



DOĞU AKDENİZ SEDİMANLARINDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN FİLOGENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ

İlknur TUNÇER^{1,*}, Nihayet BİZSEL¹

¹ Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Enstitüsü, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, Türkiye

ÖZET

Doğu Akdeniz'in sığ ve derin bölgelerindeki sedimanlardan izole edilen bakterilerin filogenetik çeşitliliği ve antibiyotik duyarlılığı çalışılmıştır. Dünyadaki en oligotrofik ortamlardan biri olan çalışma alanından izole edilen 153 suşun *Firmicutes* ve *Gammaproteobacteria* taksonlarına ait oldukları bulunmuştur. 16S rRNA gen dizisi analizi ile belirlendiği üzere, her sediman örneğinde *Bacillus* en sık görülen cins olmuştur. Bu çalışmada 10 farklı bakteri ailesinden çok çeşitli türler elde edilmiş, özellikle toplam izolatların yüzde 12'sini yeni türlerin oluşturduğu görülmüştür. En yüksek antibiyotik direncinin derin havzalara kıyasla kıyı sedimanlarda olduğu gösterilmiştir. Çevresel parametrelerin bakteri toplulukları üzerinde etkisinin olduğu belirtilmekle birlikte Doğu Akdeniz'in derin havzalarına kıyasla özellikle Kuzey Ege Denizi'ndeki daha sığ bölgeler için yüksek taksonlarda daha fazla filogenetik çeşitliliğin olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Bakteri filogenetiği, 16S rRNA genleri, Antibiyotik duyarlılık, Akdeniz

PHYLOGENETIC DIVERSITY AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF BACTERIA ISOLATED FROM SEDIMENTS OF EASTERN MEDITERRANEAN SEA

ABSTRACT

Phylogenetic diversity and antibiotic susceptibility of isolated bacteria from sediments in shallow and deep regions of Eastern Mediterranean Sea were studied. 153 strains isolated from the study area which is one of the most oligotrophic environments in the world were found as affiliated to the *Firmicutes* and *Gammaproteobacteria*. As determined by 16S rRNA gene sequence analysis, the *Bacillus* the most frequent genus was dominant in each sediment samples. The present study provided highly diverse bacterial strains of ten different families especially with probability of representing new taxa as twelve percent of total isolates. The highest antibiotic resistance was obtained from coastal sediments compared to deep basins. The influence of environmental parameters was observed as the variability of bacterial community composition such that phylogenetic diversity was much higher in higher taxa for shallower regions, especially in North Aegean Sea as compared to deep basins of Eastern Mediterranean Sea.

Keywords: Bacterial phylogeny, 16S rRNA genes, Antibiotic susceptibility, Mediterranean Sea

1. GİRİŞ

Denizlerdeki tüm bakteriyel çeşitlilik araştırmalarını 16S rRNA veritabanına göre birleştiren son çalışmalar deniz suyunda proteobakterilerin (öncelikle *Alphaproteobacteria* ve sonra *Gammaproteobacteria*) dominant olduğunu gösterirken, kültüre dayalı çalışmalarda ise baskınlık sırasının önce *Gammaproteobacteria* ve sonra *Alphaproteobacteria* şeklinde olduğu gösterilmiştir [1–3]. Öte yandan sığ ve derin sedimanlarda *Gammaproteobacteria* ve *Firmicutes* (özellikle *Bacillus* ve *Clostridium* cinsleri) egemen olduğu bulunmuştur [3].

Antibiyotiklerin deniz ortamında bulunmaları çeşitli sebeplerden kaynaklanmaktadır. Tıpta kullanılan antibiyotikler, hastalar tarafından kısmen metabolize edilmekte ve daha sonra hastane atıksu sistemine veya evde kullanılıyorsa doğrudan belediye atık suyuna boşaltılmaktadırlar [4, 5]. Hayvancılık için kullanılan antibakteriyel maddeler toprakta veya sedimanda veya yeraltı sularında sonlanabilmektedirler

*Sorumlu Yazar: tuncerilik@gmail.com

Geliş: 15.03.2018 Kabul: 22.04.2019

[4, 5]. Antimikrobiyal ajanlar balık çiftliklerinde enfeksiyonları tedavi amaçlı kullanılmakla birlikte doğrudan suya ilave edilerek su havzasında ve sedimanlarda yüksek konsantrasyonlarda görülmelerine neden olmaktadır [4, 5]. Öte yandan antibiyotik dirençlilik, hemen her ortamda doğal olarak mevcut olup özellikle biyofilm gibi yüksek bakteri yoğunluğuna sahip bölgelerde bakteriler arasında alışverişe sebep olmaktadır [4, 5].

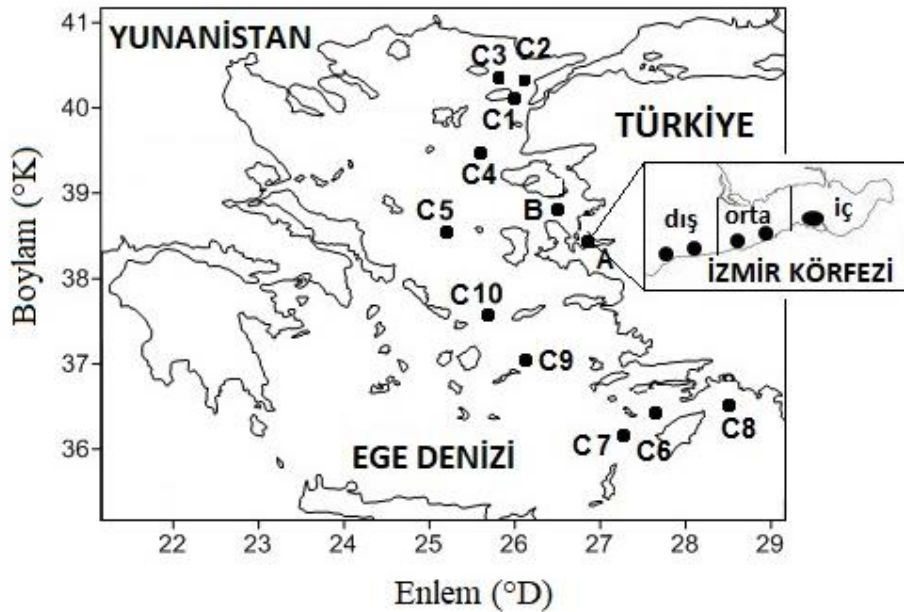
Akdeniz, Cebelitarık Boğazı'ndan Kuzey Atlantik Okyanusu'na ve Çanakkale Boğazı, Marmara Denizi ve İstanbul Boğazı'nı içeren Türk Boğaz Sistemleri'nden Karadeniz'e deniz suyunun geçiş yaptığı yarı kapalı bir denizdir. Yüksek tuzluluk, sıcaklık, yoğunluk ve düşük besin tuzu konsantrasyonları ile karakterizedir [6]. Batı ve doğu havzaları Sicilya Boğazı ile ayrılmış olup, hidrolojik özellikleri ve besin rejimleri farklıdır. Doğu Akdeniz, Ege Denizi'ne ve tuzluluk oranının düşük olması nedeniyle küçük ama önemli miktarda girişi olan Karadeniz'e bağlıdır.

Bu çalışmada, Türk denizlerinde tür-alan ilişkilerini ortaya koyan bakteriyel çeşitlilik araştırmalarına duyulan ihtiyaç doğrultusunda bakterilerin Doğu Akdeniz sedimanlarından izolasyonu, filogenetik ve antibiyotik direnç analizleri amaçlanmaktadır.

2. MATERYAL VE YÖNTEMLER

2.1. Çalışma Alanı

Doğu Akdeniz'de toplamda 24 istasyon çalışılmıştır (Şekil 1). Türkiye'nin en büyük koylarından biri olan İzmir Körfezi'nin sahil şeridi bölgesinde turizmde türeyen, sanayi, tarım ve deniz faaliyetlerinden kaynaklı antropojenik aktivitelerin stresi altındaki A istasyonlarından (iç körfezde 5, orta körfezde 2 ve dış körfezde 2 istasyon) sediman örnekleri toplanmıştır. Ege Denizi'ndeki Midilli Adası ve Karaburun arasındaki B istasyonları (toplam 5 istasyon) ve Doğu Akdeniz'deki C1–C10 istasyonlarını içeren derin havzalar da örneklenmiştir. C1–C3 istasyonları, Kuzey Ege'nin en üst kısmında bulunurken, özellikle C1 istasyonu Marmara Denizi'nden Ege Denizi'ne geçen Karadeniz suyunu taşıyan Çanakkale Boğazı ağızına yakın olmakla birlikte C6–C8 istasyonları Levantin deniz sularından etkilenen Güney Ege Denizi'nin en altında yer almaktadır. Diğer C istasyonları da kuzeyden güneye Ege Denizi'nde derin havzalardır.



