

BİLİMİN DOĞASI ÜZERİNE BİR İNCELEME

EDİTÖR

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU

YAZARLAR

Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK

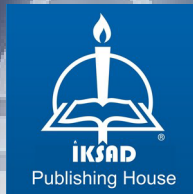
Prof. Dr. Seyit AYDIN

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU

Dr. Öğr. Üyesi Yıldırım PALABIYIK

Arş. Gör. Kübra ŞENER

Jeo. Yük. Müh. Adil ÖZDEMİR



BİLİMİN DOĞASI ÜZERİNE BİR İNCELEME

EDİTÖR

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU

YAZARLAR

Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK

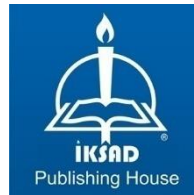
Prof. Dr. Seyit AYDIN

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU

Dr. Öğr. Üyesi Yıldırım PALABIYIK

Arş. Gör. Kübra ŞENER

Jeo. Yük. Müh. Adil ÖZDEMİR



Copyright © 2020 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced,
distributed or transmitted in any form or by
any means, including photocopying, recording or other electronic or
mechanical methods, without the prior written permission of the publisher,
except in the case of
brief quotations embodied in critical reviews and certain other
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic
Development and Social
Researches Publications®
(The Licence Number of Pubicator: 2014/31220)
TURKEY TR: +90 342 606 06 75
USA: +1 631 685 0 853
E mail: iksadyayinevi@gmail.com
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.
Iksad Publications – 2020©

ISBN: 978-625-7139-49-6
Cover Design: İbrahim KAYA
October / 2020
Ankara / Turkey
Size = 16 x 24 cm

İÇİNDEKİLER

EDİTÖRDEN

ÖNSÖZ

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU.....1

BÖLÜM 1

ÖĞRENCİLERİN BİYOTEKNOLOJİ İLE İLGİLİ YAKLAŞIMLARI VE BİLGİ SEVİYELERİNİN ÖLÇÜLMESİ

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU
Prof. Dr. Seyit AYDIN3

BÖLÜM 2

REAL TIME PCR: “EŞ ZAMANLI” BİR BAKIŞ

Arş. Gör. Kübra ŞENER31

BÖLÜM 3

AZOT DÖNGÜSÜNDE ROL OYNAYAN TOPRAK MIKROORGANİZMALARI

Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK63

BÖLÜM 4

ORGANİK MADDECE ZENGİN KAYALARIN VE HİDROKARBONLARIN / PETROLLERİN DOĞRUDAN YAŞLARININ, OLUŞUM, GÖÇ VE BİRİKME KOŞULLARININ BELİRLENMESİ İÇİN KULLANILAN İKİ İZOTOP SİSTEMİ:

RE-OS VE İYOT-129 İZOTOPLARI

Jeo. Yük. Müh. Adil ÖZDEMİR
Dr. Öğr. Üyesi Yıldray PALABIYIK85

ÖNSÖZ

Bilim ve teknolojide yaşanan baş döndürücü gelişmeler, yeni uygulama sahalarını da beraberinde getirmiştir. Bu gelişmeler bir taraftan insan hayatını kolaylaştırırken diğer taraftan da bazı endişe ve acabaların da ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bundan hareketle her yeni gelişmede de benzer soru işaretlerinin yaşanması kaçınılmazdır. Bundan hareketle bilimsel ne teknolojik alanda ortaya çıkan yeni uygulamaların ortaya çıkardığı ikilme ve sıkıntılardan çok fazla etkilenmemek için bilgili ve bilinçli olarak hareket edip doğru karar vererek süreci yönetmek gerekir. Dolayısıyla eğitimde bu konuların farklı yönlerden ele alınması sürecin doğru yönetilmesine katkı sağlayacaktır. Bu da kalıcı belgeler bilgilerin yüz yıllarca saklanması ve aktarılmasını sağlayan bilimsel çalışmaların yer aldığı kitapların önemini artırmaktadır. Farklı alternatif ve gelişmeler olsa da gelecekte de yazılı kaynakların önemini koruyacağı bilinen bir gerçektir.

“Bilimin Doğası Üzerine Bir İnceleme” kitabı fen ve sosyal alanlarda çalışma ve araştırma yapan, ilgilenen öğretmen, akademisyen ve araştırmacılara katkıda bulunmak amacıyla hazırlanmıştır. Kitapta ele alınan konu ve uygulamalar teorik bilgilerle birlikte açıklanmaya çalışılarak araştırmacılar için örnekler teşkil edilmesi hedeflenilmiştir. İksad Yayınevi, kendi adını taşıyan akademik çalışmalar serisiyle Türkçe ve İngilizce olarak, uluslararası nitelik ve nicelikte, kitap yayımlama süreciyle her yıl belirli aylarda yayınlanan tematik alt başlıklardaki çalışmalara yer verilmektedir. Bu anlamda yayın sürecini destekleyen tüm hocalarımıza ve arka planda yer alan herkese teşekkür borçluyuz.

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU

BÖLÜM 1

ÖĞRENCİLERİN BİYOTEKNOLOJİ İLE İLGİLİ YAKLAŞIMLARI VE BİLGİ SEVİYELERİNİN ÖLÇÜLMESİ*

Dr. Öğr. Üyesi M. Said DOĞRU¹
Prof. Dr. Seyit AYDIN²

¹ *Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Kastamonu Üniversitesi, Araç Rafet Vergili MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Kastamonu, Türkiye, msaid.dogru@yahoo.com <https://orcid.org/0000-0002-9516-1442>

² Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu, Türkiye, saydin@kastamonu.edu.tr

GİRİŞ

Günümüzdeki baş döndürücü teknolojik ve bilimsel gelişmelere paralel olarak biyoteknoloji de de çok hızlı ilerlemeler ve insan hayatını ilgilendiren çok önemli gelişmeler olmaktadır. Özellikle de canlı hayatıyla ilgili eczacılık, tıp veterinerlik, ziraat vb. alanlarda önemli yenilikler getirdiği görülmektedir. Son yıllarda hiv, sars mers ebola ve özellikle corona virüslerinin ortaya çıkması tüm dünyayı etkilemiş ve çalışmalar bu alanda birinci sıradan yer almış durumdadır. Bu gelişmelerin İnsanlık için çok önemli faydalarının yanı sıra, art niyetle kullanılabileceği de göz ardı edilmemelidir. Buda insan ve dünya hayatı için önemli tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle ülkelerin tanı tedavi aşılama vs. konularında hazırlıklı olmaları, gerekli alt yapı teknolojik çalışmaların yapılması, desteklenmesi, geleceğimizin sahipleri olan öğrencilerin biyoteknoloji hakkında ilköğretimden itibaren çok iyi eğitilmeleri, doğabilecek risklere karşıda hazırlıklı hale getirilmeleri gerekmektedir. Konu eğitimde ilk olarak ilköğretim 8. ilköğretim Sınıf Fen ve Teknoloji Dersi müfredatında Hücre Bölünmesi ve Kalıtım ünitesinin alt konularından biri olarak genetik mühendisliği ve biyoteknoloji adı altında yer almaktadır. Ancak müfredattaki yerinin yetersiz olduğu ve içeriğinin güncellenmediği görülmektedir (Altıparmak 2005, Güran 2005).

Biyoteknoloji, bilim adamlarınca genel olarak, biyolojik sistemlerle genetik mühendisliğinin birbiriyle kaynaşması sonucu oluşan bir bilim olarak ifade edilmektedir (France 2007). Ayrıca biyoteknoloji, hücrelerin ve doku kültürlerinin, mikroorganizmaların ve bunların

farklı kısımlarının teknik uygulama potansiyelinden faydalanarak biyokimya, mikrobiyoloji ve mühendislik bilimlerinin birleşik bir uygulaması olarak da tanımlanmaktadır (Çırakoğlu 2002, Kıymaz ve Tarakçıoğlu 2002). Güven'e (1999) göre ise biyoteknoloji, temel bilimlerin ve mühendislik ilkelerinin, hammaddelerin biyolojik araçlar yardımıyla ürünlerin değiştirildiği süreçlere uygulanan teknolojiye denir. Bu nedenle biyoteknoloji disiplinler arası bir bilimdir. Kimya, biyoloji ve mühendisliğin bir birleşimi olarak ortaya çıkmaktadır (Güven, 1999).

Diğer taraftan biyoteknoloji; moleküler biyoloji, biyokimya, bağışıklık sistemi bilimi, genetik ve kimya mühendisliği alanlarını kapsayan ekonomik ve sosyal yönleri olan, günümüzde hızla gelişen önemli bir alandır. Bu gelişmeler aynı zamanda gıda ve ilaç sektöründe de önemli bir aşamadır. Tek bir DNA ile insanların kimlikleri artık kolayca çözülebilmektedir. Biyoteknoloji bu benzeri yönleri ile insan ve toplum hayatını en öncelikli etkileyen gelişmeler kaydetmektedir. Ülkelerin ve milletlerin, bu gelişmeler karşısında kayıtsız kalmaları düşünülemez. Bu nedenle toplum ve bireylerin bilinçlendirilmesi, aydınlatılması önem arz etmektedir. Bununda başında eğitim gelmektedir. Diğer taraftan bilimsel alanda üstünlüğü elinde tutmak isteyen Avrupa Topluluğu, bu konuya özel önem vererek, hazırlamış olduğu 6. Çerçeve programında biyoteknolojinin desteklenmesini gerekli ana başlıklar içine almıştır. Türkiye de bu programa finans desteği yapmakta ve TÜBİTAK ve diğer kurumların projeleri ile ARGE çalışmalarında, aktif olarak yer almaktadır (TÜSİAD 2004,

Güran 2005). Ayrıca günümüzde patlak veren virüs salgını biyoteknoloji alanında yapılması gereken çalışmaları tüm dünyanın birinci gündem maddesi yapmıştır.

Yukarıda da açıklandığı üzere yarının büyükleri olan öğrencilerin bu konudaki tutumlarının belirlenmesi ve değerlendirilmesi gelecek için önemlidir. Bu nedenle öğrencilerin, bu durumlarını belirlemek üzere araştırmalar ve çalışmalar yapılmaktadır (Dawson ve Soames, 2006; Lock ve Miles, 1993; Prokop, Leškova, Kubiato, Diran, 2007). Bunlardan birisi Rio de Janeiro’da lise öğrencileriyle nitel ve nicel metodla ölçek uygulamasıyla ve grup çalışması olarak yapılmış. Ölçekle biyoteknolojiye karşı tutumları, yararları, riskleri, etikliği, desteklenme durumu, grup çalışmasıyla da düşünce durumları, bilgi ve görüşlerinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir. Diğer taraftan, konu ile ilgili karşılaşma çalışması da Tayvan ve Büyük Britanya dan 336 örneklem grubu öğrenciyle yapılmış. Öğrencilerin konuyla ilgili bilgileri açık uçlu sorularla, tutumları da bir ölçekle belirlenmiştir (Chen ve Raffan, 1999).

Bizde de son yıllarda öğrencilerin konuyla ilgili tutum ve görüşlerinin belirlenmesi amaçlı çalışmalar yapıldığı görülmektedir. Buna örnek olarak, kişilerin biyoteknoloji ye yönelik bilgi, düşünce ve algılarını ölçmek için 670 rastgele belirlene öğrenciyle bir çalışma yapılmış. Biyoteknolojinin tarımda uygulanması, genetik değiştirme sorularak, öğrencilerin bilgileri, tutumları, riskleri, hakkında bilgi alınmaya çalışılmıştır. Öğrencilerden yarından azı bunu ilk defa duyduklarını, bir kısmı, genetiğiyle oynanmış gıdaların riskli olduğunu, çoğunluğu bu

gıdaların etiketlenmesi gerektiğini belirtmişlerdir (Başaran ve diğ., 2004).

Yukardaki gelişmelerden hareketle bu bilgilerin temelini atıldığı kesim olan ortaokul 8. Sınıf öğrencileriyle biyoteknolojiye yönelik ilgi ve tutumlarının belirlenmesi ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Buradan yola çıkarak, biyoteknoloji dersini almış olan öğrenciler ile almamış olan öğrencilerin biyoteknoloji çalışmaları ile ilgili tutumları tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla araştırmada aşağıdaki sorulara yanıt aranmıştır:

1. Öğrencilerin biyoteknoloji çalışmalarına karşı görüşleri veya yaklaşımları nasıldır?
2. Öğrencilerin biyoteknoloji çalışmalarına olan görüş ve yaklaşımlarında çevre, aile, cinsiyet, öğretmen ve öğretme metodu etkili midir?

Araştırmamızın biyoteknolojinin ilk olarak öğrenildiği kesim olan Ortaokul öğrencileriyle yapılması, bundan sonra öğrenilecek bilgilere temel oluşturması ve oluşacak yanlış ve eksiklerin ileride telafisinin zor olması açısından önemlidir (Yates ve Marek, 2014; Balcı ve Yenice, 2016).

İşte bütün bunlardan hareketle bu çalışmanın amacı, ilköğretim 8. sınıf Fen ve Teknoloji dersi konularından biri olan biyoteknolojiye karşı öğrencilerin, ilgi, tutum ve bilgilerinin araştırılmasıdır. Bu kapsamda öğrencilerin biyoteknoloji ve biyoteknolojinin alt konularından olan genetik mühendisliği, genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO),

klonlama ile ilgili konularda kompozisyon yazmaları istenmiş ve bu çalışma sonucunda öğrencilerin biyoteknolojiye karşı tutumlarını ölçen sorular araştırmacı tarafından oluşturulmuştur. Oluşturulan bu sorular, anket haline getirilerek uygulanmıştır. Aynı zamanda bu öğrencilerinin, biyoteknoloji başarı testi ile bilgi seviyelerinin de ölçülmüştür. Bunun yanı sıra öğrencilerin biyoteknoloji görüşleri ile başarıları arasında bir ilişki olup olmadığına da bakılmıştır. Anketler, öğrencilere uygulandıktan sonraki sonuçlar istatistiksel (SPSS) olarak analiz edilmiştir.

Yöntem

Araştırma 2010-2011 eğitim-öğretim yılında İzmir ilinde bulunan 6 devlet ortaokulunda öğrenim gören sekizinci sınıf öğrencilerine uygulanmıştır. Ölçek uygulamasına toplamda 350 öğrenci katılmıştır.

Öğrencilerden veri toplamak için ortaokul sekizinci sınıf öğrencilerin Fen ve Teknoloji dersinde okutulan Hücre Bölünmesi ve Kalıtım ünitesinde geçen biyoteknoloji konusuna ilişkin görüşlerini ölçen ve araştırmacı tarafından geliştirilen; Cronbach Alfa iç tutarlık katsayısı $\alpha = 0,9270$ olan güvenirliği ve geçerliliği uzman görüşleriyle ve istatistiksel olarak ispatlanmış, 13'ü olumlu 11'i olumsuz olmak üzere toplam 24 sorudan oluşan 5'li likert tipi bir ölçek kullanılmıştır.

Tutum maddeleri oluşturulurken bazı aşamalara dikkat edilmiştir (Karasar 1999, Nuhoglu ve Yalçın 2004). İlköğretim sekizinci sınıflarda Fen ve Teknoloji dersinde okutulan Hücre Bölünmesi ve Kalıtım ünitesinde geçen biyoteknoloji ve biyoteknolojinin alt konuları olan klonlama, genetik mühendisliği, genetiği değiştirilmiş

organizmalar (GDO), biyoteknolojik aşı ve mikrobiyoloji konularına yönelik olup tutum ölçeği hazırlamaya öğrenci görüşlerini belirlemeyle başlanmıştır. Bu konuda geniş çaplı literatür araştırması yapılarak araştırmacı tarafından dokuz açık uçlu soru oluşturulup 100 öğrenciden kompozisyon şeklinde cevap vermeleri istenmiştir. Toplanan kompozisyonlara içerik analizi uygulanarak, tutum konusu ile doğrudan ilgili veya ilgili olduğu kabul edilen olumlu olumsuz çok sayıda tutum maddesi derlenmiştir.

Tutum maddeleri oluşturulurken;

1. Bütün maddeler olumlu ve olumsuz olarak ifade edilip, olgusal ifadelerin olmaması yönünde gerekli kontroller yapılmıştır.
2. Ölçek maddeleri sade ve anlaşılır bir dille ifade edilmiştir. Bir maddede birden fazla yargı/düşünce/duyuş olmamasına dikkat edilmiştir.
3. Tutum maddelerinin yarısı olumlu yarısı olumsuz olacak şekilde düzenlenmiştir.
4. Ölçekte kullanılan olumlu maddeler için ‘tamamen katılıyorum’ ve ‘genellikle katılıyorum’ ifadeleri, olumsuz maddeler içinse ‘orta derecede katılıyorum’ ve ‘hiç katılmıyorum’ ifadeleri kullanılmıştır. Olumlu ve olumsuz bir fikir içermeyen maddeler için ise ‘orta derecede katılıyorum’ ifadesi kullanılmıştır (Karasar 1999, Tavşancıl 2002, Nuhoğlu ve Yalçın 2004).

Geliştirilen taslak ölçek, bu alanda uzman 13 kişiye ve 5 dil uzmanına da içerik anlam ve dil yönünden incelettirilmiştir.

Tutum maddelerini içeren anket, yukarıda ifade edilen işlemlerden geçtikten sonra, ön denemesi ilk olarak 54 tutum maddesi halinde hazırlanmış ve 410 ilköğretim 8. sınıf öğrencisine uygulanmıştır. Ön uygulamadan elde edilen veriler SPSS programı ile analiz edilerek güvenilirliği belirlenmiştir.

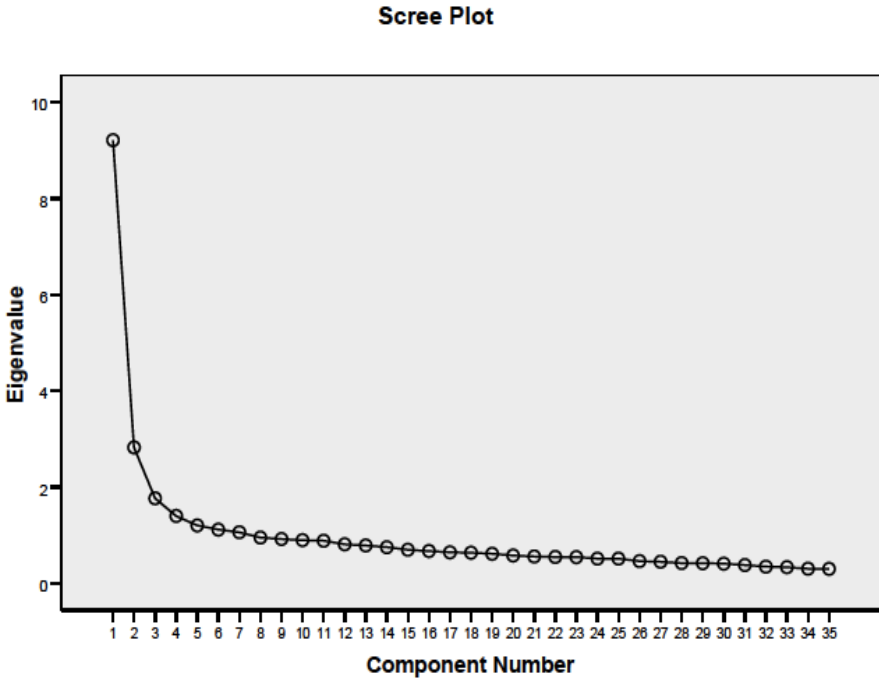
Uzman görüşüne dayanılarak hazırlanan taslak ölçek, aynı zamanda eğitim istatistiği alanında deneyimli olan 3 uzmana kontrol ettirilmiştir. Geliştirilen ölçeğin yapı geçerliliği için faktör analizi yapılmıştır. Tutum ölçeği madde analiz çözümlemesi Varimax Faktör Analizi ile yapılan dik döndürme işlemi sonunda, ölçeğin iki boyutlu olduğuna karar verilmiştir. Bu durumu daha net görmek amacıyla Cattell'in "Scree Plot" sınaması yapılarak maksimumum manidar faktör sayısı ile ilgili olarak aşağıdaki grafik elde edilmiştir. Ayrıca geçerlik çalışmalarının ilk aşaması olarak, ölçme aracının uygulanması sonucu elde edilen verilerin örneklem grubuna uygunluğunu inceleyen KMO ve Bartlett's Test tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Örneklemin Yeterlilik Düzeyi ve Bartlett's Testi Sonuçları

Örneklemin Yeterlilik Düzeyi(KMO)	,908
Bartlett's Test'inin korelasyon ilişkisi	
Sig.	,000

Yukarıdaki tabloya bakıldığında, $p(\text{sign.})=0,000<0,05$ olduğundan Bartlett testinin sonucu anlamlıdır. Buradan değişkenler arasında yüksek korelasyonlar mevcuttur ve veriler çoklu normal dağılımdan gelmiş demektir. KMO (Kaiser- Meyer- Olkin) değeri ise örneklem yeterliliğini ölçer. Bu testin değeri ne kadar yüksek çıkarsa örneklemin büyüklüğünde o kadar iyi olduğunu gösterir. Yukarıdaki tablodaki KMO katsayısı 0,908 olduğundan sonuç mükemmeldir. Bu sebeple, araştırmada örnek büyüklüğü yeterlidir.

Yapılan istatistik sonucu aşağıdaki gösterilen Resim 1'den elde edilmiştir.



Şekil 1: Scree Plot Sınama Grafiği

Grafikte dikey eksen özdeğer miktarlarını, yatay eksen ise faktörleri göstermektedir. Grafik faktörlerin öz değerleriyle eşleştirilmesi sonucunda bulunan noktaların eşleştirilmesiyle elde edilir. Grafikte yüksek ivmeli, hızlı düşüşlerin yaşandığı faktör önemli faktör sayısını vermektedir. Yatay çizgiler faktörlerin getirdikleri ek varyansların katkılarının birbirine yakın olduğunu göstermektedir (Büyüköztürk 2002). “Scree Plot” sınama grafiğinde (Resim 1), grafik eğrisinin hızlı bir düşüş gösterdiği nokta birinci ve ikinci faktörlerin olduğu yerlerdir. Bu yüzden ölçek iki faktörlüdür denilebilir (Field 2005, Olivares et al. 2010). 54 tutum maddesinden 27 tanesinin (1., 2., 3., 6., 9., 22., 23., 24., 25., 26., 27., 28., 29., 30., 31., 32., 34., 35., 37., 39., 43., 46., 47., 49., 51., 52. ve 54. maddeler) çıkartılması, anketin güvenilirliği açısından önemli olduğundan bu maddeler çıkartılmıştır. Ayrıca yukarıdaki şekilde de görüldüğü gibi ölçek iki faktörlü olduğu için çıkarılan 27 madde iki faktörün dışında kalmaktadır. Yani bu maddeler hem 7. ve 8. faktörlerde bulunuyor hem de yük değerleri itibariyle de çok düşük kalmaktadır.

Yukarıdaki grafiğe bakıldığında dönüşümlü (rotasyonlu) faktör yükleri hesaplanan maddelerden yapılan analizler sonucunda bazı maddelerin ölçekten çıkartılması gerektiği ortaya çıkmıştır. Buradaki maddeler ölçekten çıkartılırken ölçeğin kaç boyutlu olduğu ve anlamlılık değerinin yani 0.450 değeri dikkate alınmıştır (Balcı 1995, Karagöz ve Kösterelioğlu 2008). Ölçek, yukarıda da şekil 3.1’deki Scree Plot Sınama Grafiği’nde gösterildiği gibi iki boyutlu olup ilk birinci ve ikinci boyutun üstündeki boyutlar yani üçüncü, dördüncü,

beşinci, altıncı, yedinci, sekizinci ve üstü boyutlarındaki değerler kabul edilmemiş ve maddeler elenirken bu boyutlardaki değerlere dikkat ve ölçeğin güvenilirliği ve geçerliliğinin artması için ölçekten çıkartılmıştır.

Ölçekten çıkartılması gereken maddeler anketten çıkartıldıktan sonra tekrar anket faktör analizi yapılmıştır.

Sonuç olarak ilköretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji konularındaki görüşlerini inceleyen 24 soruluk ölçek iki boyutlu olarak ortaya çıkmıştır. Yukarıdaki izahı yapılan ve niçin ölçekten çıkartılması gerektiği vurgulanan 1., 2., 3., 6., 9., 22., 23., 24., 25., 26., 27., 28., 29., 30., 31., 32., 34., 35., 37., 39., 43., 46., 47., 49., 51., 52. ve 54. sorular ölçekten çıkartılarak asıl uygulama yapılmıştır. Kalan sorular 4., 5., 7., 10., 11., 12., 14., 15., 16., 17., 18., 19., 20., 21., 33., 36., 38., 40., 41., 42., 44., 45., 48. ve 50. sorulardır.

Üçüncü grup anket ise biyoteknoloji başarı testi olup, öğrencilerin biyoteknoloji görüş anketi ile ilişkilendirilmek üzere ilköğretim 8. sınıf kitapları kaynak olarak kullanılıp, konu ile ilgili literatürler ve alanında uzman öğreticilerin önerileri dikkate alınarak hazırlanmıştır. Daha sonra tez yöneticisi ve uzmanların görüşü alınıp 20 soruluk biyoteknoloji başarı testi oluşturulmuştur.

Verilerin analizinde, bağımsız t-testi, frekans ve yüzde oranları ve ilişkisiz örneklemeler için tek faktörlü varyans analizi (One-Way Anova) kullanılmıştır.

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerin biyoteknoloji konularındaki görüşlerini ve ilgilerini tespit etmek amacı ile uygulanan ‘Biyoteknoloji Konusunda Öğrenci Görüşleri Anketi’ sonuçlarının yüzde ve frekans değerleri bulunmuştur. İlköğretim 8. sınıf öğrencilerin biyoteknoloji görüş anketinin puanlarının, cinsiyete göre farklılık gösterip göstermediğinin tespiti, annesinin ve babasının mesleğine göre farklılık gösterip göstermediğinin tespiti ve Fen ve Teknoloji Ders’inin dışında okutulan diğer derslerde biyoteknolojiye ilişkin örnekler verilip verilmediğine göre farklılık gösterip göstermediğinin tespiti için bağımsız t-testinden yararlanılmıştır. İlişkisiz iki veya ikiden fazla örneklem ortalaması arasındaki farkın sıfırdan anlamlı bir şekilde farklı olup olmadığını test etmek için tek faktörlü (yönlü) varyans analizi kullanılmıştır (Büyüköztürk 2002).

1. BULGULAR

Bu bölümde, araştırmanın giriş kısmında da ifade edildiği gibi ilköğretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji ve biyoteknolojinin alt konuları olan klonlama, genetiği değiştirilmiş organizma (GDO), biyoteknolojik aşı, genetik mühendisliği ve mikrobiyoloji konularına karşı yaklaşımları kişisel bilgileri, tutum ölçeği ile başarı testi aralarındaki ilişkiler incelenmiştir. Bulgular 0.05 anlamlılık düzeyinde bağımsız t-testi ve ilişkisiz örneklem için tek faktörlü varyans analizi (One-Way Anova) kullanılarak test edilmiştir.

2.1. Biyoteknoloji Görüş Anketine ve Başarı Testine Katılan Öğrenci Bilgileri ile ilgili Bulgular

Ankete katılan öğrencilerinin kaç kişi oldukları ve bunların cinsiyetleri ile ilgili yüzde değerlerini içermektedir.

Tablo 2: Öğrencilerin Yüzde ve Frekans Değerleri

Cinsiyet	f	%	Geçerli %	Yığılmalı %
Kız	181	51,7	51,7	51,7
Erkek	169	48,3	48,3	100,0
Toplam	350	100,0	100,0	

Yukarıdaki tabloda da görüldüğü üzere ankete katılan örneklem grubu 181’i (%51,7) kız; 169’u (%48,3) erkek olmak üzere toplam 350 öğrenciden oluşmaktadır.

1.2. İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji İle İlgili Görüşleri

Öğrencilerin biyoteknoloji ve biyoteknolojinin alt konuları olan genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO), klonlama, genetik mühendisliği, biyoteknolojik aşı, mikrobiyoloji konularındaki görüşleri ve ilgileri “Biyoteknoloji Öğrenci Görüşleri Anketi” ile tespit edilmiştir. Öğrencilerin biyoteknoloji görüşleri puanlarının tespitinde betimsel istatistiksel yöntemlerden yararlanılmıştır. Biyoteknoloji öğrenci görüş anketinden alınabilecek en düşük puan 24 iken, en yüksek puan 120’dir. İlköğretim 8.sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji öğrenci görüş anketi ölçeğine verdikleri cevaplar

sonucunda, biyoteknoloji öğrenci görüş anketi puan ortalaması ve serbestlik derecesi değerleri Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3: İlköğretim 8.sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji Öğrenci Görüşleri İle İlgili Puan Ortalaması ve Sd Değeri

	N	X	Sd
Biyoteknoloji Konusunda Öğrenci Görüşleri Anketi	3	76,6	16,9
Toplam Puanı	5	62	30
	0		

Yukarıdaki tabloda da görüldüğü gibi öğrenci görüşleri anketi toplam puan ortalaması 76,662 bulunmuştur. Genel olarak öğrencilerin yaklaşık % 64’ünün biyoteknolojiye karşı olumlu görüş bildirdikleri görülmüştür.

1.3. İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji Konularındaki Başarı Durumları

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji konularındaki başarı durumları, “Biyoteknoloji Başarı Testi” ile tespit edilmiştir. Biyoteknoloji konularındaki başarı puanlarının tespitinde betimsel istatistiksel yöntemlerden yararlanılmıştır. Biyoteknoloji başarı testinden alınabilecek en düşük puan 0 iken, en yüksek puan 100’dür. Öğrencilerin biyoteknoloji başarı testi ölçeğine verdikleri cevaplar sonucunda, biyoteknoloji bilgi seviye testi puan ortalama ve serbestlik derecesi değerleri Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4: İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji Başarı Testi Puan Ortalaması Ve Sd Değeri

Değişkenler	N	En Küçük Değer	En Büyük Değer	X	Sd
Biyoteknoloji Başarı Testi Toplam Puanı (Min 0 – Max 100)	350	5,00	100,000	43,942	20,221

Tablo 4'e göre öğrencilerinin biyoteknoloji başarı testi puan ortalamaları 43,942'dir. Başarı puanlarının da (5-100 puan arası) olduğu tespit edilmiştir. Ortalamanın düşük çıkmasının; biyoteknolojinin müfredata yeni konulması, başka bir yerde bilgi bulunmaması ve sadece çevreden duyduğu ya da merak edip araştırdığı kadar bilgi sahibi olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

1.4. İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji İle İlgili Görüşlerinin, Öğrencilerin Cinsiyetlerine Göre İncelenmesi

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji görüş anketinde, cinsiyetlerine göre anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacı ile ilişkisiz (Bağımsız) örneklem t-testi kullanılmıştır. Biyoteknoloji görüş anketi bağımlı değişken olarak belirlenirken, bağımlı değişken üzerinde etkisi test edilen değişken ise cinsiyettir. Bağımsız t-testi sonuçları Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5: İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji Görüş Anketinin, İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Cinsiyetlerine Göre Farklılık Gösterip Göstermediğini İnceleyen T-Testi Sonuçları

Cinsiyet	N	X	S	Sd	t	p
Kadın	181	77.11	16.39	348	0.511	0.609
Erkek	169	76.18	17.52			

Tablo 5’te belirtilen t-testi sonuçlarına göre ($t(348) = 0.511$, $p=0.609>0.05$) p değerinin 0.05’ten büyük olması, ilköğretim 8. sınıf öğrencilerinin cinsiyetlerine göre aralarında anlamlı bir farkın olmadığını göstermektedir.

