



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**KUTUP TATLI SU VE DENİZ SUYU ÖRNEKLERİNDEN
PSİKROFİL VE PSİKROTOLERANT
MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU VE
KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Fulya ÖZAYDIN

Danışman
Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN

SAMSUN
2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI



**KUTUP TATLI SU VE DENİZ SUYU ÖRNEKLERİNDEN
PSİKROFİL VE PSİKROTOLERANT
MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU VE
KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Fulya ÖZAYDIN

Danışman

Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.ZRT.1904.22.004 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Fulya ÖZAYDIN tarafından, Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN danışmanlığında hazırlanan “KUTUP TATLI SU VE DENİZ SUYU ÖRNEKLERİNDEN PSİKROFİL VE PSİKROTOLERANT MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 17.02.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Deniz EKİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Melek ÖZKAN Gebze Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

17/02/ 2023
Fulya ÖZAYDIN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : KUTUP TATLI SU VE DENİZ SUYU ÖRNEKLERİNDEN PSİKROFİL VE PSİKROTOLERANT MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 03.01.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 9

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

17/02/2023
Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN

ÖZET

KUTUP TATLI SU VE DENİZ SUYU ÖRNEKLERİNDEN PSİKROFİL VE PSİKROTOLERANT MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Fulya ÖZAYDIN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Şubat/2023

Danışman: Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN

Antarktika kıtasının zorlayıcı çevresel koşullarına rağmen, prokaryotlar bu ekosistemlerin baskın biyokütle bileşeni olmayı başarmıştır. Biyojeokimyasal döngülerde ve kirleticilerin mineralizasyonunda önemli bir rol oynamaktadırlar. Sahip oldukları adaptasyonlar sayesinde Antarktika’da yaşayan mikroorganizmaların ekstremozim üretimi ve biyoremediasyon kabiliyeti gibi potansiyel biyoteknolojik uygulamalar açısından taranması oldukça önemlidir.

Çalışmamızın amacı; Antarktika’nın Galindez Adası, Horse Shoe Adası, Bryde Adası ve King George Adası-(Arctowski Üssü)’ne ait tatlı göl ve deniz suyu örneklerinden mikroorganizmaların izolasyonu, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler karakterizasyonu ile biyoteknolojik potansiyellerinin değerlendirilmesidir. Çalışmamızda 22 bakteri ve 1 fungal izolat olmak üzere 23 mikroorganizma izole edilmiştir. Ünlversal BactF/AIIR ve ITS1/ITS4 primerleri kullanılarak gerçekleştirilen 16S-5.8S rRNA sekans sonuçlarına göre 10 izolat *Psychrobacter* sp. (%97.44-99.93), 3’er izolat *Pedobacter* sp. (%87.73-99.57) ve *Flavobacterium* sp. (%91.15-99.71), 1’er izolat *Pseudomonas* sp. (99.65), *Pseudoalteromonas* sp. (%99.65), *Planococcus* sp. (%100), *Chryseobacterium* sp. (%99.69), ve *Aspergillus* sp. (%99.83) ile nükleotit benzerliği göstermiştir. Suşlar psikrotolerant olup *Pedobacter* sp. FO2, *Flavobacterium* sp. FN1, *Flavobacterium* sp. FN3 ve *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşları için maksimum üreme sıcaklığı 20 °C’dir. *Planococcus* sp. FG1 ve *Psychrobacter* sp. FUL12 en geniş pH aralığında (pH 5.0-12.0) gelişim gösteren suşlardır. NaCl toleransı en iyi suşlar *Psychrobacter* sp. FUL1 ve *Planococcus* sp. FG1’dir (orta seviyede halofilik). Suşlar ekstremozim üretimleri bakımından incelendiğinde *Flavobacterium* sp. suşlarının proteaz üretimlerinin belirgin derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Test edilen ağır metallerin suşlar üzerindeki toksisite durumları $Ni^{+2}=Cd^{+2}>Cu^{+2}>Cr^{+3}>Zn^{+2}>Pb^{+2}$ şeklindedir. Ayrıca ağır metal direnci ile uyumlu olarak çeşitli seviyelerde antibiyotik direnç profili gözlenmiştir. Biyoremediasyon açısından ise *Pseudomonas* sp. FG1, *Flavobacterium* sp. FN2 ve *Psychrobacter* sp. FUL3 suşlarının %5-10 dizel, *Psychrobacter* sp. FUL5 ve FUL6 suşlarının ise %10 gaz yağını parçalayabildiği tespit edilmiştir. Öte yandan suşlar arasında en belirgin PHA ve siderofor üretimi *Pseudoalteromonas* sp. F1’de, IAA üretimi ise *Pseudomonas* sp. FH1’de kaydedilmiştir.

Gelecek planı olarak çalışmamızı her suşun en göze çarpan potansiyeline odaklayacağız.

Anahtar Sözcükler: Antarktika, Mikroorganizma, Biyoremediasyon, Rezistom, Ekstremozim

ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PSYCHROPHILE AND PSYCROTOLERANT MICROORGANISMS FROM POLAR FRESH WATER AND SEA WATER SAMPLES

Fulya ÖZAYDIN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Agricultural Biotechnology Engineering

Master, February/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ashhan KURT KIZILDOĞAN

Despite challenging environmental conditions of Antarctic continent, prokaryotes have managed to become the dominant biomass component. They play an important role in biogeochemical cycles and in mineralization of pollutants. It is very important to screen microorganisms living in Antarctica for potential biotechnological applications such as extremozyme production and bioremediation ability. We aimed at isolation of microorganisms from fresh lake and sea water samples of Antarctica's Galindez Island, Horse Shoe Island, Bryde Island and King George Island-(Arctowski Base), their morphological, biochemical and molecular characterizations and evaluation of their biotechnological potential. In our study, 23 microorganisms consisted of 22 bacteria and 1 fungus were isolated. Based on 16S-5.8S rRNA sequence results obtained using universal BactF/AIIR and ITS1/ITS4 primers, 10 isolates of *Psychrobacter* sp. (97.44-99.93%), 3 isolates of *Pedobacter* sp. (87.73-99.57%) and *Flavobacterium* sp. (91.15-99.71%), 1 isolate each from *Pseudomonas* sp. (99.65%), *Pseudoalteromonas* sp. (99.65%), *Planococcus* sp. (100%), *Chryseobacterium* sp. (99.69%), and *Aspergillus* sp. (99.83%) showed nucleotide similarity. Strains were psychrotolerant and maximum growth temperature for *Pedobacter* sp. FO2, *Flavobacterium* sp. FN1, *Flavobacterium* sp. FN3 and *Pseudoalteromonas* sp. F1 was 20 °C. *Planococcus* sp. FG1 and *Psychrobacter* sp. FUL12 grew in the widest pH range (pH 5.0-12.0). The best NaCl tolerants were *Psychrobacter* sp. FUL1 and *Planococcus* sp. FG1 (moderately halophilic). Additionally, the best protease producer strain was *Flavobacterium* sp. The toxicity status of the tested heavy metals was $Ni^{+2}=Cd^{+2}>Cu^{+2}>Cr^{+3}>Zn^{+2}>Pb^{+2}$. Various levels of antibiotic resistance profiles were consistent with heavy metal resistance. *Pseudomonas* sp. FG1, *Flavobacterium* sp. FN2 and *Psychrobacter* sp. FUL3 could degrade 5-10% diesel while *Psychrobacter* sp. FUL5 and FUL6 could decompose 10% kerosene. The prominent PHA and siderophore producer was *Pseudoalteromonas* sp. F1, while maximum IAA production was recorded in *Pseudomonas* sp. FH1.

Next, we will focus our study on the most outstanding potential of each strain.

Keywords: Antarctica, Microorganism, Bioremediation, Resistome, Extremozyme

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak gerçekleştirilmiştir

Kutup tatlı su ve deniz suyu örneklerinden psikrofil ve psikrotolerant mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonu konulu bu araştırmayı bana öneren ve konu üzerinde çalışma fırsatını veren, bilimsel düşünce, bilgi birikimi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN başta olmak üzere öğrenimim boyunca emeği geçen bütün hocalarıma sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen yüksek lisans hayatım boyunca her daim yanımda olan değerli Araş. Gör. Çiğdem OTUR’a, Büşra ABANOZ SEÇGİN’e, Ömer KONUKSEVER’e, Sümeyye CİLMELİ, Nurayan AYDIN ve Çağrı Seda KUL’a yardımları ve destekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her daim benim başarılarım için çabalayan maddi manevi desteği hep yanımda olan bu günlere gelmemde en çok emeğe sahip canım babam, annem ve abim başta olmak üzere canım aileme ve her daim yanımda olan Gıda Müh. İsmail Gökberk GÜLPINAR’a teşekkürlerimi borç bilirim.

Aynı zamanda bu tez çalışmasında kullanılacak olan örneklerin tarafımıza ulaştırılabilmesi için TÜBİTAK Üçüncü Ulusal Antartika Bilim Seferi kapsamında gerekli izinleri veren Cumhurbaşkanlığına, Bilim ve Teknoloji Bakanlığına ve İstanbul Teknik Üniversitesi Kutup Araştırma Uyg-Ar Merkezi ve TÜBİTAK-MAM Kutup Araştırmaları Enstitüsü’nün yanısıra bu kapsamda örnekleri bize ulaştıran Prof. Dr. Ersan Başar hocama, Prof. Dr. Fatma TELLİ KARAKOÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz Kaya hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması PYO.ZRT.1904.22.004 numaralı “Kutup tatlı su ve deniz suyu örneklerinden psikrofil ve psikrotolerant mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonu” Bilimsel Araştırma Projesi olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Fulya ÖZAYDIN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Antarktika'nın iklim ve coğrafi özellikleri.....	3
2.2. Antarktika'da mikrobiyal çeşitlilik.....	4
2.3. Antarktika ve Biyoteknolojik Önemi	7
2.3.1. Antarktika Mikrobiotası-Soğuk aktif enzimler	7
2.3.2. Antarktika mikrobiotası-Biyoaktif metabolit üretimi.....	7
2.3.3. Antarktika mikrobiotası-Pigment Üretimi	8
2.3.4. Antarktika mikrobiotası-Biyosüpfektan Üretimi-Biyoremediasyon.....	9
2.3.5. Ağır Metal Direnci Gösteren Mikroorganizmaların Keşfi	9
2.4. Mevcut Çalışma.....	10
3. MATERYAL VE METOD	12
3.1. Örneklem lokasyonları ve temini	12
3.2. Besiyerleri	13
3.3. Tamponlar ve Çözeltiler.....	13
3.4. Kimyasallar ve Enzimler	13
3.5. Mikroorganizmaların İzolasyonu	13
3.5.1. Doğrudan Mikroorganizma izolasyon.....	13
3.5.2. Dizel ve gazyağı içeren petrilere mikroorganizmaların izolasyonu	14
3.5.3. Ekstremozim üretim potansiyeli olan mikroorganizmaların izolasyonu	14
3.6. İzolatların Moleküler ve Filogenetik Karakterizasyonu	15
3.6.1. Genomik DNA izolasyonu.....	15
3.6.2. İzolatların 16S rRNA ve 5.8S rRNA-ITS dizilerinin PCR ile amplifikasyonu... 16	
3.6.3. DNA dizileme ve filogenetik ağaç oluşturma	17
3.7. Suşların morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu	18
3.8. Polihidroksibütirat (PHB) ekstraksiyonu ve kuantifikasyonu	18
3.9. Bitki büyümesini destekleyici (PGPR) özelliklerinin belirlenmesi	19
3.9.1. Indol-3-asetik asit (IAA) üretimi.....	19
3.9.2. Siderofor üretimi	19
3.10. Ağır metal dirençlerinin belirlenmesi.....	19
3.11. Antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi	19
4. BULGULAR	21
4.1. Mikroorganizmaların İzolasyonu	21
4.1.1. Doğrudan izolasyon	21
4.1.2. Dizel/gaz yağını parçalayabilen mikroorganizmaların izolasyonu	21
4.1.3.1. Proteaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu	22
4.1.3.2. Selüloz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu.....	23

4.1.3.3. Lipaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu	23
4.1.3.4. Amilaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu.....	24
4.1.4. Antibiyotik direncine sahip mikroorganizmaların izolasyonu	24
4.2. İzolatların Moleküler ve Filogenetik Karakterizasyonu	27
4.2.1. Genomik DNA izolasyonu.....	27
4.2.2. İzolatların 16S rRNA ve ITS-5.8S rRNA dizilerinin PZR ile amplifikasyonu...	28
4.2.3. DNA dizileme ve filogenetik ağaç oluşturma	29
4.3. Suşların biyokimyasal karakterizasyonu	39
4.5. Suşların PGPR özelliklerinin belirlenmesi	48
4.5.1. Suşlarda IAA üretimi	48
4.5.2. Suşlarda siderofor üretimi	49
4.6. Suşların farklı ağır metallere direnç/tolerans profilleri	50
4.7. Suşların farklı antibiyotiklere direnç/tolerans profilleri	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
KAYNAKÇA	60
EKLER	65
ÖZ GEÇMİŞ.....	90

SİMGELER VE KISALTMALAR

IAA	: Indol-3 asetik asitNA
NA	: Nutrient Agar
MSM	: Mineral Tuz BesiyeriNB
NB	: Nutrient Broth
PHA	: Polihidroksialkonat PHB
PHB	: Poli- β Hidroksibütirat
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
TAE	: Tris Asetat EDTA
CLUSTALW	: Çoklu sekans hizalama aracı
MEGAX	: Moleküler evrimsel genetik analizi
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
TY	: Tripton-Maya Besiyeri
GNIS	: Coğrafi adlar bilgi sistemippt: g çözünen/ litre çözelti
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Antarktika’da örneklem yapılan adalara ait görüntüler.....	4
Şekil 4.1. NA besiyerinde koloni oluşumu.	21
Şekil 4.2. Karbon kaynağı olarak dizel/gaz yağı (%2-5-10) içeren MSM’de koloni oluşumu.....	22
Şekil 4.3. %2 süt tozu içeren MSM besiyerlerinde üreyen koloniler ve proteaz üretim durumları.....	23
Şekil 4.4. CMCNa içeren MSM kültürlerine %1 kongo kırmızı eklendikten sonraki görünüm.	23
Şekil 4.5. Tween 80 içerikli MSM kültürlerinde lipaz üreten koloniler	24
Şekil 4.6. Nişasta içeren MSM kültürlerine iyodür çözeltisi eklendikten sonrakigörünüm. .	24
Şekil 4.7. Farklı antibiyotikler içeren NA petrilерinde oluşan koloniler	25
Şekil 4.8. Seçilen 23 adet mikroorganizmaya ait koloniler.....	27
Şekil 4.9. İzolatlara ait genomik DNA’lar	28
Şekil 4.10. İzolatların 16S rRNA bölgesine ait PZR amplikonları.	29
Şekil 4.11. Jelde özütlenen 16S rRNA bölgesine ait PZR amplikonları.....	29
Şekil 4.12. Mikroorganizmalara ait filogenetik dendogramlar	37
Şekil 4.13. Suşların enzim aktiviteleri... ..	47
Şekil 4.14. Suşlara ait %PHB üretimler	48
Şekil 4.15. Suşların zaman bağı IAA üretim kapasiteleri	49
Şekil 4.16. En iyi IAA üretimini sağlayan <i>Pseudomonas</i> sp. FH1 ve <i>Planococcus</i> sp.FG1 suşlarının zaman bağı IAA üretimleri.....	49
Şekil 4.17. <i>Pseudomonas</i> sp. FH1 tarafından siderofor üretimi.....	50

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Örneklem bilgileri.....	13
Tablo 3.2. Primerler ve özellikleri	16
Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan PCR içerik ve koşulları	17
Tablo 4.1. İzolasyon sonucu seçilen koloniler ve izolasyon şekilleri	25
Tablo 4.2. Suşların dizi analizi ve hizalama sonuçlarına göre benzerlik yüzdeleri.....	31
Tablo 4.3. Suşların kardinal sıcaklık değerleri.....	40
Tablo 4.4. Suşların üredikleri pH aralıkları.....	41
Tablo 4.5. Suşların NaCl toleransları	42
Tablo 4.6. Suşlara ait VİTEK tabanlı biyokimyasal analiz sonuçları	43
Tablo 4.7. Suşların ekstreozim üretim durumları.....	47

1. GİRİŞ

Dünya'nın en güneyindeki kıtası olan Antarktika, gezegende kaydedilen en soğuk doğal sıcaklığın (-89.2 °C) ölçüldüğü yerdir (süblimleşen kuru buzdan 11 °C daha soğuk). Antarktika kıtasının sadece yaklaşık %2'si buzsuzdur (Todorov & Golemansky, 1996). Antarktika, aynı zamanda, az yağış alan buzlu bir çöldür. Güney Kutbu'nun sıcaklıkları kışın iç kesimlerde minimum -80 °C ile -90 °C arasında, yazın ise kıyıya yakın yerlerde maksimum 5 °C ile 15 °C aralığına ulaşır. Küresel ısınma, turistik ve bilimsel faaliyetler gibi antropojenik etkilerin yanı sıra endüstriyel gelişme ve nüfus artışı, Antarktika'da kirliliğe neden olmaktadır (McCarthy et al., 2022). Ayrıca, doğal litojenik veya jeojenik kaynaklar ağır metal kirliliğine katkıda bulunurlar (Zahri et al., 2021).

