

Atıf İçin: Pat, F., Pedük, S. F., Akçay, N., Pat, H. K. K ve Arıcan, E. (2024). Eber Gölü Prokaryotik Çeşitliliğinin Metagenomik Çalışmasıyla Karakterizasyonu. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(1), 437-446.

To Cite: Pat, F., Pedük, S. F., Akçay, N., Pat, H. K.K & Arıcan, E. (2024). Characterization of Prokaryotic Diversity in Eber Lake through Metagenomic Analysis. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(1), 437-446.

Eber Gölü Prokaryotik Çeşitliliğinin Metagenomik Çalışmasıyla Karakterizasyonu

Fahri PAT¹, Sultan FİDAN PEDÜK¹, Neşe AKÇAY¹, Hatice Kübra KIZIL PAT², Ercan ARICAN^{3*}

Öne Çıkanlar:

- Prokaryotik çeşitlik
- Metagenomik
- 16s rRNA

Anahtar Kelimeler:

- Ekoloji
- Metagenomik
- Prokaryotik çeşitlilik
- Illumina dizileme
- 16S rRNA

ÖZET:

Eber Gölü, Türkiye'de göçmen kuşların geçiş rotası üzerinde yer almakta ve sazlık alanları sayesinde birçok kuş türüne doğal üreme ve yaşam alanı sağlamaktadır. Ülkemizde bu kadar önemli bir göl olmasına rağmen prokaryotik çeşitlilik konusunda yeterli çalışma olmadığı görülmüştür. Metagenomik analiz DNA izolasyonu ile elde edilen mikroorganizmaların türlerini, genetik yapılarını, fonksiyonel rollerini ve insan ile ekolojik sağlık üzerindeki etkilerini belirlemeyi mümkün kılmaktadır. Yeni nesil dizileme (YND), birçok DNA veya RNA örneğinin eşzamanlı olarak yüksek hızda ve yüksek hassasiyetle dizilenmesini mümkün kılan, modern bir DNA/RNA dizileme teknolojisidir. Bu çalışmamızda Eber Gölü'ne ait 16S ribozomal DNA (rDNA) (V3-V4 bölgeleri) dizilerinin metagenomik analizi için yüksek verimli YND yöntemleri kullanılmıştır. Prokaryotik çeşitliliği incelemek amacıyla MOTHUR yazılımı kullanılarak Illumina NovaSeq teknolojisi ile elde edilen dizi verileri analiz edilmiştir. Analizler sonucu Proteobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes ve Actinobacteria Şubelerinin baskın olduğu ortaya çıkarılarak Eber Gölü'ndeki prokaryotik çeşitlilik detaylı bir şekilde karakterize edilmiştir.

Characterization of Prokaryotic Diversity in Eber Lake through Metagenomic Analysis

Highlights:

- Prokaryotic diversity
- Metagenomic
- 16s rRNA

Keywords:

- Ecology
- Metagenomic
- Prokaryotic diversity
- Illumina Sequencing
- 16S rRNA

ABSTRACT:

Eber Lake is located on the migration route of birds in Turkey and provides natural breeding and habitat for many bird species thanks to its reed areas. Despite being such an important lake in our country, there has been insufficient research on prokaryotic diversity. Metagenomic analysis enables the determination of the species, genetic structures, functional roles, and their effects on human and ecological health of microorganisms obtained through DNA isolation. Next-generation sequencing (NGS) is a modern DNA/RNA sequencing technology that allows for the simultaneous high-speed and high-precision sequencing of many DNA or RNA samples. In this study, we used high-throughput NGS methods for metagenomic analysis of 16S ribosomal DNA (rDNA) (V3-V4 regions) sequences from Eber Lake. The obtained sequence data using Illumina NovaSeq technology was analyzed with MOTHUR software to investigate prokaryotic diversity. The analysis revealed that the Proteobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, and Actinobacteria phyla were dominant, and the prokaryotic diversity in Eber Lake was characterized in detail.

¹ Fahri PAT ([Orcid ID: 0000-0001-9858-0012](https://orcid.org/0000-0001-9858-0012)), Sultan FİDAN PEDÜK ([Orcid ID: 0000-0001-6975-2700](https://orcid.org/0000-0001-6975-2700)), Neşe AKÇAY ([Orcid ID: 0000-0002-1510-7244](https://orcid.org/0000-0002-1510-7244)) İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (Dr), İstanbul, Türkiye

³ Ercan ARICAN ([Orcid ID: 0000-0002-1676-5919](https://orcid.org/0000-0002-1676-5919)), İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

² Hatice Kübra KIZIL PAT ([Orcid ID: 0000-0002-2663-1199](https://orcid.org/0000-0002-2663-1199)), İstanbul, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ercan ARICAN, e-mail: earican@istanbul.edu.tr