1.5. İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji İle İlgili Görüşlerinin, Öğrencilerin Ailelerinin Gelir Durumlarına Göre İncelenmesi

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji görüş anketi sonucunun, öğrencilerin ailelerinin gelir durumlarına göre anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacı ile “İlişkisiz Örneklemeler İçin Tek Faktörlü Varyans Analizi (One- Way Anova)” kullanılmıştır. Biyoteknoloji görüş anketi bağımlı değişken olarak belirlenirken, bu değişken ile ilişkili olup olmadığı incelenen değişken ya da faktör, ilköğretim 8. sınıf öğrencilerinin ailelerinin gelir durumlarıdır. Tek Faktörlü Varyans Analizi sonuçları Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6: İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji İle İlgili Görüşlerinin, Öğrencilerin Ailelerinin Gelir Durumlarına Göre Anlamlı Bir Farklılık Olup Olmadığını Gösteren Tek Faktörlü Varyans Analizi Sonuçları

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplararası	468,730	2	234,365	0,816	0,442
Gruplarıçi	99569,486	347	286,943		
Toplam	100038,217	349			

Tablo 6’da belirtilen ilişkisiz örneklemeler için tek faktörlü varyans analizi sonuçlarına göre öğrencilerin biyoteknoloji görüş anketi puanları, ailelerinin gelir durumlarına göre anlamlı bir fark göstermemektedir. Çünkü yukarıdaki tabloya baktığımızda ($F_{(2-347)}=0,816$, $p=0,442>0.05$) p değerinin 0.05’ten büyük olduğu görülüyor.

1.6. İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji ile İlgili Görüşlerinin, Öğrencilerin Ailelerinin Eğitim Durumlarına Göre İncelenmesi

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji ile ilgili görüş anketi puanları, öğrenci ailelerinin eğitim durumlarına göre anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacı ile “İlişkisiz Örneklemeler İçin Tek Faktörlü Varyans Analizi (One-Way Anova)” kullanılmıştır. Araştırma sorusunda bağımlı değişken Öğrencilerin biyoteknoloji görüş anketi puanları iken, bu değişken ile ilişkili olup olmadığı incelenen değişken ya da faktör, öğrencilerin ailelerinin

eğitim durumlarıdır. Tek Faktörlü Varyans Analizi sonuçları Tablo 7 ve 8’de verilmiştir.

Tablo 7: İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji İle İlgili Görüş Anketi Puanları, Öğrencilerinin Annelerinin Eğitim Durumuna Göre Farklılık Gösterip Göstermediğini İnceleyen Tek Faktörlü Varyans Analizi Sonuçları

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplararası	1002,817	2	501,409	1,757	0,174
Gruplarıçi	99035,399	347	285,405		
Toplam	100038,217	349			

Tablo 6’da belirtilen ilişkisiz örneklemeler için tek faktörlü varyans analizi sonuçlarına göre öğrencilerin biyoteknoloji görüş anketi puanları, annelerinin eğitim durumlarına göre anlamlı bir fark göstermemektedir. Çünkü yukarıdaki tabloya baktığımızda ($F_{(2-347)}=1,757, p=0,174>0.05$) p değerinin 0.05’ten büyük olduğu görülüyor.

Tablo 7: İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji Görüş Anketi Puanları, Öğrencilerinin Babalarının Eğitim Durumuna Göre Farklılık Gösterip Göstermediğini İnceleyen Tek Faktörlü Varyans Analizi Sonuçları

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplararası	95,970	2	47,985	0,167	0,846
Gruplarıçi	99942,246	347	288,018		
Toplam	100038,217	349			

Tablo 7’de belirtilen ilişkisiz örneklemeler için tek faktörlü varyans

analizi sonuçlarına göre ilköğretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknoloji görüş anketi puanları, babalarının eğitim durumlarına göre anlamlı bir fark göstermemektedir. Çünkü yukarıdaki tabloya baktığımızda ($F_{(2-347)} = 0,167$, $p=0,846 > 0.05$) p değerinin 0.05'ten büyük olduğu görülüyor.

TARTIŞMA ve SONUÇ

İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerin Biyoteknolojiye İlişkin Görüşlerinin Sonuçları

Araştırma sonuçları, bulgulara yer alan bilgilere ve literatürde yapılan araştırmalara dikkat edilerek hazırlanmıştır. Araştırmaya katılan örneklem grubu 181'i (%51,7) kız; 169'u (%48,3) erkek olmak üzere toplam 350 öğrenciden oluşmaktadır. Araştırmaya katılan öğrencilerin biyoteknolojiye karşı görüş puanları değerlendirildiğinde öğrencilerin biyoteknolojiye karşı olumlu görüşe sahip oldukları bulunmuştur. Saez ve ark. (2007) ve Klop ve ark. (2010), ortaöğretim öğrencilerine yaptıkları çalışmada, öğrencilerin biyoteknolojiye karşı görüşlerinin olumlu olduklarının tespit etmişlerdir. Bulduğumuz sonuç ile yapılan bu çalışmaların sonuçları arasında tutarlı bir ilişkinin olduğu görülmüştür.

İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknoloji Başarı Testi Sonuçları

İlköğretim 8.sınıf öğrencilerine uygulanan biyoteknoloji başarı testi sonuçlarında öğrencilerin başarı testi puanının düşük çıktığı

gözlenmiştir. Bunun sebebi de öğrencilerin biyoteknoloji konusunu okuldan başka hiçbir yerde görmemeleri veya konuya aşina olmamaları ve ilköğretim 8. Sınıflarda okutulan müfredatta biyoteknoloji konusunun yeni yeni yer alması ve konuya yeteri kadar zaman ayrılmaması olarak düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar öğrencilerin biyoteknoloji bilgi seviyelerinin yetersiz olduklarını göstermiştir (Lock and Miles 1993, Chen and Raffan 1999, Severcan vd. 2000, Darçın ve Türkmen 2006). Yapılan çalışmada da öğrencilerin biyoteknoloji bilgi seviyelerinin düşük çıkması göz önünde bulundurulduğunda bu sonucun bulunan sonuç ile tutarlılık gösterdiği söylenebilmektedir.

İlköğretim 8. Sınıf Öğrencilerinin Biyoteknolojiye İlişkin Görüşleri İle Başarıları Arasındaki İlişki

Yukarıdaki Tablo 7’de görüldüğü gibi öğrencilerin biyoteknoloji ilişkin görüşleri ile başarıları arasında anlamlı bir fark çıkmıştır. Yani öğrencilerin başarı puanları arttıkça görüşlerinde de olumlu bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Buradan hareketle biyoteknolojiye karşı olumlu görüş içerisinde olan öğrencilerin biyoteknoloji dersinde de başarılı oldukları görülmüştür.

Öğrenciler üzerine yapılan bir çalışmada, öğrencilerin biyoteknoloji alanında bilgi seviyeleri ve biyoteknolojiye karşı düşünceleri araştırılmıştır. Öğrencilerin bilgi seviyeleriyle biyoteknolojiye karşı bakış açıları arasında olumlu bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir (Prokop et al. 2007). Yapılan çalışmada da benzer sonuçlar

bulunarak; bulduğumuz bu sonuç arasında tutarlılık gösterdiği söylenebilmektedir. İlköğretim 8.sınıf öğrencilerin biyoteknolojiye ilişkin görüşleri, bulgular kısmında belirtildiği gibi demografik özelliklerine göre de incelenmiştir. Bu özellikler sırasıyla şöyledir:

Öğrencilerin Cinsiyetlerine Göre

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerin biyoteknolojiye ilişkin görüşleri, cinsiyetine göre anlamlılık göstermemektedir. Yani uyguladığımız anketin, cinsiyet farkı gözetmeksizin bütün öğrenciler tarafından kolaylıkla cevaplanabildiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada öğrencilerin genetiği değiştirilmiş organizmalara (GDO) ilişkin görüşlerinde cinsiyetlerine göre anlamlılık arz etmediği görülmüştür (Özdemir vd. 2010). Saba ve Vassalo (2002) tarafından yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar çıkmıştır. Yaptığımız çalışmanın sonucu ile yukarıdaki çalışmaların sonuçları karşılaştırıldığında aralarında tutarlı bir ilişkinin olduğu görülmektedir.

Öğrencilerin Ailelerinin Gelir Durumlarına Göre

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerin biyoteknolojiye ilişkin görüşleri, ailelerinin gelir durumlarına göre anlamlılık göstermemektedir. Yani uyguladığımız anketin, zengin fakir bütün aile çocuklarına hitap ettiği görülmüştür. Bu sonucun bu şekilde çıkması, genel itibariyle ilköğretim okullarında okuyan 350 öğrencinin ailelerinin gelirleri orta halli olduğu düşünülürse normal olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada öğrencilerin biyoteknoloji eğitiminin deneyler yardımıyla yapılması hakkındaki görüşlerinin ailelerinin gelir

durumuna göre incelendiğinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Darçın, 2007). Balemen (2009) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlar çıkarak bizim çalışmamızı desteklemiştir.

Öğrencilerin Ailelerinin Eğitim Durumlarına Göre

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerin biyoteknolojiye ilişkin görüşleri, ailelerinin eğitim durumlarına göre anlamlılık göstermemektedir. Öğrencilerin anne ve babaları hangi eğitim düzeyinde olursa olsun öğrenciler üzerinde pek etkili olmadıkları görünmektedir. Bununda biyoteknolojinin ülkemizde daha yeni duyulması haliyle anne babaların konudan pek haberdar olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada ilköğretim ikinci kademe öğrencilerinin Fen Bilgisi dersine yönelik tutumları babalarının ve annelerinin eğitim düzeyine göre değişmediği sonucuna varılmıştır (Genç 2001, Altınok 2005, Külçe 2005). Aslan (2003) yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar çıkarak bizim çalışmamızı desteklemiştir.

Öğrencilerin Ailelerinin Meslek Durumlarına Göre

İlköğretim 8. sınıf öğrencilerinin biyoteknolojiye ilişkin görüşleri, ailelerinin meslek durumlarına göre incelediğimizde sonuçlar farklı çıkmaktadır. Annesi çalışmayan öğrencilerin annesi çalışan öğrencilere göre biyoteknolojiye karşı görüşlerinde anlamlı bir farkın ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Yani Tablo 7’de gösterildiği gibi annesi çalışmayan öğrencilerin biyoteknolojiye karşı görüşleri olumlu bir şekilde artmaktadır. Bu sonucun bu şekilde çıkması, şu

şekilde izah edilebilir: Öğrencinin çevreden özellikle gazete, tv, internet gibi kaynaklardan biyoteknoloji, genetiği değiştirilmiş (GDO), klonlama, genetik mühendisliği gibi haberler, görsel olarak dikkatini çekmekte ve 12-13 yaşındaki bu öğrenciler doğal olarak en yakınlarında bulunan kişilere (buda genellikle annesi olur) sormaktadır. Haliyle biyoteknoloji, genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO), klonlama, genetik mühendisliği gibi konularda önceden bilgilenmiş olur. Bu şekilde biyoteknolojiye ve biyoteknolojinin alt konularına karşı görüşü, yaklaşımı olumlu olarak geliştiği düşünülmektedir. Çalışan anneler ise çocuklarına yeteri kadar zaman ayıramadıkları için çocuklar annelerinden fazla etkilenememektedirler. Bundan dolayı sonucun bu şekilde çıkmış olduğu düşünülmektedir. Babalarının hangi meslekten olduğu fark etmeksizin biyoteknolojiye karşı görüşlerinde herhangi bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir. Külçe (2005), Serin (2001) Sapanıcı'nın (2005) yaptıkları çalışmalarda da benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Yaptığımız çalışma ile yukarıda yapılan çalışmalar arasında anlam bir ilişkinin olduğu görülmektedir.

KAYNAKÇA

- Altınok, H. (2005). Cinsiyet ve başarı durumlarına göre ilköğretim 5. sınıf öğrencilerinin Fen Bilgisi dersine yönelik tutumları. *Eğitim Araştırmaları Dergisi*, 18(81).
- Altıparmak, M. (2005). Rekombinant DNA teknolojisinin öğretiminde interaktif uygulamalar ve biyoetik, yayınlanmamış Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Anabilim Dalı Biyoloji Öğretmenliği Programı, İzmir.
- Aslan, C. (2003). Öğretmen adaylarının bilime yönelik tutumlarının bazı psiko-sosyal değişkenler ilişkisi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.
- Balcı, A. (1995). Sosyal bilimlerde araştırma. Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesi, Ankara.
- Balcı, C. ve Yenice, N. (2016). Effects of the scientific argumentation based learning process on teaching the unit of cell division and inheritance to eighth grade students. *Journal of Education in Science, Environment and Health*, 2(1), 67-84.
- Balemen, N. (2009). Biyoloji öğretmen adaylarının nanobiyoteknoloji konularındaki bilgi seviyelerinin belirlenmesi ve nanobiyoteknoloji öğretim yöntem ve seviyelerinin araştırılması. Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Anabilim Dalı Biyoloji Eğitimi Bilim Dalı, Ankara.
- Büyüköztürk, Ş. (2002). Sosyal Bilimler İçin Veri Analizi El Kitabı. Pegem Yayıncılık, Birinci baskı, Ankara.
- Chen, D-Y., Wen, D.C., Zhang, Y.P., Sun, Q.Y., Han, Z.M., Liu, Z.H., Shi, P., Li J.S., Xiangyu, J.G., Lian, L., Kou, Z.H., Whu, Y.Q., Chen, Y.C., Wang, P.Y. and Zhang, H.M. (2002). Interspecies implantation and mitochondria fate of panda-rabbit cloned embryos. *Biology of reproduction* 67; 637- 642.
- Chen, S.Y. and Raffan, J. (1999). Biotechnology: student's knowledge and attitudes in the UK and Taiwan. *Journal Biotechnology of Education*, 34(1); 17- 23.

- Çırakoğlu, B. (2002). Genetik uygulamalar. Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi, Mayıs sayısı; 2-19.
- Darçın, E.S. and Türkmen, L. (2006). A study of prospective Turkish science teacher's knowledge at the popular biotechnological issues. Asia-Pacific Forum and Science Learning and Teaching, 7(2); 1-13.
- Darçın, E.S. (2007). Fen-Teknoloji ve biyoloji öğretmen adayları için biyoteknoloji eğitiminin deneysel planlanması. Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü İlköğretim Anabilimdalı Fen Bilgisi Öğretmenliği Bilim Dalı, Ankara.
- Dawson, V. and Soames, C. (2006). The effect of biotechnology education on Australian high school students' understandings and attitudes about biotechnology processes. Research in Science & Technological Education, 24(2); 183-198.
- Genç, M. (2001). İlköğretim ikinci kademedeki öğrencilerin Fen Bilgisi dersine karşı tutumlarının değerlendirilmesi (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi), Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.
- Güran, Ş. (2005). Ulusal savunmada moleküler biyoloji ve biyoteknolojinin önemi. Gülhane Tıp Dergisi, 47(2); 153-155.
- Güven, K. (1999). Ünite 24: Biyoteknoloji. Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi, İlköğretim öğretmenliği lisans tamamlama programı.
- Karagöz, Y. ve Kösterelioğlu, İ. (2008). İletişim becerileri değerlendirme ölçeğinin faktör analizi metodu ile geliştirilmesi. Dumlupınar Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 12; 81-98.
- Kıymaz, T. ve Tarakçıoğlu M. (2002). Biyoteknoloji alanındaki gelişmelerin yansımaları ve Türkiye'nin politika seçenekleri. Planlama Dergisi, Devlet Planlama Teşkilatı'nın kuruluşunun 42. Sayı; 235-242.
- Klop, T., Severiens, S.E., Knippelsbc, M.C.J.P., Mil, M.H.W., Greert, T.M. and Dam, T. (2010). Effects of a science education module on attitudes towards modern biotechnology of secondary school students. International Journal of Science Education, 32(9); 1127-1150.
- Külçe, C. (2005). İlköğretim ikinci kademe öğrencilerinin fen bilgisi dersine yönelik

- tutumları. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Lock, R. And Miles, C. (1993). Biotechnology and genetic engineering: Students' knowledge and attitudes. *Journal of Biological Education*, 27(4); 267- 273.
- Özdemir, O., Güneş, M.H. ve Demir, S. (2010). Üniversite öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara (GDO'lara) yönelik bilgi düzeyleri-tutumları ve sürdürülebilir tüketim eğitimi açısından değerlendirilmesi. *OMÜ Eğitim Fakültesi Dergisi*, 29(1); 53-68.
- Prokop, P., Leskova, A., Kubiato, M., and Diran, C. (2007). Slovakian students' knowledgeof and attitudes toward biotechnology. *International Journal of Science Education*, 29(7); 895-907.
- Saba, A., and Vassalo, M. (2002). Consumer attitudes towards the use of gene technology in tomato production. *Food Quality and Preference*, 13(1); 13-21.
- Saez, M.J., Nino, A.G. and Carretero, A. (2008). Matching Society Values: Students' views of biotechnology. *International Journal of Science Education*, 30(2); 167 — 183.
- Sapancı, A. (2005). İlköğretim 6. sınıf öğrencilerinin duyuşsal özelliklerinin matematik dersindeki öğrenme düzeyi ile ilişkisi (Kayseri örneği). (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Kayseri.
- Serin, U. (2001). Celal Bayar Üniversitesi ve Dokuz Eylül Üniversitesi İlköğretim Bölümü Fen Bilgisi Öğretmenliği Anabilim Dalı öğrencilerinin Fen Bilimleri'ne yönelik tutumlarının bazı değişkenler açısından karşılaştırılması. (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi) Eğitim Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, İzmir.
- Severcan, F., Ozan, A., Haris, P.I. (2000). Development of Biotechnology Education in Turkey. *Biochemical Education*, 28(1); 36-38.
- Yates, T. B. and Marek, E. A. (2014). Teachers teaching misconceptions: A study of factors contributing to high school biology students' acquisition of biological evolution-related misconceptions. *Evolution: Education and Outreach*, 7(7).

BÖLÜM 2

REAL TIME PCR: “EŞ ZAMANLI” BİR BAKIŞ

Arş. Gör. Kübra ŞENER¹

¹ Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye.
kuubrat@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8759-9444>

GİRİŞ

DNA'lar genetik bilgiyi içeren biyomoleküller olup, protein sentezinde aminoasit dizisini belirler. DNA, replikasyon mekanizması ile çoğalır. Replikasyon, belirlenen başlatıcı proteinlerin replikasyon sürecini başlatmak için DNA'ya bağlandığı orijin olarak adlandırılan kromozomlardaki belirli pozisyonlarda başlar. Bu orijin üç domain arasında farklılık göstermekle birlikte evrimsel açıdan önemli ortak özelliklere sahiptir. Günümüzde DNA'nın hızlı ve güvenilir bir şekilde çalışmasına olanak veren Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) sayesinde seçilmiş bir DNA dizisi laboratuvar şartlarında çoğaltılmaktadır. PCR kullanımındaki en önemli dönüm noktası, floresan ışımının izlenmesi yoluyla gerçek zamanlı olarak DNA amplifikasyonunun izlenmesidir. DNA'ya spesifik bağlanan floresan boyalar veya prob sistemlerinin keşfi ile amplifikasyon analizi kolaylaştırılmış ve gen ekspresyonunun eş zamanlı olarak analizini mümkün kılan kantitatif Real Time PCR (qRT-PCR) tekniği geliştirilmiştir. Bu bölümde, qRT-PCR sisteminin moleküler mekanizması ve analiz yöntemlerinden bahsedilecektir

1. DNA REPLİKASYONU

DNA'nın genetik materyal olarak kullanımının bir RNA dünyası var olduktan sonra ortaya çıktığı (Ward, 1995) ve tüm gelişmiş organizmaların ilkel fotosentetik bakterilerle ilişkili ortak bir atadan evrimleştiği varsayılmaktadır (Stillman, 1996). DNA'lar genetik bilgiyi içeren biyomoleküller olup, protein sentezinde aminoasit dizisini belirler. DNA sadece yüksek organizmaların değil,

bakterilerin ve virüslerin de genetik materyalini oluşturmaktadır (Devrim & Kaya, 2004).

DNA, replikasyon mekanizması ile çoğalır. DNA çift sarmalından ayrılan ipliklerin tamamlayıcıları sentezlenerek bir DNA molekülünden onunla aynı olan yeni çift zincirli bir DNA molekülü elde edilir. Böylece, hücre bölünmesi ile oluşan yeni hücrelere atasal genler birebir kopyalanır. Her yeni hücre jenarasyonunda genlerin kopya sayılarının iki katına çıkması nedeni ile jenarasyonlar boyunca DNA miktarı başlangıçtaki miktarına göre logaritmik olarak artar (Temizkan & Arda, 1999). Bakterilerden çok hücreli ökaryotlara kadar organizmalarda, DNA replikasyonu, bir bakteri kolonisinde veya gelişmekte olan bir organizma içindeki bir hücre alt kümesinde olsun, tek tek hücrenin fizyolojisine ve bir hücre popülasyonuna uygulanan küresel büyüme kontrollerine yakından bağlıdır (Stillman, 1996).

Replikasyon, belirlenen başlatıcı proteinlerin replikasyon sürecini başlatmak için DNA'ya bağlandığı "orijin" olarak adlandırılan kromozomlardaki belirli pozisyonlarda başlar. Bu süreçte bakteriler, arkeler ve ökaryotlar arasında önemli farklılıklar vardır, ancak sürecin son evrensel hücresel ataya kadar uzandığını gösteren birçok çarpıcı benzerlik de vardır (Kaguni, 2011; Stillman, 2005). Bakteriler genellikle, iki replikasyon çatallının birleştiği ve zıt yönlerde hareket ettiği tek bir orijine sahip yalnızca bir kromozom içerir. Bakterilerden çok daha büyük genomlara sahip oldukları ve ökaryotik replikasyon çatalları, bakteriyel replikasyon çatallarından yaklaşık 20 kat daha

yavaş hareket ettikleri için, ökaryotlarda çoklu orijin bölgesi bulunmaktadır. (O'Donnell et al., 2013). Bakteriyel orijinler, replikasyon başlatıcı proteinlerin bağlandığı iyi tanımlanmış dizilerdir. Bunun aksine, ökaryotik orijinler tipik olarak DNA sekansı seviyesinde tanımlanmaz (Masai et al., 2010).

Replikasyonda, bakteriyel, arkel ve ökaryotik hücreler için bir orijinin etkinleştirilmesi sürecini başlatmak için AAA⁺ aile alt birimlerinden oluşan orijin bağlayıcı proteinler kullanılır (Erzberger & Berger, 2006). AAA⁺ proteinleri genellikle multimerik makineler olarak işlev görür. Örneğin bakterilerde, DnaA orijinli bağlayıcı proteinin çoklu kopyaları, orijini bağlayan sarmal bir yapı oluşturur (Kaguni, 2011). DnaA filamenti, ATP'yi orijinin A/T açısından zengin bir bölgesini gevşetmek için bağlayarak, üzerine replikatif helikazın yüklendiği tek sarmallı bir DNA (ssDNA) "kabarcığı" oluşturur (O'Donnell et al., 2013).

Bakteriler, arkeler ve ökaryotlarda orijin bağlayıcı proteinlerin amacı, iki helikazın DNA'ya yüklenmesidir, bu da sonunda her bir kaynaktan zıt yönlerde hareket eden iki DNA replikasyon çatalına yol açar. Bu çatal, önce sentezin orijin noktasında meydana gelir ve replikasyon devam ettikçe ilerler. Replikasyon çift yönlü ise, orijinden itibaren zıt yöne doğru ilerleyen iki replikasyon çatalı oluşur. Her üç domainde de, helikaz, parental dubleksin bir ipliğini sararak DNA'yı çözen altı alt birimli bir komplekstir (Gai et al., 2010).

Şimdiye kadar incelenen tüm hücre türlerinde, DNA polimerazlar yeni nükleik asit zincirleri başlatamazlar ve bu nedenle hücrel DNA replikasyonunu başlatmak için DNA'ya bağımlı bir RNA polimeraz tarafından bir primerin sentezlenmesi gerekir (Frick & Richardson, 2001). Prokaryotlarda primaz, yaklaşık 12 nükleotidlik bir RNA primerini sentezlemek için geçici olarak DnaB helikazını bağlayan DnaG proteindir. DnaG proteini ve diğer herhangi bir DNA primazı, DNA replikasyonu sırasında oligonükleotidler olarak bilinen kısa RNA ipliklerini sentezler. Bu oligonükleotidler, DNA sentezi için bakteriyel DNA polimeraz III (Pol III) ile bir başlangıç noktası görevi gördükleri için primerler olarak bilinir ve başlangıç noktaları olarak hizmet eder (Russell, 2010). DNA primazının DnaB'ye bağlanması, aynı zamanda, DnaB'den düzenleyici protein DnaC'nin salınımı da uyarır, bu da ilk primer sentezleme ve çözmenin kontrollü bir şekilde koordine edildiğini gösterir (Kaguni, 2011). DNA Polimeraz III ile 5'-3 yönünde yapılan sentezin ardından, DNA Polimeraz I enzimi ise, sentezlenen yeni zincir üzerindeki RNA primerleri uzaklaştırarak yerine DNA nükleotitlerini ekler (Maki & Furukohri, 2013). Ökaryotlarda primer sentezi, yaklaşık 12 nükleotidlik bir RNA sentezleyen ve RNA'yı yaklaşık 25 nükleotid DNA ile uzatan dört alt birim DNA polimeraz α -primaz kompleksi (Pol- α /primaz) tarafından gerçekleştirilir (Waga & Stillman, 1998). Prokaryotlarda Yeni zincirin birleştirilmesi ökaryot ve prokaryotlarda DNA ligaz enzimi aracılığı ile gerçekleştirilir (Pascal et al., 2004).

2. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Günümüzde DNA'nın hızlı ve güvenilir bir şekilde çalışmasına olanak veren Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) sayesinde seçilmiş bir DNA dizisinin doğal hücre bölünmesine benzer şekilde yaklaşık milyar katı kopyalanabilmektedir (Alberts et al., 2002; Temizkan & Arda, 1999). Polimeraz zincir reaksiyonu; hastalık etkenlerine ait (bakteri, fungus, virüs vb.) hedef nükleik asit zincirlerinin, özgül tamamlayıcı oligonükleotitler (primerler) ile ısıya dayanıklı enzimlerin kullanarak *in vitro* çoğaltılmasını sağlayan özgün ve güvenilir bir yöntemdir. Üzerinde çalışma yapılan genetik materyal, çok az sayıda ve hatta birçok ilgisiz DNA moleküllerinin arasında olsa bile çoğaltılabilir, homojen bir DNA materyali haline getirilebilir ve böylelikle kolayca tanımlanabilir (Arda, 1994; Schochetman & Jones, 1988). PCR'ın ilk keşfi ile hız kazanan moleküler deneylerde, PCR'ın ilk basamağı olan denatürasyon aşamasından sonra reaksiyona eklenmesi gereken ısıl-kararsız Klenow fragmanetinin amplifikasyon için kullanılması pratik olmayan bir yöntem olarak düşünülmekteydi. *Thermus aquaticus*'tan elde edilen ısıl-kararlı bir polimeraz olan *Taq* polimerazın kullanılması ile PCR'ın rutin kullanımı mümkün kılınmıştır (Saiki et al., 1988). *Taq* polimerazın keşfi, PCR sistemlerinin ve kimyasal bileşenlerin de varlığı ile birlikte, *in vitro* DNA'nın spesifik enzimatik amplifikasyonu için PCR'ın tercih edilen araç olarak dünya çapında tanınmasına yol açmıştır.

PCR yönteminde periferik kan, deri, saç, tükürük ve mikroorganizma olmak üzere farklı tipte hayvansal ve bitkisel kökenli materyal DNA kaynağı olarak kullanılabilir. PCR için gerekli olan DNA miktarının elde edilmesi ve yeterli miktarda kopyanın analiz edilmesi geleneksel laboratuvar yöntemleri ile sağlanır. Bu nedenle PCR hassas bir yöntemdir (Garibyan & Avashia, 2013). Yaygın kullanımı nedeniyle PCR'ın temel prensiplerini, genomun ve genlerin gelişmiş şekilde analizini nasıl modifiye ettiğini anlamak moleküler mekanizmalar için anahtar rol üstlenmektedir (Bottero et al., 2003).

3. KANTİTATİF REAL TIME PCR (qRT-PCR)

PCR kullanımındaki en önemli dönüm noktası, floresan ışımının izlenmesi yoluyla gerçek zamanlı olarak DNA amplifikasyonunu izlenmesinin keşfidir (Higuchi et al., 1992; Holland et al., 1991).

Medikal ve moleküler tanı çalışmalarında biyolojik materyal ile çalışırken çok sayıda doku örneğine veya hücre miktarına ihtiyaç duyulur. Gen ekspresyonlarının matematiksel bir şekilde gösterilmesi kullanılan kaynaktaki (hücre, kan, doku vb.) farklılık ve heterojenlikten dolayı klasik PCR metodundan farklı yöntemlere ihtiyacı doğurmuştur. Biyolojik fonksiyonların yanında karmaşık düzenleme mekanizmalarının ardındaki biyolojik işlevi tam olarak anlayabilmek oldukça zordur. Hücrelerin ayrı olarak ekspresyon seviyeleri, ancak çok yüksek duyarlılık içeren yöntemler ile ortaya çıkarılmaktadır. Real Time PCR teknolojisi bilimin bu ihtiyaçlarına cevap vermektedir (Günel & Aydın, 2009).

