

Deniz Ekosisteminde Bakteriye Roller; Türkiye Denizleri Örneği

Gülşen Altuğ^{1,*}, Mine Çardak², Pelin S. Çiftçi Türetken¹, Sevan Gürün¹, Samet Kalkan³

¹Deniz Biyolojisi Bölümü, Su Bilimleri Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Bahççılık Teknolojisi Bölümü, Çanakkale Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye

³Su Ürünleri Temel Bilimler Bölümü, Su Ürünleri Fakültesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize, Türkiye

Makale Tarihi

Gönderim: 16.10.2019

Kabul: 27.08.2020

Yayın: 15.12.2020

Araştırma Makalesi

Öz – Sucul ekosistemlerde bakterilerin organik maddelerin bozunma süreçlerinde ve besin yenilenmesinde önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Bu sebeple bakteriyel fonksiyonların tanımlanması için çevresel koşulların değişkenliğine bağlı olarak bakteriyel metabolik cevabın farklılığını ortaya koymak deniz ekosisteminin bakteriyolojik verilerle tanımlanması açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada 2000-2016 yılları arasında Türkiye Denizlerinden farklı çalışmalar kapsamında aseptik koşullarda toplanan deniz suyu örneklerinden izole edilen ve stoklanan Gram negatif, Gram pozitif ve Bacilli bakteri izolatlarının metabolik özellikleri bakterilerin substratlara karşı verdikleri reaksiyon açısından değerlendirilerek, coğrafik olarak heterotrofik aktivite farklılıkları tanımlanmıştır. Ayrıca metabolik olarak aktif bakteri frekansının bölgesel farklılıkları değerlendirilmiştir. Deniz suyu örneklerinde kültür edilebilir bakterilerin izolasyonu yayma plak metodu kullanılarak yapılmış, saflaştırılan izolatların metabolik tanımlamaları için VITEK2 Compact 30 mikro tanımlama sistemi kullanılmıştır. Elde edilen bakterilerin substratlara karşı reaksiyonları ve bakteriyel metabolik aktivasyon düzeylerine yönelik veriler Türkiye Denizlerinde bakteriyel oluşumların çevresel faktörlere maruz kalış şekline göre karakterize olmuştur. Kıyısız alanlarda karbonhidrat metabolizması ile ilgili enzimleri üreten ayrıca lipolitik ve proteolitik enzim aktivitesine sahip Bacilli, Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Actinobacteria, Flavobacteria ve Sphingobacteria sınıflarına ait izolatların yüksek düzeyde bulunması karasal kaynaklı insan aktivitesinin kıyısız alanlarda baskısının bakteri metabolizmasına bağlı olarak tanımlanabileceğini göstermiştir. Bu çalışma ile 2000-2016 yılları arasında farklı çalışmalarımızla Türkiye Denizlerinden izole edilen bakterilerin enzim profillerine bağlı metabolik özelliklerinin karşılaştırılması yapılarak deniz alanlarımızın bakteriyel karakterleri karşılaştırılmış ve coğrafik alanlara göre ekosistem fonksiyonlarına yönelik veriler sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler – Türkiye Denizleri, bakteriyel çeşitlilik, heterotrofik aktivite

Bacterial Roles in the Marine Ecosystem; A Sample Case of Turkish Marine Bacteria

¹Department of Marine Biology, Faculty of Aquatic Sciences, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Department of Fisheries Technology, Çanakkale School of Applied Sciences, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Turkey

³Department of Marine Biology, Faculty of Fisheries and Aquatic Sciences, Recep Tayyip Erdoğan University, Rize, Turkey

Article History

Received: 16.10.2019

Accepted: 27.08.2020

Published: 15.12.2020

Research Article

Abstract – In aquatic ecosystems, bacteria are known to play an important role in the degradation processes of organic substances and in nutritional regeneration. For this reason, it is important to define the functioning of the marine ecosystem to determine the difference of bacterial metabolic response depending on the variability of environmental conditions for the identification of bacterial functions. In this study, metabolic properties of Gram-negative, Gram-positive and Bacilli bacteria isolated and stocked from sea water samples, collected in aseptic conditions, between 2000 and 2016 were evaluated and heterotrophic activity differences were defined geographically, according to the reaction of bacteria against substrates. In addition, regional differences in metabolically active bacterial frequency were evaluated. VITEK2 Compact 30 micro identification system was used for metabolic identification of purified isolates. The data on the reactions of bacteria against substrates and the levels of bacterial metabolic activation were characterized by the way bacterial formations were exposed to environmental factors in the Turkish Seas. The high levels of isolates belonging to Bacilli, Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Actinobacteria, Flavobacterium and Sphingobacterium classes producing enzymes related to carbohydrate metabolism in coastal areas and also having lipolytic and proteolytic enzyme activity showed that the pressures created by terrestrial human activities in coastal areas can be defined depending on bacterial metabolism. With this study, the metabolic properties of bacteria isolated from Turkish Seas were compared with enzyme profiles and the bacterial characters of our marine areas were compared and data regarding ecosystem functions were provided according to geographical areas.

Keywords – Turkish Seas, bacterial biodiversity, heterotrophic activity

¹ galtug@istanbul.edu.tr*

² mcardak@comu.edu.tr

³ pciftci@istanbul.edu.tr

⁴ sevanguzun@hotmail.com

⁵ samet.kalkan@erdogan.edu.tr

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author

1. Giriş

Denizel alanlarda; besin zinciri üzerinde önemli rolleri olan ve ekosistemin bir parçası olarak bulunan bakteriler ortamda çözünmeden kalan bir çok bileşiği başka organizmalar tarafından değerlendirilebilecek formlara dönüştürmektedir (Azam ve Cho, 1987; Heissenberger vd.,1996). “Deniz Bakteriyolojisi” çalışmaları başlangıçta halk sağlığı ile ilgilenen bir alan iken zamanla çevresel faktörlere bağlı olarak bakterilerin doğal düzeylerinde olan değişikliklerin ve ekosistem/insan sağlığı ile ortamın ekonomik kullanılabilirlik kalitesinde oluşabilecek olumsuzlukların belirlendiği çalışmalarla literatüre girmiştir. Son yıllarda yeni teknolojilerin ve metotların gelişmesi ile bakteriyolojik çeşitlilik, bakteriyel metabolik özelliklerin belirlenmesi, biyotransformasyon, besin zinciri üzerindeki rollerin belirlenmesi, biyofilm oluşumu, biyoteknolojik alanlardaki potansiyelin belirlendiği çalışmalar mikrobiyal oşinografi verileri ile birlikte kullanılmaya başlanmış ve bu konuda önemli bilgilere ulaşılmıştır (Taylor vd., 2007; Bolhuis ve Cretoiu, 2016; Kumar vd., 2019; Spang ve Offre, 2019; Ullah vd., 2019; Catão vd., 2019; Antunes vd., 2019).

Denizel çevrelere organik maddelerin girişi, o organik maddelerin özelliklerine bağlı olarak mikrobiyal parçalanmaya karşı farklılıklar göstermekte ve mikrobiyal popülasyonların (heterotrofik bakteriler, siyanobakteriler mantarlar, mayalar ve hücre dışı enzim üreten mikro algler gibi) süksesyonunu oluşturmaktadır (Pinhassi vd., 1997; Arnosti vd., 2005; Caruso, 2010; La Ferla vd., 2005). Ortamdaki organik substrat ile bakteri popülasyonlarının dağılımı arasında önemli ilişkiler vardır. Bakteriyel popülasyonların bolluğunun, fonksiyonunun ve aktivitesinin belirlenmesi, denizel mikrobiyal ekolojinin temelini oluşturan çalışmalardır. Denizel ortamda bakteri düzeylerinin belirlenmesi için akış spektrofotometrisi, mikroskopik sayımlar, MPN, kültür edilebilir koloni sayım analizleri ve moleküler teknikler gibi çeşitli yöntemler mevcuttur (Böllmann ve Martiensen, 2020; Lebaron vd., 1999). Ribozomal veya genomik DNA'ya dayanan PCR tekniklerin ekolojik çalışmalar için büyük bir dezavantajı elde edilen sonuçların "ölü DNA" (hücre dışı DNA), ölü hücrelerin DNA'sı, canlı fakat kültür edilemeyen hücrelere (VBNC) ait olup olmadığı bilinmemesi ve hücrelerin metabolik olarak aktif olduğunu ayırt edilememesidir. Moleküler yöntemler ile yapılan çalışmalar, bakteri çeşitliliğinin saptanmasında önemli gelişmeler sağlamakla beraber, doğal alanlarda kültür edilebilen bakterilerin bakteriyel biyomas içinde baskın olan türler olduğu diğer bir deyişle süksesyonun ekosistem koşulları ile "temsil edilebilirliği" gösterilmiştir. Bakterilerin sahip olduğu metabolik özellikleri tanımlamak bu nedenle kültür edilebilen formların önemini korumaktadır (Rehnstam vd., 1993; Pinhassi ve Hagström, 1997).

