

Yıldız Gölü Sedimentinden İzole Edilen Aktinobakterilerin Antimikrobiyal ve Enzim Üretim Kapasitelerinin Araştırılması

Kadriye ÖZCAN^{1*}

¹Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Giresun, Türkiye

*Sorumlu Yazar: kadriye.ozcan@giresun.edu.tr

Geliş Tarihi: 12.05.2019

Kabul Tarihi: 03.06.2019

Öz

Bu çalışmada, Yıldız Gölü (Gümüşhane) sedimentinden aktinobakteri izolasyonu gerçekleştirilmiş ve izolatlar antimikrobiyal aktivite ve enzim üretme kapasiteleri (amilaz, lipaz, proteaz, pektinaz, selüloz) bakımından incelenmiştir. Tarama, uygun besiyeriler içeren petrielerde gerçekleştirilmiştir. İzolasyon için SCA besiyeri kullanılmış ve besiyeriye nistatin ve nalidiksik asit ilave edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite tespiti için, çapraz çizgi ekim yöntemi ve *C. tropicalis*, *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *MRSA*, *E. faecium*, *E. fecalis* standart suşları tercih edilmiştir. Sonuç olarak izolatların %55'i en az bir test mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken %66.6'sının ise en az bir enzimi üretebildiği belirlenmiştir. Bununla birlikte izolatların %22.2'si ne antimikrobiyal aktivite ne de enzim üretme yeteneğine sahip bulunmuştur. Bu çalışma Yıldız Gölü'nden aktinobakteri izolasyonu ve izolatların biyolojik aktivitesi üzerine gerçekleştirilen ilk araştırmadır. Sonuç olarak, elde edilen aktinobakterilerin endüstriyel ve farmakolojik çalışmalar için kaynak olabileceği öngörülmekle birlikte aktif bileşiklerin izolasyonu ve karakterizasyonu için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, Enzim üretimi, İzolasyon, Tarama

Investigation of Antimicrobial and Enzyme Production Capacities of Actinobacteria Isolated from Yıldız Lake Sediment

Abstract

In this study, actinobacteria was isolated from Yıldız Lake (Gümüşhane) sediment and the isolates were examined for antimicrobial activity and enzyme production capacities (amylase, lipase, protease, pectinase, cellulase). Screening was carried out on petri dishes containing suitable media. SCA medium was used for isolation and nistatin and nalidixic acid were added. For the detection of antimicrobial activity cross-streak method and *C. tropicalis*, *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *MRSA*, *E. faecium*, *E. fecalis* standard strains were used. As a result, 55% of the isolates showed antimicrobial activity against to at least one test microorganism while 66.6% were able to produce at least one enzyme. However, 22.2% of the isolates were not capable of producing either antimicrobial activity or enzyme. This study was the first study on isolation of actinobacteria from Yıldız Lake and the biological activity of isolates. As a results, it is expected that the actinobacteria obtained from this sediment may be the source for industrial and pharmacological studies, but further studies are needed for the isolation and characterization of the active compounds.

Keywords: Antimicrobial activity, Enzyme production, Isolation, Screening

1. Giriş

Aktinobakteriler toprakta yoğun olarak bulunan Gram (+) ve yüksek G+C içerikleriyle bilinen mikroorganizmalardır. Endüstriyel açıdan önemli sekonder metabolitleri üretme kabiliyetleri nedeniyle değerli mikroorganizmalar olarak kabul edilirler. Mikroorganizma kökenli biyoaktif bileşiklerin %45'i aktinobakteriler tarafından üretilmektedir (Berdy, 2005). Günümüzde bilinen ve tıbbi amaçla kullanılan antibiyotiklerin %80'i, *Streptomyces* ve *Micromonospora* tarafından üretilmektedir (Pandey ve ark., 2004). Bununla beraber Aktinobakteriler endüstriyel öneme sahip enzimlerin çoğunu üretmektedir (Divya ve ark., 2013). Sıklıkla kullanılan endüstriyel enzimler olan lipaz, proteaz, amilaz, pektinaz ve selülazlar; pişirme, ilaç, kağıt hamuru endüstrisi, deterjan sanayi (Shigeri ve ark., 2009), gıda endüstrisinde meyve suyunun durultulması, tekstil endüstrisinde ketenin işlenmesi (Janaki ve ark., 2016), deri işlemede kıl giderimi, tarımsal atıkların dönüştürülmesi (Bentley vd., 2002) gibi amaçlarla kullanılmaktadır.

Çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip mikroorganizmaların artması nedeniyle yeni antimikrobiyal bileşiklere ihtiyaç her geçen gün artmaktadır (Baltz, 2007). Bununla beraber Aktinobakteriler toprakta bol bulunduğu için yoğun olarak toprak örneklerinden çalışılmıştır (Fenical, 1993). Ne yazık ki son zamanlarda yapılan çalışmalarda yeni aktinobakteri veya yeni aktif bileşik elde etme oranı düşmüştür. Çalışmalar sıklıkla bilinen türlerin ya da farklı türlerden aynı aktif bileşiğin eldesi ile sonuçlanmaktadır (Igarashi, 2004). Araştırmacılar bu sorunun, çalışılmamış ekstrem habitatlardan toplanan örneklerin incelenmesi ile üstesinden gelineceğini düşünmektedirler (Bull, 2011). Çünkü ekstrem koşullara adapte olmuş mikroorganizmaların farklı biyoaktif bileşikleri üretebildiği belirlenmiştir (Thumar ve ark., 2010; Mohammadipanah, ve Wink, 2016). Mikroorganizmalar karşılaştıkları zorlukları aşmak için normal durumlarda kullanılmayan genetik bilgilerini kullanmaya ve adaptasyonu sağlayacak sekonder metabolitleri üretmeye yönelmektedir (Mitra ve ark., 2008; Ningthoujam ve ark., 2009).

Çalışmada, 2980 m yükseklikte bulunan buzul göllerden birisi olan Yıldız Gölü sediment örneğinden izole edilen aktinobakterilerin antimikrobiyal ve endüstriyel önemi olan enzimleri (lipaz, amilaz, proteaz, selülaz, pektinaz) üretim kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma, Yıldız Gölü'nden aktinobakteri izolasyonu ve biyolojik aktiviteleri üzerine gerçekleştirilen ilk araştırmadır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Örnek temini

Gümüşhane ili sınırları içerisinde yer alan Yıldız Gölü'nden (2980 m, 505005D 4473032K, pH 7.04, sıcaklık 14.5°C) 0.5-1 m derinlikten sediment örneği steril falkon tüplere manuel olarak alınmış ve soğuk zincir korunarak laboratuvara taşınmıştır.

2.2. Aktinobakteri izolasyonu

İzolasyon besiyeri olarak nalidiksik asit (50 µg/mL) ve nistatin (20 µg/mL) içeren SCA besiyeri kullanılmıştır. Sediment örneği, 10^0 - 10^{-6} aralığında seyreltilmiş ve her seyreltmeden üç tekerrürlü ekimler gerçekleştirilmiş, 15 °C sıcaklıkta 3 hafta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda aktinobakteri kolonileri izolasyon besiyeri kullanılarak seri pasajlamalarla saflaştırılmış ve mikroskopik inceleme ile saflık kontrolü yapılmıştır.

2.3. Antimikrobiyal aktivite tarama

Antimikrobiyal aktivite çapraz çizgi ekim metoduyla belirlenmiştir. SCA besiyeride petrinin ortasına düz çizgi olarak aktinobakteri suşu inoküle edilmiş ve 1 hafta süre ile 15 °C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda test organizmalar aktinobakteriye dik açı ile öze yardımıyla çizgi şeklinde inoküle edilmiş ve mikroorganizmaların üreyebilmeleri için 37 °C'de inkübasyona bırakılmış ve inhibisyon mesafesi cetvel yardımıyla ölçülmüştür (Selvameenal ve ark., 2009). Test mikroorganizmalar olarak standart suşlar; MRSA ATCC 43300, *Enterococcus faecium* DSMZ 13590, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* DSMZ 5817 ve *Candida tropicalis* NRRL YB-366 kullanıldı.