PCR ürünlerinin kopyalanma işlemini görünür ve analiz edilebilir hale getiren floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın elde edilen DNA kopyaları ile doğru orantılı olarak arttığı bir çoğaltma yöntemi olması nedeniyle bu reaksiyona, “Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimer Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR), Floresan Kantitatif RT-PCR” gibi farklı adlarla da isimlendirilmektedir (Kubista, 2008). qRT-PCR başlangıçta, geleneksel PCR reaksiyonlarının bir alternatifi olarak geliştirilmiştir. Geleneksel PCR’da bir DNA kalıbı, DNA polimeraz, nükleotidler ve PCR’ın diğer bileşenleri ile karıştırılır; ısı döngüsü, toplam 30-45 döngü olacak şekilde gerçekleştirilir ve ortaya çıkan ürün daha sonra farklı bir DNA ampikonunun varlığı açısından test edilir. DNA kalıbı saf kültürlerden, klinik veya tanısal örneklerden, organizmalardan veya çevresel örneklerden elde edilebilir. RNA, DNA’dan birkaç biyolojik ve biyokimyasal farklılığa sahiptir ve PCR’da kullanılan polimeraz enzimleri RNA’yı çoğaltmamaktadır. RNA’yı çoğaltmak için çoğaltılmak istenen RNA kalıbı ssDNA’ya (tek zincirli DNA/cDNA) dönüştürülerek ters bir transkripsiyon adımının ardından mümkün olmaktadır (Loftis & Reeves, 2012). Başlangıçta RNA kalıbı ile çoğaltma işlemi yapılacak ise, bu PCR reaksiyonuna RT-PCR denmektedir. Kantitatif gerçek zamanlı RT-PCR teriminde, RT kısaltması, RNA’nın kantifikasyon için uygun olan cDNA’ya transkribe edildiği ters transkriptaz reaksiyonunu belirtir. Bu sebeple, gerçek zamanlı PCR, mRNA’nın başlangıç miktarının tahmini için PCR ürün birikiminin sürekli olarak izlenmesi tekniğini ifade etmektedir. qRT-PCR reaksiyonu boyunca, amplifiye edilmiş örnekler, her döngüden sonra çoğaltılan gen ürününün (ampikon)

kopya sayısı ile orantılı olarak floresan sinyali yayar. Bu floresan, çoğaltılan transkriptte özgü olan veya çift sarmallı DNA'yı özgün olmayan bir şekilde bir floresan detektörün bağlanması ile gerçekleştirilir. Kantitatif analizin en önemli noktası, bir eşik PCR döngüsünden sonra yeterli miktarda ampikon üretildiğinde saptanabilir miktarda floresan ışımının ortaya çıkmasıdır (Skrzypski, 2008).

Tablo 1. Replikasyon ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu Karşılaştırması.

Reaksiyon	Ortam	Polimerizasyondan Sorumlu Enzim	Kalıp
DNA Replikasyonu	Hücre içi	Prokaryot: Polimeraz III	DNA dsDNA
		Ökaryot: Polimeraz α	DNA dsDNA
Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	<i>In vitro</i>	<i>Taq</i> Polimeraz	dsDNA/cDNA
Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)	<i>In vitro</i>	<i>Taq</i> Polimeraz	dsDNA/cDNA

3.1. Ters (Reverse) Transkripsiyon (RT)

RNA'nın kantitatif PCR için uygun olan daha kararlı cDNA'ya dönüşümü, tekniğin başlangıç basamağıdır. Bu aşamada, gen ekspresyon sonuçlarını çeşitli şekillerde önemli ölçüde etkilemeye

açık haldedir. Bu bağlamda, ters transkriptaz seçimine ve RT reaksiyonunun hazırlanma yöntemine dikkat etmek gerekmektedir.

RT reaksiyonunu hazırlamak için temelde iki yaklaşım bulunmaktadır: 1) spesifik olmayan metod: rastgele primerler veya oligo-dT primerleri ile gerçekleştirilen reaksiyon ve (2) hedef gene spesifik primerlerin kullanılarak hazırlanan reaksiyon. İki metodun da kendi içerisinde avantajları, dezavantajları ve sınırlamaları bulunmakla birlikte yapılacak çalışmanın çeşidine ve istenilen sonuca hangi metod seçileceğine karar verilmelidir (Skrzypski, 2008). Örneğin, yalnızca bir veya birkaç transkriptin analizi gerektiğinde, hedef gene spesifik primer hazırlama tavsiye edilir. Tüm transkriptomu analiz etmek için spesifik olmayan primerlerin kullanılmasını gerekmektedir. Rastgele primerler, tüm RNA türlerinin (rRNA, mRNA ve daha küçük RNA molekülleri) transkripsiyonunu başlatırken; oligo-dT primerleri yalnızca poliA kuyruklu mRNA moleküllerinin transkripsiyonuna aracılık eder (Stangegaard et al., 2006).

3.2. Primer Tasarımı

Primer tasarımı, tüm polimeraz zincir reaksiyonu mekanizmaları için reaksiyonun başarılı sonuçlanabilmesi için kilit aşamalardan biridir. Her tasarım birkaç önemli termodinamik kriterlerini karşılamalıdır. Herhangi bir gen ekspresyonunun eksikliğini önlemek için, primerler analiz edilmek istenilen genin her alternatif transkripti ve uç birleştirme (splays) varyantını tespit etmelidir. Bunu yapmak için, açık veri tabanlarındaki bilinen tüm girdiler taranmalı ve primer tasarımı için ortak bir gene özgü bölgeyi ortaya çıkaracak şekilde

hizalanmalıdır. GC içeriği, primer uzunluğu ve primer erime sıcaklığı aralığı tespitleri primer tasarlama için kilit noktalardır (Quellhorst & Rulli, 2008). Ayrıca, olası RNA bozunmasının önemini azaltmak amacıyla mümkünse primerler, amplifiye edilmiş transkript kısa tutulacak şekilde (optimal olarak 100 bps'den daha az) tasarlanmalıdır (Skrzypski, 2008).

3.3. Amplikon Tespiti

Ters transkriptaz enzimi ile elde edilen cDNA veya mevcut DNA örneğinin transkripsiyonunu aynı anda gösterebilmek için floresan boyaların veya tasarlanmış problemlerin gerekli olduğu bilinmektedir. Gerçek zamanlı PCR'daki transkribe edilen amplikon miktarının belirlenmesi, amplifikasyon sırasında yayılan floresanın saptanmasına dayanmaktadır (Skrzypski, 2008). Genel olarak iki mekanizma bulunmaktadır. Bunlar, çift sarmallı dsDNA'yı interkalasyon ajanları (DNA bağlayıcı boyalar) görüntülemek, bir diğeri ise florofor bağlantılı oligonükleotidler (primer problemler veya problemler) ile görüntülemektedir (Arya et al., 2005).

Tablo 2. Amplikon Tayininde Kullanılan Boyalar.

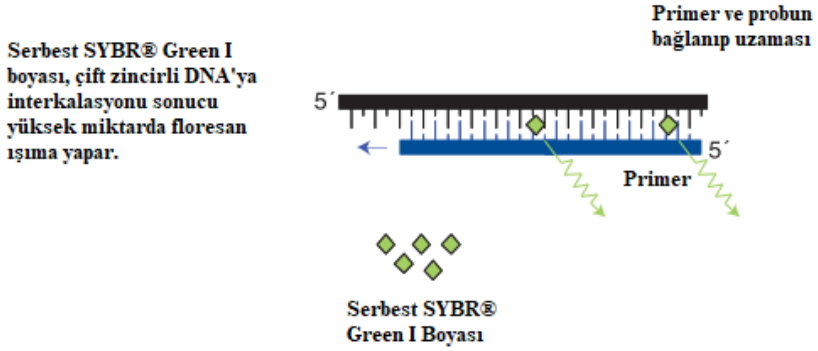
DNA	Bağlayıcı	Boyalar	(dsDNA-	-Etidyum bromür (Higuchi et al., 1992) -YO-PRO (Ishiguro et al., 1995; Tseng et al., 1997) -SYBR® Green I (Ririe et al., 1997) -SYBR® Gold (Tuma et al., 1999) -SYTO (Gudnason et al., 2007; Monis et al., 2005) -BEBOandBOXTO (Bengtsson et al., 2003) -EvaGreen (Navarro et al., 2015)
interkalasyon ajanları)				
Florofor etiketli oligonükleotitler				-Hidroliz Prob: TaqMan ® (Holland et al., 1991)
Çift Hibridizasyon problemleri				-Primer probu: Scorpion® (Whitcombe et al., 1999) -Moleküler boncuk probu (Tyagi & Kramer, 1996) -LightCycler (HybProbe) (L. E. Morrison, 1992)

3.3.1. DNA Bağlayıcı Boyalar (dsDNA-interkalasyon ajanları)

Etidyum bromür (Higuchi et al., 1992), YO-PRO (Ishiguro et al., 1995; Tseng et al., 1997), SYBR® Green I (Ririe et al., 1997), SYBR® Gold (Tuma et al., 1999), SYTO (Gudnason et al., 2007; Monis et al., 2005), BEBO and BOXTO (Bengtsson et al., 2003), ve Eva Green (Navarro et al., 2015) dahil olmak üzere ticari olarak temin edilebilen çok çeşitli DNA boyaları mevcuttur. DNA bağlayıcı boyaların kullanımı, qRT-PCR reaksiyonu sırasında üretilen spesifik ürünlerin, spesifik olmayan ürünlerin ve primer-dimerlerin tespitine

izin verir (Navarro et al., 2015). Bu tür boyalar, dsDNA'nın küçük oluşuna bağlandığında, floresan ışıma miktarı artar ve her qRT-PCR döngüsünün uzatma aşamasında ölçülebilir. Örneğin, SYBR Green 1, çözelti içinde bağlı olmadığında çok az floresan sergiler, ancak dsDNA'ya bağlandıktan sonra güçlü bir floresan sinyali yayar (T. B. Morrison et al., 1998; Navarro et al., 2015). Polimerizasyon sırasında floresan sinyalinde bir artış meydana gelir ve DNA denatüre edildiğinde bu azalır. Floresan ölçümleri, her PCR döngüsünün uzatma adımının sonunda, artan amplifiye DNA miktarını izlemek için gerçekleştirilir. Boya bazlı tespit kullanılırken, boya primer-dimerleri ve diğer spesifik olmayan amplikonları ve ayrıca spesifik hedef amplifikasyonu tespit ederek yanlış pozitif sinyaller oluşturacağından dikkatli bir primer tasarımı gereklidir (Loftis & Reeves, 2012).

PCR işlemi sırasında spesifik olmayan ürünlerin ve primer dimerlerin oluşabileceği göz önüne alındığında (Chou et al., 1992), amplifiye edilmiş fragmanların spesifitesini kontrol etmek için bir erime eğrisi analizi önerilmektedir. Bu analiz, örneğe (5°C'den 95°C'ye) ısı uygulamaktan ve işlem sırasında floresan ışımanın izlenmesinden oluşur. Spesifik olmayan ürünler ve primer-dimerler, spesifik ürünlerden daha düşük sıcaklıklarda denatüre edilir (Ririe et al., 1997). Farklı uzunluk ve nükleotit içeriğine sahip PCR ürünleri, farklı sıcaklıklarda denatüre olmaları nedeniyle, floresan ışıma eğrileri çizildiğinde farklı pikler gösterir (Navarro et al., 2015).



Resim 1. DNA Bağlayıcı Boyaların Mekanizması. (Arya et al., 2005)

Avantajları

qRT-PCR'da DNA bağlayıcı boyaların kullanılmasının maliyeti, floresan prob yöntemlerinden çok daha düşüktür. En yaygın kullanılan DNA bağlayıcı boya, SYBR® Green I'dir. Ancak SYBR® Green I popülerliğine rağmen, sınırlı boya stabilitesi ve boyaya bağlı PCR inhibisyonu dahil bazı sınırlamalar sebebiyle bazı dezavantajlara sahiptir (Chou et al., 1992; Gaforio et al., 2002). Yakın zamanda yapılan araştırmalar, alternatif yeni floresan boyalarının (SYTO13 ve SYTO82) bazılarının biraz daha pahalı olsalar da, daha hassas ve mutlak erime eğrisi ayırımına sahip olabileceğini göstermektedir (Gudnason et al., 2007). EvaGreen, qRT-PCR için SYBR® Green I'den daha az inhibitör etkiye sahip olma gibi çeşitli avantajlar sunan üçüncü nesil bir dsDNA bağlayıcı boyadır ve daha büyük floresan sinyalleri oluşturmak için alternatif olarak kullanılabilir. EvaGreen ayrıca HRM (yüksek çözünürlüklü erime) analizi için çok uygundur (Mao et al., 2007).

3.3.3. Florofor etiketli oligonükleotitler

Floroforlar, qPCR teknolojisinde probolar olarak işlev görmek için oligonükleotitlere bağlanan küçük floresan moleküllerdir. Bu floresan oligonükleotidler, primer probolar, probolar veya nükleik asitlerin analogları olarak sınıflandırılır (Navarro et al., 2015). Prob bazlı saptama sistemlerinde, floresan raportör, primerler arasındaki kalıbı uzatmak üzere tasarlanmış bir oligonükleotid probuna kovalent olarak bağlanır. Tüm bu sistemler, bir söndürücü (quencher), bir alıcı (raportör) ve bir verici (donör) florofor olmak üzere iki farklı molekül arasında floresan enerjinin transferine bağlıdır (Loftis & Reeves, 2012).

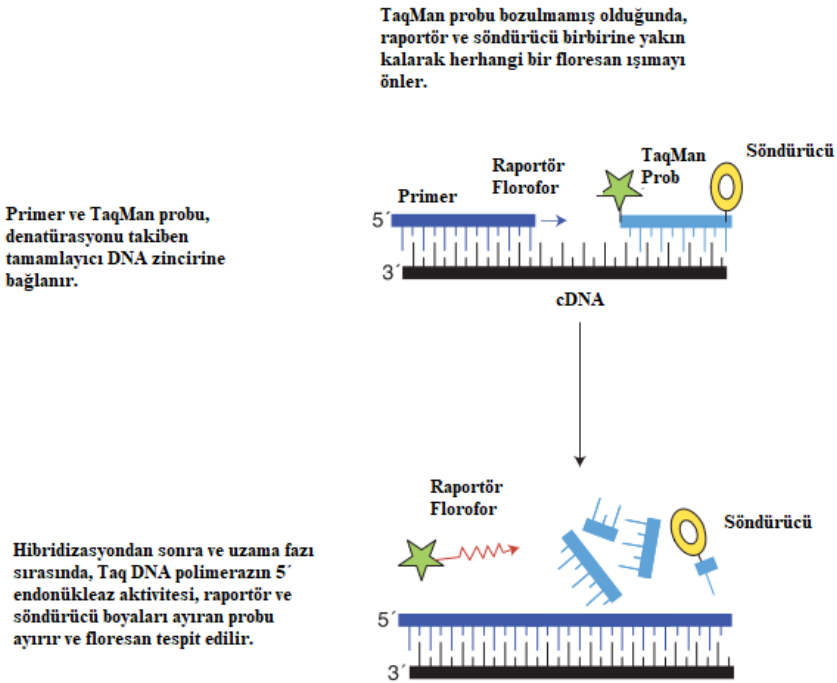
İki tür florofor vardır: verici/alıcı ve alıcı/söndürücü (Navarro et al., 2015). Tek problu sistemlerde, prob ayrıca bir floresan söndürücü ile etiketlenir; alıcı ve söndürücü fiziksel olarak birbirine yakın olduğunda, raportör tarafından yayılan ışık, söndürücü tarafından emilir ve ısı enerjisi olarak dağıtılır. Raportör ve söndürücü ayrıldığında floresan geri kazanılır. İki problu sistemlerde, her prob, alıcı floroforu uyaran bir spektrumunda enerji yayan farklı bir verici florofor molekül ile etiketlenir; alıcı bu nedenle yalnızca verici moleküle yakın olduğunda ışık yayar (Loftis & Reeves, 2012). Floresan sinyali, yalnızca probun bölünmesi ile birlikte, floresans rezonans enerji transferi (FRET) prensibine dayalı olarak yayılır (Cardullo et al., 1988).

3.3.4. Hidroliz problemleri

Bu sistemde, bir ileri ve geri primer ve bir de prob kullanılır. Testin etkinliği esas olarak 5' ile 3' nükleaz aktivitesine bağlıdır. En yaygın kullanılan enzim *Taq* polimerazdır, ancak 5' nükleaz aktivitesine sahip herhangi bir enzim kullanılabilir (Holland et al., 1991). DNA polimeraz, kalıbı primerden 5' ile 3' yönde uzatırken, aynı zamanda probu bozan ve floresanı söndürücüden serbest bırakan 3' ekzonükleaz aktivitesi sergilemektedir (Loftis & Reeves, 2012).

TaqMan® problemleri, hidroliz problemlerinin en yaygın olarak kullanılan çeşitlerindendir. DNA polimeraz, kalıp DNA'yı (ssDNA veya dsDNA) primerden 5'-3' yönünde uzatırken, aynı zamanda probu bozan ve söndürücüden floresanı serbest bırakan 3' ekzonükleaz aktivitesi sergiler. Prob sırasıyla 5' ve 3 uçlarında kovalent olarak bağlanmış bir floresan raportör boyaya ve söndürücü boyaya sahiptir. 6-karboksifloresin (FAM), tetrakloro-6-karboksi-floresin (TET), heksakoloro-6-karboksi floresin (HEX) veya VIC dahil olmak üzere çeşitli floresan raportör boyalar TaqMan prob sisteminde kullanılmaktadır. Söndürücüler, 6-karboksi tetrametilrhodamin (TAMRA) veya 4- (dimetilaminoazo) benzen-4-karboksi-lik asit (DABCYL) boyası içermektedir (Arya et al., 2005). Bu analizlerde, probun primerler uzamadan ve polimeraz aktivitesinin başlamadan önce yerinde olduğundan emin olmak için, probun, primerlerin sıcaklığından yaklaşık 10°C daha yüksek bir sıcaklıkta kalıba bağlanacak şekilde tasarlanması gerekir. Bu sayede, özellikle GC açısından zayıf bölgeler tespit edilirken nispeten uzun problemlerin

üretilmesine olanak sağlamaktadır. Problar 30-35 bazdan uzunsa, söndürme zayıf olabilir ve bu da yüksek arka planda floresan ışımaya neden olur. Hidroliz deneyleri için gerekli yüksek uzama sıcaklığına sahip daha kısa problar üretmek için küçük oluk bağlama probları (MGB) geliştirilmiştir (Walburger et al., 2001).



Resim 2.TaqMan Hidroliz Prob Mekanizması (Arya et al., 2005).

MGB probların, dsDNA'nın küçük oluşuna bağlanan bir kısım, söndürücüye ek olarak, probun 3 'ucuna kovalent olarak bağlanarak prob-kalıp dubleksinin stabilitesini arttırarak bağlanma sıcaklığında da bir artışın oluşmasını sağlar. Benzer sonuçlar elde etmek için kilitli nükleik asit probları (LNA probları) kullanır (Latorra et al., 2003).

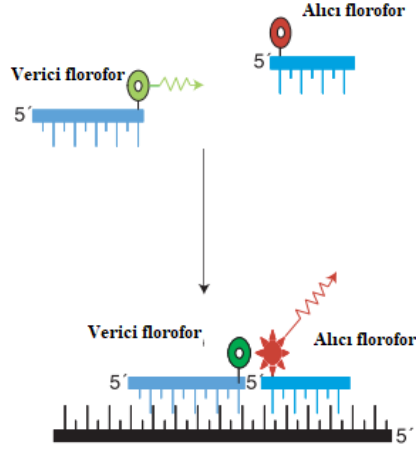
Prob içindeki LNA bazlarının sayısı ne kadar yüksekse, kısa bir oligonükleotid için bağlanma sıcaklığı o kadar yüksek olabilir. Hem MGB hem de LNA problemleri, geleneksel hidroliz problemlerinden daha spesifiktir ve tek nükleotid polimorfizmlerini tespit eden alelik ayırma testleri tipik olarak MGB veya LNA teknolojisini kullanır. Erime sıcaklığı analizi, bu hidroliz prob sistemlerinden herhangi biriyle kullanılamaz (Loftis & Reeves, 2012).

3.3.5. Çift Hibridizasyon Problemleri (Dual-prob hibridizasyon)

Dual-prob hibridizasyon sistemleri (HybProbe, LightCycler®, Scorpion, Moleküler boncuk), kalıbın aynı ipliği üzerinde birleşen iki ayrı prob veya bir prob ve bir primerden oluşan bir sistemdir (Lyon, 2001). İki problu sistemlerde, problemlerden biri 3' ucunda bir verici florofor taşırken diğer prob ise 5' ucunda bir alıcı florofor ile etiketlenir (Arya et al., 2005).

Denatürasyon aşamasından sonra, her iki prob, uzama aşaması sırasında baştan sona bir düzenleme ile hedef dizilerine hibridize olur. Bu aşama, iki boyayı birbirine yaklaştırarak diğerinin farklı bir dalga boyunda floresanı dağıtmasına izin verir. Ölçülen son floresan ışımı, PCR reaksiyonu sırasında sentezlenen DNA miktarı ile doğru orantılıdır. İki probun kullanılması, saptama için kullanılan nükleotidlerin sayısını ve dolayısıyla testin özgüllüğünü artırır. Bu yöntem, tedavi ve viral yük ölçümünden sonra minimal rezidüel hastalığın saptanması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Emig et al., 1999; Schalasta et al., 2000; van der Velden et al., 2003)

Bir hibridizasyon probu 3' ucunda bir donör florofor taşır ve diğeri 5' ucunda bir alıcı florofor ile etiketlenmiştir. Denatürasyon sırasında, her iki hibridizasyon probu çözelti içinde ayrı kalır ve verici florofordan (örneğin, LightCycler ışık kaynağı tarafından uyarıldığında oluşan yeşil floresan) herhangi bir floresan emisyonu dedektör tarafından göz ardı edilir.



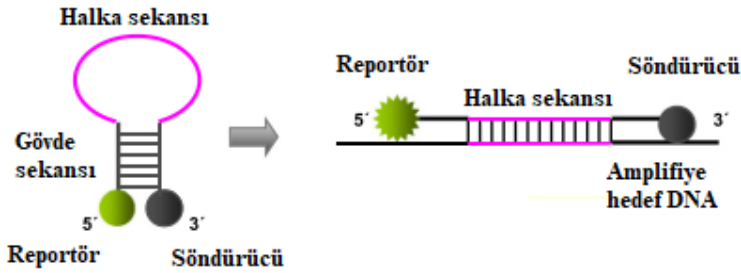
Uzama sırasında problemler, iki boyayı yan yana getirerek, baştan sona bir yapıda hibridize olur. Vericinin uyarılması, alıcıda floresan rezonans enerji transferine yol açar ve bu da floresan sinyalinde bir değişikliğe ve daha uzun bir dalga boyunda (kırmızı) floresan ışığın yayılmasına neden olur.

Resim 3. Çift Hibridizasyon Problemleri (Dual-prob hibridizasyon) (Arya et al., 2005).

3.3.6. Moleküler boncuk problemleri (Moleküler beacon)

Moleküler boncuk problemleri, hedef DNA'ya tamamlayıcı bir merkezi bölgeye sahip, her iki tarafta birbirini tamamlayan kısa, GC açısından zengin dizilerle çevrili bir gövde-halka yapısına sahiptir (Loftis & Reeves, 2012). Molekülün halka kısmı, hedef nükleik asit molekülüne tamamlayıcıdır ve gövde, prob sekansının uçları üzerindeki tamamlayıcı kol sekanslarının uzaması oluşturulur (Arya et al., 2005). İdeal olarak, hem probun merkezi bölgesi hem de GC açısından zengin kollar, ilgili hedeflerine, PCR primerlerinden yaklaşık 7-10°C daha yüksek ancak PCR'nin uzama fazı için kullanılan sıcaklıktan daha düşük bir sıcaklıkta uzamaları beklenmektedir. Hidroliz problemlerine benzer şekilde, moleküler boncuk problemleri 5' ucunda bir floresan raportör ve 3' ucunda bir söndürücü ile etiketlenir; probun saç

tokası yapısı (hair-pin), raportör ve söndürücüyü fiziksel olarak birbirine yakın tutar. Hedefin yokluğunda, bu prob lar kendi kendine uzar ve floresans ış ıma sergilemeyen saç tokası yapısını oluşturur. Hedef mevcut olduğ und a, probun merkezi kısm ı PCR'ın uzama ad ım ı sırasında hedefe hibridize olur, floresan raportörü ve söndürücüyü ayırır ve floresan ış ımayı üretir. Bu prob lar, PCR'ın uzama aş amasında kullanılan sıcaklı klardan daha yüksek sıcaklı klarda ayrış ır ve *Taq* polimeraz tarafından hidrolize edilmez. PCR tamamlandı ktan sonra, probu kalıptan ayırmak için erime eğ risi analizi kullanılabilir. Baz-çifti uyüş mazlıkları durumunda T_m miktarı azalır (Vaughn & Elenitoba-Johnson, 2003; Venkatesan et al., 2008). Moleküler boncuk prob ları, PCR sırasında bozulmadan kalır ve floresan emisyonu için her döngüde hedef diz iye yeniden hibritlenmeleri gerekir. Moleküler boncuk prob ları özellikle nokta mutasyonlarını tanımlamak için uygundur (Smit et al., 2001; Wabuyele et al., 2003).

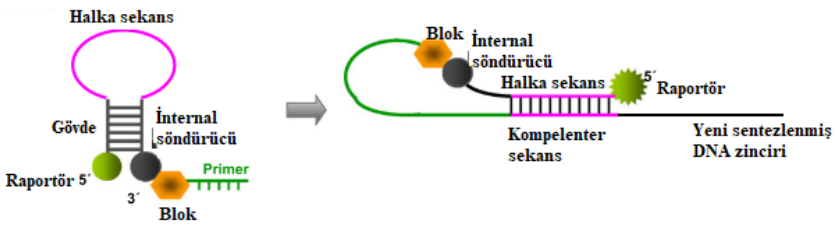


Resim 4. Moleküler Boncuk Prob Mekanizması (Navarro et al., 2015).

3.3.7. Scorpion®

Scorpion® problemleri esasen moleküler boncukların bir modifikasyonudur, burada gövde-halka yapısına sahip bir oligonükleotid probu, bir raportör ve bir söndürücü, PCR primerlerinden birinin 5' ucuna kovalent olarak eklenir. Bu sistemlerde, primer, amplifikasyon sırasında ürüne dahil edilir; prob bağlı kalır ve sonraki döngüler sırasında prob, uzama aşaması sırasında ürünün bitişik ucuna hibridize olabilir ve bir floresan sinyali oluşturabilir. Moleküler boncuk sisteminde olduğu gibi, Scorpion® prob-primer kombinasyonunun ikincil yapısı kritiktir. Bununla birlikte, bu problemlerin kullanımı ile optimize edilmesi gereken bileşenlerin sayısını azaltır (Loftis & Reeves, 2012).

Scorpion primer-problemleri, patojen tespiti (Naserpour Farivar et al., 2014) viral-bakteriyel yük miktar tayini, genotipleme, SNP alelik ayrımı (Bates & Taylor, 2001; Solinas et al., 2001) ve mutasyon tespiti (Veldore et al., 2013; Zhang et al., 2014) için kullanılmaktadır.



Resim 5. Scorpion Primer Probu Mekanizması (Navarro et al., 2015).

SONUÇ

qRT-PCR, İnsan Genom Projesi'nin başlaması ile birlikte kullanım amaçları giderek artan bir moleküler tekniktir. Amaca uygun prob veya floresan boyaların kullanımı ile birlikte çalışmanın hassasiyet ve güven aralığı gittikçe artmaktadır. Bu teknik, polimerizasyonun yanı sıra aynı anda kantitasyon da yapabildiği için hastalık tanısı, tek nükleotit polimorfizmi (SNP), DNA parmak izi analizleri, patojen tespiti, onkolojik çalışmalar, genetiği değiştirilmiş organizmalar vb. analizlerde kullanımı sıklıkla artmaktadır.