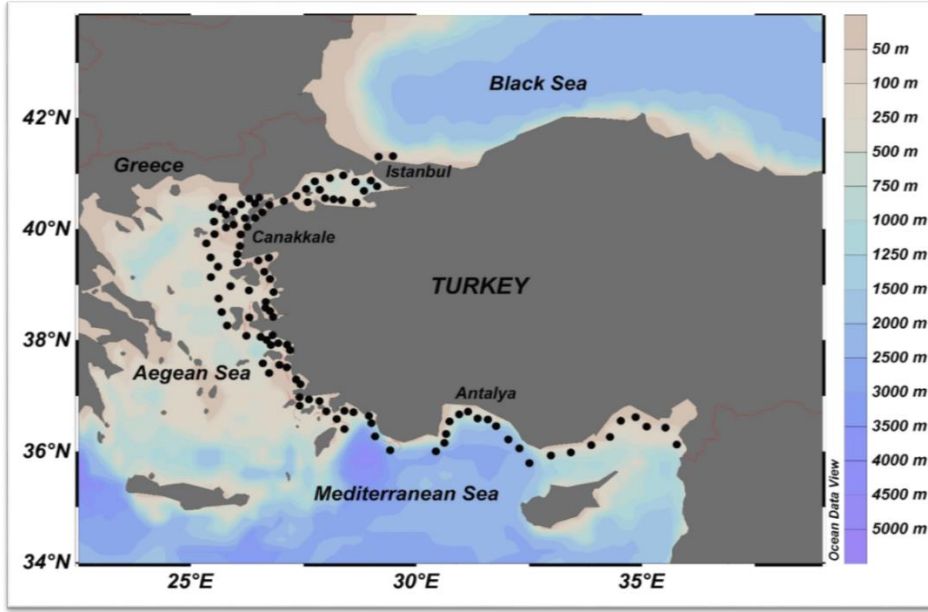
Bakterilerin organik madde döngüsündeki rolleri denizel ekosistemlerin sürdürülebilir işleyişini sağlar ve insan için gerekli temel besin ve ürünleri sunar (Kremen, 2005; Azam ve Malfatti, 2007; Carlson vd., 2007; Gasol vd., 2008). Bakterinin metabolik fonksiyonlarına yönelik çeşitlilik verileri; spesifik bakteriyel metabolik yolları açıklamak, kirlilik karakterini tanımlamak, biyoteknolojik çalışmalara dayanak oluşturacak ve ekosistem işleyişine katkıda bulunacak temel veriler sağlamaktadır. Bu sebeplerle deniz bakteriyolojisi çalışmaları dünyada önem kazanmıştır.

Ülkemizde farklı denizel alanlarda yapılan bakteriyolojik çalışmaların değerlendirildiği verilere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada bakteriyel metabolik aktivite düzeyinin belirlenerek ortama ekolojik olarak katkı sağlayan bakteri düzeyi verilerine ulaşılması amacı ile 2000-2016 yılları arasında Türkiye Denizlerinin farklı alanlarından (Batı Karadeniz, İstanbul Boğazı, Marmara Denizi, Çanakkale Boğazı, Ege Denizi, Akdeniz) toplanan deniz suyu örneklerinden izole edilen bakterilerin substratlara karşı reaksiyonları ve bakteriyel metabolik aktivasyon düzeyleri verileri kullanılarak deniz alanlarının kendi içinde bölgesel bakteriyolojik yapıları değerlendirilmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Örneklem alanı

2000-2016 yılları arasında farklı denizel alanlardan (İstanbul Boğazı, Marmara Denizi, Çanakkale Boğazı, Ege Denizi, Akdeniz) Nansen (Hydro-bios, Almanya) örneklem şişesi (%10 HCl ile yıkanmış) ile alınan deniz suyu örnekleri aseptik koşullarda 500 ml kahverengi steril cam şişelere aktarılmıştır. Örneklem Alanları, istasyon sayıları, örneklem derinlikleri ve örneklem sıklıkları Şekil 1 ve Tablo 1 'de detaylandırılmıştır.



Şekil 1. Örneklem Alanları

Tablo 1

Örneklem Alanları ve örneklem dönemleri

Örneklem Alanı	Örneklem Alanı	İstasyon sayısı	Örnek Alınan Derinlik	Örneklem Sıklığı
İstanbul Boğazı	2006-2009	Karadeniz Girişi (1 istasyon)	0-30 cm	Mevsimsel
			10 m	
		Marmara Denizi Çıkışı (1 istasyon)	20 m	Mevsimsel
			50 m	
Marmara Denizi (İstanbul İli Kıyısısal Alanı)	2000-2016	33 istasyon	0-30 cm	Mevsimsel
Güney Marmara Denizi	2005-2007	9 istasyon	0-30 cm	Mevsimsel
			25 m	
Çanakkale Boğazı	2006-2009	Boğaz Girişi (1 istasyon)	50 m	Mevsimsel
			0-30 cm	
			10 m	
			20 m	
			40 m	

Örnekleme Alanı	Örnekleme Alanı	İstasyon sayısı	Örnek Alınan Derinlik	Örnekleme Sıklığı
		Boğaz Çıkışı (1 istasyon)	0-30 cm 25 m 50 m	Mevsimsel
Kuzey Ege Denizi	2005-2007	13 istasyon	0-30 cm 10 m 50 m 100 m	Mevsimsel
Gökçeada Çevresi	2012-2013	19 istasyon	0-30 cm	Mevsimsel
Ege Denizi	2012-2013	12 istasyon	0-30 cm 25 cm 50 cm	Mevsimsel
Akdeniz	2007-2008	9 istasyon 13 istasyon	0-30 cm	Mevsimsel

2.2. Kültür Edilebilir Bakteri Analizleri

Örnek alınacak şişenin ve örnekleme şişesinin musluğunun alev altında tutulması ile oluşturulan aseptik şartlar altında alınan deniz suyu örneklerinin uygun dilasyonları yayma plak yöntemi kullanılarak Marine Agar'a (Difco) yayılmıştır. Petri kapları 22 ± 0.1 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Gelişen koloniler sayılmış ve 100 ml deniz suyu örneğinde koloni oluşturan birim (KOB/100 ml) / heterotrofik aerobik bakteri (HAB) düzeyi olarak kaydedilmiştir (Austin, 1988).

2.3. İzolatların Metabolik Özellikleri

Marine Agar'a yapılan ekim sonrası farklı renk ve morfolojiler gösteren koloniler seçilmiştir. Seçilen kolonilerin her birinin Marine Agar'a ekimleri yapılarak 18 saatlik kültürleri ile saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Saf kolonilerin Gram boyama testleri yapılmıştır. Gram boyama yapılan saf koloniler Gram negatif, fermentasyon yapabilen ve fermentasyona yol açmayan basiller (GN), Gram pozitif, kok ve spor oluşturmeyen basiller (GP) ve Gram pozitif, spor oluşturan basiller (BCL) olarak tanımlandıktan sonra VITEK Gram negatif, Pozitif ve Bacilli ticari kartları kullanılarak VITEK 2 COMPACT (bioMerieux, France) mikro tanımlama cihazında analiz edilmiştir. Cihazın tanımlama sisteminde karbon kaynağı kullanma, enzimatik aktivite, inhibisyon ve dirençlilik özellikleri testleri yer almaktadır. Her bir test için belirlenen reaksiyon sonuçları cihazda (-) ve (+) olarak gözükmemektedir (Pincus, 2010).