Bu çalışma Fahri PAT'ın Doktora tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Küresel su kaynaklarının yaklaşık %0.8'ini oluşturan göller gibi tatlı su habitatları, sürdürülebilir ekosistemlerin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Garcia ve ark., 2014). Göl ekosistemleri birçok biyojeokimyasal aktivitenin merkezi olup, bu ekosistemlere bağımlı topluluklar için gerekli geniş bir biyolojik aktivite yelpazesinde yer alabilme potansiyeline sahiptirler (Tranvik ve ark., 2009; Eiler ve ark., 2014). Bu ekosistemlerde gözlemlenen yoğun dinamizm, çevresel koşullarında hızlı değişikliklere neden olabilmektedir. Tatlı su ekosistemlerinin çevresel durumu, ekolojik parametrelerin ölçülmesi yoluyla değerlendirilebilir (Carpenter ve ark., 2011). İnsan müdahalesi ve kirlilik, yaklaşık olarak tatlı su ekosistemlerinin %80'inin su güvenliği sorunlarıyla karşı karşıya kalmasına neden olan su kalitesinin bozulmasında rol oynamaktadır (Vörösmarty ve ark., 2010). Bu nedenle, sürdürülebilirliklerini sağlamak için farklı tatlı su ekosistemlerinin ekolojik durumlarını verimli bir şekilde karakterize etmeye ihtiyaç vardır.

Tatlı su rezervuarları ve sürdürülebilirliği, özellikle artan tatlı su ve sanayileşme talebinin bu sonlu kaynak üzerinde ciddi kısıtlama getirdiği gelişmekte olan ülkelerde ilgi çekici bir konu olmuştur (Bhaduri ve ark., 2015). Birleşmiş Milletler'e bağlı UN-Water kuruluşu, küresel ısınma, kuraklık ve nüfus artışı gibi faktörler nedeniyle su talebinin artmasıyla birlikte tatlı su kaynaklarının azaldığını bildirmiştir ("Wake up to the Looming Water Crisis, Report Warns," 2021). Dünya'nın yüzeyinin %75'i su ile kaplı olmasına rağmen, insanlar tarafından kullanılabilir tatlı su miktarı sınırlıdır. Mevcut su kaynaklarının %1'den azı tatlı su kaynaklarıdır ve hem ekosistem hem de insan kullanımı için uygun olan tatlı su kaynakları sadece 105 bin kilometrekarelik bir alana denk gelmektedir. Dünya genelinde yaklaşık 35 milyon kilometreküp tatlı su bulunmaktadır ("Water: Facts and Trends," n.d.).

Türkiye, beklendiğinin aksine su kaynakları açısından zengin bir ülke değildir. Türkiye'de nüfusun giderek artması ve su kullanım alanlarının genişlemesi, ülkemizin "su fakiri" bir ülke olma yolunda ilerlemesine sebep olmaktadır. Bu durum, su kaynaklarının sürdürülebilir şekilde kullanımı ve yönetimi açısından büyük önem taşımaktadır (kulturportali.gov.tr, 2023). Devlet Su İşleri (DSİ) resmi internet sitesinde belirtilen kriterlere göre, ülkelerin su zengini veya su fakiri olarak sınıflandırılması, yıllık kişi başına düşen su miktarına bağlıdır. Bu sınıflandırmaya göre, yıllık kişi başına düşen su miktarı 8.000 m³'ten fazla olan ülkeler "su zengini", 2.000 m³'ten az olan ülkeler "su kıtlığı yaşayan ülkeler" ve 1.000 m³'ten az olan ülkeler ise "su fakirliği çeken ülkeler" olarak kabul edilmektedir. Türkiye'de yıllık kişi başına düşen su miktarı, DSİ'nin verilerine göre yaklaşık 1519 m³'tür. Bu nedenle Türkiye, su kıtlığı yaşayan ülkeler kategorisinde yer almaktadır (kulturportali.gov.tr, 2023).

Eber Kasabası sınırlarında bulunan göl, Afyonkarahisar'ın Çay İlçesi'nde yer almaktadır ve Türkiye'nin 12. büyük gölüdür. Aynı zamanda, Afyonkarahisar-Bolvadin bölgesindeki en önemli sulak alanlardan biridir. Bu gölün en derin noktası 21 metre olup, yüzölçümü 150 kilometrekare ve deniz seviyesinden yüksekliği 967 metredir. Eber Gölü'nde yetişen Eber Sarısı adlı endemik bitki türü dünya genelinde yalnızca burada bulunmaktadır. Sultan Dağları'nın kuzeybatı yamaçlarıyla Emirdağları'nın güney uzantıları arasında, tektonik bir göl olan Akarçay-Eber kapalı havzası içinde yer almaktadır. Türkiye'de göçmen kuşların göç rotası üzerinde yer alan Eber Gölü, sahip olduğu sazlık alanlar sayesinde birçok kuş türüne üreme ve yaşam alanı sağlamaktadır. Bu gölde, ekonomik açıdan en yüksek değere sahip olan kamış üretimi yapılmaktadır ve aynı zamanda sazan, turna ve aynalı sazan balığı gibi türler de bulunmaktadır (Goller.gen.tr.2021). Eber gölünün coğrafi ve tüketilebilir önemine rağmen, bu ortamlardaki bakteri topluluklarının metagenomik profillemesi hakkındaki bilgiler eksiktir (Şekil 1).

