml ve 40,36 µg/ml olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında, analiz ettiğimiz asidik ekstraktların *C. albicans*'a karşı daha güçlü bir antifungal aktivite gösterdiği görülmüştür.

Çalışmamızda test edilen mantar patojenleri üzerinde epidermal mukus ekstraktlarımız farklı derecelerde antifungal aktivite göstermiştir. Analiz ettiğimiz epidermal mukus ekstraktlarının antifungal etkilerindeki farklılıklar, salgılanan mukusun biyokimyasal yapısından kaynaklanabilir. Shephard (1993), balıkların epidermal ve epitel bölümlerinde mukus içeren hücrelerin balık türleri arasında değişkenlik gösterdiğini ve böylece mukusun biyoaktif bileşiklerinin de bundan etkilenebileceğini bildirmiştir. Bununla beraber, Blackstock ve Pickering (1982) tarafından, mukus bileşiklerinin tuzluluk, pH, stres faktörü ve büyüme ve olgunluk aşamaları gibi ekolojik ve fizyolojik koşullar nedeniyle değişebileceği bildirilmiştir. Epidermal mukusun çeşitli ekstraksiyonlarına ait antifungal aktivite arasındaki farklılıklar, mantar suşları arasındaki çeşitlilikten (Pickering, 1974; Shephard, 1993; Shephard, 1994 ve Subramanian ve diğerleri, 2008) ve ekstraksiyon işlemlerinin gerçekleştirildiği esnada uygulanan laboratuvar protokollerinden (Blackstock ve Pickering, 1982) de kaynaklanabilmektedir.

#### **5.4. Antikanserojen Aktivite**

Çalışmada, *Gymnura altavela* türünden elde edilen epidermal mukus ekstraktı, maruz bırakıldığı A549 hücre hattı üzerinde hiçbir dozda antikanserojen aktivite gösterememiştir. Balık mukusunun çeşitli kanser hücre hatları üzerindeki antikanserojen aktivitesinin araştırıldığı benzer çalışmalar literatürde bulunmaktadır (Lin ve diğerleri, 2009; Arulvasu ve diğerleri, 2012; Kwak ve diğerleri, 2015; Balasubramanian ve diğerleri, 2016; Raja ve diğerleri, 2020). Lin ve diğerleri (2009), turuncu benekli kaya balığı *Epinephelus coioides* epidermal mukusunda tanımlanan antimikrobiyal peptid Epinecidin-1'in akciğer kanseri

(A549), hepatoselüler karsinom (HA59T/VGH), rahim ağzı kanseri (HeLa), karaciğer kanseri (HepG2), yumuşak doku kanseri (HT1080) ve lösemi (U937) hücre hatlarına karşı antikanserojen aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda Epinecidin-1, araştırılan tüm kanser hücre hatları üzerinde 2,5 µg/ml'lik dozdan sonra antikanserojen aktivite göstermiştir. Arulvasu ve diğerleri (2012), Hindistan'ın Bengal Körfezi kıyılarından topladıkları *Tachysurus dussumieri* türü kedi balığının ham ve kısmen saflaştırılmış epidermal mukus ekstraktlarının A549 hücre hattı üzerindeki antikanserojen aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında, ham ve kısmen saflaştırılmış mukus ekstraktları için IC<sub>50</sub> (hücrelerin %50'sini öldüren maksimum konsantrasyon) değerini sırasıyla, 5 mg/ml ve 3 mg/ml bularak güçlü bir antikanser aktivite bulunduğu sonucuna varmışlardır. Kwak ve diğerleri (2015), Kore'de ticari olarak temin edilen Japon yılan balığı *Anguilla japonica* epidermal mukusunun antikanserojen etkilerini lösemi hücre hattı (K562) üzerinde incelemişlerdir. Mukus örnekleri liyofilize edilip, bir dizi homojenizasyon işleminden geçirildikten sonra edilerek analize hazır hale getirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda *A. japonica* mukus ekstraktının 30 µg/ml'lik konsantrasyonu hücrelerin %5,9'unu, 50 µg/ml'lik konsantrasyonu hücrelerin %14,9'unu ve 100 µg/ml'lik konsantrasyonu ise hücrelerin %39'unu inhibe ederek antikanserojen aktivite sergilemiştir. Balasubramanian ve diğerleri (2016), Hindistan'ın Kollidam Nehri'nden topladıkları kefal balığı *Mugil cephalus* ham epidermal mukus ekstraktının gırtlak kanseri hücre hattı (HEP-2) üzerindeki antikanserojen etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml ve 62,5 µg/ml konsantrasyonlarında hücrelerin ölüm yüzdelerini sırasıyla, %86,33, %80,92, %74,44, %70,19 ve %64,46 olarak bulmuşlardır. Raja ve diğerleri (2020), Hindistan'ın güney sahillerinden örneklemesini yaptıkları kedi balığı *Tachysurus dussumieri* ham mukus ekstraktının kolon kanseri hücre hattına (HT 29) karşı antikanserojen aktivitesini analiz ettikleri çalışmalarında, ham mukus ekstraktının HT 29'a karşı IC<sub>50</sub> değerini 400 µg/ml olarak bulmuşlardır. Kullandığımız ekstraksiyon tekniğine benzer tekniklerle elde edilen yukarıda bahsedilen çalışmalardaki mukus ekstraktları, kanser hücre hatlarına karşı farklı oranlarda antikanserojen aktivite göstermiştir. Ancak çalışmamızda, *G. altavela* mukus ekstraktı benzer başarıyı gösterememiştir. Bunun muhtemel sebebinin, epidermal mukus örneğinin analize hazır hale getirilmesi için Flik ve diğerleri (1984)'e göre uygulanan ekstraksiyon işlemindeki başarısızlık olduğu düşünülmektedir.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

### 6.1. Biyomedikal Potansiyel

Balık mukusundan elde edilen biyomateryallerin endüstriyel ve medikal alanlarda kullanımının birlikte ele alındığı herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Tez çalışmasında, İskenderun Körfezi'nde gerçekleştirilen ticari trol ve uzatma ağı operasyonları sonucu elde edilen *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* türlerine ait epidermal mukus örneklerinin Bradford analizi ile toplam protein miktarı, GC/MS analizi ile uçucu bileşikleri belirlenmiştir. HPLC analizi ile *R. miraletus* türünün epidermal mukusunda bulunan  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E) oranı da tespit edilmiştir. *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait epidermal mukus ekstraktlarının, disk difüzyon ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, gram pozitif bakteri suşlarından *Bacillus subtilis* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı antibakteriyel aktiviteleri belirlenmiştir. Aynı zamanda, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerine ait epidermal mukus ekstraktlarının, yine disk difüzyon ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak mantar suşlarından *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis*'e karşı antifungal aktiviteleri tespit edilmiştir. Ancak, hücre canlılığı testi (MTT analizi) ile *G. altavela* epidermal mukus ekstraktı, farklı dozlarına maruz bırakılan A549 hücre hattına karşı herhangi bir antikanserojen aktivite gösterememiştir.