2.4. Enzim üretimi taramaları

Enzim üretiminin tespiti için enzimin substratını içeren spesifik besiyeriler hazırlanmıştır. Lipaz üretimi için tribütrin agar (% 0,3 maya özütü, % 0,5 pepton, % 1 tributrin, % 2 agar; pH:6.0) (Rapp ve Backhaus, 1992), amilaz için nişasta agar (%1 nişasta, % 0.3, NaCl, % 0.1 KH₂PO₄, % 2 agar) (Fossi ve ark., 2009), selüloz için karboksimetilselüloz (CMC) besiyeri (% 1.0CMC, % 0.3 NaCl, % 0.1 KH₂PO₄, % 2.0 agar) (Kasana ve ark., 2008), proteaz için kazein agar (% 1 kazein, % 0,5 maya özütü, % 2 agar) (Mohamedin, 1999), pektinaz için ise % 1 pektin, % 0.3 (NH₄)₂HPO₄, % 0.2 KH₂PO₄, % 0.3 K₂HPO₄, % 0.01 MgSO₄, % 2 agar (Nagaraju ve Divakar, 2013) içeren besiyeriler kullanılmıştır. Petrilere aktinobakteriler inoküle edilmiş ve 7 gün 15 °C sıcaklıkta inkübasyona

bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda koloni etrafında şeffaf zon oluşumu enzimatik aktivite olarak kabul edilmiş ve zon çapı cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Amilaz aktivitesinde şeffaf zonu görünür hale getirmek amacıyla petri yüzeyine %1'lik lügol uygulanmıştır. Selülaz aktivite tespiti için petriye % 0.1'lik Congo red solüsyonu uygulanmış 10' bekletilmiş, sonrasında 1M NaCl solüsyonu ile petri yıkanmış ve 20' sonunda oluşan şeffaf zon ölçülmüştür.

3. Bulgular ve Tartışma

2980 m yükseklikte bulunan Yıldız Gölü (Gümüşhane) sediment örneğinden SCA besiyeri kullanılarak aktinomiset izolasyonu yapılan bu çalışmada 9 izolat elde edilmiştir. İzolasyon besiyeride seri pasajlamalar sonucu saf izolatlar elde edilmiş ve izolatların saflığı mikroskopik incelemelerle kontrol edilmiştir. İzolatların antimikrobiyal aktivite ve enzim üretim kapasitesi petri kaplarında uygun besiyeriler kullanılarak incelenmiştir.

Aktinobakteriler toprakta yoğun bulunan, hatta toprak mikroorganizmal yükünün % 10' unu sağlayan organizmalardır (Han ve ark., 2015). Fakat karasal sucul sistemlerin de doğal üyesi oldukları belirlenmiştir (Jiang ve ark., 2010; Ghai ve ark., 2014; Mallowney ve ark., 2015). Bununla birlikte Yıldız Gölü sedimentinden sınırlı sayıda aktinobakteri izole edilmiştir. Bunun sebebinin göl ekstrem koşullarının (düşük sıcaklık ve besin miktarı) mikroorganizmaların yaşamasını güçleştirmesi olduğu düşünülmektedir.

