

## Borlu atık sulardan izole edilen siyanobakterilerin antimikrobiyal aktiviteleri

### Antimicrobial activity of cyanobacteria isolated from waste water containing boron

Meral YILMAZ-CANKILIÇ<sup>1</sup>, Nalan YILMAZ-SARIÖZLÜ<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Siyanobakteriler içerdikleri fotosentetik pigmentler nedeniyle "mavi-yeşil algler" olarak bilinen Gram-negatif prokaryotik mikroorganizmalardır. Antartikadan jeotermal alanlara kadar çok çeşitli sucul habitatlarda geniş bir yayılım gösterirler. Bazı siyanobakteri türlerinin ürettikleri toksinler insan ve hayvan sağlığı için tehlike oluşturmaktadır. Bazı türlerin primer (protein, vitamin, yağ asitleri ve pigmentler gibi) ve sekonder (antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar, antihelmintik özelliklere sahip biyoaktif bileşikler gibi) metabolitleri gıda, sağlık, ilaç, biyokimya vb. alanlarda önemli bir potansiyele sahiptir. Bu çalışmada, borlu atık sulardan izole edilmiş siyanobakterilerin seçilen bakteri, maya ve küflere karşı antimikrobiyal aktivite potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** BG 11 besiyeri içeren petrilere geliştirilen siyanobakteri kültürlerinden 6 mm çaplı agar delici yardımıyla çıkarılan bloklar seçilen test mikroorganizmalarını içeren petrilere yerleştirilmiş ve inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda agar bloklarının etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür.

**Bulgular:** Antimikrobiyal potansiyelleri araştırılan toplam 30 siyanobakteri izolatından 4 nolu izolat *Enterobacter aerogenes* üzerine 20 mm, *Bacillus*

#### ABSTRACT

**Objective:** Cyanobacteria are Gram-negative prokaryotic microorganisms known as "blue-green algae" in terms of their photosynthetic pigments. They spread widely in a variety of aquatic habitats from Antarctica to geothermal fields. The toxins produced by some cyanobacterial species pose a threat to human and animal health. Primer metabolites such as protein, vitamin, fatty acids and pigments and seconder metabolites such as antibacterial, antifungal, antiviral, antiinflammatory, bioactive compounds with antihelmintic properties of some species have an important potential in health, medicine and biochemistry areas etc. In this study, it was aimed to investigate the antimicrobial activity potentials of cyanobacteria isolated from waste water containing boron against selected bacteria, yeast and filamentous fungi.

**Methods:** Agar blocks with a 6 mm diameter were removed from cyanobacterial cultures grown on to the BG 11 medium were placed in petri dishes containing selected test microorganisms and let to incubation. At the end of the incubation time, inhibition zones formed around the agar blocks were measured.

**Results:** Isolate 4 was the most effective cyanobacteria among the 30 cyanobacterial isolates. Isolate 4 was shown antimicrobial activity against to

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ESKİŞEHİR

İletişim/Corresponding Author : Nalan YILMAZ-SARIÖZLÜ

Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Yunus Emre Kampüsü, 26470 Eskişehir - Türkiye  
Tel : +90 533 590 47 07 E-posta/E-mail : nalany@anadolu.edu.tr

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.79106

Yılmaz-Cankılıç M, Yılmaz-Sarıözlü N. Borlu atık sulardan izole edilen siyanobakterilerin antimikrobiyal aktiviteleri. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(EK-1): 29-34

*cereus* üzerine 15 mm, *Staphylococcus aureus* üzerine 14 mm, *Candida glabrata* üzerine 21 mm, *Aspergillus flavus* üzerine 28 mm, *Aspergillus fumigatus* üzerine 20 mm, *Aspergillus parasiticus* üzerine 30 mm ve *Fusarium solani* üzerine 22 mm inhibisyon zonu göstererek en etkili izolat olmuştur.