2.3.1. Gram Negatif Bakterilere Uygulanan Biyokimyasal Testler

ADO: Adonitol; **AGAL:** Alfa-Galaktosidaz; **AGLTp:** Glutamil Arilamidaz pNA; **AGLU:** Alfa-Glikosidaz; **APPA:** Ala-Phe-Pro-Arilamidaz; **BAlap:** Beta-Alanin arilamidaz pNA; **BGAL:** Beta-Galaktosidaz; **BGLU:** Beta-Glikosidaz; **BGUR:** Beta-Glukuronidaz; **BNAG:** Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz; **BXYL:** Beta-Ksilosidaz; **CIT:** Sitrat (Sodyum); **CMT:** Kurmarat; **dCEL:** D-Selobiyoz; **dGLU:** D-Glikoz; **dMAL:** D-Maltoz; **dMAN:** D-Manitol; **dMNE:** D-Mannoz; **dSOR:** D-Sorbitol; **dTAG:** D-Tagatoz; **dTRE:** D-Trehaloz; **ELLM:** ELLMAN; **GGAA:** Glu-Gli-Arg-Arilamidaz; **GGT:** Gama-Glutamil-Transferaz; **GlyA:** Glisin Arilamidaz; **H2S:** H2S oluşumu; **ILATk:** L-Laktat alkalileşmesi; **IARL:** L-Arabitol; **IHSa:** L-Histidin asimilasyonu; **ILATa:** L-Laktat asimilasyonu testleri; **IMLTa:** L-Malat asimilasyonu; **LDC:** Lizin Dekarboksilaz; **LIP:** Lipaz; **MNT:** Malonat; **NAGA:** Beta-N-Asetil-Galaktozaminidaz; **O129R:** O/129 Direnci (comp.vibrio.); **ODC:** Ornitin Dekarboksilaz; **OFF:** Fermentasyon/ Glikoz; **PHOS:** Fosfataz; **PLE:** Palatinoz; **ProA:** L-Prolin Arilamidaz; **PyrA:** L-Pirolidonil-Arilamidaz; **SAC:** Sakkaroz/Sükroz; **SUCT:** Sükkinat alkalileşmesi; **TyrA:** Tirosin Arilamidaz; **URE:** Üreaz; **5KG:** 5-Keto-D-Glukonat testleri GN kart kullanılarak yapılan biyokimyasal testlerdir.

2.3.2. Bacili İzolatlara Uygulanan Biyokimyasal Testler

AGAL: Alfa-Galaktosidaz; **AGLU:** Alfa-Glikosidaz; **AlaA:** Alanin ARİLAMİDAZ; **AMAN:** Alfa-Mannosidaz; **APPA:** Ala-Phe-Pro Arilamidaz; **AspA:** L-Aspartat Arilamidaz; **BGAL:** Beta-Galaktosidaz; **BGLU:** Beta-Glikosidaz; **BMAN:** Beta-Mannosidaz; **BNAG:** Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz; **BXYL:** Beta-Ksilosidaz; **CDEX:** Siklodekstrin; **dGAL:** D-Galaktoz; **dGLU:** D-Glikoz; **dMAN:** D-Manitol; **dMLZ:** D-Melezitoz; **dmNE:** D-MAnnoz; **dRIB:** D-Riboz; **dTAG:** D-Tagatoz; **dtRE:** D-Trehaloz; **ELLM:** ELLMAN; **ESC:** Eskülin hidrolizi; **GlyA:** Glisin Arilamidaz; **GLYG:** Glikojen; **INO:** myo-İnositol; **INU:** İnulin; **IRHA:** L-Ramnoz; **KAN:** Kanamisin Direnci; **LeuA:** Lösin Arilamidaz; **LysA:** L-Lizin-Arilamidaz; **MdG:** Metil-A-D-Glukopiranosid asitleşmesi; **MdX:** Metil-D-Ksilosid; **MTE:** Maltotrioz; **NaCl 6.5%:** %6,5 NaCl'de çoğalma; **NAG:** N-Asetil-D-Glikozamin; **OLD:** Oleandomisin Direnci; **PHC:** Fosforil Kolin; **PheA:** Fenilalanin Arilamidaz; **PLE:** Palatinoz; **POLYB_R:** Polimiksin_B Direnci; **ProA:** L-Prolin Arilamidaz; **PSCNa:** Putresin asimilasyonu; **PVATE:** Piruvat; **PyrA:** L-Prolidonil-Arilamidaz; **TTZ:** Terazilim Kırmızısı; **TyrA:** Tirosin Arilamidaz testleri BCL kart kullanılarak yapılan biyokimyasal testlerdir.

2.3.3. Gram Pozitif İzolatlara Uygulanan Biyokimyasal Testler

ADH1: Arginin Dihidrolaz 1; **ADH2s:** Arginin Dihidrolaz 2; **AGAL:** Alfa-Galaktosidaz; **AGLU:** Alfa-Glikosidaz; **AlaA:** Alanin Arilamidaz; **AMAN:** Alfa-Mannosidaz; **AMY:** D-Amigdalın; **APPA:** Ala-Phe-Pro Arilamidaz; **AspA:** L-Aspartat Arilamidaz; **BACI:** Basitrasin Direnci; **BGAL:** Beta-Galaktosidaz; **BGAR:** Beta-Galaktopiranosidaz; **BGUR:** Beta-Glukuronidaz; **BGURr:** Beta Glukuronidaz; **CDEX:** Siklodekstrin; **dGAL:** D-Galaktoz; **dmAL:** D-Maltoz; **dMAN:** D-Manitol; **dmNE:** D-Mannoz; **dRAF:** D-Rafinoz; **dRIB:** D-Riboz; **dsOR:** D-Sorbitol; **dtRE:** D-Trehaloz; **dXYL:** D-Ksiloz; **ILATk:** L-Laktat alkalileşmesi; **LAC:** Laktoz; **LeuA:** Lösin Arilamidaz; **MBdG:** Metil-B-D-Glukopiranosid; **NaCl6.5:** %6,5 NaCl'de çoğalma; **NAG:** N-Asetil-D-Glikozamin; **NOVO:** Novobiosin Direnci; **O129R:** O/129 Direnci (comp.vibrio.); **OPTO:** Optokin Direnci; **PHOS:** Fosfataz; **PIPLC:** Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; **POLYB:** Polimiksin B Direnci; **ProA:** L-Prolin Arilamidaz; **PUL:** Pullulan; **PyrA:** L-Prolidonil-Arilamidaz; **SAC:** Sakkaroz/Sükroz; **SAL:** Salisin; **TyrA:** Tirosin Arilamidaz; **URE:** Üreaz testleri GP kart kullanılarak yapılan testlerdir.

2.4. Metabolik Olarak Aktif Bakteri Frekansı

Sağlıklı bir hücre yapısını tanımlayan kapsül görünümlü eksopolisakkarit yapıya sahip bakteri sayımı için kullanılacak lamalar önce %70 Etanol, %1 HCl solüsyonu içeren kaplarda 24 saat bekletildikten sonra kurutulmuştur. Kurutma işlemi sonrası lamalar önce ılık (60°C) %0.1 jelatin solüsyonuna ardından %0.01 CrK(SO₄)₂.12H₂O solüsyonuna daldırılmıştır. 0.2 µm por çapına sahip filtrelerden geçirilen deniz suyu örnekleri lamlara ters çevrilerek yerleştirilmiş ve analize kadar (genellikle örnekleme tarihinden sonra 3 hafta içinde) -20 °de saklanmıştır. Analiz sırasında çözdürülen örnekler Congo Red (%0.25) ve Maneval boya ile boyanmış ve mikroskopta kapsüllü/kapsülsüz bakteriler sayılmıştır (Plante ve Shriwer, 1998; Stoderegger vd., 2001).