Penguenler, foklar, nematodlar, tardigradlar, akarlar, birçok alg türü, ve mikroorganizmalar olmak üzere soğuğa adapte olmuş canlılar bu kıtanın biyoçeşitliliğini oluşturmaktadır. Aşırı düşük sıcaklıklar, zayıf toprak kalitesi, nem eksikliği ve güneş ışığı eksikliği kombinasyonu bitki büyümesini engeller. Bitki yaşamı çoğunlukla yosunlar ile sınırlıdır. Kıtanın florası büyük ölçüde likenler, briyofitler, algler ve mantarlardan oluşmaktadır (Bergstrom & Robinson, 2010).

Ekstrem çevresel koşullara sahip Antarktika'da oldukça geniş bir mikrobiyal çeşitlilik söz konusu olup, mikroorganizmalar bu tür olumsuz ekosistemlerde biyojeokimyasal döngülere ve kirleticilerin mineralizasyonuna dahil olarak baskın duruma geçerler (Rios, Bezus, Cavalitto, & Cavello, 2022). Böylelikle zengin bir biyoçeşitlilik kaynağı oluştururlar. Özellikle biyoteknolojik uygulamalarda insanlığın yararına kullanılabilecek yeni enzimler/biyoaktif metabolitler üretirler (Orellana-Saez et al., 2019). Kıtada yaşayan bakterilerin olumsuz koşullarda gelişebilmeleri, direnç/tolerans (rezistom) mekanizmalarına sahip olmalarına bağlıdır.

Antarktika bölgesinde yaşayan mikroorganizmalar, aşırı soğuk ve diğer olumsuz koşullarla başa çıkmak için adaptif özelliklere sahiptirler. Antarktika kıtasının mikrobiyal çeşitliliği üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır ve keşfedilmeyi bekleyen zengin bir ekosistem olarak varlığını sürdürmektedir (Kirkinci, Edbeib, Aksoy, Marakli, & Kaya, 2021). Çalışmamızın amacı Antarktika kıtasında dört farklı lokasyondan alınan deniz ve göl suyu örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliği;

ekstremozim üretimi, antibiyotik/ağır metal direnci, biyopolimer üretimi ve PGPR özellikleri bakımından tanımlamak ve karakterize etmektir.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Antarktika'nın iklim ve coğrafi özellikleri

Antarktika kıtası yaklaşık 13.500.000 km²'lik bir alana sahiptir ve çoğunlukla kalıcı buzullarla kaplıdır. Bitki ve mantarlar, yaz döneminde ve sınırlı ölçüde buz ve kardan arınmış kıyı kesimlerinde ve bölgenin iç kısımlarındaki kayalık çıkıntılarda gelişir. Likenler, biyokimyasal ve metabolik süreçleri yürütmelerine izin veren psikrofilik kapasiteleri nedeniyle Antarktika koşullarına en fazla özgül çeşitliliğe ve adaptasyona sahip grup olarak bilinmektedir (Redón, 1985).

Deniz ve kıta bölgelerinde, sarp kayalıklar ve açıkta kalan dağ sırtları haricinde, çoğu karasal yaşam alanı mevsimsel olarak kar ve/veya buzla kaplıdır ve bu da kıtayı aşırı sıcaklık değişimlerinden ve rüzgar aşınmasından korur. Antarktika'daki yalnızca altı adada aralıklı kar örtüsü görülür ve genellikle daha yüksek rakımlarla sınırlıdır (Convey, 2017).

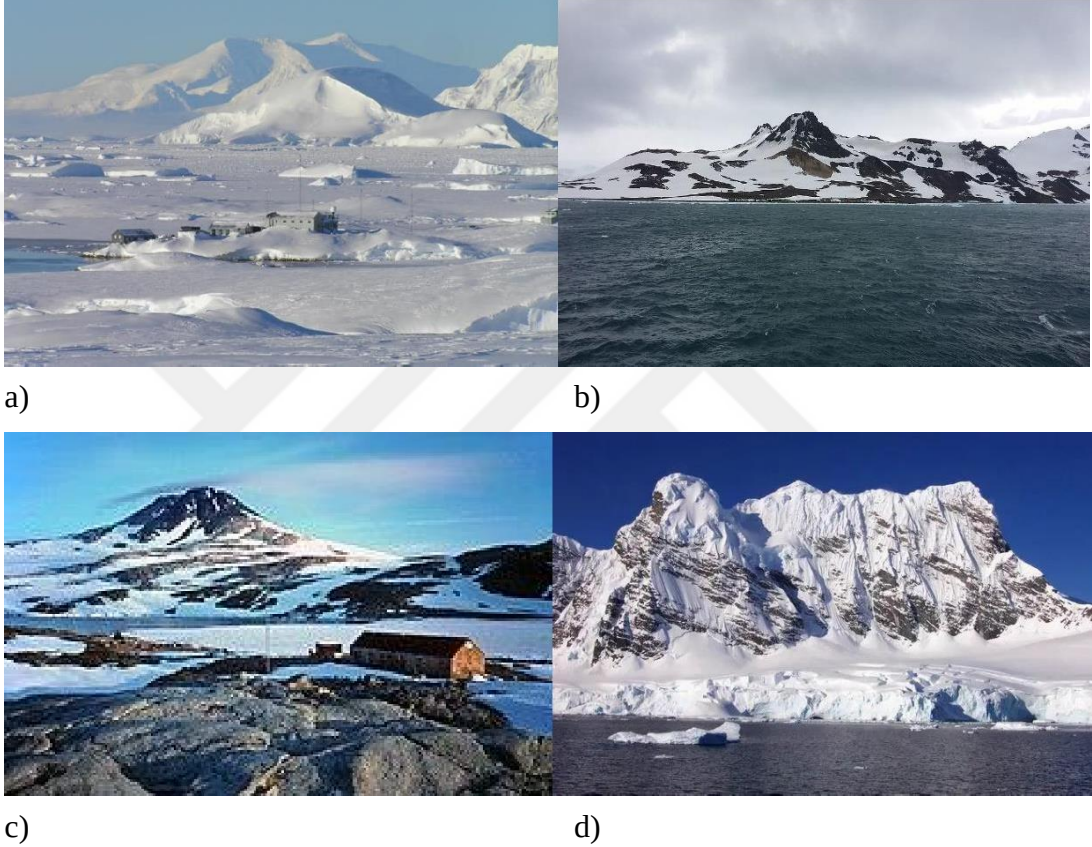
Antarktika'daki en eski araştırma üslerinden birisi olan Galindez Adası (65°15'G,64°15'B) (Ergül et al., 2022) Arjantin Adaları'na aittir. Kıtadan 5-6 km uzaklıkta ve Batı Antarktik Yarımadası tarafında yer alan adanın toplam yüzölçümü 0,8 km²'dir. Ortalama sıcaklık aralığı 9–13°C arasında değişmekte olup pozitif ortalama sıcaklık değerleri, ılıman ve nemli deniz tipi iklimin baskınlığından kaynaklanmaktadır (Savenets, Pysarenko, & Pishniak, 2020). Galindez Adası'nın yüzey suyu, eriyik su akıntıları ve küçük tatlı su lentik ve iyotik su kütleleri ile temsil edilmektedir. Lotik göletler, eriyik su akıntılarının yolu üzerinde bulunan doğal boşluklarda oluşur. Ayrıca karların erimesi sonucu çöküntülerde gelişen drenajsız göller de mevcuttur (Savenets et al., 2020) (Şekil 1.1a).

Güney Shetland Adaları'nın en büyüğü King George Adası olup 1310 km² yüzölçümüne sahiptir. Bölgenin %90'lık kısmı politermal buz örtüsü ile kaplıdır ve ortalama buz kalınlığı yaklaşık 240 m'dir (Szumińska et al., 2021). Ortalama yıllık hava sıcaklığı yaklaşık -2,5 °C olup yıllık ortalama yağış miktarı yaklaşık 600–700 mm'dir (Kochman-Kędziora, Noga, Olech, & Van De Vijver, 2018) (Şekil 1.1b).

Horseshoe Adası ise Antarktika Yarımadası'nın batısında bulunan bir adadır. Ada, Graham Toprakları'nın batı kıyısında Square Körfezi girişinde yer almakta olup 12 km uzunluğunda ve 6 km genişliğindedir (Amerika coğrafi adlar bilgi sistemi (GNIS)). Adı, adaya karşılaştırılabilir bir şekil veren 600 ila 900 m'lik zirvelerin at nalı

şeklinde hizalanmasından gelmektedir. Ada, aynı zamanda 3. Ulusal Antarktika Bilim Seferi kapsamında kurulan geçici Türk Bilimsel Araştırma Kampı'na ev sahipliği yapmaktadır (Şekil 1.1c)

Öte yandan, Bryde Adası, Antarktika'da Graham Land'in batı kıyısında, Lemaire Adası'nın hemen güneybatısında yer alan 10 km uzunluğunda ve 5 km genişliğinde bir adadır. 1897-1899'da Adrien de Gerlache yönetimindeki Belçika Antarktika Seferi sırasında keşfedilmiştir (Amerika coğrafi adlar bilgi sistemi, GNIS).



Şekil 1.1. Antarktika'da örneklem yapılan adalara ait görüntüler. a) Galindez Adası, b) King George Adası, c) Horse Shoe Adası, d) Bryde Adası (Antarktika Araştırmaları Bilimsel Komitesi (SCAR))

2.2. Antarktika'da mikrobiyal çeşitlilik

Dünya yüzeyinin yaklaşık %20'sini kapsayan Antarktika kıtasının biyoçeşitlilik için uygun bir çevreye sahip olmadığı görüşü hakim iken kutup araştırmaları kapsamında kıtaya ulaşılabilirliğin artışı ile birlikte esasında kıtanın mikroorganizmaların hakim olduğu zengin bir biyoçeşitliliği barındırdığı görülmektedir (Králová vd., 2021). Donmuş bir kış ile çözülmüş bir yaz döngüsü arasında gidip gelen kutup karasal ortamının üst katman tundrası, mikroorganizmaların metabolizmalarını geniş bir sıcaklık aralığında düzgün çalışacak

şekilde uyarlamaları gereken çok özel ve zorlu bir ortamı beraberinde getirmektedir (Orellana-Saez vd., 2019). Benzer şekilde, okyanus ve derin göl sularının çoğu 5 °C'nin altındaki sıcaklıklardadır. Kuzey kutbu deniz ortamı, gece yarısı güneşinden kutup karanlığına kadar keskin mevsimsel değişiklikler altında soğuk suda gelişen çok sayıda mikroorganizmaya ev sahipliği yapar. Karasal mikroorganizmalarda olduğu gibi bu koşullarda yaşayan mikroorganizmalar da zorlu sucul ortamda hayatta kalmaları için özel metabolik sistemlere gereksinim duymaktadır (Kristoffersen et al., 2021).

Psikrofiller suyun donma noktasının (0 °C) altında üreyebilen ancak 20 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda artık çoğalamayan mikroorganizmalardır (Morita, 1975). Psikrotolerant veya soğuğa adapte olmuş bakteriler ise daha geniş bir büyüme sıcaklığı aralığına (-5 °C ila 40 °C) sahip olup optimal üreme sıcaklıkları genellikle 25 °C'nin üzerindedir (Cavicchioli, 2016).

Doğal bitki ve yosunlar, topraktaki mevcut organik madde, nem, nitrojen ve karbonun artmasına katkıda bulunarak mikroorganizma çeşitliliğine katkı sağlarlar. Öte yandan, sınırlı sayıdaki bitki türleri ile etkileşimler, kaçınılmaz olarak, bu mikroorganizmalar üzerinde farklı bir seçici kuvvetin etkili olmasına yol açmaktadır (Doytchinov ve Dimov, 2022). Yerli faunanın aktivitesi de benzer şekilde mikroorganizma çeşitliliğine katkıda bulunur. Söz gelimi, toprağı çeşitli organik maddelerle (guano, tüyler, yumurta kabukları, vb.) zenginleştiren kuşların yuvalama alanları en önemli organik madde kaynaklarından biridir (Simas, 2007).

Genel olarak Antarktika'da mikrobiyal topluluklar farklı ekolojik nişlerde bulunmaktadır: 1—Toprak ve kaya toplulukları; 2—İç ve buzul suyu toplulukları; 3—Meltwater havuz toplulukları; 4—Buzul altı su toplulukları; 5—Deniz suyu toplulukları; 6—Mikrobiyal matlar ve tortu toplulukları; 7—Cryoconite deliği, buzul buzu ve kar toplulukları; 8—Havadaki mikroorganizmalar (Doytchinov & Dimov, 2022). Araştırmacılar, mikrobiyal topluluk kompozisyonunun buzullar, kar, göl buzu, deniz buzu ve atmosferik bulutlarda benzer olduğunu rapor etmişlerdir (Doytchinov & Dimov, 2022).

Antarktika'daki toprak ekosistemi, baskın filum olarak Acidobacteria, Actinobacter, Proteobacteria (en yaygın olarak Alpha- ve Gammaproteobacteria), Bacteroidetes ve Firmicutes içermektedir. Diğer yandan, Planctomycetes,

Verrucomicrobia, Chloroflexi ve Cyanobacteria filumları daha az bollukta olmak üzere yine de yaygın görülen bakteriyel temsilcilerdir. Kıtadaki fungal çeşitlilik çok daha sınırlı olmak üzere, baskın olan filum Ascomycota (her zaman %70'ten fazla)'dır. Bu filumu Basidiomycota takip eder ve diğer filumların popülasyondaki bolluk oranı %10'dan azdır. Fungal çeşitliliğin az olmasının nedeni olarak kıtaya özgü jeolojiden dolayı daha büyük olan fungal sporların taşınmasının zor oluşu ya da sporların dağılımı için gerekli vektörlerin yaşayabilmesi açısından gereken vejetasyonun kısıtlı oluşu gösterilmektedir.

Buzullardaki tipik Antarktika psikrotrofik ve psikrotolerant bakteriler arasında *Polaribacter*, *Polaromonas*, *Psychrobacter*, *Psychromonas* ve *Cryobacterium* cinsleri bulunur. Öte yandan buzulların üzerini kaplayan Antarktika yüzey kar örnekleri ile yapılan çalışmalarda mikrobiyal komünitede Proteobacteria ve daha spesifik olarak Alphaproteobacteria filumlarının açık ara en yaygın olarak tanımlanan taksonlar olduğunu ve bunları Bacteroidetes filumuna ait örneklerin takip ettiğini göstermiştir (Malard vd., 2019). Rus araştırma istasyonlarının yakınındaki yüzey karında özellikle *Flavobacterium* spp. ve ardından *Ralstonia*, *Hydrogenophaga*, *Pseudomonas*, *Caulobacter* gibi cinsler bulunmaktadır (Lapatina vd., 2016). Çalışmalar, esasında kar mikrobiyal komünitelerinin üzerinde güçlü bir deniz etkisine işaret etmektedir (Michaud vd., 2014). Genel olarak, Antarktik göl sularına hem su sütununda hem de kaya-su arayüzünde Proteobacteria, Bacteroidetes ve Actinobacteria hakimdir. Daha az ancak yine de yaygın olarak bulunan filumlar arasında Chloroflexi, Acidobacteria ve Firmicutes örnek verilebilir. Bu filumların temsilcileri olarak ise *Sphingomonas* (Proteobacteria), *Pseudomonas* (Proteobacteria), *Flavobacterium* (Bacteroidetes) ve *Pedobacter* (Bacteroidetes) örnek verilebilir (Doytchinov & Dimov, 2022).