KAYNAKÇA

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Kaff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4th Editio). New York: Garland Science.
- Arda, M. (1994). *Biyoteknoloji (bazı temel ilkeler)*. Kükem derneği bilimsel yayınları.
- Arya, M., Shergill, I. S., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., & Patel, H. R. H. (2005). Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 5(2), 209–219. <https://doi.org/10.1586/14737159.5.2.209>
- Bates, J. A., & Taylor, E. J. A. (2001). Scorpion ARMS primers for SNP real-time PCR detection and quantification of *Pyrenophora teres*. *Molecular Plant Pathology*, 2(5), 275–280. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00074.x>
- Bengtsson, M., Karlsson, H. J., Westman, G., & Kubista, M. (2003). A new minor groove binding asymmetric cyanine reporter dye for real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, 31(8). <https://doi.org/10.1093/nar/ngn045>
- Bottero, M. T., Civera, T., Nucera, D., Rosati, S., Sacchi, P., & Turi, R. M. (2003). A multiplex polymerase chain reaction for the identification of cows', goats' and sheep's milk in dairy products. *International Dairy Journal*, 13(4), 277–282. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00170-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00170-X)
- Cardullo, R. A., Agrawal, S., Flores, C., Zamecnik, P. C., & Wolf, D. E. (1988). Detection of nucleic acid hybridization by nonradiative fluorescence resonance energy transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(23), 8790–8794. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.23.8790>
- Chou, Q., Russell, M., Birch, D. E., Raymond, J., & Bloch, W. (1992). Prevention of pre-PCR mis-priming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications. *Nucleic Acids Research*, 20(7), 1717–1723. <https://doi.org/>

- Devrim, A. K., & Kaya, N. (2004). Polimeraz Zincir Reaksiyonu. In *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* (Vol. 10, Issue 2, pp. 209–214).
- Emig, M., Saußele, S., Wittor, H., Weißer, A., Reiter, A., Willer, A., Berger, U., Hehlmann, R., Cross, N. C. P., & Hochhaus, A. (1999). Accurate and rapid analysis of residual disease in patients with CML using specific fluorescent hybridization probes for real time quantitative RT-PCR. *Leukemia*, 13(11), 1825–1832. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401566>
- Erzberger, J. P., & Berger, J. M. (2006). Evolutionary relationships and structural mechanisms of AAA+ proteins. In *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* (Vol. 35, pp. 93–114). <https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.35.040405.101933>
- Frick, D. N., & Richardson, C. C. (2001). DNA primases. In *Annual Review of Biochemistry* (Vol. 70, pp. 39–80). <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.70.1.39>
- Gaforio, J. J., Serrano, M. J., Ortega, E., Algarra, I., & Alvarez De Cienfuegos, G. (2002). Use of SYTOX green dye in the flow cytometric analysis of bacterial phagocytosis. *Cytometry*. <https://doi.org/10.1002/cyto.10107>
- Gai, D., Chang, Y. P., & Chen, X. S. (2010). Origin DNA melting and unwinding in DNA replication. In *Current Opinion in Structural Biology* (Vol. 20, Issue 6, pp. 756–762). <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2010.08.009>
- Garibyan, L., & Avashia, N. (2013). Polymerase chain reaction. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(3), 1–4. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.1>
- Gudnason, H., Dufva, M., Bang, D. D., & Wolff, A. (2007). Comparison of multiple DNA dyes for real-time PCR: Effects of dye concentration and sequence composition on DNA amplification and melting temperature. *Nucleic Acids Research*, 35(19). <https://doi.org/10.1093/nar/gkm671>

- Günel, T., & Aydın, K. (2009). “ Real-Time PCR ” ve Uygulama Alanları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2(2), 43–45.
- Higuchi, R., Dollinger, G., Sean Walsh, P., & Griffith, R. (1992). Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology*, 10(4), 413–417. <https://doi.org/10.1038/nbt0492-413>
- Holland, P. M., Abramson, R. D., Watson, R., & Gelfand, D. H. (1991). Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5' → 3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(16), 7276–7280. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.16.7276>
- Ishiguro, T., Saitoh, J., Yawata, H., Yamagishi, H., Iwasaki, S., & Mitoma, Y. (1995). Homogeneous quantitative assay of hepatitis C virus RNA by polymerase chain reaction in the presence of a fluorescent intercalater. *Analytical Biochemistry*, 229(2), 207–213. <https://doi.org/10.1006/abio.1995.1404>
- Kaguni, J. M. (2011). Replication initiation at the *Escherichia coli* chromosomal origin. In *Current Opinion in Chemical Biology* (Vol. 15, Issue 5, pp. 606–613). <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.07.016>
- Kubista, M. (2008). *Emerging real-time PCR applications*. Drug Discovery World. <https://www.ddw-online.com/enabling-technologies/p92829-emerging-real-time-pcr-applications.html>
- Latorra, D., Campbell, K., Wolter, A., & Hurley, J. M. (2003). Enhanced allele-specific PCR discrimination in SNP genotyping using 3' locked nucleic acid (LNA) primers. *Human Mutation*, 22(1), 79–85. <https://doi.org/10.1002/humu.10228>
- Loftis, D. A., & Reeves, W. K. (2012). Principles of real-time PCR. *Veterinary PCR Diagnostics*, June, 3–17. <https://doi.org/10.2174/97816080534831120101>

- Lyon, E. (2001). Mutation detection using fluorescent hybridization probes and melting curve analysis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 1(1), 92–101. <https://doi.org/10.1586/14737159.1.1.92>
- Maki, H., & Furukohri, A. (2013). DNA Polymerase III, Bacterial. In *Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition* (2nd ed., Vol. 1). Published by Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00310-8>
- Mao, F., Leung, W. Y., & Xin, X. (2007). Characterization of EvaGreen and the implication of its physicochemical properties for qPCR applications. *BMC Biotechnology*, 7. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-7-76>
- Masai, H., Matsumoto, S., You, Z., Yoshizawa-Sugata, N., & Oda, M. (2010). Eukaryotic chromosome DNA replication: Where, when, and how? *Annual Review of Biochemistry*, 79, 89–130. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.052308.103205>
- Monis, P. T., Giglio, S., & Saint, C. P. (2005). Comparison of SYTO9 and SYBR Green I for real-time polymerase chain reaction and investigation of the effect of dye concentration on amplification and DNA melting curve analysis. *Analytical Biochemistry*, 340(1), 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.01.046>
- Morrison, L. E. (1992). Detection of Energy Transfer and Fluorescence Quenching. In *Nonisotopic DNA Probe Techniques* (pp. 311–352). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-426296-6.50017-4>
- Morrison, T. B., Weis, J. J., & Wittwer, C. T. (1998). Quantification of lowcopy transcripts by continuous SYBR® green I monitoring during amplification. *BioTechniques*, 24(6), 954–962.
- Naserpour Farivar, T., Johari, P., Najafipour, R., Farzam, A., Nasirian, N., HajManouchehri, F., Jahani Hashemi, H., Azimi, A., & Bahrami, M. (2014). The relationship between gastric cancer and *Helicobacter pylori* in formaldehyde fixed paraffin embedded gastric tissues of gastric cancer

- patients-scorpion real-time PCR assay findings. *Pathology and Oncology Research*, 20(1), 113–117. <https://doi.org/10.1007/s12253-013-9669-2>
- Navarro, E., Serrano-Heras, G., Castaño, M. J., & Solera, J. (2015). Real-time PCR detection chemistry. *Clinica Chimica Acta*, 439, 231–250. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.10.017>
- O'Donnell, M., Langston, L., & Stillman, B. (2013). Principles and concepts of DNA replication in bacteria, archaea, and eukarya. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(7), 1–13. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010108>
- Pascal, J. M., O'Brien, P. J., Tomkinson, A. E., & Ellenberger, T. (2004). Human DNA ligase I completely encircles and partially unwinds nicked DNA. *Nature*, 432(7016), 473–478. <https://doi.org/10.1038/nature03082>
- Quellhorst, G., & Rulli, S. (2008). A systematic Guideline for Developing the Best Real-Time PCR Primers. *Qiagen*, 5, 1–8. <http://www.mendeley.com/research/a-systematic-guideline-for-developing-the-best-realtime-pcr-primers/>
- Ririe, K. M., Rasmussen, R. P., & Wittwer, C. T. (1997). Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Analytical Biochemistry*, 245(2), 154–160. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.9916>
- Russell, P. J. (2010). *iGenetic: a Molecular Approach* (p. 326). Benjamin Cummings. <https://www.pearson.com/store/p/igenetics-a-molecular-approach/P100000584583/9780321569769>
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., & Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487–491. <https://doi.org/10.1126/science.2448875>

- Schalasta, G., Eggers, M., Schmid, M., & Enders, G. (2000). Analysis of human cytomegalovirus DNA in urines of newborns and infants by means of a new ultrarapid real-time PCR-system. *Journal of Clinical Virology*, 19(3), 175–185. [https://doi.org/10.1016/S1386-6532\(00\)00116-5](https://doi.org/10.1016/S1386-6532(00)00116-5)
- Schochetman, G., & Jones, K. (1988). Polymerase Chain Reaction. *J. Infect. Dis.*, 158, 1154–1157.
- Skrzypski, M. (2008). Quantitative reverse transcriptase real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) in translational oncology: Lung cancer perspective. *Lung Cancer*, 59(2), 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.11.008>
- Smit, M. L., Giesendorf, B. A. J., Vet, J. A. M., Trijbels, F. J. M., & Blom, H. J. (2001). Semiautomated DNA mutation analysis using a robotic workstation and molecular beacons. *Clinical Chemistry*, 47(4), 739–744. <https://doi.org/10.1093/clinchem/47.4.739>
- Solinas, A., Brown, L. J., McKeen, C., Mellor, J. M., Nicol, J., Thelwell, N., & Brown, T. (2001). Duplex Scorpion primers in SNP analysis and FRET applications. *Nucleic Acids Research*, 29(20), 96. <https://doi.org/10.1093/nar/29.20.e96>
- Stangegaard, M., Dufva, I. H., & Dufva, M. (2006). Reverse transcription using random pentadecamer primers increases yield and quality of resulting cDNA. *BioTechniques*, 40(5), 649–657. <https://doi.org/10.2144/000112153>
- Stillman, B. (1996). Comparison of DNA Replication from Prokaryota and Eukaryota. *DNA Replication in Eukaryotic Cells*, 435–460.
- Stillman, B. (2005). Origin recognition and the chromosome cycle. *FEBS Letters*, 579(4 SPEC. ISS.), 877–884. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.12.011>
- Temizkan, G., & Arda, N. (1999). *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler* (İkinci Bas). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

- Tseng, S. Y., Macool, D., Elliott, V., Tice, G., Jackson, R., Barbour, M., & Amorese, D. (1997). An homogeneous fluorescence polymerase chain reaction assay to identify Salmonella. *Analytical Biochemistry*, 245(2), 207–212. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.9970>
- Tuma, R. S., Beaudet, M. P., Jin, X., Jones, L. J., Cheung, C. Y., Yue, S., & Singer, V. L. (1999). Characterization of SYBR gold nucleic acid gel stain: A dye optimized for use with 300-nm ultraviolet transilluminators. *Analytical Biochemistry*, 268(2), 278–288. <https://doi.org/10.1006/abio.1998.3067>
- Tyagi, S., & Kramer, F. R. (1996). Molecular Beacons: Probes that Fluoresce Upon Hybridization. *Nature Biotechnology*, 14(3), 303–308. <https://doi.org/10.1038/nbt0396-303>
- van der Velden, V. H. J., Hochhaus, A., Cazzaniga, G., Szczepanski, T., Gabert, J., & van Dongen, J. J. M. (2003). Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: Principles, approaches, and laboratory aspects. In *Leukemia* (Vol. 17, Issue 6, pp. 1013–1034). <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402922>
- Vaughn, C. P., & Elenitoba-Johnson, K. S. J. (2003). Hybridization-induced dequenching of fluorescein-labeled oligonucleotides: A novel strategy for PCR detection and genotyping. *American Journal of Pathology*, 163(1), 29–35. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63627-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63627-9)
- Veldore, V. H., Rao, R. M., Kakara, S., Pattanayak, S., Tejaswi, R., Sahoo, R., Venkataswamy, E., Prabhudesai, S. A., Krishnamoorthy, N., Tejaswini, B. N., Hazarika, D., Gangoli, S. A., Rahman, S. M., Naik, R., Diwakar, R. B., Satheesh, C. T., Shashidhar, S. P., Patil, S. G., & Ajai Kumar, B. S. (2013). Epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung carcinomas: A retrospective analysis of 1036 lung cancer specimens from a network of tertiary cancer care centers in India. *Indian Journal of Cancer*, 50(2), 87–93. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.117013>

- Venkatesan, N., Seo, Y. J., & Kim, B. H. (2008). Quencher-free molecular beacons: A new strategy in fluorescence based nucleic acid analysis. *Chemical Society Reviews*, 37(4), 648–663. <https://doi.org/10.1039/b705468h>
- Wabuyele, M. B., Farquar, H., Stryjewski, W., Hammer, R. P., Soper, S. A., Cheng, Y. W., & Barany, F. (2003). Approaching real-time molecular diagnostics: Single-pair fluorescence resonance energy transfer (spFRET) detection for the analysis of low abundant point mutations in K-ras oncogenes. *Journal of the American Chemical Society*, 125(23), 6937–6945. <https://doi.org/10.1021/ja034716g>
- Waga, S., & Stillman, B. (1998). The DNA replication fork in eukaryotic cells. In *Annual Review of Biochemistry* (Vol. 67, pp. 721–751). <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.721>
- Walburger, D. K., Afonina, I. A., & Wydro, R. (2001). An improved real time PCR method for simultaneous detection of C282Y and H63D mutations in the HFE gene associated with hereditary hemochromatosis. *Mutation Research - Mutation Research Genomics*, 432(3–4), 69–78. [https://doi.org/10.1016/S1383-5726\(00\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S1383-5726(00)00003-0)
- Ward, D. (1995). The RNA world. *Biochemical Education*, 23(1), 47. [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(95\)90205-8](https://doi.org/10.1016/0307-4412(95)90205-8)
- Whitcombe, D., Theaker, J., Guy, S. P., Brown, T., & Little, S. (1999). Detection of PCR products using self-probing amplicons and fluorescence. *Nature Biotechnology*, 17(8), 804–807. <https://doi.org/10.1038/11751>
- Zhang, Z., Xiao, H., Xie, F., Zhang, H., Chen, C., Xiao, H., Yang, Z., Wang, D., Li, Z., & Wang, G. (2014). High-incidence of PTEN mutations in Chinese patients with primary small cell carcinoma of the esophagus. *BMC Cancer*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-19>

BÖLÜM 3

**AZOT DÖNGÜSÜNDE ROL OYNAYAN
TOPRAK MİKROORGANİZMALARI**

Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK¹

¹ Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye
E-mail: ckucuk@harran.edu.tr. Orcid No: 0000-0001-5688-5440

GİRİŞ

Azot (N); amino ve nükleik asitler, enzimler, klorofil ve proteinler başta olmak üzere bitkilerdeki çoğu organik bileşiğin ana bileşeni olan tüm yaşam formları için son derece önemli bir elementtir (Stark ve Richards, 2008). Toprakta mevcut olan azot; toprak parçacıkları, su, mikroorganizmalar ve bitkilerle etkileşim halindedir. İnorganik azot, bitki gelişiminde en önemli elementtir ve azotun bitkideki formları olan amonyum (NH_4) ve nitrat (NO_3) miktarları toprakta sınırlıdır (Boyle ve ark., 2008). Azotun önemli bir kısmı organik formdadır ve bitkiler tarafından alınmadan önce inorganik azota mineralize edilmesi gerekir. Bitki besin elementi alımı, azot ve karbon döngüsü, amonifikasyon, nitrifikasyon ve denitrifikasyon olmak üzere toprak besin döngüsü üzerine çevresel faktörlerin doğrudan ve dolaylı etkileri olmaktadır. Gübre olarak uygulanan azotun yaklaşık % 50'si bitkiler tarafından kullanılmaktadır ve geri kalanı ise geçici olarak köklerde tutulur, toprak organik maddesinde immobilize olur, topraktan kaybolur veya atmosfere verilir (Dijkstra ve Cheng, 2008).

Toprak sistemindeki azot akışları; girdi (atmosferik azot birikimi, biyolojik azot fiksasyonu, ürün atıklarının birikmesi) ve çıktılara (amonyumun toprak matrisine adsorpsiyonu, nitrat sızıntısı, gazlı azot bileşiklerinin emisyonu, nitrifikasyon ve denitrifikasyon işlemleri ile gaz halinde azot bileşiklerinin emisyonu, immobilizasyon) ayrılır. Mikroorganizmalar, toprağın fiziksel yapısının geliştirilmesinde, toprak verimliliğinin arttırılmasında önemli bir rol oynarlar, mikroorganizmalar azot fiksasyonu (N_2 'dan NH_4^{+} 'a), nitrifikasyon

(NH_4^{++} 'tan $\text{NO}_3^{-}\text{'e}$), denitrifikasyon (NO_3^{-} 'den $\text{N}'\text{'a}$), amonifikasyon, organik maddenin parçalanması ve immobilizasyon yoluyla serbest kalan amonyak (NH_3) ve besin maddelerinin bitkiler için az yada çok kullanılabilir hale getirilmesine katkıda bulunurlar (Beier ve ark., 2004; Jones ve ark., 2005).

Mikorizaların da dahil olduğu funguslar, azot bileşiklerinin depolimerizasyonunu teşvik eden hücre dışı enzimler üretebildiklerinden, topraklardaki azot döngüsünü de etkileyebilirler. Yüksek sıcaklık ve nem, mineralleşmeyi uyararak veya mikrobiyal azot immobilizasyonunun yanı sıra bitkiler tarafından azot alımını teşvik ederek topraktaki mikrobiyal aktivite ve bağlı azot kayıplarında değişikliğe yol açabilir (Jones ve ark., 2005).

Topraklardaki azot dinamiklerindeki değişiklikler, azot döngüsünde yer alan mikrobiyal aktivitelerde biyotik ve abiyotik faktörlerin değişmesi ile yakından ilişkilidir, Bu nedenle toprakta azot döngüsünün mikrobiyolojik süreçlerini kontrol eden faktörleri belirlemek oldukça önemlidir. Bu derlemede, mikroorganizmaların azot döngüsündeki rollerinin genel bir değerlendirmesi özetlenmiştir.

1. AZOT FİKSASYONU

Tarımsal üretimde ve doğal ekosistemlerde azot döngüsü, diazotropik ve serbest yaşayan azot fikse eden bakterilerin biyolojik azot fiksasyonuna dayanır (Galloway ve ark., 2008). Biyolojik azot fiksasyonu önemli bir süreç olup, bitkiler ve hayvanlar için gerekli olan amonyak (NH_3), serbest yaşayan ve bitkilerle simbiyotik ilişkiler

kuran bakteriler tarafından sağlanır.

Azot fikse eden organizmalar genellikle iki kısımda incelenmektedir; (a) *Rhizobium* grubu bakteriler ile simbiyotik ortaklık kuran baklagiller bitkileri ve baklagil olmayan ağaçlar ile ortaklık kuranlar (örnek, *Frankia*) (b) siyanobakteriler (*Anabaena*, *Nostoc*), *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* ve *Azoarcus* gibi simbiyotik olmayan (serbest yaşayan, birleştirici ve endofitler) azot fiksasyonu oluşturanlar (Bhattacharyya ve Jha 2012). Baklagil olmayan bitkilerde atmosferik azotu fikse eden bitki büyümesini teşvik eden rizobakteri, konakçı bitkilerle zorunlu olmayan bir etkileşim oluşturduğundan, diazotroplar olarak da adlandırılır (Glick ve ark., 1999). Biyolojik azot fiksasyonunun çoğu, tüm diazotroflarda bulunan nitrojenaz aktivitesi ile gerçekleştirilir (Frache ve ark., 2009). *Rhizobium* türlerinden başka *Azospirillum* türleri de azotu fikse ederek bitkilere sunabilir (Wisniewski-Dye ve ark. 2015). Bununla birlikte, genellikle, serbest yaşayan bakterilerin, bakteriyel olarak ilişkili konakçı bitkiye gerekli olan azotun düşük miktarını sağladığı düşünülmektedir.

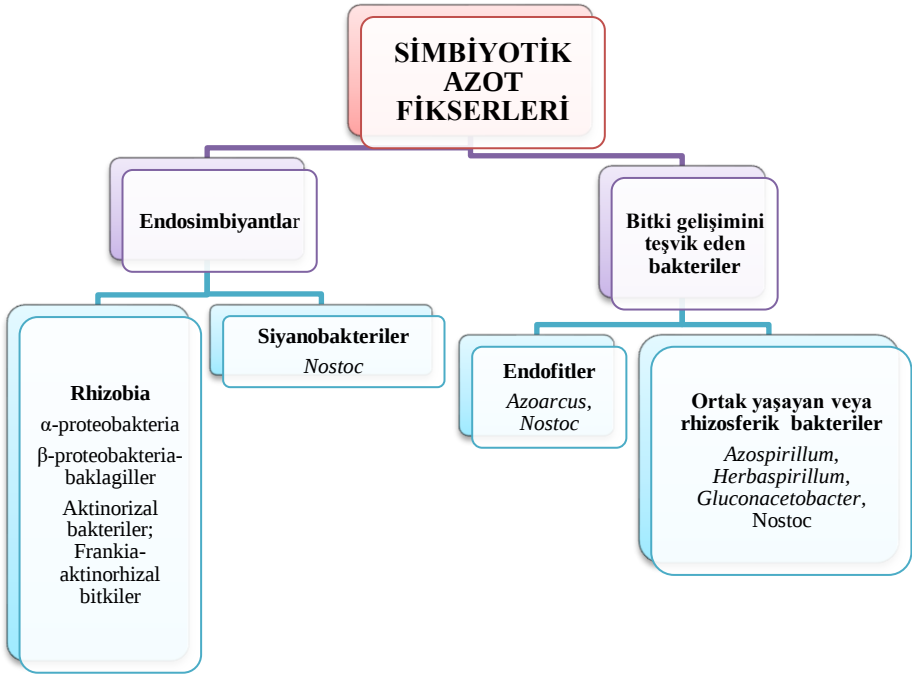
Azot fiksasyonu için gerekli olan nirogenaz (nif) genleri; yapısal genler, Fe proteininin aktivasyonunda yer alan genler, demir molibden kofaktör biyosentezi, elektron bağıışı ve enzim sentezi ve fonksiyonu için gerekli olan düzenleyici genleri içerir (Bhattacharjee ve ark., 2008). Simbiyotik olmayan azot fiksasyonu, azotça noksan topraklarda, bitkinin azot ihtiyacına katkıda bulunabilir. Serbest yaşayan azot fiksatörleri, endosimbiyozlar ve endofitik bakterileri içeren bir dizi bakteriyi içermektedir (Bhattacharjee ve ark., 2008).

Bitki büyümesini teşvik eden rizobakterilerin (PGPR) bir alt kümesi olarak kabul edilen azot fiksasyonda rol oynayan bakteriler ve bitkiler arasındaki etkileşimler Şekil 1’de verilmiştir. Bu bakteriler birçok bitkinin rizosferinde kemotaksis ve kolonizasyon yoluyla kök sızıntılarına yanıt verir, ancak tipik olarak bitki dokularını istila etmezler (Saleem ve ark., 2018). Azot fiksasyonu yapabilen, bitki gelişimini teşvik eden bakteriler (PGPR), *Bacillus* cinsi bakteriler arasında ve özellikle proteobakteriler arasında tanımlanmıştır (Schmid ve Hartmann, 2007). Kök bölgesinde bulunmalarından dolayı, bitki besin alımını (azot, fosfor ve temel mineraller), verimi ve büyümeyi teşvik etmişlerdir.

En fazla çalışılan PGPR türlerinden biri; buğday, mısır ve çeltikte gelişme ve verim artışına neden olan *Azospirillum* cinsine aittir (Steenhoudt ve Vanderleyden, 2000). Birçok diazotropik bakteri türü, konukçu bitkilerde hasara neden olmadan ve önemli savunma reaksiyonları ortaya çıkarmadan bitki dokuları içinde yayılmadan yüzey kolonizasyonunda bulunmaktadırlar. *Azoarcus*, *Herbaspirillum* ve *Gluconacetobacter* gibi bu bakteriler (Şekil 1), bitki dokularıyla sıkı ilişkilerinden dolayı endofitler olarak sınıflandırılmıştır (Pedraza, 2008; Saleem ve ark., 201).

Azotobacter, *Azospirillum*, *Alcaligenes*, *Beijerinckia*, *Campylobacter*, *Derxia*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Pantoea* cinsi bakteriler, azotu fikse edebilmektedirler (Gupta ve ark., 2012; Santos ve ark., 2019). *B.megaterium*, *B.halodurans*, *Cellulomonas* sp., *Micobacterium lacticum*, *Pantoea agglomerans* ve *Azospirillum* sp.

gibi serbest yaşayan bakteriler bezelye rizosferinde bulunmuş, ancak azot tespit yeteneklerinin düşük olduğu belirlenmiştir (Hinsinger ve ark., 2006).



Şekil 1. Azot Fiksasyonunda Rol Oynayan Bazı Toprak Bakterileri (Mus ve ark., 2016)

Atmosferik azot fiksasyonunda rol oynayan bazı toprak bakterilerine örnek Tablo 1’de verilmiştir. Atmosferik azot fiksasyonunda rol oynayan enzim olan nitrojenazın redüktaz alt birimini kodlayan nifH geni, diazotrofların çeşitliliğini ve bolluğunu incelemek için genetik bir belirteç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Zehr ve ark., 2003; Gaby ve Buckley, 2011).

Brezilya'da yağmur ormanı topraklarındaki diazotrof topluluklarının esas olarak Alfa ve Beta-proteobakterilerin (örneğin; *Azospirillum*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Methylobacterium*, *Burkholderia* cinsi), *Paenibacillus*, *Heliobacterium* ve Siyanobakterilerin bol miktarda bulunduğu rapor edilmiştir (Mirza ve ark., 2014; Steenhoudt ve Vanderleyden, 2000).

Birçok baklagil bitki türü, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* ve *Sinorhizobium* gibi kök nodül bakterileri ile simbiyotik bir ilişki oluşturmaktadır. Baklagil-*Rhizobium* simbiyozu tarafından azot fiksasyonu tarımsal öneme sahiptir. Olay, *Rhizobium* türleri tarafından kök saçlarının enfeksiyonu sonucunda oluşturulan kök nodüllerinde gerçekleşir. Belirli *Rhizobium* straini konukçu bakalgillerin köklerini enfekte eder.

Rhizobial enfeksiyon sonrası, köklerin tetraploid hücreleri bölünme için uyarılır ve bakterilerin hızla çoğalması ile nodüller oluşur. Sonuçta bakteriler, şişmiş, düzensiz hücrelere dönüşür, bu yapılar bakteroid olarak adlandırılır. Bakteroidler, azot fiksasyon alanlarıdır. Azot, bitki sitasolünde glutamat sentetaz varlığı ile, bakteroidlerde amonyağa indirgenir. Amido grup aspartata transfer edilir ve aspartat ürünü kök transport sistemi tarafından çıkarılır. Amido grup, glutamat formundan α -okzoglutarata aktarılır. Asparajin bileşikler; glutamat ve glutamin bitki için önemli azot kaynakları olarak görev görür (Lerouge ve ark., 1990). α -okzoglutarat trikarboksilik asit döngüsü yolu ile, sukrozdan oluşturulur.

Bitki gerekli organik substratları bakteroidden sağlamakla kalmaz, aynı zamanda nitrojenazı oksijenden korur. Azot fiksasyonunda etkili nodüller leghemoglobin varlığından dolayı kırmızımsı renktedir. Bu leghemoglobin benzeri bileşikler, oksijenin bakteroidlere erişimini kontrol eden oksijen taşıyıcı olarak işlev görür (Appleby, 1984). *Rhizobium* bakterileri aerobtur, oksijen, nitrojenazı olumsuz olarak etkilemeyecek kadar düşük miktarda, leghemoglobin tarafından solunum zincirinde ATP üretiminde kullanılmak üzere bakterioide taşınır. Bazı *Rhizobium* türleri, konukçu bitkilerinin dışında besi ortamlarında da azotu fikse edebilirler (Appleby, 1984; Mus ve ark., 2016).

Azot tespit eden organizmalar genellikle bitki kök bölgesi toprağında aktiftir ve NH_4^{+} 'a dönüştürülen ve yüksek enerji girişi gerektiren atmosferik azottan azot ihtiyacının karşılanmasına destek olurlar. Bitki köklerinden kök çevresine sızan kök sızıntıları mikrobiyal popülasyonların artmasına katkıda bulunmaktadır. Enerji kaynağı olarak kök sızıntıları, heterotrofik toprak mikroflorasının ekolojik fonksiyonları, özellikle azot fiksasyonu için de önemlidir (Mus ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalarda, çeşitli iklim koşullarındaki topraklarda bulunan serbest yaşayan azot fikse eden bakteriyel mikrobiyal popülasyonlar karakterize edilmiştir. İlkbaharda, farklı toprak derinliklerinde diğer mevsimlere göre önemli ölçüde daha yüksek yoğunlukta (% 28-61) azot tespit eden bakteri izole edilmiştir (Dalal ve Mayer, 1987; Galloway ve ark., 2008). İlkbahar döneminde optimum sıcaklık ve

daha yüksek atmosferik yağışa bağılı toprakta artan nem içeriğı topraklardaki mikrofloranın gelişimini arttırmıştır. Farklı mevsimsel dönem boyunca topraklardaki mikrobiyal popölasyonda değışiklikler belirlenmiş ve kışın toplam mikroorganizma sayısının azaldığı incelenmiştir (Zhang ve ark., 2018). Ayrıca çalışmalarda ürün rotasyonunun serbest yaşayan azot fikse eden bakteri popölasyonu ve aktivitesi üzerinde güçlü bir etkisi olduğu bulunmuştur. Arpa yetiştirilen tarlalarda daha aktif ve çeşitli diazotrop topluluğı gözlemlenmiştir. Azot fikse eden *Burkholderia vietnamiensis* suşunun 25–30 kg N/ha gübre tasarrufu sağlayabildiğı belirlenmiştir.

Çeltikte, tahmini azot birikimi *Azotobacter* aşılması ile 11–15 kg/ha artmıştır. Yapılan bu çalışmalar biyolojik azot fiksasyonunun ürünlerde yüksek azot girdisine katkıda bulunduğunu ve düşük girdili tarım sistemleri için ideal azot kaynağı olduğunu göstermektedir. Bitkisel üretim için azotlu kimyasal gübre uygulaması çevre ile ilgili endişeleri artırmıştır. Bu bağlamda, azot fikse edici bakterilerin tarımsal uygulamalarda kullanılması çok önemli bir yaklaşımdır. Nitrojenaz enzimlerinin aracılık ettiği biyolojik azot fiksasyonunun toprağın biyolojik aktivitesi için önemli bir işlem olduğu açıklanmıştır.

Topraktaki nitrojenaz aktivite, çeşitli iklim koşullarında belirli mikroorganizmaların ve bitki genotiplerinin spesifik azot tespit yetenekleri ile bağlantılı olarak ekolojik koşullara bağılıdır. Ayrıca, çeşitli ürünlerin yetiştirildiğı topraklarda nitrojenaz aktivitesinde farklılıklar gözlemlenmiştir (Galloway ve ark., 2008; Zhang ve ark.,

2018).

Tablo 1. Atmosferik Azot Fiksasyonunda Rol Oynayan Bazı Toprak Bakterileri

Bakteriler	Kaynak
<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Pseudomonas</i> sp. <i>P. glathei</i> , <i>P. fluorescens</i>	Bhattacharjee ve ark. (2008)
<i>Pantoea agglomerans</i>	Orr ve ark. (2011)
<i>Klebsiella</i> spp. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cheneby ve ark. (2000)
<i>Bacillus azotoformans</i> , <i>B. mycoides</i> , <i>B. cereus</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>B. licheniformis</i> , <i>B. megaterium</i>	Korir ve ark. (2017)
<i>Azospirillum</i> spp., <i>A. brasilense</i>	Santos ve ark. (2019)
<i>Burkholderia gladioli</i> <i>B. vietnamiensis</i> , <i>B. kururiensis</i> , <i>B. tuberum</i> <i>B. phynatum</i>	Orr ve ark. (2011)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Orr ve ark. (2011); Saleem ve ark. (2018)
<i>Serratia marcescens</i>	Saleem ve ark. (2018)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	Baldani ve ark. (2000)

2. AMONİFİKASYON

Azotun mineralizasyonu ve toprak mikroorganizmaları tarafından immobilizasyonu, toprak azot döngüsünün anahtar bileşenlerinden biridir ve her ikisi de topraklardaki önemli süreçler olarak kabul edilir. Organik azotlu bileşikler, amonyak (NH_3) oluşumu için mikrobiyal enzimler tarafından ayrıştırılır ve böylece topraklardaki azot bu süreçler sonunda artar. Schimmel ve Bennett'e göre (2004) toprak mikroorganizmaları ile azot mineralizasyonu, azot döngüsünde mineral azot biyoyararlanımını sağlayan temel olayken, bitkiler sadece mineral azotu alır. Amonifikasyonda rol oynayan mikroorganizmalar; *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Microbacterium*, *Streptomyces* gibi türleri içerir (Wirth ve Egamberdieva, 2008).

Mikorizalar, azotça fakir toprak ortamlarında organik polimerleri parçalayan ekzoenzimleri üreterek doğrudan ayrıştırıcı olarak rol oynarlar (Schimmel ve Bennett, 2004). Amonifikasyon bakteri popülasyonu, bitkilerin rizosferindeki baskın gruplardır (Wirth ve Egamberdieva, 2008). Mikrobiyal azot, genellikle toplam toprak azotunun % 2 - 6'sını oluşturur (Dalal ve Mayer, 1987). Bitki kalıntısındaki azot konsantrasyonu, lignin ve C:N, ayrışma hızlarını etkileyebilir (Wang ve ark., 2004). Karbon/azot (C:N) oranı genellikle mineralizasyon veya immobilizasyonun meydana gelip gelmeyeceğinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2004).