2.5. Değişken Çevresel Parametreler

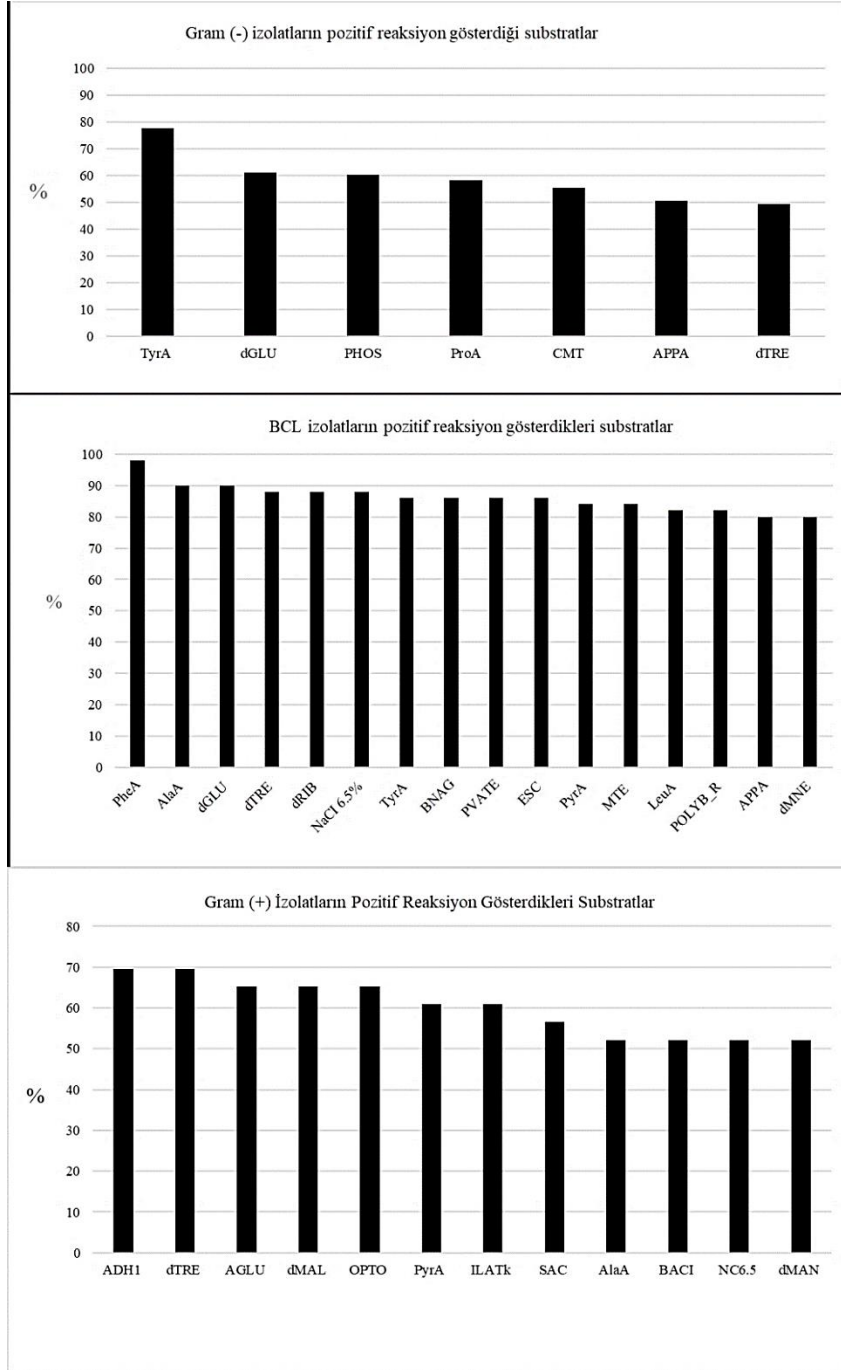
Örnekleme sırasında her istasyona ait değişken çevresel parametreler (sıcaklık, tuzluluk, pH ve doymuş oksijen) yerinde multiparametre (YSI 556) ve CTD (SBE -9 SeaCAT Profiler) ile ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

2.6. İstatistiksel Analizler

Değişken çevresel parametrelerle metabolik aktif bakteri yüzdesi verileri arasındaki farklılıklar P <0.05 anlamlılık düzeyinde Pearsons korelasyon analizi yapılarak belirlenmiştir. Veri analizleri SPSS yazılım paketi 13.0 kullanılarak yapılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Gram negatif, Gram pozitif ve Bacilli izolatlarının substratlara karşı %50'nin üzerinde pozitif reaksiyon gösterdikleri biyokimyasal özellikler Şekil 2'te gösterilmiştir.



Şekil 2. Gram negatif, Gram pozitif ve Bacilli izolatların %50 ve üzerinde pozitif reaksiyon gösterdikleri substratlar

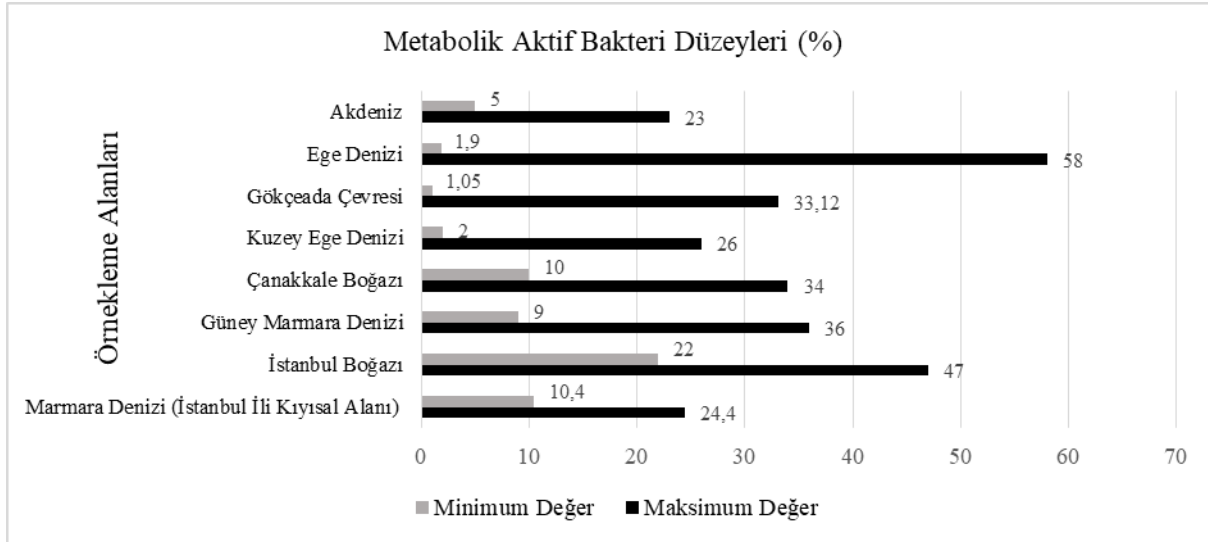
Gram Negatif, Bacilli ve Gram Pozitif bakterilerin tanısı için toplam 90 adet test substratı kullanılmıştır. AGAL, AGLU, APPA, BGAL, dMAL, dMNE, PyrA ve TyrA testleri her bakteri grubu (Gram Negatif, Bacilli ve Gram Pozitif) için uygulanan ortak testlerdir.

Gram Negatif izolatların pozitif reaksiyon gösterdiği substratlar ise, APPA, CMT, dGLU, dTRE, PHOS, ProA ve TyrA olarak 7 adet; BCL izolatların pozitif reaksiyon gösterdikleri substratlar AlaA, APPA, BNAG, dGLU, dMNE, dRIB, dTRE, ESC, LeuA, MTE, NaCl, PheA, POLYB_R, PVATE, PyrA ve TyrA olarak 16 adet ve nihayet Gram Pozitif izolatların reaksiyon gösterdikleri substratlar ise ADH1, AGLU, AlaA, BACI, dMAL, dMAN, dTRE, ILATk, NaCl, OPTO, PyrA ve SAC olarak 12 adettir.