Antarktika'da mikrobiyal biyoçeşitliliğinin belirlenmesine yönelik moleküler tanımlama çalışmalarında bakteri ve arke özelinde 16S rRNA molekülünün DNA dizisi, funguslar için ise 18S rRNA, ITS1 ve ITS2 genomik dizileri yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, yeni nesil dizileme teknolojilerinin gelişmesi ile biyoçeşitlilik çalışmaları metagenom (DNA-metabarkodlama) çalışmaları ile daha da güçlenmiştir. Ayrıca, yeni nesil dizileme teknolojileri mikroorganizmaların Antarktika koşullarına moleküler adaptasyonlarının belirlenmesinde önemli katkılar sağlamaktadır (Orellana-Saez vd., 2019).

2.3. Antarktika ve Biyoteknolojik Önemi

Psikrofil ve psikrotolerant mikroorganizmalar zorlu çevre koşullarında yaşamı sürdürmek için benzersiz moleküler mekanizmaları ve çok çeşitli endüstriyel uygulamalara sahip değerli kimyasalları/proteinleri sentezleme potansiyelleri bakımlarından büyük ilgi görmüştür. (D'Amico vd., 2006; De Maayer vd., 2014) (Cavicchioli vd., 2011; Perfumo vd., 2018). Antarktika'nın aşırı koşulları ve az çalışılmış bir habitatı temsil ettiği gerçeği, yalnızca mikrobiyal çeşitliliği değil, aynı zamanda mikrobiyal soğuğa adaptasyon mekanizmalarını ve doğal mikrobiyotasının potansiyel biyoteknolojik uygulamalarını keşfetmek için birçok olanak sunar (Králová et al., 2021). Antartika bölgesinden elde edilen izolatlarda kapsamlı genomik analizler, proteorhodopsinleri, buz bağlayıcı proteinleri, hücre dışı polisakkaritleri ve reaktif oksijen türlerini veya soğuk şok proteinlerini kodlayan genler gibi çok sayıda soğuk uyarılabilir veya soğuk adaptasyonla ilişkili genin varlığını göstermiştir (Li et al., 2009). Bu genlerin ürünlerinin, biyoteknolojik uygulamalarda, gıda endüstrisinde veya biyoremediasyonda yararlı olduğu bulunmuştur (Cavicchioli et al., 2011), bu da soğuğa adapte edilmiş mikroorganizmalara yönelik araştırmaları orantılı olarak arttırmaktadır.

2.3.1. Antarktika Mikrobiotası-Soğuk aktif enzimler

Psikrofilik enzimler düşük sıcaklıklarda optimum aktivite göstermeleri deterjan katkı maddesi olarak, düşük sıcaklıklarda kararsız bileşiklerin biyotransformasyonunda biyokatalizörler olarak ve düşük sıcaklıklarda kirli toprakların ve atık suların biyolojik ıslahı için oldukça oneli kılmaktadır (Babu, Pramod, George, & Nitisha, 2007). Bira ve şarap endüstrileri soğuk aktif enzimleri kullanan gıda sektörleri arasında görülmektedir. Gıda endüstrisinde soğuk aktif enzimlerin kullanılmasının avantajı, düşük sıcaklıklarda, yüksek sıcaklıklarda olduğu gibi lezzetin bozulmasını engelleyerek kontaminasyon riskinin azaltılmasıdır. Bu sayede gıdaların besin kalitesinin korunması mümkündür (Intriago, 2012).

2.3.2. Antarktika mikrobiotası-Biyoaktif metabolit üretimi

Antarktika ve Kuzey Kutbu yaşam koşullarında mikroorganizmaların hayatta kalması, ilgili cins ve türlerin özel adaptasyon ve substrat eksikliği gibi stres faktörlerine karşı direnç gerektirmektedir. UV radyasyonu, uzun süre düşük sıcaklıklar ve Antarktika ve Kuzey Kutbu yazında kısa süreli yoğun ısı görülmektedir. Bu

nedenle, Antarktika ve Kuzey Kutbu organizmalarının stres faktörlerine genetik adaptasyon beklenir. Bütün bunlar, benzersiz yapılara ve spesifik biyolojik aktiviteye sahip yeni metabolitlerin küresel bir boyutta sentezini beraberinde getirmektedir (Bratchkova & Ivanova, 2011).

2.3.3. Antarktika mikrobiotası-Pigment Üretimi

Mikroorganizma kaynaklı pigmentler daha iyi çözünür ve kararlı oluşları ve de kolay ulaşılabilirlikleri nedeniyle bitki kaynaklı olanlara göre daha çok tercih edilmektedir (Rao, Xiao, & Li, 2017). Bakteriler, funguslar ve siyanobakteriler mikrobiyal kökenli doğal pigmentlerin başlıca kaynaklarıdır (Choi, Yoon, Lee, & Mitchell, 2015). Genel olarak pigmentler enerji kaynağı olarak ya da oksidanlar, aşırı sıcaklık ve kurumaya karşı koruyucu olarak kullanılırlar (Wada, Sakamoto, & Matsugo, 2013). Mikroorganizmalardan elde edilen pigmentler, potansiyel yeni kimyasal yapılara veya doğal olarak aşırı üreten suşlara ek olarak, çoğunlukla "doğal" çekicilikleri, ve uygun üretim koşulları nedeniyle piyasada büyük ilgi uyandırmıştır. Örneğin, bakteriyel pigmentler gıda, yem, süt, tekstil, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde kullanılmaktadır (Venil, Dufossé, & Renuka Devi, 2020). Prodigiosin, violacein ve melanin gibi bakteriyel pigmentlerin UV koruyucu olduğu gösterilmiştir (Patki, Singh, Singh, Padmadas, & Dasgupta, 2021). Birçoğu ayrıca antimikrobiyal, antioksidan, antikanser, anti-obezite ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir ve bu da onları gıda, tekstil, matbaa, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde oldukça kullanılmaktadır (Venil et al., 2020). Eşsiz ortamlardan potansiyel olarak pigment üreten mikroorganizmaların tanımlanması, daha geniş biyoteknolojik uygulamalara sahip yeni pigmentlerin keşfedilmesi için çok önemlidir (Sajjad et al., 2020). Ekstrem ortamlardan birisi de soğuğu seven mikroorganizmalar için tercih edilen bir yaşam alanı olan kriyosferdir. Kuzey Kutbu gibi kriyosferik ortamlar, çevresel streslere karşı koruyucu bir kalkan görevi gören benzersiz pigmentlere sahip birçok keşfedilmemiş psikrofilik bakteri içerir (Sajjad et al., 2020). Tipik olarak bu psikrofiller, yüksek UV radyasyonuna maruz kalırlar ve UV aracılı hasara karşı koruma için pigmentler üretirler (Suryawanshi et al., 2015). UV radyasyonu oldukça zararlı olabilir ve bir ekosistemin genel mikrobiyal dengesini etkileyerek organizmaların hayatta kalmasını etkiler (Dieser, Greenwood, & Foreman, 2010). Bazı pigmentler hücre dışı UV filtreleridir; diğerleri, UV-B'den gelen fazla enerjiyi dağıtmak için söndürme özelliklerine sahiptir ve bazıları, metabolik açıdan önemli moleküller hasar görmeden

önce UV-B'yi hücre içinde emer (Wynn-Williams, Newton, & Edwards, 2001). Özellikle Antarktika'dan izole edilen psikrofil/psikrotolerant mikroorganizmalarda yüksek UV radyasyonu, düşük sıcaklıklar ve donma ve çözülme döngüleri gibi seçici basınçlara yanıt olarak yüksek miktarda pigment üretilmektedir. Söz gelimi, *Flavobacterium* ve *Pedobacter* cinslerine ait bazı türlerde sarı-turuncu ve kırmızımsı tonlarda pigment üretimi olmaktadır (Suryawanshi et al., 2015).

2.3.4. Antarktika mikrobiotası-Biyosüpfektan Üretimi-Biyoremediasyon

Mikrobiyal süpfektanlar amfifilik bileşikler olup kimyasal eşdeğerleriyle karşılaştırıldığında, çevre dostu olmaları, biyolojik olarak parçalanabilir, daha az toksik ve tehlikesiz oluşları, daha iyi köpürme ve yüksek seçicilik gibi özellikleri bakımından üstünlüklere sahiptirler. Ayrıca, ekstrem sıcaklık, pH ve tuzluluk değerlerinde de aktiftirler. Endüstriyel atıklardan ve yan ürünlerden üretilebilirler (Desai ve Banat 1997).

Turistik geziler, kurulan istasyonlar, balina yağı işletmeciliği gibi ticari girişimler ve petrol tankerlerinin yol açtığı çevre felaketleri kutuplardaki başlıca antropojenik kirlilik sebepleridir. Denize ulaşan hidrokarbonlar doğal olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçlerle değiştirilir. Biyobozunma, hidrokarbonların parçalanması sürecinde oldukça önemli bir role sahiptir. Bozunma süreci genellikle biyosüpfektan moleküllerinin üretimi ile geliştirilir. Mikroorganizmalar, hidrofobik kirleticileri karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılabilmek için süpfektan aktivitesine sahip polimerlerin veya biyo-yüzey aktif maddelerin aracılık ettiği çözündürme gibi çeşitli stratejiler kullanabilir (Cameotra vd., 2010). Malavenda vd. (2015) Arktik ve Antarktika kıyı şeridi sedimanlarından biyosüpfektan üreten bakterilerin izolasyonunu ilk kez rapor etmişlerdir (Malavenda vd., 2015). Petrolle kirlenmiş kutup bölgelerinde yapılan araştırmalar, α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria ve Acitinobacteria'nın baskın mikrobiyal popülasyonu oluşturduğunu göstermiştir (Aislabie, Saul, & Foght, 2006) .

2.3.5. Ağır Metal Direnci Gösteren Mikroorganizmaların Keşfi

Küresel ısınma, turistik ve bilimsel faaliyetler gibi antropojenik etkilerin yanı sıra endüstriyel gelişme ve nüfus artışı Antarktika'da özellikle buzsuz bölgelerde toksik bileşikler ve ağır metal kirliliğine neden olmaktadır (Tomova vd., 2015; Duarte vd., 2021; McCarthy vd., 2022). Doğal litojenik veya jeojenik kaynaklar da Antarktika ortamındaki ağır metal birikimini artırır (Zahri vd., 2021). Örneğin, atmosferik

birikimlerin en tehlikeli ağır metallere biri olan cıvayı Kuzey Kutup bölgesine taşıdığı düşünülmüştür (Schroeder et al., 1998). Devamında, (Møller et al., 2011) tarafından gerçekleştirilmiş bir araştırmaya sonucunda Antarktika bölgesinde cıva direnci gösteren mikroorganizmalar tespit edilmiştir. Bunlar; Gammaproteobacteria, Actinobacteria, Sphingobacteria, Flavobacteria ve Firmicutes'e ait üyeleri içermektedir. Bahsedildiği üzere mikroorganizmalar bu tür olumsuz ekosistemlerde baskın olarak bulunurlar, biyojeokimyasal döngülere ve kirleticilerin mineralizasyonuna dahil olurlar (Rios vd., 2022). Bu başarı sahip oldukları direnç/tolerans (rezistom) mekanizmaları ile açıklanmaktadır. Rezistom mekanizması, mikroorganizmaların ağır metaller, biyositlere ve antibiyotiklere karşı direnç/tolerans profilini kapsamaktadır. Antimikrobiyal direnç, mikroorganizmaların bir antimikrobiyal ilacın etkilerine karşı doğal veya kazanılmış direnç kapasitesidir (Davies & Davies, 2010). Antimikrobiyal direnç, yaygın olarak zamanımızın en büyük sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilir ve daha yüksek tıbbi maliyetlere, uzamış hastanede kalış sürelerine ve artan ölüm oranlarına yol açmaktadır.

Yuan vd. (2014), soğuk ortamlardaki mikroorganizmalarda antimikrobiyal direnç genotiplerinin ve fenotiplerinin bulunuşunun kutup bölgelerinin bozulmamış, klinik olmayan ortamlarda antimikrobiyal direnç çalışılması için önemli bir kaynak oluşturduğunu belirtmiştir (Yuan, Yu, Li, Dong, & Zhang, 2014).

Ağır metaller ve biyositlere direnç antibiyotik direncini de beraberinde getirmektedir (Centurion et al., 2019). İki şekilde bu rezistom mekanizmasının oluşabileceğini ileri sürmektedir: i) Akış pompaları gibi ağır metal/biyosit direnç mekanizmaları aracılığıyla dolaylı olarak antibiyotik direncinin kazanılması veya ii) ilgisiz ancak bağlantılı genlerle yatay gen aktarımından kaynaklanan bir ortak seçim olayı. Esasında, Antarktika mikrobiyal genomlarında antibiyotik, biyosit ve ağır metal direnci/tolerans genlerinin antropojenik etkilerle zenginleştiği rapor edilmiştir (Centurion et al., 2019).

2.4. Mevcut Çalışma

Olağanüstü iklim koşulları nedeni ile kutuplar biyoteknolojik açıdan önemli enzim, protein ve sekonder metabolit benzeri moleküllerin ilgi çekici bir kaynağıdır. Antarktika'nın ekstrem koşullar içeren ve az çalışılmış bir habitatı temsil ettiği gerçeği, yalnızca mikrobiyal çeşitliliği değil, aynı zamanda mikrobiyal soğuğa adaptasyon mekanizmalarını ve doğal mikrobiyotasının potansiyel biyoteknolojik uygulamalarını

keşfetmek için birçok olanak sunar (Kr lov  et al., 2021). Çalışmamız kapsamında, Antartika'da dört farklı bölgeden temin edilmiş Y11 (Galindez Adası) kodlu tatlı g l suyu ile A03 (Horse Shoe Adası), A05 (Bryde Adası) ve A07 (King George Adası-Arctowski  ss ) kodlu tuzlu buzul suyu örneklerinden mikroorganizma izolasyonu, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler karakterizasyonu amaçlanmıştır. Çalışmanın devamında, izole edilen mikroorganizmaların antibiyotik/ağır metal direnci, ekstremofilik enzim üretim kapasiteleri, gaz yağı/biyodizel parçalama kabiliyetleri, bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ile biyoplastik üretim kapasitelerinin tespiti yoluyla biyoteknolojik potansiyelleri değerlendirilmiştir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Örneklem lokasyonları ve temini

Kutup tatlı/deniz suyu örnekleri 3. Ulusal Antartika Antarktik Bilim Seferi kapsamında ve Prof. Dr. Ersan Başar (Karadeniz Teknik Üniversitesi) tarafından 25 Ocak- 9 Mart 2019 tarihleri arasında Batı Antarktik yarımadasından temin edilmiştir (Ek 1-2) (Tablo 3.1). Prof. Dr. Fatma TELLİ KARAKOÇ'un yürütücülüğünü üstlendiği "From pico-to Meso-Plankton in Antarctic pelagic ecosystem: Pigment composition, community structure, prokaryotic metageni" (Permit N°04-2019) (Ek 1A) ve yürütücülüğü Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz KAYA'ya ait "Genetic analysis of herbicides (Dalapon and Bromoxynil) fragmenting psychrophilic and psychrotolerant microorganisms studies" (Permit N°17-2019) (Ek 1B) başlıklı projeler kapsamında toplanmıştır. Yürütücülerden gerekli izin alınarak (Ek 3) örnekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji laboratuvarında çalışılmıştır.

