

Araştırma Makalesi/Research Article

Van Yöresinde Yetiştirilen *Lens orientalis* (Boiss.) Hand & Mazz. ve *Cicer anatolicum* Alef. Bitki Kök Topraklarından *Streptomyces* Suşlarının İzolasyonu ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Kerem Özdemir¹, Ekrem Atalan²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Van,
²İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Malatya
keremozdemir@hotmail.com

Özet: Bu çalışmada Van Yöresinde doğal olarak yayılış gösteren *Lens orientalis* (Boiss.) Hand & Mazz. ve *Cicer anatolicum* Alef. bitkilerinin kök topraklarından izole edilen *Streptomyces* suşlarının renk gruplandırılmaları ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Toprakta izole edilmiş olan suşlar melanin pigment üretimi, substrat miselyum ve havasal miselyum renklerine göre toplam 25 renk grubuna ayrıldı. Renk gruplarının bazıları 5'ten fazla test organizması içerirken çoğunluğu 5'ten az test mikroorganizması içermiştir. 11 referans *Streptomyces* bakterisi ve 87 yeni izole edilen *Streptomyces* suşunun, 8 patojen ve non-patojen bakteriye karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlendi. Test edilen tüm *Streptomyces* türlerinin %65.3'ü *Bacillus subtilis*, %54'ü *Escherichia coli*, %45.9'u *Proteus vulgaris*, %53'ü *Pseudomonas aeruginosa*, %10.2'si *Salmonella enteridis*, %44.8'i *Staphylococcus aureus*, %58.1'i *Streptococcus pyogenes* ve %56.1'i *Xanthomonas compestris* bakterisine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlendi.

Anahtar kelimeler: *Cicer anatolicum*, *Lens orientalis*, Mikrobiyal Aktivite, *Streptomyces*.

Determination of Antimicrobial Activity of *Streptomyces* Strains isolated from root soil of *Lens orientalis* (Boiss.) Hand & Mazzin. Alef and *Cicer anatolicum* Grown in Van Region

Abstract: The antimicrobial activity and colour grouping of *Streptomyces* strains isolated from root soil of *Lens orientalis* (Boiss.) Hand & Mazzin. Alef and *Cicer anatolicum* naturally distributed in Van province were determined. The strains isolated from soil were divided into 25 colour groups in terms of melanine pigment production and substrate-micelium and aerial-micelium colours. While some of colour groups contain more than five test organisms. The antimicrobial activity of 11 reference *Streptomyces* strains and 87 new isolated strains were determined against eight pathogenous and non-pathogenous bacteria. It was determined that the 65.3 % *Bacillus subtilis*, 54 % *Escherichia coli*, 45.9 % *Proteus vulgaris*, 53 % *Pseudomonas aeruginosa*, 10.2 % *Salmonella enteridis*, 44.8 % *Staphylococcus aureus*, 58.1 % *Streptococcus pyogenes* ve 56.1 % *Xanthomonas compestris* have antimicrobial activity against pathogenous and non-pathogenous bacteria.

Keywords: *Cicer anatolicum*, *Lens orientalis*, Microbial Activity, *Streptomyces*.

Giriş

Mikroorganizmalar enerji piramidinde besin döngüsündeki aktif faaliyetleri ile ziraatte özellikle bitki büyümesini önemli kılmaktadır (Bull ve Goodfellow, 2000). Bu

önemli rollerine rağmen zirai meyve ve sebze olarak yetiştirilen çok sayıda bitkinin köklerinde yaşayan mikroorganizma florası ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Toprak, *Streptomyces* bakterilerinin en yaygın