İzolatların antimikrobiyal aktivitesi hızlı sonuç almayı sağlayan çapraz çizgi ekim metoduyla belirlendi. Sonuçlar tablo 1'de verildi. 9 izolattan 5'i (% 55.6) en az bir test organizmaya karşı aktivite gösterdi. Bunlardan YG8 sadece *C. albicans* üzerine etki gösterirken diğer suşlar birden fazla mikroorganizmaya karşı aktivite sergiledi. YG2, YG5 ve YG8 sadece anticandidal aktivite gösterirken; YG1 Gram (+), Gram (-) ve *Candida* suşları üzerine, YG6 ise *C. albicans* ve Gram (+) mikroorganizmalar üzerine aktivite göstermiştir. Genel olarak bakıldığında ise *E. coli* ve *E. faecium*'a karşı sadece 1, *E. faecalis*'e karşı 2, *C. tropicalis*'e 3 ve *C. albican*'a karşı 5 izolat antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Dolayısı ile izolatlar, *Candida albicans* ve *Candida tropicalis*'e karşı bakterilerden daha fazla etkin bulunmuştur. Bu durumu *E. faecalis* > *E. faecium* = *E. coli* takip etmiştir. Hiçbir izolat, MRSA ve *P. aeruginosa*'ya karşı inhibisyon göstermemiştir. Test organizmalardan *E. faecium* vankomisin dirençli bir suştur. YG6'nın *E. faecium* üzerine güçlü inhibisyonu (3 cm) bu patojenle mücadelede kullanılma ihtimalini düşündürmektedir. Fakat izolatların antimikrobiyal aktivitesi genel olarak değerlendirildiğinde öncelikle daha fazla mikroorganizma üzerine test edilmesi gerekmektedir. Bu araştırma bir tarama çalışması olup antimikrobiyal bileşik üretme yeteneği olan

suşların seçilmesini sağlamakta ve böylelikle ileri çalışmalarda kullanılacak aktif suşların belirlenmesi için yol göstermektedir.

İzolatların antimikrobiyal aktivite sergilemesi literatüre uyumluluk göstermektedir. Birçok araştırmacı göl sedimentlerinden elde edilen aktinobakterilerin antibiyotik üretme kapasitesinin yüksek olduğunu rapor etmiştir (Singh ve ark., 2006; Terkina ve ark., 2006; Kharat ve ark., 2009; Ramesh, ve Mathivanan, 2009; Ningthoujam ve ark., 2009; Ayari ve ark., 2012; Tiwari ve Gupta, 2012; Gebreyohannes ve ark., 2013).

Tablo 1. Çapraz çizgi ekim antimikrobiyal aktivite sonuçları

İzolat	İnhibisyon (cm)						
	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>MRSA</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. fecalis</i>
YG1	1	1.8	0.8	*	*	*	1
YG2	1.3	1.5	*	*	*	*	*
YG3	*	*	*	*	*	*	*
YG4	*	*	*	*	*	*	*
YG5	1.5	2.5	*	*	*	*	*
YG6	*	3.5	*	*	*	3.0	3.0
YG7	*	*	*	*	*	*	*
YG8	*	1.5	*	*	*	*	*
YG9	*	*	*	*	*	*	*

*aktivite tespit edilmedi.

İzolatların endüstriyel enzim üretim kabiliyetleri uygun besiyeriler içeren petrielerde aktinomiset kolonisinin etrafında oluşan şeffaf zon tespit edilerek belirlenmiştir. İzolatlar ve üretebildikleri enzimler Tablo 2’de görülmektedir. Elde edilen verilere göre 6 izolat en az bir endüstriyel enzim üretmektedir. Lipaz, proteaz ve pektinaz yalnızca bir izolat (% 11.1), selülaz ve amilaz ise birden fazla izolat tarafından (% 33.3) üretilmektedir. YG1, YG4, YG9 herhangi bir enzim üretmemektedir. Antimikrobiyal aktivite göstermeyen YG3 ve YG7’ nin enzim üretebildiği, antimikrobiyal aktivitesi tespit edilen YG1’in enzim üretmediği belirlenmiştir. Sonuç olarak sadece iki izolatın (YG4, YG9; % 22.2) ne antimikrobiyal ne de enzim üretme kapasitesi bulunmadığı belirlenmiştir. İzolatların lipaz ve proteaz üretme yetenekleri zayıf bulunurken, YG2 pektinaz, YG7 amilaz, YG8 amilaz ve selülaz enzimleri bakımından etkili görülmüştür. Dolayısı ile bu izolatların ilgili enzimleri üretme potansiyellerini açığa çıkarmak için enzim üretiminin optimizasyonu ve ilgili enzimlerin saflaştırılarak karakterizasyonunun yapılması gerekmektedir.

