



Aras Nehri'nden Alınan Sediment Örneklerinden *Streptomyces* Türlerinin İzolasyonu, Teşhisi ve Moleküler Karakterizasyonu

Hamdullah SEÇKİN¹

Kerem ÖZDEMİR²

Şükrü ÖNALAN³

Metin ERTAŞ⁴

Erdal ÖĞÜN⁵

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO

² Bandırma On yedi Eylül Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO

³ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi

⁴ Hakkâri Üniversitesi Yüksekova MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü

⁵ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Geliş Tarihi: 03.01.2023

Kabul Tarihi: 28.03.2023

Basım Tarihi: 31.03.2023

Atf yapmak için: Seçkin, H., Özdemir K., Önalın, Ş., Ertas, M. & Ögün, E. (2023). Aras Nehri'nden Alınan Sediment Örneklerinden *Streptomyces* Türlerinin İzolasyonu, Teşhisi ve Moleküler Karakterizasyonu. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 8(1), 132-139. <https://doi.org/10.35229/jaes.1228752>

How to cite: Seçkin, H., Özdemir K., Önalın, Ş., Ertas, M. & Ögün, E. (2023). Isolation, Identification and Molecular Characterization of *Streptomyces* Species from Sediment Samples of the Aras River. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 8(1), 132-139. <https://doi.org/10.35229/jaes.1228752>

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-0058-5232>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-3884-4121>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-2337-8906>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-3537-6078>
ID: <https://orcid.org/0000-0001-8280-4245>

*Sorumlu yazarın:

Şükrü ÖNALAN

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Su Ürünleri

Fakültesi

✉: sukruonalan@yyu.edu.tr

Öz: Aras Nehri coğrafik ve ekolojik anlamda çok önemli bir yere sahiptir. Aras Nehri'ndeki *Streptomyces* çeşitliliğinin tespit edilmesi, izolasyonu, teşhisi ve karakterizasyonunun, mikrobiyolojik ve moleküler biyoloji ve genetik alanlarında bilim dünyasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir. *Streptomyces* türleri bilim dünyası için çok önemli bir yere sahiptir, çünkü bu bakteri türlerinin ürettiği başta antibiyotikler olmak üzere birçok önemli madde bulunmaktadır. Bu çalışma kapsamında Aras Nehri'nin geçtiği Erzurum Horasan, Kars Karakurt ve Iğdır Tuzluca bölgelerinden alınan numuneler *Streptomyces* çeşitliliği bakımından incelendi. Belirlenen bölgelerden alınan sediment örneklerinin pH ve nem oranları tespit edildi. Bennet's Agar ve M65 besiyerleri kullanılarak izolasyon, saflaştırma ve renk grubu belirleme çalışması yapıldı. Bu bakteri gruplarının teşhisi amacıyla biyokimyasal, fenotipik ve moleküler testler uygulandı. Renk grubuna göre belirlenen izolatların Spor zincir morfolojisi görüntülendi (SEM). Mikrobiyolojik olarak izole edilecek bakterilerin 16 S rDNA gen bölgelerinin sekans analizi gerçekleştirildi. Ardından, elde edilen diziler GenBank verileri ile karşılaştırılarak izole edilen bakterilerin moleküler yakınlık ve benzerlik oranları elde edildi. Elde edilen sonuçlara doğrultusunda *Streptomyces* türlerinin çevresel farklılıklar doğrultusunda farklı genetik yapıya sahip oldukları veya farklılıklar meydana geldiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Aras nehri, *Streptomyces*, DNA izolasyonu, 16 S rDNA, sekans analizi.

Isolation, Identification and Molecular Characterization of *Streptomyces* Species from Sediment Samples of the Aras River

Abstract: Aras river has a very important place in terms of geographical and ecological sense. It is thought that the detection, isolation, diagnosis and characterization of *Streptomyces* diversity in the Aras river will contribute to the scientific world in the fields of microbiological and molecular biology and genetics. *Streptomyces* species have a very important place for the scientific world, because there are many important substances produced by these bacterial species, especially antibiotics. Samples taken from Erzurum Horasan, Kars Karakurt and Iğdır Tuzluca regions where Aras river passes were examined in terms of *Streptomyces* diversity. The pH and moisture ratios of the sediment samples taken from the determined localities were determined. Isolation, purification and color group determination studies were performed using Bennet's Agar and M65 media. Biochemical, phenotypic and molecular tests were applied to diagnose these bacterial groups. Spore chain morphology of the isolates determined according to the color group was visualized (SEM). Sequence analysis of 16 S rDNA gene regions of bacteria to be isolated microbiologically was performed. Then, the obtained sequences were compared with the GenBank data, and the molecular affinity and similarity ratios of the isolated bacteria were obtained.

Keywords: Aras river, *Streptomyces*, DNA isolation, 16 S rDNA, sequence analysis.