habitatı olup bu mikroorganizmalar bütün toprak çeşitlerinde bulunurlar. Genelde bitki artıkları ve fungus miselyumu gibi yüzeylere bağlı olarak ve topraktaki farklı bileşiklerin parçalanmasında önemli ekolojik role sahiptirler. En fazla organik maddelerce zengin habitatlarda bulunurlar. İzole edilebilen actinomyeceteslerin %64-97' sini de yine streptomyecetes bakterileri oluşturur. Arid ve soğuk topraklarda en fazla *Streptomyces* bakterileri bulunmaktadır (Wang ve ark, 1999). Genelde Actinomyeceteslerin bitki kök sistemlerinde yeterli rolü olduğu kabul edilmemekle birlikte *Streptomyces* türlerinin bitki kök sistemlerinde geniş yayılım gösterdikleri belirlenmiştir. Buna rağmen *Streptomyces* bakterilerinin kök sistemlerindeki çeşitliliği, aktiviteleri veya diğer mikroorganizmalarla olan etkileşimleri hakkında pek az bilgi mevcuttur. Buğday, domates, soya, arpa ve çok yıllık kök sistemlerinde *Streptomyces* bakterilerinin pozitif yönde kök gelişimini etkilediği rapor edilmiştir. Günümüzde bitkilerin büyümesini, üretimini artırmak amacıyla kökleri enfekte eden fungusları inhibe eden *Streptomyces*' lerin kök ile ilişkilerini incelemek için çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır (Trejo-Estrada ve ark, 1998; Adams,1990; Elo ve ark, 2000). *Streptomyces* türlerince üretilen antibiyotiklerin direkt ya da indirekt biyokontrol ajanı olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle biyolojik kontrol ajanı olan mikroorganizmalar hastalığı kontrol ederken, her ne kadar organizma ile kompleks etkileşim göstermesine rağmen, sentetik kontrolden daha uygun ve faydalı olduğu sanılmaktadır. Çoğu toprak tipinde tabii oluşan patojen-bakteri etkileşmesinde rol oynayan bakteriler *Streptomyces*'lerdir. Ayrıca toprakta patojenlerin baskılanması ile oluşan yöntem ek olarak, toprak patojenlerini kontrol etme denemelerinde *Streptomyces* türlerinin direkt inokülasyonu ile yapılmaktadır. Özetle *Streptomyces* bakterilerinin patojen fungus, bakteri ve nematodları inhibe ettikleri için yeni türlerin tesbiti önemli ve faydalıdır.

Materyal ve Metot

İzolasyon ve Saflaştırma:

Van gölü havzasında doğal yayılış gösteren yabancı mercimek (*Lens orientalis* Boiss., Hand & Mazz.) ve yabancı nohut (*Cicer anatolicum* Alef.) bitkileri farklı tarihlerde toplandı ve bölümümüz Botanik Anabilim Dalı tarafından teşhisleri yapıldı.

Öncelikle toprağın pH, nem ve organik madde içeriği tesbit edildi. Daha sonra çalışmada *Lens orientalis* (Boiss.) Hand & Mazz. ve *Cicer anatolicum* Alef. rizosferinden alınan toprak numunelerinden *Streptomyces* bakterileri izole edildi. *Streptomyces* bakterilerinin izolasyonu için yüzeye yayma yöntemi kullanıldı. Her bir toprak numunesinden 1 gr alınarak 10 ml ringer solüsyonu içeren şişelere konuldu. İzolasyon öncesi ön muamelede toprak dilüsyonları 65°C' de bekletildi.

Her bir toprak örneği vorteks karıştırıcı ile homojen hale getirildikten sonra 30 dk. çalkalayıcı da tutuldu. Akabinde otomatik pipet ile aseptik olarak 0,5 ml alınıp içerisinde 4,5 ml ringer çözeltisi bulunan steril cam tüplere konuldu. Bu şekilde seyreltme serileri 10-5 seyreltmeye kadar yapıldı. Seyreltme tüplerinden otomatik pipet yardımıyla alınan 0,1 ml Dilüsyon numunesi nişasta kazein agar ve rafinoz-histidin agar içeren petri kutularının yüzeyine damlatılarak, L şeklindeki cam yayma çubuğu ile bütün yüzeye yayıldı. İzolasyon için iki tip selektif besiyeri kullanılmıştır.

Hazırlanan besiyerlerinde farklı bakteri ve mikrofunguslarının üremesini inhibe etmek için içerisine cycloheksimid (50 µg/ml) ve nystatin (50 µg/ml) antibiyotikleri eklenmiştir. Ekim yapılan petri kutuları 28°C'de 14 gün süre ile inkübe edilerek gelişen koloniler hem çıplak gözle hem de 100x10 ışık mikroskobunda incelendi ve sayımı yapıldı. Bu aşamada muhtemelen *Streptomyces* olduğu tahmin edilen bazı koloniler bennets agar üzerine transfer edilerek saflaştırılmıştır. Saf izolatlar içerisinde %20'lik gliserol bulunan vial tüplere konularak buzdolabında muhafaza edildi.