5KG, ADH2s, ADO, AGAL, AGLTp, AMAN, AMY, AspA, Balap, BGAL, BGAR, BGLU, BGUR, BGURe, BMAN, BXYL, CDEX, CIT, dCEL, dGAL, dMLZ, dRAF, dSOR, dTAG, dXYL, ELLM, GGAA, GGT, GylA, GLYG, H2S, IARL, IHISa, ILATa, IMLTa, INO, INU, IRHA, KAN, LAC, LDC, LIP, LysA, MBdG, MdG, MdX, MNT, NAG, NAGA, NOVO, O129R, ODC, OFF, PHC, PIPLC, PLE, POLYB, PSCNa, PUL, SAL, SUCT, TTZ ve URE substratlarında ise her üç grup için reaksiyonlar %50'nin üzerinde gözlenmemiştir.

Trehaloz, bakteri, mantar, bitki ve memelilerden izole edilen, indirgeyici olmayan bir disakkarit glikozdur. Canlılarda karbon kaynağı, karbonhidrat deposu veya stres koruma bileşiği olarak çeşitli amaçlarla kullanılabilir (Wolf vd., 2003). dTRE substratına karşı her üç grupta da %50'nin üzerinde değerde pozitif reaksiyon görülmesi bu durum ile ilişkilendirilmiştir. Tam bir yapı gösteren hasarsız/sağlıklı ve kapsülü özel tekniklerle gözlemlenen bir bakteri hücrelerinin varlığı spesifik çevresel koşullar ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Metabolik olarak aktif bakteri düzeyinin bilinmesi ortamın besin tuzu düzeyleri ve ekolojik işleyişi hakkında bilgi sahibi olmamızı da sağlamaktadır. %50 'nin altında tespit edilen pozitif reaksiyonların ortamda bulunan besin tuzunun miktarı ve çeşitliliği ile ilişkilendirilmiştir.

2000-2016 tarihleri arasında farklı denizel alanlardan deniz suyu örneklerinde tespit edilen metabolik olarak aktif bakteri düzeylerinin maksimum ve minimum değerleri Şekil 3'te özetlenmiştir.



Şekil 3. 2000-2016 yılları arasında farklı denizel alanlarda deniz suyu örneklerinde tespit edilen metabolik olarak aktif bakteri değerleri (%).

En düşük metabolik aktif bakteri frekansı (%1.05) Gökçeada kıyısız alan örneklerinde en yüksek Ege Denizi kıyısız alanında (%58) tespit edilmiştir. Bunu İstanbul Boğazı ve Marmara Denizi takip etmiştir. Bu çalışma verileri bakteriyel metabolik aktivite düzeyinin yüksek olduğu alanların Gökçeada kıyısız alanından daha fazla kirlilik baskısı altında olduğunu göstermiştir.

Heterotrofik bakterilerin gelişimi için organik besin tuzlarını kullanan ve bu nedenle organik materyalin dağılımının düzenlenmesinde önemli rolleri olan bakteriler olarak tanımlanmakta ve planktonik komunitenin en önemli bileşeni olduğu bilinmektedir (Zaccone vd., 2002). Heterotrofik bakteri düzeylerinin bir mililitre deniz suyunda 10^3 ile 10^6 koloni oluşturan birim arasında olduğu rapor edilmiştir (Austin, 1988). 2000-2016 yılları arasında bu çalışma istasyonları ile aynı istasyonlarda yapılan çalışmalarımızda deniz suyundan elde

edilen en yüksek ve en düşük heterotrofik aerobik bakteri bulgularını (Tablo 2) bu çalışma verileri ile ilişkilendirdiğimizde istasyonlara göre heterotrofik bakteri düzeyleri ile metabolik aktif bakteri frekansının benzerlik gösterdiği görülmektedir. Metabolik aktivite oranının yüksek bulunduğu denizel alanların ortamdaki besin elementlerinin artışı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Yüksek heterotrofik bakteri düzeyleri çalışılan alanın trofik düzeyi ile ilişkilendirilebilir. Bu durum Marmara Denizi ve İstanbul Boğazı'nda besin tuzları girdilerine bağlı olarak toplam aerobik heterotrofik bakteri sayısının diğer istasyonlara göre daha fazla olduğunu, heterotrofik bakteri artışının da, bu çalışmada elde edilen bakteriyel metabolik aktivite verilerinde gösterildiği gibi, aktivite frekansını arttırdığını göstermektedir. Bakteriler sığ ve kıyıya yakın alanlarda, açık deniz alanlarına göre organik madde girdisi nedeni ile gelişmeleri için daha uygun koşulları bulurlar (Pomeroy vd., 1984). Yüzeysel sularında bakteriyel metabolik aktivite düzeyinin sediment üstünden ve 10-20 m arasında alınan deniz suyu örneklerine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Azam ve Cho., 1987; Heissenberger vd., 1996). Bu çalışmada en yüksek metabolik aktif bakteri düzeyi Ege Denizi ve İstanbul Boğazı örneklemelerinde tespit edilmiştir. Bu sonuçlar turizm faaliyetleri (Ege Denizi), evsel, endüstriyel kirlenme ve gemicilik faaliyetlerinin (İstanbul Boğazı) yoğun olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu değerlendirmelerin yapıldığı farklı deniz alanlarında tespit ettiğimiz minimum ve maksimum heterotrofik aerobik bakteri (HAB) düzeyleri Tablo 2 de özetlenmiştir.

Tablo 2

Farklı deniz alanlarında tespit edilen minimum ve maksimum heterotrofik aerobik bakteri (HAB) düzeyleri

Örnekleme alanı	HAB Değerleri (Log 10 KOB/100ml)		Referans
	Mak.	Min.	
Akdeniz	7.70	6.48	Altuğ vd., 2010a
Ege Denizi	9.18	3.40	Kalkan ve Altuğ, 2015
Gökçeada Çevresi	7.94	3.84	Türetken Çiftçi ve Altuğ, 2016
Kuzey Ege Denizi	5.88	5.70	Altuğ vd., 2011
Çanakkale Boğazı	5.68	2.76	Çardak vd., 2015
Güney Marmara Denizi	6.40	6.20	Altuğ vd., 2011
İstanbul Boğazı	9.93	6.04	Çardak vd., 2015
Kuzey Marmara (İstanbul İli Kıyısal Alanı)	9.26	4.60	Altuğ vd., 2010a, Altuğ vd., 2012 a,b

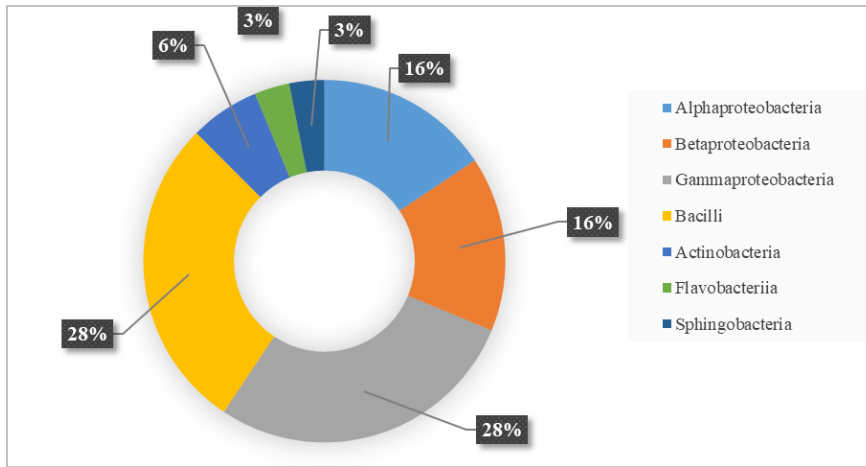
KOB: Koloni Oluşturan Birim, Mak.: Maksimum, Min.: Minimum

2000-2016 yılları arasında gerçekleştirilen ve Tablo 2'de özetlenen veriler içinde en yüksek heterotrofik aerobik bakteri düzeyi 9.93 Log 10 KOB/100 ml olarak İstanbul Boğazı'nda kaydedilirken, en düşük heterotrofik aerobik bakteri sayısı 2.76 Log 10 KOB/100ml olarak Çanakkale Boğazı'nda kaydedilmiştir.