Bradford analizi sonucunda, *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* epidermal mukuslarında yüksek konsantrasyonlarda protein belirlenmiş olup, en yüksek protein konsantrasyonu *G. altavela* mukusunda görülmüştür. GC/MS analizi ile birlikte, *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* türlerinin epidermal mukuslarında sırasıyla, 16, 12, 14 ve 3 adet biyokimyasal bileşik saptanmıştır. *D. marmorata* epidermal mukusundan elde edilen bileşikler içerisinde, 2-İzopropil-5-metil-1-heptanol, 2-tert-Butil-4-izopropil-5-metilfenol, Dokosan ve Dodekanoik asit majör bileşiklerdir. *D. pastinaca* epidermal mukusundan elde edilen bileşikler içerisinde, Siklooktasiloksan, Siklononasiloksan, 1H-Purin-6-amin, [(2-florofenil) metil], Siklodekasiloksan, Lusenin-2 ve Oktasiloksan majör bileşiklerdir. *G. altavela* epidermal mukusundan elde edilen bileşikler içerisinde, 1-Nonen, 2-İzopropil-5-metil-1-heptanol, 2-Hidroksi-3-fenil-2H-1-benzopiran,

Eikosan ve Dodekanoik asit majör bileşiklerdir. *R. miraletus* epidermal mukusundan elde edilen Tetrakoksametil, Siklodekasiloksan ve Oktasiloksan majör bileşiklerdir. *D. marmorata*, *D. pastinaca*, *G. altavela* ve *R. miraletus* mukuslarından tespit edilen bileşikler, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antikanser, antihepatotoksik, antispazmodik, antiromatizmal ve antagonistik aktivitelere sahiptir ve bu bileşikler hacim arttırıcılar, ilaç salım ortamları, koruyucu kaplamalar, yağlayıcı maddeler ve emülgatörler gibi farklı uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Tespit edilen bu bileşiklerin endüstriyel ve medikal sektörlerinde kullanımı ile ilgili yapılacak daha detaylı çalışmalar, ilerleyen zamanlarda balık mukusundan elde edilen biyomateryallerin ürüne dönüştürülmesi sürecinde önemli yol kat edilmesini sağlayacaktır. HPLC analizi ile *R. miraletus* epidermal mukusunda önemli oranda vitamin E tespit edilmiştir. Vitamin E yara ve yanık tedavisinde kullanılan krem ve/veya merhemlerin içerisinde bulunmaktadır. Aynı zamanda, kozmetik endüstrisinde antioksidan ve anti-aging (yaşlanma karşıtı) özelliklerinden nedeniyle gün geçtikçe kullanımı artan potansiyele sahip esansiyel bir vitamindir. Bu özelliklerinden dolayı, balık mukusunda bulunan vitamin E'nin, medikal ve kozmetik sektörleri için krem formülasyonlarında ve gıda sektörü için ise gıda katkı maddelerinde kullanımıyla ilgili gerekli olanakların oluşturulup araştırmaların yapılması, yeni yaklaşımların bulunmasında ve ileride yapılabilecek başka çalışmalara da ışık tutması konusunda önemli faydalar sağlamış olacaktır.

Terapötik amaçlar için kullanılan ilaçlar (farmatötikler) ve gıda katkı maddeleri (nutrasötikler), biyolojik sistem üzerindeki olası yan etkileri nedeniyle zaman içerisinde insan sağlığı üzerinde risk oluşturabilmektedir. Denizel organizmalar; tıp, farmakoloji ve tarım gibi çeşitli alanlarda iyileşme sağlamak için hemen hemen her ülkede terapötik materyal olarak kullanılmaktadır. Çalışmamız, biyomedikal uygulamalarda denizel organizmalardan elde edilen biyomateryallerin kullanımına yönelik bir araştırma alanına katkıda bulunabilecek sonuçları içermektedir. Modern tıptaki en büyük problemlerden birinin antibiyotik direnci olduğu bilinen bir gerçektir. Evrimsel süreç açısından değerlendirildiğinde, bakteriler çok hızlı üreyebilen ve mutasyona uğrayabilen organizmalardan biridir. Dolayısıyla, günümüzde kullanılan antibiyotikler zamanla belirli bakteri türlerine karşı etkilerini kaybetmektedir ve bu da bazı bakteriyel hastalıkların tedavisi sırasında sorunlara neden olmaktadır (Povolo ve Ackermann, 2019). Benzer şekilde, antifungal ilaçların da çok güvenli olmadığı ve mantar ve memelilerin hücresel benzerlikleri nedeniyle (Xu, Shen, Tang ve Feng, 2013) henüz efektif antifungal ilaçların geliştirilemediği

bilinmektedir (Numan ve diğeri, 2018). Azol grubu Flukonazol, Mikonazol, Itrakonazol, Ketokonazol gibi antifungal ajanlar klinik olarak kullanılmasına rağmen, bu ilaçların nefrotoksisite ve hepatotoksisite gibi yan etkileri ciddi kusma ataklarına neden olduğundan doğal ve güvenilir antifungal ilaçların geliştirilmesi için de güçlü bir ihtiyaç doğmuştur (Fukai ve diğeri, 2003). Tez çalışmada, bir biyomateryal olarak, *Dasyatis marmorata*, *D. pastinaca*, *Gymnura altavela* ve *Raja miraletus* epidermal mukus ekstraktlarının (ham, sulu faz ve asetik asit) farklı derecelerde antibakteriyel ve antifungal etkileri ortaya çıkartılmıştır. Epidermal mukus, bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal etki sergileyen ilk fiziksel savunma hattıdır ve balıklar için sabit bir fiziksel veya kimyasal bariyer sağlar. Bu etki, bir dizi bakteriyel ve fungal suşlara karşı gözenek oluşturucu (pore-forming) özelliklerinden kaynaklanabilir, bu da balıkların hedef hücrenin zarına nüfuz edebilen ve böylece bir savunma bariyeri olarak hareket edebilen antimikrobiyal proteinler salgıladığını gösterir. Kemikli veya kıkırdaklı balıkların epidermal mukusunda bulunan bazı antimikrobiyal maddeler bu mikroorganizmalara yapışarak ve onları yok eder (Ebran, Julien, Orange ve Molle, 2000). Balık epidermal mukusunun antimikrobiyal özelliklerinin bilinmesi, balık ile ortam arasındaki etkileşimlerde, doğasında olan konak savunma mekanizmaları hakkında bilgi edinmemizi sağlayacaktır. Bu çalışmada analiz edilen ekstraktlar arasında, *D. marmorata* ve *G. altavela* mukuslarının asetik asit ekstraktları en güçlü antibakteriyel ve antifungal aktiviteyi sergilemiştir. Bu ekstraktlar, asidik ortamda çözünen mukozal proteinlerin patojenlere karşı önemli bir biyokimyasal savunma bileşenlerini içerebileceğine dair bir kanıt göstermiştir. Asidik ortamda çözünen proteinler savunma rolünden sorumludur (Manikantan ve diğeri, 2016) ve bu nedenle epidermal mukus, insan sağlığı ile ilgili uygulamalar için potansiyel yeni bir antimikrobiyal bileşenler kaynağı olabilecek nitelikte değerlendirilebilir. Asidik mukus ekstraktlarında bulunan antimikrobiyal maddelerin karakterizasyonu ile ilgili yapılacak daha kapsamlı çalışmalar, bu bileşenlerin balıkların mukozal savunma mekanizmasındaki işlevini anlamamızı sağlayacak ve buradan yola çıkarak doğal kaynaklı antibiyotik ve antifungal ilaçların geliştirilmesi için yapılacak çalışmalara da ışık tutacak nitelikte olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Adel, M., Amiri, A. A., Zorriehzahra, J., Nematollahi, A., ve Esteban, M. Á. (2015). Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). *Fish and Shellfish Immunology*, 45(2), 841-847.
- Ahsan, T., Chen, J., Zhao, X., Irfan, M., ve Wu, Y. (2017). Extraction and identification of bioactive compounds (eicosane and dibutyl phthalate) produced by *Streptomyces* strain KX852460 for the biological control of *Rhizoctonia solani* AG-3 strain KX852461 to control target spot disease in tobacco leaf. *AMB Express*, 7(1), 54.
- Alexander, J. B., ve Ingram, G. A. (1992). Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 249-279.
- Al-Olayan, E. M., El-Khadragy, M. F., Aref, A. M., Othman, M. S., Kassab, R.B., ve Abdel Moneim, A. E. (2014). The potential protective effect of *Physalis peruviana* L. against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats is mediated by suppression of oxidative stress and downregulation of MMP-9 expression. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014, 1-12.
- Al-Rasheed, A., Handool, K. O., Garba, B., Noordin, M. M., Bejo, S. K., Kamal, F. M., ve Daud, H. H. M. (2018). Crude extracts of epidermal mucus and epidermis of climbing perch *Anabas testudineus* and its antibacterial and hemolytic activities. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(2), 125-129.
- Alvarez-Pellitero, P. (2008). Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Veterinary immunology and immunopathology*, 126(3-4), 171-198.
- Arulvasu, C., Selvamathi, S., Babu, G., ve Dhanasekaran, G. (2012). Effect of crude and partially purified epidermal mucus proteins of marine catfish *Tachysurus dussumieri* on human cancer cell line. *Journal of Academia and Industrial Research*, 1(4), 164-169.
- Babalola, O. O., Ojo, O. E., ve Oloyede, F. A. (2011). Hepatoprotective activity of aqueous extract of the leaves of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit on acetaminophen Induced hepatotoxicity in rabbits. *Research Journal of Chemical Sciences*, 1(7), 85-88.
- Balasubramanian, S., Revathi, A., ve Gunasekaran, G. (2016). Studies on anticancer, haemolytic activity and chemical composition of crude epidermal mucus of fish *Mugil cephalus*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4, 438-443.
- Bansil, R., ve Turner, B. S. (2006). Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11(2-3), 164-170.
- Basile, A., Giordano, S., López-Sáez, J. A., ve Cobianchi, R. C. (1999). Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*, 52(8), 1479-1482.
- Bellou, S., Baeshen, M. N., Elazzazy, A. M., Aggeli, D., Sayegh, F., ve Aggelis, G. (2014). Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. *Biotechnology Advances*, 32(8), 1476-1493.
- Bilecenoğlu, M., Kaya, M., Cihangir, B., ve Çiçek, E. (2014). An updated checklist of the marine fishes of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38(6), 901-929.
- Blackstock, N., ve Pickering, A. D. (1982). Changes in the concentration and histochemistry of epidermal mucous cells during the alevin and fry stages of the brown trout *Salmo trutta*. *Journal of Zoology*, 197(4), 463-471.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