Renk Gruplandırılması:

Saflaştırılan suşlar renk gruplandırması için oatmeal agar (ISP 3; Shirling ve Gottlieb, 1966) besiyerine ekim yapıldı. Çizgi ekim metoduyla inoküle edilen izolatlar 14 gün 28° C'de inkübe edildikten sonra havasal miselyum rengi ve substrat miselyum renkleri renk kataloğuna göre tespit edildi ve gruplandırma yapıldı.

İzolatların melanin pigmenti üretimini belirlemek için pepton yeast extract iron agar (ISP 6; Shirling ve Gottlieb, 1966) ve trozin agar (ISP 7; Shirling ve Gottlieb, 1966) besi ortamına öze yardımıyla ekim yapıldı ve 28°C'de 7 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda petri kabı içerisinde üremiş olan kolonilerden siyahımsı renk oluşumu melanin pigmenti üretiminin olduğunu, renk değişimi olmamış koloniler ise melanin üretmeyen koloniler olduğunu göstermiştir. Sonuçta hem havasal ve substrat miselyum renk hem de melanin pigmenti üretimi dikkate alınarak tüm izolatlar gruplandırıldı.

Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

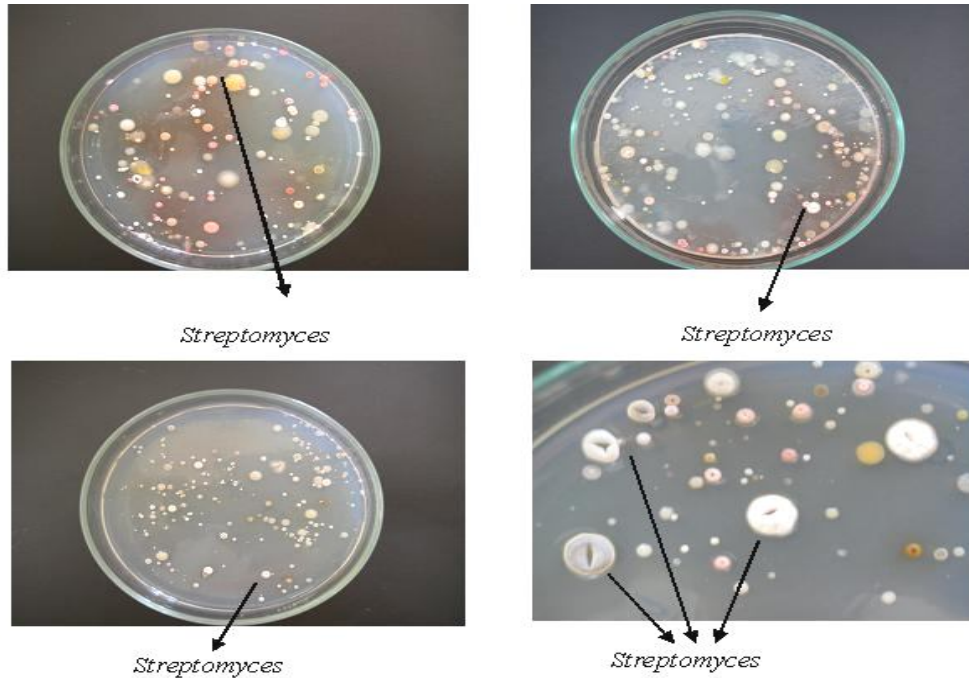
Toplam 98 *Streptomyces* izolatı 8 patojen mikroorganizmaya karşı mikrobiyal

aktivitesinin belirlenmesi için; incelenen izolatlar, oatmeal agara ekildi ve 7 gün 28°C'de inkübasyona bırakıldı. Oatmeal agarda gelişen test organizmaları öze yardımıyla sıyrılarak bennets agar besi ortamının ortasına çizgi şeklinde ekildi. 28°C'de 7 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra patojen ve nonpatojen test organizmalarının gelişmeleri gözlemlendi.

Bulgular

Toprak Numunelerinin Fizikokimyasal Özellikleri ve İzolasyon Çalışması Sonuçları:

Bitki kök toprak numuneleri ve fizikokimyasal karakter ölçümleri Çizelge 1'de görülmektedir. Nişasta kazein agar ve raffinöz-histidin agar üzerinde büyüyen *Streptomyces* kolonileri diğerlerinden oluşturdukları karakteristik misel ve pigment durumlarına göre seçildi ve izole edildi (Şekil 1). Ayrıca yapılan tüm izolasyon çalışmaları sonucunda sayılan *Streptomyces* ve toplam bakteri sayısı Çizelge 2'de görülmektedir.