Şekil 1. Doğu Akdeniz'de A, B ve C istasyonlarını içeren çalışma alanı

2.2. Bakteri İzolasyonu

İlkbahar-yaz döneminde İzmir Körfezi sahil şeridinden (0 m derinliğindeki A istasyonları) ve RV/K Piri Reis araştırma gemisi ile yaklaşık 100-200 m derinliğindeki B istasyonları ve 72-1235 m derinliğindeki C istasyonlarından sediman ve deniz suyu elde edilmiştir. A istasyonları sahil şeridinde olduğundan sedimanlar direkt steril kaplara alınarak -20°C 'de muhafaza edilmişlerdir. Çeşitli derinliklerdeki B ve C istasyonlarından ise araştırma gemisinde bulunan Box-corer cihazı ile elde edilen sedimanlar steril kaplara alınarak -20°C 'de muhafaza edilmişlerdir. Yine bu istasyonlardan, araştırma gemisinde bulunan SBE 19plus V2 Seacat Profiler CTD cihazının GoFlo şişeleriyle elde edilen deniz suyu gemideyken $0.45\ \mu\text{m}$ gözenekli Whatman filtreden süzöldükten sonra laboratuvarında otoklavlanarak ve $0.22\ \mu\text{m}$ gözenekli Millipore filtreden süzölerek steril hale getirilip -4°C 'de muhafaza edilmiştir.

Bakteri izolasyonu için 7 farklı sediman işleme yöntemi ve steril deniz suyu içeren 6 farklı izolasyon besiyeri kullanılmıştır. Besiyer içerikleri şöyledir: M1 için 18 gr agar, 10 gr nişasta, 4 gr yeast ekstrakt, 2 gr pepton, 1 lt steril deniz suyu [7]; M2 için 18 gr agar, 1 gr nişasta, 0.4 gr yeast ekstrakt, 0.2 gr pepton, 1 lt steril deniz suyu [8]; M3 için 18 gr agar, 2.5 gr nişasta, 1 gr yeast ekstrakt, 0.5 gr pepton, 750 ml steril deniz suyu, 250 ml distile su [8]; M4 için 18 gr agar, 1 lt steril deniz suyu [8]; M5 için 18 gr agar, 750 ml steril deniz suyu, 250 ml distile su [8]; M6 (Difco™ marin agar) için 55 gr besiyer, 1 lt distile su. Ayrıca 6 farklı antibiyotik (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sikloheksimid, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nistatin, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ polimiksin B sulfat, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ rifampin, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ kanamisin sulfat, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ novobiyosin) içeren veya içermeyen M1 besiyeri kullanılmıştır [7, 8].

7 farklı sediman işleme yöntemi şöyledir: İlk yöntem (a), 10 ml ıslak sediman örneği gecedan kurutulduktan sonra 0.5 gr kuru sediman aseptik olarak dairesel yönde agar medyaya yaymak [7]; ikinci yöntem (b), kuru sedimanı steril sünger ile saat yönünde agar medyaya yaymak; üçüncü yöntem (c), 1 ml ıslak sedimanı steril deniz suyu ile 1:4 oranında seyreltip 55°C 'de 6 dk ısıttıktan sonra 30 sn vorteksleyip 75-100 μl alarak aseptik olarak agar medyaya yaymak [8]; dördüncü yöntem (d), ıslak sedimanı 70°C 'de 15 dk ısıttıktan sonra aseptik olarak dairesel yönde agar medyaya yaymak [9]; beşinci yöntem (e), ıslak sedimanı 30 sn UV altında tuttukten sonra aseptik olarak dairesel yönde agar medyaya yaymak [10]; altıncı yöntem (f), 1 ml ıslak sedimanı steril deniz suyu ile 1:1, 1:10 ve 1:100 oranlarında seyrelttikten sonra 30 sn vorteksleyip 75-100 μl alarak aseptik olarak agar medyaya yaymak; son yöntem (g), sediman işleme yöntemi uygulamadan direkt ıslak sedimanı alıp aseptik olarak agar medyaya yaymaktır.

M6 besiyeri içeren petriler $20-22^{\circ}\text{C}$ 'de 2-3 gün [7], diğer besiyerleri içeren petriler de $26-28^{\circ}\text{C}$ 'de 2 aya kadar inkübe edilmişlerdir [8]. Koloni morfolojisine göre seçilen izolatlar M1 veya M6 besiyerlerinde subkültüre edilmişler ve sonrasında % 50 gliserol ile -20°C 'de muhafaza edilmişlerdir [7, 8].

2.3. Genomik DNA Ekstrasyonu ve 16S rRNA Çoğaltımı

Sedimanlardan izole edilen bakterilerin genomik DNA ekstraksiyonu, katalog numarası K182002 olan PureLink™ Genomik DNA mini ticari kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak Gram-positif ve Gram-negatif bakteri hücreleri için olan kullanma kılavuzuna göre yapılmıştır.

Genomik DNA'dan 16S rRNA genleri FC27 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ve RC1492 (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3') ve ayrıca 63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') ve 1387r (5'-GGGCGWGTGTACAAGGC-3') evrensel primer çiftleri kullanılarak PZR ile çoğaltılmıştır [7,8]. 50 μl PZR karışımı; 20–50 ng DNA, One Taq Quik-Load 2X Master karışımı (New England Biolabs, Inc. Beverly, MA), herbir primerden 10 pmol (Fermentas, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) ve 10 mM deoksinukleosid trifosfat karışımı (Fermentas, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) içermektedir. PZR programı; 1 dk 94°C , 1 dk 55°C , 1 dk 72°C ve akabinde 7 dk 72°C olan 30 döngüyü kapsamaktadır. Çoğaltım ürünleri ise agaroz jel elektroforez ile incelenmiştir.

2.4. Sekanslama ve Filogenetik Analiz

Sekanslama hizmeti, Gen Araştırma ve Teknoloji'sinden (RefGen, Türkiye) alınmıştır. Filogenetik analizde, tüm nükleotit sekansları Geneious bilgisayar programı (versiyon 6.1; Biomatters Ltd., NZ) kullanılarak analiz edilmiş ve NCBI veribankası (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ile BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) kullanılarak karşılaştırılmış ve Mega bilgisayar programı ile 1000 önyükleme komşu birleştirme (1000 bootstrap neighbor-joining) yöntemi kullanılarak filogenetik analiz tamamlanmıştır [11]. Elde edilen tüm 16S rRNA gen sekansları GenBank veribankasına (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/index.html>) KC815705–KC815755, KC815773–KC815777, KC815779–KC815847, KF366684–KF366711 erişim numaraları altında yüklenmiştir.

2.5. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Toplam 153 izolat için disk difüzyon metodu ile antibiyotik test yapılmıştır [12]. Farklı sınıflara ait 11 antibiyotik (30 µg amikasin, 10 µg ampisilin, 30 µg kloramfenikol, 30 µg seftazidim, 30 µg sefotaksim, 10 µg ertapenem, 10 µg gentamisin, 30 µg kanamisin, 30 µg nalidiksik asit, 1.25µg/23.75µg trimetoprim/sulfametoksazol, 30 µg tetrasiklin) kullanılmıştır.

3. SONUÇLAR

3.1. Bakteri Filogenetiği

Doğu Akdeniz'deki A, B ve C istasyonlarından izole edilen farklı mekansal dağılım ve morfolojik özelliklere sahip toplam 153 suş filogenetik olarak analiz edilmiştir. *Bacilli* ve *Gammaproteobacteria* sınıfları elde edilmiş ve bu sınıflarda *Alteromonadaceae*, *Bacillaceae*, *Exiguobacteriaceae*, *Halomonadaceae*, *Moraxellaceae*, *Planococcaceae*, *Pseudoalteromonadaceae*, *Staphylococcaceae*, *Sporolactobacillaceae* ve *Vibrionaceae* olmak üzere 10 aile tespit edilmiştir (Tablo 1).

Suşların çoğunluğu *Firmicutes* filumunun *Bacillales* sırasına mensup üyelerden oluşmakta olup *Bacillus* türleri ile yüksek filogenetik bağlantıya sahip oldukları görülmüştür (Tablo 1). *Bacillus* suşlarının yaklaşık yarısı *Bacillus aryabhatai*, [*Brevibacterium*] *frigoritolerans*, *Bacillus subtilis* grubu ve *Bacillus hwajinpoensis* ile yakından ilgili iken çeyreği de [*Brevibacterium*] *halotolerans*lara, *Bacillus algicola*, *Bacillus aquimaris*, *Bacillus cereus* grubu ve *Bacillus vietnamensis* türlerini içermekte olup bu *Bacillales* sırası içinde yer alan diğer cinsler de *Exiguobacterium*, *Fictibacillus*, *Halobacillus*, *Lysinibacillus*, *Oceanobacillus*, *Planococcus*, *Pontibacillus*, *Staphylococcus* ve *Virgibacillus* olarak bulunmuştur. Öte yandan, *Alteromonadales*, *Oceanospirillales*, *Pseudomonadales* ve *Vibrionales* olmak üzere 4 farklı sıra içinde *Halomonas*, *Marinobacter*, *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Photobacterium*, *Salinimonas* ve *Vibrio* cinslerinin yer aldığı görülmüştür (Tablo 1).

Gammaproteobacteria sınıfı ile *Bacillales* sırasına ait fakat *Bacillus* cinsinden olmayan diğer türler çoğunlukla A ve B istasyonlarından ve bazıları da C1–C3, C6–C8 istasyonlarından izole edilmiştir (Tablo 1). Ayrıca, [*Brevibacterium*] *frigoritolerans* ve *Bacillus algicola* haricindeki *Bacillus* suşları esas olarak B istasyonlarından izole edilmiştir (Tablo 1). A istasyonlarından ise [*Brevibacterium*] *halotolerans*, *Bacillus aryabhatai*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus algicola* suşları elde edilmiştir (Tablo 1). [*Brevibacterium*] *frigoritolerans* ve *Bacillus hwajinpoensis* suşları C istasyonlarından izole edilirken, *Bacillus algicola* ve *Bacillus cereus* grubu ise C1, C2, C4 ve C9 istasyonlarından elde edilmiştir (Tablo 1).