- Bragadeeswaran, S., Priyadharshini, S., Prabhu, K., ve Rani, S. R. S. (2011). Antimicrobial and hemolytic activity of fish epidermal mucus *Cynoglossus arel* and *Arius caelatus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(4), 305-309.
- Cardoso, M. J., Costa, R. R., ve Mano, J. F. (2016). Marine origin polysaccharides in drug delivery systems. *Marine Drugs*, 14(2), 34.
- Caruso, G., Denaro, M. G., Caruso, R., Manchini, F., Genovese, L., ve Maricchiolo, G. (2011). Response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Marine Environmental Research*, 72, 46-52
- Chong, K., Ying, T. S., Foo, J., Jin, L. T., ve Chong, A. (2005). Characterisation of proteins in epidermal mucus of discus fish (*Symphysodon* spp.) during parental phase. *Aquaculture*, 249(1-4), 469-476.
- Christy-Shaila, R., Kathireswari, P., ve Saminathan, K. (2018). GC-MS Analysis of Biochemical Compounds Present in the Mucus of Zebra Fish (*Danio rerio*). *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*, 6(5), 1109-1112.
- Chuah, X. Q., Okechukwu, P. N., Amini, F., ve Teo, S. S. (2018). Eicosane, pentadecane and palmitic acid: The effects in in vitro wound healing studies. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(10), 490-499.
- Cipolari, O. C., de Oliveira Neto, X. A., ve Conceição, K. (2020). Fish bioactive peptides: A systematic review focused on sting and skin. *Aquaculture*, 515, 734598.
- Ciriminna, R., Bright, F. V., ve Pagliaro, M. (2015). Ecofriendly antifouling marine coatings. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(4), 559-565.
- Conceição, K., Monteiro-dos-Santos, J., Seibert, C. S., Silva Jr, P. I., Marques, E. E., Richardson, M., ve Lopes-Ferreira, M. (2012). *Potamotrygon* cf. *henlei* stingray mucus: Biochemical features of a novel antimicrobial protein. *Toxicon*, 60(5), 821-829.
- Coppola, D., Oliviero, M., Vitale, G. A., Lauritano, C., D'Ambra, I., Iannace, S., ve de Pascale, D. (2020). Marine Collagen from Alternative and Sustainable Sources: Extraction, Processing and Applications. *Marine Drugs*, 18(4), 214.
- Cuevas, E., Pérez, J. C., ve Méndez, I. (2013). Effect of environmental factors and fishing effort allocation on catch of the Spotted Eagle Ray *Aetobatus narinari* (Rajiformes: Myliobatidae) in Southern Gulf of Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 61(3), 1341-1349.
- da Silva Rodrigues Filho, L. F., Feitosa, L. M., Nunes, J. L. S., Palmeira, A. R. O., Martins, A. P. B., Giarrizzo, T., Carvalho-Costag, L. F., Monteiro, I. L. P., Gemaque, R., Gomes, F., Souza, R. F. C., Sampaio, I., ve Sales, J. B. L. (2020). Molecular identification of ray species traded along the Brazilian Amazon coast. *Fisheries Research*, 223, 105407.
- Dayrit, F. M. (2015). The properties of lauric acid and their significance in coconut oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(1), 1-15.
- Doygun, H., ve Alphan, H. (2006). Monitoring urbanization of Iskenderun, Turkey, and its negative implications. *Environmental Monitoring and Assessment*, 114(1-3), 145-155.
- Ebran, N., Julien, S., Orange, N., ve Molle, G. (2000) Isolation and characterization of novels glycoproteins from fish epidermal mucus: correlation between their pore forming properties and their antibacterial activities. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1467, 271-280.

- Eckes, M. J., Siebeck, U. E., Dove, S., ve Grutter, A. S. (2008). Ultraviolet sunscreens in reef fish mucus. *Marine Ecology Progress Series*, 353, 203-211.
- Erdoğan-Eliuz, E. A., Ayas, D., ve Goksen, G. (2017). In Vitro Phototoxicity and Antimicrobial Activity of Volatile Oil Obtained from Some Aromatic Plants. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(3), 758-768.
- Fast, M. D., Sims, D. E., Burka, J. F., Mustafa, A., ve Ross, N. W. (2002). Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(3), 645-657.
- Flik, G., van Rijs, J. H., ve Wendelaar Bonga, S. E. (1984). Evidence for the presence of calmodulin in fish mucus. *European Journal of Biochemistry*, 138, 651-654.
- Froese, R., ve Pauly, D. (2019). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (12/2019).
- Fukai, T., Yonekawa, M., Hou, A. J., Nomura, T., Sun, H. D., ve Uno, J. (2003) Antifungal Agents from the Roots of *Cudrania cochinchinensis* against *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species. *Journal of Natural Products*, 66(8), 1118-1120.
- Fuochi, V., Li Volti, G., Camiolo, G., Tiralongo, F., Giallongo, C., Distefano, A., Petronio, G. P., Barbagallo, I., Viola, M., Furneri, P. M., Di Rosa, M., Avola, R., ve Tibullo, D. (2017). Antimicrobial and anti-proliferative effects of skin mucus derived from *Dasyatis pastinaca* (Linnaeus, 1758). *Marine Drugs*, 15(11), 342.
- Garza-Gil, D. M., Varela-Lafuente, M. M., ve Pérez-Pérez, M. I. (2019). The blue economy in the European Union: Valuation of Spanish small-scale fishers' perceptions on environmental and socioeconomic effects. *Panoeconomicus*, 1-19.
- Geetha, D. H., Jayashree, I., ve Rajeswari, M. (2019). GC-MS Analyses of Bioactive Compounds of Ethanolic Seed Extract of *Elaeocarpus serratus*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 11(1), 31-34.
- Ghebleh, N., ve Naghavi, N. S. (2014). Antagonistic activity of bioactive compounds extracted from cyanobacterium *Oscillatoria* isolated from oil refinery waste. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 4(2), 457-462.
- Giwanon, R., Thubthimthed, S., Rerkam, U., ve Sunthorntanasart, T. (2000). Antimicrobial activity of terpinen-4-ol and sabinene. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(Suppl), 27.
- Guardiola, F. A., Cuesta, A., Arizcun, M., Meseguer, J., ve Esteban, M. A. (2014). Comparative skin mucus and serum humoral defence mechanisms in the teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish & Shellfish Immunology*, 36(2), 545-551.
- Gunasena, M. D. K. M., ve Senarath, W. T. P. S. K. (2017). Comparison of phytochemicals present in locally available Sri Lankan and imported (Indian) fruits of *Punica granatum* (Lythracea). *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*, 3(1), 459-464.
- Gupta, S., ve Abu-Ghannam, N. (2011). Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 600-609.
- Hellio, C., Pons, A.M., Beaupoil, C., Bourgougnon, N., ve Le Gal, Y. (2002). Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of extracts from fish epidermis and epidermal mucus. *International Journal of Antimicrobial Agents* 20(3), 214-219
- Herrero, M., Mendiola, J. A., Plaza, M., ve Ibañez, E. (2013). Screening for bioactive compounds from algae. In *Advanced Biofuels and Bioproducts*. ABD: Springer, 833-872.
- Hu, X., Tao, N., Wang, X., Xiao, J., ve Wang, M. (2016). Marine-derived bioactive compounds with anti-obesity effect: A review. *Journal of Functional Foods*, 21, 372-