Biyoteknolojik ve tıbbi öneme sahip yeni genler, metabolik yollar ve önemli ürünlerin keşfi için metagenomik değerli bir araçtır (Culligan ve ark., 2014). Yüksek kapasiteli DNA dizileme teknolojilerinin ortaya çıkışı, metagenomik araştırmaların çeşitli ortamlardaki mikrobiyal toplulukların sadece bileşimini değil, aynı zamanda işlevsel yeteneklerini de karakterize etmeye yönelik bir dönüşüm sağlamaktadır (Jovel ve ark., 2016). Metagenomik analizler, hızlı ve yüksek doğrulukla gerçekleştirilebilen YND yöntemleri ile yapılmaktadır. Bu teknoloji, bitki, bakteri, maya, küf, virüs gibi mikroorganizmaların genomlarını başarılı bir şekilde dizilemeyi sağlamaktadır. Bugün, Illumina Genome Analyzer, Complete Genomics, Applied Biosystems SOLID, Helios ve IonTorrent gibi popüler YND araçları kullanılmaktadır (Jongman ve ark., 2020; Nair ve ark., 2020).

YND teknolojileri, son yıllarda geliştirilmiş en önemli teknolojilerden biri olarak ortaya çıkmış ve bugün kullanılan teknolojiler arasında yer almakta olup, yüksek doğruluk ve ultra hızlı dizileme özellikleri nedeniyle transkriptom analizi, ploidi düzeyinin belirlenmesi, moleküler belirteç geliştirilmesi ve mRNA profili belirlenmesi gibi birçok çalışmada kullanılabilir. Bu çalışmada kullanılabilmektedir.

Bu çalışma, Eber Gölü'nün YND yöntemleri kullanılarak metagenomik değerlendirmesini sunmaktadır.



Şekil 1. Eber Gölünün coğrafi konumunu gösteren Türkiye haritası (Google maps, 2020)

MATERYAL VE METOT

Örneklerin Toplanması

Bu araştırma için, göçmen kuşların göç rotaları üzerindeki Eber Gölü seçilmiştir. Su örnekleri, Eber Gölü'nden Aralık 2019'da steril kaplarda toplanmıştır (Şekil 1). Su örnekleri E1(38.6156136,31.1611862), E2(38.6147305,31.0937524) ve E3(38.6147305,31.093754) lokasyonlarından toplanmıştır. Su örnekleri yüzey altı tabakasından (1 m derinlik), su sütununun orta

segmentinden ve sedimanın 1m üzerindeki su tabakasından eşit oranlarda 1 L su örneği alınmıştır. Su örnekleri DNA izolasyonuna kadar karanlıkta 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Örneklerin pH değeri SM 4500 H+ B pH metre cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

DNA izolasyonu

Çalışmada, su örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır: 1 L su örneği, 0.22 µm steril filtre kâğıdı (Merck Millipore, Darmstadt, Almanya) kullanılarak filtre edilmiştir. Filtre kâğıdı 2 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. DNA izolasyonu Qiagen DNeasy PowerWater Kit üreticinin talimatlarına göre yapılmıştır (Gilbert vd., 2011). DNA konsantrasyonu ve saflığı Thermo Scientific NanoDrop 2000 spektrofotometre cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Cseke ve ark., 2003). İzole edilen DNA örnekleri 16S rDNA dizilemesi ve metagenomik analizleri için Gen Ova, İstanbul, Türkiye gönderilmiştir.

Dizileme ve biyoinformatik analizi

341F: 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' / 805R: 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3' primerleri, 16S rDNA'nın V3-V4 bölgelerini hedefleyen bir tasarıma sahiptir. Bu bölgeler, yaklaşık olarak 465 baz çifti uzunluğundadır. Amplifiye edilen kütüphane, NovaSeq platformunda çift yönlü okuma için kullanılmıştır (2x250 baz çifti) (Klindworth vd., 2013).

Toplanan veriler, Mothur v.1.48.0 yazılımı (Schloss ve ark., 2009) kullanılarak analiz edilmiştir. İleri ve geri okumalar, kontigler halinde birleştirilip filtreleme işlemine tabi tutulmuştur. Belirsizlik içeren veya 8 baz çiftinden uzun homopolimer içeren diziler filtrelenmiştir. Filtreleme işleminden sonra, tekrarlayan diziler tekilleştirilmiş ve ardından SILVA v132 referans küçük alt birim rRNA gen hizalaması veritabanı (Quast ve ark., 2013) kullanılarak hizalanmıştır. Başlangıç ve bitiş pozisyonları, tüm hizalamayı kapsamayan dizileri elemek için %95 kesim değeri kullanılarak optimize edilmiştir.

Hizalamalar yapıldıktan sonra, boşluk veya nokta karakterleri içeren sütunlar çıkarılmış ve diziler ikinci kez tekrarsız hale getirilmiştir. Azami 100 baz çifti farklılığına sahip diziler, VSEARCH yönteminin Mothur sürümü kullanılarak ön kümeleme ve chimeraların eleme işlemiyle ortadan kaldırılmıştır (Rognes ve ark., 2016). Naive Bayes sınıflandırıcısı kullanılarak, Wang tekniği (Wang ve ark., 2007) ile SILVA v132 referans taksonomi veritabanına karşı %70 çapraz doğruluk eşiğiyle diziler sınıflandırılmıştır.