*Corresponding author:

Şükrü ÖNALAN

Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of

Fisheries

✉: sukruonalan@yyu.edu.tr

GİRİŞ

Aras Nehri, Aras Havzası'nın ana akarsuyudur. Bingöl Dağlarının kuzeybatı eteklerinden kaynaklanan Aras Irmağı kuzeye doğru akarak Erzurum-Pasinler Ovasını kat ettikten sonra kuzeyden Zivin ve güneyden Velibaba Çayları katılır. Kağızman'da dağlar arasındaki derin vadilerden ve vadi tabanında oluşmuş ova içerisinden akarak Arpaçay Nehri ile birleşir ve Ermenistan sınırına ulaşır. Toplam uzunluğu 920 km olan ırmağın Türkiye sınırları içerisindeki uzunluğu 411 km'dir (Anonim, 2013).

Streptomyces türleri birçok önemli antibiyotik üretiminde rol almaktadır (Lewin vd., 2016). *Streptomyces* türleri tedavi amaçlı kullanılan bazı biyoaktif bileşiklerin kökeni olup şu an kullanılan antibiyotiklerin büyük bir kısmını üretmektedir (Demain, 2014; Hasani vd., 2014; Cheng vd., 2016; Sharma vd., 2016). *Streptomyces* türleri ortalama 25-35°C sıcaklık aralığında gelişirken, genellikle 6.5-8.0 pH arasında gelişme göstermektedir (Goodfellow vd., 1987). *Streptomyces* bakterileri ile birlikte yaşadıkları bitkilerin, çevresel etkenlerden kaynaklı streslerini azaltabilir ve simbiyotik ilişkili olduğu bitkinin büyümesine katkı sağlar (Sousa & Olivares, 2016). *Streptomyces* bakterilerinin en ilginç özelliği, antifungal, immunosuppressants, antiviral, antitümöral, antihipertensiv ve özellikle antibiyotik gibi sekonder metabolitleri üretme yeteneğidir. (Procopio vd., 2012). Malezya'da topraktan elde edilen *S. colonosans* MUSC 93JT bakterisinin önemli antioksidan etki gösterdiği ve kolon kanseri tedavisinde kullanılabileceği belirlenmiştir (Law vd., 2017). Ayrıca aynı ekosisteminden elde edilen başka bir *Streptomyces* (*S. albobriseolus*) türünden bazı alkaloidler elde edilmiştir (Li vd., 2010). Son yapılan çalışmalarda *Streptomyces* cinsine ait türlerin antioksidatif etkiye sahip etkenler ürettiği belirlenmiştir (Rao, 2013; Ser vd., 2015). Aktinomiset bakterileri içerisinde *Streptomyces* ve *Micromonospora* türleri sekonder metabolit üretimi açısından önemli bir yere sahiptir (Anderson & Wellington, 2001). Son yıllarda küresel bir sorun haline gelen, antibiyotiklere dirençli patojen sayısının artması, bakteriyel enfeksiyonların halk sağlığını olumsuz yönde etkilemesine neden olmuştur (Aghighi vd., 2004).

Endüstriyel teknolojiye kullanılan lakkaz enzimi, bazı *Streptomyces* türleri tarafından üretilir. Özellikle kâğıt ve boya sektöründe (*S. cyaneus*, *S. coelicolor*, *S. viridosporus* ve *S. psamaticus*) kullanılırlar (Demiralp vd., 2015). Halofilik özelliğe sahip yeni *Streptomyces* türlerinin biyoaktif potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir (Thumar vd., 2010). Tür teşhislerinde 16S rDNA gen bölgesinin analizi ve fenotipik testlerin birlikte değerlendirilmesi daha sağlıklı sonuçların ortaya çıkmasına katkı sağlar (Seçkin, 2018). 16S rDNA gen bölgesinin evrensel ve sabit bir işleve sahip olması, bakterilerin tanımlanmasına ve araştırmacılara

açık veri tabanlarını kullanılarak teşhisine olanak sağlamaktadır (Cavalier-Smith, 2002). 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması modern taksonomiye önemli bir boyut kazandırmıştır. PCR ve DNA sekans analizlerinin yaygınlaşması ile 16S rDNA gen bölgesinin dizi analizleri genetik ve mikrobiyoloji alanlarında bakteriyel suşların identifikasyonunda kilit nokta olmuştur. 16S rDNA gen bölgesi kullanılarak yapılan sistematik sınıflandırma, sağlıklı sonuç veren bir sınıflandırmadır (Brown-Elliott vd., 2006). Günümüzde 16S rDNA gen sekansına bağlı dizi analizleri sistematik taksonominin temelini oluşturmaktadır (Ludwig, 2007).

Bu çalışmada Aras Nehrinin belirli noktalarından alınan sediment örneklerinden *Streptomyces* türü bakterilerin izolasyonu, teşhisi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Aras nehri canlı çeşitliliği açısından çok önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle *Streptomyces* çeşitliliğinin tespit edilmesinin, mikrobiyolojik ve moleküler genetik alanlarında bilim dünyasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

MATERYAL VE METOT

Aras Nehri'nin 6 farklı noktasından tek örneklemede alınan sediment örneklerinden izole edilen *Streptomyces* bakteri türleri kullanıldı. Nem oranının tespiti için alınan, sediment örnekleri ön sıcaklık işlemine maruz bırakıldı ve her numunenin alındığı bölgenin pH (Hach) ölçümü yapıldı (Reed & Cummings, 1945).