- 387.
- Hussin, N. M., Shaarani, S. M., Sulaiman, M. R., Ahmad, A. H., ve Vairappan, C. S. (2017). Chemical composition and antioxidant activities of catfish epidermal mucus. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, 4(1), 73-77.
- Jones, S. R. (2001). The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8-9), 841-852.
- Kim, S. K., Choi, Y. R., Park, P. J., Choi, J.H., ve Moon, S. H. (2000). Screening of biofunctional peptides from cod processing wastes. *Journal of the Korean society of Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 43, 225-227.
- Kim, S. K., ve Wijesekara, I. (2010). Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 1-9.
- Kornprobst, J. M. (2014). Introduction to Marine Biotechnology. *Encyclopedia of Marine Natural Products*, 1-18.
- Kumari, U., Nigam, A. K., Mital, S., ve Mital, A. K. (2011). Antibacterial properties of the skin mucus of the freshwater fishes, *Rita rita* and *Channa punctatus*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15(7), 781-786.
- Kung, M. C., Riofski, M. V., Missaghi, M. N., ve Kung, H. H. (2014). Organosilicon platforms: Bridging homogeneous, heterogeneous, and bioinspired catalysis. *Chemical Communications*, 50(25), 3262-3276.
- Kuppulakshmi, C., Prakash, M., Gunasekaran, G., Manimegalai, G., ve Sarojini, S. (2008). Antibacterial properties of fish mucus from *Channa punctatus* and *Cirrhinus mrigala*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 12, 149-153.
- Kwak, C. H., Lee, S. H., Lee, S. K., Ha, S. H., Suh, S. J., Kwon, K. M., Chung, T. W., Ha, K. T., Chang, Y. C., Lee, Y. C., Kim, D. S., Chang, H. W., ve Kim, C. H. (2015). Induction of apoptosis and antitumor activity of eel skin mucus, containing lactose-binding molecules, on human leukemic K562 cells. *Marine Drugs*, 13(6), 3936-3949.
- Landsberg, J. H., Hall, S., Johannessen, J. N., White, K. D., Conrad, S. M., Abbott, J. P., Flewelling, L. J., Richardson, R. W., Dickey, R. W., Jester, E. L. E., Etheridge, S. M., Deeds, J. R., Van Dolah, F. M., Leighfield, T. A., Zou, Y., Beaudry, C. G., Benner, R. A., Rogers, P. L., Scott, P. S., Kawabata, K., Wolny, J. L. ve Steidinger, K. A. (2006). Saxitoxin puffer fish poisoning in the United States, with the first report of *Pyrodinium bahamense* as the putative toxin source. *Environmental Health Perspectives*, 114(10), 1502-1507.
- Lin, W. J., Chien, Y. L., Pan, C. Y., Lin, T. L., Chen, J. Y., Chiu, S. J., ve Hui, C. F. (2009). Epinecidin-1, an antimicrobial peptide from fish (*Epinephelus coioides*) which has an antitumor effect like lytic peptides in human fibrosarcoma cells. *Peptides*, 30(2), 283-290.
- Lirio, G. A. C., De Leon, J. A. A., ve Villafuerte, A. G. (2019). Antimicrobial activity of epidermal mucus from top aquaculture fish species against medically-important pathogens. *Walailak Journal of Science and Technology*, 16(5), 329-340.
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(Suppl.), 517-520.
- Mahadevan, G., Mohan, K., Vinoth, J., ve Ravi, V. (2019). Biotic potential of mucus extracts of giant mudskipper *Periophthalmodon schlosseri* (Pallas, 1770) from Pichavaram, southeast coast of India. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 80(1), 1-7.
- Manikantan, G., Lyla, S., Khan, S. A., Vijayanand, P., ve Jothi, G. E. G. (2016). Bioactive potency of epidermal mucus extracts from greasy grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsskal, 1775). *Journal of Coastal Life Medicine*, 4(7), 510-520.

- Manivasagan, P., Annamalai, N., Ashokkumar, S., ve Sampathkumar, P. (2009). Studies on the proteinaceous gel secretion from the skin of the catfish, *Arius maculatus* (Thunberg, 1792). *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 7125-7129.
- Marchbank, T., Limdi, J. K., Mahmood, A., Elia, G., ve Playford, R. J. (2008). Clinical trial: protective effect of a commercial fish protein hydrolysate against indomethacin (NSAID)-induced small intestinal injury. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 28(6), 799-804.
- Marrez, D. A., Sultan, Y. Y., ve Embaby, M. A. (2017). Biological activity of the cyanobacterium *Oscillatoria brevis* extracts as a source of nutraceutical and bio-preservative agents. *International Journal of Pharmacology*, 13, 1010-1019.
- Martins, D. A., Custódio, L., Barreira, L., Pereira, H., Ben-Hamadou, R., Varela, J., ve Abu-Salah, K. M. (2013). Alternative sources of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in marine microalgae. *Marine Drugs*, 11(7), 2259-2281.
- McEachran, J. D., ve Aschliman, N. (2004). Phylogeny of Batoidea. In *Biology of Sharks and Their Relatives*, (Editörler: J. C. Carrier, J. A. Musick ve M. R. Heithaus). ABD: CRC Press, 79-113.
- McEachran, J. D., ve Feckhelm, J. D. (1998). Fishes of the Gulf of Mexico. In *Scorpaeniformes to Tetraodontiformes*. ABD: University of Texas Press.
- McEachran, J. D., De Carvalho, M. R., ve Carpenter, K. E. (2002). Batoid Fishes. In *The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic*, (Editör: K. E. Carpenter). İtalya: FAO, 507-589.
- McFarland, J. (1987). Standardization of bacterial culture for the disc diffusion assay. *Journal of the American Medical Association*, 49, 1176-1178.
- Merquiol, L., Romano, G., Ianora, A., ve D'Ambra, I. (2019). Biotechnological Applications of Scyphomedusae. *Marine Drugs*, 17(11), 604.
- Najafian, L., ve Babji, A. S. (2012). A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: their production, assessment, and applications. *Peptides*, 33(1), 178-185.
- Negus, V. E. (1963). The function of mucus. *Acta Oto-Laryngologica*, 56(2-6), 204-214.
- Numan, M., Bashir, S., Mumtaz, R., Tayyab, S., Rehman, N.U., Khan, A.L., Shinwari, Z.K., ve Al-Harrasi, A. (2018). Therapeutic applications of bacterial pigments: a review of current status and future opportunities. *3 Biotech*; 8(4), 207.
- Öztürk, B., Altuğ, G., Çardak, M., ve Çiftçi, P.S. (2007). Oil pollution in surface water of the Turkish side of the Aegean and Eastern Mediterranean Seas *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 13(3), 207-214.
- Parte, S., Sirisha, V. L., ve D'Souza, J. S. (2017). Biotechnological applications of marine enzymes from algae, bacteria, fungi, and sponges. In *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press, 75-106.
- Pasdaran, A., Hamed, A., ve Mamedov, N. A. (2016). Antibacterial and insecticidal activity of volatile compounds of three algae species of Oman Sea. *International Journal of Secondary Metabolite*, 3(2), 66-73.
- Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., ve Moran, N. (2006). Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to manuka honey. *Journal of Microbiological Methods*, 64(1), 84-95.
- Perugini, M., Visciano, P., Giammarino, A., Manera, M., Di Nardo, W., ve Amorena, M. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea, Italy. *Chemosphere*. 66(10), 1904-1910.
- Pethkar, M. R., ve Lokhande, M. V. (2017). Antifungal activity of skin mucus of three cultivable fish species (*Catla catla*, *Cirrhinus mrigala* and *Anguilla anguilla*). *Immunity*, 13, 61-92.
- Pickering, A. D. (1974). The distribution of mucous cells in the epidermis of the brown trout