Aktif enzim üreticisi suşların belirlenmesi için enzimin substratını içeren petrielerde büyümesini teşvik etmek, üretimin olduğu kolonilerin etrafındaki substratın parçalanması sebebiyle şeffaf zon

oluşumu reaksiyonunun rahat gözlenmesine fırsat tanınması sebebiyle aktif suşların tespiti için tarama çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Birçok araştırmacı petri taramalarıyla enzim üretebilen suşları belirlemiştir (Kuddus ve ark., 2011; Sierra, 1957).

Aktinobakteriler, antibiyotik üretimi potansiyelleri yüksek mikroorganizmalar olarak bilinse de birçok araştırmada endüstriyel enzimlerden amilaz, proteaz, pektinaz, selülaz, ksilenaz, kitinaz ve lipazı da etkin bir şekilde ürettikleri belirlenmiştir (Vishnupriya ve ark., 2010; Magda ve ark., 2011; Mitra ve Chakrabartty, 2005; Özcan ve Çorbacı, 2017; Al-Askar ve ark., 2015; Fatokun ve ark., 2016). Araştırmada kullanılan izolatlar 15 °C’de yaşayabilen aktinobakterilerdir ve bu koşullarda birçok endüstriyel enzimi üretebildikleri belirlenmiştir. Düşük ısıda üretilen enzimlerin, bu sıcaklıklarda aktif enzimlere ihtiyaç duyulan endüstrilerde kullanılabilmesi söz konusudur. Saflaştırma ve karakterizasyon işlemleri sonunda ilgili enzimlerin endüstriyel kullanıma sunulması, bu alandaki ihtiyacı karşılayabilecektir.

Tablo 2. İzolatların enzim üretme kabiliyetleri

İzolat	Enzim üretimi (mm)				
	lipaz	proteaz	pektinaz	selülaz	amilaz
YG1	*	*	*	*	*
YG2	*	*	25	*	*
YG3	*	*	*	10	*
YG4	*	*	*	*	*
YG5	*	*	*	16	*
YG6	*	10	*	*	14
YG7	**	*	*	*	21
YG8	*	*	*	20	30
YG9	*	*	*	*	*

*üretim tespit edilmedi; **zayıf aktivite

4. Sonuçlar ve Öneriler

Yıldız Gölü sediment örneğinin ilk defa araştırıldığı bu çalışmada, SCA besiyeri kullanılarak 9 aktinomisetin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolatların endüstriyel ve farmasötik bir ürün üretme yeteneği petrilerde uygun besiyeriler kullanılarak taranmıştır. Sonuç olarak izolatların %77.8’i ya bir test organizmaya karşı antimikrobiyal aktivite ya da endüstriyel enzimlerden birisini üretebilme kapasitesine sahip bulunmuştur. Bu çalışma literatüre ileri çalışmaların gerçekleştirilebilmesi için yön gösterebilecektir. YG6 antimikrobiyal aktivitesi yüksek izolatlardan birisi olmakla beraber ileri

çalışmalarda kullanılabilecek bir izolattır. Bununla beraber fermentasyon teknolojisi kullanılarak yüksek hacimli üretimi ve aktif bileşiklerin saflaştırılarak tanımlanması gerekmektedir. İn vitro çalışmaların yanısıra, in vivo çalışmalarla desteklenip muhtemel bir ilaç olarak değerlendirilebileceği de düşünülmelidir. YG2 pektinaz, YG8 amilaz ve selüloz enzimleri için kullanılma potansiyeli yüksek olan izolatlardır. Bu izolatlardan enzimlerin yüksek verimlilikte üretilmesi ve saflaştırılma çalışmalarının yapılıp, enzimin karakterizasyonu vb. ileri çalışmalar gerçekleştirilerek endüstriyel bir ürün olarak kullanıma sunulabileceği öngörülmektedir.