İlkbahar ve sonbahar aylarında belirlenen yüksek C:N oranı, kış aylarında oldukça düşük olarak belirlenmiştir. Li ve ark. (2008) ayrıca mikrobiyal biyokütle C ve N üzerinde mevsimsel bir etkinin olduğunu açıklamışlardır. C:N oranındaki kademeli artış, N immobilizasyon potansiyelinin arttığını göstermektedir (Wang ve ark., 2004).

3. NİTRİFİKASYON

Amonyum (NH_4^+), biyosferde ve oksijenli koşullar altında en sık bulunan azot formudur, amonyak stabil değildir ve topraktaki nitrifikasyon bakterileri tarafından nitrit (NO_2^-) ve nitrata (NO_3^-) dönüştürülür (Fiencke ve ark. 2005), bitkiler tarafından kolayca alınır ve toprakta serbestçe hareket eder.

Nitrifikasyonun son ürünü olan nitrat, aynı zamanda toprağa, yüzey suyuna kolayca karışabilir ve topraktan önemli ölçüde azot kaybına neden olabilir (Davidson ve Hackler, 1994), yüzey ve yeraltı sularının NO_3 kirliliğine yol açabilir. Bu nedenle NH_4^{+} 'dan NO_3^- e dönüşüm oranının azaltılması, bitki kullanımı için toprakta daha fazla azotun korunmasına yardımcı olabilir. Nitrifikasyon inhibitörleri ile kombinasyon halinde gübrelerin uygulanması, nitrifikasyon oranını ve NH_3 buharlaşmasını azaltabileceği bildirilmiştir (Davidson ve Hackler, 1994). Nitrifikasyon inhibitörleri yeraltı sularına nitrat sızıntısını ve atmosfere azot oksit emisyonlarını ve toprakta azot tutulmasını azaltmak için başarıyla kullanılmıştır (Wolt, 2004).

Zerulla ve ark. (2001), DCD ve DMPP (3,4-dimetilpirazol fosfat) gibi nitrifikasyon inhibitörlerinin gübrelerdeki azotun etkinliğini arttırmak için kullanıldığını bildirmiştir. Di ve Cameron'a (2002) göre nitrifikasyon inhibitörleri, toprağın üst tabakasında, özellikle azot ve diğer besin maddesinin tutulmasına yardımcı olabilir. Nitrifikasyon oranlarının farklı iklim bölgelerinden gelen topraklarda önemli ölçüde farklılık gösterdiği bildirilmiş, nitrifikasyonun toprak, pH, sıcaklık, nem ve O₂ olmak üzere çevresel faktörlerden etkilendiğini açıklanmıştır (Compant ve ark., 2000; Schimmel ve Bennett, 2004). Nitrifikasyonun ağır metal toksisitesine daha duyarlı olduğu varsayılmaktadır (Zerulla ve ark., 2001).

Topraklarda amonyağın nitrite oksidasyonu *Nitrosomonas* türleri tarafından yapılırken, nitritin nitrata oksidasyonunda *Nitrobacter* rol oynar (Schimmel ve Bennett, 2004). Heterotrofik bakterilerin, mevcut amonyum için nitrifikasyon bakterilerinden daha iyi rakipler olduğunu belirlenmiştir (Richardon ve ark., 2009).

Topraktan olası azot kayıpları nedeniyle nitrifikasyon aktivitesinin herhangi bir uyarımı istenmeyen bir durumdur ve toprakta toksik nitritin birikmesine yol açabilir. Nitrifikasyon işleminin düşük miktarlarda çeşitli kirleticiler tarafından uyarılması gözlemlenmiştir (Sverdrup ve ark., 2007).

4. DENİTRİFİKASYON

Biyolojik nitrat eliminasyonu nitrifikasyon ve denitrifikasyon yoluyla elde edilebilir. Topraktaki azotun kaybına neden olan denitrifikasyonda *Aerobacter*, *Klebsiella* ve *E.coli*, *Pseudomonas* gibi çeşitli bakteri türleri rol oynar, denitrifikasyon aynı zamanda toprak verimliliğinin azaltılması ve yeraltı suyunda NO_3 kirliliğinin azaltılmasında da önemlidir (Aulakh ve ark., 2000; Shelton ve ark., 2000).

Cheneby ve ark. (2000) üç farklı tarım toprağındaki denitrifikasyon bakterilerini araştırmış ve denitrifikatörlerin sayısı ve çeşitliliği ile toprak tipi arasında iyi bir korelasyon bulmuşlardır. NO_3 - NO_2 seviyeleri, ayrıştırılabilir organik karbon kaynağı miktarı ve tipi, toprağın havalanma durumu, pH ve sıcaklık gibi çeşitli faktörler denitrifikasyon bakterilerini etkilemektedir (Qian ve ark., 1997).

Topraklardaki denitrifikasyon oranlarının, topraktaki suda çözünür karbon konsantrasyonu ile yüksek derecede korele olduğu gözlemlenmiş, toprağı organik karbon ilavesi ile mikrobiyal hücrelerde azotun immobilizasyonu arttırılarak denitrifikasyon yavaşlatılabilmektedir (Mus ve ark., 2016; Or ve ark., 2011).

Kök eksüdatları uzun zamandır topraktaki birçok mikroorganizma için önemli bir potansiyel enerji kaynağı olarak bilinmektedir. Bir dizi karbon bileşiğinin kökler tarafından salınmasının bir sonucu olarak köklerin çevresindeki mikroorganizmalar önemli ölçüde uyarılırlar (Hinsinger ve ark., 2006). Groffman ve ark., (1992) yıllık denitrifikasyon aktivitesinin% 80'inden fazlasının yüksek toprak nemi,

erken ilkbahar ve geç sonbaharda meydana geldiğini bildirmiştir (Rover ve ark. 1998). Çeltik tarımı için yaygın olarak kullanılan topraklarda, toprakların suyla kaplanması, denitrifikasyon için elverişli koşullar yaratarak O₂'nin tüklenmesine yol açmaktadır (Aulakh ve ark., 2000).

Sonuç olarak, toprak mikroorganizmalarının organik madde oksidasyonu, hidroliz ve yıkımı üzerinde büyük bir etkisi vardır ve bunlar da azot ve diğer elementlerin doğal döngülerine yansımaktadır. Bu süreçler, çevre koşulları, nem içeriği, sıcaklık, kimyasalların girişi, toprak tipi ve bitki yönetimi stratejileri dahil olmak üzere toprak ekosistemlerinde meydana gelen her türlü faktöre duyarlıdır. Bu nedenle, azot döngüsünde yer alan toprak mikroorganizmalarını etkileyen faktörlerin bilinmesi, sürdürülebilir çevre yönetimi için esastır. Azot döngüsünde yer alan mikroorganizmaların popölasyon dinamiklerinin toprak yönetimi uygulamasındaki ve ekolojik faktörlerdeki değişikliklere nasıl tepki verdiklerini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

- Appleby, C. A. (1984). Leghemoglobin and *Rhizobium* respiration. Annual Review of Plant Physiology, 33, 443-478.
- Aulakh, M.S, Khera, T.S., Doran, J.W. (2000). Mineralization and denitrification in upland, nearly-saturated and flooded subtropical soil. I. Effect of nitrate and ammoniacal nitrogen. Biol Fertil Soils, 31, 162-167.
- Baldani, V.L.D., Baldani, J.I., Dobereiner, J. (2000). Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. Biol Fertil Soils, 30, 485-491.
- Beier, C., Schmidt, I.K., Kristensen, H.L. (2004). Effects of Climate and Ecosystem Disturbances on Biogeochemical Cycling in a Semi-Natural Terrestrial Ecosystem. Water, Air and Soil Pollution, 4, 191-206.
- Bhattacharjee, R.B., Singh, A., Mukhopadhyay, S.N. (2008). Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. Appl Microbiol Biotechnol, 80,199-209.
- Bhattacharjee, R.B., Jha, D.K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World J Microbiol Biotechnol., 28, 1327-1350.
- Boyle, S.A., Yarwood, R.R., Bottomley, P.J., Myrold, D.D. (2008). Bacterial and fungal contributions to soil nitrogen cycling under Douglas fir and red alder at two sites in Oregon. Soil Biology and Biochemistry, 40, 443-451.
- Cheneby, D., Philippot, L., Hartmann, A., Germon, J.C. (2000).16S rDNA analysis for the characterization of denitrifying bacteria isolates from three agricultural soils. FEMS Microbiology Ecology, 34, 121-128.
- Compant, S., van der Heijden, M.G.A., Sessitsch, A. (2010). Climate change effects on beneficial plant microorganism interactions. FEMS Microbiol Ecol, 73,197-214.
- Dalal, R.C., Mayer, R.J. (1987). Long-term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in southern Queensland. VII. Dynamics of nitrogen mineralisation potentials and microbial biomass. Aust.

- J. Soil Res., 25, 461-72.
- Davidson, E.A., Hackler, J.L. (1994). Soil heterogeneity can mask the effects of ammonium availability on nitrification. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 1449-1453.
- Di, H.J., Cameron, K.C. (2002). Nitrate leaching in temperate agroecosystems: Sources, factors, and mitigating strategies. *Nutr. Cycling Agroecosys*, 46, 237-256.
- Dijkstra, F., Cheng W. (2008). Increased soil moisture content increases plant N uptake and the abundance of ¹⁵N in plant biomass. *Plant and Soil*, 302, 263-271.
- Fiencke, C., Spieck, E., Bock, E. (2005). Nitrifying Bacteria. In: Werner, D. and W. E. Newton (eds.), *Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment*, pp. 255-276.
- Franche, C., Lindstrom, K., Elmerich, C. (2009). Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil*, 321, 35-59
- Gaby, J. C., and Buckley, D. H. (2011). A global census of nitrogenase diversity. *Environ. Microbiol.* 13, 1790-1799.
- Galloway, J.N., Townsend, A.R., Erisman, J.W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J.R. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends. Questions and potential solutions. *Science*, 320, 889-892.
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Joergensen, R.G., Ludwig, B. (2010). Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 2058-2067.
- Glick, B.R., Patten, C.L., Holguin, G., Penrose, D.M. (1999). *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria*. Imperial College Press, London
- Gupta, G., Panwar, J., Akhtar, M.S., Jha, P.N. (2012). Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria as Biofertilizer. *Sustainable Agriculture Reviews*, 11, 183-221
- Groffman, P.M., Gold, A., Simmons, R.C. (1992). Nitrate dynamics in riparian forests: Microbial studies. *Journal of Environmental Quality*, 21, 666-671.
- Hinsinger, P., Plassard, C., Jaillard, B. (2006). Rhizosphere: A new frontier for soil

- biogeochemistry. *Geochemical Exploration*, 88, 210-213.
- Jones, D.L., Healey, J.R., Willett, V.B., Farrar, J.F., Hodge, A. (2005). Dissolved organic nitrogen uptake by plants – an important N uptake pathway. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 413–423.
- Korir ,H., Mungai, N.W., Thuita, M., Hamba, Y., Asso, C. (2017). Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. *Front Plant Sci.*, 8, 1–10.
- Lerouge, P., Roche, P., Faucher, C., Mailliet, F., Truchet, G., Prome, J.C., Denarie, J. (1990). Symbiotic host-specificity of *Rhizobium meliloti* is determined by a sulphated and acylated glucosamine oligosaccharide signal. *Nature*, 344, 781-784.
- Li, J., Zhao, B., Li, X., Jiang, R., So, H. (2008). Effects of long-term combined application of organic and mineral fertilizers on microbial biomass, soil enzyme activities and soil fertility. *Agricultural Sciences in China*, 7 (3), 336-343.
- Lopez-Pedrosa, A., González-Guerrero, M., Valderas, A., AzconAguilar, C., Ferrol, N. (2006). GintAMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus*. *Fungal Genet Biology*, 43,102–110
- Mirza, B. S., Potisap, C., Nüsslein, K., Bohannan, B. J. M., and Rodriguesa, J. L. M. (2014). Response of free-living nitrogen-fixing microorganisms to land use change in the amazon rainforest. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 281–288.
- Mus, F., Crook, M.B., Garcia, K., Costas, A.G., Geddes, B.A., Kouri, E.D., Paramasiyan, P., Ryu, M.H., Oldroyd, G.E.D., Poole, P.S., Udvardi, M.K., Voigt, C.A., Ane, J.M., Peters, J.W. (2016). Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. *Applied and Environmental Microbiology*. 82, 3698-3710.
- Orr, C.H., James, A., Leifert, C., Cooper, J.M., Cummings, S.P. (2011). Diversity and Activity of Free-Living Nitrogen-Fixing Bacteria and Total Bacteria in Organic and Conventionally Managed Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 911-919.

- Pedraza, R.O. (2008). Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.*, 125, 25–35
- Richardson, A.E., Barea, J.M., McNeil, A.M., Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil.* 321, 305-339.
- Rover, M., Heinemeyer, O. and Kaiser, E.A. (1998). Microbial induced nitrous oxide emissions from an arable soil during winter. *Soil Biology and Biochemistry*, 14, 1859– 1865.
- Qian, J.H., Doran, J.W., Weier, K.L., Mosier, A.R., Peterson, T.A., Power J.M. (1997). Soil denitrification and nitrous oxide losses under corn irrigated with high-nitrate groundwater. *Environmental Quality*, 26, 348–360.
- Saleem, M., Law, A.D., Sahib, M.R., Pervaiz, Z.H., Zhang, Q. (2018). Impact of root system architecture on rhizosphere and root microbiome. *Rhizosphere*. 6, 47-51.
- Santos, M.S., Nogueira, M.A., Hungria, M. (2019). Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Expr.*, 205, 1-22.
- Schmid, M., Hartmann, A. (2007). Molecular phylogeny and ecology of root associated diazotrophic α - and β -proteobacteria, p 21– 40. In El- merich C, Newton W (ed), *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations*. Springer-Verlag New York, Inc., New York, NY
- Schimmel, J., Bennett, J. (2004). Nitrogen mineralization: challenges of a changing paradigm. *Ecology*, 85, 591-602.
- Shelton, R.D., Sadeghi, A.M., McCarty, G.W. (2000). Effect of soil water content on denitrification during cover crop decomposition. *Soil Sci.* 165:365-371.
- Stark, CH., Richards, KG. (2008). The Continuing Challenge of Agricultural Nitrogen Loss to the Environment in the Context of Global Change and advancing research. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 2, 1-12.
- Steenhoudt, O., Vanderleyden, J. (2000). *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol Rev.*, 24, 487–506.

- Sverdrup, L.E., Hagen, S.B., Krogh, P.H., van Gestel, C.A.M. (2007). Benzo(a)pyrene show low toxicity to three species of terrestrial plants, two soil invertebrates and soilnitrifying bacteria. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 66, 362-368.
- Wang, W.J., Baldock, J.A., Dalal, R.C., Moody, P.W. (2004). Decomposition of plant materials in relation to nitrogen availability and biochemistry determined by NMR and wet-chemical analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 2045–2058.
- Wisniewski-Dye, F., Drogue, B., Borland, S., Prigent-Combaret, C., Borziak, K., Zhulin, I. B., Lozano, L., Gonzáles, V., Mavingui, P. (2015). Core and Accessory Genomes of the Diazotroph *Azospirillum*. In: *Biological Nitrogen Fixation* (F. J. de Bruijn, ed.), pp. 253-264. John Wiley & Sons, Inc, New Jersey
- Wirth, S., Egamberdieva D. (2008). Soil microbial activities affected by soil depth, seasonal change and cultivation type. In proceeding book of the International scientific conference “The Role of National University in the development of the higher education and science in Uzbekistan”. pp. 93-97.
- Wolt, J.D. (2004). A meta-evaluation of nitrpyrin agronomic and environmental effectiveness with emphasis on corn production in the Midwestern USA. *Nutr. Cycl. Agroecosyst*, 69, 23-41.
- Zehr, J. P., Jenkins, B. D., Short, S. M., and Steward, G. F. (2003). Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environ. Microbiol.* 5, 539–554
- Zerulla, W., Barth, T., Dressel, K.E., Locquenghien, K.H., Wissemeier, A.H. (2001). 3,4- Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) – a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. *Biology and Fertility of Soils*, 34, 79-84.
- Zhang, T., Chen, H.Y.H., Ruan, H. (2018). Global negative effects of nitrogen deposition on soil microbes. *The ISME Journal*, 12, 1817-1825.

BÖLÜM 4

**ORGANİK MADDECE ZENGİN KAYALARIN VE
HİDROKARBONLARIN / PETROLLERİN
YAŞLARININ DOĞRUDAN, OLUŞUM, GÖÇ VE
BİRİKME KOŞULLARININ BELİRLENMESİ İÇİN
KULLANILAN İKİ YENİ İZOTOP SİSTEMİ:**

RE-OS VE İYOT-129 İZOTOPLARI

Jeo. Yük. Müh. Adil ÖZDEMİR¹
Dr. Öğr. Üyesi Yıldırım PALABIYIK²

¹ Adil Özdemir Danışmanlık, Ankara

adilozdemir2000@yahoo.com, ORCID ID 0000-0002-3975-2846

² İstanbul Teknik Üniversitesi, Petrol ve Doğal Gaz Mühendisliği Bölümü, İstanbul
palabiyiky@itu.edu.tr, ORCID ID 0000-0002-6452-2858

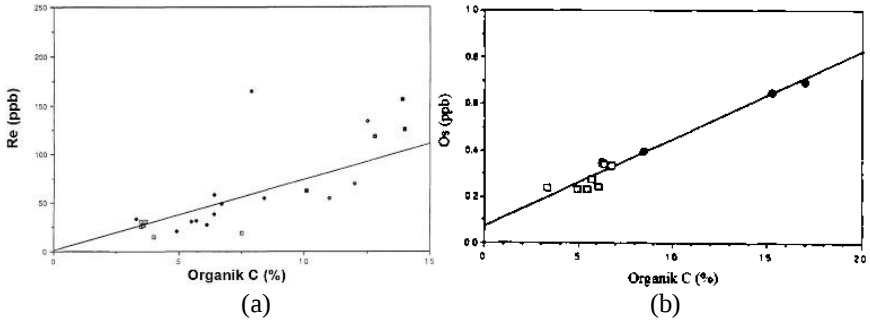
GİRİŞ

Re-Os izotop sistemi, son yirmi yılda olağanüstü gelişmeler yaşamıştır ve bugün jeolojik çalışmalarda organik maddece zengin kayaların, hidrokarbonların/petrollerin vb. yaşlandırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Re-Os izotop çiftinin eşsiz jeokimyasal özellikleri, manto-kabuk etkileşimlerinden deniz suyu bileşimine kadar değişik araştırmalarda uygulanmasına olanak sağlamaktadır. Re-Os izotop sistemi, elementlerin litofilik olduğu ve silikat mineralleri tarafından kontrol edildiği diğer yaygın kullanılan izotopik sistemlerden farklıdır. Re ve Os, yüksek oranda kalkofil ve siderofil elementler oldukları için siyah şeyller vb. gibi sedimanter kayalardaki organik madde ile yakın ilişki içerisinde olan organometaliklerdir. Hem renyum hem de osmiyum, su-sediment arayüzünde veya altındaki indirgeme reaksiyonları nedeniyle depolanma sırasında veya hemen sonrasında deniz suyundan anoksik sedimanlara geçer ve organik madde içinde toplanır. Bu süreç, Re-Os sisteminin organik maddece zengin kayalar ve sıvılar için iyi bir jeokronometre olmasının temelini oluşturur. Re-Os izotopu, petrol jeolojisinde katı ve sıvılardaki petrol hidrokarbonlarının yaşlarının doğrudan belirlenmesini sağlayan değerli bir jeokronometredir. Böylece, Re-Os izotop sistemi organik maddece zengin sedimanter kayaların ve petrollerin oluşum ortamlarının jeolojik yorumu için önemli bilgiler sağlar. Bu bilgi, petrol ve gaz aramaları için çok önemlidir.

Sedimanter kayalarda bulunan iyot miktarı, hiçbir kaya oluşturan mineralde bulunmaz ve killerde absorbe edilmez. Şeyller, genellikle 1-20 ppm gibi yüksek iyot konsantrasyonları içerirler. Yüksek miktarda iyot konsantrasyonu, birincil organik madde olan kerojen içeren şeyllerde ölçülmüştür. Şeyllerde iyot içeriği arttıkça, petrol ve organik karbon içeriği de artar. Organik maddece zengin sedimanlar veya uçucu türevleri (hidrokarbonlar), sedimanter havzalardaki birincil iyot kaynaklarıdır. Havza sularındaki iyot zenginleşmesi, petrol ve doğalgaz rezervuarlarına yakınlık ve gömülme derinliği ile artar. İyot, organik maddelerle olan yakınlığı nedeniyle genellikle organik maddelerle birlikte göç eder ve hidrokarbon göçü ve ilişkideki suların taşınma geçmişi için iyi bir izleyicidir. İyot ve karbon sistemleri arasındaki biyolojik bağlantı, iyi kurulmuştur. Denizel sedimanlarda, organik karbon ile iyot konsantrasyonları arasında güçlü bir ilişki vardır. İyot, organik karbon ile olan yakın ilişkisini koruduğu için iyotun yaşı aynı zamanda ilişkide olduğu organik maddenin yaşıdır. Bu nedenle, iyot birçok çalışmada petrol ve/veya doğalgaz sahası keşfi için hassas bir izleyici olarak kullanılmıştır. Güncel çalışmalardan, jeolojik ve jeofiziksel araştırmaların iyot-129 izotop sistemi ile desteklenmesinin petrol ve doğalgaz arama faaliyetlerinin verimliliğini arttırabileceği görülmektedir. Bu çalışmada, Re-Os ve İyot 129 izotop sistemlerinin petrol jeolojisindeki uygulamaları özenle seçilmiş referanslar üzerinden incelenmiştir.

1. RE-OS İZOTOP SİSTEMİ

Ravizza ve diğ. (1991) ve Ravizza ve Esser (1993), Karadeniz sedimanları üzerinde yaptığı çalışmalarında, Re ve Os ile organik karbon arasında pozitif korelasyonlar elde etmişlerdir (Şekil 1). Ayrıca, organik maddece zengin kayaların Renyum-Osmiyum (Re-Os) yaşlarının düşük hata ile belirlenebileceğini belirtmişlerdir. Re-Os izotop sistemi, son yirmi yılda olağanüstü gelişmeler yaşamıştır ve bugün jeolojik çalışmalarda organik maddece zengin kayaların, ham petrolerin vb. yaşlandırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Re-Os izotop çiftinin eşsiz jeokimyasal özellikleri, manto-kabuk etkileşimlerinden deniz suyu bileşimine kadar değişik araştırmalarda uygulanmasına olanak sağlamaktadır. Bu izotop sistemi, elementlerin litofilik olduğu ve silikat mineralleri tarafından kontrol edildiği diğer yaygın kullanılan izotopik sistemlerden farklıdır. Re ve Os, yüksek oranda kalkofil ve siderofil elementler oldukları için siyah şeyller vb. gibi sedimanter kayalardaki organik madde ile yakın ilişki içerisinde olan organometaliktirler (Ravizza ve Turekian, 1989, Reisberg ve Meisel, 2002; Shirey ve Walker, 1998; Carlson, 2005; Selby ve diğ., 2007). Bugüne kadar yayınlanan Re-Os çalışmalarının çoğu, Re ve Os'un organofilik davranışına dayanmaktadır. Bununla birlikte, şu anda organik maddedeki Re ve Os'un nerede karmaşıklaştığı konusu tam olarak anlaşılamamıştır. Bu elementlerin konumunun anlaşılmasını sağlamaya başlamak için, organik maddelerde (bitüm, kerojen ve petrol) Re ve Os izotop ölçümleri yapılmıştır (Wright, 2015).



Şekil 1. Renyum, osmiyum ve organik karbon arasındaki ilişki (a: **Ravizza ve Esser, 1993**, b: **Ravizza ve diğ., 1991**)

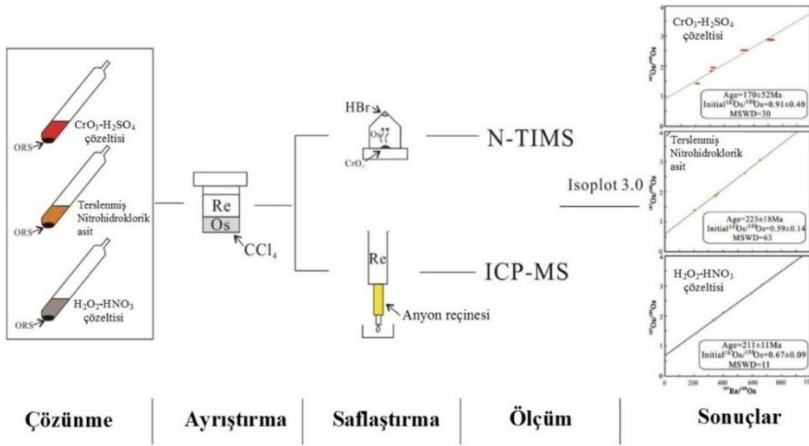
Re-Os izotop sistemi, jeokronolojide organik maddece zengin kayalara, ham petrolere ve hidrokarbonlara uygulanmıştır. Bu izotop sistemi, petrol jeolojisinde katı ve sıvılardaki petrol hidrokarbonlarının yaşlarının doğrudan belirlenmesini sağlayan değerli bir jeokronometredir. Böylece, Re-Os izotop sistemi petroller, hidrokarbonlar ve organik maddece zengin sedimanter kayaların oluşum ortamlarının jeolojik yorumu için önemli bilgiler sağlar. Bu bilgi, petrol ve doğalgaz aramacılığında çok önemlidir.

Re-Os yöntemi, manto erimesi sırasında parçalanmaya yol açan her iki elementin jeokimyasal özelliklerinden dolayı yaş belirleme için diğer radyojenik izotop sistemlerine kıyasla son derece faydalıdır (Marques, 2012). Yin ve diğ. (2017) çalışmasında, Re-Os yaşlandırma analiz yöntemini, analizde kullanılan farklı çözeltileri, bu çözeltilerin aynı numunenin Re-Os yaşlandırma sonuçları üzerindeki etkilerini konu edinen bir çalışma yapmışlardır (Şekil 2). Organik maddece zengin bir kayanın (ORS) Re-Os yaşlandırmasını sağlayan geleneksel yöntem,

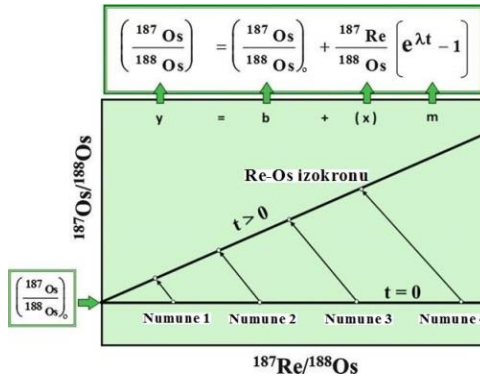
toz haline getirilmiş tüm kaya numunesinin Carius tüpünde bir ters nitrohidroklorik asit çözeltisi içerisinde 240 °C’de 48 saat süreyle çözünmesini, Re ve Os’un birbirinden ayrıştırılmasına, saflaştırılmasını, miktar ölçümünü ve analiz sonuçlarının sunumunu içerir (Şekil 2) (Yin ve diğ., 2017).

Re-Os yaşı, $^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ ve $^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ oranları diyagramında izotop analizi ile elde edilen regresyon çizgisinin (izokron) eğimi aracılığı ile belirlenebilir (Şekil 3). İzokronlar, ortak bir kaynaktan oluştuğu düşünülen birkaç örneğin analiz edilmesi ile oluşturulur. Re-Os izokronu, radyojenik ^{187}O ’un radyojenik olmayan ^{188}O ’a oranını, ana izotop ^{187}Re ’nin radyojenik olmayan izotop ^{188}O ’a oranıdır. ^{188}O osmiyum izotopu, izokrondaki radyojenik izotopun normalleştirilmesi için kullanılır.

Re-Os yaşını yazılımla belirlemek için laboratuvar tarafından sunulan ve regresyon analizinde kullanılan bir veri setine ihtiyaç vardır (Tablo 1). Numunelerin Re-Os yaşı ($^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ - $^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ oranı diyagramına göre regresyon çizgisi/izokron eğimi ile belirlenen), Isoplot/Ex (Ludwig, 2012) veya IsoplotR (Vermeesch, 2018) yazılımı ile hesaplanır (Şekil 4).



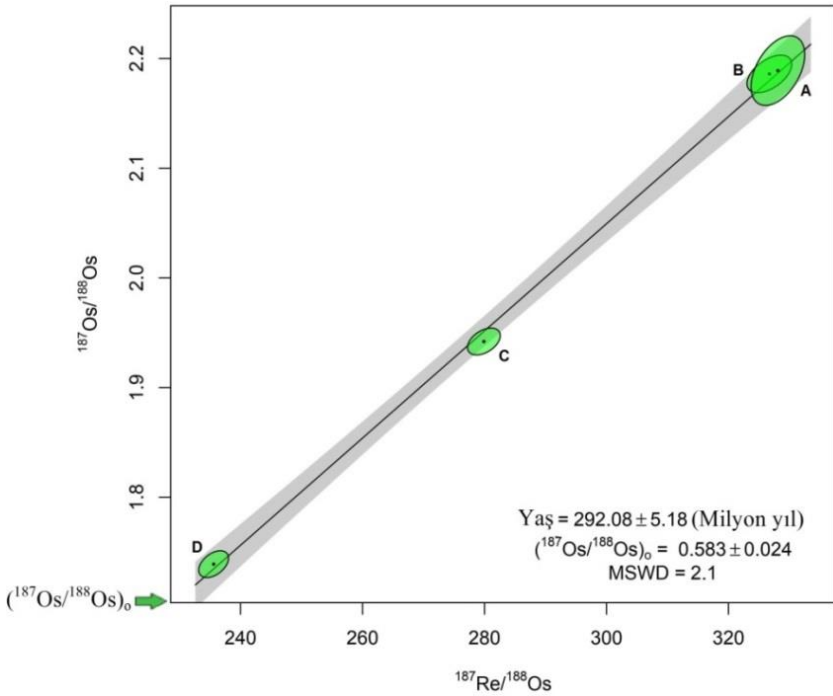
Şekil 2. Re-Os izotop yaşlandırmanın laboratuvar analiz akış şeması, farklı çözeltiler ve yöntemlerin ölçüm sonuçları üzerindeki etkisi (Yin ve diğ., 2017). N-TIMS: negatif termal iyonizasyon kütle spektrometresi, ICP-MS: indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi



Şekil 3. Re-Os izotop yaş belirleme yöntemi. Re-Os yaşı, $^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ ve $^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ oranı diyagramındaki Re-Os izokronunun eğimi ile belirlenir. Örneğin dört şeyl numunesinin tümü, Os sıfır zamanında biriktirilmiş ve aynı başlangıç $^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ oranıyla deniz suyundan alınmıştır. ^{187}Re zaman içinde $^{187}\text{O}^+$ 'ya bozunurken, her bir noktanın konumu yukarı ve sağa doğru kayar. $^{187}\text{O}/^{188}\text{O}$ 'daki artış, her bir nokta için $^{187}\text{Re}/^{188}\text{O}$ 'un büyüklüğü ile orantılıdır. Dört nokta $t > 0$ 'da, doğrusal regresyonu gösterilen denklem ile düz bir çizgi oluşturur. Eğim ($m = e^{\lambda t} - 1$), numune yaşı ve bozunma sabitinin bir fonksiyonudur. Eğimdeki ve başlangıç oranındaki $[(^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os})_0]$ belirsizlikler, her veri noktası için analitik belirsizliklere ve regresyon için uygunluğa bağlıdır (Stein ve Hannah, 2014'den). Yaş $t = \ln(m + 1)/\lambda$, λ = bozunma sabiti ($1.666 \times 10^{-11} \text{ y}^{-1}$; Smoliar ve diğ., 1996).