Şekil 1. Toprak numunelerinden izole edilen *Streptomyces* koloni görüntüleri

Renk Gruplandırması

Saflaştırılan 230 *Streptomyces* izolatu oatmeal ve pepton yeast ekstrakt demir agar besi ortamı üzerinde büyütülmesi sonucu toplam 25 renk grubuna ayrıldı. Renk gruplandırması substrat, havasal miselyum rengi ve melanin üretimi dikkate alınarak

yapıldı. Oatmeal agar üzerindeki büyümeleri Şekil 2’ de görülmektedir. Renk gruplarının bazıları 5’ten az test organizması içerirken çoğunluğu 5’ten fazla test mikroorganizması içerdi. Ayrıca *Streptomyces* suşlarından yaklaşık %10’unun melanin pigment üretimi açısından pozitif olduğu belirlendi.



Şekil 2. *Streptomyces* izolatlarının oatmeal agar besi ortamlarında renk gruplarının görüntüleri

Çizelge 1. Toprak numunelerinin nem, organik madde oranları ve pH değerleri

	Bitki Türleri	Nem (%)	Organik Madde(%)	pH
1.	<i>Cicer anatolicum</i>	14,90	4,78	7,52
2.	<i>Cicer anatolicum</i>	18,80	5,41	7,41
3.	<i>Cicer anatolicum</i>	17,40	5,32	7,43
4.	<i>Cicer anatolicum</i>	4,60	4,21	7,27
5.	<i>Lens orientalis</i>	6,66	3,68	7,24
6.	<i>Lens orientalis</i>	10,10	5,04	7,26
7.	<i>Lens orientalis</i>	13,21	4,35	7,26
8.	<i>Lens orientalis</i>	9,50	3,91	7,43
9.	<i>Cicer anatolicum</i>	10,55	3,93	7,55
10.	<i>Cicer anatolicum</i>	15,70	4,52	7,18
11.	<i>Cicer anatolicum</i>	14,95	1,51	7,44
12.	<i>Cicer anatolicum</i>	16,11	4,28	7,16
13.	<i>Cicer anatolicum</i>	17,50	6,27	7,18
14.	<i>Cicer anatolicum</i>	21,00	4,10	7,15
15.	<i>Cicer anatolicum</i>	15,34	6,16	7,2
16.	<i>Cicer anatolicum</i>	15,68	4,88	7,12
17.	<i>Cicer anatolicum</i>	14,81	4,59	7,32
18.	<i>Cicer anatolicum</i>	15,48	5,40	7,2
19.	<i>Cicer anatolicum</i>	23,76	6,54	7,25
20.	<i>Cicer anatolicum</i>	15,58	2,91	7,25
21.	<i>Cicer anatolicum</i>	20,02	2,37	7,28
22.	<i>Cicer anatolicum</i>	21,48	1,52	7,17
23.	<i>Cicer anatolicum</i>	20,94	2,94	7,25
24.	<i>Cicer anatolicum</i>	20,08	2,60	7,09
25.	<i>Cicer anatolicum</i>	17,15	1,04	7,1
26.	<i>Cicer anatolicum</i>	15,47	1,33	7,15
27.	<i>Lens orientalis</i>	10,43	3,17	7,24
28.	<i>Lens orientalis</i>	9,91	0,76	7,42
29.	<i>Lens orientalis</i>	9,83	0,52	7,5
30.	<i>Lens orientalis</i>	3,33	6,30	7,32
31.	<i>Lens orientalis</i>	8,96	3,71	7,34
32.	<i>Cicer anatolicum</i>	9,74	1,10	7,24
33.	<i>Cicer anatolicum</i>	9,82	3,20	7,32
34.	<i>Cicer anatolicum</i>	9,68	2,18	7,38
35.	<i>Cicer anatolicum</i>	9,61	3,20	7,21
36.	<i>Cicer anatolicum</i>	1,94	3,21	7,12
37.	<i>Cicer anatolicum</i>	9,46	1,31	7,24
38.	<i>Cicer anatolicum</i>	9,24	1,21	7,18
39.	<i>Cicer anatolicum</i>	7,64	1,34	7,34
40.	<i>Cicer anatolicum</i>	6,87	2,22	7,44
41.	<i>Cicer anatolicum</i>	7,58	1,16	7,13
42.	<i>Cicer anatolicum</i>	6,58	1,11	7,23
43.	<i>Cicer anatolicum</i>	5,12	1,05	7,34
44.	<i>Cicer anatolicum</i>	8,00	1,63	7,43
45.	<i>Cicer anatolicum</i>	9,43	2,19	7,12
46.	<i>Cicer anatolicum</i>	4,49	2,42	7,22
47.	<i>Cicer anatolicum</i>	3,52	2,10	7,34
48.	<i>Lens orientalis</i>	4,01	2,29	7,13
49.	<i>Lens orientalis</i>	9,20	2,16	7,23
50.	<i>Lens orientalis</i>	9,18	2,41	7,43
51.	<i>Lens orientalis</i>	8,39	4,35	7,33