- Salmo trutta* (L.) and the char *Salvelinus alpinus* (L.). *Journal of Fish Biology*, 6(2), 111-118.
- Pomponi, S. A. (1999). The bioprocess-technological potential of the sea. *Progress in Industrial Microbiology*, 35, 5-13.
- Pomponi, S. A. (2001). The Rogar Revelle Commemorative Lecture: The Oceans and Human Health: The Discovery and Development of Marine-Derived Drugs. *Oceanography*, 14(1), 78-87.
- Pomponi, S. A., Baden, D. G., ve Zohar, Y. (2007). Marine biotechnology: Realizing the potential. *Marine Technology Society Journal*, 41(3), 24-31.
- Povolo, V. R., ve Ackermann, M. (2019). Disseminating antibiotic resistance during treatment. *Science*, 364(6442), 737-738.
- Querellou, J., Cadoret, J. P., Allen, M. J., ve Collén, J. (2010). Marine biotechnology. In *Introduction to Marine Genomics*. Hollanda: Springer, 287-313.
- Raja, K., Jayakumar, T., Sahayanathan, G. J., Padmanaban, D., Neelan, K., ve Chinnasamy, A. (2020). Evaluation of Anticancer, Antibacterial and Haemolytic Activities of Crude Mucus from Marine Catfish *Tachysurus dussumieri*. *International Journal of Life science and Pharma Reviews*, 10(2), 38-45.
- Rakers, S., Gebert, M., Uppalapati, S., Meyer, W., Maderson, P., Sell, A. F., Kruse, C., ve Paus, R. (2010). 'Fish matters': the relevance of fish skin biology to investigative dermatology. *Experimental Dermatology*, 19(4), 313-324.
- Ramsey, K. A., Rushton, Z. L., ve Ehre, C. (2016). Mucin agarose gel electrophoresis: western blotting for high-molecular-weight glycoproteins. *Journal of Visualized Experiments*, 112, e54153.
- Rao, V., Marimuthu, K., Kupusamy, T., Rathinam, X., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., ve Arockiaraj, J. (2015). Defense properties in the epidermal mucus of different freshwater fish species. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 8(2), 184-194.
- Rasmussen, R. S., ve Morrissey, M. T. (2007). Chitin and chitosan. *Marine Nutraceuticals and Functional Foods*, 7, 155-182.
- Ravi, V., Kesavan, K., Sandhya, S., ve Rajagopal, S. (2010). Antibacterial activity of the mucus of mudskipper *Boleophthalmus boddarti* (Pallas, 1770) from Vellar Estuary. *AES Bioflux*, 2(1), 11-14.
- Ritchie, K. B., Schwarz, M., Mueller, J., Lapacek, V. A., Merselis, D., Walsh, C. J., ve Luer, C. A. (2017). Survey of antibiotic-producing bacteria associated with the epidermal mucus layers of rays and skates. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1050.
- Rodrigues, A. F. S., de Sousa Rangel, B., Wosnick, N., Bornatowski, H., Santos, J. L., Moreira, R. G., ve de Amorim, A. F. (2018). Report of injuries in batoids caught in small-scale fisheries: implications for management plans. *Oecologia Australis*, 23(1), 78-89.
- Rücker, C., ve Kümmerer, K. (2015). Environmental chemistry of organosiloxanes. *Chemical Reviews*, 115(1), 466-524.
- Ruiz-Torres, V., Encinar, J. A., Herranz-López, M., Pérez-Sánchez, A., Galiano, V., Barrajón-Catalán, E., ve Micol, V. (2017). An updated review on marine anticancer compounds: The use of virtual screening for the discovery of small-molecule cancer drugs. *Molecules*, 22(7), 1037.
- Sangeetha, C., Krishnamoorthy, A.S., Nakkeeran, S., Ramakrishnan, S., ve Amirtham, D. (2015). Evaluation of Bioactive Compounds of *Ophiocordyceps sinensis* [Berk.] Sacc. Against *Fusarium* spp. *Biochemical and Cellular Archives*, 15(2), 431-435.
- Schwartzmann, G., da Rocha, A. B., Berlinck, R. G., ve Jimeno, J. (2001). Marine organisms as a source of new anticancer agents. *The Lancet Oncology*, 2(4), 221-225.

- Selvin, J., Shanmughapriya, S., Gandhimathi, R., Kiran, G. S., Ravji, T. R., Natarajaseenivasan, K., ve Hema, T. A. (2009). Optimization and production of novel antimicrobial agents from sponge associated marine actinomycetes *Nocardioopsis dassonvillei* MAD08. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 83(3), 435-445.
- Shephard, K. L. (1993). Mucus on the epidermis of fish and its influence on drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 11(3), 403-417.
- Shephard, K. L. (1994). Functions for fish mucus. *Reviews in fish biology and fisheries*, 4(4), 401-429.
- Sloan, A. E. (2000). The top ten functional food trends. *Food Technology (Chicago)*, 54(4), 33-62.
- Snelgrove, P. V. (2016). An ocean of discovery: Biodiversity beyond the census of marine life. *Planta Medica*, 82(09/10), 790-799.
- Soliman, Y., Mohamed, A. S. ve NaserGomaa, M. (2014). Antifouling activity of crude extracts isolated from two Red Sea puffer fishes. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 40(1), 1-7.
- Subbaiyan, B., Samyudurai, P., Karthik-Prabu, M., ve Thangapandian, V. (2014). Gas chromatography and mass spectrum analysis of *Catharanthus pusillus* (Murray) g. Don (Apocyanaceae). *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 4(2), 48-52.
- Subramanian, S., Ross, N. W., ve MacKinnon, S. L. (2008). Comparison of antimicrobial activity in the epidermal mucus extracts of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 150(1), 85-92.
- Suleria, H. A. R., Osborne, S., Masci, P., ve Gobe, G. (2015). Marine-based nutraceuticals: An innovative trend in the food and supplement industries. *Marine Drugs*, 13(10), 6336-6351.
- Turan, C., Gürlek, M., Başusta, N., Uyan, A., Doğdu, S. A., ve Karan, S. (2018). A checklist of the non-indigenous fishes in Turkish marine waters. *Natural and Engineering Sciences*, 3(3), 333-358.
- Uthayakumar, V., Ramasubramanian, V., Senthilkumar, D., Priyadarisini, V. B., ve Harikrishnan, R. (2012). Biochemical characterization, antimicrobial and hemolytic studies on skin mucus of fresh water spiny eel *Mastacembelus armatus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), 863-869.
- Van der Marel, M. C. (2012). Carp mucus and its role in mucosal defense. Doktora Tezi, Wageningen University, Hollanda.
- Van der Marel, M., Caspari, N., Neuhaus, H., Meyer, W., Enss, M. L., ve Steinhagen, D. (2010). Changes in skin mucus of common carp, *Cyprinus carpio* L., after exposure to water with a high bacterial load. *Journal of Fish Diseases*, 33(5), 431-439.
- Vennila, R., Kumar, K. R., Kanchana, S., Arumugam, M., Vijayalakshmi, S., ve Balasubramaniam, T. (2011). Preliminary investigation on antimicrobial and proteolytic property of the epidermal mucus secretion of marine stingrays. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1, 239-243.
- Wei, O. Y., Xavier, R., ve Marimuthu, K. (2010). Screening of antibacterial activity of mucus extract of snakehead fish, *Channa striatus* (Bloch). *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14(8), 675-681.
- Wijesekara, I., Pangestuti, R., ve Kim, S. K. (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 14-21.
- Xu, S. X., Shen, J. L., Tang, X. F., ve Feng, B. (2013). Newer antifungal agents for fungal infection prevention during hematopoietic cell transplantation: a meta-analysis. *Transplantation Proceedings*, 45(1), 407-414.