Kloroplast, Mitokondri ve Eukarya dizileri elemine edildikten sonra, elde edilen diziler optiClust yöntemi (Westcott ve Schloss, 2017) kullanılarak %99 benzerlikle kümeleme yapılmıştır. Her bir kümedeki en yaygın diziye dayanarak, her bir OTU için uzlaşma sınıflandırmaları ve temsilci dizileri oluşturulmuştur. Mothur'da veri işleme işleminden sonra, OTU'lar daha da filtrelenmiştir. Bakteri topluluklarının bileşimi, çeşitli taksonomik ölçeklerde incelenmiştir.

Taksonomik grupların görselleştirilmesi

KRONA aracı (Ondov ve ark., 2011), örneğin taksonomik çeşitliliğini gösteren etkileşimli çizelgeler oluşturmak için kullanıldı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Alınan su örneklerinin DNA izolasyonu sonrasında spektrofotometrik ölçüm ile elde edilen konsantrasyon değerleri Çizelge 1'te belirtilmiştir. Eber gölünden alınan 3 örneğin ikisinde pH değerleri aynı ölçülmesine rağmen E1 örneğinde gözle görülür yükseklik olduğu gözlenmiştir (Çizelge 1).

YND okumaları, kalite kontrolünden geçirildikten sonra filtrasyon prosedürü ile 29.180.000 kaliteye uygun okuma elde edilmiştir. Bu filtrelenmiş okumalar, make.contig birleştiricisi kullanılarak

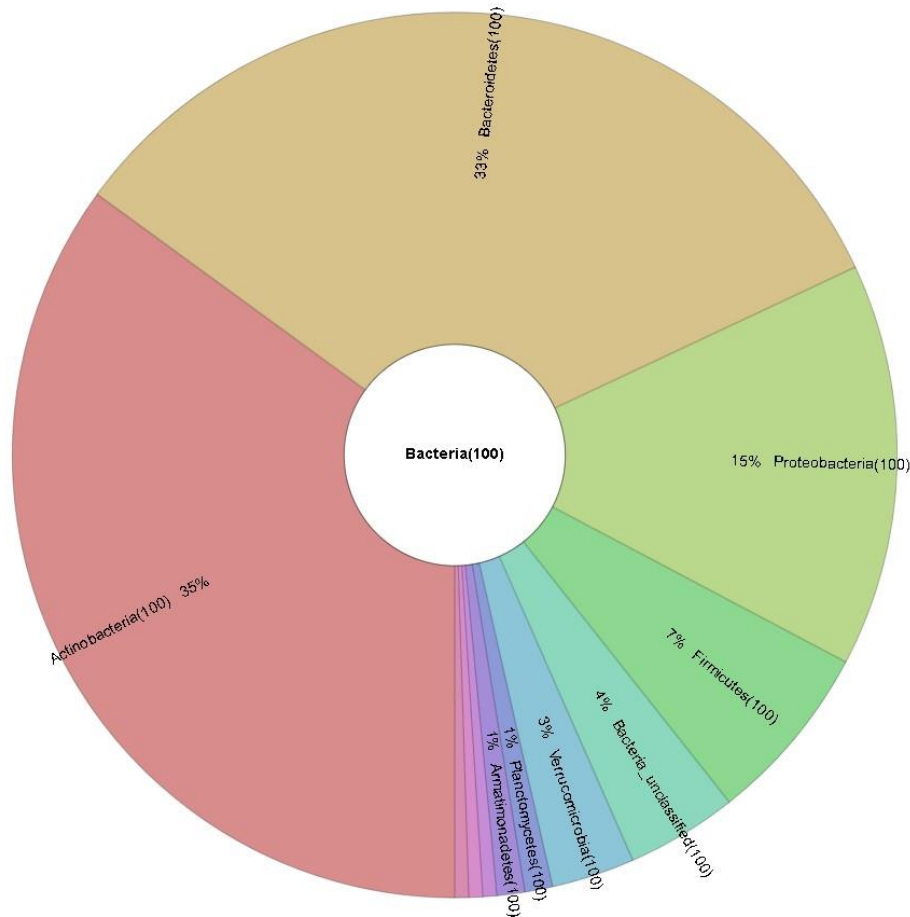
Eber Gölü'ndeki 80.561 contig birleştirilmiştir. Contiglerin ortalama GC içeriği 54 ± 4 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 1. DNA izolasyonu yapılan örneklerin konsantrasyon değerleri

Çalışma Alanı	Örnek Kodu	Konsantrasyon (ng/μl)	pH
Eber Gölü	E1	45.2	8.69
	E2	183.3	6.62
	E3	36	6.62

Eber Gölü'ndeki prokaryotik mikroorganizma çeşitliliği, metagenomik DNA dizi analiziyle belirlenmiştir. Bu amaçla, öncelikle OTU'lar (Operational Taxonomic Units) belirlenmiş ve her bir OTU'yu temsil eden diziler saptanarak taksonomik atamalar yapılmıştır. Taksonomik analiz, farklı taksonomik basamaklara göre yapılarak örneklerdeki mikroorganizma çeşitliliği belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda toplamda 1 alem, 11 şube, 19 sınıf, 28 takım, 37 aile ve 49 cins tespit edilmiştir.