Tablo 3.1. Örneklem bilgileri

Kod	Örnekl em Yeri	Koordinat	Örnekl em	Sıcakl ık (°C)	Yoğun luk (g/ml)	Tuzl uluk (ppt)	Derin lik	Tarih
Y11	Galindez Adası	79° 19' 50,09" N 11° 48' 07,13" E	Buzul Göl suyu	3.0	-	-	Yüzey	22.07.201 9
A03	Horse Shoe Adası	67° 19' 53,58" S 67° 18' 01,68" W	Buzul deniz suyu	2.1	1.025	32	Yüzey	27.02.202 0
A05	Bryde Adası	64° 51' 17,4" S 63° 11' 52,9" W	Buzul deniz suyu	1.79	1.027	34	Yüzey	04.03.202 0
A07	King George Adası	62° 09' 29,18" S 58° 25' 39,21" W	Buzul deniz suyu	1.4	1.027	34.66	Yüzey	05.03.202 0

3.2. Besiyerleri

Çalışmada kullanılan besiyeri içerikleri Ek 4'de verilmiştir.

3.3. Tamponlar ve Çözeltiler

Çalışmada kullanılan tampon ve çözeltilere ait içerik Ek 5'de verilmiştir.

3.4. Kimyasallar ve Enzimler

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve enzimler Ek 6’da verilmiştir.

3.5. Mikroorganizmaların İzolasyonu

Antarktik göl/deniz suyu örneklerinden mikroorganizmaların izolasyonu için farklı yöntemler kullanılmıştır.

3.5.1. Doğrudan Mikroorganizma izolasyon

Göl/buzul suyu örnekleri aseptik koşullarda fizyolojik tuz çözeltisi (%0.85 NaCl) ile seyreltilerek %1.5 konsantrasyonunda agar içeren Nutrient Agar (NA) (Ek 4) besiyerlerine yayma plak tekniği ile ekilmiş ve ardından 15 °C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Deniz suyu örneklerinin izolasyonu esnasında Nutrient Agar (NA) besiyeri içerisine ekstra %1.5 NaCl (Ek 6) eklenmiştir.

3.5.2. Dizel ve gazyağı içeren petrilere mikroorganizmaların izolasyonu

Seyreltilmemiş su örneklerinden 100 µl alınıp tek karbon kaynağı olarak farklı konsantrasyonlarda (%0.05, %0.2, %0.3, %1, %2 ve %5) dizel ve gazyağı içeren Minimal Salt Medium (MSM) (Ek 4) agar plaklarına yayma ekim tekniği ile ekilmiştir (Ahmed, Fakhruddin, & Kabir, 2018). 15 °C’de 7 gün inkübasyonun ardından koloni oluşumları incelenmiştir.

3.5.3. Ekstremozim üretim potansiyeli olan mikroorganizmaların izolasyonu

3.5.3.1. Proteaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

Karbon kaynağı olarak %2 süt tozu (Ek 6) içeren MSM agar plaklarına su örneklerinden 100 µl yayılarak, 15 °C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Süt tozunu parçalayabilen koloniler etrafında meydana gelen zonlar incelenerek zon oluşumu gözlemlenen koloniler çizgi ekim tekniği ile yeni NA plakaları üzerine ekilmiştir.

3.5.3.2. Selüloz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

Karbon kaynağı olarak %5 oranında karboksi metil selüloz (CMCNa) (Ek 6) içeren MSM agar plaklarına seyreltilmemiş su örneklerinden 100 µl yayılmış ve 15 °C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Oluşan kolonilerin üzerine %1’lik Kongo kırmızısı belirteci (Ek 5) dökülerek 15 dk inkübasyon sonunda 1 M NaCl yardımı ile petrilere 15 dk inkübe edilmiş, koloniler etrafında beliren temiz zonlar ile o koloninin selüloz aktivitesi gözlemlenerek seçim işlemleri yapılmıştır. Selüloz üretimi tespit edilen koloniler yeni NA besi yeri plakaları üzerine çizgi ekim yardımı ile ekilerek 15 °C’de inkübe edilmiştir.

3.5.3.3. Lipaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

Karbon kaynağı olarak %1 oranında tween 80 (Ek 6) içeren MSM agar plaklarına seyreltilmemiş su örneklerinden 100 µl yayılarak, 15 °C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Zon gözlemlenen koloniler seçilerek çizgi ekim tekniği ile yeni petrilere aktarılmıştır.

3.5.3.4. Amilaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

Karbon kaynağı olarak %1 oranında nişasta (Ek 6) içeren MSM agar plaklarına seyreltilmemiş su örneklerinden 100 µl yayma plak ekim tekniği kullanılarak ekilmiş ve 15°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Oluşan kolonilerin üzerine %1.5’lik iyodür çözeltisi (Ek 5) yayılarak 15 dk inkübasyon sonunda koloniler etrafında beliren temiz zon oluşumu ile amilaz ürettiği tespit edilen koloniler seçilip çizgi ekim tekniği uygulanarak katı besiyerlerine aktarılmışlardır.

3.5.3.5. Antibiyotik duyarlılığı temelinde mikroorganizmaların izolasyonu

Su örneklerinden 100 µl alınarak 30 µg konsantrasyonunda farklı antibiyotikler (kanamisin, kloramfenikol, griseofulvin, tetrasiklin, amikasin, apramisin, ketokanazol, flukanazol ve thioestrepton, Ek 6) içeren NA besiyerine yayma plak ekim tekniği ile ekim yapılmıştır. Petriler 15 °C’de 7 gün inkübe edilmiş ve üreyen koloniler arasından seçim gerçekleştirilerek çizgi ekim tekniği ile yeni besiyerine aktarılmıştır.

3.6. İzolatların Moleküler ve Filogenetik Karakterizasyonu

3.6.1. Genomik DNA izolasyonu

Her bir kutup izolatına ait tek bir koloni 10 ml Nutrient broth (NB) (Ek 4) besiyerine ekilerek 15 °C de 200 rpm de 48 saat soğutmalı çalkalamalı inkübatörde (Labwit, Çin) inkübe edilmiştir. Elde edilen sıvı kültürler santrifüj (Hettich, Almanya) edilip (6500 rpm, 15 dk) elde edilen hücre peletinden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Bakterilerden DNA izolasyonu için Cutting (1990)’a ait yöntem kullanılmıştır. 2 ml sıvı kültüre ait pelet 567 µl TE tamponu (Ek 5) içinde çözülmüştür. Karışıma 30 µl Proteinaz K (Ek 5), 6 µl RNAz A (Ek 5), 24 µl Lizozim (Ek 6), 30 µl %10’luk SDS (Ek 5) eklenerek 37 °C’de 1 saat inkübe edilmiştir. Ardından, karışım üzerine 5 M NaCl’den 100 µl ve CTAB/NaCl (Ek 5)’den 800 µl eklenerek 65 °C’de 10 dk inkübe edilmiştir. Sonraki basamakta ise 1:1 oranında fenol:kloroform:izoamilalkol (25:24:1) (Ek 5) eklenip karışım 13 000 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant yeni tüpe alınıp üzerine 0.7x izopropanol (Ek 6)

eklenerek 13 000 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Dibe çökmüş olan DNA üzerine 1 ml %70’lik etanol (Ek 6) eklenerek 13 000 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Etanol 37 °C’de uçurulduktan sonra DNA 20 µl TE içerisinde çözülmüştür (Cutting, 1990).

Fungus örneğinden genomik DNA izolasyonu için Tekin (2011)’ e ait prosedür uygulanmıştır. Buna göre, 10 ml kültürden elde edilen fungal misel sıvı azot içinde parçalanmıştır. Ezilmiş numuneye eşit miktarda lysis buffer (Ek 5) ile birlikte; 60 µl proteinaz K (Ek 6), 20 µl RNAz A (Ek 6) eklenerek 37 °C’de 1 saat inkübe edilmiştir. 4000 xg’de 15 dk santrifüj sonrası 1:1 oranında fenol:kloroform:izoamilalkol (25:24:1) eklenerek 10 000 rpm’de 15 dk santrifüj tekrarlanmıştır. Süpernatant da aynı işlemlerden geçirilip santrifüj edilmiştir. Sonrasında, süpernatana 1:1 oranında kloroform (Ek 6) eklenip 10 000 rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Yine süpernatant kısım alınarak üzerine 0.7x izopropanol eklenip 5000 rpm’de 20 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan pelet üzerine %70’lik etanolden 500 µl eklendikten sonra 5000 rpm’de 5 dk santrifüj edilerek DNA yıkanmıştır. Kalan etanolün uçması için örnek 37 °C’de inkübe edilmiş, son olarak, DNA 300 µl TE içerisinde çözülmüştür (Tekin, 2011).

Elde edilen DNA’lar %0.8 konsantrasyonunda hazırlanan agaroz jele (Ek 6) 5 µl örnek 1 µl 1x yükleme boyası (Ek 5) olacak şekilde kuyucuklara yüklenmiştir. DNA’nın saflığı/bütünlüğü ayrıca, nanodrop ölçümü ile belirlenmiştir (Nanodrop ND2000, Thermofischer Scientific, ABD).

3.6.2. İzolatların 16S rRNA ve 5.8S rRNA-ITS dizilerinin PCR ile amplifikasyonu

Üniversal primer çiftleri kullanılarak bakterilerin 16S rRNA ve fungal suşun ise ITS-5.8S bölgeleri PCR yardımıyla çoğaltılmıştır. Kullanılan primer çiftleri Tablo 3.2’de, amplifikasyon için kullanılan PCR içerik ve koşulları ise Tablo 3.3’de verilmektedir.

Tablo 3.2. Primerler ve özellikleri

Primer adı	5’→ 3’ nükleotid dizisi	Tm (°C)	Amplikon Büyüklüğü (bp)	Özellik	Referans
BactF	AGAGTTTGATCATGGCTCAG	62	1465-1520	16S rRNA dizisi	Lane (1991)
1492R	GGTTACCTTGTTACGACTT	59			
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCG	67	400-700	ITS-5.8S dizisi	Shen vd (2020)

ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATG	58			
515F	GTGCCAGCMGCCGCGGTAA	55	594	16S rRNA dizisi	(Zhang, Zeng, Zhu, Cai, & Zhou, 2022)
R926	CCGYCAATTYMTTTRAGTTT	41	594		



Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan PCR içerik ve koşulları

PCR içeriği	PCR Koşulları		
	Miktar (μl)	Sıcaklık (°C)	Süre
5X Q5 DNA polimeraz tamponu (1X)	4	98	30 sn
10 mM dNTP (200 μM)	0.4	98	10 sn
İleri Primer (10 μM)	1	Tm-5	30 sn
Geri Primer (10 μM)	1	72	1000 bç/ 15-30 sn
Kalıp DNA (100 ng/μl)	1	72	5 dk
Q5 DNA Polimeraz (0,02 U/μl)	0.2	+ 4	∞
Toplam Hacim	20		

PCR ürünleri 1 mg/ml etidyum bromür (Ek 5) içeren % 0.8 konsantrasyonunda hazırlanmış agaroz jelde, 50 dk. 80 V akım uygulanarak yürütülmüştür. Elektroforez tamponu olarak 1X TAE (Tris-asetat-EDTA) (Ek 5) kullanılmıştır. Elektroforez sonrası jeldeki DNA bantları UV transilluminatörde (BioRad XR UV Transilluminator, ABD) incelenmiştir.

Agaroz jel elektroforez işleminden sonra elde edilmek istenen DNA bantları jelden kesilerek Eppendorf tüplere alınmıştır. NucleoSpin Gel and PCR Cleanup kiti (Macharey- Nagel) kullanılarak kesilen bantların ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstrakte edilen DNA'ların konsantrasyonu NanoDrop® ND-2000 (Thermo Fisher Scientific, ABD) cihazında belirlenmiştir.

3.6.3. DNA dizileme ve filogenetik ağaç oluşturma

DNA dizileme BM Labosis (Ankara) firması tarafından gerçekleştirilmiştir. Sanger dizileme yöntemi kullanılarak AB3730xl cihazında kapiller ayırım ile yapılan dizileme sonucunda elde edilen nükleotit dizileri BLAST programı aracılığı ile veri tabanındaki dizilerle karşılaştırılmıştır. BLAST programından çekilen nükleotid dizileri kullanılarak ClustalW (Thompson, Higgins, Gibson, 1994) yardımıyla çoklu dizi hizalamaları gerçekleştirilmiştir. MEGAX yazılım paketinde bulunan (Kumar, Stecher, Tamura, 2016) Neighbor Joining algoritması ve Kimura iki parametre testi kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Dış grup olarak *Vibrio cholerae* kullanılmıştır.

3.7. Suşların morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu

Suşlar 4 ila 35 °C aralığında farklı sıcaklıklarda inkübe edilerek psikrofil/psikrotolerant karakterleri belirlenmiştir. pH (4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0) ve NaCl (0-5 M) toleransları bakımından da optimum sıcaklıkta değerlendirmeleri yapılmıştır.

Samsun Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ndeki Vitek2 Compact (Biomeriux, USA) adlı bakteriyel tanılama cihazı ve bu cihaza özgü reaktif kartlar kullanılarak suşların biyokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır (Kirkinci et al., 2021).

3.8. Polihidroksibütirat (PHB) ekstraksiyonu ve kuantifikasyonu

Suşların PHB üretim potansiyelini belirlemek amacıyla (Getachew & Woldeesenbet, 2016)'e ait prosedür uygulanmıştır. Örnekler katı kültürden öze yardımı ile alınarak NB besiyerine ekilmiş, OD₆₀₀ değeri 1 ulaşan kültürler 10 ml taze NB besiyerine inoküle edilmişlerdir. İnkübasyon 15 °C'de 48 saat olarak yapılmıştır. Ardından, kültürlerden 2 ml alınarak 100 ml PHA besiyeri (Ek 4) içerisine ekim yapılmıştır. 15 °C'de 120 saat inkübe edilen kültürler iki eşit hacme ayrılmıştır. 15 dk 10,000 rpm'de santrifüj edilen 50 ml'lik bölümüne ait pelet kısmı 55 °C'de 16 saat kurutularak hücre kuru ağırlığı ölçülmüştür. Kalan 50 ml'lik kısım ise PHB ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Süpernatant atıldıktan sonra elde edilen pelletin üzerine, 10 ml steril dH₂O eklenmiş ve elde edilen karışım 37 ° C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında ise karışım 5000 rpm'de 15 dk santrifüj edilip, 10 ml aseton içerisinde vortekslenerek çözülmüştür. 5000 rpm'de 15 dk santrifüj sonrasında 10 ml etanol ile yıkama ve yeniden 5000 rpm'de 15 dk santrifüj basamakları uygulanmıştır. Elde edilen pellet 10 ml kloroform içerisinde çözündürülmüş ve 95 °C'de kloroform uçurulmuştur. Pellet 10 ml saf sülfürik asit içerisinde 40 dk 95 °C'de inkübe edilmiştir. PHB standardı (Sigma, USA) ve örnekler OD₂₃₅ değerinde spektrofotometrik ölçüme tabi tutulmuşlardır. Ardından, PHB standardı verileri kullanılarak elde edilen standart eğriye ait formül yardımıyla 120. saatte hücrelerdeki PHB üretimi hesaplanmıştır. % PHB üretimi elde edilen PHB üretim değerinin hücre kuru ağırlığına oranlanması ile hesaplanmıştır.

3.9. Bitki büyümesini destekleyici (PGPR) özelliklerinin belirlenmesi

3.9.1. Indol-3-asetik asit (IAA) üretimi

Indol-3-asetik asit (IAA) üretiminin belirlenebilmesi için (Fan et al., 2018) tarafından rapor edilen yöntem uygulanmıştır. Suşlar, Tripton-Maya Ekstraktı (TY) (Ek 4) içeren sıvı besiyerinde karanlık ortamda, 15 °C ve 200 rpm’de 120 saat inkübe edilmiş ve 24 saat aralıklarla 2 ml kültür alınarak IAA üretimine ait ölçüm yapılmıştır. İnkübasyon sonrasında alınan 2 ml bakteri kültürleri 10 dk boyunca 13,000 x g’de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantdan 1 ml alınıp üzerine 2 ml Salkowski ajanı (1 litre için: 4.5 g FeCl₃ ve 10.8 M H₂SO₄) eklenmiştir. Kuvvetli bir şekilde vorteks yapılarak numuneler, 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Ölçümler 24 saat aralıklarla 5 gün boyunca tekrar edilmiştir. IAA standardı (Duchefa, Hollanda)’nın bilinen konsantrasyonlarıyla hazırlanan standart bir eğri ile karşılaştırılarak OD_{600 nm}’ de mikroorganizmaların IAA üretim potansiyelleri tespit edilmiştir.