- Xu, L., Meng, W., Cao, C., Wang, J., Shan, W., ve Wang, Q. (2015). Antibacterial and antifungal compounds from marine fungi. *Marine Drugs*, 13(6), 3479-3513.
- Yemişken, E., Aydoğdu, E.Ö.A., Doğruöz, N., Güngör, N.Ö.Ş., Kesiktaş, M., ve Yıldız, T. (2018). Antimicrobial Activities of Bacterial Strains Isolated from Skin Mucus of Some Elasmobranch Fishes. *13<sup>th</sup> International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences*, 21-23 November 2018, Ankara, TURKEY.
- Yu, F.R., Lian, X.Z., Guo, H.Y., McGuire, P.M., Li, R.D., Wang, R., ve Yu, F. H. (2005). Isolation and characterization of methyl esters and derivatives from *Euphorbia kansui* (Euphorbiaceae) and their inhibitory effects on the human SGC-7901 cells. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(3), 528-535.
- Zhang, A., Zhao, S., Wang, L., Yang, X., Zhao, Q., Fan, J., ve Yuan, X. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seawater and sediments from the northern Liaodong Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*. 113, 592-599.
- Zhang, C., Li, X., ve Kim, S. K. (2012). Application of marine biomaterials for nutraceuticals and functional foods. *Food Science and Biotechnology*, 21(3), 625-631.
- Zoué, L., Bédikou, M., Gonnet, J., Faulet, B., ve Niamké, S. (2012). Two novel non-conventional seed oil extracts with antioxidant and antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11, 469-475.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : UYAN, Ali  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 01.09.1986, Tarsus  
 Medeni hali : Bekâr  
 Telefon : 0 (326) 614 16 93/3737  
 Faks : 0 (326) 614 18 77  
 e-mail : aliuyan.mfbe15@iste.edu.tr



### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	İskenderun Teknik Üniversitesi / Su Ürünleri	2020
Yüksek lisans	Mustafa Kemal Üniversitesi / Su Ürünleri	2014
Lisans	Mustafa Kemal Üniversitesi / Su Ürünleri Mühendisliği	2012
Ön lisans	Mersin Üniversitesi / Su Ürünleri	2008
Lise	Kaya Beyazıtöğlu Lisesi	2004

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

#### Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI)

**Uyan, A.**, Turan, C., Erdoğan-Eliuz, E. A., ve Sangün, K. (2020). Antimicrobial Properties and Biochemical Compounds of Epidermal Mucus Obtained from Two Ray Species. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, (Basımda)

Gürlek, M., Turan, C., Başusta, N., Doğdu, S. A., Ergüden, D., ve **Uyan, A.** (2020). Barcoding and Phylogenetic Relationships of Shark Species in Turkish Marine Waters. *Russian Journal of Genetics*. (Basımda).

- Turan, C., Ivanova, P., Gürlek, M., Ergüden, D., Yağlıoğlu, D., Karan, S., Doğdu, S. A., **Uyan, A.**, Öztürk, B., Nikolov, V., Raykov, V., Dobrovlov, I., Khanaychenko, A., ve Giragosov, V. (2019). Genetics Structure Analysis of Turbot (*Scophthalmus maximus*, Linnaeus, 1758) in the Black and Mediterranean Seas for Application of Innovative Management Strategies. *Frontiers in Marine Science*, 6, 740.
- Gürlek, M., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Karan, S., Gökçen, A., ve Turan, C. (Hakem değerlendirmesinde). Occurrence of the Blue Button *Porpita porpita* (Linnaeus, 1758) in the Iskenderun Bay, Northeastern Mediterranean Coast of Turkey. *Acta Adriatica*.
- Uyan, A.**, ve Turan, C. (2017). Genetic and Morphological Analyses of Tub Gurnard *Chelidonichthys lucerna* Populations in Turkish Marine Waters. *Biochemical Systematics and Ecology*, 73(2017), 35-40.
- Ergüden, D., Doğdu, S. A., **Uyan, A.**, Gürlek, M., ve Turan, C. (2017). New Record of the European Finless Eel *Apterichtus caecus* from Iskenderun Bay, Eastern Mediterranean Sea. *Zoology in the Middle East*, 64(4), 1-3.
- Turan, C., Ergüden, D., Uygur, N., Gürlek, M., Erdoğan, Z., Sönmez, B., **Uyan, A.**, Karan, S., ve Doğdu, S. A. (2015). First Record of the Indian Ocean Twospot Cardinalfish, *Cheilodipterus novemstriatus* (Actinopterygii, Perciformes, Apogonidae), from Turkish Marine Waters. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 45(3), 319-322.
- Turan, C., Gürlek, M., Ergüden, D., Yağlıoğlu, D., **Uyan, A.**, Reyhaniye, A. N. Özbalcılar, B., Öztürk, B., Erdoğan, Z., Ivanova, P., ve Soldo, A. (2015). Population Genetic Analysis of Atlantic Bonito *Sarda sarda* (Bloch, 1793) Using Sequence Analysis of mtDNA D-Loop Region. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(10), 3148-3154.
- Ergüden, D., Turan, C., Gürlek, M., **Uyan, A.**, ve Reyhaniye, A. N. (2014). First Record of Marbled Stingray, *Dasyatis marmorata* (Elasmobranchii: Myliobatiformes: Dasyatidae), on the Coast of Turkey, North-Eastern Mediterranean. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 44(2), 159-161.

#### **Uluslararası diğer hakemli dergilerde yayınlanan makaleler**

- Uyan, A.**, Turan, C., Gürlek, M., ve Yağlıoğlu, D. (2020). Genetic and Bio-Ecologic Characteristics of Common Pandora *Pagellus erythrinus* from the Eastern Mediterranean Coast of Turkey for the Ecosystem-Based Fishery Management. *Genetics of Aquatic Organisms*, 4(1), 29-37.
- Karan, S., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Gürlek, M., Ergüden, D., ve Turan, C. (2019). Genetic

- confirmation of Red cornetfish, *Fistularia petimba* (Syngnathiformes: Fistularidae) occurrence in Turkish marine waters. *FishTaxa*, 4(3), 125-129.
- Turan, C., **Uyan, A.**, Gürlek, M., ve Doğdu, S. A. (Hakem değerlendirmesinde). DNA Barcodes for Identifications of Two Lionfish Species *Pterois miles* (Bennett, 1828) and *Pterois volitans* (Linnaeus, 1758) in the Mediterranean. *FishTaxa*.
- Ergüden, D., Gürlek, M., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2019). Range Expansion of *Equulites popei* (Whitley 1932) Along the Mediterranean Coast of Turkey. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(3), 371-375.
- Turan, C., Ivanova, P., Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., Ergüden, D., Karan, S., Doğdu, S. A., **Uyan, A.**, Öztürk, B., Nikolov, V., Raykov, V., Dobrovolov, I., ve Khanaychenko, A. (2019). Phylogenetic Relationships of Turbot Species (Scophthalmidae) Inferred from the Mitochondrial COIII Gene and Morphological Characters. *Natural and Engineering Sciences*, 4(1), 28-41.
- Turan, C., Gürlek, M., Başusta, N., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Karan, S. (2018). A Checklist of the Non-indigenous Fishes in Turkish Marine Waters. *Natural and Engineering Sciences*, 3(3), 333-358.
- Ergüden, D., Uygur, N., Ayan, O., Gürlek, M., **Uyan, A.**, Karan, S. Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2018). First Record Marbled Shrimp *Saron marmoratus* (Olivier, 1811) from Turkish Marine Waters. *Natural and Engineering Sciences*, 3(2), 141-146.
- Ergüden, D., **Uyan, A.**, Karan, S., ve Gürlek, M. (2018). The second record of the Seychelles dragonet *Synchiropus sechellensis* in the Northeastern Mediterranean coasts of the Turkey. *Natural and Engineering Sciences*, 3(1), 54-61.
- Turan, C., Gürlek, M., Ergüden, D., **Uyan, A.**, Karan, S., ve Doğdu, S. A. (2018). Assessing DNA Barcodes for Identification of Pufferfish Species (Tetraodontidae) in Turkish Marine Waters. *Natural and Engineering Sciences*, 2(3), 55-66.
- Eken, M., Aydın, F., Turan, F., ve **Uyan, A.** (2017). Bioaccumulation of Some Heavy Metals on Silver-Cheeked Toadfish (*Lagocephalus sceleratus*) from Antalya Bay, Turkey. *Natural and Engineering Sciences*, 2(3), 12-21.
- Ergüden, D., Kabaklı, F., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Karan, S., Gürlek, M., ve Turan, C. (2017). New record of diamondback puffer *Lagocephalus guentheri* Miranda Ribeiro, 1915 from the North-Eastern Mediterranean, Turkey. *Natural and Engineering Sciences*, 2(3), 67-73.
- Yağlıoğlu, D., Ayas, D., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2016). Morphometric Differences Between *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) Populations from Mediterranean and