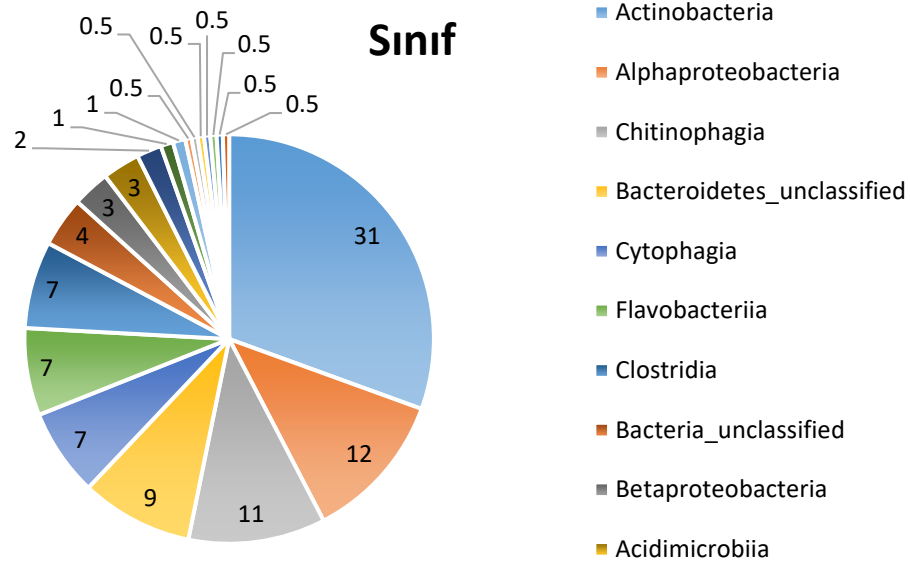
Tespit edilen mikroorganizmaların taksonomik bilgileri ve görülme yüzdeleri krona grafikleri ile gösterilmiştir. Prokaryotik şube bilgileri kullanılarak Şekil 2 oluşturulmuştur.



Şekil 2. Eber Gölü şube bazında prokaryotik çeşitlilik oranları Krona grafiği

Bakteri Topluluklarının Karakterizasyonu

Eber Gölü'nün tatlı su ortamında önemli düzeyde bakteri topluluğu çeşitliliği gözlemlendi. Actinobacteria şubesinin gölde baskın olduğu görüldü (%35). Bacteroidetes şubesi Eber Gölü'ndeki ikinci en baskın şube olurken (%33), Proteobacteria (%15) ve Firmicutes (%7) sırasıyla Eber Gölü'ndeki en bol şube olarak bulundu (Şekil 2).



Şekil 3. Eber Gölü'nün sınıf bazında mikroorganizma yüzde dağılım grafiği

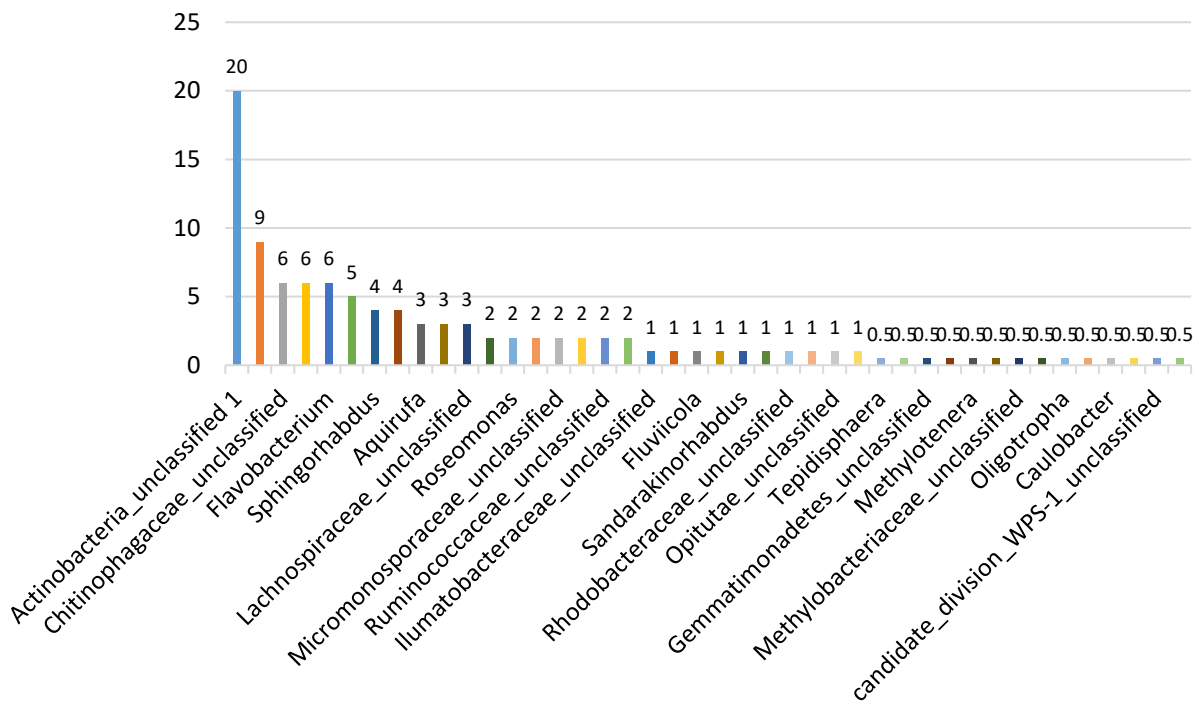
Sınıf düzeyinde değerlendirildiğinde Actinobacteria şubesinin Actinobacteria (%31) sınıfı en baskın sınıf olarak bulunmuştur. Bunu Acidimicrobiia izlemektedir. Bacteroidetes şubesi üyeleri incelendiğinde ise en baskın sınıf Chitinophagia (%11), Cytophagia (%7) ve Flavobacteriia (%7) gelmektedir. Proteobacteria Şubesi içerisinde ise Alphaproteobacteria (%12), Betaproteobacteria (%3) baskındır. (Çizelge 2) Takım düzeyinde incelediğimizde ise en baskın 3 takım Chitinophagales (%11), Cytophagales (%7), Flavobacteriales (%7) ve Micrococcales (%7) takımlarıdır. Aile düzeyinde ise en baskın 3 aile Chitinophagaceae (%11) Flavobacteriaceae (%6), Sphingomonadaceae (%4)'dir. Cins düzeyinde ise *Sediminibacterium* (%5), *Flavobacterium* (%6) ve *Sphingorhabdus* (%4) cinsleri en baskın cinslerdir (Şekil 4). Ancak yaptığımız çalışma sonucunda örnekte 49 farklı prokaryot cinsi bulunmaktadır.