Halofil *Bacillus* suşlarının yaklaşık yarısı C istasyonlarından, geriye kalanı ise A ve B istasyonlarından elde edilmiştir. *Halomonas*, *Photobacterium*, *Planococcus*, *Pontibacillus* ve *Pseudoalteromonas* cinslerine ek olarak, *Bacillus algicola*, *Bacillus hwajinpoensis* ve *Bacillus boriphiphus* türlerinin büyümesi için % 2-4 NaCl gerektiği görülmüştür.

A istasyonlarından izole edilen *Halomonas* 50BK4Y10 suşu ve *Salinimonas* 84BK9Y10 suşu ile C7 istasyonundan izole edilen *Pontibacillus* 204C75Y12 suşunun en yakın türlerle filogenetik benzerliklerinin % 98'den az olması nedeniyle yeni takson olmaları yüksek bir olasılık olmakla birlikte bu benzerlik sınırı % 98.5–99 olarak revize edildiğinde [13] ise yeni takson sayısı artmakla birlikte *Bacillus*, *Halomonas*, *Photobacterium* suşları da dahil olmuş ve bunlar B, C3, C4, C8–C10 istasyonlarından izole edilen 10CM31Y12, 149B422Y11, 17BM52Y12, 17CM41Y12, 149B422Y11, 17BM52Y12, 17BM52Y12, 17BM52Y12, 186B5Y11, 235C101Y12, 248C103Y12, 270C92Y12, 37CM82Y12, 43CM103Y12 ve 8BM24Y12 suşları olarak tespit edilmişlerdir (Tablo 1).

Tablo 1. Doğu Akdeniz istasyonlarından izole edilen bakterilere en yakın tür tayini

İstasyon	Filogenetik Aile	İzolat kodu (erişim numarası)	Sekans uzunluğu (bp)	En yakın suş (erişim numarası)	Benzerlik (%)
A1	<i>Bacillaceae</i>	16BK1Y10 (KC815739)	1387	<i>Bacillus algicola</i> (AY228462)	100.00
A1	<i>Bacillaceae</i>	66BK1Y10 (KC815821)	1387	<i>Bacillus algicola</i> (AY228462)	99.86
A1	<i>Bacillaceae</i>	55BK1Y10 (KF366687)	1420	<i>Bacillus altitudinis</i> (AJ831842)	100.00
A2	<i>Bacillaceae</i>	17BK2Y10 (KC815740)	1261	<i>Bacillus algicola</i> (AY228462)	100.00
A2	<i>Bacillaceae</i>	81BK2Y10 (KC815823)	1399	<i>Bacillus tequilensis</i> (HQ223107)	100.00
A3	<i>Bacillaceae</i>	61BK3Y10 (KC815816)	1369	<i>Bacillus endophyticus</i> (AF295302)	100.00
A3	<i>Bacillaceae</i>	77BK3Y10 (KF366692)	737	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	100.00
A3	<i>Bacillaceae</i>	82BK3Y10 (KF366694)	1421	<i>Bacillus siamensis</i> (AJVF01000043)	99.93
A4	<i>Bacillaceae</i>	41BK4Y10 (KC815795)	1383	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	100.00
A4	<i>Bacillaceae</i>	70BK4Y10 (KF366690)	1421	<i>Bacillus firmus</i> (X60616)	99.42
A4	<i>Halomonadaceae</i>	50BK4Y10 (KC815814)	1377	<i>Halomonas ventosae</i> (AY268080)	97.96
A4	<i>Bacillaceae</i>	8BK4Y10 (KC815736)	1398	<i>Virgibacillus halodenitrificans</i> (AY543169)	100.00
A5	<i>Bacillaceae</i>	60BK5Y10 (KC815815)	1408	<i>Bacillus berkeleyi</i> (JN187498)	99.86
A5	<i>Bacillaceae</i>	47BK5Y10 (KC815813)	1391	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	99.93
A5	<i>Bacillaceae</i>	75BK5Y10 (KF366691)	725	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	100.00
A5	<i>Bacillaceae</i>	20BK5Y10 (KC815743)	1273	<i>Bacillus safensis</i> (AF234854)	100.00
A5	<i>Bacillaceae</i>	45BK5Y10 (KC815796)	1399	<i>Bacillus tequilensis</i> (HQ223107)	100.00
A5	<i>Bacillaceae</i>	62BK5Y10 (KC815817)	1401	<i>Halobacillus trueperi</i> (AJ310149)	99.93
A5	<i>Planococcaceae</i>	18BK5Y10 (KC815741)	1388	<i>Planococcus maritimus</i> (AF500007)	99.57
A5	<i>Staphylococcaceae</i>	19BK5Y10 (KC815742)	1392	<i>Staphylococcus cohnii subsp. cohnii</i> (D83361)	100.00

Tablo 1. Devamı...

İstasyon	Filogenetik Aile	İzolot kodu (erişim numarası)	Sekans uzunluğu (bp)	En yakın suş (erişim numarası)	Benzerlik (%)
A6	<i>Bacillaceae</i>	1BK6Y10 (KC815732)	1402	<i>Bacillus aquimaris</i> (AF483625)	99.29
A6	<i>Bacillaceae</i>	22BK6Y10 (KC815784)	1411	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
A6	<i>Bacillaceae</i>	34BK6Y10 (KC815789)	1413	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
A6	<i>Bacillaceae</i>	4BK6Y10 (KC815734)	1411	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
A6	<i>Exiguobacteriaceae</i>	30BK6Y10 (KC815788)	852	<i>Exiguobacterium aestuarii</i> (AY594264)	99.88
A6	<i>Bacillaceae</i>	36BK6Y10 (KC815791)	1401	<i>Halobacillus trueperi</i> (AJ310149)	99.86
A6	<i>Planococcaceae</i>	6BK6Y10 (KC815735)	1393	<i>Lysinibacillus macroides</i> (AJ628749)	99.21
A6	<i>Bacillaceae</i>	38BK6Y10 (KC815793)	1393	<i>Oceanobacillus picturae</i> (AJ315060)	100.00
A7	<i>Bacillaceae</i>	42BK7Y10 (KF366685)	1421	<i>[Brevibacterium] halotolerans</i> (AM747812)	100.00
A7	<i>Bacillaceae</i>	24BK7Y10 (KC815786)	734	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
A7	<i>Bacillaceae</i>	3BK7Y10 (KC815733)	1391	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	99.86
A7	<i>Bacillaceae</i>	72BK7Y10 (KC815822)	1399	<i>Bacillus methylotrophicus</i> (EU194897)	100.00
A7	<i>Bacillaceae</i>	26BK7Y10 (KC815787)	1398	<i>Bacillus pumilus</i> (ABRX01000007)	99.93
A7	<i>Exiguobacteriaceae</i>	37BK7Y10 (KC815792)	1358	<i>Exiguobacterium profundum</i> (AY818050)	100.00
A7	<i>Alteromonadaceae</i>	23BK7Y10 (KC815785)	1377	<i>Marinobacter lipolyticus</i> (AY147906)	99.49
A8	<i>Bacillaceae</i>	65BK8Y10 (KC815820)	1413	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	99.86
A8	<i>Bacillaceae</i>	14BK8Y10 (KC815738)	1400	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	99.43
A8	<i>Bacillaceae</i>	43BK8Y10 (KF366686)	766	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	100.00
A8	<i>Bacillaceae</i>	57BK8Y10 (KF366688)	743	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	100.00
A8	<i>Bacillaceae</i>	58BK8Y10 (KF366689)	737	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	100.00
A8	<i>Bacillaceae</i>	64BK8Y10 (KC815819)	1400	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	99.43
A9	<i>Bacillaceae</i>	10BK9Y10 (KC815737)	1399	<i>[Brevibacterium] halotolerans</i> (AM747812)	99.93
A9	<i>Bacillaceae</i>	39BK9Y10 (KC815794)	1399	<i>[Brevibacterium] halotolerans</i> (AM747812)	100.00
A9	<i>Bacillaceae</i>	33BK9Y10 (KF366684)	1423	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
A9	<i>Bacillaceae</i>	35BK9Y10 (KC815790)	1402	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	99.93
A9	<i>Bacillaceae</i>	80BK9Y10 (KF366693)	1421	<i>Bacillus siamensis</i> (AJVF01000043)	99.93

Tablo 1. Devamı...