Tablo 1. Re-Os yaşını yazılımla belirlemek için laboratuvar tarafından sunulan ve regresyon analizinde gerekli olan bir veri seti

Numune	$^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$	$^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ hata	$^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$	$^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ hata	rho (hata kıyaslama fonksiyonu)
A	326.7	1.5	2.186	0.007	0.52
B	328.1	1.8	2.189	0.013	0.46
C	279.9	1.1	1.942	0.005	0.44
D	235.6	1.0	1.739	0.005	0.45



Şekil 4. IsoplotR (Vermeesch, 2018) yazılımıyla 4 numunenin (Tablo 1) Re-Os yaşının hesaplanması ($^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ - $^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ oranları diyagramındaki regresyon çizgisi/izokronun eğimi ile belirlenen). $(^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os})_0$ = Başlangıç değeri, MSWDs = Ortalama ağırlıklı sapmaların karesi

1.1. Re-Os İzotop Sisteminin Petrol Jeolojisinde Kullanımı

Petrol, neredeyse sadece hidrokarbonlardan (yani C ve H bileşiklerinden) oluşur. Bu nedenle, oluşumu zordur. Buna ilave olarak, bir dizi koşulun sağlanması durumunda, ekonomik petrol birikimleri oluşabilir. Bunlar;

- Kaynak kayanın birikmesi sırasında nispeten yüksek miktarda organik madde konsantrasyonunun kerojen olarak sediman içerisinde korunduğu bir ortam,
- Gömülme ve ardından kerojenin hafif ısınma ile hidrokarbona dönüşümü, petrolün göçü ve bir rezervuar kayada birikmesidir.

Çeşitli yöntemlerle (bazıları izotopik analiz içeren), kaynak kayanın tanımlanması çoğu zaman mümkündür ve standart korelasyon teknikleri, kaynak kaya yaşını belirleyebilir. Diğer süreçlerin yaşı, özellikle türeme ve göç zamanlarının tespit edilmesi oldukça zordur.

Re-Os sisteminin organik maddece zengin kayalardaki uygulamasında, hem renyum hem de osmiyumun organik madde ile olan yakın ilişkisi esas alınmaktadır (Ravizza ve Turekian, 1989; Ravizza ve diğ., 1991; Cohen ve diğ., 1999; Creaser ve diğ., 2002). Hem renyum hem de osmiyum, su-sediment arayüzünde veya altındaki indirgeme reaksiyonları nedeniyle depolanma sırasında veya hemen sonrasında deniz suyundan anoksik sedimanlara geçer ve organik madde içinde toplanır. Bu süreç, Re-Os sisteminin organik maddece zengin kayalar ve sıvılar için iyi bir jeokronometre olmasının temelini oluşturur

(Marques, 2012). Re ve Os, birçok petrolde ölçülebilir miktarda bulunur (Li, 2017).

Re-Os jeokronolojisi aşağıdaki bilgileri sağlar (Hannah ve diğ., 2014):

- Organik maddece zengin kayaların jeolojik açıdan tutarlı radyometrik yaşının belirlenmesine, bölgesel ve küresel ölçekli korelasyonlara izin verir.
- Aynı birimin veya birimlerin, sedimentasyon ve hidrokarbon potansiyeli hakkında ayrıntılı bilgi verir.
- ($^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$)₀ oranı, çökelme alanının paleoklimatoloji ve paleoortam koşulları için yeni bir izleyicidir.
- Dikkatli ve amaca dönük jeolojik örnekleme ve Re-Os analitik sonuçlarının bütünsel yorumlanması, hidrokarbon olgunlaşması ve/veya kaynak kayadan atılması (birincil göç) sürecinin belirlenmesi için emsalsiz fırsatlar sunar.

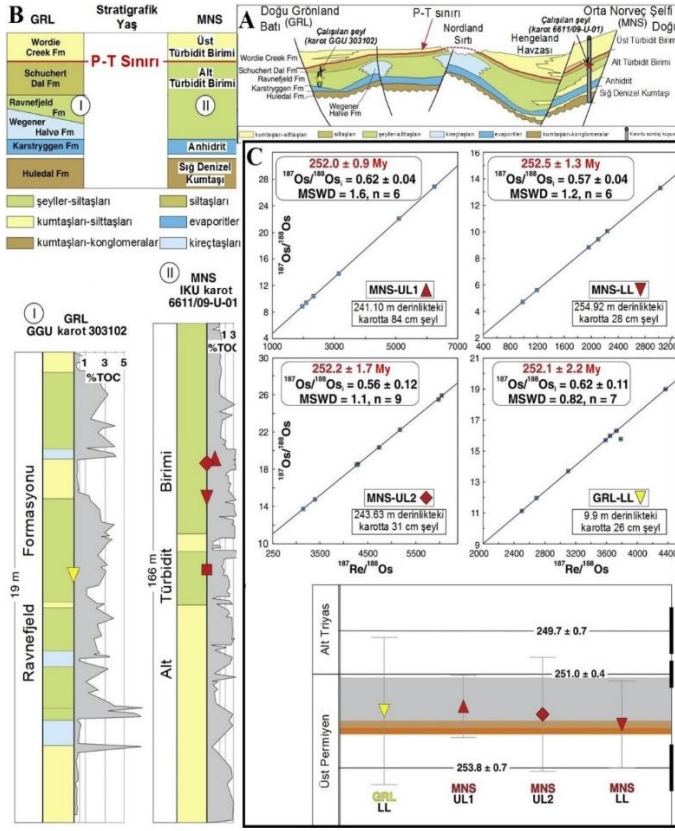
Araştırmacılar, yakın zamanda Re-Os izotop sistemini kullanarak hidrokarbon göçü ve olgunlaşması konusunda bazı başarılar elde etmişlerdir (Creaser ve diğ., 2002; Finlay ve diğ., 2011; Cumming, 2013; Lillis ve Selby, 2013; Liu, 2017). Birleşik Krallık Atlantik kıta kenarında incelenen birçok petrol numunesi, Re-Os izotopik sistemi ile petrol kaynağının belirlenebileceğini ve belirlenen yaşların türüm olaylarının yaşlarına karşılık geldiğini göstermiştir (Finlay ve diğ., 2011). Re ve Os, çoğu ham petrolde ölçülebilir miktarda bulunur. Re-Os jeokronometresi, petrol türümünün zamanlamasını, termokimyasal sülfat indirgemesini ve dünyadaki petrol sistemleri için ham petrolün

termal alterasyonunu başarıyla tespit etmiştir. Ayrıca osmiyum izotop bileşimi, bir petrol kaynağı korelasyon verisi olarak kullanılmıştır (Liu, 2017).

1.1.1. Re-Os İzotop Sistemi ile Organik Maddece Zengin Kayaların Yaşının Belirlenmesi

Deniz suyu sütunundaki Re ve Os'un bünyeye alınması, suboksik - anoksik şartlar altında, muhtemelen indirgeyici yakalama (Colodner ve diğ., 1993; Yamashita ve diğ., 2007) ve organik komplekslerce emilmenin bir kombinasyonu sonucunda ortaya çıkar (Crusius ve diğ., 1996; Levasseur ve diğ., 1998; Oxburgh, 1998; Cohen ve diğ., 1999; Morford ve Emerson, 1999). Çeşitli organik ve inorganik fraksiyonlardaki Re ve Os miktarları, bu elementlerin ağırlıklı olarak kerojende, düşük miktarlarda ise bitümde bulunduğunu göstermektedir (Wright, 2015). Re-Os yönteminin en önemli katkısı, organik madde biriktirme zamanında deniz suyunun $^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ oranına eşit olduğu düşünülen organik maddece zengin kayaların ilk $^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ oranının belirlenmesidir (Peucker-Ehrenbrink ve Blum, 1998; Peucker-Ehrenbrink ve Ravizza, 2000; Ravizza ve Peucker-Ehrenbrink, 2003). Okyanustaki hızlı karışma süresi, günümüzde homojen izotopik deniz suyu bileşimi anlamına gelmektedir (Cohen, 2004). Eğer bir şeylin $(^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os})_0$ değeri negatifse, bu durum büyük bir magmatik kuşak (LIP) oluşumu sırasındaki bazaltik magmanın patlaması nedeniyle, bu anoksik dönemde deniz suyunun $^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ değerinde önemli bir değişim olduğuna işaret eder (Wright, 2015).

Re-Os izotop sistemi, birçok çalışmada organik maddece zengin kayaların yaşının belirlenmesi için kullanılmıştır (Ravizza ve Turekian 1989; Cohen ve diğ., 1999; Creaser ve diğ., 2002; Selby ve Creaser, 2003, 2005a; Kendall ve diğ., 2004, 2006, 2009; Azmy ve diğ., 2008; McArthur ve diğ., 2008; Selby ve diğ., 2009; Xu ve diğ., 2009, 2013; 2014; Rooney ve diğ., 2010; Finlay ve diğ., 2010a; Baioumy ve diğ., 2011; Georgiev ve diğ., 2011; 2012; Cumming ve diğ., 2012; Cumming, 2013; Harris ve diğ., 2013; Cumming ve diğ., 2014; Stein ve diğ., 2014; Tripathy ve diğ., 2014; Wright, 2015; Liu, 2017; Liu ve diğ., 2018a). Georgiev ve diğ. (2011)'nin çalışması, Re-Os izotop sistemi ile organik maddece zengin kayaların yaşının belirlenmesine iyi bir örnektir. Bu çalışmada, Doğu Grönland (GRL) - Orta Norveç Şelfi (MNS)'den alınan dört adet organik maddece zengin şeyl karot numunesinin yaşını belirlemek için Re-Os izotop sistemi kullanılmıştır (Şekil 5). Şeyl numunelerinin Re-Os yaşı, 252 milyon yıl olarak belirlenmiş ve numuneler arasında uyumlu bir jeolojik ilişkilendirme sağlanmıştır.



Şekil 5. Organik maddece zengin kayaların Re-Os yaşlarının belirlenmesi ve jeolojik korelasyonu için bir örnek. A. Doğu Grönland (GRL) - Orta Norveç Şelfi (MNS) arası şematik litostratigrafik kesit, Üst Permian-Alt Triyas formasyonlarının korelasyonunun, Permian-Triyas sınırının konumunun ve incelenen karotların seviyelerinin gösterimi. B. Şeklin üst kısmı stratigrafi, litoloji, varsayılan yaş ve Permian-Alt Triyas birimleri, Doğu Grönland (GRL) ve Orta Norveç Şelfi (MNS) için formasyon ve birim adlarını göstermektedir. Daire içine alınmış I ve II, numunelerin yaklaşık konumunu göstermektedir. Altındaki çizim ise, Ravnefeld Formasyonu ve Alt Turbidit Birimi için stratigrafik alt bölümleri ve toplam organik karbon (TOC) içeriğini göstermektedir. Örneklenen şeyl aralıklarının yeri dolgulu sarı ve kırmızı renkli simgelerle gösterilmiştir. C. Dört şeyl örneği için belirlenen Re-Os yaşı ve numunelerin korelasyonu (Georgiev ve diğ., 2011'den).

1.1.2. Re-Os İzotop Sistemi ile Ham Petrollerin Yaşının Belirlenmesi

Selby ve Creaser (2005b) ile Selby ve diğ. (2005), ilk ham petrol ve bitüm Re-Os izotop sonuçlarını yayınlamışlardır. Petrol vb. gibi hidrokarbonların ($^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$)_o izotopik oranlarının ve Re-Os yaşlarının belirlenmesi, güncel araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Selby ve diğ. (2007), petrol tiplerinin ve fraksiyonlarının Re-Os izotopik bileşimini ve Re-Os dağılımını değerlendirmiştir. Düşük (< %1) asfaltit içeren hafif petroller, çok düşük Re-Os içeriğine sahiptir. Asfaltitte, çoğunlukla renyum ve osmiyum bileşimi mevcuttur ve izotopik bileşimi, petroller ve kaynak kayalarinkine benzerdir (Selby ve diğ., 2007). Belki şaşırtıcı bir şekilde, özellikle Re ve Os, petrolde nispeten yüksek konsantrasyonlarda bulunabilir. Selby ve diğ. (2007), Re ve Os'un öncelikle petrolün asfaltten fraksiyonunda bulunduğunu tespit etmiştir. Petroldeki Re miktarları yüksek olabilir ve Os konsantrasyonlarından fazladır. Sonuç olarak, $^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ oranları 1000'i geçebilir. Bu da, yüksek $^{187}\text{Os}/^{188}\text{Os}$ oranları ile sonuçlanır.

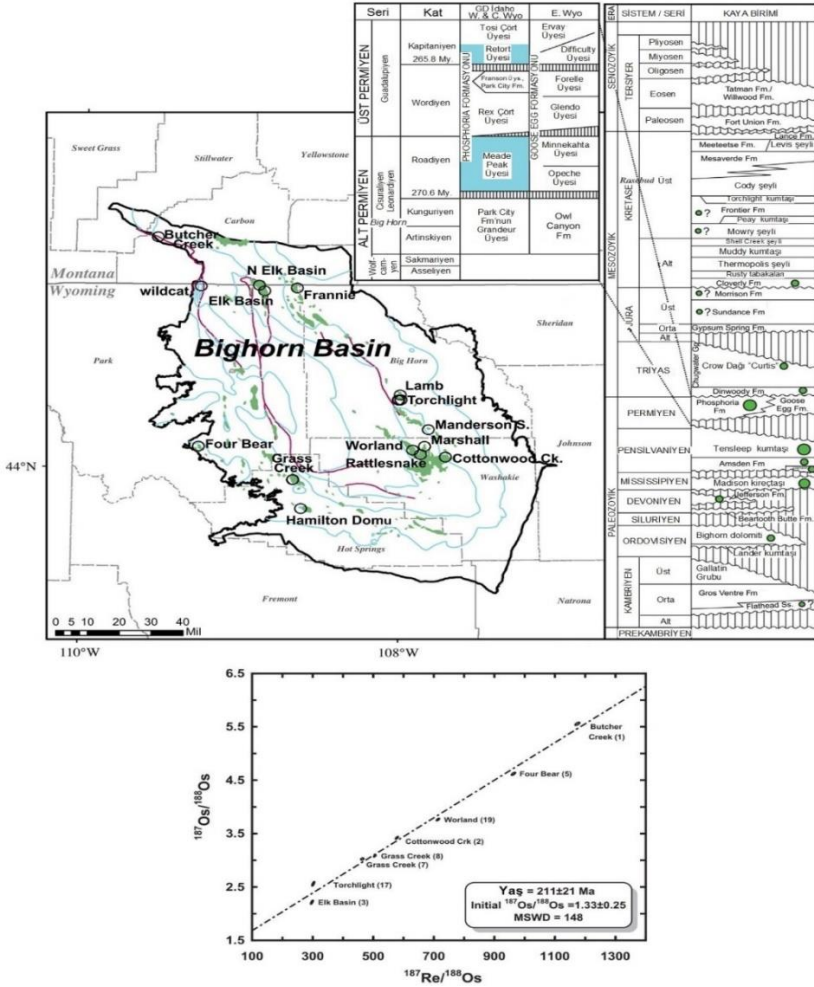
Re-Os izotop sistemi, birçok çalışmada hidrokarbonlar ve ham petrollerin jeolojik yaşının belirlenmesi için kullanılmıştır (Selby ve Creaser, 2005b; Shelby ve diğ., 2005; Selby ve diğ., 2007; Finlay ve diğ., 2010b, 2011, 2012; Lillis ve Selby, 2013; Georgiev ve diğ., 2016; Liu, 2017; DiMarzio ve diğ., 2018; Lawson ve diğ., 2018; Corrick ve diğ., 2019). Lillis ve Selby'nin (2013) çalışması, ham petrollerin yaşının Re-Os izotop sistemi ile belirlenmesine iyi bir

örnektir. Bu çalışmada, Bighorn Havzası'ndaki (ABD) üretim kuyularından alınan petrol numunelerinin yaşını belirlemek için bu izotop sistemi kullanılmıştır (Şekil 6). Petrol örneklerinin Re-Os yaşı, 211 ± 21 milyon yıl olarak belirlenmiş ve organik jeokimyasal veriler ile Re-Os izotop jeokimyası arasında yakın bir ilişki kurulmuştur.

1.1.3. Re-Os İzotop Sistemi ile Hidrokarbonlarca Zengin Yüzey ve Yeraltı Sularındaki ve Topraklardaki Hidrokarbonların Yaşının Belirlenmesi

Kaynak kaya, hidrokarbon türetmiş, türeten veya türetme potansiyelli sedimanter kayadır (Tissot ve Welte, 1984). Kaynak kayalar, potansiyel (petrol türetebilir), etkin (petrol türeten), geçmişte etkin (petrol türetmiş) veya tükenmiş (petrol türetmiş) kayalar olarak sınıflandırılabilir. Potansiyel kaynak kaya, olgunlaşması durumunda hidrokarbonları türetmek ve salmak için bünyesinde yeterli miktarda karbon ve hidrojen içerikli organik madde bulunan kaynak kayadır. Petrol türetmek için yeterli miktarda organik madde içerir. Ancak, uygun termal olgunluk seviyesine ulaştığında etkin bir kaynak kaya olur. Etkin kaynak kaya, günümüzde hidrokarbon türeten ve salan organik maddece zengin kayadır. Petrol penceresinde, petrol türetir ve salar. Geçmişte etkin kaynak kaya, bünyesindeki organik maddeyi tüketmeden önce termal soğuma (yükselme) nedeniyle hidrokarbon türetmeyi ve salmayı bırakmış etkin kaynak kayadır. Bugün petrol türetme potansiyeli göstermesine karşın petrol türetmeyen, ancak geçmişte türetmiş olan kaynak kayadır. Tükenmiş kaynak kaya, bünyesinde kalan yetersiz organik madde nedeniyle veya fazla olgun

olduğu için hidrokarbon türetme ve salma yeteneği olmayan etkin kaynak kayadır. Olgunluk aşamasına ulaşmıştır ve daha fazla petrol türümü mümkün değildir. Ancak, ıslak ve kuru gaz türetme potansiyeline sahip olabilir. Bir petrol sistemi, etkin kaynak kaya içeren bir sistemdir. Etkin kaynak kaya terimi, termal olgunlaşmayı dikkate almadan petrol türeten kayaları veya sedimanları içerir. Ancak, önceden etkin olan bir kaynak kaya şimdi etkin olmayabilir veya tükenmiş olabilir (Dow, 1977; Barker, 1979; Peters ve Casa, 1994; Law, 1999). Dolayısıyla, olgun petrol hidrokarbonları içeren suların bulunduğu ancak etkin kaynak kayalarının mostra vermediği bölgelerde, bu sulardaki hidrokarbonların kaynağı için iki olasılık vardır: 1) Bölgede, stratigrafik veya tektonik olarak genç veya yaşlı birimler tarafından tamamen örtülmüş etkin petrol kaynak kayaları (şeyl, çamurtaşı, karbonat vb.) bulunmaktadır. 2) Bölgede, geçmişte etkin olan veya tüketilmiş petrol kaynak kayaları mevcuttur. Bu nedenle, hidrokarbonlarca zengin sulardaki hidrokarbonların kaynağı, mostra vermeyen/gömülü etkin kaynak kayalar (şeyl, karbonat vb.) veya petrolünü türetmiş/tükenmiş ve metamorfizma öncesi sedimanter kaya (şeyl, çamurtaşı, karbonat vb.) olan, bölgedeki siyah, gri ve kahverengi renkli metamorfik kayalar (şistler, filitler, sleytler, kristalize kireçtaşları, mermerler) olabilir.



Şekil 6. Ham petrolerin Re-Os yaşlarının belirlenmesine bir örnek. Ham petrol numune lokasyonları (dolgusuz daireler), petrol sahaları (yeşil renkli dolgulu poligonlar), havza sınırları, Cloverly Formasyon yapı konturları, ana faylar (kırmızı hatlar) ve eyalet sınırlarını gösteren Bighorn Havzası haritası. Fosfor kaynaklı petrol (yeşil renkli daireler) içeren rezervuarları ve Phosphoria Formasyonu'nun üyelerini gösteren stratigrafik dikme kesit (Lillis ve Selby, 2013'den).

Günümüzde, kaynak kayaların mostra vermediği (yüzeyde görülmediği) örtülü veya kaynak kayaların tüketilmiş olduğu havzalarda/bölgelerde hidrokarbonlarca zengin suların ve organik

jeokimyasal özelliklerinin belirlenmesine imkan sağlayan suda TPH (Toplam Petrol Hidrokarbonları) analizi petrol aramacılığında kullanılmaya başlanmıştır (Özdemir, 2019a-c; Palabıyık ve Özdemir, 2020; Özdemir ve Palabıyık, 2020; Özdemir ve diğ., 2020a-c; Palabıyık ve diğ., 2020). Çünkü, güncel çalışmalarda kaynak kaya ve gaz numuneleri üzerinde yapılan tüm organik jeokimyasal analizlerin, suda TPH analizi ile belirlenen petrol hidrokarbonlarınca zengin yüzey ve yeraltı suları üzerinde de uygulanabildiği, aynı havzalarda/bölgelerde aynı analiz ve yorumlama sonuçlarına ulaşıldığı belirlenmiştir (Özdemir, 2018; Liu ve diğ., 2018b). Bu nedenle, olgun petrol hidrokarbonlarınca zengin sular, kaynak kayaların mostra vermediği (yüzeyde görülmediği) örtülü veya kaynak kayaların tüketilmiş olduğu havzalarda/bölgelerde petrol ve doğalgaz aramak için emsalsiz bir jeokimyasal araçtır. Olgun petrol hidrokarbonlarınca zengin yüzey ve yeraltı suları, yeraltındaki bir petrol ve/veya doğalgaz rezervuarı varlığının yüzeyden veya yüzeye yakın seviyelerden kanıtlanmasını sağlar. Sonuç olarak, çok sayıda olgun hidrokarbonlarca zengin su kaynağı tespit edilen havzalarda/bölgelerde, ticari hidrokarbon rezervuarlarını keşfetme şansı doğal olarak yüksek olacaktır.

Palabıyık ve diğ. (2019) ile Karataş ve diğ. (2019) Batı ve Kuzeybatı Anadolu'da bulunan çalışma alanlarında, çok sayıda olgun petrol hidrokarbonlarınca zengin yüzey ve yeraltı suları belirlemiş ve bu sulardaki hidrokarbonların yaşının belirlenmesi için Re-Os izotop sistemini kullanmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre, jeolojik,

jeokimyasal ve jeofizik verilerle tahmin edilen kaynak kaya yaşları ile Re-Os yaşları uyumlu çıkmıştır. Özdemir ve diğ. (2019), Özdemir ve diğ. (2020a-c), Özdemir ve Palabıyık (2020) ile Palabıyık ve diğ. (2020) tarafından Orta Anadolu, Orta ve Doğu Pontidler’de gerçekleştirilen rezervuar hedefli petrol ve doğalgaz arama projelerinde, Re-Os izotopik yaşlandırma sisteminin çalışma alanlarında belirlenen çok sayıda olgun petrol hidrokarbonlarınca zengin su ve toprak numuneleri üzerindeki uygulamaları devam etmektedir. Paul ve diğ. (2009)’nin çalışmasında, yüzey ve yeraltı sularının, Pierson-Wickmann ve diğ. (2002)’nin çalışmasında da toprakların Re-Os izotop oranının belirlenmesi için kullanılan analiz yöntemi detaylı olarak tariff edilmiştir.

2. İYOT-129 İZOTOP SİSTEMİ

Büyük miktarda hidrokarbon birikimi olan sedimanter havzaların tuzlu suyundaki iyotun kaynağı olan, gömülen ve olgunlaştıktan sonra petrole dönüşen ve ortamdaki sularda iyot zenginleşmesine sebep olan gömülü organik madde, formasyon sularının toplam iyot konsantrasyonu üzerinde güçlü bir denetime sahiptir. Ayrıca, iyotça zengin bu sular hidrokarbon göçüne aracılık eder (Chen ve diğ., 2016). Bu nedenle havza sularının iyot konsantrasyonları, sularla organik açıdan zengin formasyonlar arasındaki etkileşimleri takip etmek için ilk yaklaşım olarak kullanılabilir (Osborn ve diğ., 2012). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda da, iyot ve petrol sistemleri arasındaki ilişki detaylı olarak incelenmiştir (Özdemir, 2018a-c; 2019d).

Sedimanter havzalardaki akışkanların derinlerden yeryüzeyine doğru akış mekanizması Land (1991) tarafından kanıtlanmıştır. Harrison ve Summa (1991), sedimanter havzalardaki akışkanların düşey hızlarını hesaplamış ve çözelti içerisindeki organik maddenin termal alterasyonundan iyot salınımı modelini önermişlerdir (Mani ve diğ., 2011). Synder ve Fabryka-Martin (2007) formasyon suyunun, suyun türediği ortam ve temas halinde olduğu organik madde kaynağı ile aynı $^{129}\text{I}/\text{I}$ yaşına sahip olduğunu belirtmiştir. Moran ve diğ. (1995), sedimanter havzalarda akışkan hareketleri ve kaynak yaşı üzerine yaptıkları çalışmalarında iyot ile ilişkili hidrokarbonlar ve sular için uzun mesafeli dikey göç modelini sunmuşlardır. Bu modellerdeki sorun, iyotun milyonlarca yıl boyunca organik moleküllere bağlı olup olmadığıdır. Bu konu, önemli bir noktadır. Çünkü, ham petrolün iyot konsantrasyonu çok düşüktür ($< 1 \text{ mg/l}$) (Hitchon ve Filby, 1983; Tullai ve diğ., 1987; Fehn ve diğ., 1987; Pereira ve diğ., 2015; Özdemir, 2019d). Bu nedenle, iyot organik maddenin ayrışması ve sedimantasyon süreçleri boyunca organik C ile birlikteliğini korumuş ve termal olgunlaşma sırasında etkileşimde olduğu su içerisine salınmıştır. İyot, kapalı sistemlerde organik C ile olan ilişkisini koruduğu için iyotun yaşı aynı zamanda ilişkide olduğu organik maddenin yaşı da olacaktır (Moran ve diğ., 1998). Bu çalışmada, ^{129}I izotop sisteminin petrol jeolojisindeki uygulamaları örnek vakalar üzerinden incelenmiştir.

İyot, sularda bulunmaya karşı genellikle muhafazakar bir davranış sergiler. Ancak, organik madde ile olan yakın ilişkisi, jeokimyasal karakterini diğer izotopik izleyicilerinkinden farklı kılar. Organik maddelerle olan yakınlığı nedeniyle genellikle organik maddelerle birlikte göç eder ve hidrokarbon göçü ve ilişkideki suların taşınma geçmişi için iyi bir izleyicidir. İyot, $^{129}\text{I}/\text{I}$ yüzey oranına sahip kaynak kayalarına genel olarak hidrokarbon türeten organik madde ile birlikte girer (Fehn ve diğ., 1990). Bu yüzey $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranı, 1500×10^{-15} 'dir. Tissiojenik ve kozmojenik bileşenler, yüzey iyot rezervuarlarına benzer oranlarda (1500×10^{-15} civarında) pre-antropojenik $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranına yakın bir iyot katkısında bulunurlar. Yeraltına olan ^{129}I katkısı, 10 milyon yıldan daha genç sistemler için önemsiz olmakla birlikte, bu yaştaki sistemlerde yüksek ^{129}I katkısının kaynağı olan hidrokarbon kaynak kayalarının baskınlığı tipiktir (Fabryka-Martin, 1984; Moran ve diğ., 1995). Fisyojenik üretim yaklaşık 100 milyon yıl dengesine ulaştığında, ^{129}I konsantrasyonu bozulmadan sistemde sabit kalır ve formasyondaki uranyum konsantrasyonunu yansıtır (Liu ve diğ., 1997).

Dayanıklı biyofilik bir element olan iyot, genellikle petrol sahası suları (Moran ve diğ., 1995; Hummel, 2011) veya kömür yatağı metan (CBM) rezervuarları (Snyder ve diğ., 2003) gibi hidrokarbonlarla ilişkili akışkanlarda yüksek oranda zenginleşmiş olarak bulunur. Bu özelliği nedeniyle iyot izotopu, son yıllarda çeşitli yapılardaki hidrokarbon kaynaklarının ve bu hidrokarbon kaynakları ile ilişkili formasyon suları yaşının ve göç süreçlerinin belirlenmesinde

kullanılmaktadır (Fehn ve diğ., 1987; Fehn ve diğ., 1990; Martin ve diğ., 1993; Moran ve diğ., 1995; Liu ve diğ., 1997; Fehn ve diğ., 2000; Birkle, 2006; Fehn ve diğ., 2007; Muramatsu ve diğ., 2007; Lu ve diğ., 2008; Tomaru ve diğ., 2009a,b; Togo ve diğ., 2014; Alvarez ve diğ., 2015 ve 2016; Santschi ve diğ., 2016; Chen ve diğ., 2016). Formasyon sularındaki iyotun yaşı (dolayısıyla hidrokarbonların yaşı), $^{129}\text{I}/\text{I}$ izotopu kullanılarak formülle (Fehn ve diğ., 2007) veya grafiksel (Şekil 7 ve 8) olarak belirlenebilir.

$$t = \ln [(^{129}\text{I}/\text{I}_{\text{ölçülen}}) / (^{129}\text{I}/\text{I}_{\text{kozmojenik (deniz)}})] / (-\lambda_{129}) \quad (1)$$

$$t = \text{Yaş (milyon yıl)}$$

$$^{129}\text{I}/\text{I}_{\text{kozmojenik (deniz)}} = 1500 \times 10^{-15}$$

$$\lambda_{129} (\text{Bozunma sabiti}) = 4,41 \times 10^{-8} \text{ yıl}$$

$$\text{İyotun yarılanma ömrü } (t_{1/2}) = 17 \text{ milyon yıl}$$

Hidrolojik çalışmalarda, ^{129}I konsantrasyonları genellikle ^{129}I değerinin toplam I miktarına oranı ($^{129}\text{I}/\text{I}$) olarak belirtilir. Bu oranın oldukça düşük olması nedeniyle $^{129}\text{I}/\text{I}$ değeri bir katsayı ile çarpılır ($^{129}\text{I}/\text{I} \times 10^x$). Bu katsayının 10^{12} veya 10^{14} olup olmadığı henüz net değildir. Buradaki hesaplamalarda, söz konusu katsayı 10^{12} olarak seçilmiştir. İyot-129 analiz sonuçları, atom/lt olarak raporlanabilir. $^{129}\text{I}/\text{I}$ değeri, aşağıdaki formülle atom/lt değerine dönüştürülür (Kazemi ve diğ., 2006):

$$^{129}\text{I} (\text{atom/litre}) = 4700 \times B \times R \quad (2)$$

Burada;

B: iyot miktarı ($\mu\text{g/l}$),

R: $^{129}\text{I}/\text{I} \times 10^{12}$

Örnek: $^{129}\text{I}/\text{I} \times 10^{12}$ değeri 41, iyot miktarı da $14 \mu\text{g/l}$ olan bir su örneğinin ^{129}I değeri nedir?