Eber Gölü'nde sınıf düzeyinde Alphaproteobacteria, Chitinophagia, Actinobacteria son derece baskındır. Takım olarak baktığımızda ise özellikle Chitinophagales, Cytophagales, Flavobacteriales ve Clostridiales takımı grubu oldukça yoğundur. Clostridiales takımı üyelerinin ürettikleri enzimlerin bazıları biyoremediasyon için kullanılmaktadır (Sembries ve ark., 1997). Sphingomonadaceae ailesi üyelerinin de benzer şekilde biyoremediasyon ile ilgili üyeleri olduğunu bilinmektedir (Balkwill vd. 2006).

Flavobacteria sınıfının üyelerinin balık türlerinde bakteriyel soğuk su hastalığı olarak tanımlanan bir hastalığa sebep olduğu bilinmektedir (Cipriano ve ark., 2005). Bu da Eber Gölü'nde bulunan *Cyprinus carpio*, *Cyprinus carpio morpha noblis*, *Esox lucius*, *Gobio gobio* türleri için önemli tehlike oluşturmaktadır. Özellikle yöre halkının gölden balıkçılık ile geçimlerini sağladıkları düşünülürse tedbir alınması önem arz etmektedir. Ayrıca göl örneğinden elde ettiğimiz *Akkermansia* cins üyelerinin probiyotik olarak kullanılabilirliğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Bu da Eber Gölü'nün biyoteknolojik açıdan da önemli kullanım alanı olduğunu göstermektedir (Polat ve Ekici 2019). Diğer tatlı su gölleri çalışmalarında tespit edilen (Hahn ve ark., 2014), tatlı su göllerinin karakteristik grubu olan *Rhodoluna* cinsini Eber Gölü'nde yapmış olduğumuz bu çalışmamızda tespit edilmiştir. Nijerya'nın Niger Delta gibi kıyı alanlarının petrol kirliliği sonrası yapılan kirlenmiş su kütlelerinde yerli bakteriyel topluluklarının YND ile araştırılması sonunda *Methylotenera* cinsinin önemli oranda varlığı tespit edildi (He ve ark., 2022). Eber Gölü'nde yaptığımız bu çalışmada da *Methylotenera* varlığı saptandığından dolayı gölün biyoteknolojik önemini ortaya koymaktadır. Eber Gölü

örneklerinde rastladığımız *Phenylobacterium* cinsi üyelerinin Kuri ve ark. (2019)'nın yaptıkları çalışmaya göre petrolün parçalanmasında rol oynadığı gösterilmiş ve bu cinsin üyelerinin petrol ile kirlenmiş toprakların biyoremediasyon ile temizlenmesinde kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Iliev vd. (2017) Tsankov Kamak ve Batak Göl'lerin de (Bulgaristan) yaptıkları çalışmada Proteobacteria şubesi üyelerinin %70-86.6 oranında bulmuşlardır. Bulgaristan'daki göllerde Actinobacteria (5.8–21.8%) oranında bulunmuşken Eber gölünde %35 oranında olduğu ve Eber gölü çalışmamızda ise Proteobacteria şubesi %15 oranında olduğu yani Eber gölü prokaryotik çeşitliliğinin Bulgaristan'daki göllerden oldukça farklı olduğunu ortaya koymuştur. Her üç tatlı su gölünde yapılan metagenomik araştırmalar sonucunda elde edilen taksonomik veriler arasındaki farklılığın, göllerin bulunduğu coğrafik konumlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Cins (%)