Çizelge 2. İzolasyon çalışması sonucu *Streptomyces* izolatlarının ve toplam bakteri izolatlarının sayım sonuçları

No	Nişasta Kazein Agar (cfu/gr)		Raffinoz-histidine agar (cfu/gr)			
	(x10 ⁴)	(x10 ⁶)	(x10 ⁴)	(x10 ⁶)	(x10 ⁴)	(x10 ⁶)
	Toplam <i>Streptomyces</i> sayısı	Toplam <i>Actinomycetes</i> sayısının yüzdesi	Toplam <i>Actinomycetes</i> sayısı	Toplam <i>Streptomyces</i> sayısı	Toplam <i>Actinomycetes</i> sayısının yüzdesi	Toplam <i>Actinomycetes</i> sayısı
1.	8,5	7,5	112,941	4,25	0,4	921,473
2.	16,4	27,7	59,024	3,28	0,6	531,367
3.	*	*	100,596	1,83	1,7	102,927
4.	28,8	28,8	99,842	1,96	0,2	787,284
5.	*	*	135,365	1,88	0,7	266,967
6.	9	6,6	88,927	-	*	539,438
7.	26,1	4,1	626,409	-		582,496
8.	9,1	7,8	116,483	1,8	0,4	378,748
9.	9	5,4	165,609	-		581,484
10.	17	16,5	102,686	2,86	0,6	419,6878
11.	8,6	14,8	57,792	1,8	0,5	313,204
12.	1,68	0,3	470,402	1,68	0,1	910,565
13.	1,66	0,2	737,049	2,83	0,5	537,848
14.	*	*	271,768	-	*	979,695
15.	*	*	156,434	1,85	0,2	697,796
16.	1,85	1,5	115,687	-	*	241,467
17.	1,86	0,3	571,049	-	*	533,247
18.	1,7	0,8	207,423	1,85	0,3	544,030
19.	1,77	0,3	529,762	1,92	1,9	96,680
20.	1,85	0,2	656,244	2,55	0,4	581,463
21.	1,8	1,5	115,289	1,6	0,4	390,470
22.	1,79	0,1	979,656	1,79	0,6	274,925
23.	1,8	0,6	275,245	2,8	0,3	806,403
24.	2,4	0,9	262,488	1,6	0,6	262,468
25.	1,83	0,3	544,482	1,83	0,3	471,446
26.	1,7	0,2	758,268	2,55	2,0	122,497
27.	1,9	0,6	288,678	2,52	0,5	470,454
28.	1,82	0,2	738,924	2,49	0,8	298,878
29.	1,9	0,7	252,986	1,79	1,1	158,488
30.	2,91	0,6	426,834	1,85	0,3	561,378
31.	*	*	163,898	1,7	1,2	136,397
32.	1,9	1,1	207,345	-	*	591,687
33.	1,8	0,8	216,737	1,85	0,5	340,387
34.	1,9	0,5	378,878	1,46	1,9	73,669
35.	1,9	1,6	115,256	1,85	2,0	88,439
36.	1,98	0,4	431,225	1,68	0,4	406,566
37.	1,82	0,4	440,446	1,83	1,2	149,456
38.	1,91	0,2	917,287	3,16	0,3	796,328
39.	1,84	0,5	334,883	1,7	1,1	142,824
40.	-	*	751,446	1,7	0,3	476,868
41.	1,84	0,7	261,284	1,86	0,8	232,278
42.	1,86	0,3	576,686	3,4	2,4	136,232
43.	1,95	0,4	437,837	1,46	1,5	95,222
44.	1,84	1,2	147,284	2,55	0,3	714,266
45.	1,82	0,2	764,468	2,4	0,6	368,454
46.	1,92	0,4	397,446	1,58	0,5	268,642
47.	2,96	1,2	230,427	1,8	0,4	374,422
48.	2,92	0,6	422,473	1,68	1,2	134,445
49.	2,73	0,6	440,448	1,83	0,5	343,625
50.	1,91	0,2	917,282	1,79	0,2	663,686
51.	1,84	0,5	334,889	1,7	0,4	391,123