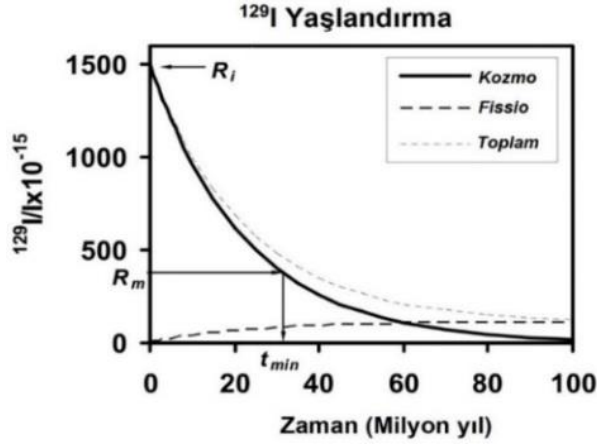
^{129}I (atom/litre) = $4700 \times 14 \times 41 = 2\,697\,800$ atom/l'tir.

Yeraltı suları için başlangıç $^{129}\text{I}/\text{I}$ değeri, 2×10^4 atom/l'te karşılık gelen $1,1 \pm 0,4 \times 10^{-12}$ 'dir. Paleogözenekli sular için, başlangıçtaki $^{129}\text{I}/\text{I}$ değeri $1,5 \times 10^{-12}$ 'dir. Bu değer, son zamanlarda biyotürbasyon bölgesinin altındaki çökeller (Moran ve diğ., 1998) içinde kullanılmıştır (Kazemi ve diğ., 2006).

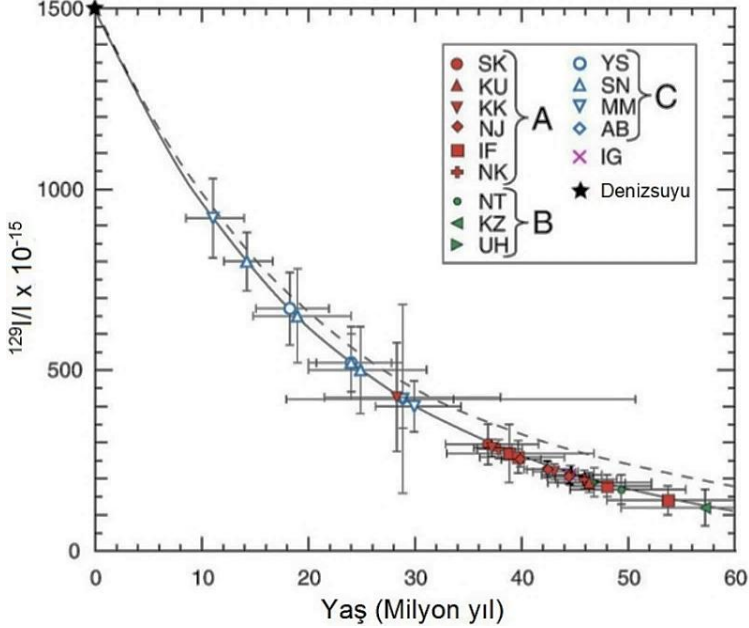
^{129}I konsantrasyonu 14.000 atom/l olan bir yeraltısuyu örneğinin yaşı nedir?

$$t = -\ln \frac{^{129}\text{I}}{^{129}\text{I}_0} / \lambda \quad (\text{Kazemi ve diğ., 2006}) \quad (3)$$

$$t = \ln (14000 / 20000) / (4,41 \times 10^{-8}) = 8 \text{ milyon yıl}$$

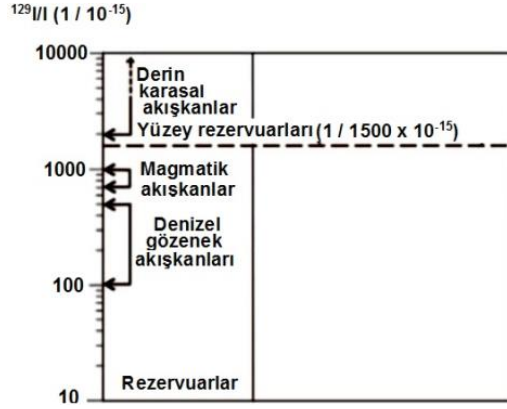


Şekil 7. Suların iyot-129 yaşlandırması. Kozmojenik ve fizyojenik $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranlarının azalma sistematiği. Kozmojenik (yüze) $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranı $R_i = 1500 \times 10^{-15}$ 'dir. Kozmojenik (yüze) $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranı gecikme eğrisi kullanılarak ölçülen $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranı R_m 'den yaşı (t_{min}) belirlenmesi (Fehn ve diğ., 2007)



Şekil 8. 3 farklı tip su örneğinin iyot yaşları. (A) tip su içeren kuyular - SK: petrol, KU: doğalgaz, KK: doğalgaz, NJ: doğalgaz ve iyot, IF: petrol ve doğalgaz, NK: doğalgaz ve iyot. (B) tip sıcak su kuyuları - NT, KZ, UH. (C) tip doğalgaz ve sıcak su kuyuları - YS: doğalgaz, SN: sıcak su, MM: sıcak su, AB: sıcak su, IG : sıcak su (Tomaru ve diğ., 2009a)

İyot konsantrasyonları, izotopik oranları ve yaşları, volkanik akışkanlardaki iyotun baskın olarak eski dalma-batma zonundaki dalan denizel sediman kolonunun alt bölümlerinden türediğini (kabuk altından yukarıya taşınan eski sedimanların iyot katkısı ile birlikte) göstermektedir. Jeotermal akışkanlardaki yüksek iyot miktarları (gözlenen iyot yaşlarına göre), ana volkanik bölgede (muhtemelen yayönü ortamında) yeniden harekete geçirilen iyotun denizel döngünün önemli bir parçası olduğuna işaret etmektedir (Synder ve Fehn, 2002). Alvarez ve diğ. (2015, 2016) tarafından yapılan çalışmada, dünyanın en büyük iyot yatağı olan Atacama'daki (Şili) iyot zenginleşmesi üzerindeki organik maddece zengin (denizel sedimanter kayalar), volkanik (yayla ilişkili) ve meteorik (atmosferik) kaynakların etkisi incelenmiştir. Tüm bu kaynaklar içerisinde, düşük $^{129}\text{I}/\text{I}$ değerlerine sahip olması nedeniyle iyotun kaynağının Jura yaşlı organik maddece zengin sedimanter temel birim olduğu belirlenmiş ve bu akışkanların jeokimyasal karışım modelleri sunulmuştur. Ayrıca, bu çalışma iyot izotop sisteminin ($^{129}\text{I}/\text{I}$) on milyonlarca yıllık süre boyunca su dolaşımının (formasyonlardaki yeraltı suları ve derin sedimanter akışkanların) izlenmesi amacıyla kıta ortamlarında başarıyla kullanılabileceğini de göstermektedir. Reich ve diğ. (2013) $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranına göre, su örneğinde bulunan iyotun kaynağının belirlenmesine yönelik bir grafik hazırlamışlardır (Şekil 9).

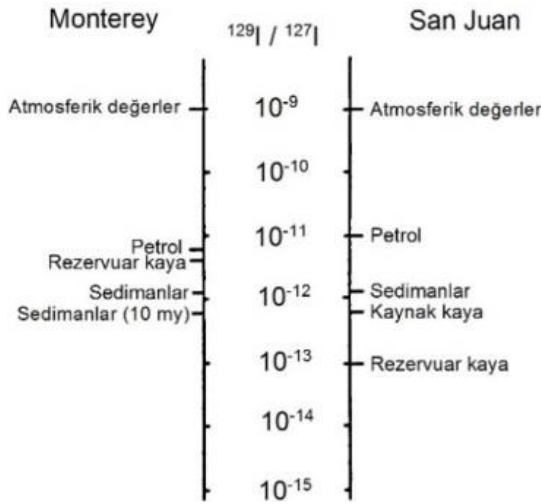


Şekil 9. Sudaki iyotun kaynağı (Reich ve diğ., 2013)

2.1. İyot-129 İzotopunun Petrol Jeolojisinde Kullanımı

^{129}I hidrosfere (daha özel olarak deniz sistemine) girdiğinde, muhtemelen sadece duraylı iyot izotopu olan ^{127}I 'nin yolunu izler. Jeokimyasal açıdan çok hareketli bir element olan iyot, okyanuslarda uzun kalma süresine sahiptir (> 300000 yıl). İyotun organik madde ile kapalı ilişkisi ve ^{129}I 'un nispeten uzun yarılanma ömrü ile birlikte gömülmüş organik maddenin yaşının belirlenmesi (organik madde veya türevleri, örneğin petrol) için ^{129}I sisteminin uygulanması önerilmiştir. Bu uygulama, iyotun olgunlaşma süreci ile ilişkili reaksiyonlarda iyotun akıbetine bağlıdır. Denizel organik madde (iyot miktarı > 50 ppm) ile ham petrolün (iyot miktarı < 1 ppm) tipik iyot konsantrasyonlarının karşılaştırılması, olgunlaşma sırasında organik maddeden iyot azalması olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, olgunlaşma sürecinde iyotun sadece organik maddeden mi eksildiği veya iyot değişiminin olgunlaşma ile aynı anda gerçekleşip gerçekleşmediği konusu da açık değildir. Birinci durumda ^{129}I , petrol

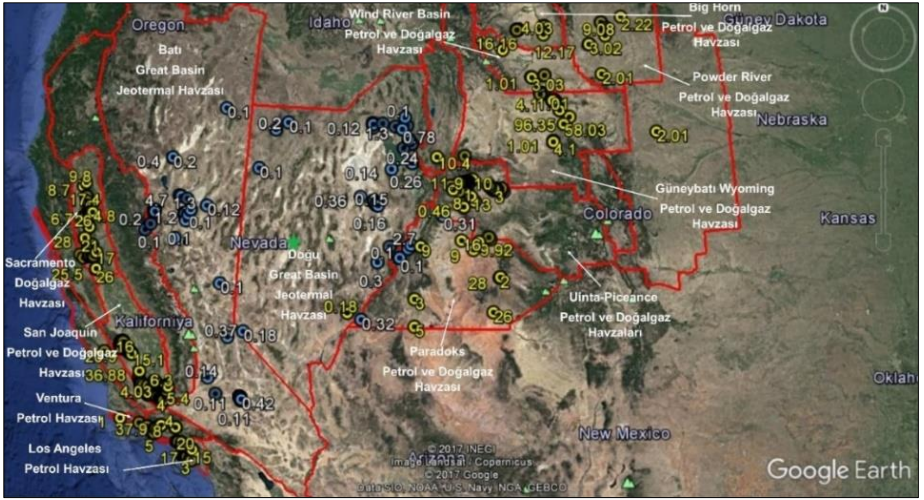
türeten organik maddenin gömülme yaşının yaklaşık olarak belirlenmesinde doğrudan kullanılabilir. İkinci durum, biraz daha karmaşıktır. Ham petroldeki ^{129}I konsantrasyonu, kaynak kayanın izotopik bileşimini yansıtacaktır. Kaynak kayanın ^{129}I üretimi, kaynak kayanın uranyum içeriğine bağlıdır. Kaynak kaya ile rezervuar kayaların uranyum içerikleri birbirinden farklı ise (tipik olarak uranyumun organik madde ile ortak ilişkisi nedeniyle kaynak kayaların uranyum içeriği rezervuar kayalardan daha yüksektir) ve iyot değişimi olgunlaşma süreci ile sınırlıysa, petrol içerisindeki iyot bileşimi petrolün kaynak kayadan atılma zamanıyla ilişkili olacaktır (Şekil 10) (Fehn ve diğ., 1987).



Şekil 10. Monterey ve San Juan petroleri için oransal ilişkiler (Fehn ve diğ., 1987)

Hidrokarbonların oluşumu, olgunlaşma zamanı ve göç başlangıcı petrol rezervuarlarının oluşum süreçlerinin anlaşılmasında kritik sorulardır. Liu ve diğ. (1997) çalışmasında, bu sorulara cevap aramak için ^{129}I izotop sistemini kullanmışlardır. Çalışma, Railroad Valley

(Nevada, ABD)'deki birçoğu jeotermal sistemlerle ilişkili çok sayıda sıcak su kaynağından ve petrol sahası (Eagle Springs ve Kate Spring Sahaları) sularından toplanan numuneler üzerinden yürütülmüştür. Bölgedeki sular ve petroler, yakın ilişkilidir ve ortak bir geçmişe sahiptirler. Bu bölgenin seçilmesinin sebebi, bölgedeki suların güncel meteorik kökenli olmaması ve petrol sahası oluşumunun jeotermal sistemle ilişkili olmasıdır (Şekil 11 ve Tablo 2). Ayrıca, bu petrol sahalarının oluşumu üzerine birçok detaylı jeolojik, jeokimyasal, jeofizik ve yapısal etüt çalışmasının bulunmasıdır. Railroad Valley'deki petroler ile birlikte bulunan petrol sahası sularının rezervuar kayalarda bulunma süreleri, ^{129}I iyot izotop sistemi kullanılarak 6-24 milyon yıl olarak hesaplanmıştır (Şekil 12). Rezervuar kayalardan kaynaklanan tisyojenik/fisyojenik etki dikkate alındığında yaş aralığı, 7-28 milyon yıldır. Rezervuar kayalardaki bulunma süresindeki bu aralığın sebebi, petrolerin kaynak bölgelerinden farklı dönemlerdeki akışkan dolaşımı sırasında ayrılmasıdır. En uzun bulunma süresi, bu bölgede akışkan dolaşımının başlangıcı olarak yorumlanmıştır. Railroad Valley'deki yapısal etkinlik yaşı, bölgedeki jeotermal etkinlik süreci ile oldukça uyumludur (Liu ve diğ., 1997).



Şekil 11. Doğu Great Basin Havzası'nda (ABD) bulunan Railroad Valley'deki (Nevada) petrol sahalarının (yeşil renkli yıldızla temsil edilen) Batı Amerika petrol sistemleri ile ilişkisi (USGS, 2018'den düzenlenmiştir).

Tablo 2. Doğu Great Basin Havzası'nda (ABD) bulunan Railroad Valley'deki (Nevada) petrol sahaları ve Batı Amerika petrol sistemlerinin iyot miktarları (USGS, 2018'den düzenlenmiştir).

Havza	En Sığ-Derin Kuyu (m)	Ortalama Derinlik (m)	Ortalama İyot Miktarı (mg/lt)	En Yüksek İyot Miktarı (mg/lt)	En Düşük İyot Miktarı (mg/lt)	Örnek Sayısı
Great Basin (Jetermal Havza)	0 - 1830	140	0.07	4.7	0.001	756*
Kate Springs Petrol Sahaları**	-	-	5.65	7.1	4.2	2
Eagle Spring Petrol Sahaları**	-	-	4.84	7.1	2	5
Ventura	1280 - 4220	2640	66.55	294	5	24
Los Angelas	720 - 3450	1430	74.66	190	1.02	163
San Joaquin	320 - 4040	2120	26.39	148	0.1	155
Sacramento	540 - 3390	1750	28.62	73.8	4	61
Paradox	770 - 2870	2015	17.09	53	2	11
Uinta-Piceance	1370 - 5750	3385	15.27	48.6	0.46	55
Güneybatı Wyoming / Green River	180 - 3150	1990	26.90	519	1	37
Powder River	1180 - 2650	2015	19.98	53.58	2.01	12
Big Horn	705 - 3200	1735	8.44	23.37	1.01	17
Wind River	486 - 2635	1552	19.33	57.57	1	8

* Toplam jeotermal akışkanlardan 9 adetinin iyot miktarı 1 mg/lt'den büyük, 93 adeti 0.1 - 1 mg aralığında, diğer 654 adeti 0.1 mg/lt'den küçüktür.

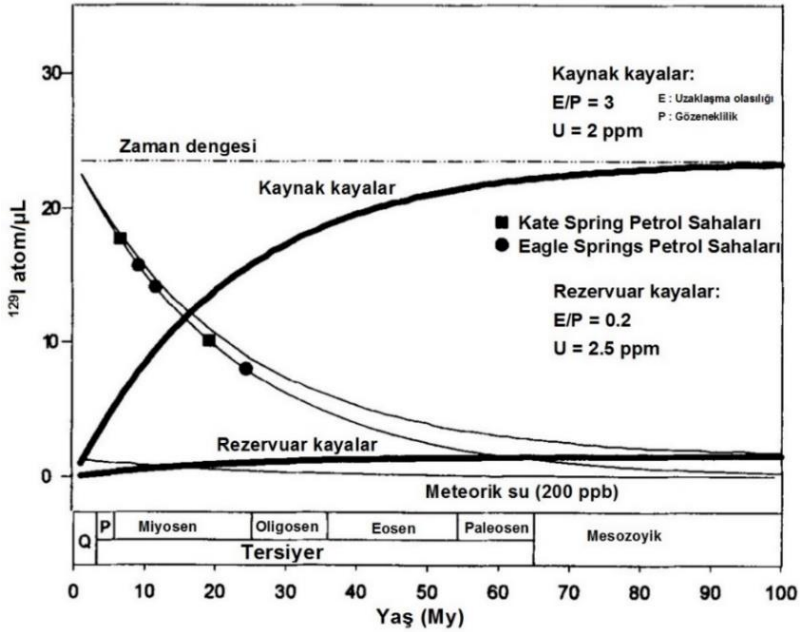
** Veri: Liu ve diğ. (1997)

Meteorik sularadaki düşük iyot konsantrasyonu göz önüne alındığında (< 200 ppb), meteorik kaynaklardan gelen ¹²⁹I katkısı ihmal edilebilir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, rezervuarda bulunma sürelerinin 7-28 milyon yıl aralığında olduğu görülmektedir (Şekil 12). Bu gözlem, petrol sahalarının tipik oluşum modeli ile uyumlu bir gözlemdir. Petrol, genellikle harmanlanma sırasında termal konveksiyon sisteminden ayrılır. Hidrokarbon içeren ve yükselen akışkan, konveksiyon sisteminden ayrıldıktan sonra doygunluk oluşana kadar

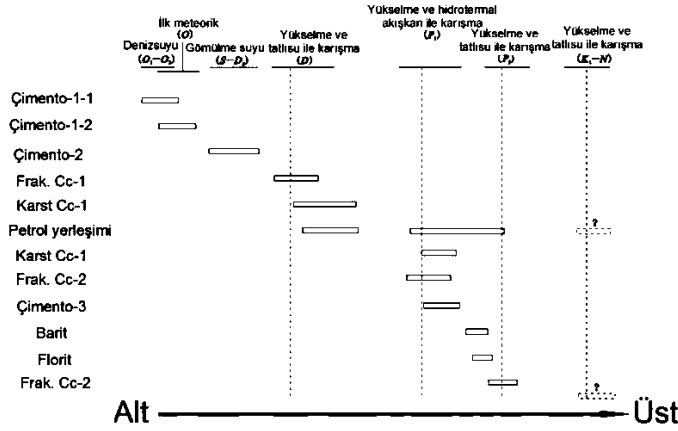
yükselme bölgelerinin tepe kısımlarında birikir. Konaklama süresi, ilk harmanlanmaya erişim veya konveksiyonun başlaması olarak yorumlanabilir. Petrol sahası sularının rezervuarda bulunma sürelerinde gözlenen aralığın (7-28 milyon yıl) sebebi, petrolerin kaynak kayadan farklı dönemlerdeki akışkan konveksiyon çevrimi sırasında ayrılmasıdır. Saha araştırmalarından elde edilen bu alandaki ilk faylanma yaşı (27.8 milyon yıl) ile uyumlu olan hidrokarbon göçü ve akışkan konveksiyonunun başlangıcı, en erken ayrılma zamanı olarak yorumlanmıştır. Yapısal aktivite, jeotermal konveksiyon ve hidrokarbon göçü arasındaki zamanlama, bu süreçler arasındaki ilişkiyi göstermektedir (Şekil 12) (Liu ve diğ., 1997).

Li ve diğ. (2011) Tahe Petrol Sahası (Tarim Havzası, Çin) Ordosiviyen yaşlı karbonat rezervuarlarda yaptıkları çalışmada, Liu ve diğ. (1997) çalışması ile aynı sonuca ulaşmışlardır. Ordovisiyen yaşlı rezervuara petrol yerleşiminin bir miktarının yükselme ve tatlı su ile karışma, büyük oranının ise yükselme ve hidrotermal akışkanlarla karışma sonucunda gerçekleştiğini belirlemişlerdir (Şekil 13). Bu sonuca göre, petroler harmanlanma sırasında termal konveksiyon sisteminden ayrılmaktadır. Hidrokarbon içeren ve yükselen akışkan, konveksiyon sisteminden ayrıldıktan sonra doygunluk oluşana kadar yükselme bölgelerinin tepe kısımlarında birikmektedir. Gerek kimyasal gerekse izotopik veriler, petrolün rezervuara yerleşiminde suların özellikle de jeotermal akışkanların büyük bir rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca, Liu ve diğ. (1997); Synder ve Fehn (2002); Fehn ve Synder (2002); Muramatsu ve diğ. (2004); Birkle (2005);

Tomaru ve diğ. (2009a); Li ve diğ. (2011) ile Togo ve diğ. (2014)'nin çalışmalarında da belirtildiği gibi, iyotça zengin jeotermal akışkanlar, petrol sistemleri ile ilişkilidir. Bu akışkanlardaki yüksek iyot içeriğinin sebebi, jeotermal akışkanlarla aynı havzada bulunan petrol ve doğalgaz rezervuarlarıdır.



Şekil 12. Kaynak kayadan ayrıldıktan sonra ^{129}I 'un azalması (kalın çizgiler), rezervuar kayalardaki ^{129}I 'un konsantrasyon değişimi (ince çizgiler). İnce çizgiler gecikme eğrilerini, kalın çizgiler formasyonların jeolojik yaşlarını temsil etmektedir. Rezervuar kaya üretiminden kaynaklanan katkı için düzeltilmiş gecikme hat üzerinde gösterilmiştir. Veri noktaları, düzeltilmemiş gecikme eğrisi üzerine işaretlenmiştir. Diyagramda, pre-antropojenik meteorik sudan gelen potansiyel iyot katkısı da görülmektedir (Liu ve diğ., 1997).



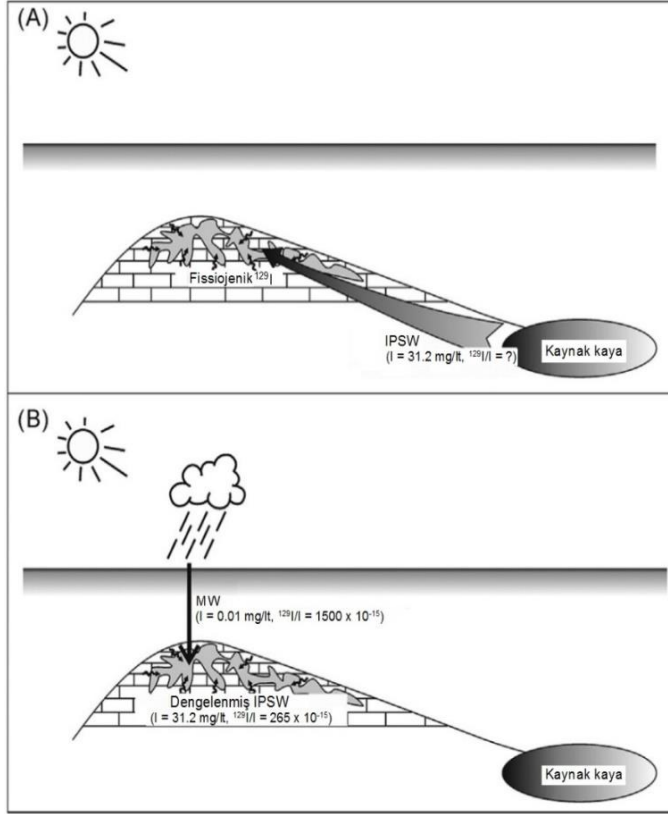
Şekil 13. Tahe Petrol Sahası (Çin) Ordovisiyen yaşlı karbonatlarının diyajenetik evriminin ana aşamalarını gösteren sentetik parajenetik sekans (Li ve diğ., 2011).

Chen ve diğ. (2016) çalışmasında, Lunnan Petrol Sahası (Tarım havzası, Çin)'ndaki sular ile hidrokarbonlar arasındaki ilişkiyi incelemek için, iyot konsantrasyonları ve $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranları kullanılmıştır. Sahadaki suların iyot konsantrasyonları (3.70 - 31.2 mg/l) ve $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranları ($189 - 897 \times 10^{-15}$), paleodeniz ve meteorik sudaki iyotun farklı kaynaklı ve ^{129}I özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir. Öncel çalışmalar ile bu çalışmanın sonuçları, Lunnan Petrol Sahası Ordovisiyen paleokarst rezervuarındaki suyun, doğudaki paleoevaporasyonlu deniz suyu ve batıdaki paleometeorik suların karışmasının bir ürünü olduğunu göstermiştir. Paleodeniz suyundaki yüksek iyot içeriği (~ 31 mg/l), iyotun doğu bölgesindeki Caohu Grabeni'ndeki kaynak kayaların maksimum petrol türüm seviyesine ulaştıklarında termal olarak türeyen hidrokarbonlarla birlikte Kretase'de rezervuara girdiğini göstermektedir. İyot ve ^{129}I 'un olası tüm kaynakları göz önüne alındığında, meteorik suyun ilk iyot içeriğini (0.01 mg/l) ve $^{129}\text{I}/\text{I}$ oranını (1500×10^{-15}) koruduğu

görülmektedir. Bununla birlikte, iyotça zengin paleodeniz suyu (IPSW) rezervuardaki fisyojenik ^{129}I 'un katkısının zamanla dengelenmiş olduğu bir ^{129}I değerini (265×10^{-15}) sergilemektedir. Bu veriler üzerinden geliştirilen rezervuar suyu evrim modeli, meteorik suyun Miyosen'de (yaklaşık 10 milyon yıl) rezervuara girdiğini ve iyotça zengin paleodeniz suyu ile karıştığını göstermektedir. Meteorik suyun hareketi, Himalaya orojenezi sırasında oluşan faylanmalar tarafından kolaylaştırılmış, daha sonra meteorik su Paleojen halitin çözünmesi sonrası yoğunlaşmış ve yüksek basınçta rezervuara sızmıştır (Şekil 14). Sudaki iyot ve ^{129}I konsantrasyonu, rezervuardaki akışkanın geçmişi ve göç yolu hakkında bilgi vermektedir.

Lunnan Petrol Sahası'ndaki en yüksek iyot miktarı, havza doğusundaki derin LG351C kuyusunda (31.2 mg/l), en düşük iyot miktarı ise, batıdaki sığ LN101C kuyusunda (3.70 mg/l) ölçülmüştür. Doğudaki su örneklerindeki yüksek iyot konsantrasyonlarının kaynağı, Lunnan Petrol Sahası'nın doğusunda bulunan Caohu Grabeni'ndeki kayalardan türeyen paleodeniz suyudur (Chen ve diğ., 2013). Bu paleodeniz suyu, organik maddeden iyotu emmiş ve daha sonra kaynak kayadan atılarak olgun hidrokarbonlar ile birlikte rezervuara göç etmiştir. Batı örneklerindeki düşük iyot konsantrasyonu, iyotça zengin paleodeniz (IPSW) suyunun düşük iyot içeren meteorik sularla (MW) önemli derecede seyrelmesinin bir sonucudur. Bu bilgi, petrol araştırmalarında yararlı olabilir; çünkü hidrokarbon göçü su hareketi ile ilişkilidir. Bu çalışmada, ^{129}I izotop sisteminin petrol arama faaliyetlerinin maliyetlerini düşürmek ve

verimliliğini arttırmak için kullanışlı bilgiler sağlayabileceği gösterilmiştir (Şekil 15) (Chen ve diğ., 2016).



Şekil 14. Lunnan petrol sahası (Tarim havzası, Çin) rezervuar suyu evrim modeli. (A) Kretase’de kaynak kayadan salınan iyotça zengin paleodeniz suyunun (IPSW) rezervuara girişi. (B) Miyosen’de meteorik su (MW) ile karışımını tamamlamış paleodeniz suyunun dengedeki durumu (Chen ve diğ., 2016).

SONUÇLAR

Re-Os izotopu, petrol jeolojisinde katı ve sıvılardaki petrol hidrokarbonlarının yaşlarının doğrudan belirlenmesini sağlayan değerli bir jeokronometredir. Re-Os izotop sistemi, organik maddece zengin sedimanter kayaların ve petrolerin oluşum ortamlarının jeolojik yorumu için önemli bilgiler sağlar. Bu bilgi, petrol ve doğalgaz aramacılığında çok önemlidir. Bilinen kaynak kayaların yaşları, standart korelasyon teknikleri vb. gibi çeşitli yöntemlerle (bazıları izotopik analiz içeren) büyük oranda belirlenebilmiştir/belirlenebilmektedir. Re-Os izotop sisteminin, gelecekte

- Arama kuyularından karotlarla elde edilen organik maddece zengin kayaların,
- Yeni keşfedilen sahalardaki ham petrol ve hidrokarbonların,
- Çok sayıda hidrokarbonca zengin suyun bulunduğu alanlardaki bu hidrokarbonlarca zengin sulardaki petrol hidrokarbonlarının yaşının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılacağı öngörülebilmektedir. Petrollere uygulanan Re-Os sistemi hala geliştirilme aşamasında olmasına rağmen, yakın bir gelecekte petrol endüstrisi için stratejik bir yöntem haline gelebilir.

İyotça zengin organik maddenin petrole dönüşmesi sırasında, ortamdaki sulara iyot zenginleşmesi meydana gelmektedir. İyotça zenginleşen bu sular, hidrokarbon göçüne aracılık etmekte ve kapanda hidrokarbonlarla birlikte bulunmaktadır. Sonuç olarak, ¹²⁹I izotop

sisteminin hidrokarbonların oluşumu, olgunlaşma zamanı ve göç başlangıcı vb. gibi petrol ve doğalgaz rezervuarlarının oluşum süreçlerinin anlaşılmasına, petrol ve doğalgaz arama faaliyetlerine kritik katkılar sağlayabileceği öngörülebilmektedir.