3.9.2. Siderofor üretimi

Siderofor üretimi, Chrome Azurol S agar metodu kullanılarak belirlenmiştir (Alexander & Zuberer, 1991). Suşlar 15 °C ve 200 rpm’de, 120 saat Nutrient Broth (NB) besiyerinde üretilmiştir. Kültürler 10 dk boyunca 13,000 x g’de santrifüj edilerek elde edilen süpernantantlar Chrome Azurol S agar (Ek 4) üzerinde 5 mm çapında açılmış olan kuyucuklara 50 µl olacak şekilde yüklenmiştir. 7 gün boyunca 15 °C’de inkübasyon sonrasında petriler kuyucuklar etrafında zon oluşumu bakımından değerlendirilmiştir. Oluşan zonlar mm cinsinden ölçülmüştür.

3.10. Ağır metal dirençlerinin belirlenmesi

İzole edilen suşların ağır metal dirençlerinin belirlenebilmesi için farklı konsantrasyonlarda (0-100 mg/ml) Cd⁺², Pb⁺², Zn⁺², Cu⁺², Cr⁺³, Ni⁺² içeren NA plaklarına Mcfarland değeri 0.5 olan sıvı kültürlerden çizgi ekim yapılarak, 15 °C’de 7 gün boyunca inkübe edilmişlerdir.

3.11. Antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi

Suşların antibiyotik dirençlerinin (Kanamisin 30 µg/ml, Amikasin 30 µg/ml, Ampisilin 25 µg/ml, Tetrasiklin 30 µg/ml, Griseofulvin 10 µg/ml, Flukanazol 25 µg/ml, Ketokanazol 25 µg/ml, Thiostrepton 30 µg/ml) belirlenmesi için Mcfarland

değeri 0.5'e ayarlanan kültürlerden NA'ya yayma ekim tekniği ile ekim yapılmış, ardından standart antibiyotik diskleri steril olarak agar yüzeyine yerleştirilmiştir. 15 °C'de 7 gün inkübasyon sonrasında diskler etrafındaki olası zon oluşumları duyarlılık/direnç bakımından CLSI standartları (CLSI M100-ed32: 2022) baz alınarak değerlendirilmiştir.



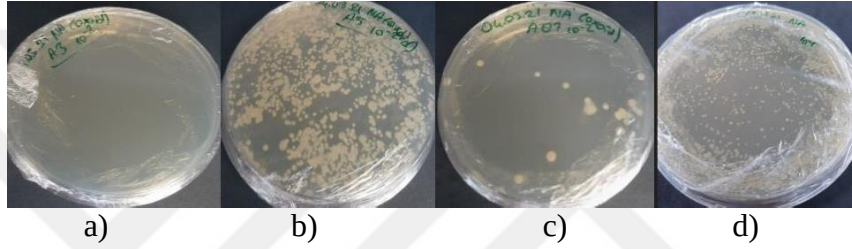
4. BULGULAR

4.1. Mikroorganizmaların İzolasyonu

A03, A05, A07 ve Y11 kodlu buzul örneklerinden mikroorganizmaların izolasyonları için farklı kriterler baz alınarak hazırlanan besiyerlerine ekimler yapılmıştır. 7 gün ve 15 °C’de inkübasyon sonrasında oluşan farklı renk ve morfolojiye sahip koloniler seçilerek çalışmalara devam edilmiştir.

4.1.1. Doğrudan izolasyon

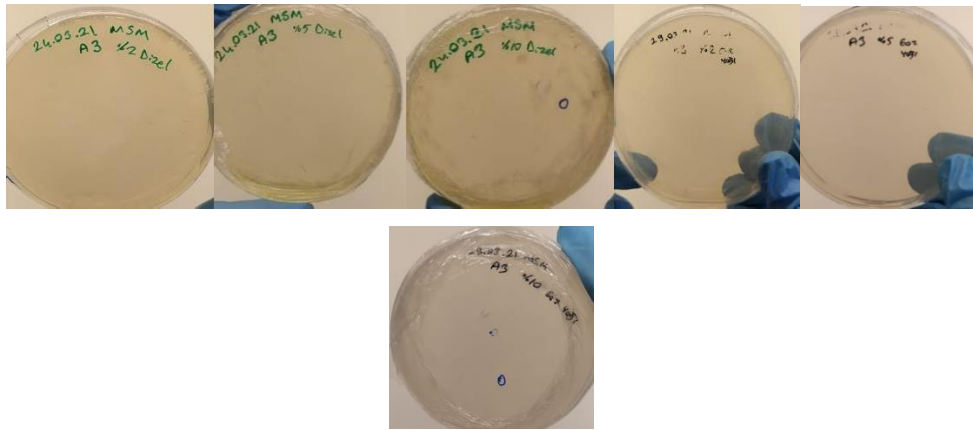
NA besiyerine farklı seyreltmelerle ekimler sonrasında elde edilen kolonilere örnekler Şekil 4.1’de verilmektedir.



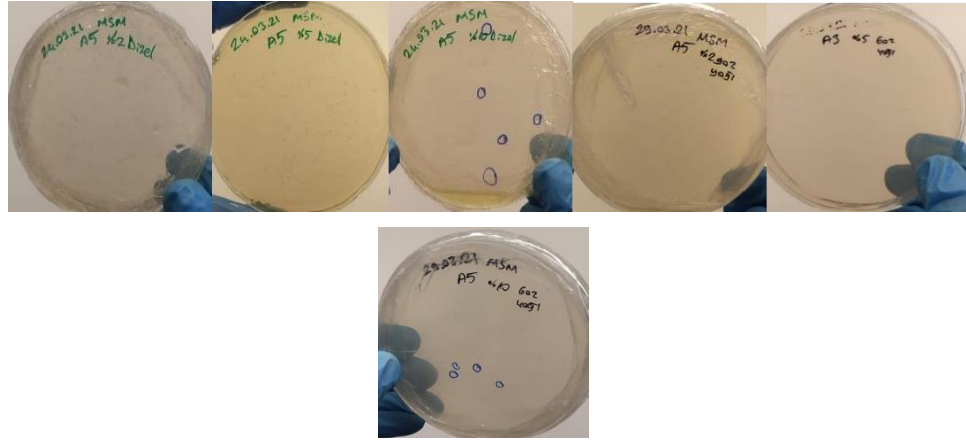
Şekil 4.1. NA besiyerinde koloni oluşumu. a) A03, b) A05, c) A07, d) Y11

4.1.2. Dizel/gaz yağını parçalayabilen mikroorganizmaların izolasyonu

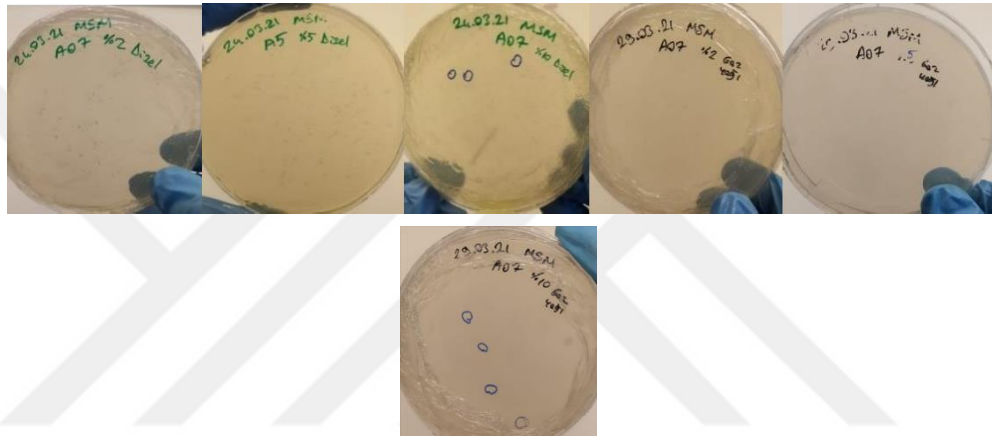
Tek karbon kaynağı olarak farklı konsantrasyonlarda dizel/gaz yağı içeren MSM besiyerlerinde sadece %2, 5 ve 10 dizel/gaz yağı varlığında koloni oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2).



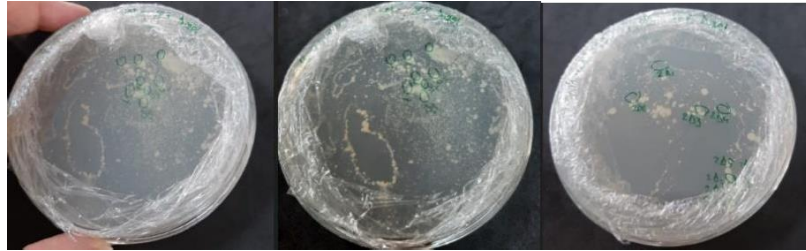
a) A03



b) A05



c) A07

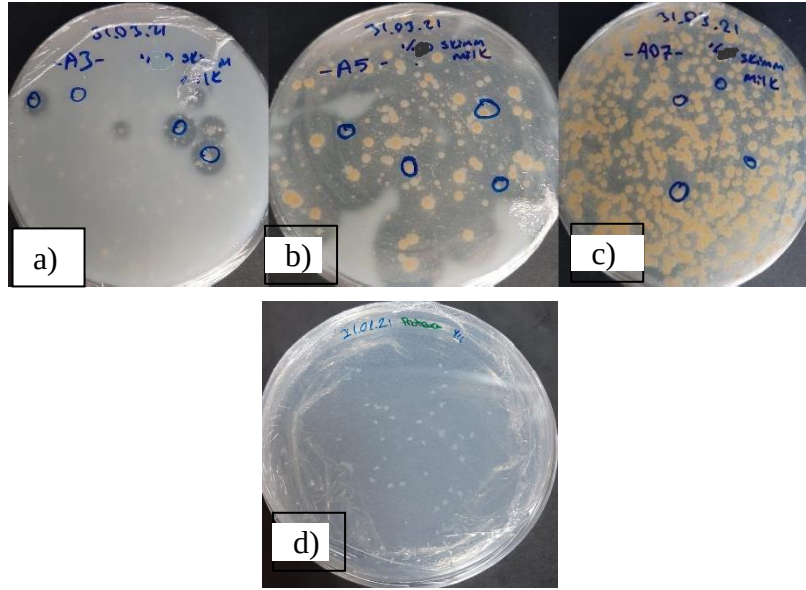


d) Y11

Şekil 4.2. Karbon kaynağı olarak dizel/gaz yağı (%2-5-10) içeren MSM’de koloni oluşumu. a) A03, b) A05, c) A07, d) Y11

4.1.3.1. Proteaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

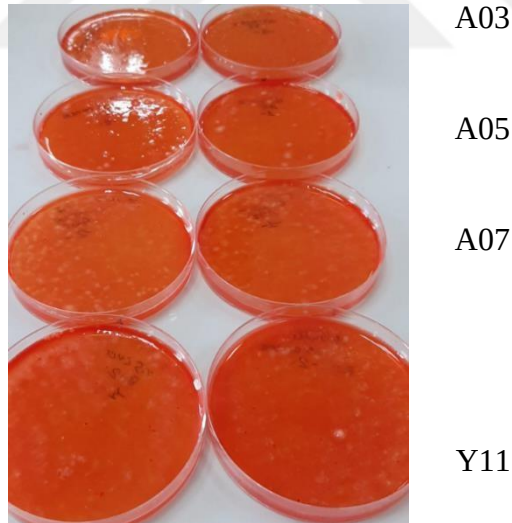
%2 süt tozu içeren besiyerinde proteaz aktivitesi gösteren mikroorganizmalara ait koloniler Şekil 4.3’de görülmektedir.



Şekil 4.3. %2 süt tozu içeren MSM besiyerlerinde üreyen koloniler ve proteaz üretim durumları. a) A03, b) A05, c) A07, d) Y11

4.1.3.2. Selüloz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

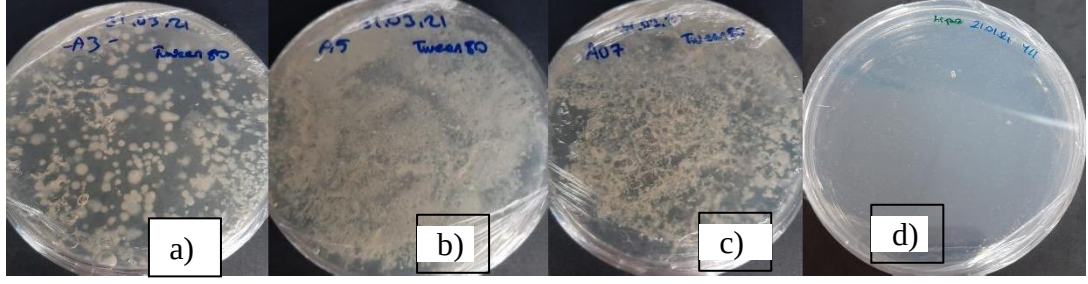
%5 oranında CMCNa MSM agar plaklarında 7 gün 15 °C’de inkübasyonun ardından gözlemlenen koloniler Şekil 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.4. CMCNa içeren MSM kültürlerine %1 kongo kırmızı eklendikten sonraki görünüm. a) A03, b) A05, c) A07, d) Y11

4.1.3.3. Lipaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

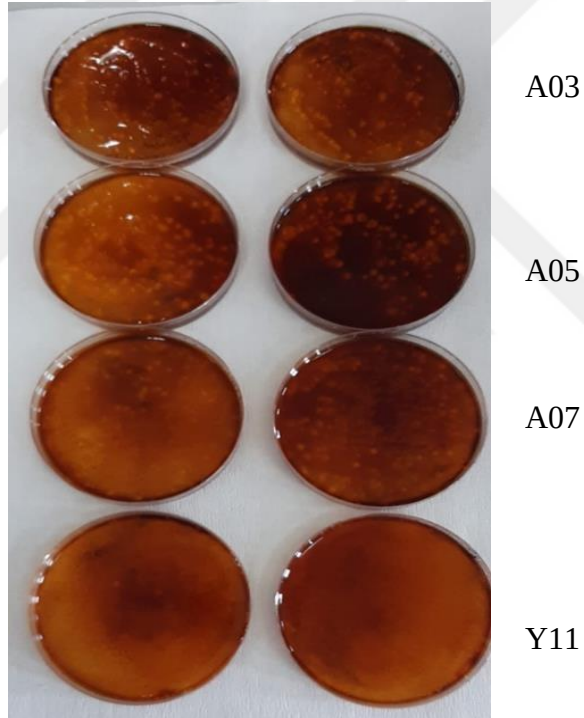
%1 oranında tween 80 içeren MSM agar plaklarında 7 gün 15 °C’de inkübasyonun ardından gözlemlenmiş koloni oluşumları Şekil 4.5’de gösterilmektedir.