- Aegean Sea. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), Supplement, 31.
- Turan, C., Ergüden, D., Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2016). Population Genetic Analysis of Grouper Species (*Epinephelus* spp.) in Turkish Seas. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), Supplement, 44.
- Turan, C., Ergüden, D., Gürlek, M., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2016). Barcoding and Genetic Diversity Pattern of Groupers (*Epinephelus* spp.) from Turkish Marine Waters. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), Supplement, 48.
- Gürlek, M., Ergüden, D., Yağlıoğlu, D., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2016). Genetic Characterization of Populations of White Grouper *Ephinephelus aeneus* from the Aegean and Mediterranean Coasts of Turkey Through Analyses of mtDNA. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), Supplement, 53.
- Ergüden, D., Gürlek, M., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2016). Population Genetic Analysis of the Dusky Grouper *Epinephelus marginatus* Using Sequence Analysis of mtDNA D-loop and Cyt b Regions. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), Supplement, 62.
- Gürlek, M., Ergüden, D., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Yağlıoğlu, D., Öztürk, B., ve Turan, C. (2016). First record of red lionfish *Pterois volitans* (Linnaeus, 1785) in the Mediterranean Sea. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), 27-32.
- Karan, S., Doğdu, S. A., **Uyan, A.**, Gürlek, M., Ergüden D., ve Turan, C. (2016). Microsatellite loci for Black Sea Turbot *Scophthalmus maeoticus*. *Natural and Engineering Sciences*, 1(3), 23-26.
- Doğdu, S. A., **Uyan, A.**, Uygur, N., Gürlek, M., Ergüden, D., ve Turan, C. (2016). First record of the Indo-Pacific striped eel catfish, *Plotosus lineatus* (Thunberg, 1787) from Turkish marine waters. *Natural and Engineering Sciences*, 1(2), 25-32.
- Gürlek, M., Gündüz, M. N., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Karan, S., Gürlek, M., Ergüden, D., ve Turan, C. (2016). Occurrence of the Red Sea goatfish *Parupeneus forsskali* (Fourmanoir & Guézé, 1976) (Perciformes: Mullidae) from Iskenderun Bay, Northeastern Mediterranean. *Natural and Engineering Sciences*, 1(1), 7-10.
- Turan, C., Yağlıoğlu, D., Ergüden, D., Gürlek, M., **Uyan, A.**, Karan, S., ve Doğdu, S. A. (2016). Threatened brill species in marine waters of Turkey: *Scophthalmus rhombus* (Linnaeus, 1758) (Scophthalmidae). *Natural and Engineering Sciences*, 1(1), 1-6.
- Turan, C., **Uyan, A.**, Ergüden, D., Gürlek, M., Doğdu, S. A., ve Uygur, N. (2015). First record of the moon crab *Ashtoret lunaris* from Turkish Waters. *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 21(3), 328-333.

Turan, C., Ergüden, D., Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., **Uyan, A.**, ve Uygur, N. (2014). First Record of the Indo-Pacific Lionfish *Pterois miles* (Bennett, 1828) (Osteichthyes Scorpaenidae) for the Turkish Marine Waters. *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 20(2), 158-163.

**Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler**

**Uyan, A.**, Turan, C., Gürlek, M., ve Yağlıoğlu, D. (2019). Genetic and morphological analysis of common pandora *Pagellus erythrinus* from the eastern Mediterranean Coast of Turkey. International Next Generation Biometry Workshop and Course, 04-06 October 2019, Iskenderun, Hatay, TURKEY.

**Uyan, A.**, Alptekin, C., Reyhaniye, A. N., ve Turan, C. (2018). Reproductive Biology and Age-growth Parameters of Striped Piggy *Pomadasys stridens* (Forsskal, 1775) in the Iskenderun Bay. Hydromedit 2018, 08-11 November 2018, Volos, GREECE, pp 290-294.

Karan, S., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Turan, F., Gürlek, M., ve Turan, C. (2018). Genetic Structure of the European Eel *Anguilla anguilla* with mtDNA Sequencing Analysis. I. Zeugma International Congress on Multidisciplinary Studies, 13-16 September 2018, Gaziantep, TURKEY, pp 410-412.

Turan, C., Gürlek, M., Ergüden, D., **Uyan, A.**, Karan, S., ve Doğdu, S. A. (2017). Assessing DNA Barcodes for Identification of Pufferfish Species (Tetraodontidae) in Turkish Marine Waters. International Symposium on Pufferfish, 13-14 October 2017, Bodrum, TURKEY.

Eken, M., Aydın, F., Turan, F., ve **Uyan, A.** (2017). Bioaccumulation of Some Heavy Metals on Silver-cheeked Toadfish (*Lagocephalus sceleratus*) from Antalya Bay, Turkey. International Symposium on Pufferfish, 13-14 October 2017, Bodrum, TURKEY.

Ergüden, D., Kabaklı, F., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Karan, S., Gürlek, M., ve Turan, C. (2017). New Record of Diamondback Puffer *Lagocephalus guentheri* Miranda Ribeiro, 1915 from the North-eastern Mediterranean, Turkey. International Symposium on Pufferfish, 13-14 October 2017, Bodrum, TURKEY.

**Uyan, A.**, Gürlek, M., Karan, S., Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2017). Determination of Population Parameters of the Tub Gurnard, *Chelidonichthys lucerna* (Triglidae) from the Iskenderun Bay, North eastern Mediterranean. Symposium on EuroAsian



- Biodiversity (SEAB), 05-08 July 2017, Minsk, BELARUS.
- Turan, C., Gürlek, M., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2017). Some Biological Characteristics of the White Grouper *Epinephelus aeneus* from the Iskenderun Bay, Northeastern Mediterranean. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), 05-08 July 2017, Minsk, BELARUS.
- Gürlek, M., Ergüden, D., Yağlıoğlu, D., Öztürk, B., Karan, S., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2017). Molecular Systematic Analysis of the Species of Triglidae Family in the Mediterranean Sea. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), 05-08 July 2017, Minsk, BELARUS.
- Gürlek, M., Turan, C., Karan, S., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2017). Length-Weight Relationship and Growth Features of the Red Gurnard *Chelidonichthys cuculus* (Triglidae) from Izmir Bay, Aegean Sea. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), 05-08 July 2017, Minsk, BELARUS.
- Karan, S., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., Gürlek, M., ve Turan, C. (2017). Population Parameters of the Black Sea Brill *Scophthalmus maeoticus* (Pleuronectiformes, Scophthalmidae) From Duzce, West Black Sea. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), 05-08 July 2017, Minsk, BELARUS.
- Turan, C., Ivanova, P., Gürlek, M., Ergüden, D., Yağlıoğlu, D., Karan, S., Doğdu, S. A., **Uyan, A.**, Öztürk, B., Nikolov, V., Raykov, V., Dobrovolov, I., Khanaychenko, A., ve Giragosov, V. (2016). Microsatellite and MtDNA Sequence Analysis of Turbot *Scophthalmus maximus* Populations from the Black and Marmara Seas. Annual Symposium of the Fisheries Society of the British Isles, 18-22 July 2016, Bangor, ENGLAND.
- Yağlıoğlu, D., Ayas, D., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2016). Morphometric Differences Between *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) Populations from Mediterranean and Aegean Sea. International Grouper Workshop, 07-08 October 2016, Bodrum, TURKEY.
- Turan, C., Ergüden, D., Gürlek, M., Yağlıoğlu, D., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2016). Population Genetic Analysis of Grouper Species (*Epinephelus* spp.) in Turkish Seas. International Grouper Workshop, 07-08 October 2016, Bodrum, TURKEY.
- Turan, C., Ergüden, D., Gürlek, M., **Uyan, A.**, ve Doğdu, S. A. (2016). Barcoding and Genetic Diversity Pattern of Groupers (*Epinephelus* spp.) from Turkish Marine Waters. International Grouper Workshop, 07-08 October 2016, Bodrum, TURKEY.
- Gürlek, M., Ergüden, D., Yağlıoğlu, D., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2016).