Türkiye Denizlerinin farklı alanlarından izole edilen bakterilerin metabolik özelliklerine yönelik testler (Şekil 2) karbonhidrat metabolizması yüksek bulunan bakteri izolatlarının çoğunlukta olduğunu göstermiştir. Bu bulgular geçmişte yapılan çalışmalarımız ile elde edilen tür kompozisyonu verileri ile değerlendirilmiştir. Tüm alanlarda izolatların %28'i Bacilli ve Gammaproteobacteria sınıfına ait bulunurken bunu %16 ile Alphaproteobacteria ve Betaproteobacteria sınıfı izlemiştir. İzolatların %6'sı Actinobacteria, %3'ü Sphingobacteria ve %3'ü Flavobacteria sınıfına ait bulunmuştur. En sık rastlanan bakteri izolatlarının Enterobacteriaceae (%62) familyasına ait olması çalışma alanlarında evsel ve endüstriyel kaynaklı kirlilik baskısı altında olduğunu göstermiştir. Ayrıca Bacillaceae (%60), Staphylococcaceae (%36) ve

Pseudomonaceae (%21) familyalarına ait türler de sık rastlanan bakteri familyaları olarak kaydedilmiştir (Altuğ vd., 2016). Bakteri izolatlarına ait sınıfların dağılım oranı Şekil 4' te detaylandırılmıştır.

Bacillaceae familyasına ait olan türlerin ağır metallere kirlenmiş alanların iyileştirilmesi, doğal karatenoid ve biyo-ilaçların doğal kaynağı olarak kullanılması gibi önemli biyoteknolojik uygulamalar için potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (Gawande vd., 1999; Batra vd., 2002; Narayanan ve Ramana, 2012; Lailaja ve Chandrasekaran, 2013). Staphylococcaceae familyasına ait olan türlerin biyodizel üretimi, antimikrobiyal peptid üretimi, metal iyonlarının degradasyonu ve enzim üretimi gibi alanlarda kullanımı (Ilhan vd., 2004; Mosbah vd., 2005; Kim vd., 2013a; Kim vd., 2013b; Kim vd., 2010; Mosbah vd., 2006) ve Pseudomonaceae familyasına ait türlerin biyosümfaktan ve enzim üretimi, azo boyaların giderimi gibi endüstriyel alanlarda potansiyel kullanımı olduğu bilinmektedir (Benincasa vd., 2002a; Benincasa vd., 2002b; Chang vd., 2001; Yeh ve Chang, 2004).



Şekil 4. Bakteri türlerinin ait oldukları sınıfların yüzde dağılımı (Altuğ vd., 2016)

Denizel ortamlarda bakteri düzeyine etki eden faktörler; güneş ışığı, su sıcaklığı, adsorbsiyon, hidrostatik basınç, virüs ve protozoa tarafından parçalanma, besin eksikliği, besin fazlalığı, mikrobiyal rekabet ve kirlenmelerin muhtemel toksik etkileri olarak özetlenebilir. Bununla birlikte farklı fizikokimyasal ve biyolojik faktörlerin mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini ve enzim profillerini düzenlediği kaydedilmiştir (Borrego vd., 1983; Cornax vd., 1990). Deniz ortamında bulunan organik maddelerin farklı fraksiyonlarının farklı bakteriler tarafından parçalandığı bilinmektedir (Fuhrman vd., 1993). Bu durum doğal çevrelerde koşullara göre farklı mikrobiyal süksesyonlardan oluşan dinamik bir yapıya sebep olmakta ve bize "özel çevresel koşullar" ile ilgili "yerli bakteri izolatlarının" belirli davranış ya da yeteneğini tanımlamak ve anlamak için fırsat sunmaktadır.

Çalışmamızda tespit edilen Gram negatif izolatların %78'inin aminoasit olan tirozin yıkımında yer aldığı %61'inin glikozu %60'ının fosfatı parçaladığı, Gram pozitif izolatların ise %70'inin doğal disakkaritleri ve arjinin aminoasidini parçalayabildiği tespit edilmiştir. Bacilli sınıfına ait izolatların %80 - %98 aralığında pozitif reaksiyon verdiği biyokimyasal özellikler izolatların deniz ortamında karbonhidrat ve protein metabolizması ile ilgili yeterli enzim aktivitesinin olduğunu gösterirken, ortamda çözünmüş karbonhidrat miktarının bakteri metabolizması ile ilişkili olduğu göz önüne alınarak organik madde baskısını düşündürmüştür. Bu değerlendirmelerin yapıldığı istasyonlarda tespit edilen çevresel değişken parametrelerin ortalama değerleri aşağıdaki Tablo 3 de özetlenmiştir.

Tablo 3

Farklı deniz alanlarında tespit edilen çevresel değişken parametrelerin ortalama değerleri

Örnekleme alanı	Sıcaklık	Tuzluluk	pH	ÇÖ	Referans
Akdeniz	23.90	30.24	8.16	8.13	Altuğ vd., 2010a
Ege Denizi	23.90	29.32	8.16	8.10	Kalkan ve Altuğ 2015
Gökçeada Çevresi	22.85	35.43	8.19	8.64	Türetken Çiftçi ve Altuğ, 2016
Kuzey Ege Denizi	19.16	35.72	8.91	6.83	Altuğ vd., 2011
Çanakkale Boğazı	15.39	33.73	8.25	8.29	Çardak vd., 2015
Güney Marmara Denizi	15.0	24.5	8.30	8.30	Altuğ vd., 2011
İstanbul Boğazı	14.04	24.77	8.24	3.68	Çardak vd., 2015
Kuzey Marmara (İstanbul İli Kıyısal Alanı)	24.60	26.49	8.29	1.74	Altuğ vd., 2010a, Altuğ vd., 2012 a,b

Değişken çevresel parametreler ile metabolik aktif bakteri yüzdesi verileri arasındaki Pearsons korelasyon analizine ait bulgular Tablo 4 'te verilmiştir. Sıcaklık, tuzluluk ve çözülmüş oksijen değerleri ile metabolik aktif bakteri yüzdesi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmişken pH değeri ile anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Örnekleme alanları ve dönemli farklı olmasına rağmen metabolik aktif bakteri yüzde değerlerinin çevresel parametrelerden etkilenişlerinin benzer olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4

Pearson 's Korelasyon analizi Sonuçları

Örnekleme alanı	Sig. değeri			
	Sıcaklık	Tuzluluk	pH	ÇÖ
Akdeniz	.023	.001	.033	.003
Ege Denizi	.001	.001	.525	.000
Gökçeada Çevresi	.021	.001	.945	.001
Kuzey Ege Denizi	.004	.001	.745	.004
Çanakkale Boğazı	.003	.001	.818	.003
Güney Marmara Denizi	.001	.001	.138	.001
İstanbul Boğazı	.000	.001	.548	.000
Kuzey Marmara (İstanbul İli Kıyısal Alanı)	.002	.001	.345	.002

*. Korelasyon 0.05 düzeyinde anlamlıdır (2-tailed). **. Korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlıdır (2-tailed).