*Kontaminasyondan dolayı sayım yapılamadı.

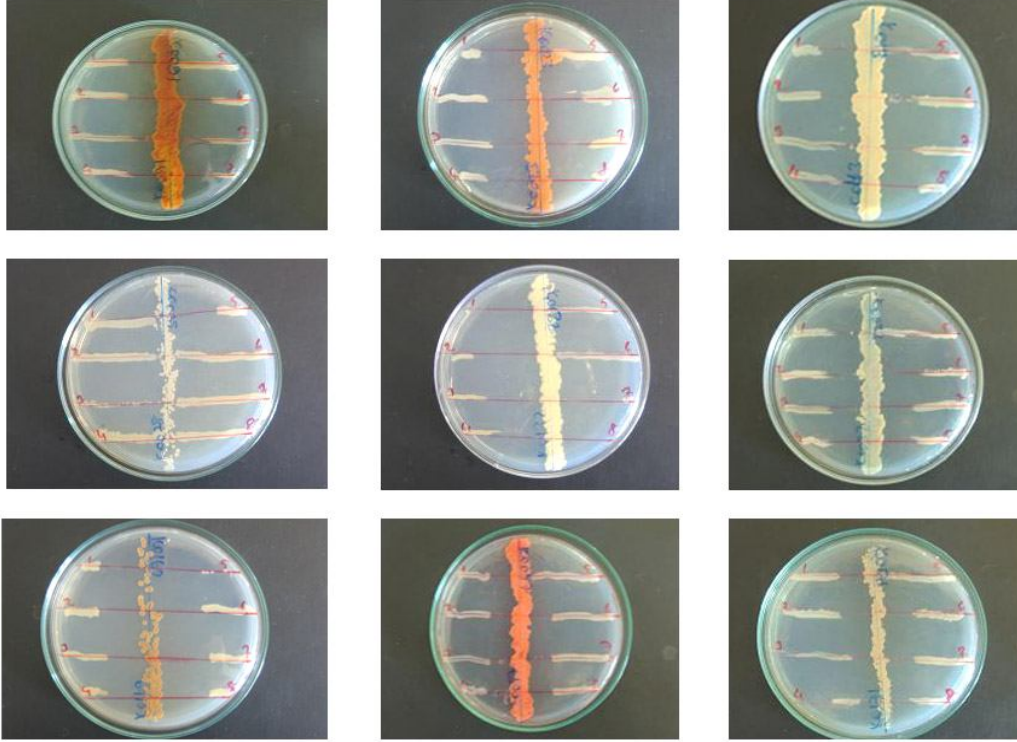
Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Saflaştırılmış olan 98 *Streptomyces* suşu 8 adet patojen ve nonpatojen test mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal

aktivite özelliklerinin belirlenmesi amacıyla bennet's agar içeren besi ortamına ekildikten 24 saat 37°C'de inkübasyon sonrasında türlerin test organizmalarına karşı

antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Suşların çoğunlukla test organizmalarının gelişmelerine engel olduğu gözlemlendi. Kullanılan test organizmalarından *Bacillus subtilis*' e % 64,28'i, *Escherichia coli*' ye % 54,08'i, *Proteus vulgaris*' e % 45,91'i, *Pseudomonas aeruginosa*' ya % 53,06'sı,

Salmonella enteridis' e % 10,2'si, *Staphylococcus aureus*' a %44,89'u, *Streptococcus pyogenes*' e %58,16'sı, *Xanthomonas compestris*' i %56,12'si antagonistik aktivite gösterdi. Bazı türlerin antimikrobiyal aktivite sonuçları ile ilgili fotoğraflar Şekil 3' de gösterilmiştir.