***Streptomyces* ve Diğer Bakteri Türlerinin İzolasyonu, Koloni seçimi, Saflaştırılması ve Renk Gruplandırılması:** Klasik dilüsyon ve çalkalama yöntemi ve santrüjle ayırıştırma yöntemleri ile izolasyon çalışması yapıldı. Bunun için içerisine sikloheksimid, nistatin ve novobiosin antibiyotikleri ayrı ayrı eklenmiş Bennet's Agar (Merck) ve Medium 65 (Rowbotham & Cross, 1977) içeren petri kutularına ekim yapıldıktan sonra 25°C'de 10 gün süre ile inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapıldı. Bu aşamada bazı koloniler Bennet's Agar (Merck) üzerine transfer edilerek saflaştırıldı ve %20'lik gliserol çözeltisi içerisine konulup buzdolabında muhafaza edildi. Akabinde renk gruplandırması için pepton yeast extract agar ve oatmeal agar içeren petri kutularına ekim yapıldı ve 7 gün inkübe edildikten sonra renk durumuna göre gruplandırıldı (Seçkin & Özdemir, 2021).

Bilgisayar Yardımı ile Teşhis Çalışması: *Streptomyces* bakterilerinin teşhisi için büyüme ve gelişme, karbon kaynağı, azot kaynağı, antimikrobiyal aktivite, Antibiyotik duyarlılığı ve degradasyon testleri yapılarak sonuçlar bilgisayara ham veri olarak girilmiş ardından sonuçların analiz edilebilmesi amacıyla identax manuel yazılımı kullanıldı (Önalın & Seçkin, 2021).

Seçilecek Suşlardan Genomik DNA İzolasyonu:

Renk grubu sonuçlarına göre türler belirlenmesinin ardından spesifik koloniler saflaştırıldı. Besiyeri ortamında saflaştırılan bakteriler Mericon bacterial DNA isolation kit ile üretici firmanın talimatları doğrultusunda izole edildi. Bakteriye DNA izolasyonu QIAcube otomatize sistem cihazda gerçekleştirildi. İzole edilen DNA'ların saflık, konsantrasyon ve HRM özelliklerine bakılarak değerlendirme yapıldı (Önalın & Seçkin, 2021).

16S rDNA Geninin PCR ile Çoğaltılması ve Gen

Sekanslama işlemi: İzole edilmiş saf bakteri kolonileri kullanılarak elde edilen total genomik DNA'lar ile spesifik universal primerler kullanılarak (1492R (5'TACGGYTACCTTGTTACGACT-T3') ve 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3')) 16S rDNA gen amplifikasyonu gerçekleştirilerek doğrulukları teyit edildi. Bu amaçla izole edilen saf bakteri kolonilerinden sıvı besiyerlerinde kültür oluşturularak Sanger sekanslama yöntemi ile sekans analizi gerçekleştirildi. Elde edilen

nükleotid veriler biyoinformatik analizler ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Sekans verilerinin değerlendirilmesi: Elde edilen full gen sekans verileri Gen Bank verileri ile karşılaştırılarak tüm sekanslar CLC mainworkbench programında biyoinformatik olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar Graphpad prism ile istatistiksel olarak yorumlandı (Önalın, 2019).

BULGULAR

Alınan sediment örneklerinin Fizikokimyasal

Özellikleri: Aras Nehrinin geçtiği Erzurum Horasan, Kars Karakurt ve Iğdır Tuzluca bölgelerinden alınan sediment örneklerinden izole edilen *Streptomyces* bakteri türleri kullanıldı. Her bölgeden 12 metre aralıklarla örnekler toplandı. Numunelerin alındığı bölgelerden bazı görüntüler Şekil 1.'de verilmiştir. Numunelerin pH ölçümü ve nem oranları belirlendi. pH değerleri ve nem oranları Tablo 1.'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Örneklerin alındığı bölgelerden bazı görüntüler.

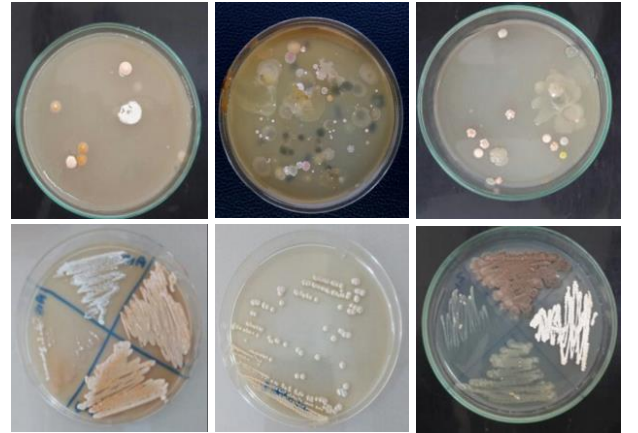
Figure 1. Some images from the regions where the samples were taken.

Tablo 1. Sediment örneklerinin alındığı bölgelerin pH ve nem oranları.

Table 1. pH and humidity ratios of the regions where sediment samples were taken.