İstasyon	Filogenetik Aile	İzolot kodu (erişim numarası)	Sekans uzunluğu (bp)	En yakın suş (erişim numarası)	Benzerlik (%)
A9	Bacillaceae	63BK9Y10 (KC815818)	1399	<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i> (ABQL01000001)	99.93
A9	Alteromonadaceae	84BK9Y10 (KC815824)	1258	<i>Salinimonas lutimaris</i> (HQ340609)	97.21
B1	Bacillaceae	59B112Y11 (KC815826)	556	<i>[Brevibacterium] halotolerans</i> (AM747812)	100.00
B1	Bacillaceae	1B1Y11 (KC815744)	836	<i>Bacillus aquimaris</i> (AF483625)	99.88
B1	Bacillaceae	128B122Y11 (KC815839)	1405	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B1	Bacillaceae	35B1Y11 (KC815750)	1421	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B1	Bacillaceae	60B112Y11 (KC815827)	541	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B1	Bacillaceae	8B1Y11 (KC815745)	744	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B1	Bacillaceae	1BM11Y12 (KC815716)	1401	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.79
B1	Bacillaceae	2BM11Y12 (KC815717)	1402	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	100.00
B1	Bacillaceae	123B121Y11 (KC815838)	1399	<i>Bacillus siamensis</i> (AJVF01000043)	100.00
B1	Bacillaceae	58B112Y11 (KC815825)	1402	<i>Bacillus vietnamensis</i> (AB099708)	99.70
B1	Pseudoalteromonadaceae	61B113Y11 (KC815828)	526	<i>Pseudoalteromonas</i> <i>issachenkonii</i> (AF316144)	100.00
B1	Moraxellaceae	3BM13Y12 (KC815718)	1399	<i>Psychrobacter nivimaris</i> (AJ313425)	99.93
B1	Vibrionaceae	57B112Y11 (KC815755)	1399	<i>Vibrio gigantis</i> (EF094888)	100.00
B2	Bacillaceae	39B2Y11 (KC815751)	777	<i>Bacillus aquimaris</i> (AF483625)	99.87
B2	Bacillaceae	4BM21Y12 (KC815719)	1423	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	99.93
B2	Bacillaceae	9B2Y11 (KC815746)	1413	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	99.86
B2	Bacillaceae	5BM21Y12 (KC815720)	1403	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	99.79
B2	Bacillaceae	7BM24Y12 (KC815722)	1401	<i>Bacillus horikoshii</i> (X76443)	99.43
B2	Bacillaceae	6BM21Y12 (KC815721)	1401	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.86
B2	Bacillaceae	135B221Y11 (KC815841)	1402	<i>Bacillus indicus</i> (AJ583158)	100.00
B2	Bacillaceae	133B221Y11 (KC815840)	1400	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	99.43
B2	Bacillaceae	8BM24Y12 (KC815723)	1402	<i>Bacillus vietnamensis</i> (AB099708)	98.01
B3	Bacillaceae	44B3Y11 (KC815752)	1399	<i>[Brevibacterium] halotolerans</i> (AM747812)	100.00
B3	Bacillaceae	11BM32Y12 (KC815726)	1403	<i>Bacillus aquimaris</i> (AF483625)	99.22

Tablo 1. Devamı...

İstasyon	Filogenetik Aile	İzolot kodu (erişim numarası)	Sekans uzunluğu (bp)	En yakın suş (erişim numarası)	Benzerlik (%)
B3	<i>Bacillaceae</i>	16B3Y11 (KC815747)	759	<i>Bacillus aquimaris</i> (AF483625)	99.87
B3	<i>Bacillaceae</i>	17B3Y11 (KC815748)	1411	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	99.93
B3	<i>Bacillaceae</i>	74B313Y11 (KC815829)	1416	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B3	<i>Bacillaceae</i>	9BM31Y12 (KC815724)	712	<i>Bacillus hemicentroti</i> (HM460885)	100.00
B3	<i>Bacillaceae</i>	10BM31Y12 (KC815725)	1401	<i>Bacillus mycoides</i> (ACMU01000002)	100.00
B3	<i>Bacillaceae</i>	78B314Y11 (KC815830)	1377	<i>Bacillus safensis</i> (AF234854) <i>Oceanobacillus oncorhynchi</i> <i>subsp. Oncorhynchi</i> (AB188089)	100.00
B3	<i>Bacillaceae</i>	118B311Y11 (KC815837)	1398	<i>Bacillus aquimaris</i> (AF483625)	99.56
B4	<i>Bacillaceae</i>	45B4Y11 (KC815753)	1402	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	99.28
B4	<i>Bacillaceae</i>	148B422Y11 (KC815843)	1413	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B4	<i>Bacillaceae</i>	23B4Y11 (KC815749)	1405	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B4	<i>Bacillaceae</i>	87B412Y11 (KC815831)	1416	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B4	<i>Bacillaceae</i>	14BM45Y12 (KC815729)	720	<i>Bacillus cibi</i> (AY550276)	100.00
B4	<i>Bacillaceae</i>	13BM45Y12 (KC815728)	1400	<i>Bacillus horikoshii</i> (X76443) <i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.21
B4	<i>Bacillaceae</i>	147B422Y11 (KC815842)	1393	<i>Bacillus tequilensis</i> (HQ223107)	99.57
B4	<i>Bacillaceae</i>	92B413Y11 (KC815832)	1399	<i>Bacillus vietnamensis</i> (AB099708)	100.00
B4	<i>Bacillaceae</i>	149B422Y11 (KC815844)	1402	<i>Pseudoalteromonas</i> <i>nigrifaciens</i> (X82146)	98.75
B4	<i>Pseudoalteromonadaceae</i>	(KC815727)	1397	<i>[Brevibacterium]</i> <i>frigoritolerans</i> (AM747813)	99.93
B5	<i>Bacillaceae</i>	106B513Y11 (KC815836)	1389	<i>[Brevibacterium]</i> <i>halotolerans</i> (AM747812)	100.00
B5	<i>Bacillaceae</i>	152B521Y11 (KC815846)	1399	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	99.93
B5	<i>Bacillaceae</i>	151B521Y11 (KC815845)	1413	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B5	<i>Bacillaceae</i>	51B5Y11 (KC815754)	1423	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
B5	<i>Bacillaceae</i>	96B511Y11 (KC815834)	571	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	99.65
B5	<i>Bacillaceae</i>	95B511Y11 (KC815833)	1358	<i>Bacillus indicus</i> (AJ583158) <i>Bacillus licheniformis</i> (KC815835)	100.00
B5	<i>Bacillaceae</i>	105B513Y11 (KC815835)	1400	(AE017333) <i>Halomonas saccharevitans</i> (EF144149)	99.43
B5	<i>Halomonadaceae</i>	186B5Y11 (KC815847)	1371		98.76

Tablo 1. Devamı...

İstasyon	Filogenetik Aile	İzolot kodu (erişim numarası)	Sekans uzunluğu (bp)	En yakın suş (erişim numarası)	Benzerlik (%)
B5	<i>Vibrionaceae</i>	17BM52Y12 (KC815731)	1394	<i>Photobacterium swingsii</i> (GQ386822)	98.49
B5	<i>Pseudoalteromonadaceae</i>	16BM51Y12 (KC815730)	1395	<i>Pseudoalteromonas marina</i> (AY563031)	99.93
C1	<i>Bacillaceae</i>	1CM13Y12 (KC815705)	1420	[<i>Brevibacterium</i>] <i>frigorigerans</i> (AM747813)	99.86
C1	<i>Bacillaceae</i>	2CM13Y12 (KC815706)	1403	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	99.79
C1	<i>Sporolactobacillaceae</i>	4CM13Y12 (KC815707)	1400	<i>Fictibacillus nanhaiensis</i> (GU477780)	99.93
C2	<i>Bacillaceae</i>	7CM23Y12 (KC815710)	1400	[<i>Brevibacterium</i>] <i>frigorigerans</i> (AM747813)	99.93
C2	<i>Bacillaceae</i>	8CM23Y12 (KC815711)	748	<i>Bacillus algicola</i> (AY228462)	99.73
C2	<i>Bacillaceae</i>	5CM21Y12 (KC815708)	1368	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	99.85
C2	<i>Bacillaceae</i>	6CM21Y12 (KC815709)	592	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.66
C3	<i>Bacillaceae</i>	9CM31Y12 (KC815712)	1406	[<i>Brevibacterium</i>] <i>frigorigerans</i> (AM747813)	100.00
C3	<i>Bacillaceae</i>	13CM32Y12 (KC815773)	1422	<i>Bacillus boroniphilus</i> (AB198719)	99.79
C3	<i>Bacillaceae</i>	14CM32Y12 (KC815774)	1422	<i>Bacillus boroniphilus</i> (AB198719)	99.72
C3	<i>Bacillaceae</i>	12CM32Y12 (KC815715)	714	<i>Bacillus cibi</i> (AY550276)	100.00
C3	<i>Bacillaceae</i>	10CM31Y12 (KC815713)	1421	<i>Bacillus halmपालु</i> (X76447)	98.17
C3	<i>Bacillaceae</i>	15CM32Y12 (KC815775)	1402	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.50
C3	<i>Sporolactobacillaceae</i>	11CM31Y12 (KC815714)	1421	<i>Fictibacillus nanhaiensis</i> (GU477780)	99.93
C4	<i>Bacillaceae</i>	23CM44Y12 (KC815782)	1422	[<i>Brevibacterium</i>] <i>frigorigerans</i> (AM747813)	100.00
C4	<i>Bacillaceae</i>	16CM41Y12 (KC815776)	754	<i>Bacillus algicola</i> (AY228462)	99.73
C4	<i>Bacillaceae</i>	20CM41Y12 (KC815779)	1427	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	99.93
C4	<i>Bacillaceae</i>	17CM41Y12 (KC815777)	628	<i>Bacillus drentensis</i> (AJ542506)	98.73
C4	<i>Bacillaceae</i>	22CM44Y12 (KC815781)	1401	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.93
C4	<i>Bacillaceae</i>	24CM44Y12 (KC815783)	755	<i>Bacillus marisflavi</i> (AF483624)	99.47
C4	<i>Bacillaceae</i>	21CM41Y12 (KC815780)	1416	<i>Bacillus simplex</i> (AB363738)	99.93
C5	<i>Bacillaceae</i>	113C52Y12 (KF366697)	1428	[<i>Brevibacterium</i>] <i>frigorigerans</i> (AM747813)	100.00
C5	<i>Bacillaceae</i>	26CM51Y12 (KC815798)	1422	[<i>Brevibacterium</i>] <i>frigorigerans</i> (AM747813)	100.00
C5	<i>Bacillaceae</i>	27CM51Y12 (KC815799)	1422	[<i>Brevibacterium</i>] <i>frigorigerans</i> (AM747813)	99.93

Tablo 1. Devamı...