KAYNAKÇA

- Álvarez, A.A., Reich, M., Pe´rez-Fodich, A., Snyder, G., Muramatsu, Y., Vargas, G. and Fehn, U., 2015. Sources, sinks and long-term cycling of iodine in the hyperarid Atacama continental margin. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 161, 50-70.
- Álvarez, F., Reich, M., Snyder, G., Perez-Fodich, A., Muramatsu, Y., Daniele, L. and Fehn, U., 2016. Iodine budget in surface waters from Atacama: Natural and anthropogenic iodine sources revealed by halogen geochemistry and iodine-129 isotopes. *Applied Geochemistry*, 68, 53-63.
- Azmy K., Kendall B., Creaser R.A., Heaman L., and Oliveira T.F. 2008. Global correlation of the Vazante Group, São Francisco Basin, Brazil: Re-Os and U-Pb radiometric age constraints. *Precamb. Res.*, 164, 160-172
- Barker, C., 1979. *Organic Geochemistry in Petroleum Exploration*. AAPG Continuing Education Course Note Series 10, 159 p.
- Baioumy, H.M., Eglinton, L.B., and Peucker-Ehrenbrink, B., 2011. Rhenium–osmium isotope and platinum group element systematics of marine vs. non-marine organic-rich sediments and coals from Egypt. *Chemical Geology*, 285, 70-81
- Birkle, P., 2006. Application of $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ to define the source of hydrocarbons of the Pol-Chuc, Abkatún and Taratunich-Batab oil reservoirs, Bay of Campeche, southern Mexico. *Journal of Geochemical Exploration*, 89, 15-18.
- Carlson R.W. 2005. Application of the Pt-Re-Os isotopic systems to mantle geochemistry and geochronology. *Lithos*, 82, 249-272
- Chen, J., Liu, D., Peng, P., Ning, C., Xiaolin, H. and Baoshou, Z., 2016. Iodine-129 chronological study of brines from an Ordovician paleokarst reservoir in the Lunnan oilfield, Tarim Basin. *Applied Geochemistry*, 65, 14-21.
- Chen, J., Liu, D.Y., Peng, P.A., Yu, C.L., Zhang, B.S. and Xiao, Z.Y., 2013. The sources and formation processes of brines from the Lunnan Ordovician paleokarst reservoir, Tarim Basin, northwest China. *Geofluids*, 13, 381-394.

- Cohen A.S., Coe A.L., Bartlett J.M., and Hawkesworth C.J., 1999. Precise Re-Os ages of organic-rich mudrocks and the Os isotope composition of Jurassic seawater. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 167, 159-173
- Colodner D., Sachs J., Ravizza G., Turekian K.K., Edmond J., and Boyle E., 1993. The geochemical cycles of rhenium: A reconnaissance. *Earth and Planetary Science Letters*, 117, 205-221
- Corrick, A.J., Selby, D., McKirdy, D.M., Hall, P.A., Gong, S., Trefry, C., and Ross, A.S., 2019. Remotely constraining the temporal evolution of offshore oil systems. *Scientific Reports*, 9, 1327, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37884-x>
- Creaser R.A., Sannigrahi P., Chacko T., and Selby D., 2002. Further evaluation of the ReOs geochronometer in organic-rich sedimentary rocks: a test of hydrocarbon maturation effects in the Exshaw Formation Western Canada Sedimentary Basin. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 66, 3441-3452
- Crusius, J., Calvert, S., Pedersen, T., and Sage, D., 1996. Rhenium and molybdenum enrichments in sediments as indicator of oxic, suboxic and sulfidic conditions of deposition. *Earth and Planetary Science Letters*, 145, 65-78
- Cumming, V.M., Selby, D., and Lillis, P.G., 2012. Re-Os geochronology of the lacustrine Green River Formation: Insights into direct depositional dating of lacustrine successions, Re-Os systematics and paleocontinental weathering. *Earth and Planetary Science Letters*, 359-360, 194-205
- Cumming, V.M., 2013. Rhenium-osmium geochronology and geochemistry of ancient lacustrine sedimentary and petroleum systems, Durham theses, Durham University. Available at Durham E-Thesis Online: <http://ethesis.dur.ac.uk/6945>
- Cumming, V.M., Selby, D., Lillis, P.G., and Lewan, M.D., 2014. Re-Os geochronology and Os isotope fingerprinting of petroleum sourced from a Type I lacustrine kerogen: Insights from the natural Green River petroleum system in the Uinta Basin and hydrous pyrolysis experiments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 138, 32-56

- DiMarzio, J.M., Georgiev, S.V., Stein, H.J., and Hannah, J.L., 2018. Residency of rhenium and osmium in a heavy crude oil. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 220, 180-200
- Dow, W.G., 1977. Petroleum Source Beds on Continental Slopes and Rises. AAPG Continuing Education Course Notes Series 5, p. D1-D37
- Fabryka-Martin, J.T., 1984. Natural iodine-129 as environmental tracer. MSc. Thesis, University of Arizona, 149 p.
- Fehn, U., Snyder, G.T. and Muramatsu, Y., 2007. Iodine as a tracer of organic material: ^{129}I results from gas hydrate systems and fore arc fluids. *Journal of Geochemical Exploration*. 95(1-3), 66-80.
- Fehn, U. and Synder, G.T., 2002. Origin of iodine in volcanic fluids: ^{129}I results from the Central American Volcanic Arc. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66 (21), 3827-3838.
- Fehn, U., Snyder, G.T. and Egeberk, P.K., 2000. Dating of pore fluids with I-129: Relevance for the origin of marine gas hydrates. *Science*, 289(5488), 2332-2335.
- Fehn, U., Tullai-Fitzpatrick, S., Teng, R.T.D., Gove, H.E., Kubik, P.W., Sharma, P. and Elmore, D., 1990. Dating of oil field brines using ^{129}I . *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, 52, 446-450.
- Fehn, U., Tullai, S., Teng, R.T.D., Elmore, D. and Kubik, P.W., 1987. Determination of ^{129}I in heavy residues of two crude oils. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res.*, B52, 446-450.
- Finlay, A.J., Selby D., and Osborne M.J., 2012. Petroleum source rock identification of United Kingdom Atlantic Margin oil fields and the Western Canadian Oil Sands using platinum, palladium, osmium and rhenium: Implications for global petroleum systems. *Earth and Planetary Science Letters*, 313-314, 95-104
- Finlay, A.J, Selby, D., and Osborne, M.J., 2011. Re-Os geochronology and fingerprinting of United Kingdom Atlantic margin oil: Temporal implications for regional petroleum systems. *Geology*, 39, 475-478

- Finlay, A.J., Selby, D., and Gröcke, D.R. 2010a. Tracking the Hirnantian glaciation using Os isotopes. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 293, 339-348
- Finlay, A.J., Selby, D., Osborne, M.J., and Finucane, D., 2010b. Fault-charged mantle fluid contamination of United Kingdom North Sea oils: Insights from Re-Os isotopes. *Geology*, 38, 979-982
- Ge, X., Shen, C., Selby, D., Deng, D., and Mei, L., 2016. Apatite fission-track and Re-Os geochronology of the Xuefeng uplift, China: Temporal implications for dry gas associated hydrocarbon systems. *Geology*, 44, 491-494
- Georgiev, S.V., Stein, H.J., Hannah, J.L., Galimberti, R., Nali, M., Yang, G., and Zimmerman, A., 2016. Re-Os dating of maltenes and asphaltenes within single samples of crude oil. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 179, 53-75
- Georgiev, S., Stein, H.J., Hannah, J.L., Weiss, H.M., Bingen, B., Xu, G., Rein, E., Hatlø, V., Løseth, H., Nali, M., and Piasecki, S., 2012. Chemical signals for oxidative weathering predict Re-Os isochroneity in black shales, East Greenland. *Chemical Geology*, 324-325, 108-121
- Georgiev, S., Stein H.J., Hannah J.L., Bingen B., Weiss H.M., and Piasecki, S., 2011. Hot acidic Late Permian seas stifled life in record time. *Earth and Planetary Science Letters*, 310, 389-400
- Hannah, J.L., Stein, H.J., Xu, G., Galimberti, R., and Nali, M., 2014. Age and composition of source rocks: new steps toward tracking hydrocarbon migration. *International Petroleum Technology Conference (IPTC)*, Doha, Qatar, 20-22 January 2014 (IPTC Paper 17600-MS)
- Harris, N.B., Mnich C.A., Selby D., and Korn D., 2013. Minor and trace element and Re-Os chemistry of the Upper Devonian Woodford Shale, Permian Basin, west Texas: Insights into metal abundance and basin processes. *Chemical Geology*, 356, 76-93
- Harrison, W.J. and Summa, L.L., 1991. Paleohydrology of the Gulf Coast of Mexico Basin. *Am. J. Sci.*, 291, 109-176.
- Hitchon, B. and Filby, R.H., 1983. Trace Elements in Alberta Crude Oils. Open File Report, 1983-02, Alberta Research Council, 37 p.

- Hummel, S., 2011. The Use of Iodine to Characterize Formation Waters in Oil and Gas Fields. MSc. Thesis, Syracuse University, NY, 66 p.
- Karataş, A., Özdemir, A. ve Şahinoğlu, A., 2019. Karaburun Yarımadası ve Seferihisar Yükseliminin (Batı Anadolu) Petrol ve Doğal Gaz Potansiyelinin İyot Hidrojeokimyası ve Suda Petrol (TPH) Analizi ile İncelenmesi, Marmara Üniversitesi, Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Projeleri Koordinasyon Birimi, Proje No (9505): SOS-A-100719-0267
- Kazemi, G.A., Lehr, J.A. and Perrochet, P., 2006. Groundwater Age. John Wiley & Sons Inc., Canada, 325 p.
- Kendall, B., Creaser, R.A., and Selby, D., 2009. $^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ geochronology of Precambrian organic-rich sedimentary rocks. Geol. Soc. London Special Public., 326, 85-107.
- Kendall, B.S., Creaser, R.A., Ross, G.M., and Selby, D., 2004. Constraints on the timing of Marinoan 681 'Snowball Earth' glaciation by $^{187}\text{Re}/^{188}\text{Os}$ dating of a Neoproterozoic post-glacial black shale in western Canada. Earth Planet. Sci. Lett., 222, 729-740
- Kendall, B.S., Creaser, R.A., and Selby, D., 2006. Re-Os geochronology of the post-glacial black shales in Australia: Constraints on the timing of "Sturtian" glaciation. Geology, 34, 729-732
- Koide, M., Goldberg, E.D., Niemeyer, S., Gerlach, D., Hodge, V., Bertine, K.K., and Padova, A., 1991. Osmium in marine sediments. Geochimica et Cosmochimica Acta, 55, 1641-1648
- Land, L.S., 1991. Evidence for Vertical Movement of Fluids, Gulf Coast Sedimentary Basin. Geophys. Res. Lett., 18(5), 919-922.
- Law, C.A., 1999. Evaluating Source Rocks. In: AAPG Special Volumes. Volume Treatise of Petroleum Geology/Handbook of Petroleum Geology: Exploring for Oil and Gas Traps, 3.1-3.34
- Lawson, M., Formolo, M.J. Summa, L., and Eiler, J.M., 2018. Geochemical applications in petroleum systems analysis: new constraints and the power of integration. in Lawson, M., Formolo, M. J. & Eiler, J. M. (eds), From Source

- to Seep: Geochemical Applications in Hydrocarbon Systems. Geological Society, London, Special Publications, 468, 1-21
- Levasseur, S., Birck, J., and Allegre, C.J., 1999. The osmium riverine flux and oceanic mass balance of osmium. *Earth and Planetary Science Letters*, 174, 7-23
- Li, K., Cai, C., He, H., Jiang, L., Cai, L., Xiang, L., Huang, S. and Zhang, C., 2011. Origin of palaeo waters in the Ordovician carbonates in Tahe oilfield, Tarim basin: constraints from fluid inclusions and Sr, C and O isotopes. *Geofluids*, 11, 71-86.
- Liu, J., 2017. Re-Os Systematics of Crude Oil and Re-Os Petroleum System Geochronology, Durham Theses, Durham University. 214 p.
- Liu, J., Selby, D., Obermajer, M., and Mort, A., 2018a. Rhenium-osmium geochronology and oil-source correlation of the Duvernay petroleum system, Western Canada sedimentary basin: Implications for the application of the rhenium-osmium geochronometer to petroleum systems. *AAPG Bulletin*, 102(8), 1627-1657
- Liu, S., Qi, S., Luo, Z., Liu, F., Ding, Y., Huang, H., Chen, Z., and Cheng, S., 2018b. The origin of high hydrocarbon groundwater in shallow Triassic aquifer in Northwest Guizhou, China. *Environmental Geochemistry and Health*, 40(1), 415-433
- Liu, X., Fehn, U., Teng, R.T.D., 1997. Oil formation and fluid convection in Railroad Valley, NV: a study using cosmogenic isotopes to determine the onset of hydrocarbon migration. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 123(1-4), 356-360.
- Lu, Z., Hensen, C., Fehn, U. and Wallmann, K., 2008. Halogen and ^{129}I systematics in gas hydrate fields at the northern Cascadia margin (IODP Expedition 311): Insights from numerical modeling. *Geochem. Geophys. Geosyst.*, 9, Q10006, doi:10.1029/2008GC002156.
- Ludwig, K., 2012. Isoplot/Ex version 3.75, A Geochronological Toolkit for Microsoft Excel, Berkeley Geochronol. Cent. Spec. Publ., 5, 75 pp, Berkeley Geochronology Center, Berkeley, California.

- Mani, D., Kumar, T.S., Rasheed, M.A., Patil, D.J., Dayal, A.M., Rao, T.G. and Balaram, V., 2011. Soil iodine determination in Deccan Syneclise, India: Implications for near surface geochemical hydrocarbon prospecting. *Natural Resources Research*, 20(1), 75-88.
- Marques, J.C., 2012. Overview on the Re-Os isotopic method and its application on ore deposits and organic-rich rocks. *Geochimica Brasiliensis*, Ouro Preto, 26(1), 49-66
- Martin, J.B., Gieskes, J.M., Torres, M. and Kastner, M., 1993. Bromine and iodine in Peru margin sediments and pore fluids: Implications for fluid origins. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 51, 4377-4389.
- McArthur, J.M., Algeo, T.J., van de Schootbrugge, B., Li, Q., and Howarth, R.J., 2008. Basinal restriction, black shales, Re-Os dating, and the Early Toarcian (Jurassic) oceanic anoxic event. *Paleoceanography*, 23 (4), PA4217.
- Moran, J.E., Fehn, U. and Hanor, J.S., 1995. Determination of source ages and migration of brines from the U.S. Gulf Coast basin using ^{129}I . *Geochim. Cosmochim. Acta*, 59, 5055-5069.
- Moran, J.E., Fehn, U. and Ray, T.D., 1998. Variations in $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ in recent marine sediments: evidence for a fossil organic component. *Chemical Geology*, 152, 193-203.
- Morford, J.L. and Emerson, S., 1999. The geochemistry of redox sensitive trace metals in sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63, 1735-1750
- Muramatsu, Y., Yoshida, S., Fehn, U., Amachi, S. and Ohmomo, Y., 2004. Studies with natural and anthropogenic iodine isotopes: iodine distribution and cycling in the global environment. *Journal of Environmental Radioactivity*, 74, 221-232.
- Muramatsu, Y., Doi, T., Tomaru, H., Fehn, U., Takeuchi, R. and Matsumoto, R., 2007. Halogen concentrations in pore waters and sediments of the Nankai Trough, Japan: implications for the origin of gas hydrates. *Appl. Geochem.*, 22, 534-556.

- Nicolaysen, L. 1961. Graphic interpretation of discordant age measurements on metamorphic rocks. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 91(1), 198-206
- Osborn, S.G., McIntosh, J.C., Hanor, J.S. and Biddulph, D., 2012. Iodine-129, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, and trace elemental geochemistry of northern Appalachian basin brines: evidence for basinal-scale fluid migration and clay mineral diagenesis. *American Journal of Science*, 312, 263-287.
- Oxburgh, R., 1998. Variations in the osmium isotope composition of sea water over the past 200,000 years. *Earth and Planetary Science Letters*, 159, 183-191
- Özdemir, A., Karataş, A., Palabiyik, Y., Yaşar, E., and Sahinoglu, A., 2020a. Oil and gas exploration in Seferihisar Uplift (Western Turkey) containing an operable-size gold deposit: Geochemical evidence for the presence of a working petroleum system. *Geomechanics and Geophysics for Geo-Energy and Geo-Resources*, 6(1), Doi: 10.1007/s40948-020-00152-2
- Özdemir, A., Palabiyik, Y., Karataş, A. and Sahinoglu, A., 2020b. Organic geochemical evidence of the working petroleum system in Beypazari Neogene Basin and potential traps (Northwest Central Anatolia, Turkey). *Turkish Journal of Geosciences*, 1(2), 35-52
- Özdemir, A., Palabiyik, Y., Karataş, A. and Sahinoglu, A., 2020c. Mature petroleum hydrocarbons contamination in surface and subsurface waters of Kızılırmak Graben (Central Anatolia, Turkey): Geochemical evidence for a working petroleum system associated with a possible salt diapir. *Turkish Journal of Engineering* (baskıda)
- Özdemir, A., 2019a. Hasanoğlan (Ankara) petrol sisteminin organik hidrojeokimyasal kanıtları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25(6), 748-763
- Özdemir, A., 2019b. Büyük Menderes grabeni (Batı Anadolu) Neojen öncesi petrol sisteminin organik hidrojeokimyasal kanıtları ve potansiyel kapanlar. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16, 325-354

- Özdemir, A., 2019c. Mamak (Ankara) çalışan petrol sisteminin jeokimyasal kanıtı olarak olgun hidrokarbonca zengin sular ve bölgedeki potansiyel kapan alanı. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 17, 244-260
- Özdemir, A., 2019d. Güneydoğu Anadolu havzasında petrol ve iyot ilişkisi. *MTA Dergisi*. 159, 149-188
- Özdemir, A., Palabıyık, Y., Karataş, A. ve Şahinoğlu, A., 2019. Orta Anadolu'da Rezervuar Hedefli Petrol ve Doğalgaz Arama Projesi (yayımlanmamış)
- Özdemir, A., 2018. Suda TPH (Toplam Petrol Hidrokarbonları) analizinin petrol ve doğalgaz arama amaçlı kullanımı: Türkiye'den ilk önemli sonuçlar. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 6(4), 615-635
- Özdemir, A., 2018a. İyotça zengin suların oluşum mekanizmaları ve petrol ve doğalgaz yatakları ile ilişkileri. *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(2), 149-185
- Özdemir A., 2018b. Türkiye'nin iyotça zengin suları ve kara alanlarının petrol ve doğalgaz potansiyeli. *Sürdürülebilir Mühendislik Uygulamaları ve Teknolojik Gelişmeler Dergisi*, 1(2), 103-150
- Özdemir, A., 2018c. Relationships of formation, migration and trapping between petroleum and iodine. *Natural and Engineering Sciences*, 3(3), 110-153
- Özdemir, A. ve Palabıyık, Y., 2020. Doğu Pontidler'de olasılıkla Jura-Kretase riftleşmeleri ile ilişkili hidrokarbon oluşumu ve türümü için bulgular. 4. Uluslararası Bilimsel Çalışmalar Kongresi, 28-30 Eylül 2020 (baskıda)
- Palabıyık, Y., Özdemir, A., Karataş, A. ve Özyağcı, M., 2020. Kastamonu ve Sinop (Orta Karadeniz) Civarının Petrol ve Doğal Gaz Potansiyelinin Suda TPH (Toplam Petrol Hidrokarbonları) Analizi Kullanılarak Belirlenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Proje No: MGA-2020-42587
- Palabıyık, Y. ve Özdemir, A., 2020. Türkiye'de petrol ve doğalgaz aranması için suda TPH (Toplam Petrol Hidrokarbonları) analizinin kullanımı: Batı, Kuzeybatı ve Orta Anadolu'dan örnek çalışmalar ve önemli sonuçlar. Türkiye IV. Bilimsel ve Teknik Petrol Kongresi, 18-20 Kasım 2020, Ankara (baskıda)

- Paul, M., Reisberg, L., and Vigier, N., 2009. A new method for analysis of osmium isotopes and concentrations in surface and subsurface water samples. *Chemical Geology*, 258, 136-144
- Pereira, L.S.F., Frohlich, A.C., Duarte, F.A., Burrow, R.A., Muller, E.I. and Flores, E.M.M., 2015. Determination of halogens and sulfur in pitch from crude oil by plasma-based techniques after microwave-induced combustion. *J. Anal. At. Spectrom.*, DOI: 10.1039/c5ja00143a.
- Peters, K.E. and Cassa, M.R., 1994. Applied Source Rock Geochemistry. Chapter 5. In: Magoon, L.B. & Dow, W.G. (eds), *The Petroleum System - from Source to Trap*. AAPG Memoir, 60, 93-120
- Peucker-Ehrenbrink, B., G. Ravizza, and A. W. Hoffmann. 1995. The marine $^{187}\text{Os}/^{186}\text{Os}$ record of the past 80 million years. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 130, 155-167
- Peucker-Ehrenbrink, B. and Blum, J.D., 1998. Re-Os isotope systematics and weathering of Precambrian crustal rocks: Implications for the marine osmium isotope record. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62, 3193-3203
- Peucker-Ehrenbrink, B. and Ravizza, G., 2000. The marine osmium isotope record. *Terra Nova*, 12, 205-219
- Ravizza, G. and Turekian, K.K., 1989. Application of the ^{187}Re - ^{187}Os system to black shale geochronometry. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 53, 3257-3262
- Ravizza, G., Turekian, K.K. and Hay, B.J., 1991. The geochemistry of rhenium and osmium in recent sediment from the Black Sea. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 55, 3741-3752
- Ravizza, G. and Esser, B.K., 1993. A possible link between the seawater osmium isotope record and weathering of ancient sedimentary organic matter. *Chemical Geology*, 107 (1993) 255-258
- Ravizza, G.E. and Peucker-Ehrenbrink, B., 2003. The marine $^{187}\text{Os}/^{186}\text{Os}$ record of the Eocene-Oligocene transition: The interplay of weathering and glaciations. *Earth and Planetary Science Letters*, 210, 151-165
- Reich, M., Snyder, G.T., Álvarez, F., Pérez, A., Palacios, C., Vargas, G., Cameron, E.M., Muramatsu, Y. and Fehn, U., 2013. Using iodine isotopes to constrain

- supergene fluid sources in arid regions: Insights from the Chuquicamata Oxide Blanket. *Economic Geology*, 108, 163-171.
- Reisberg, L. and Lorand, J.-P., 1995. Longevity of sub-continental mantle lithosphere from osmium isotope systematics in orogenic peridotite massifs. *Nature*, 376, 159-162
- Rooney, A.D., Selby D., Houzay J.-P., and Renne, P.R., 2010. Re-Os geochronology of a Mesoproterozoic sedimentary succession, Taoudeni basin, Mauritania: Implications for basin-wide correlations and Re-Os organic-rich sediments systematic. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 289, 486-496
- Santschi, P.H., Xu, C., Zhang, S., Schwehr, K.A., Grandbois, R., Kaplan, D.I. and Yeager, C., 2016. Iodine and plutonium association with natural organic matter: A review of recent advances. *Applied Geochemistry*, 85, 121-127, doi: 10.1016/j.apgeochem.2016.11.009.
- Selby, D. and Creaser, R.A., 2003. Re-Os geochronology of organic rich sediments: an evaluation of organic matter analysis methods. *Chem. Geol.*, 200, 225-240
- Selby, D. and Creaser, R.A., 2005a. Direct radiometric dating of the Devonian-Carboniferous timescale boundary using the Re-Os black shale geochronometer. *Geology*, 33, 545-548
- Selby D. and Creaser R.A., 2005b. Direct radiometric dating of hydrocarbon deposits using rhenium-osmium isotopes. *Science*, 308, 1293-1295
- Selby, D., Creaser, R.A., Dewing, K., and Fowler, M., 2005. Evaluation of bitumen as a ^{187}Re - ^{187}Os geochronometer for hydrocarbon maturation and migration: a test case from the Polaris MVT deposit, Canada. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 235, 1-15
- Selby, D., Creaser, R.A., and Fowler, M.G. 2007. Re-Os elemental and isotopic systematics in crude oils. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 71, 378-386
- Selby, D., Mutterlose, J., and Condon, D.J., 2009. U-Pb and Re-Os Geochronology of the Aptian/Albian and Cenomanian/Turonian stage boundaries: Implications for timescale calibration, osmium isotope seawater composition and Re-Os systematics in organic-rich sediments. *Chem. Geol.*, 265, 394-409

- Shirey, S.B. and Walker, R.J., 1998. The Re-Os isotope system in cosmochemistry and high-temperature geochemistry. *Ann. Rev. Earth Planet. Sci. Lett.*, 26, 423-500
- Smoliar, M.I., Walker, R.J., and Morgan, J.W., 1996. Re-Os isotope constraints on the age of Group IIA, IIIA, IVA, and IVB iron meteorites. *Science*, 271, 1099-1102
- Snyder, G.T., Riese, W.C., Franks, S., Fehn, U., Pelzmann, W.L., Gorody, A.W. and Moran, J.E., 2003. Origin and history of waters associated with coal-bed methane: ^{129}I , ^{36}Cl , and stable isotope results from the Fruitland Formation, CO and NM. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 67, 4529-4544.
- Snyder, G.T. and Fehn, U., 2002. Origin of iodine in volcanic fluids: ^{129}I results from the Central American Volcanic Arc. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66(21), 3827-3838.
- Snyder, G.T. and Fabryka-Martin, J.T., 2007. ^{129}I and ^{36}Cl in dilute hydrocarbon waters: Marine-cosmogenic, in situ, and anthropogenic sources. *Applied Geochemistry*, 22, 692-704.
- Stein, H.J. and Hannah, J.L., 2014. The emerging potential of Re-Os isotope geochemistry for source rocks and maturation-migration histories. International Petroleum Technology Conference (IPTC), Doha, Qatar, 20-22 January 2014, (IPTC Paper 17693-MS)
- Stein, H.J., Hannah, J.L., Yang, G., Galimberti, R., and Nali, M., 2014. Ordovician source rocks and Devonian oil expulsion on bolide impact at Siljan, Sweden - the Re-Os story. International Petroleum Technology Conference (IPTC), Doha, Qatar, 20-22 January 2014, (IPTC Paper 17601 MS)
- Tissot, B.P. and Welte, D.H., 1984. *Petroleum Formation and Occurrence*. Springer-Verlag, 699 p.
- Togo, Y.S., Kazahaya, K., Tosaki, Y., Morikawa, N., Matsuzaki, H., Takahashi, M. and Sato, T., 2014. Groundwater, possibly originated from subducted sediments, in Joban and Hamadori areas, southern Tohoku, Japan. *Earth, Planets and Space*, 66, 131.

- Tomaru, H., Lu, Z., Fehn, U. and Muramatsu, Y., 2009a. Origin of hydrocarbons in the Green Tuff region of Japan: ^{129}I results from oil field brines and hot springs in the Akita and Niigata Basins. *Chemical Geology*, 264, 221-231.
- Tomaru, H., Fehn, U., Lu, Z., Takeuchi, R., Inagaki, F., Imachi, H., Kotani, R., Matsumoto, R. and Aoike, K., 2009b. Dating of dissolved iodine in pore waters from the gas hydrate occurrence offshore Shimokita Peninsula, Japan: ^{129}I results from the D/V Chikyu Shakedown Cruise. *Resource Geology*, 59(4), 359-373.
- Tripathy, G.R., Hannah, J.L., Stein, H.J. and Yang, G., 2014. Re-Os age and depositional environment for black shales from the Cambrian-Ordovician boundary, Green Point, western Newfoundland. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 15, 1021-1037
- Tullai, S., Tubbs, L. E. and Fehn, U., 1987. Iodine extraction from petroleum for analysis of $^{129}\text{I}/\text{I}$ ratios by AMS. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, 29, 383-386.
- Vermeesch, P., 2018. IsoplotR: a free and open toolbox for geochronology. *Geoscience Frontiers*, 2018, doi: 10.1016/j.gsf.2018.04.001
- Xu, G., Hannah, J.L., Stein, H.J., Mørk, A., Vigran, J.O., Bingen, B., Schutt, D., and Lundschiene, B.A., 2014. Cause of Upper Triassic climate crisis revealed by Re-Os geochemistry of Boreal black shales: Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 395, 222-232
- Xu, G., Hannah, J.L., Stein, H.J., Bingen, B., Yang, G., Zimmerman, A., Weitschat, W., Mørk, A., and Weiss, H.M., 2009. Re-Os geochronology of Arctic black shales to evaluate the Anisian-Ladinian boundary and global faunal correlations. *Earth and Planetary Science Letters*, 288, 581-587
- Xu, G., Hannah, J.L., Stein, H.J., and Georgiev, S., 2013. Application of Re-Os geochemistry to sedimentary basins: stratigraphic correlation oil - source correlation and paleo-environmental condition. First joint GSC-GSA Meeting, Chengdu, *Acta Geologica Sinica (English Edition)*, 87 (supplement), 602-604

- USGS, 2018. U.S. Geological Survey National Produced Waters Geochemical Database v2.2. <https://energy.usgs.gov/EnvironmentalAspects/EnvironmentalAspectsofEnergyProductionandUse/ProducedWaters.aspx#3822349-data>
- Pierson-Wickmann, A.C., Reisberg, L., and France-Lanord, C., 2002. Behavior of Re and Os during low-temperature alteration: Results from Himalayan soils and altered black shales. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 66, No. 9, pp. 1539-1548, 2002
- Wright, S.C., 2015. Applications of the Rhenium-Osmium Isotopic System, and Platinum and Iridium Abundances in Organic-Rich Mud Rocks: A Geochronology, Geochemistry, and Redox Study. University of Houston, PhD Thesis, 302 p.
- Yamashita Y., Takahashi Y., Haba H., Enomoto S., and Shimizu H., 2007. Comparison of reductive accumulation of Re and Os in seawater-sediment systems. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71, 3458-3475
- Yin, L., Li, J., Liu, J., Li, C., Sun, S., Liang, H., and Xu, J., 2017. Precise and accurate Re-Os isotope dating of organic-rich sedimentary rocks by thermal ionization mass spectrometry with an improved H_2O_2 - HNO_3 digestion procedure. *International Journal of Mass Spectrometry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijms.2017.07.013>
- York, D. 1966. Least-squares fitting of a straight line. *Canadian Journal of Physics*, 44(5), 1079-1086



IKSAD
Publishing House



ISBN: 978-625-7139-49-6