Lab. No	Lokalite	Nem (%)	pH
A1	Erzurum Horasan	59.5	6.89
A2	Erzurum Horasan	60.2	7.02
A3	Kars Karakurt	65.2	7.10
A4	Kars Karakurt	64.1	6.90
A5	Iğdır Tuzluca	62.3	7.08
A6	Iğdır Tuzluca	62.8	7.20

Streptomyces ve Diğer Bakteri Türlerinin İzolasyonu, Koloni seçimi, Saflaştırılması ve Renk Gruplandırılması: Yapılan çalışmada üç bölgeden alınan altı sediment örneği klasik dilüsyon yöntemi kullanılarak saf kültür halinde besiyerlerine ekim yapılacak duruma getirildi. Çalışmada Bennet's agar ve M65 besiyerleri aktif olarak kullanıldı. Erzurum Horasan (A1, A2) lokalitesinden 2 bakteri, Kars Karakurt (A3, A4) lokalitesinden 3 bakteri ve Iğdır Tuzluca bölgesinden 2 bakteri morfolojik ve renk grubu dikkate alınarak izole edilmiştir. Daha sonra fenotipik testler, Spor zincir morfolojisi ve 16S rDNA çalışmaları için %20'lik gliserol çözeltisi içerisine konulup buzdolabında muhafaza edildi. Bakterilerin izolasyonu, saflaştırma ve renk gruplandırması sonucu ortaya çıkan bazı görüntüler Şekil 2.'de verilmiştir.



Şekil 2. İzolasyon, saflaştırma ve renk gruplandırmasıyla elde edilen bazı görüntüler.

Figure 2. Some images obtained as a result of isolation, purification and color grouping.

Bilgisayar Yardımı ile Teşhis Çalışması:

Bakterilerinin teşhisi için büyüme ve gelişme, karbon kaynağı, azot kaynağı, antimikrobiyal aktivite, antibiyotik duyarlılığı ve degradesyon testleri yapıldı. Yapılan testlerin sonucu Tablo 2.'de verilmiştir.

Tablo 2. Bakterilerinin teşhisi için yapılan testlerin sonuçları.**Table 2.** Results of tests for the diagnosis of bacteria.

Testler	Bakteriler						
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
Degredasyon testleri							
1. Guanin	+	+	+	+	+	+	+
2. Ksantin	+	-	+	+	+	+	+
3. Kazein	+	-	-	+	+	+	-
4. Arbutin	-	+	-	+	+	+	+
5. Üre	+	+	-	-	-	-	-
6. Jelatin	+	+	+	+	+	+	+
7. Pepton	-	-	-	-	-	-	+
Azot Kaynakları							
8. L-Asparagin	+	+	-	+	-	+	+
9. L-Sistein	+	+	+	+	+	+	+
10. L-Sistin	+	+	+	+	+	+	+
11. L-Trozin	+	-	+	+	+	+	+
12. L-Valin	+	+	+	+	+	+	+
13. L-Metionin	+	+	+	+	+	+	+
14. L-Serin	+	+	+	+	+	+	+
15. L-Arjinin	+	+	+	+	+	+	+
16. L-Fenilalanin	-	+	+	+	+	+	-
Karbon Kaynakları							
17. Laktoz	+	+	+	+	+	-	+
18. Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
19. Sukroz	+	+	+	+	+	+	+
20. Fruktoz	-	+	+	-	+	+	+
21. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+
22. Mannoz	+	+	+	+	+	+	+
23. Xylose	+	-	-	-	-	-	+
24. Maltoz	+	+	+	+	+	+	+
25. Ramnoz	+	+	+	+	+	+	+
26. Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+
Antibiyotik Duyarlılığı							
27. Rifamisin	+	+	+	+	+	-	+
28. Penisilin	+	+	+	-	-	-	-
29. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+
30. Oleandomisin	-	-	-	+	+	-	-
Gelişme (%w/v)							
31. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+
32. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+
33. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-
34. Sodyum azit (0.01)	-	-	+	-	-	-	+
35. Fenol (0.1)	+	-	-	-	+	+	+
36. Sodyum sitrat (0.1)	+	+	+	+	+	+	+
37. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+
Antimikrobiyal aktivite							
38. <i>Esheria coli</i>	-	+	+	+	+	-	+
39. <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	-	+	+	-
40. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	+	-

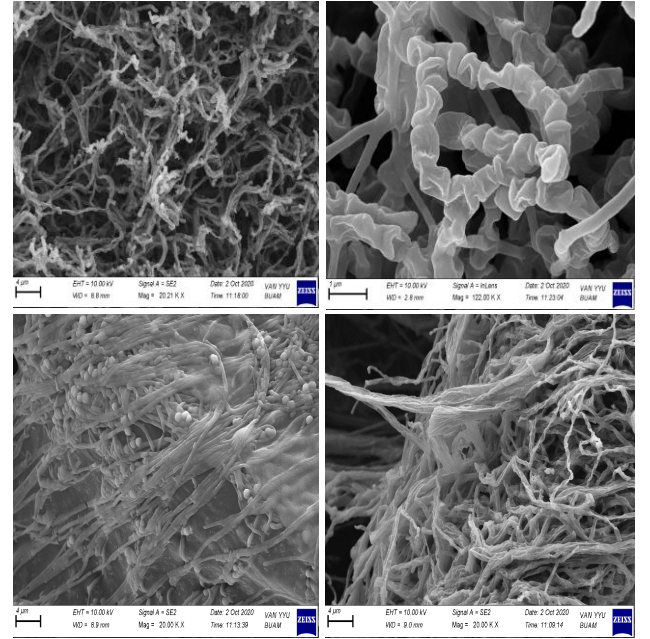
Spor Zincir Morfolojisinin Taramalı Elektron

Mikroskobu ile Belirlenmesi: Suşlar, Bennet's Agar (Merck) besiyerinde 10 gün 27.5 °C'de geliştirildikten sonra Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilim Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde SEM çekimleri yapılmıştır. Bazı Streptomyces izolatlarının SEM görüntüleri Şekil 3'te verilmiştir.