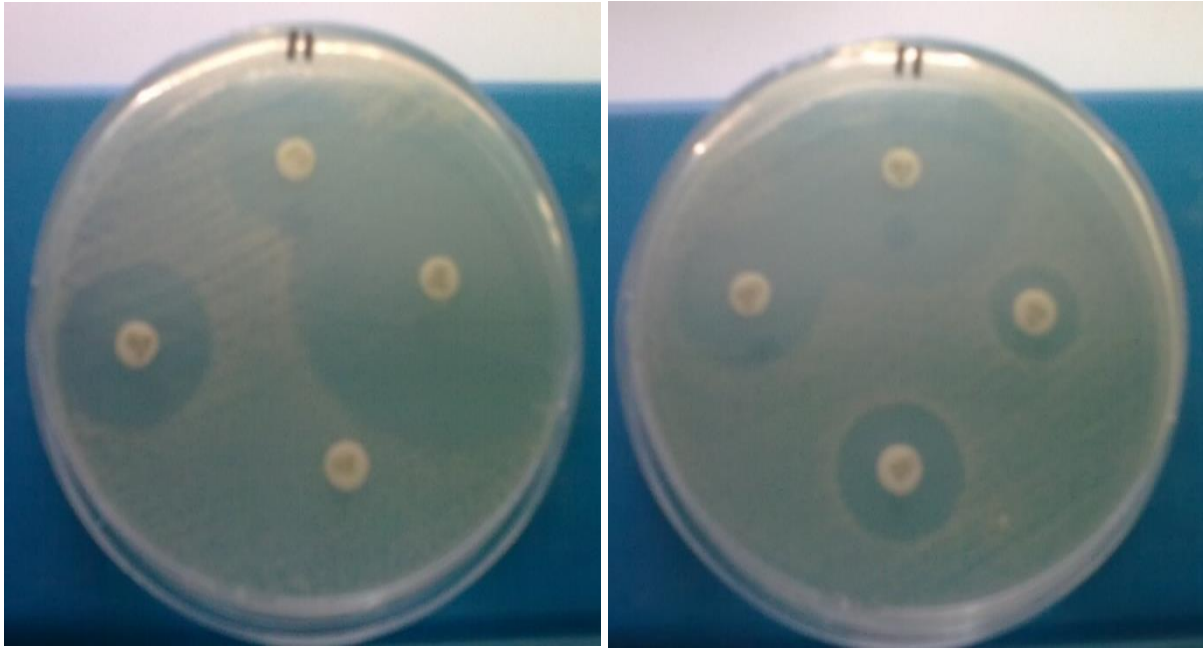
İstasyon	Filogenetik Aile	İzolot kodu (erişim numarası)	Sekans uzunluğu (bp)	En yakın suş (erişim numarası)	Benzerlik (%)
C5	Bacillaceae	109C51Y12 (KF366695)	1422	<i>Bacillus boroniphilus</i> (AB198719)	99.72
C5	Bacillaceae	25CM51Y12 (KC815797)	1420	<i>Bacillus halmopalus</i> (X76447)	99.15
C5	Bacillaceae	112C52Y12 (KF366696)	1133	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.91
C6	Bacillaceae	30CM61Y12 (KC815801)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	99.93
C6	Bacillaceae	31CM66Y12 (KC815802)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	100.00
C6	Bacillaceae	28CM61Y12 (KC815800)	1402	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> (AF541966)	99.43
C6	Bacillaceae	161C65Y12 (KF366698)	1426	<i>Bacillus idriensis</i> (AY904033)	99.93
C7	Bacillaceae	34CM75Y12 (KC815804)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	100.00
C7	Bacillaceae	205C75Y12 (KF366700)	1426	<i>Bacillus idriensis</i> (AY904033)	99.93
C7	Bacillaceae	254C75Y12 (KF366708)	1391	<i>Bacillus safensis</i> (AF234854)	100.00
C7	Bacillaceae	33CM71Y12 (KC815803)	1422	<i>Bacillus simplex</i> (AB363738)	99.93
C7	Bacillaceae	204C75Y12 (KF366699)	1431	<i>Pontibacillus yanchengensis</i> (EF533969)	97.76
C8	Bacillaceae	210C81Y12 (KF366701)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	100.00
C8	Bacillaceae	219C81Y12 (KF366702)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	100.00
C8	Bacillaceae	35CM81Y12 (KC815805)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	99.93
C8	Bacillaceae	36CM82Y12 (KC815806)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	100.00
C8	Bacillaceae	37CM82Y12 (KC815807)	1421	<i>Bacillus niabensis</i> (AY998119)	98.94
C8	Bacillaceae	221C82Y12 (KF366703)	1398	<i>Bacillus safensis</i> (AF234854)	99.93
C9	Bacillaceae	38CM91Y12 (KC815808)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	99.93
C9	Bacillaceae	269C92Y12 (KF366709)	1416	<i>Bacillus algicola</i> (AY228462)	99.93
C9	Bacillaceae	39CM92Y12 (KC815809)	1421	<i>Bacillus algicola</i> (AY228462)	99.86
C9	Bacillaceae	270C92Y12 (KF366710)	1393	<i>Bacillus oceanisediminis</i> (GQ292772)	98.69
C10	Bacillaceae	42CM103Y12 (KC815811)	1422	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (AM747813)	100.00
C10	Bacillaceae	238C101Y12 (KF366705)	1428	<i>Bacillus aryabhatai</i> (EF114313)	100.00
C10	Bacillaceae	41CM101Y12 (KC815810)	689	<i>Bacillus beringensis</i> (FJ889576)	99.56
C10	Bacillaceae	235C101Y12 (KF366704)	1015	<i>Bacillus licheniformis</i> (AE017333)	99.90

Tablo 1. Devamı...

İstasyon	Filogenetik Aile	İzolot kodu (erişim numarası)	Sekans uzunluğu (bp)	En yakın suş (erişim numarası)	Benzerlik (%)
C10	<i>Bacillaceae</i>	43CM103Y12 (KC815812)	1420	<i>Bacillus litoralis</i> (AY608605)	98.87
C10	<i>Bacillaceae</i>	281C102Y12 (KF366711)	985	<i>Bacillus persicus</i> (HQ433471)	98.48
C10	<i>Bacillaceae</i>	242C102Y12 (KF366706)	1428	<i>Bacillus vietnamensis</i> (AB099708)	99.63
C10	<i>Bacillaceae</i>	248C103Y12 (KF366707)	1407	<i>Bacillus vietnamensis</i> (AB099708)	98.09

3.2. Antibiyotik Dirençlilik

Farklı morfolojik özellikteki izolatlar seçilerek farklı antibiyotik tiplerine karşı test edilmiş (Şekil 2), C istasyonlarına kıyasla A ve B istasyonlarından yüksek MAR indeksine (sırasıyla % 19 ve % 14) ek olarak daha yüksek dirençlilik (sırasıyla % 69 ve % 50) elde edilmiştir (Tablo 2). Bu suşların tamamında, yüksek riskli çevre kirliliği kaynaklarını belirten 0.2'den daha yüksek MAR indeksi mevcut olup derin havzalarda ise duyarlılık seviyeleri % 40–67 iken, C istasyonları arasında en yüksek dirençlilik C1 ve C3'de (sırasıyla % 67 ve % 57) ve çoklu dirençlilik ise C1–C4 ve C8 istasyonlarında görülmüştür (Tablo 2).