Şekil 3: *Streptomyces* test izolatlarının bazı patojen ve nonpatojen bakterilerin gelişmesine olan etkileri

Tartışma

Topraktan İzolasyon Çalışması ve Toprağın Fizikokimyasal Özellikleri

Nişasta-kazein ve rafinoz-histidin agar üzerinde izole edilen kolonileri; yavaş büyümeleri, aerobik, farklı renkte havasal ve substrat miselyuma sahip olmaları nedeniyle *Streptomyces* cinsine ait bakteriler olduğu belirlendi.

Ayrıca izolasyon esnasında *Streptomyces*lerin gelişen diğer bakterilerin büyümesini inhibe eden antibiyotik salgıladıkları da gözetlendi. Buna ek olarak bu bakterilere has olan toprak kokusuna sahip olmaları ve diffüzye pigment ve bazılarında melanin pigment ürettikleri gözetlendi. Renk gruplandırması yapılan 230 test izolatu 25 renk grubuna ayrılırken ağırlıklı olarak kahve

(substrat miselyum)-beyaz (havasal miselyum), krem ve sarı renk grubunu oluşturdu.

Kullanılan iki farklı besi ortamından nişasta kazein agar içeren petri ler rafinoz histidin agar içerenlere kıyasla daha fazla sayıda *Streptomyces* kolonisi içerdiği gözlemlendi. Nişasta kazein agarda en yüksek sayıda *Streptomyces* kolonisi *Lens orientalis* bitki kök toprağından Erciş Akçadağ Alkasnak köyü bölgesinden toplanan toprak numunesinde $28,8 \times 10^4$ cfu/gr kuru toprak olarak belirlenirken, rafinoz histidin agar besi yerinde en yüksek sayıda *Streptomyces* kolonisi *Cicer anatolicum* bitki kök toprağından Muradiye Akçağül köyü bölgesinden toplanan toprak numunesinde $4,25 \times 10^4$ cfu/gr kuru toprak olarak belirlenmiştir. Farklı bitki kök ve

çevrelerinden toplanan toprak çeşidine göre yüksek farklılıklar görülmedi. Annaliesa ve ark., (1997) Brezilya'da farklı iki istasyondan seçtikleri soya fasulyesi kök toprağından izole ettikleri *Streptomyces* bakterisi sayısının direkt bitki türü ile bağlantılı olmadığını ve bazılarının streptomycin antibiyotiği sentezlediğini belirtmiştir. Yani herhangi bir bitki kök toprağında aşırı yüksek yada düşük oranda bakteri sayımı yapılmadı. Bitkilerin *Streptomyces* bakterileri büyümesi yada gelişimi üzerine etkisinin az olduğu söylenebilir. Ancak farklı periyotlarda kısmen olsa da sayısal farklılık görülmektedir (Huddleston ve ark., 1997).

Numunelerin pH'ları 7,09 (*Cicer anatolicum* toprağı, Muradiye Barajı Güney tarafı) ile 7,55 (*Cicer anatolicum* toprağı, Muradiye Akçagül Köyü) arasında değişti ve nötral toprak tipini oluşturdukları belirlendi. Nem oranları ise % 1,94 (*Cicer anatolicum* toprağı, Alacabük Dağı) ile 23,76 (*Cicer anatolicum* toprağı, Erciş Alkasnak köyü) arasında değişirken, çoğunlukla numuneler düşük nem oranına sahiptir. Organik madde içeriği ise % 0,52-6,54 arasında değişti. Genelde *Lens orientalis* kök toprağı numunelerinin organik madde oranı *Cicer anatolicum* kök toprağına kıyasla daha yüksek olduğu belirlendi. Toprak numunelerinde toplam actinomycetes bakteri sayımı genelde organik madde muhtevası ilişkisi olduğu belirlendi. Kısaca organik madde oranı yüksek olan topraklardan daha yüksek bakteri sayımı yapıldı. Sonuçlarımıza göre organik madde oranının bakteri çeşitliliği ve gelişimi üzerine önemli etkili bir çevresel faktör olduğu söylenebilir. Bununla birlikte *Streptomyces* bakterileri ile toprak numunelerinin fiziko-kimyasal karakterleri arasında direkt bir ilişki belirlenemedi. Ayrıca Streptomycetes bakterilerinin selektif olmayan ve başka bakteri cinslerini izole etmek için formüle edilen besin ortamlarında da izole edildiği bilinmektedir. Gerçekte actinomadurae bakterileri izolasyonu için tavsiye edilen novobiocin antibiyotiği eklenmiş nişasta-kazein agar ortamında yüksek oranda *Streptomyces* bakterileri sayılmıştır. Ayrıca klasik çalkalama-dilüsyon izolasyon metoduna kıyasla aşamalı-santrifüj yöntemi ile daha fazla hem actinomycetes