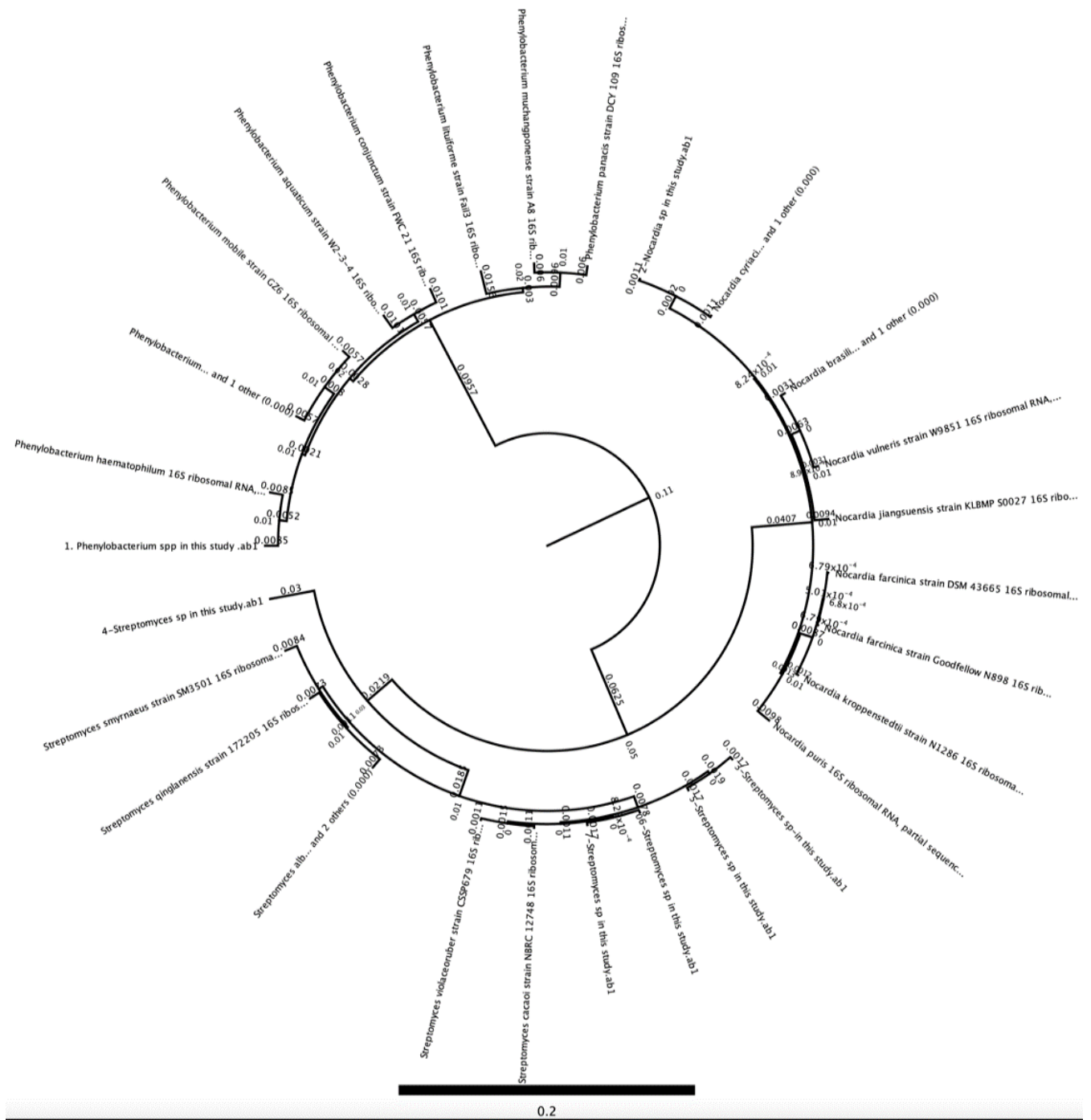
Gen Sekanslama işlemi ve Verilerin

değerlendirilmesi: Çalışma alanında izole edilen bakterilerin 16S rRNA gen bölgesine ait Sanger metodu ile elde edilen nükleik asit dizimleri bakterilerin

identifikasyonunda kullanılmıştır. Bu amaçla nükleik asit dizimleri CLC Mainworkbench yazılımı ile otomatik NCBI blastlaması sonuçlarını vermiş ve elde edilen sonuçlar ile aile bazında moleküler identifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Ardından, identifiye edilen bakterilerin genetik benzerliklerinin belirlenmesi amacıyla CLC Mainworkbench yazılımı ile nükleik asit tabanlı alignment analizi ve ardından tiplendirme analizi gerçekleştirildikten sonra benzerlikler % oranı ile filogenetik ağaç grafiği ile yorumlanmıştır. İzole edilen bakterilerin sekans verileri Şekil 4'te verilmiştir.