(a)

(b)

Şekil 2. Doğu Akdeniz'de 10BK9Y10 kodlu izolatın antibiyotik duyarlılık test sonuçları: (a) İlk petride TE, SXT, NA, ETP antibiyotik duyarlılık test sonuçları; (b) İkinci petride CTX, GM, AN, CAZ antibiyotik duyarlılık test sonuçları

Tablo 2. Doğu Akdeniz sedimanlarından izole edilen bakterilerin dirençlilik (R), orta düzey (I), duyarlılık (S) ve yüksek çoklu antibiyotik dirençlilik (MAR) endeks yüzdeleri

İstasyonlar	Boylam (°K)	Enlem (°D)	Derinlik (m)	R (%)	I (%)	S (%)	Yüksek MAR (%)
A1	38°41'48"	27°06'05"	0	67	33	0	33
A2	38°41'52"	27°05'79"	0	100	0	0	0
A3	38°41'29"	27°05'20"	0	67	0	33	0
A4	38°41'15"	27°04'13"	0	50	25	25	0
A5	38°41'38"	27°02'95"	0	75	0	25	38
A6	38°41'45"	26°92'58"	0	50	25	25	0
A7	38°37'85"	26°89'03"	0	57	43	0	29
A8	38°37'37"	26°86'21"	0	83	0	17	17
A9	38°37'07"	26°83'86"	0	86	0	14	29
B1	38°44'00"	26°32'10"	104	38	38	23	0
B2	38°46'58"	26°26'44"	202	44	22	33	0
B3	38°45'66"	26°31'28"	159	56	11	33	22
B4	38°48'23"	26°30'00"	202	50	20	30	10
B5	38°46'58"	26°33'55"	106	60	30	10	40
C1	40°07'05"	25°59'42"	72	67	0	33	33
C2	40°19'32"	26°06'32"	522	25	0	75	25
C3	40°21'69"	25°49'74"	899	57	14	29	14
C4	39°28'27"	25°35'99"	207	25	13	63	13
C5	38°32'35"	25°12'36"	708	17	33	50	0
C6	36°24'84"	27°38'95"	703	0	50	50	0
C7	36°09'83"	27°16'26"	1035	60	0	40	0
C8	36°30'23"	28°31'15"	1235	33	0	67	17
C9	37°02'24"	26°07'14"	416	50	0	50	0
C10	37°33'89"	25°41'60"	661	38	13	50	0

En yüksek dirençlilik toplam 45 suş (toplam suşun % 35'i) ve 28 suş (% 22) ile antibiyotik AN ve ardından CAZ için bulunmuş olup aynı şekilde en yüksek direnç yüzdeleri AN (% 35-83) ve CAZ (% 13-50) antibiyotikleri için A ve B istasyonlarında görülmüştür (Tablo 3). Öte yandan orta düzey ise 18 suş ile antibiyotik AN ve daha sonra 14 suş ile CTX için en yüksek seviyede elde edilmiştir (Tablo 3). Bununla birlikte, ne ETP ne de C antibiyotikleri için dirençlilik bulunmamıştır (Tablo 3). A istasyonları için SXT antibiyotiği, B istasyonları içinse AM, C, ETP, GM antibiyotiklerine karşı orta seviye bulunmazken A istasyonları için C, ETP, GM antibiyotikleri ve B istasyonları için C, ETP, NA, SXT, TE antibiyotiklerine karşı dirençlilik bulunamamıştır (Tablo 3).

Filogenetik analiz yapıldıktan sonra izolatların antibiyotik duyarlılıkları daha detaylı olarak değerlendirilmiştir. *Planococcus*, *Marinobacter*, *Physchobacter* ve *Vibrio* cinsleri tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmalarına karşın *Halobacillus*, *Fictibacillus*, *Lysinibacillus*, *Salinimonas*, *Photobacterium*, *Planococcus*, *Physchobacter* ve *Vibrio* için orta seviye bulunmamıştır. A istasyonlarından *Planococcus* ve *Marinobacter* ile B istasyonlarından *Physchobacter* ve *Vibrio* cinsleri tüm antibiyotiklere duyarlı olmakla birlikte A istasyonlarından *Halobacillus*, *Lysinibacillus*, *Salinimonas*, *Planococcus* ile B istasyonlarından *Photobacterium*, *Physchobacter* ve *Vibrio* cinsleri için orta seviye elde edilmemiştir.

Tablo 3. Doğu Akdeniz istasyonlarından elde edilen izolatların antibiyotik test sonuçları. (Yarıçapı (mm) koyu renk olanlar dirençli, açık renk olanlar orta seviye ve gerisi duyarlıdır. AN: amikasin 30 µg; AM: ampisilin 10 µg; C: kloramfenikol 30 µg; CAZ: seftazidim 30 µg; CTX: sefotaksim 30 µg; ETP: ertapenem 10 µg; GM: gentamisin 10 µg; K: kanamisin 30 µg; NA: nalidiksik asit 30 µg; SXT: trimetoprim/sulfametoksazol 1.25µg/23.75µg; TE: tetrasiklin 30 µg.)

İstasyon	İzolat kodu	AN	AM	C	CAZ	CTX	ETP	GM	K	NA	SXT	TE
A1	16BK1Y10	7	23	18	25	31	25	12	8	22	25	23
A1	55BK1Y10	7	23	11	0	6	18	12	9	14	22	20
A1	66BK1Y10	8	27	18	20	25	25	11	10	21	22	22
A2	17BK2Y10	7	22	16	23	29	23	11	10	21	22	22
A2	81BK2Y10	7	17	15	7	11	18	11	10	14	20	15
A3	61BK3Y10	11	16	11	11	14	14	11	13	10	21	18
A3	77BK3Y10	5	14	15	7	13	20	10	11	13	23	20
A3	82BK3Y10	5	25	22	15	19	23	10	14	20	25	17
A4	8BK4Y10	0	16	15	16	20	20	10	7	10	22	18
A4	41BK4Y10	10	11	12	9	9	20	13	15	9	22	21
A4	50BK4Y10	20	33	25	30	34	27	22	15	33	30	27
A4	70BK4Y10	13	20	20	7	15	21	14	13	15	25	22
A5	18BK5Y10	10	23	16	19	20	21	13	10	16	20	18
A5	19BK5Y10	0	13	13	6	12	8	10	7	0	18	5
A5	20BK5Y10	5	15	12	0	6	18	10	10	12	23	18
A5	45BK5Y10	6	16	17	0	9	20	10	10	11	19	14
A5	47BK5Y10	6	5	20	0	9	21	10	10	13	15	18
A5	60BK5Y10	18	30	20	22	30	27	25	30	18	20	25
A5	62BK5Y10	7	23	17	16	23	22	10	10	17	16	20
A5	75BK5Y10	7	16	12	8	13	20	12	13	13	25	24
A6	1BK6Y10	8	25	17	18	24	20	10	10	16	21	18
A6	4BK6Y10	8	13	8	20	18	17	8	10	10	19	17
A6	6BK6Y10	9	16	18	0	18	12	10	10	0	21	20
A6	22BK6Y10	9	16	18	19	22	20	12	12	16	20	20
A6	30BK6Y10	6	17	11	12	16	15	7	8	11	13	16
A6	34BK6Y10	9	16	20	18	20	20	11	12	12	22	19
A6	36BK6Y10	6	25	18	15	23	23	9	11	18	16	22
A6	38BK6Y10	7	13	15	12	20	21	12	10	8	25	22
A7	3BK7Y10	8	12	17	7	10	20	10	5	20	0	15
A7	23BK7Y10	9	16	7	19	20	19	10	11	15	19	18
A7	24BK7Y10	8	15	17	21	21	20	11	10	14	16	19
A7	26BK7Y10	5	15	9	0	5	18	10	9	12	25	18
A7	37BK7Y10	6	19	15	13	19	21	10	8	15	18	19
A7	42BK7Y10	8	26	20	13	21	23	14	17	17	23	20
A7	72BK7Y10	7	25	17	8	15	27	12	10	20	26	18
A8	14BK8Y10	0	10	10	0	9	17	9	7	0	22	18

Tablo 3. Devamı...

İstasyon	İzolot kodu	AN	AM	C	CAZ	CTX	ETP	GM	K	NA	SXT	TE
A8	43BK8Y10	5	18	18	8	14	20	11	11	12	25	19
A8	57BK8Y10	5	16	15	7	12	19	9	10	11	24	18
A8	58BK8Y10	0	17	16	8	12	19	7	13	13	25	18
A8	64BK8Y10	0	7	10	0	8	21	9	8	9	22	18
A8	65BK8Y10	10	18	17	18	21	20	11	11	11	20	16
A9	10BK9Y10	5	10	7	8	11	12	15	7	0	11	20
A9	33BK9Y10	10	24	21	21	25	20	13	14	15	21	20
A9	35BK9Y10	6	0	15	0	0	23	8	0	13	10	8
A9	39BK9Y10	5	19	15	11	17	22	10	10	14	20	20
A9	63BK9Y10	5	20	16	14	18	25	10	9	14	19	18
A9	80BK9Y10	7	25	21	16	18	22	12	15	19	24	17
A9	84BK9Y10	5	19	17	7	12	12	9	10	0	20	5
B1	1B1Y11	8	22	16	12	16	20	10	10	16	21	18
B1	8B1Y11	6	15	16	15	18	20	10	11	13	16	17
B1	35B1Y11	10	14	16	19	22	20	12	11	13	17	17
B1	57B112Y11	9	18	10	19	18	20	9	10	14	17	17
B1	58B112Y11	8	18	17	11	16	19	10	10	11	20	16
B1	59B112Y11	5	18	15	12	17	19	9	9	14	18	17
B1	60B112Y11	8	18	17	19	21	18	10	12	12	17	17
B1	61B113Y11	0	21	15	7	13	21	9	10	15	25	22
B1	123B121Y11	5	15	17	14	18	19	10	10	16	20	15
B1	128B122Y11	9	16	15	15	19	18	10	10	7	15	17
B1	1BM11Y12	7	21	14	13	17	19	10	9	16	17	17
B1	2BM11Y12	8	22	16	19	22	22	10	11	18	20	18
B1	3BM13Y12	12	21	17	19	20	22	12	16	16	17	16
B2	9B2Y11	9	16	18	16	21	18	10	11	8	18	17
B2	39B2Y11	6	20	11	10	18	21	11	9	18	20	18
B2	133B221Y11	0	17	14	5	10	16	8	7	9	20	18
B2	135B221Y11	7	11	15	10	14	16	10	6	15	17	19
B2	4BM21Y12	9	20	17	18	22	17	11	10	13	18	18
B2	5BM21Y12	5	14	18	8	12	19	10	7	10	15	15
B2	6BM21Y12	8	20	14	15	17	20	10	9	16	18	20
B2	7BM24Y12	10	25	23	18	25	27	9	20	25	24	23
B2	8BM24Y12	10	25	19	15	24	25	12	17	12	23	22
B3	16B3Y11	6	15	15	10	15	18	8	10	15	21	16
B3	17B3Y11	9	18	17	17	20	18	10	12	14	19	17
B3	44B3Y11	5	20	15	18	25	19	8	9	14	19	19
B3	74B313Y11	8	17	17	21	20	21	10	11	14	18	17
B3	78B314Y11	5	22	15	0	5	18	9	10	11	20	17
B3	118B311Y11	0	9	15	0	5	11	5	6	9	18	19
B3	9BM31Y12	13	25	19	22	26	27	15	15	23	22	23

Tablo 3. Devamı...