hemde *Streptomyces* bakterilerini izole edildiği belirtilmiştir (Atalan ve ark., 2000; Taddei ve ark., 2005). Bu nedenle çalışmamızda kullandığımız toprak numunelerinden aşamalı-santrifüj metodu kullanılırsa daha yüksek oranda bakteri sayısı elde edilebilir.

Sonuçlar

Bu çalışmada, Van merkez ve çevresinde *Lens orientalis* (Boiss.) Hand & Mazz. ve *Cicer anatolicum* Alef. bitki kök ve çevresinden toplanan 51 toprak numunesinden *Streptomyces* bakterilerinin izolasyonu yapıldı. Ayırıcı oranda bakteri sayısı kök veya çevre toprağından belirlenmemekle birlikte genelde çevre toprağından daha yüksek sayıda elde edildi.

İzole edilen *Streptomyces* bakterilerinin DAP testi sonucunda kesin bu cinse ait olduğu belirlendikten sonra bilgisayarla yapılan teşhis sonucunda büyük çoğunluğu (74 suş) teşhis edildi.

Toplam 8 farklı patojen ve nonpatojen mikroorganizmaya karşı 98 *Streptomyces* suşunun antagonistik etkileri araştırıldı ve özellikle K0169 kodlu suş tüm patojen ve nonpatojen test mikroorganizmalarına karşı inhibisyon etkisi gösterdi. Diğerleri de en az 4 mikroorganizmaya karşı antagonistik etki gösterdi.

Kaynaklar

- Adams, P.B. (1990). The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 28, 59-72.
- Annaliesa, S. Huddleston, L., Neil Cresswell, M. Cristina, P., Neves, John E. Beringer, Simon Baumberg, D. Ianthomas, and E.M. H. Wellington. Molecular Detection of Streptomycin-Producing Streptomycetes in Brazilian Soils Applied and Environmental Microbiology, Apr. 1997, p. 1288-1297 Vol. 63, No. 4, 1997.
- Atalan, E., Manfio, G.P., Ward, A.C., Kroppenstedt, R.M., & Goodfellow, M. (2000). Biosystematic studies on novel *Streptomyces* from soil. *Antonie van Leeuwenhoek* 77: 337-353.
- Bull, A.T., Goodfellow, M. (2000). Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiology and Molecular Biology Review* 64.

- Elo S, Maunuksela L, Salkinoja- Salonen M, Smolander A, Haahtela K (2000) Humus bacteria of Norway spruce stands: plant growth promoting properties and birch, red fescue and alder colonizing capacity. *FEMS Microbiology Ecology* 31: 143-152.
- Huddleston AS, Cresswell N, Neves MCP, Beringer JE, Baumberg S, Thomas DI, Wellington EMH. (1997) Molecular detection of streptomycin-producing streptomycetes in Brazilian soils. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 1288-1297.
- Taddei, A., Rodriues, M.J., Marquez-Wilchez, E. & Castelli, C. (2005). *Isolation and identification of Streptomyces spp. From venezuelan soils: Morphological and biochemical studies*. *Microbiological Research* :1-10.
- Trejo-Estrada, S.R., Sepulveda, R.& Crawford, D.L. (1998). In vitro and in vivo antagonism od *Streptomyces violaceusniger* YCED-9 against fungal pathogens of turfgrass. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14. 865-872.
- Shirling, E., B., Gottlieb, D., 1966. Methods for characterisation of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16, 313-340.
- Wang Y, Zhang ZS, Ruan JS, Wang YM, Ali SM. (1999) Investigation of actinomycete diversity in the tropical rainforests of Singapore. *Journal of Industrial Microbiology and Microbiology* 23: 178-187.