**Şekil 3.** Bazı Streptomyces izolatlarının Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüsü**Figure 3.** Scanning Electron Microscopy image of some Streptomyces isolates

Filogenetik sınıflandırma sonrasında çalışma kapsamında izole edilmiş bakterilerin her biri için Genbank blastlaması sonucunda en yakın sonuç veren türler ile benzerlik oranları araştırılmış ve bu sonuçlar doğrultusunda *Phenylobacterium* sp. izolatlarının GenBank verilerinde en yakın sonuç veren 10 sonuç ile birlikte değerlendirildiğinde kendi içlerinde 6 farklı dal oluşturduğu görülmüştür. *Nocardia* sp. izolatlarının genbankta en yakın sonuç veren 12 sonuç ile birlikte değerlendirildiğinde kendi içlerinde 8 farklı dal oluşturduğu görülmüştür. Bu çalışmada izole edilen *Nocardia* türünün ise diğer türlerden farklılık gösterdiği gözlenmiştir. *Streptomyces* sp izolatlarının izole edilen 4 türünün birbirine yakın genetik ilişkili olduğu 5. izolatan ise diğer izolatlardan farklı olduğu gözlenmiştir. GenBank'ta en yakın sonuç veren 8 sonuç ile birlikte değerlendirildiğinde kendi içlerinde 7 farklı dal oluşturduğu görülmüştür.



Şekil 4. İzole edilen bakterilerin sekans verileri.
Figure 4. Sequence data of isolated bacteria.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Streptomyces türleri, dünya çapında nehirlerde ve akarsularda yaygın olarak bulunan bir bakteri grubudur. Bu bakteriler birkaç nedenden dolayı önemlidir. İlk olarak, Streptomyces bakterileri, çoğu önemli biyolojik aktivitelere sahip olan çok çeşitli ikincil metabolitler üretme yetenekleriyle bilinmektedir. Bu metabolitler, çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılacak yeni ilaçların ve diğer bileşiklerin geliştirilmesi dahil olmak

üzere çeşitli amaçlar için kullanılabilir. İkincisi, Streptomyces bakterileri, sucul ekosistemlerin genel sağlığı için önemlidir. Bu bakteriler, nehirleri ve akarsuları sağlıklı ve üretken tutmaya yardımcı olan organik maddenin parçalanmasında ve besin maddelerinin geri dönüştürülmesinde çok önemli bir rol oynar. Son olarak, Streptomyces bakterileri su kalitesinin önemli göstergeleridir. Bu bakteriler ortamdaki değişikliklere karşı hassastır ve bunların varlığı veya yokluğu, zaman içinde su kalitesindeki değişiklikleri izlemek için

kullanılabilir. Genel olarak, *Streptomyces* türlerinin nehirlerdeki ve akarsulardaki önemi göz ardı edilemez. Bu bakteriler, su ekosistemlerinin sağlığı için gereklidir ve benzersiz yetenekleri onları çeşitli uygulamalar için değerli kaynaklar haline getirir (Önalın & Seçkin, 2021).

Streptomyces türleri, toprakta ve suda meydana gelen 500'den fazla türü içeren bir iplikli bakteri cinsidir. Birçok tür, topraktaki organik maddenin ayrışmasında önemlidir ve toprağın verimliliğine katkıda bulunur. Ek olarak *Streptomyces*, çok ilaca dirençli patojenlerin ortaya çıkması nedeniyle tıp ve tarımda gerekli olan, yapısal olarak çeşitli antibiyotikler üretmesiyle bilinmektedir (Anonim, 2023).

Aras nehrinin geçtiği üç bölgeden alınan numunelerden izole edilen bakterilerden toplamda yedi farklı bakteri türü elde edilmiştir. Alınan sedimentlerin nem oranları %59,5 ve %65,2 arasında değişmektedir. Sakarya ilinin ormanlık alanlarından alınan toprak numunelerinin pH değerlerinin 6,13 ile 7,16 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Özok & Özdemir, 2019). Aras nehrinden alınan numunelerin pH oranları ise 6,89 ile 7,20 arasında tespit edilmiştir. Erzurum, Kars ve Iğdır bölgelerinden toplamda 7 bakteri türü izole edilmiştir.

Mikroorganizmaların geleneksel mikrobiyolojik yöntemlere göre sınıflandırılması mikroorganizmaların taksonomik konumlarının net olarak belirlenmesini sağlayamamaktadır. Bu nedenle moleküler tekniklerle elde edilen bilgilerle birlikte morfolojik ve biyokimyasal verilerin değerlendirilmesinde artık polifazik taksonomi olarak adlandırılan ileri bir yaklaşım kullanılmaktadır (Prakash vd., 2007).