İstasyon	İzolot kodu	AN	AM	C	CAZ	CTX	ETP	GM	K	NA	SXT	TE
B3	10BM31Y12	6	12	20	8	10	22	10	8	16	6	16
B3	11BM32Y12	9	23	16	18	23	21	10	11	16	19	18
B4	23B4Y11	4	19	16	18	20	19	10	11	7	17	17
B4	45B4Y11	8	25	16	18	22	20	10	16	15	20	17
B4	87B412Y11	8	18	18	19	21	20	10	21	13	18	17
B4	92B413Y11	5	17	18	16	20	20	10	10	15	20	15
B4	147B422Y11	9	18	16	17	21	22	10	10	17	19	20
B4	148B422Y11	9	16	17	16	18	18	10	11	14	18	17
B4	149B422Y11	5	15	16	0	12	18	5	5	16	20	19
B4	12BM41Y12	6	15	18	19	17	15	10	8	17	16	15
B4	13BM45Y12	5	27	20	14	18	20	9	10	21	22	20
B4	14BM45Y12	12	20	18	5	9	17	14	15	16	25	21
B5	51B5Y11	8	17	18	17	20	17	10	12	13	18	16
B5	95B511Y11	8	11	15	10	15	17	8	10	15	17	18
B5	96B511Y11	5	6	17	0	0	19	8	8	14	9	17
B5	105B513Y11	0	11	10	0	9	17	6	6	10	19	16
B5	106B513Y11	7	19	14	0	6	17	10	9	12	21	17
B5	151B521Y11	8	16	16	16	18	18	10	10	13	15	16
B5	152B521Y11	7	23	18	16	20	19	11	9	14	20	19
B5	186B5Y11	6	18	15	17	20	22	8	5	22	20	9
B5	16BM51Y12	9	20	18	19	19	21	11	10	17	13	15
B5	17BM52Y12	6	0	16	9	13	21	8	6	11	14	16
C1	1CM13Y12	17	30	16	12	15	30	12	20	24	20	10
C1	2CM13Y12	8	0	16	0	0	23	0	5	10	0	16
C1	4CM13Y12	0	22	20	11	20	30	7	10	25	20	17
C2	5CM21Y12	9	0	18	9	7	20	6	5	9	0	13
C2	6CM21Y12	10	23	20	12	12	15	9	11	20	14	19
C2	7CM23Y12	16	30	10	12	15	25	10	15	30	26	14
C2	8CM23Y12	11	22	17	17	19	15	11	10	30	20	23
C3	9CM31Y12	17	0	17	9	17	20	12	16	23	15	0
C3	10CM31Y12	0	25	30	12	10	22	5	0	30	30	24
C3	11CM31Y12	0	24	23	10	20	30	5	10	30	20	23
C3	12CM32Y12	15	20	17	9	12	20	12	16	22	17	17
C3	13CM32Y12	17	30	30	28	30	30	13	13	30	30	25
C3	14CM32Y12	12	30	30	20	22	30	7	12	27	30	23
C3	15CM32Y12	11	21	20	20	25	30	8	11	23	25	21
C4	16CM41Y12	13	27	18	25	20	28	10	19	24	25	23
C4	17CM41Y12	11	24	21	22	28	30	8	13	28	30	24
C4	20CM41Y12	12	22	20	20	24	20	9	14	20	17	13
C4	21CM41Y12	17	25	12	0	0	5	12	17	23	10	8
C4	22CM44Y12	12	20	18	17	23	25	7	12	25	22	20

Tablo 3. Devamı...

İstasyon	İzolot kodu	AN	AM	C	CAZ	CTX	ETP	GM	K	NA	SXT	TE
C4	23CM44Y12	17	27	14	10	13	22	14	16	23	14	14
C4	24CM44Y12	14	26	17	20	26	30	9	10	23	30	21
C5	25CM51Y12	9	26	25	18	22	21	0	12	22	17	27
C5	26CM51Y12	18	28	18	9	8	25	13	18	26	15	7
C5	27CM51Y12	16	27	10	8	11	22	14	19	27	15	10
C5	109C51Y12	15	28	22	17	26	24	17	15	21	28	27
C5	112C52Y12	16	30	18	23	26	26	18	11	21	22	20
C5	113C52Y12	13	18	16	10	14	23	15	15	12	23	22
C6	28CM61Y12	11	22	19	20	26	22	10	10	23	22	18
C6	30CM61Y12	16	28	16	11	15	22	11	15	25	15	8
C6	31CM66Y12	16	21	15	11	15	25	14	17	25	12	8
C6	161C65Y12	13	21	15	10	15	20	13	14	18	24	22
C7	33CM71Y12	16	31	14	15	13	26	13	18	26	25	13
C7	34CM75Y12	14	30	25	19	21	30	10	15	25	28	5
C7	204C75Y12	30	14	18	33	35	19	32	6	8	21	18
C7	205C75Y12	12	16	17	10	12	21	13	12	16	21	21
C7	254C75Y12	6	21	13	0	5	19	10	11	14	24	19
C8	35CM81Y12	16	29	21	12	16	25	15	19	25	14	10
C8	36CM82Y12	11	0	15	6	10	17	10	12	20	7	0
C8	37CM82Y12	20	17	21	17	22	16	15	15	17	13	24
C8	210C81Y12	14	17	18	14	15	24	16	15	12	23	17
C8	219C81Y12	13	18	20	10	11	23	16	16	15	24	22
C8	221C82Y12	7	20	13	0	7	18	10	13	13	23	18
C9	38CM91Y12	16	25	12	7	10	18	13	16	23	12	5
C9	39CM92Y12	12	30	23	27	30	22	7	11	19	30	28
C9	269C92Y12	16	28	18	22	29	24	10	18	23	24	23
C9	270C92Y12	14	24	21	10	15	21	13	18	11	25	22
C10	41CM101Y12	17	25	16	14	30	22	7	11	17	19	15
C10	42CM103Y12	16	29	16	0	0	21	10	15	27	15	10
C10	43CM103Y12	16	25	25	14	21	21	20	19	14	30	18
C10	235C101Y12	0	15	13	6	11	20	10	12	13	22	24
C10	238C101Y12	8	18	18	19	20	19	10	11	14	20	18
C10	242C102Y12	9	23	19	13	18	22	10	10	19	23	20
C10	248C103Y12	9	15	17	15	15	15	10	13	14	18	20
C10	281C102Y12	16	30	22	19	26	28	18	18	20	30	28

4. TARTIŞMA

16S rRNA klon kütüphanelerinin karşılaştırmalı analizine dayanan son araştırmalarda, Doğu Akdeniz'in derin sedimanlarında hakimiyeti *Acidobacteria* oluşturduğu bildirilmiştir [14,15]. Öte yandan 16S rRNA gen sekanslarına göre Girit Denizi'ndeki derin sedimanlardan çoğunlukla *Bacillus* cinsini içeren *Firmicutes* filumu ve daha sonra *Actinobacteria* sınıfı kültüre dayalı yöntemlerle izole edilmiştir [16]. Benzer şekilde bu çalışmada Doğu Akdeniz sedimanlarından kültüre dayalı yöntemlerle

Gammaproteobacteria sınıfına ek olarak *Firmicutes* filumu baskın şekilde izole edilmiştir. Doğu Akdeniz sedimanları toplam bakteri sekansına göre % 3 *Firmicutes* içermekte olup [14], *Gammaproteobacteria* Girit Denizi sedimanları için sedimanların hidrostatik basınç inkübasyonu ile egemen hale gelerek kültüre bağlı çalışmalarda çoğunluğu oluşturmuştur [16]. Bu çalışmada ise *Gammaproteobacteria* çoğunlukla Ege Denizi'nin sığ sedimanlarından elde edilmiştir.

Girit Denizi sedimanlarından elde edilen *Actinobacteria* sınıfına karşın [16] bu çalışmada özellikle Ege Denizi'nin sığ A ve B istasyonlarından *Firmicutes* filumu ve *Gammaproteobacteria* sınıfına ait çok çeşitli cinsler elde edilmiştir. Girit Denizi sedimanlarından *Bacillus*, *Halobacillus* ve *Staphylococcus* olarak yalnızca 3 cins izole edilmişken [16], bu çalışmada ise Doğu Akdeniz sedimanlarından *Bacillales* sırasına mensup üyelerden çoğunlukla *Bacillus* türleri ile *Exiguobacterium*, *Fictibacillus*, *Halobacillus*, *Lysinibacillus*, *Oceanobacillus*, *Planococcus*, *Pontibacillus*, *Staphylococcus* ve *Virgibacillus* cinslerine ait çok çeşitli türler izole edilmiştir. Ayrıca, *Gammaproteobacteria* sınıfı için, yine Girit Denizi sedimanlarından *Alteromonas*, *Marinobacter*, *Microbulbifer*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas* ve *Srenotrophomonas* cinsleri [16], bu çalışmada ise *Halomonas*, *Marinobacter*, *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Photobacterium*, *Salinimonas* ve *Vibrio* cinsleri elde edilmiştir.