Şekil 4. Eber Gölü'nün cins bazında prokaryotik çeşitliliği grafiği

SONUÇ

Çalışmada İç Anadolu'nun önemli sulak alanlarından biri olan Eber Gölü'nün prokaryotik çeşitliliği tespit edilmiş ve temiz su göllerindeki mikroorganizmaların biyoteknolojik potansiyellerinin değerlendirilmesine olanak tanıyan çeşitliliğin belirlenmesi de yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda tespit edilen *Flavobacteriia* üyelerinin balık türlerinde bakteriyel soğuk su hastalığına sebep olduğu bilindiği için buna yönelik çalışma başlatılarak alınacak tedbirler ile göldeki balık popülasyonunun devamlılığı sağlanmalıdır. Böylece yöre halkının geçim kaynağı olan balıkçılık faaliyetlerine de katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Eber Gölünde ortaya çıkardığımız prokaryotik çeşitlilik çalışması ile Eber endemiği olan Eber sarısının devamlılığı için yapılabilecek çalışmalarda temel oluşturacaktır. Bu çalışmamız, Eber gölündeki prokaryotik çeşitliliğin karakterizasyonuna yönelik öncül çalışmalardan biridir ve gelecekte bu tip ekosistemlerde tanımlanmamış yeni bakteri türlerinin ve izolatlarının biyoteknolojik potansiyelleriyle birlikte tanımlanmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca, çalışmamız göl ekosisteminin belirlenmemiş çeşitliliğine vurgu yaparak, gelecekteki çalışmalar için temel

oluşturmuştur. Gelecekteki çalışmalarda, gölün farklı derinlik ve lokasyonlarından örnekler alınarak analizlerin detaylandırılması planlanmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın laboratuvar çalışmaları İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi moleküler biyoloji ve genetik laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından finanse edilen bu çalışma, proje numarası: FDK-2019-34349, Türkiye

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Anonim. (2023). Türkiye Kültür Portalı URL: <https://www.kulturportali.gov.tr/turkiye/afyonkarahisar/TurizmAktiviteleri/eber-golu> (accessed date: March 07, 2023).
- Balkwill, D. L., Reeves, R. H., Drake, G. R., Reeves, J. Y., Crocker, F. H., King, M. B., & Boone, D. R. (1997). Phylogenetic characterization of bacteria in the subsurface microbial culture collection. *FEMS microbiology reviews*, 20(3-4), 201–216. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00309.x>
- Bhaduri, Anik & Ringler, Claudia & Dombrowski, Ines & Mohtar, Rabi & Scheumann, Waltina. (2015). Sustainability in the water–energy–food nexus. *Water International*. 40. 723-732. 10.1080/02508060.2015.1096110.
- Carpenter, Stephen & Cole, Jonathan & Pace, M & Batt, R & Brock, WA & Cline, Timothy & Coloso, James & Hodgson, James & Kitchell, J & Seekell, DA & Patrick, Laura & Weidel, Brian. (2011). Early Warnings of Regime Shifts: A Whole-Ecosystem Experiment. *Science* (New York, N.Y.). 332. 1079-82. 10.1126/science.1203672.
- Cipriano, R.C. ve R.A. Holt. 2005. *Flavobacterium psychrophilum*, cause of Bacterial Cold-Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. Fish Disease Leaflet No. 86. United States Dept. of the Interior. U.S. Geological Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, WV.
- Culligan, E.P., Sleator, R.D., Marchesi, J.R., Hill, C., 2014. Metagenomics and novel gene discovery. Promise and potential for novel therapeutics. *Virulence* 5, 399–412.
- Cseke, L.J., Kaufman, P.B., Podila, G.K., & Tsai, C.-J. (2003). Handbook of Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press. doi:<https://doi.org/10.1201/9781420041712>
- Eiler, A., Zaremba-Niedzwiedzka, K., Martínez-García, M., McMahon, K. D., Stepanauskas, R., Andersson, S. G., & Bertilsson, S. (2014). Productivity and salinity structuring of the microplankton revealed by comparative freshwater metagenomics. *Environmental microbiology*, 16(9), 2682–2698. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12301>.