4. Sonuçlar

Ülkemizin farklı denizel alanlarında izlenen bölge ve süre için bakterilerin metabolik özelliklerinin substratlara verdikleri cevap dikkate alınarak bakterilerin maruz kaldıkları çevresel koşullar değerlendirilmiştir. Metabolik olarak aktif bakteri düzeylerine yönelik veriler sistem döngülerinde yer alan yani ortama ekolojik olarak katkı sağlayan bakterilerin bilinmesi açısından veriler sağlamıştır. Deniz alanlarımızın bakteriyolojik karakteri farklı açılardan karşılaştırılmış Marmara Denizi, İstanbul Boğazı, Ege Denizinin (Kuzey Ege bölümü hariç) heterotrofik metabolik aktivite ve pozitif enzim reaksiyonları bakımından diğer alanlara göre daha fazla organik maddeye maruz kaldığını göstermiştir. Metabolik aktivitenin yüksek bulunması sistem döngülerine yönelik sağlıklı bakteriyolojik katkının olduğunu göstermiştir. Bu çalışma ile Türkiye Denizleri bakterilerinin bölgelerin kendi içinde sahip olduğu metabolik özellikleri tür kompozisyonu

verileri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiş, deniz alanlarımızın bakteriyel karakterleri coğrafik alanlara göre karşılaştırılarak ekosistem fonksiyonlarına yönelik veriler sağlanmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın Güney Marmara ve Kuzey Ege’de gerçekleşen bölümü TÜBİTAK 105Y039, Ege Denizi Güllük Körfezi’nde gerçekleşen bölümü TÜBİTAK 110Y243, İstanbul İli kıyısız alanında gerçekleşen bölümü İstanbul Üniversitesi BAP Birimi BAP-2016-22244 ve Gökçeada çevresinde gerçekleşen bölümü İ.Ü. BAP Birimi 17653 numaralı projelerle desteklenmiştir.

Yazar Katkıları

Gülşen Altuğ: Çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde, örnekleme işlemlerinde, analizlerin değerlendirilmesi ve makale yazımında yer almıştır.

Mine Çardak: Sahada örneklemede çalışmalarında ve bakteriyolojik analizlerde yer almış ve çalışmanın istatistiksel analizlerini yapmıştır.

Pelin S. Çiftçi Türetken: Sahada örneklemede çalışmalarında ve bakteriyolojik analizlerde yer almış makale yazımına katkı sunmuştur.

Sevan Gürün: Sahada örneklemede çalışmalarında ve bakteriyolojik analizlerde yer almıştır.

Samet Kalkan: Sahada örneklemede çalışmalarında ve bakteriyolojik analizlerde yer almıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

- Altuğ G., Çardak M., Gürün S., Çiftçi P.S. (2010a). Biodiversity of culturable aerobic heterotrophic bacteria in the coastal areas of Syria, Lebanon and the offshore area in the Northern Aegean Sea. The International Conference on Biodiversity of the Aquatic Environment. Towards a Diverse and Sustainable World. Syria. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/263007348_Biodiversity_of_Culturable_Aerobic_Heterotrophic_Bacteria_in_the_Coastal_Areas_of_Syria_Lebanon_and_the_offshore_Area_in_the_Northern_Aegean_Sea
- Altuğ G., Gürün S., Çiftçi Türetken P.S., Hulyar O. (2010b). *Marmara Denizi, İstanbul İli kıyısız alanında patojen bakteriler ve bakteriyolojik kirlilik*. Marmara Denizi 2010 Sempozyumu, İstanbul, Türkiye, 25-26 Eylül 2010, no.32, ss.422-429. Erişim adresi: http://tudav.org/wp-content/uploads/2018/04/content_Marmara_Denizi_2010_Sempozyumu.pdf
- Altuğ G., Aktan Y., Oral M., Topaloğlu B., Dede A., Keskin Ç., İşinibilir M., Çardak M., Çiftçi P.S. (2011). Biodiversity of the northern Aegean Sea and southern part of the Sea of Marmara, Turkey. *Marine Biodiversity Records*, 4, 1-17. <https://doi.org/10.1017/S1755267211000662>
- Altuğ G., Çardak M., Çiftçi P. S. Gürün, S. (2012a). First records and micro-geographical variations of culturable heterotrophic bacteria in an inner sea (the Sea of Marmara) between the Mediterranean and the Black Sea, Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 37, 184-90. <https://doi.org/10.3906/biy-1112-21>
- Altuğ G., Gürün S., Çardak M., Çiftçi P. S., Kalkan S. (2012b). The occurrence of pathogenic bacteria in some ships' ballast water incoming from various marine regions to the Sea of Marmara, Turkey. *Marine Environmental Research*, 81, 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.08.005>
- Altuğ G., Saraç A., Ergüner B., Yüceltürk B., Yüksel B., Sağiroğlu M.S., ve ark. (2016). *Karadeniz'in oksik, suboksik ve anoksik zonlarının metagenomik örneklerinin mikrobiyal çeşitliliği Sinop, Türkiye*, Türkiye Deniz Bilimleri Kongresi, Ankara, Türkiye, 31 Mayıs - 3 Haziran 2016, ss.98-99.
- Antunes J., Leao P., Vasconcelos V. (2019). Marine biofilms: diversity of communities and of chemical cues. *Environmental Microbiology Reports*, 11(3), 287-305. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12694>
- Arnosti C., Durkin S., Jeffrey W.H. (2005). Patterns of extracellular enzyme activities among pelagic marine microbial communities: implications for cycling of dissolved organic carbon. *Aquatic Microbial*

- Ecology*, 38, 135–45. <http://doi.org/10.3354/ame038135>
- Austin B. (1988). *Marine Microbiology*. Cambridge University Press, Cambridge, 0 521 32252 9.
- Azam, F., Cho, B.C. (1987). *Bacterial utilization of organic matter in the sea*, In: Ecology of microbial communities. (Fletcher M. Ed.) Cambridge University Press, Cambridge, 261–268.
- Azam, F., Malfatti, F. (2007). Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 5, 782–791. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1747>
- Batra N., Singh J., Banerjee U.C., Patnaik P.R., Sobti R.C. (2002). Production and characterization of a thermostable β -galactosidase from *Bacillus coagulans* RCS3. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 36, 1–6. <https://doi.org/10.1042/ba20010091>
- Benincasa M., Contiero J., Manresa M.A., Moraes I.O. (2002a). Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI growing on soapstock as the sole carbon source. *Journal of Food Engineering*, 54, 283–288. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00214-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00214-X)
- Benincasa M., Abalos A., Oliveira I., Manresa A. (2002b). Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonie van Leeuwenhoek*, 85, 1–8. <https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000020148.45523.41>
- Bolhuis H., Cretoiu M.S. (2016). What is so special about marine microorganisms? Introduction to the marine microbiome-from diversity to biotechnological potential. In: Stal L., Cretoiu M. (eds) *The Marine Microbiome*. Springer, Cham
- Borrego, J.J., Arrabal, A., De Vicente, A., Gomez, L.F., Romero, P. (1983). Study of microbial inactivation in the marine environment. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 55(3), 297–302. Erişim adresi: <https://www.jstor.org/stable/pdf/25041851.pdf>
- Böllmann, J., Martienssen, M. (2020). Comparison of different media for the detection of denitrifying and nitrate reducing bacteria in mesotrophic aquatic environments by the most probable number method. *Journal of Microbiological Methods*, 168, 105808. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105808>
- Catão ECP, Pollet T, Misson B, Garnier C, Ghiglione J-F, Barry-Martinet R, Maintenay M, Bressy C and Briand J-F. (2019). Shear Stress as a Major Driver of Marine Biofilm Communities in the NW Mediterranean Sea. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1768. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01768>
- Caruso G. (2010). Leucine aminopeptidase, beta-glucosidase and alkaline phosphatase activity rates and their significance in nutrient cycles in some coastal Mediterranean sites. *Marine Drugs*, 8, 916–940. <https://doi.org/10.3390/md8040916>
- Carlson, C.A., Del Giorgio, P.A., Herndl, G.J. (2007). Microbes and the dissipation of energy and respiration: from cells to ecosystems. *Oceanography*, 20, 89–100. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2007.52>
- Chang J. S., Chou C., Lin Y. C., Lin P. J., Ho J. Y., Hu T. L. (2001). Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola*. *Water Research*, 35(12), 2841–2850. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(00\)00581-9](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(00)00581-9)
- Cornax, R., Morinigo, M.A., Romero, P., Borrego, J.J. (1990). Survival of pathogenic microorganisms in sea water. *Current Microbiology*, 20, 293–298. <https://doi.org/10.1007/BF02091908>
- Çardak M., Altug G., Çiftçi P.S. (2015). Variations of culturable and metabolically active bacteria in a stratified water column: the example of Istanbul and Çanakkale Straits, Turkey. *International Journal of Environmental Research*, 9(4), 1333–1340. <https://doi.org/10.22059/IJER.2015.1025>
- Fuhrman, J.A., McCallum, K., Davis A.L. (1993). Phylogenetic diversity of marine microbial communities from the Atlantic and Pacific oceans. *Applied Environmental Microbiology*, 59, 1294–1302. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC182080/>
- Gasol J.M., Pinhassi J., Alonso-Saez L., Ducklow H., Herndl G.J., Koblížek M., Labrenz M., Luo Y., Morán X.A.G., Reinthaler T., Simon M. (2008). Towards a better understanding of microbial carbon flux in the sea. *Aquatic Microbial Ecology*, 53, 21–38. <https://doi.org/10.3354/ame01230>
- Gawande B. N., Goel A., Patkar A. Y., Nene S. N. (1999). Purification and properties of a novel raw starch degrading cyclomaltodextrin glucanotransferase from *Bacillus firmus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51, 504–509. <https://doi.org/10.1007/s002530051424>
- Heissenberger A., Leppard G.G., Herndl J.G. (1996). Relationship between the intracellular integrity and morphology of the capsular envelope in attached and free-living marine bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, 62, 4521–4528. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1389004/pdf/hw4521.pdf>
- Ilhan S., Nourbakhsh M.N., Kiliçarslan S., Ozdag H. (2004). Removal of Chromium, lead and copper ions from industrial waste waters by *Staphylococcus saprophyticus*. *Turkish Electronic Journal of*