Kaynaklar

- Al-Askar, A. A., Rashad, Y. M., Hafez, E. E., Abdulkhair, W. M., Baka, Z. A., and Ghoneem, K. M. (2015). Characterization of alkaline protease produced by *Streptomyces griseorubens* E44G and its possibility for controlling *Rhizoctonia* root rot disease of corn. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 29(3), 457-462.
- Aly, M. M., Tork, S., Al-Garni, S. M., and Nawar, L. (2012). Production of lipase from genetically improved *Streptomyces exfoliates* LP10 isolated from oilcontaminated soil. *African Journal of Microbiology Research*, 6, 1125-1137.
- Ayari, A., Morakchi, H., and Djamila, K.G. (2012). Identification and antifungal activity of *Streptomyces* sp. S72 isolated from Lake Oubeira sediments in North-East of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 305-311.
- Baltz, R. (2007). Antimicrobials from actinomycetes: Back to Future. *Microbe*, 2, 125-131.
- Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdano-Tarraga, A. M., Challis, G. L., and Thomson, N.R, et al. (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417, 141-147.
- Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites: a personal view. *The Journal of antibiotics*, 58 (1), 1-26.
- Bull, A.T. (2011). *Actinobacteria of the extremobiosphere*, in *Extremophiles Handbook*, ed K. Horikoshi, (pp.1203-1240), Springer.
- Demain, A.L., and Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of Antibiotics*, 62, 5–16.
- Fatokun, E. N., Nwodo, U. U., and Okoh A. I. (2016). Classical Optimization of Cellulase and Xylanase Production by a Marine *Streptomyces* Species. *Applied Sciences*, 6, 286.
- Fenical, W. (1993). Chemical studies of marine bacteria: developing a new resource. *Chemical Reviews*, 93, 1673-1683.
- Fossi BT, Tavea F, Jiwoua C, and Ndjouenke R. (2009). Screening and phenotypic characterization of thermostable amylases producing yeasts and bacteria strains from some Cameroonian soils. *African Journal Microbiol Research*, 3(9), 504-514.
- Gebreyohannes, G., Moges, F., Sahile, S., and Raja, N. (2013). Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6), 426-435.
- Ghai, R., Mizuno, C. M., Picazo, A., Camacho, A., and Rodriguez-Valera, F. (2014). Key roles for freshwater Actinobacteria revealed by deep metagenomic sequencing. *Molecular Ecology*, 23, 6073-6090.
- Han, P. P., Shen, S. G., Jia, S. R., Wang, H. Y., Zhong, C., Tan, Z. L., et al. (2015). Comparison of bacterial community structures of terrestrial cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* in three different regions of China using PCR-DGGE analysis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 1061-1069.
- Igarashi, Y. (2004). Screening of Novel Bioactive Compounds from Plant-Associated Actinomycetes. *Actinomycetol*, 18, 63-66.
- Janaki, T., Nayak, B. K., and Ganesan T. (2016). Antifungal activity of soil actinomycetes from the mangrove *Avicennia marina*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 4, 05-08.
- Jiang, H., Huang, Q., Deng, S., Dong, H., and Yu, B. (2010). Planktonic actinobacterial diversity along a salinity gradient of a river and five lakes on the Tibetan Plateau. *Extremophiles*, 14, 367-376.