Şekil 4.5. Tween 80 içerikli MSM kültürlerinde lipaz üreten koloniler. a) A03, b) A05, c) A07, d) Y11

4.1.3.4. Amilaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu

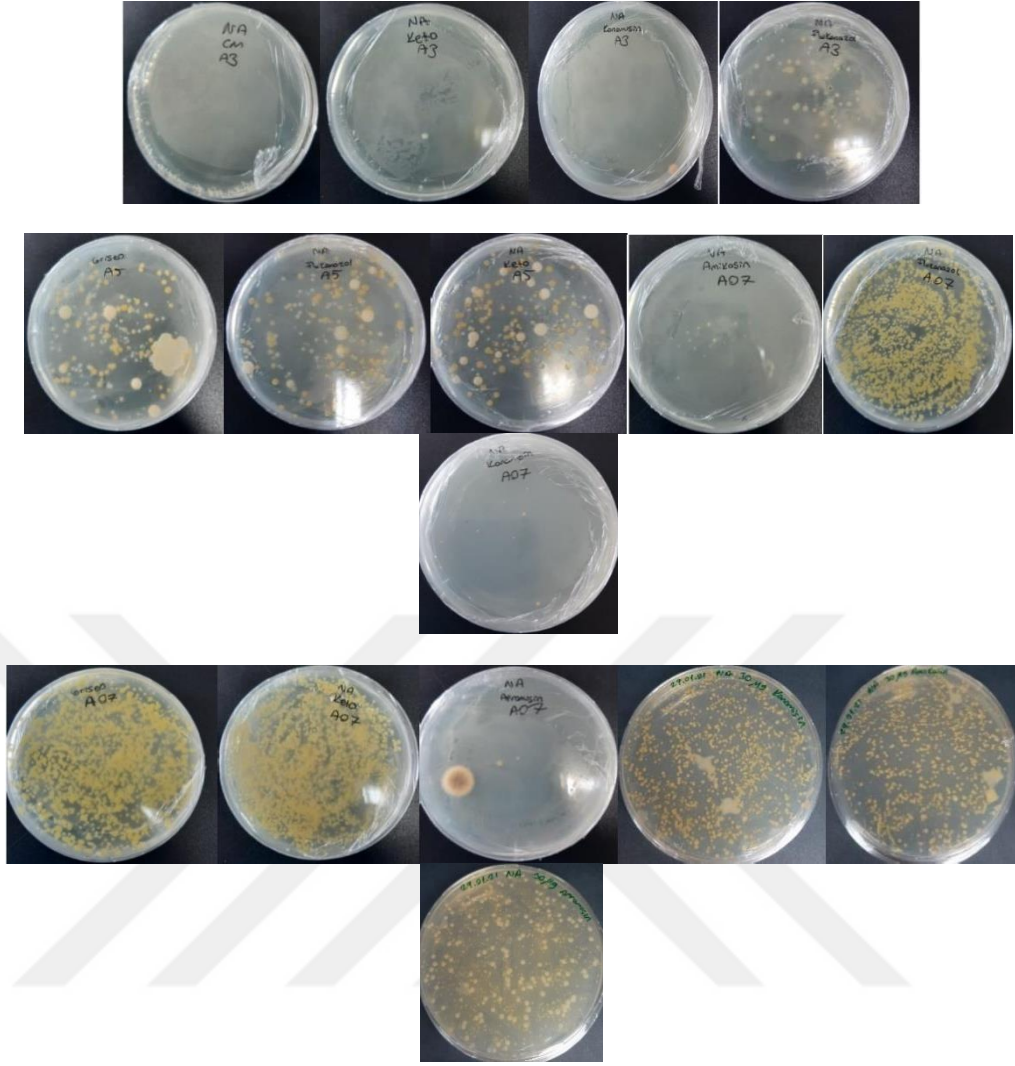
%1 oranında nişasta içeren MSM agar plaklarına ekilmiş örneklerde 7 gün 15 °C’de inkübasyonun ardından oluşan koloniler ve amilaz aktivite durumları Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Nişasta içeren MSM kültürlerine iyodür çözeltisi eklendikten sonraki görünüm. a) A03, b) A05, c) A07, d) Y11

4.1.4. Antibiyotik direncine sahip mikroorganizmaların izolasyonu

NA besiyerine 30 µg/ml konsantrasyonunda kanamisin, kloramfenikol, griseofulvin, tetrasiklin, amikasin, apramisin, ketokanazol, flukanazol ve thiostrepton eklenerek 15 °C’de 7 gün inkübe edilen petrilerde farklı koloni oluşumları gözlemlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Farklı antibiyotikler içeren NA petrilerinde oluşan koloniler

İzolasyon çalışmalarının sonucunda, doğrudan NA besiyerinde üreyebilen (Şekil 4.1) ya da dizel/gaz yağını tek karbon kaynağı olarak kullanabilen petrol biyodegradasyon özelliğine sahip (Şekil 4.2), ya da ekstremozim üretebilme (Şekil 4.3-4.6) ve belirli antibiyotiklere direnç (Şekil 4.7) kapasitesine sahip çok sayıda koloniler elde edilmiştir. Bu değerlendirmeler sonrasında, hazırlanan besiyerlerinde üreyen ve farklı morfolojiye sahip koloniler seçilerek (Tablo 4.1) taze besiyerlerine çizgi tekniği ile aktarılmıştır (Şekil 4.8).

Tablo 4.1. İzolasyon sonucu seçilen koloniler ve izolasyon şekilleri

İzolat no	Örnek kodu	Seçicilik	İzolat no	Örnek kodu	Seçicilik	İzolat no	Örnek kodu	Seçicilik
1	Y11	Kanamisin (30µg/ml)	9	A05	NA	17	A03	CMCNa (%5)
2	Y11	Amikasin (30 µg/ml)	10	A07	NaCl (%3)	18	A05	CMCNa (%5)

3	Y11	Dizel (%5)	11	A03	NA	19	A07	Nişasta (%1)
4	Y11	Kanamisin (30µg/ml)	12	A05	Dizel (%10)	20	A03	Nişasta (%1)
5	A07	NaCl (%3)	13	A07	Dizel (%10)	21	A05	Nişasta (%1)
6	A07	NA	14	A07	Tween 80 (%1)	22	A05	Süt tozu (%2)
7	A07	NaCl (%3)	15	A07	Gazyağı (%10)	23	A05	Süt tozu (%2)
8	A05	NA	16	A03	Gazyağı (%10)			



a)



b)



c)



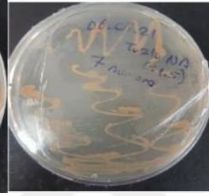
d)



e)



f)



g)



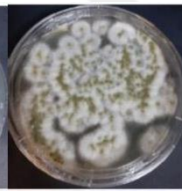
ğ)



h)



i)



j)



k)



l)



m)



n)



o)



ö)



p)

r)

s)

ş)

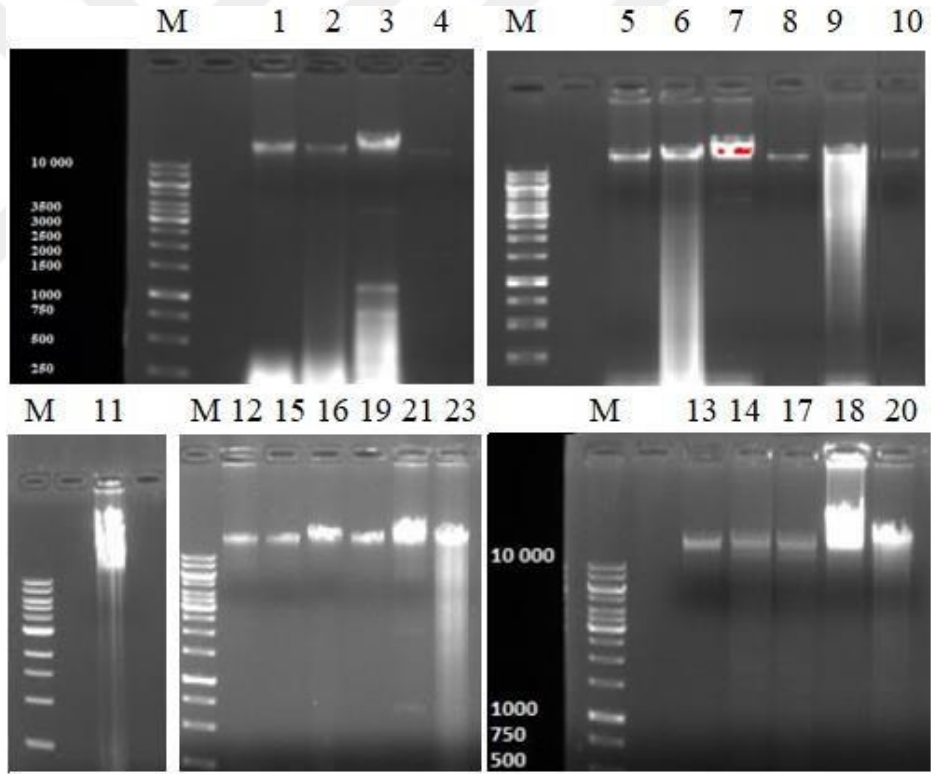
t)

Şekil 4.8. Seçilen 23 adet mikroorganizmaya ait koloniler. a-t: Sırasıyla 1-23'e kadar numaralandırılmış izolatlar

4.2. İzolatların Moleküler ve Filogenetik Karakterizasyonu

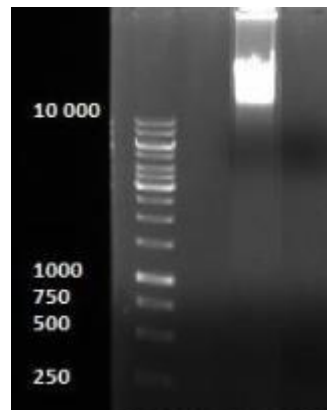
4.2.1. Genomik DNA izolasyonu

15 °C'de ve 200 rpm'de 48 saat soğutmalı çalkalamalı inkübatörde inkübe edilen kültürlerden izole edilen genomik DNA'lara ait jel görüntüleri Şekil 4.9'da verilmektedir.



M

22

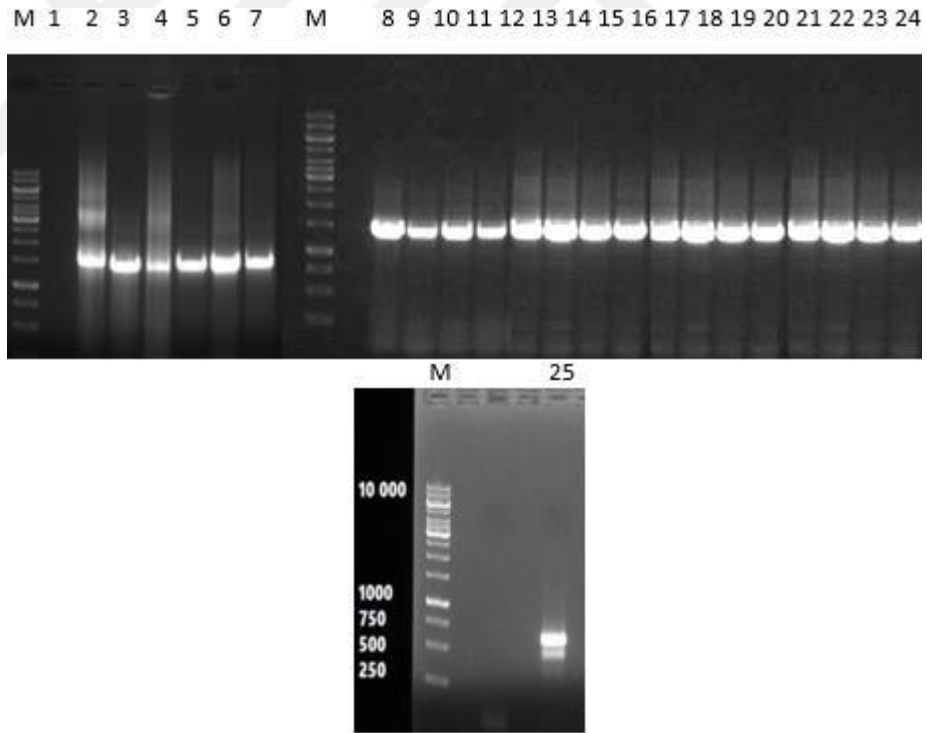


Şekil 4.9. İzolatlarla ait genomik DNA'lar. M: Generuler 1 kb ladder, 1-23: İzolat numaralarına göre izole edilen genomik DNA sonuçları

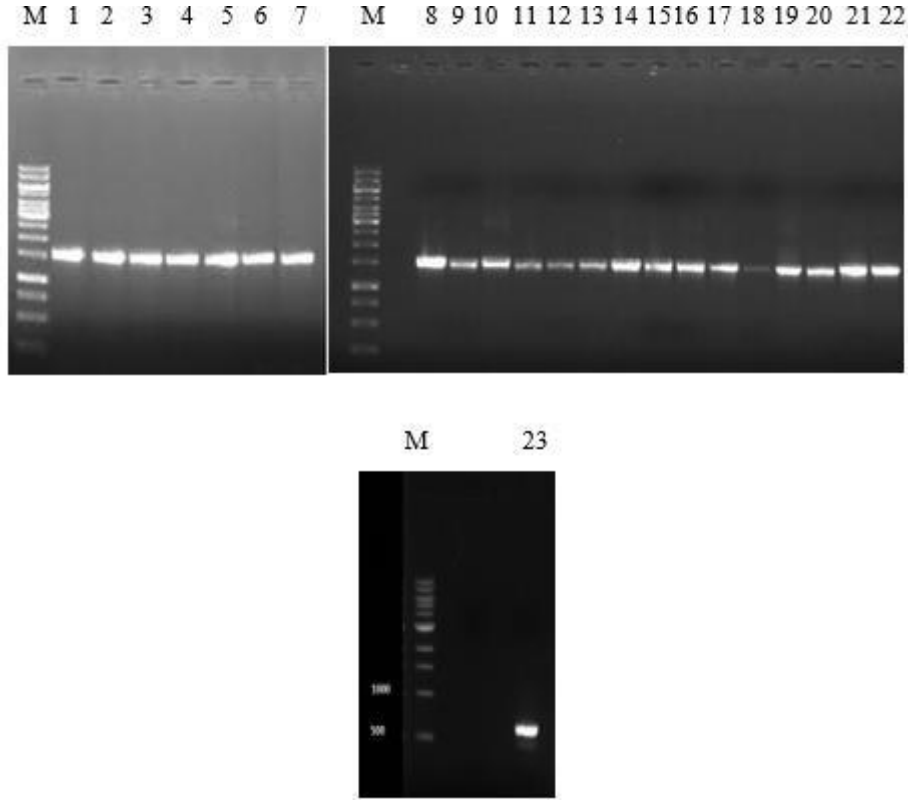
4.2.2. İzolatların 16S rRNA ve ITS-5.8S rRNA dizilerinin PZR ile amplifikasyonu

İzole edilen genomik DNA'lar kalıp olarak ve Tablo 3.2.'de verilen universal primer çiftleri kullanılarak yapılan PZR sonucunda 16S rRNA gen bölgesi için yaklaşık 1500 bp'lık, ITS-5.8S rRNA dizisi için ise yaklaşık 568 bp uzunluğunda amplikon elde edilmiştir (Şekil 4.10).

Agaroz jel elektroforezi sonrasında istenen DNA bantları jelden kesilerek Eppendorf tüplere alınmıştır. NucleoSpin Gel and PCR Cleanup kiti (Macharey-Nagel) kullanılarak kesilen bantlar ekstrakte edilmiştir. Elde edilen DNA'ların konsantrasyonu NanoDrop® ND-2000 (Thermo Fisher Scientific, ABD) cihazında belirlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.10. İzolatların 16S rRNA bölgesine ait PZR amplikonları. M: Generuler 1 kb ladder, 1, 8: Negatif kontrol PZR sonucu, 2: PZR-1, 3: PZR-2, 4: PZR-3, 5: PZR-4, 6: PZR-5, 7: PZR-6, 9: PZR-7, 10: PZR-8, 11: PZR-9, 12: PZR-10, 13: PZR-12, 14: PZR-13, 15: PZR-14



Şekil 4.11. Jelde özütlenen 16S rRNA bölgesine ait PZR amplikonları. M: Generuler 1 kb ladder, 1: PZR-1, 2: PZR-2, 3: PZR-3, 4: PZR-4, 5: PZR-5, 6: PZR-6, 7: PZR-7, 8: PZR-8, 9: PZR-9, 10: PZR-10, 11: PZR-12, 12: PZR-13, 13: PZR-14, 14: PZR-15, 15: PZR-16, 16: PZR-17, 17: PZR-18, 18: PZR-19, 20: PZR-21, 21: PZR-22, 22: PZR-23, 23: PZR-11

4.2.3. DNA dizileme ve filogenetik ağaç oluşturma

Sanger dizileme yöntemi kullanılarak AB3730xl cihazında kapiller ayırım ile yapılan dizileme sonucunda elde edilen nükleotit dizileri BLAST programı aracılığı ile veri tabanındaki dizilerle karşılaştırılmıştır.