Genetic Characterization of Populations of White Grouper *Ephinephelus aeneus* from the Aegean and Mediterranean Coasts of Turkey Through Analyses of mtDNA. International Grouper Workshop, 07-08 October 2016, Bodrum, TURKEY.

Ergüden, D., Gürlek, M., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Turan, C. (2016). Population Genetic Analysis of the Dusky Grouper *Epinephelus marginatus* Using Sequence Analysis of mtDNA D-loop and Cyt b Regions. International Grouper Workshop, 07-08 October 2016, Bodrum, TURKEY.

Turan, C., Gürlek, M., Ergüden, D., **Uyan, A.**, Doğdu, S. A., ve Karan, S. (2015). Distribution and Abundance Status of Gurnard Species in Turkish Marine Waters. 2nd Symposium on Fish Introduction and Reservoir Management, 20-22 May 2015, Eğirdir, TURKEY, pp 274.

İşçimen, B., Kutlu, Y., **Uyan, A.**, ve Turan, C. (2015). Classification of Fish Species With Two Dorsal Fins Using Centroid-Contour Distance. SIU-2015, 16-19 May 2015, Malatya, TURKEY, pp 1878-1881.

Turan, C., Ergüden, D., Gürlek, M., Sönmez, B., Doğdu, S. A., Uygur, N., Sakallı, U., **Uyan, A.**, ve Karan, S. (2014). Suggestion of a Marine Protected Area in the Northeastern Mediterranean Coast of Turkey. 17th Underwater Science and Technology Meeting, 14-16 November 2014, Istanbul, TURKEY, pp 31-42.

Turan, C., Öksüz, A., Gürlek, M., **Uyan, A.**, ve Karan, S. (2014). Stock structure of analysis of Turbot *Scophthalmus maximus* using Otolith chemistry, 10th International Hydrogeological Congress, 8-10 October 2014, Thessaloniki, GREECE, pp 723-728.

Turan, C., Gürlek, M., Ergüden, D., Seyhan, D., Reyhaniye, A. N., ve **Uyan, A.** (2013). Microsatellite loci for Atlantic bonito *Sarda sarda*. 40th CIESM Congress, 15 April 2013, Marseille, FRANCE, 28, 704.

#### **Yazılan ulusal/uluslararası kitaplardaki bölümler:**

Turan, C., **Uyan, A.**, Karan, S., Doğdu, S. A. (2016). Genetic Studies in Turkish Marine Waters of The Mediterranean Sea. In: Turan, C., Salihoğlu, B., Özbek, E.Ö., Öztürk, B. (Eds.), The Turkish Part of the Mediterranean Sea Marine Biodiversity Fisheries Conservation and Governance. Turkish Marine Research Foundation, Istanbul, TURKEY, pp. 440-461.

#### **Hobiler**

Gitar çalmak, müzik dinlemek, seyahat etmek, yüzmek

## DİZİN

**A**

Antibakteriyel · iv, v, viii, ix, x, xii, xiii, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 24, 28, 31, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 67, 68, 69, 71, 72, 73, 74, 75, 79, 80, 81

Antifungal · iv, v, vi, vii, viii, ix, x, xiv, xv, 4, 5, 6, 7, 12, 13, 24, 26, 27, 28, 31, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 75, 76, 77, 79, 80, 81

Antikanserojen · v, ix, x, 4, 6, 7, 13, 14, 28, 31, 66, 67, 68, 69, 77, 78, 79

**B**

*Bacillus subtilis* · iv, vi, 6, 9, 10, 11, 24, 71, 79

Biyomateryal · 1, 2, 79, 80, 81

Bradford analizi · iv, ix, x, 6, 19, 20, 31, 67, 79

**C**

*Candida albicans* · iv, vi, 6, 12, 13, 26, 75, 79

*Candida parapsilosis* · iv, vi, 6, 26, 75, 79

**D**

*Dasyatis marmorata* · iv, vi, xvi, 5, 6, 15, 19, 23, 24, 26, 27, 31, 32, 44, 58, 67, 71, 75, 79, 81

*Dasyatis pastinaca* · xvi, 6, 11, 13, 15, 16, 32, 46, 60, 72, 73, 74, 76, 77

Denizel biyomateryal · 1, 2

Denizel biyoteknoloji · 1, 2

Disk difüzyon analizi · x, 39, 54, 71, 75

DmH · xii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 43, 44, 54, 55, 57, 58, 71, 73, 76

DmS · xii, xiv, xvii, 24, 29, 30, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 54, 55, 57, 59, 72, 73, 75

DmAA · iv, xiii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 54, 55, 56, 57, 59, 71, 73, 74, 75, 76

DpH · xiii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 43, 44, 47, 54, 55, 57, 60, 71, 73, 76

DpS · xiii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 41, 43, 44, 47, 54, 55, 57, 61, 72, 73

DpAA · xiii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 48, 54, 55, 57, 61, 73, 74, 76

**E**

*Enterococcus faecalis* · iv, vi, 11, 12, 24, 71, 79

Epidermal mukus · iv, v, xi, xii, xiv, xvi, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 80

*Escherichia coli* · iv, vi, 6, 9, 10, 11, 12, 24, 71, 79

**G**

*Gymnura altavela* · iv, vi, xvi, 5, 6, 15, 16, 17, 19, 23, 24, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 48, 62, 66, 67, 71, 75, 77, 79, 81

GaH · xiii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 41, 43, 44, 49, 54, 55, 57, 62, 71, 73, 76

GaS · xiii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 43, 44, 50, 54, 55, 57, 63, 72, 73, 75

GaAA · iv, xiii, xiv, xvii, 24, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 51, 54, 55, 56, 57, 63, 71, 73, 74, 75, 76

GC/MS · iv, vi, ix, x, xi, xii, xvi, xvii, 6, 8, 9, 19, 20, 21, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 67, 68, 69

**H**

HPLC · iv, vi, ix, x, xi, xii, xvi, xvii, 6, 8, 9, 19, 21, 22, 23, 39, 67, 70, 71, 79, 80

**İ**

İnhibisyon zon çapı · iv, 39, 40, 54, 55, 71, 72, 73, 76

**K**

*Klebsiella pneumoniae* · iv, vi, 6, 9, 10, 11, 12, 24, 71, 79

**M**

MİK · iv, xi, xvii, 10, 11, 13, 26, 27, 39, 42, 43, 54, 56, 57, 73, 76, 77

MTT · v, vii, xvii, 6, 29, 30, 66, 67, 79

**R**

*Raja miraletus* · iv, vi, xvi, 6, 15, 17, 18, 19

23, 24, 26, 27, 31, 32, 51, 64, 67, 71, 75, 79, 81

RmH · xiii, xv, xvii, 24, 39, 40, 43, 44, 52, 54, 55, 57, 64, 71, 73, 76

RmS · xiii, xv, xvii, 24, 39, 40, 43, 44, 53, 54, 55, 57, 65, 72, 73, 75

RmAA · xiii, xv, xvii, 24, 39, 40, 43, 44, 54, 55, 56, 57, 65, 73, 74, 76

**S**

Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Analizi · iv, x, 24, 26, 27, 42, 56, 73, 76, 79

**Y**

Yüzde inhibisyon · 26, 27, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65



**TEKNOVERSİTE**



teknoversite **AYRICALIĞINDASINIZ**

**İSTE**