**Sonuç:** Siyanobakteri izolatlarının hemen hemen hepsinin bakterilerden *Enterobacter aerogenes* ve *Yersinia enterocolitica*'ya, mayalardan *Candida albicans* ve *Candida glabrata*'ya karşı etkili oldukları görülmüştür. İleride yapılacak çalışmalarla antimikrobiyal aktivitelerden sorumlu biyoaktif bileşiklerin saflaştırılmaları ve tanımlanmaları hedeflenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Siyanobakteriler, antimikrobiyal, biyoaktif bileşikler

*Enterobacter aerogenes* with 20 mm, *Bacillus cereus* with 15 mm, *Staphylococcus aureus* with 14 mm, *Candida glabrata* with 21 mm, *Aspergillus flavus* with 28 mm, *Aspergillus fumigatus* with 20 mm, *Aspergillus parasiticus* with 30 mm, *Fusarium solani* with 22 mm inhibition zone diameters.

**Conclusion:** According to our results, almost all of the cyanobacterial isolates were found to be effective against to majority of test microorganisms especially *Enterobacter aerogenes* and *Yersinia enterocolitica* bacteria, *Candida albicans* and *Candida glabrata* yeasts. It was aimed that the purification and identification of bioactive compounds responsible for antimicrobial activities in future works.

**Key Words:** Cyanobacteria, antimicrobial, bioactive compounds

## GİRİŞ

Siyanobakteriler, oksijenli fotosentez yapan morfolojik olarak oldukça çeşitliliğe sahip bir gruptur. Siyanobakteriler evrimsel açıdan büyük öneme sahiptirler, çünkü dünya üzerindeki ilk oksijen oluşturan fototrofik organizmalardır. Siyanobakterilerin bazılarının fotosenteze ilave olarak azot fiksasyonu da yapabilmeleri ekolojik önemlerini arttırmaktadır. Siyanobakteriler yarı-çöl alanların yüzey kabuklarının stabilitesinin ve kurak bölgelerdeki çiftçilik için kullanılan toprak verimliliğinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Oldukça geniş habitatlarda bulunabilen siyanobakteriyel türlerin çoğu özelleşmiştir ve farklı çevresel koşullara tolerans gösterebilirler (1). Bazı siyanobakteriyel bloomlar tatlı su ya da havuz yüzeyinde köpük, pislik ya da lif şeklinde görünmekte ve mavi, koyu yeşil, kahverengi, ya da kırmızı renkte olabilmektedirler. Bu bloomların ölümü, suyun kötü kokmasına neden olmaktadır. Siyanobakteriyel bloomlar tarafından oluşturulan toksinler bilinen en güçlü doğal zehirlerdir. Bu nedenle

bu sulardan analiz edilinceye kadar uzak kalmak gerekmektedir (2). Siyanotoksinler, insanlarda akut ve kronik sağlık problemlerine, diğer hayvanlarda, balıklarda ve kuşlarda ölümcül zehirlenmelere neden olmaktadır (3-6). Siyanobakteriler, farmasötik alanda yeni biyoaktif bileşiklerin eldesinde önemli bir kaynaktır. Yapılan bazı çalışmalarda deniz siyanobakterilerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (7).

Bu çalışmada, yüksek oranda bor içeren atık sulardan izole edilmiş olan siyanobakterilerin antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Siyanobakteri izolatları ve kültüre edilmeleri

Antimikrobiyal potansiyelleri incelenen 30 adet siyanobakteri suşu daha önceki bir çalışma kapsamında bor içeren atık su göletlerinden izole edilmiştir.

İzolatlar izole edildikleri besiyeri dikkate alınarak bor içeren BG-11 ve BG-110 (inorganik azot içermeyen BG-11) besiyerlerine ekilmiş ve oda sıcaklığında beyaz floresan aydınlatma altında 2-3 hafta boyunca inkübe edilerek geliştirilmiştir.