1 numaralı izolat 16S rRNA gen dizilemesi sonucu *Chryseobacterium* sp. strain BIS 1013 ile %99.54 oranında, 2 numaralı izolat *Pedobacter* sp. strain UP640 ile %99.57 oranında, 3 numaralı izolat *Pseudomonas* sp. ile %99.58 oranında, 4 numaralı izolat *Pedobacter* sp. strain AJM ile %92.45 oranında, 5 numaralı izolat *Planococcus* sp. PMC21323 ile %100 oranında, 6 numaralı izolat *Flavobacterium* sp. S3-9 ile %99.50 oranında, 7 numaralı izolat *Pseudoalteromonas* sp. C64 ile %99.65 oranında, 8 numaralı izolat %87.68 oranında, 9 numaralı izolat *Psychrobacter* sp. ile 10 numaralı izolat *Psychrobacter* sp. CJKOP23 ile %98.90 oranında, 11 numaralı izolat *Aspergillus* sp. CMV011A5 ile %99.83 oranında, 12 numaralı izolat *Flavobacterium* sp. KJF9-9 ile %97.63 oranında, 13 numaralı izolat *Psychrobacter* sp. ile %99.30 oranında, 14 numaralı izolat *Psychrobacter* sp. CJKOP112 ile %98.05 oranında, 15

numaralı izolat *Psychrobacter* sp. CJKOP-55 ile %97.70 oranında, 16 numaralı örnek *Psychrobacter* sp. ile %98.17 oranında, 17 numaralı örnek *Psychrobacter* sp. RSAP11 ile %80.44 oranında, 18 numaralı örnek *Psychrobacter* sp. RSAP11 ile %99.93 oranında, 19 numaralı izolat *Flavobacterium* sp. w20-15 ile %99.64 oranında, 20 numaralı izolat *Psychrobacter* sp. ile %100 oranında, 21 numaralı izolat *Psychrobacter* sp. B48 ydz-bz ile %98.89 oranında, 22 numaralı izolat *Psychrobacter fozii* IARI-IIWP-12 ile %99.95 oranında, 23 numaralı izolat *Psychrobacter* sp. ile %97.86 oranında benzerlik göstermiştir (Tablo 4.2). Suşlara ait filogenetik dendogramlar Şekil 4.12’de yer almaktadır.



Tablo 4.2. Suşların dizi analizi ve hizalama sonuçlarına göre benzerlik yüzdeleri

No	Suş isimleri/Genbank Numarası	Erişim	En benzer suşlar	Erişim numarası	Benzerlik yüzdesi
1	<i>Chryseobacterium</i> sp. EK1		<i>Chryseobacterium</i> sp. strain BIS1013	MN810246.1	%99.54
			<i>Chryseobacterium</i> sp. strain E2-19	KY476500.1	%99.69
			<i>Chryseobacterium</i> sp. strain BIS1014	MN810247.1	%99.47
			<i>Chryseobacterium</i> sp. strain G5-32	MN332584.1	%99.47
			<i>Chryseobacterium</i> sp. strain E2-14	KY476496.1	%99.62
2	<i>Pedobacter</i> sp. FO1		<i>Pedobacter cryonitis</i> strain UP640	MW332359.1	%99.57
	OQ255770		<i>Pedobacter cryonitis</i> strain NJ-DLW-9-B	MW928785.1	%99.28
			<i>Pedobacter cryonitis</i> strain A37	NR_025534.1	%99.15
			<i>Pedobacter cryonitis</i> strain UP621	MW332358.1	%99.57
			<i>Pedobacter hartonitis</i> strain WB3_3-3	MW332351.1	%99.49
3	<i>Pseudomonas</i> sp. FH1		<i>Pseudomonas meridina</i>	FM213379.2	%99.58
	OQ255771		<i>Pseudomonas</i> sp. strain YL-100	OK147785.1	%99.65
			<i>Pseudomonas</i> sp. strain KP-11-2	MH018905.1	%99.51
			<i>Pseudomonas</i> sp. strain TNT11	OP846032.1	%99.51
			<i>Pseudomonas</i> sp. strain HC3-11	JF312981.1	%99.51

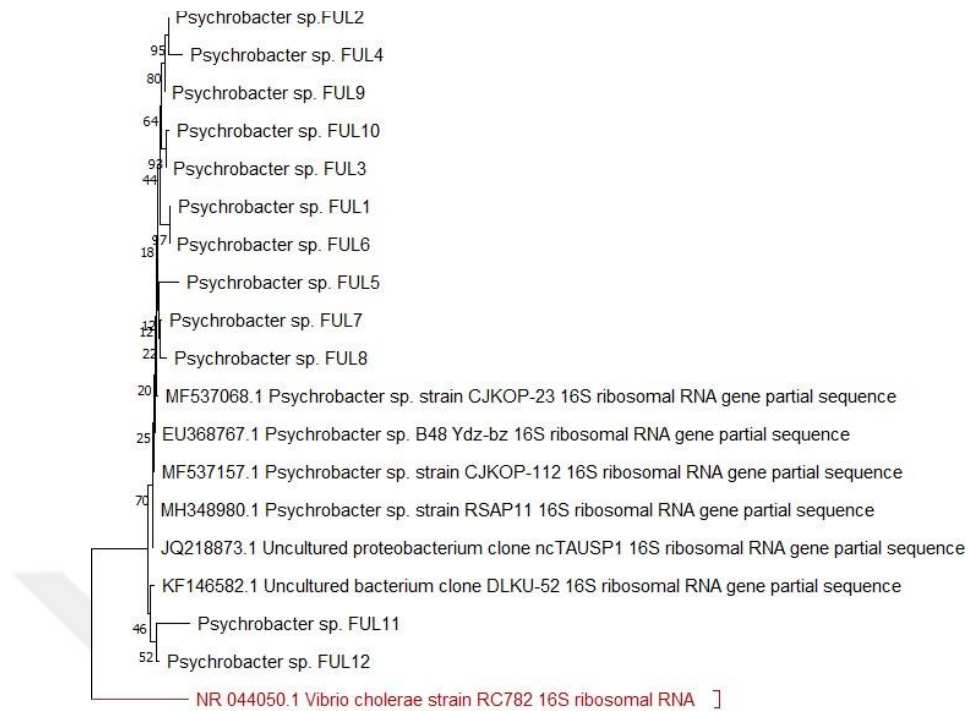
No	Suş isimleri/Genbank Numarası	Erişim	En benzer suşlar	Erişim numarası	Benzerlik yüzdesi
4	<i>Pedobacter</i> sp. FO2		<i>Pedobacter</i> sp. strain AJM	MW654037.1	%92.45
			<i>Pedobacter</i> sp. strain AJM	KX911979.1	%92.38
			<i>Pedobacter</i> sp. strain HP3S	KM187462.1	%92.60
			<i>Pedobacter</i> sp. strain PBI_19	HM204921.1	%92.31
			<i>Pedobacter</i> sp. strain CC3N	KM187242.1	%92.42
5	<i>Planococcus</i> sp. FG1		<i>Planococcus</i> sp. SS1.3	KC160837.1	%100
	OQ255808		<i>Planococcus</i> sp. strain SE18	KY476630.1	%99.86
			<i>Planococcus</i> sp. strain E9-5	KY476550.1	%99.86
			<i>Planococcus</i> sp. SS1.4	KC160838.1	%99.65
			<i>Planococcus</i> sp. SS9.30	KC160688.1	%99.65
6	<i>Flavobacterium</i> sp. FN1		<i>Flavobacterium frigidarium</i> isolate S3-9	AY771722.1	%99.50
	OQ255809		<i>Flavobacterium</i> sp. KJF3-13	JQ800033.1	%99.36
			<i>Flavobacterium</i> sp. FLTR 007/09	HM443878.1	%99.71
			<i>Flavobacterium frigidarium</i> strain w20-15	KU597260.1	%99.50
			<i>Flavobacterium</i> sp. KT10	FJ439597.1	%99.43
7	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. F1		<i>Pseudoalteromonas</i> sp. strain C64	MN889097.1	%99.65
	OQ255810		<i>Pseudoalteromonas</i> sp. strain B3S11	ON965559.1	%99.58
			<i>Pseudoalteromonas</i> sp. strain B1S09	ON965550.1	%99.58
			<i>Pseudoalteromonas</i> sp. strain L30	MN889171.1	%99.58

No	Suş isimleri/Genbank Numarası	Erişim	En benzer suşlar	Erişim numarası	Benzerlik yüzdesi
8	<i>Pedobacter</i> sp. FO3		Uncultured bacterium clone Y109	KF003211.1	%90.88
			Uncultured bacterium clone DR550SWSAEE42	DQ354730.1	%88.27
			<i>Pedobacter cryoconitis</i> strain A37	NR_025534.1	%87.78
			<i>Pedobacter cryoconitis</i> strain PAMC 27485	CP014504.1	%87.73
			<i>Pedobacter cryoconitis</i> UP1436	MW332373.1	%87.79
9	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL1 OQ255792		<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-115	MF537160.1	%99.41
			<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-114	MF537159.1	%99.41
			<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-112	MF537157.1	%99.41
			<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-110	MF537155.1	%99.41
			<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-109	MF537154.1	%99.41
10	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL2 OQ255811		<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-23	MF537068.1	%98.90
			<i>Psychrobacter</i> sp. C5B01	KP016699.1	%99.16
			<i>Psychrobacter</i> sp. AECF-18	JQ618833.1	%98.89
			<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-74	MF537119.1	%98.89
			<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-114	MF537159.1	%98.89
11	<i>Aspergillus</i> sp. AKK1 OQ255784		<i>Aspergillus transmotanensis</i> strain CMV011A5	MK450657.1	%99.83
			<i>Aspergillus paraciticus</i> DTO 046-C2	MG662400.1	%99.83
			<i>Aspergillus paraciticus</i> strain CBS 117618	OL711689.1	%99.83
			<i>Aspergillus transmotanensis</i> strain CBS130015	OL711685.1	%99.83
			<i>Aspergillus paraciticus</i> NRLL: 3386	HQ340110.1	%99.83

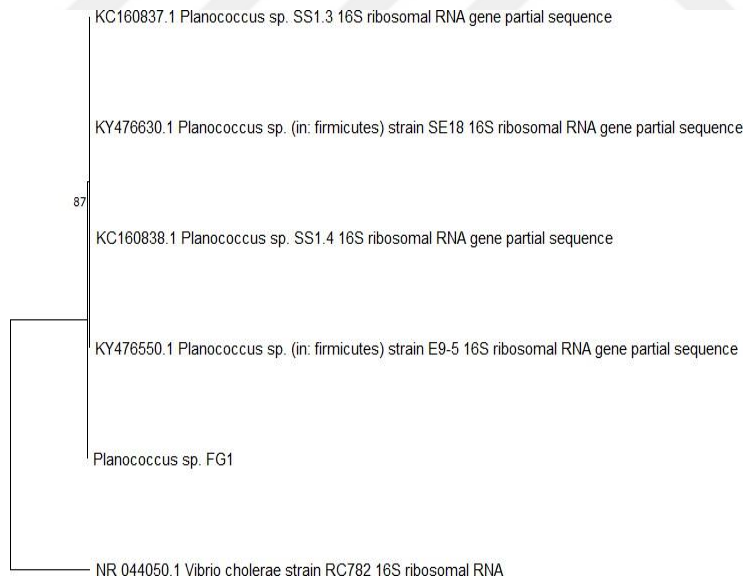
No	Suş isimleri/Genbank Numarası	Erişim	En benzer suşlar	Erişim numarası	Benzerlik yüzdesi
12	<i>Flavobacterium</i> sp. FN2		Uncultured bacterium clone EFS-77	EF190152.2	%96.43
			<i>Flavobacterium</i> sp. KJF9-9	JQ800147.1	%92.36
			<i>Flavobacterium</i> sp. SS11.5	KC160733.1	%91.58
			Uncultured bacterium clone 3C002915	EU801584.1	%91.15
			<i>Flavobacterium crassostreae</i> strain LPB0076	EU801584.1	%91.34
13	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL3 OQ255812		<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-78	MF537122.1	%98.80
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-18	MF537063.1	%98.80
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-114	MF537159.1	%98.73
			Uncultured <i>Psychrobacter</i> sp. clone C5B01	KP016699.1	%98.73
			<i>Psychrobacter</i> sp. a381	FN433004.1	%98.66
14	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL4 OQ255813		<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-112	MF537157.1	%98.05
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-96	MF537141.1	%98.11
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-115	MF537160.1	%97.97
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-108	MF537153.1	%98.04
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CR2A13	MK841137.1	%97.91
15	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL5		Uncultured proteobacterium clone ncTAUSP1	JQ218873.1	%97.70
			Uncultured proteobacterium clone L0710	JQ218679.1	%97.70
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-55	MF537100.1	%97.89
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-122	MF537167.1	%97.76
			<i>Psychrobacter</i> sp. strain RSAP11	MH348980.1	%97.63

No	Suş isimleri/Genbank Numarası	Erişim	En benzer suşlar	Erişim numarası	Benzerlik yüzdesi
16	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL6 OQ255773		<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-115 <i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-114 <i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-112 <i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-110 <i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-109	MF537160.1 MF537159.1 MF537157.1 MF537155.1 MF537154.1	%98.83 %98.83 %98.83 %98.83 %98.83
17	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL7 OQ255774		<i>Psychrobacter</i> sp. strain RSAP11 <i>Psychrobacter nivimaris</i> sp. <i>Psychrobacter</i> sp. strain AHE_PA_228 Uncultured proteobacterium clone TAUSP7r <i>Psychrobacterium</i> sp. 28M-43	MH348980.1 KU579272.1 MW580175.1 JQ218875.1 CP061739.1	%99.93 %99.93 %99.93 %99.93 %99.93
18	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL8 OQ255793		<i>Psychrobacter</i> sp strain RSAP11 <i>Psychrobacter proteolyticus</i> <i>Psychrobacter nivimaris</i> strain OUCMDZ4219 <i>Psychrobacter</i> sp. strain AHE_PA_228 Uncultured proteobacterium clone TAUSP7r	MH348980.1 LT899990.1 KU579272.1 MW580175.1 JQ218875.1	%99.16 %99.16 %99.16 %99.16 %99.16
19	<i>Flavobacterium</i> sp. FN3 OQ255814		Uncultured bacterium clone HglApr412 <i>Flavobacterium frigidarium</i> strain w20-15 Uncultured bacterium clone HglApr352 Uncultured bacterium clone HglApr161 <i>Flavobacterium frigidarium</i> strain FEB2-04	JX015874.1 KU597260.1 JX015819.1 JX015643.1 MG780342.1	%99.57 %99.50 %99.36 %99.36 %99.29