- Garcia Moreno, Jaime & Harrison, Ian & Dudgeon, David & Clausnitzer, V. & Darwall, William & Farrell, Tracy & Savy, C. & Tockner, Klement & Tubbs, N.. (2014). Sustaining Freshwater Biodiversity in the Anthropocene. 10.1007/978-3-319-07548-8_17. Gulçin, İ., Taslimi, P., Aygün, A., Sadeghian, N., Bastem, E., Kufrevioglu, O. I., ... & Şen, F. (2018). Antidiabetic and antiparasitic potentials: Inhibition effects of some natural antioxidant compounds on α -glycosidase, α -amylase and human glutathione S-transferase enzymes. *International journal of biological macromolecules*, 119, 741-746.
- Goller.gen.tr. (03.04.2021). Eber Gölü. Goller.gen.tr. <https://www.goller.gen.tr/eber-golu.html> (Erişim adresi: 14 03, 2023).
- Gilbert et al. (2011). The earth microbiome project: The meeting report for the 1st international earth microbiome project conference, Shenzhen, China, June 13th–15th 2011. *Standards in Genomic Sciences*, 5(2), 243–247. doi:<https://doi.org/10.4056/sigs.2134923>
- He, R., Cui, Y., Li, Y., & Ge, X. (2022). Tetrahydroisoquinoline N-methyltransferase from *Methylotenera* Is an Essential Enzyme for the Biodegradation of Berberine in Soil Water. *Molecules*, 27(17), 5442. <https://doi.org/10.3390/molecules27175442>
- Hahn, M. W., Schmidt, J., Taipale, S. J., Doolittle, W. F., & Koll, U. (2014). *Rhodoluna lacicola* gen. nov., sp. nov., a planktonic freshwater bacterium with stream-lined genome. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt 9), 3254–3263. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.065292-0>
- Kuri, M. L., Kumari, V., & Roy, S. (2019). Phenylbacterium Korensee Best Indigenous Petroleum Hydrocarbon Degrading Bacteria Isolated from Contaminated Soil of Bahrur, Alwar Region, India. *International Journal of Contemporary Research and Review*, 10(08), 20203–20211. <https://doi.org/10.15520/ijcrr.v10i08.729>
- Klindworth, et al. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and nextgeneration sequencing-based diversity studies. *Nucleic acids Research*, 41(1)
- Iliev, I., Yahubyan, G, Marhova, M, et al. Metagenomic profiling of the microbial freshwater communities in two Bulgarian reservoirs. *J Basic Microbiol.* 2017; 57: 669– 679. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700137>
- Jongman, M., Carmichael, P.C., Bill, M., 2020, Technological advances in phytopathogen detection and metagenome profiling techniques, *Current Microbiology*, 77, 675-681.
- Jovel, J., Patterson, J., Wang, W., Hotte, N., O'Keefe, S., Mitchel, T., Perry, T., Kao, D., Mason, A. L., Madsen, K. L., & Wong, G. K. (2016). Characterization of the Gut Microbiome Using 16S or Shotgun Metagenomics. *Frontiers in microbiology*, 7, 459. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00459>
- Nair, H. P., & Bhat, S. G. (2019). Metagenomic data on bacterial diversity profiling of Arabian sea sediment by amplicon sequencing. *Data in brief*, 28, 104791. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104791>
- Ondov BD, Bergman NH, Phillippy AM. (2011). Interactive metagenomic. *BMC Bioinf*, 12:385. doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-385>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., et al. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing. *Nucleic Acids Res.*, 41, D590–D596. doi:<https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Polat, H. ve Ekici, L., 2019. *Akkermansia muciniphila*: Obezite ve Diyabetten Korunmada Yeni Bir Alternatif Olabilir mi?. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16, 533-543.

- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., ve Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 1–22. doi:<https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Sembries, S., & Crawford, R. L. (1997). Production of *Clostridium bifermentans* Spores as Inoculum for Bioremediation of Nitroaromatic Contaminants. *Applied and environmental microbiology*, 63(5), 2100–2104. <https://doi.org/10.1128/aem.63.5.2100-2104.1997>
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, . (2009). Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75, 7537–7541. doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.01541-1549>
- Vörösmarty, C. & McIntyre, P. & Gessner, Mark & Dudgeon, David & Proussevitch, Alexander & Green, Pamela & Glidden, Stanley & Bunn, Stuart & Sullivan, Caroline & Reidy Liermann, Catherine & Davies, Peter. (2010). Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*. 467. 555-561. 10.1038/nature09440.
- Wake up to the looming water crisis, report warns. (2021, October 11). Retrieved from <https://public.wmo.int/en/media/press-release/wake-looming-water-crisis-report-warns>
- Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., ve Cole, J. R. (2007). Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 5261–5267. doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.00062-67>
- Water: Facts and trends. (n.d.). Retrieved from <https://www.wbcd.org/Programs/Food-and-Nature/Water/Resources/Water-Facts-and-trends>
- Westcott, S. L., ve Schloss, P. D. (2017). OptiClust, an improved method for assigning amplicon-based sequence data to Operational Taxonomic Units. *mSphere*, 2:e00073-17. doi:<https://doi.org/10.1128/mSphereDirect.00073-17>
- Tranvik, Lars & Downing, John & Cotner, James & Loiselle, Steven & Striegl, Robert & Ballatore, Thomas & Dillon, Peter & Finlay, Kerri & Fortino, Kenneth & Knoll, Lesley & Kortelainen, Pirkko & Kutser, Tiit & Larsen, Soren & Laurion, Isabelle & Leech, Dina & Mccallister, S. & Mcknight, Diane & Melack, John & Overholt, Erin & Weyhenmeyer, Gesa. (2009). Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. *Limnology and Oceanography*. 54. 2298-2314. 10.4319/lo.2009.54.6_part_2.2298.