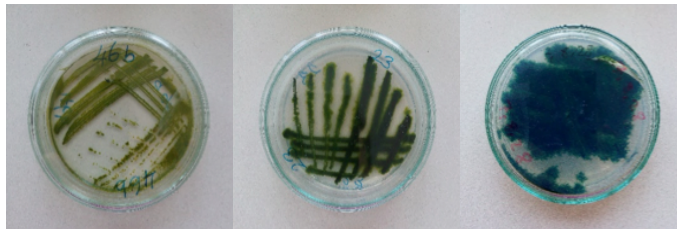
### Antimikrobiyal aktivite

Çalışmada test mikroorganizmaları olarak bakterilerden *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Enterobacter aerogenes* NRRL B-3567, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Micrococcus luteus* NRRL B-4375, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Yersinia enterocolitica* Y53, mayalardan *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 ve küflerden *Aspergillus niger* ATCC 10949, *Aspergillus flavus* ATCC 9807, *Aspergillus fumigatus* NRRL 113, *Aspergillus parasiticus* NRRL 465, *Fusarium moniliforme* NRRL 2374, *Fusarium solani* ve *Alternaria brassicicola* kullanılmıştır. Bakteriler Mueller-Hinton Agar besiyerine ekilerek 37°C'de 24 saat, fungal kültürler Potato Dextrose Agar ve Sabourad Dextrose Agar besiyerlerine ekilerek 30°C'de 3-7 gün süreyle inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon süresi sonunda bakteri kültürleri McFarland 0.5 bulanıklık standartına göre yaklaşık 10<sup>8</sup> CFU/mL olacak şekilde dilüe edilmiştir. Fungal kültürlerden ise 10<sup>6</sup> CFU/mL olacak biçimde spor solüsyonları hazırlanmıştır. Steril eküvyon kullanımıyla uygun katı besiyeri yüzeyine bakteri, maya veya küf süspansiyonları yayılmış ve üzerlerine siyanobakteri kültürlerinden 6 mm çaplı agar delici yardımıyla çıkarılan agar bloklar yerleştirilerek

inkübasyona bırakılmıştır. Siyanobakteri içermeyen besiyerinden agar bloklar çıkartılarak negatif kontrol olarak kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda agar blokların çevresinde oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür. Çalışmalar iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

### BULGULAR

Siyanobakteri izolatlarının test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Antimikrobiyal potansiyelleri araştırılan toplam 30 siyanobakteri izolatından 4 nolu izolat *E. aerogenes* üzerine 20 mm, *B. cereus* üzerine 15 mm, *S. aureus* üzerine 14 mm, *C. glabrata* üzerine 21 mm, *A. flavus* üzerine 28 mm, *A. fumigatus* üzerine 20 mm, *A. parasiticus* üzerine 30 mm ve *F. solani* üzerine 22 mm inhibisyon zonu göstererek en etkili izolat olmuştur. Test mikroorganizmalarına karşı elde edilen maksimum inhibisyon zonu 30 mm ile 47 nolu izolat tarafından *L. monocytogenes*, 7 nolu izolat tarafından *Y. enterocolitica*, 38 nolu izolat tarafından *C. albicans*, 4 ve 33 nolu izolatlar tarafından *A. parasiticus*'a karşı elde edilmiştir. 29 nolu siyanobakteri izolatı 21 test mikroorganizmasından 15'ine karşı etkili olarak sayısal olarak en fazla mikroorganizmayı etkileyen izolat olurken, 4 nolu izolat çok sayıda mikroorganizmaya karşı gösterdiği maksimum inhibisyon zonları ile en etkili izolat olmuştur. İzolatların hiçbiri *E. coli*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* ve *S. typhimurium* bakterilerine karşı etki göstermemiştir. Antimikrobiyal aktiviteleri araştırılan siyanobakterilerden bazılarının makroskopik görüntüleri Şekil 1'de, bazı test mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri inhibisyon zonları ise Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 1. Siyanobakteri izolatlarından bazılarının makroskopik görüntüleri



## TARTIŞMA

Siyanobakteriler endüstriyel, terapötik ve tarımsal önemi olan antibakteriyel, antifungal, antiviral, antimalarial, antitümöral ve antiinflamatuvar özelliklere sahip farklı biyoaktif bileşikler üretmektedirler (8-11).