Bakterilerin spor zincir morfolojisinin detaylı görüntülerinin elde edilmesi için SEM çekimleri yapılmış olup budaklı bir yapının olduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında sediment örneklerinden elde edilen ve besiyeri ortamında izolasyonları gerçekleştirilen bakterilerin moleküler identifikasyonları amacıyla otomatik izolasyon robotu (QIAcube) cihazı ile total DNA izolasyonları gerçekleştirilmiş ve 16S rRNA dizi analiz verileri elde edilmiştir. Sapanca Gölü'nün 6 farklı bölgesinden alınan numunelerden izole edilen 4 farklı türün 16S rDNA sekans analizleri sonucuna göre izolatların *Streptomyces* cinsine dahil olduğu belirlenmiş ve NCBI GenBank verileri ile filogenetik ağaçları oluşturulmuştur (Özdemir & Ünal, 2019).

Elde edilen bakterilere ait nükleik asit dizilimleri CLC Mainworkbench programı ile lokus bölgelerine göre alignment analizi ile birleştirilmiştir. Ardından gerçekleştirilen filogenetik benzerlik oranları sonucunda izole edilen *Phenylobacterium* sp izolatlarının GenBank verilerinde en yakın sonuç veren 10 sonuç ile birlikte değerlendirildiğinde kendi içlerinde 6 farklı dal oluşturduğu görülmüştür. *Nocardia* sp izolatlarının

Genbankta en yakın sonuç veren 12 sonuç ile birlikte değerlendirildiğinde kendi içlerinde 8 farklı dal oluşturduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında izole edilen *Nocardia* türünün ise diğer türlerden farklılık gösterdiği gözlenmiştir. *Streptomyces* sp izolatlarının izole edilen 4 türünün birbirine yakın genetik ilişkili olduğu 5. izolatın ise diğer izolatlardan farklı olduğu gözlenmiştir. GenBank'ta verileri içerisinde yakın sonuç veren 8 sonuç ile birlikte değerlendirildiğinde kendi içlerinde 7 farklı dal oluşturduğu görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda izole edilen bakterilerin identifikasyonun hem kendi içlerinde hem de diğer bakteri aileleri ile farklılık oluşturması ve farklı ana dallar göstermesi sonucu ile uyumlu sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, izole edilen bakterilerin moleküler identifikasyonları göz önünde bulundurularak farklı genler yönünden ekspresyon analizleri ile detaylı farklılıklarının da ortaya konulması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (BAPVYYÜ) tarafından desteklenen FBA-2019-7939 nolu projesi desteği ile gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Aghighi, S., Bonjar, G.H., Rawashdeh, R., Batayneh, S. & Saadoun, I. (2004).** First Report of Antifungal Spectra of Activity of Iranian Actinomycetes Strains Against *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(4), 463-471. DOI: [10.3923/ajps.2004.463.471](https://doi.org/10.3923/ajps.2004.463.471)
- Anderson, A. & Wellington, S. (2001).** The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(3), 797-814. DOI: [10.1099/00207713-51-3-797](https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-797)
- Anonim, (2013).** 2012 Yılı Kars İli Çevre Durum Raporu, Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Kars İl Müdürlüğü, Kars, 132s.
- Anonim. (2023).** <https://www.britannica.com/science/Streptomyces>, Erişim Tarihi: 28.03.2022, Saat 08:55.
- Brown-Elliott, B.A., Brown, J.M., Conville, P.S. & Wallace, R.J. (2006).** Clinical and Laboratory features of the *Nocardia* spp. Based on current molecular taxonomy. *Clinical Microbiology*