- Biotechnology, 2, 50–57. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/228635777_Removal_of_chromium_lead_and_copper_ions_from_industrial_waste_waters_by_Staphylococcus_saprophyticus
- Kalkan S., Altuğ G. (2015). Bio-indicator bacteria & environmental variables of the coastal zones: The example of the Gulluk Bay, Aegean Sea, Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 95, 380–384. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.017>
- Kim P.I., Sohng J. K., Sung C., Joo H.S., Kim E.M., Yamaguchi T., Park D., Kim B.G. (2010). Characterization and structure identification of an antimicrobial peptide homininin, produced by *Staphylococcus hominis* MBBL 2–9. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 399, 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.07.024>
- Kim A. H., Kim S., Park S., Kim H. K. (2013a). Biodiesel production using cross-linked *Staphylococcus haemolyticus* lipase immobilized on solid polymeric carriers. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 85-86, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2012.08.012>
- Kim S., Song J. K., Kim H. K. (2013b). Cell surface display of *Staphylococcus haemolyticus* L62 lipase in *Escherichia coli* and its application as a whole cell biocatalyst for biodiesel production. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 97, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.07.017>
- Kremen C. (2005). Managing ecosystem services: what do we need to know about their ecology. *Ecology Letters*, 8, 468–79. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00751.x>
- Kumar R., Mishra A., Jha B. (2019). Bacterial community structure and functional diversity in subsurface seawater from the western coastal ecosystem of the Arabian Sea, India. *Gene*, 701, 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.02.099>
- La Ferla R., Azzaro, F., Azzaro, M., ve ark. (2005). Microbial processes contribution to carbon biogeochemistry in the Mediterranean sea: spatial and temporal scale variability of activities and biomass. *Journal of Marine System*, 57, 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2005.05.001>
- Lailaja V. P., Chandrasekaran M. (2013). Detergent compatible alkaline lipase produced by marine *Bacillus smithii* BTMS 11. *World Journal of Biotechnology*, 29, 1349–1360. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1298-0>
- Lebaron, P., Bernard, L., Baudart, J., Courties, C. (1999). *The ecological role of VBNC cells in the marine environment*, Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology Bell CR, Brylinsky M, Johnson-Green P (eds) Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada.
- Mosbah H., Sayari A., Mejdoub H., Dhouib H., Gargouri Y. (2005). Biochemical and molecular characterization of *Staphylococcus xylosus* lipase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1723, 282– 291. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.03.006>
- Mosbah H., Sayari A., Bezzine S., Gargouri Y. (2006). Expression, purification, and characterization of his-tagged *Staphylococcus xylosus* lipase wild-type and its mutant Asp 290 Ala. *Protein Expression and Purification*, 47, 516–523. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2005.11.013>
- Narayanan A., Ramana K.V. (2012). Polyhydroxybutyrate production in *Bacillus mycoides* DFC1 using response surface optimization for physico-chemical process parameters. *3 Biotech*, 2(4), 287–296. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0054-8>
- Pincus D. H. (2010). *Microbial identification using the bioMerieux VITEK 2 system*, *Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods*, Michael, J.M., Ed.; PDS/DHI. Erişim adresi: https://store.pda.org/TableOfContents/ERMM_V2_Ch01.pdf
- Pinhassi J., U. L. Zweifel Hagström, Å. (1997). Dominant marine bacterioplankton species found among colony-forming bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 3359–3366. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC168641/pdf/633359.pdf>
- Plante C.J., Shriwer A.G. (1998). Differential lysis of sedimentary bacteria by *Arenicola marina* L., examination of cell wall structure and exopolymeric capsules as correlates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 229, 35–52. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(98\)00039-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(98)00039-2)
- Pomeroy L. R., Hanson R. B., McGillivray P. A., Sherr B. F., Kirchman D., Deibel D. (1984). Microbiology and chemistry of fecal products of pelagic tunicates: rates and fates. *Bulletin of Marine Science*, 35, 426–439. Erişim adresi: <https://www.ingentaconnect.com/contentone/umrsmas/bullmar/1984/00000035/00000003/art00015>
- Rehnstam A.S., Backman S., Smith D.C., Azam F., Hagström A. (1993). Blooms of sequence-specific culturable bacteria in the sea. *FEMS Microbiology Ecology*, 102, 161-166.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1993.tb05806.x>

- Spang A., Offre P. (2019). Towards a systematic understanding of differences between archaeal and bacterial diversity. *Environmental Microbiology Reports*, 11(1), 9–12. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12701>
- Stoderegger K., Herndl G.J. (2001). Visualization of the exopolysaccharide bacterial capsule and its distribution in oceanic environments. *Aquatic Microbial Ecology*, 26, 195–199. <https://doi.org/10.3354/ame026195>
- Taylor M.W., Radax R., Steger D., Wagner M. (2007). Sponge-associated microorganisms: Evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(2), 295–347. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-06>
- Türetken Çiftçi P.S., Altuğ G. (2016). Bacterial pollution, activity and heterotrophic diversity of the northern part of the Aegean Sea, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5109-6>
- Ullah R., Yasir M., Bibi F., Abujamel T.S., Hashem A. M., Sohrab S. S., Al-Ansari A., Al-Sofyani A.A., Al-Ghamdi A. K., Al-sieni A., Azhar E. I. (2019). Taxonomic diversity of antimicrobial-resistant bacteria and genes in the Red Sea coast. *Science of The Total Environment*, 677, 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.283>
- Wolf A., Kramer R., Morbach S. (2003). Three pathways for trehalose metabolism in *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 and their significance in response to osmotic stress. *Molecular Microbiolog.*, 49(4), 1119–1134. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03625.x>
- Yeh M.S., Chang J. S. (2004). Bacterial decolorization of an azo dye with a natural isolate of *Pseudomonas luteola* and genetically modified *Escherichia coli*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 79, 1354–1360. <https://doi.org/10.1002/jctb.1099>
- Zaccone, R., Caruso, G., Cali, C. (2002). Heterotrophic Bacteria in the Northern Adriatic Sea: seasonal changes and ectoenzyme profile. *Marine Environmental Research*, 54, 1–19. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(02\)00089-2](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(02)00089-2)