- Kasana, R. C. Salwan, R., Dhar, H., Dutt, S., and Gulati, A. (2008). A Rapid and Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine. *Current Microbiology*, 57, 503-507.
- Kharat, K. R., Kharat, A., and Hardikar, B. P. (2009). Antimicrobial and cytotoxic activity of *Streptomyces sp.* from Lonar Lake. *African Journal of Biotechnology*, 8 (23), 6645-6648.
- Kuddus, M., Roohi, J. M., Arif, J. M., and Ramteke, P. W. (2011). An overview of cold-active microbial alpha-amylase: adaptation strategies and biotechnological potentials. *Biotechnology*, 10, 246-258.
- Mitra, A., Santra, S. C., and Mukherjee, J. (2008). Distribution of actinomycetes, their antagonistic behaviour and the physico chemical characteristics of the world's largest tidal mangrove forest. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 685-695.
- Mitra, P., and Chakrabartty, P. (2005). An extracellular protease with depilation activity from *Streptomyces nogalator*. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64, 978-983.
- Mohamedin, A. H. (1999). Isolation, identification and some cultural conditions of a protease-producing thermophilic *Streptomyces* strain grown on chicken feather as a substrate. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 43, 13-21.
- Mohammadipanah, F., and Wink, J. (2016). *Actinobacteria* from Arid and Desert Habitats: Diversity and Biological Activity. *Frontiers in Microbiology*, 28, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01541>
- Mullowney, M. W., Hwang, C. H., Newsome, A. G., Wei, X., Tanouye, U., Wan, B., et al. (2015). Diazanthracene antibiotics from a freshwater-derived actinomycete with selective antibacterial activity toward *Mycobacterium tuberculosis*. *ACS Infectious Diseases*, 1, 168-174.
- Nagaraju E. V., and Divakar G. (2013). Screening and Isolation of Pectinase producing Bacteria from Various Regions in Bangalore. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 4(1), 151-154.
- Ningthoujam, D.S., Sanasam, S., and Nimaichand, S. (2009). Screening of Actinomycete Isolates from Niche Habitats in Manipur for Antibiotic Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 5, 221-225.
- Özcan, K., ve Çorbacı, C. (2017). *Streptomyces sp.* K22 ve K30 Suşlarından Lipaz ve Proteaz Enzim Üretimi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 128-135.
- Pandey, B., Ghimire, P., and Agrawal, V. P. (2004). In: International Conference on the Great Himalayas: Climate, Health, Ecology, Management and Conservation, Kathmandu. Organized by Kathmandu University and the Aquatic Ecosystem Health and Management Society, Canada.
- Ramesh, S., and Mathivanan, N. (2009). Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2103-2111.
- Rapp P, and Backhaus S. (1992). Formation of extracellular lipase by filamentous fungi, yeasts and bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*, 14, 938-943.
- Selvameenal, L, Radhakrishnan, M., and Balagurunathan, R. (2009). Antibiotic pigment from desert soil actinomycetes; biological activity, purification and chemical screening. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(5), 499-504.
- Shigeri, Y., Matsui, T., and Watanabe, K. (2009). Decomposition of intact chicken feathers by a thermophile in combination with an acidulocomposting garbage- Treatment process. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73, 2519- 2521.
- Sierra, G. A. (1957). Simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 23(1):15-22.
- Singh, L. S., Baruah, I., and Bora, T.C. (2006). Actinomycetes of Loktak habitat: isolation and screening for antimicrobial activities. *Biotechnology*, 5(2), 217-221.
- Terkina, I. A., Parfenova, V.V., and Ahn, T. S. (2006). Antagonistic activity of actinomycetes of Lake Baikal. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42, 173-176.
- Thumar, J. T., Dhulia, K., and 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, 2081-2087.
- Tiwari, K., and Gupta, R.K. (2012). Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32, 108-132.
- Vishnupriya, B., Sundaramoorthi, C., Kalaivani, M., and Selvam, K. (2010). Production of lipase from *Streptomyces griseus* and evaluation of Bioparameters. *International Journal of Chem Tech Research*, 2, 1380-1383.