Bu çalışmada A istasyonlarına ait en sığ sedimanlarda ötrofikasyonu artıran nehir ve kanalizasyon girişi gibi sürekli karasal ve antropojenik etkiler içeren dinamik çevresel faktörlerden dolayı yüksek taksonlarda en yüksek filogenetik çeşitlilik olduğu bulunmuştur. Dahası, bu girdilerin iç bölgede daha yüksek etkisi olduğundan orta ve dış körfezin iç körfezden daha yüksek bakteri çeşitliliğine sahip olduğu görülmüştür. Buna karşılık Kuzey Ege Denizi'ndeki C9, C10 ve Güney Ege Denizi'ndeki C6, C7 derin ve oligotrofik istasyonlar yüksek hidrostatik basınç, oksijen ve besin maddelerinin tüketilmesi nedeniyle düşük taksonlarda daha fazla çeşitlilik göstermekte olup bakteri topluluğu bileşimi, zor çevre koşullarına uyum sağlamıştır. Bununla birlikte bu istasyonlarla karşılaştırıldığında, Karadeniz'in daha düşük derinlik ve daha fazla besin girdisi nedeniyle Kuzey Ege Denizi'ndeki C1 istasyonu için bakteri aile seviyesindeki çeşitlilik artmıştır. Öte yandan B istasyonları optimum çevresel koşulları sebebiyle düşük ve yüksek taksonlarda optimum bakteri çeşitliliği göstermiştir.

Bakteriyel özellikler üzerindeki çevresel etkilerin bir göstergesi olarak antibiyotik direncindeki değişim verilmiştir. Doğu Akdeniz'de önceden yapılan bir çalışmada antibiyotik direnci ile coğrafi farklılıklar arasındaki ilişki, Suriye'nin kıyı bölgelerinde dirençlilik Türkiye ve Lübnan kıyılarından daha fazla olarak (sırasıyla toplam izolatların % 48, % 38 ve % 31'i) gösterilmiştir [17]. Ayrıca, Türk kıyılarında sınırlı sayıda yapılan araştırmalarda kıyusal deniz suyu ve sedimanları için yüksek MAR indeksi [17–19] yanı sıra Marmara Denizi kıyılarında [19–21], Ege Denizi ve Kuzey Levantin Denizi'nde dirençli bakterilerin olduğu bildirilmiştir [17]. Benzer şekilde bu çalışmada Ege Denizi B istasyonları ve Doğu Akdeniz'de farklı bakteri çeşitliliği seviyelerine sahip olan derin C istasyonlarıyla karşılaştırıldığında en yüksek dirençlilik ve MAR indeksi, nehir ve kanalizasyon boşaltımının yanı sıra turizm kaynaklı, endüstriyel, tarımsal ve deniz faaliyetleri gibi antropojenik faaliyetlerden etkilenen İzmir Körfezi'ndeki A istasyonları kıyı sedimanlarından elde edilmiştir.

Bu çalışmada suşlar coğrafi farklılıklara sahip istasyonlardan izole edildiğinden bakteri topluluklarının karşılaştırılmaları yapılmıştır. Ege Denizi'ndeki B istasyonlarında hem daha düşük hem de daha yüksek taksonlarda yüksek bakteri çeşitliliği optimum seviyede bulunmuşken, yüksek taksonlarda yüksek çeşitliliğe sahip olan İzmir Körfezi sahilindeki istasyonlara (A istasyonları) kıyasla Doğu Akdeniz'deki derin havzalarda (C istasyonları) ise düşük taksonlarda daha yüksek çeşitlilik saptanmıştır. Türk denizlerindeki filogenetik çalışmaların azlığı düşünüldüğünde çok çeşitli bakteriler izole edilmekle birlikte identifikasyon, sekonder metabolit üretimi gibi daha ileri çalışmalar gözönüne alındığında elde edilen 153 suşun % 12'sini içeren yeni taksonların varlığı da bu çalışmanın önemini artırmıştır. Ayrıca yüksek taksonlarda yüksek bakteri çeşitliliğine sahip kıyı sedimanlarında en yüksek antibiyotik dirençliliğin bulunması gibi bölgesel faktörlerle izolatların fizyolojik ve filogenetik sonuçları arasındaki

etkileşimin gösterilmesi, Türk denizlerinde tür-alan ilişkilerinin ortaya konması bakımından da bu çalışmanın önemini vurgulamıştır.

TEŞEKKÜR

RV/K Piri Reis mürettebatı ve ayrıca COST 110Y193 no'lu proje ile Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, 2010.KB.FEN.014 no'lu proje ile Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kurumlarına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Giovannoni S, Rappe M. Evolution, diversity and molecular ecology of marine prokaryotes. In: Kirchman DL, editor. Microbial ecology of the oceans. New York: Wiley-Liss Inc, 2000, pp. 47-84.
- [2] Hagström A, Pommier T, Rowher F, Simu K, Stolte W, Svensson D, et al. Use of 16S ribosomal DNA for delination of marine bacterioplankton species. *Appl Env Microbiol* 2002; 68: 3628–3633.
- [3] McIntyre A. A global census of marine microbes. In: McIntyre A, editor. Life in the world's oceans: diversity, distribution and abundance. New York: Wiley-Blackwell, 2010.
- [4] Kummerer K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere* 2009; 75: 417–434.
- [5] Kummerer K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II. *Chemosphere* 2009; 75: 435–441.
- [6] Tanhua T, Hainbucher D, Schröder K, Cardin V, Alvaez M, Civitarese G. The Mediterranean Sea system: a review and an introduction to the special issue. *Ocean Sci Discuss* 2013; 10: 581–617.
- [7] Mincer TJ, Jensen PR, Kauffman CA, Fenical W. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *Appl Env Microbiol* 2002; 68: 5005–5011.
- [8] Gontag EA, Fenical W, Jensen PR. Phylogenetic diversity of Gram-positive bacteria cultured from marine sediments. *Appl Env Microbiol* 2007; 73 (10): 3272–3282.
- [9] Hayakawa M, Sadaka T, Kayaïura T, Nonomura H. New methods for the highly selective isolation Micromonospora and Microbispora. *J Ferment Bioeng* 1991; 72: 320-326.
- [10] Galatenko OA, Terekhova LP. Isolation of antibiotic-producing actinomycetes from soil samples exposed to UV-light. *Antibiotic I Khimioter* 1990; 11: 6–8.
- [11] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28: 2731–2739.
- [12] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard – eleventh edition. Wayne, Pennsylvania, USA, 2012.
- [13] Stackebrandt E, Ebers J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiol Today* 2006; 33: 152–155.

- [14] Polymenakou PN, Lampadariou N, Mandalakis M, Tselepides A. Phylogenetic diversity of sediment bacteria from the southern Cretan margin, Eastern Mediterranean Sea. *Syst Appl Microbiol* 2009; 32: 17–26.
- [15] Kouridaki I, Polymenakou PN, Tselepides A, Mandalakis M, Smith KL. Phylogenetic diversity of sediment bacteria from deep Northeastern Pacific Ocean: a comparison with the deep Eastern Mediterranean Sea. *Int Microbiol* 2010; 13: 143–150.
- [16] Gärtner A, Blümel M, Wiese J, Imhoff JF. Isolation and characterization of bacteria from the Eastern Mediterranean deep sea. *Antonie Leeuwenhoek* 2011; 100: 421–435.
- [17] Altug G, Cardak M, Ciftci PS, Gurun S, Saad AA, Ibrahim A, Fakhri M. Distribution and antibiotic resistance of heterotrophic and indicator bacteria in the coastal areas of Turkey, Syria and Lebanon. *Rapp Comm Int mer Medit* 2010; 39: 333.
- [18] Akkan T, Kaya A, Dincer S. Antibiotic levels and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, Iskenderun Organized Industrial Zone. *JABS* 2013; 7 (1): 10–14.
- [19] Sivri N, Ozbayram G, Karatut Z. Antibiotic resistance of enteric bacteria isolated from southwestern Istanbul coast (Turkey). *Rapp Comm Int mer Medit* 2010; 39: 402.
- [20] Kimiran-Erdem A, Arslan EO, Yurudu NOS, Zeybek Z, Dogruoz N, Cotuk A. Isolation and identification of Enterococci from seawater samples: Assessment of their resistance to antibiotics and heavy metals. *Environ Monit Assess* 2007; 125: 219–228.
- [21] Cardak M, Altuğ G, Ay M, Erol O. Distribution of antibiotic resistance and the presence of vancomycin-resistance genes (*vanA* and *vanB*) in Enterobacteriaceae isolated from the Sea of Marmara, the Canakkale Strait and the Istanbul Strait, Turkey. *Oceanol Hydrobiol St* 2016; 45 (2): 182–190.