Siyanotoksinler ile yapılmış çalışmalar çok fazla olmasına karşın antimikrobiyal özelliklerine yönelik çalışmalar daha azdır. *Nostoc commune*'den izole edilmiş ekstraselüler diterpenoidlerin antibakteriyel (12) ve *Tolypothrix byssoidea*'den izole edilen cyclic peptitlerin antifungal özellikleri incelenmiştir (12,13). Kreitlow ve ark., (14) Baltık Denizinden izole ettikleri 12 siyanobakteri suşunun su ve çeşitli çözücülerle hazırlanmış ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini incelemiş ve tüm siyanobakteri ekstraktlarının test edilen Gram-pozitif bakterilerden (*Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*) en

az birinin büyümesini inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir. Çalışmada test edilen Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* ve *Serratia marcescens*) bakterilere ve *Candida maltosa* mayasına karşı inhibe edici etki bulunmamıştır. Bu çalışmadaki sonuca benzer şekilde çalışmamızda da antimikrobiyal özelliklerini araştırdığımız 30 siyanobakteri izolatından hiçbiri *E. coli*'ye karşı etki göstermemiştir. Genel olarak bakıldığında 4 nolu izolat test mikroorganizmalarının pek çoğuna karşı gösterdiği maksimum inhibisyon zonları ile en etkili izolat olmuştur. Tüm izolatların bakterilere göre maya ve küflere karşı daha etkili oldukları tespit edilmiştir. İleride yapılacak çalışmalarla siyanobakteri suşlarından antimikrobiyal etkiden sorumlu biyoaktif bileşenlerin saflaştırılarak tanımlanmaları hedeflenmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Whitton BA, Potts M. Introduction to the Cyanobacteria. In: Whitton BA, ed. The ecology of cyanobacteria II: Their Diversity in Time and Space. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2012: 1-13.
2. Šejnová L, Maršálek B. Microcystis. In: Whitton BA, ed. The ecology of cyanobacteria II: Their Diversity in Time and Space. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2012: 195-228.
3. Carmichael WW. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. J Appl Bacteriol, 1992; 72(6): 445-459.
4. Carmichael WW. Toxins of cyanobacteria. Scientific American, 1994; 270: 64-70.
5. Hunter PR. Cyanobacterial toxins and their potential risk to drinking water supplies. Microbiol Eur, 1995; 3: 8-10.
6. Hunter PR. Cyanobacteria in fresh waters. Microbiol Eur, 1995; 3: 10-2.
7. Thajuddin N, Subramanian G. Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. Curr Sci, 2005; 89(1): 47-57.
8. Sethubathi GVB, Prabu VA. Antibacterial activity of cyanobacterial species from Adirampattinam Coast, Southeast Coast of Palk Bay. Curr Res J Biol Sci, 2010; 2(1): 24-6.

9. Madhumathi V, Deepa P, Jeyachandran S, Manoharan C, Vijayakumar S. Antimicrobial activity of cyanobacteria isolated from freshwater lake. *Int J Microbiol Res*, 2011; 2(3): 213-6.
10. Gupta V, Ratha SK, Sood A, Chaudhary V, Prasanna R. New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)- Prospects and challenges. *Algal Res*, 2013; 2(2): 79-97.
11. Abo-State MAM, Shanab SMM, Hamdy EAA, Abdullah MA. Screening of antimicrobial activity of selected Egyptian cyanobacterial species. *J Eco Heal Env*, 2015; 3(1): 7-13.
12. Jaki B, Orjala J, Sticher O. A novel extracellular diterpenoid with antibacterial activity from the cyanobacterium *Nostoc commune*. *J Nat Prod*, 1999; 62: 502-3.
13. Jaki B, Zerbe O, Heilmann J, Sticher O. Two novel cyclic peptides with antifungal activity from the cyanobacterium *Tolypothrix byssoidea* (EAWAG 195). *J Nat Prod*, 2001; 64: 154-8.
14. Kreitlow S, Mundt S, Lindequist U. Cyanobacteria- a potential source of new biologically active substances. *J Biotechnol*, 1999; 70: 61-3.