- Reviews, **19**(2), 259-282. DOI: [10.1128/CMR.19.2.259-282.2006](https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.259-282.2006)
- Cavalier-Smith, T. (2002).** The neomuran origin of archaeobacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megalclassification. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **52**(1), 7-76. DOI: [10.1099/00207713-52-1-7](https://doi.org/10.1099/00207713-52-1-7)
- Cheng, C., Li, Y.Q., Asem, M.D., Lu, C.Y., Shi, X.H. & Li, X.C. (2016).** *Streptomyces xinjiangensis* sp. nov., an actinomycetes isolated from Lop Nur region, *Archives of Microbiology*, **198**(8), 785-791. DOI: [10.1007/s00203-016-1234-4](https://doi.org/10.1007/s00203-016-1234-4)
- Demain, A.L. (2014).** Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **41**(2), 185-201. DOI: [10.1007/s10295-013-1325-z](https://doi.org/10.1007/s10295-013-1325-z)
- Demiralp, B., Büyük, İ., Aras, S. & Cansaran-Duman, D. (2015).** Lakkaz Enziminin Endüstriyel ve Biyoteknoloji Alanlarında Kullanımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, **72**(4), 351-68.
- Goodfellow, M. & Simpson, K.E. (1987).** Ecology of Streptomyces. *Frontiers in Applied Microbiology*, **2**, 97-125.
- Hasani, A., Kariminik, A. & Issazadeh, K. (2014).** Streptomyces: Characteristics and Their Antimicrobial Activities. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, **2**(1), 63-75.
- Law, J.W.F., Ser, H.L., Duangjai, A., Saokaew, S., Bukhari, S.I., Khan, T.M. & Lee, L.H. (2017).** *Streptomyces colonosanans* sp. nov., A Novel Actinobacterium Isolated from Malaysia Mangrove Soil Exhibiting Antioxidative Activity and Cytotoxic Potential against Human Colon Cancer Cell Lines. *Frontiers in microbiology*, **8**, 877. DOI: [10.3389/fmicb.2017.00877](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00877)
- Lewin, G.R., Carlos, C., Chevrette, M.G., Horn, H.A., McDonald, B.R., Stankey, R.J., Fox, B.J. & Currie, C.R. (2016).** "Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenerg Applications". *Annual Review of Microbiology*, **8**(70), 235-254. DOI: [10.1146/annurev-micro-102215-095748](https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095748)
- Li, X.L., Xu, M.J., Zhao, Y.L. & Xu, J. (2010).** A novel benzo [f] [1,7] naphthyridine produced by *Streptomyces albogriseolus* from mangrove sediments. *Molecules*, **15**(12), 9298-9307. DOI: [10.3390/molecules15129298](https://doi.org/10.3390/molecules15129298)
- Ludwig W. (2007).** Nucleic acid techniques in bacterial systematics and identification. *International Journal of Food Microbiology*, **120**(3), 225-236. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.023](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.023)
- Önal, Ş. (2019).** Expression differences of stress and immunity genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) with different bacterial fish diseases. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, **71**(1), 1597.
- Önal, Ş. & Seçkin, H. (2021).** Miseq sequence identification of bacteria isolated from Çıldır Lake. *Eastern Anatolian Journal of Science*, **7**(2), 11-15.
- Özdemir K. & Ünal, D.H. (2019).** Sapanca Gölü (Sakarya) Havzası Toprak ve Sedimentlerinden *Streptomyces* Cinsi Bakterilerin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Teşhisi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **8**(3), 826-834. <https://doi.org/10.17798/bitlisfen.539750>
- Özok, Ö. & Özdemir, K. (2019).** Sakarya ili ormanlık alan topraklarından *Streptomyces* türlerinin izolasyonu, karakterizasyonu ve bazı ekstraselüler enzimlerin üretimini belirlenmesi. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, **7**(1), 64-71. DOI: [10.33409/tbbbd.595174](https://doi.org/10.33409/tbbbd.595174)
- Prakash, O., Verma, M., Sharma, P., Kumar, M., Kumari, K., Singh, A., Kumari, H., Jit, S. & Gupta, S.K. (2007).** Polyphasic Approach of Bacterial Classification - An Overview of Recent Advances. *Indian Journal of Microbiology*, **47**(2), 98-108.
- Procopio, R.E.L., Silva, I.R., Martins, M.K., Azevedo, J.L. & Araujo, J.M. (2012).** Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **16**(5), 466-471. DOI: [10.1016/j.bjid.2012.08.014](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014)
- Rao, K.V.R. & Rao, T.R. (2013).** Molecular characterization and its antioxidant activity of a newly isolated *Streptomyces coelicoflavus* BC 01 from mangrove soil. *Journal of Young Pharmacists*, **5**(4), 121-126. DOI: [10.1016/j.jyp.2013.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jyp.2013.10.002)
- Reed, J.F. & Cumming, R.W. (1945).** "Soil reaction glass electrodes and calorimetric methods for determining pH value of soil". *Soil science*, **59**, 97-104.
- Rowbotham, T.J. & Cross, T. (1977).** Rhodochrous-type organisms from freshwater habitats. *In Proceedings of the Society for General Microbiology*, **3**, 100-101.
- Seçkin, H. (2018).** *Van Gölüne Dökülen Akarsulardan Streptomyces Türlerinin İzolasyonu Teşhisi ve Moleküler Tanısı*, Doktora Tezi (Basılmamış) YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Seçkin, H. & Özdemir, K. (2021).** Determination of the growth rate of medicinally important *Streptomyces* bacteria in different media. *Van*

Sağlık Bilimleri Dergisi, **14**(3), 304-311. DOI: [10.52976/vansaglik.933104](https://doi.org/10.52976/vansaglik.933104)

Ser, H.L., Zainal, N., Palanisamy, U.D., Goh, B.H., Yin W.F. & Chan, K.G. (2015). *Streptomyces gilvigriseus* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from mangrove forest soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, **107**(6), 1369-1378. DOI: [10.1007/s10482-015-0431-5](https://doi.org/10.1007/s10482-015-0431-5)

Sharma, K.T., Mawlankar, R., Sonalkar, V.V., Shinde, V.K., Zhan, J., Li, W.J., Rele, M.V., Dastager, S.G. & Kumar L.S. (2016). “*Streptomyces lonarensis* sp. nov., isolated from Lonar Lake, a meteorite salt water lake in India”. *Antonie van Leeuwenhoek* **109**, 225-235, DOI: [10.1007/s10482-015-0626-9](https://doi.org/10.1007/s10482-015-0626-9)

Sousa, J. & Olivares, F. (2016). Plant growth promotion by Streptomyces: ecophysiology, mechanisms and application. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, **3**, 24. DOI: [10.1186/s40538-016-0073-5](https://doi.org/10.1186/s40538-016-0073-5)

Thumar, J.T., Dhulia, K. & Singh, S.P. (2010). Isolation and partial purification of an antimicrobial agent from halotolerant alkaliphilic *Streptomyces aburaviensis* strain Kut-8. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **26**(11), 2081-2087. DOI: [10.1007/s11274-010-0394-7](https://doi.org/10.1007/s11274-010-0394-7)