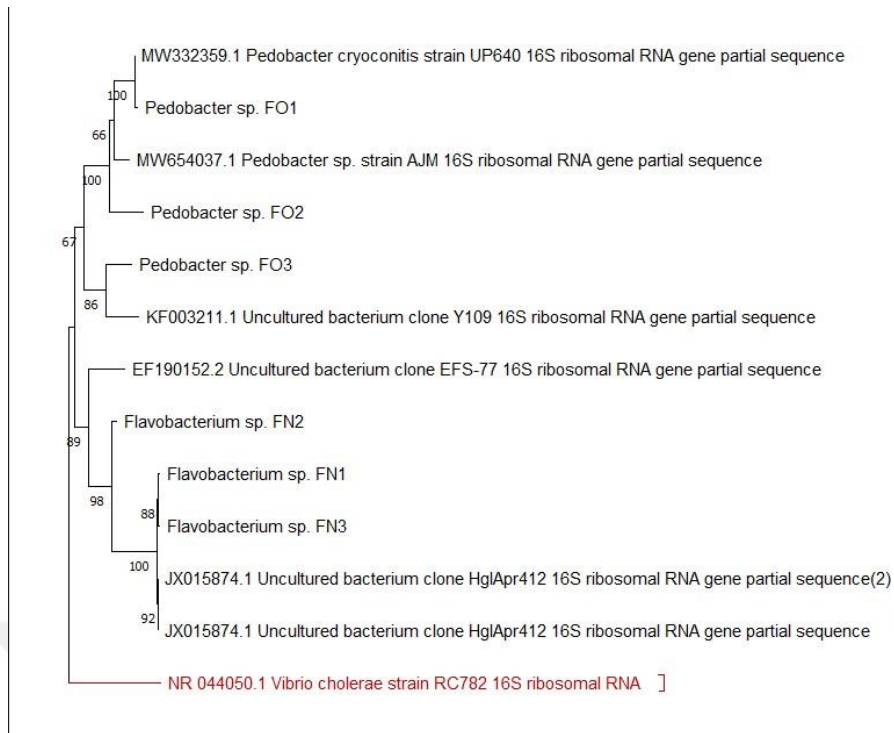
No	Suş isimleri/Genbank Numarası	Erişim	En benzer suşlar	Erişim numarası	Benzerlik yüzdesi
20	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL9 OQ255775		<i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-23 Uncultured <i>Psychrobacter</i> sp. clone C5B01 <i>Psychrobacter nivimaris</i> strain SYR7 <i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-115 <i>Psychrobacter</i> sp. CJKOP-31	MF537068.1 KP016699.1 MH259925.1 MF537160.1 MF537076.1	%100 %99.72 %100 %99.59 %99.59
21	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL10 OQ255794		<i>Psychrobacter</i> sp. B48 ydz-bz <i>Psychrobacter nivimaris</i> strain KOPRI24925 <i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-101 <i>Psychrobacter</i> sp. strain RSAP11 <i>Psychrobacter</i> sp. strain CJKOP-99	EU368767.1 EF101544.1 MF537146.1 MH348980.1 MF537144.1	%98.95 %98.95 %98.68 %98.88 %98.74
22	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL11 OQ255795		Uncultured bacterium clone DLKU-52 <i>Psychrobacter fozii</i> strain IARI-IIWP-12 <i>Psychrobacter</i> sp. strain AHE_PA_179 <i>Psychrobacter</i> sp. strain KJF12-12 <i>Psychrobacter</i> sp. IC2-14	KF146582.1 KF054907.1 MW580128.1 JQ800207.1 HQ448946.1	%97.44 %97.44 %97.44 %97.44 %97.44
23	<i>Psychrobacter</i> sp. FUL12 OQ255796		<i>Psychrobacter cryohalolentis</i> strain ANT H68B <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> strain ANT H56B <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> strain 21 Uncultured bacterium clone DLKU-51 Uncultured bacterium clone B10-284	KY405931.1 KY405928.1 KF923431.1 KF146581.1 KF494480.1	%99.51 %99.51 %99.51 %99.51 %99.51



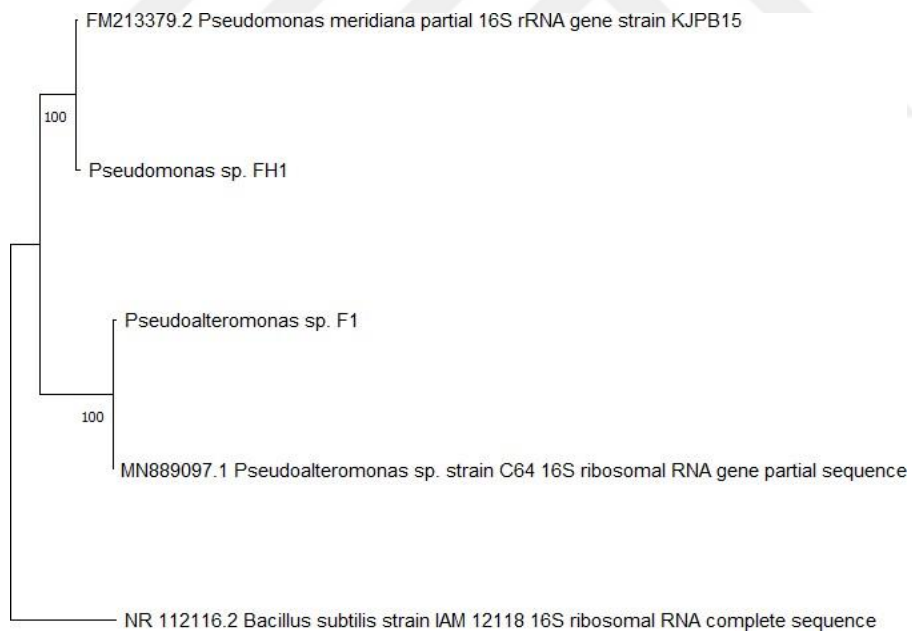
a)



b)



c)



d)



e)

Şekil 4.12. Mikroorganizmalara ait filogenetik dendrogramlar. a) *Psychrobacter* sp.'lere ait dendogram, b) *Planococcus* sp. FG1'e ait dendogram, c) *Flavobacterium* sp.'lere ait dendogram, d) *Pseudomonas* sp. ve *Pseudoalteromonas* sp.'lere ait dendogram, e) *Aspergillus* sp. AKK1'e ait filogenetik ağaç

4.3. Suşların biyokimyasal karakterizasyonu

4.3.1. Suşların üreme sıcaklık aralıklarının belirlenmesi

Moleküler karakterizasyonu yapılan 23 suş +4 ila 35 °C aralığında 48 saat inkübe edilerek kardinal sıcaklık değerleri belirlenmiştir (Tablo 4.3). Üreme olan sıcaklıklar “+” işareti ile üremenin gözlemlenmediği sıcaklık değerleri ise “-” ile belirtilmiştir.

Pedobacter sp. FO2, *Flavobacterium* sp. FN1, *Flavobacterium* sp. FN3 ve *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşları için maksimum üreme sıcaklığı 20 °C olup, bu sıcaklığın üzerinde üreme gözlenmemiştir ve bu mikroorganizmalar psikrotolerant mikroorganizma grubuna girmektedirler. Diğer taraftan, sıcaklığa toleransı en yüksek olan suşlar *Pedobacter* sp. FO1, *Planococcus* sp. FG1, *Pedobacter* sp. FO3, *Flavobacterium* sp. FN2, *Psychrobacter* sp. FUL1, FUL5, FUL8, FUL9 ve FUL10 olup maksimum üreme sıcaklığı 30 °C'dir.

Tablo 4.3. Suşların kardinal sıcaklık değerleri

Suşlar	Sıcaklık (°C)												Kardinal sıcaklıklar (°C)		
	4	15	20	21	22	23	24	25	27	28	30	31	Min	Opt	Maks
<i>Chryseobacterium</i> sp. EK1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	≤4	15	22
<i>Pedobacter</i> sp. FO1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Pseudomonas</i> sp. FH1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	≤4	15	24
<i>Pedobacter</i> sp. FO2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≤4	15	20
<i>Planococcus</i> sp. FG1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Flavobacterium</i> sp. FN1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≤4	15	20
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. F1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≤4	15	20
<i>Pedobacter</i> sp. FO3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	≤4	15	24
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Flavobacterium</i> sp. FN2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	≤4	15	27
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	≤4	15	27
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	≤4	15	27
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	≤4	15	27
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	≤4	15	27
<i>Flavobacterium</i> sp. FN3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≤4	15	20
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	≤4	15	30
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL12	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	≤4	15	25

Min: Minimum, Opt: Optimum, Maks: Maksimum

4.3.2. Suşların üredikleri pH aralıklarının belirlenmesi

23 suşun 48 saat inkübasyon sonrasında pH 4.0-12.0 aralığındaki NA besiyerindeki üreme durumları Tablo 4.4'te verilmektedir. Üreme olan pH değerleri “+” işareti ile üremenin gözlemlenmediği pH değerleri ise “-” ile belirtilmiştir.

Suşların hiç biri pH 4.0'de üreyemezken, *Chryseobacterium* sp. EK1 ve *Pedobacter* sp. FO1 sadece pH:7.0'de, diğer yandan *Flavobacterium* sp. FN3 suşu sadece pH 8.0'de üreme kabiliyeti göstermektedir. *Planococcus* sp. FG1 ve *Psychrobacter* sp. FUL11, pH 5.0-12.0 aralığında üreyerek suşlar içerisinde en

geniş pH aralığına sahip mikroorganizmalar olarak tespit edilmişlerdir. *Psychrobacter* sp. FUL3 suşu pH 6.0-12.0 aralığında üreyebilirken, *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşu pH 6.0-7.0 değerlerinde üreyebilmektedir.

Tablo 4.4. Suşların üredikleri pH aralıkları

Suşlar	pH									
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0	
<i>Chryseobacterium</i> sp. EK1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
<i>Pedobacter</i> sp. FO1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
<i>Pseudomonas</i> sp. FH1	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Pedobacter</i> sp. FO2	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Planococcus</i> sp. FG1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Flavobacterium</i> sp. FN1	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. F1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Pedobacter</i> sp. FO3	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL1	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL2	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Flavobacterium</i> sp. FN2	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL3	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL5	-	+	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL6	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL7	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL8	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Flavobacterium</i> sp. FN3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL9	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL10	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL11	-	+	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL12	-	+	+	+	+	+	+	+	+	

4.3.3. Suşların üredikleri NaCl konsantrasyonlarının belirlenmesi

23 suşun 48 saat inkübasyon sonrasında NaCl %6-%15 aralığında NA besiyerindeki üreme durumları belirlenmiştir. Üreme olan NaCl değerleri “+” işareti ile üremenin gözlemlenmediği NaCl değerleri ise “-” ile belirtilmiştir.

Tüm suşlar NaCl içermeyen besiyerinde üreyebilmektedir (7 numaralı *Pseudoalteromonas* hariç) *Planococcus* sp. FG1, *Pseudoalteromonas* sp. F1, *Pedobacter* sp. FO3, FO4, tüm *Psychrobacter* sp. suşları (FUL1-FUL11) %6 NaCl içeren besiyerlerinde üreyebilmiştir. Bu suşlar içerisinde FO4 %15 NaCl’yi tolere edebilirken, *Planococcus* sp. FG1 ancak %10 NaCl varlığında hayatta

kalabilmiştir. Bu suşlar dışındakiler test edilen NaCl konsantrasyonlarını tolere edememektedir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Suşların NaCl toleransları

Suşlar	NaCl			
	%0	%6	%10	%15
<i>Chryseobacterium</i> sp. EK1	+	-	-	-
<i>Pedobacter</i> sp. FO1	+	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp. FH1	+	-	-	-
<i>Pedobacter</i> sp. FO2	+	-	-	-
<i>Planococcus</i> sp. FG1	+	+	+	-
<i>Flavobacterium</i> sp. FN1	+	-	-	-
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. F1	-	+	-	-
<i>Pedobacter</i> sp. FO3	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL1	+	+	+	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL2	+	+	-	-
<i>Flavobacterium</i> sp. FN2	+	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL3	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL4	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL5	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL6	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL7	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL8	+	+	-	-
<i>Flavobacterium</i> sp. FN3	+	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL9	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL10	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL11	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL12	+	+	-	-

4.3.4. Suşlara ait VİTEK tabanlı biyokimyasal veriler

Samsun Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ndeki Vitek2 compact (Biomeriux, Türkiye) bakteriyel tanılama cihazı ve bu cihaza özgü reaktif kartlar kullanılarak gerçekleştirilen biyokimyasal analiz datası Tablo 4.6' da verilmiştir.

Tablo 4.6. Suşlara ait VİTEK tabanlı biyokimyasal analiz sonuçları

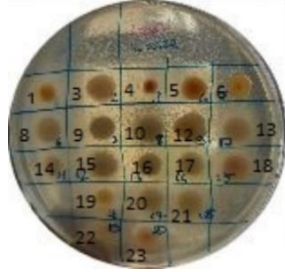
Test no	Testin adı	Suşlar																					
		EK1	FO1	FH1	FO2	FG1	FN1	F1	FO3	FUL1	FUL2	FN2	FUL3	FUL4	FUL5	FUL6	FUL7	FUL8	FN3	FUL9	FUL10	FUL11	FUL12
2	Ala-Phe-Pro-arylamidase(APPA)	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
3	Adonitol(ADO)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
4	L-Pyrrolydonyl-arylamidase(PyrA)	-	+	--	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
5	L-arabitol(IARL)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-
7	D-cellobiose(dCEL)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
9	BETA-galactosidase(BGAL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	H2S production(H2S)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	BETA-N-ACETYL-glucosaminidase(BNAG)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Glutamyl ARYLAMIDASE pNA(AGLTp)	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	D-glucose(dGLU)	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
14	GAMMA-GLUTAMYL-transferase(GGT)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	FERMENTATION/glucose(OFF)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	BETA-glucosidase(BGLU)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
18	D-maltose(dMAL)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
19	D-mannitol(dMAN)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
20	D-mannose(dmNE)	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
21	BETA-xylosidase(BXYL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Test no	Testin adı	Suşlar																					
		EK1	FO1	FH1	FO2	FG1	FN1	F1	FO3	FUL1	FUL2	FN2	FUL3	FUL4	FUL5	FUL6	FUL7	FUL8	FN3	FUL9	FUL10	FUL11	FUL12
22	BETA-Alanine arylamidase pNA(BAlap)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	L-Proline arylamidase(ProA)	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
26	LIPASE(LIP)	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
27	PALATINOSE(PLE)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
29	Tyrosine arylamidase(TyrA)	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	UREASE(URE)	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	D-SORBITOL(dSOR)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
33	SACCHAROSE/SUCROSE(SAC)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
34	D-tagatose(dTAG)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
35	D-trehalose(dTRE)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
36	CITRATE (sodium)(CIT)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	MALONATE(MNT)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	5-KETO-D-gluconate(5KG)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	L-LACTATE Alkalinization(ILATk)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	ALPHA-glucosidase(AGLU)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	SUCCINATE alkalization(SUCT)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	Beta-N-ACETYL-galactosaminidase(NAG)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

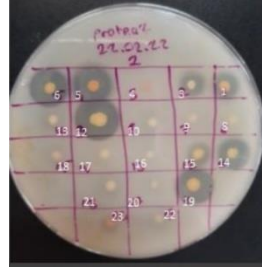
Test no	Testin adı	Suşlar																					
		EK1	FO1	FH1	FO2	FG1	FN1	F1	FO3	FUL1	FUL2	FN2	FUL3	FUL4	FUL5	FUL6	FUL7	FUL8	FN3	FUL9	FUL10	FUL11	FUL12
44	ALPHA-galactosidase(AGAL)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	PHOSPHATASE(PHOS)	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
46	Glycine arylamidase(GlyA)	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
47	ORNITHINE decarboxylase(ODC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	LYSINE decarboxylase(LDC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	L-HISTIDINE assimilation(IHISa)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	COUMARATE(CMT)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	BETA-glucuronidase(BGUR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)(O129R)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	Glu-Gly-Arg-arylamidase(GGAA)	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	L-MALATE Assimilation(IMLTa)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	ELLMAN(ELLM)	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
64	L-LACTATE assimilation(ILATa)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4.3.5. Suşların ekstremozim üretimlerinin tespiti

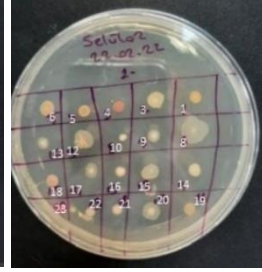
Suşların amilaz, proteaz, selüloz, lipaz ve esteraz üretimleri Şekil 4.13 ve Tablo 4.7’de verilmekte olup, VİTEK’ten elde edilen sonuçlarla uyumludur.



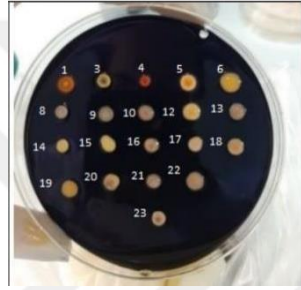
a)



b)



c)



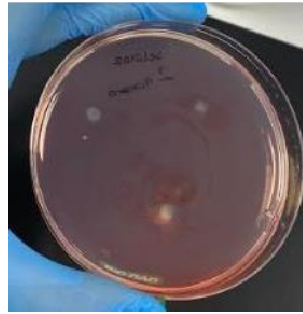
d)



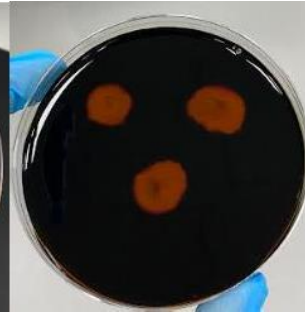
e)



f)



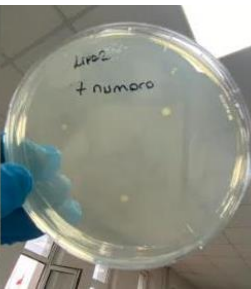
g)



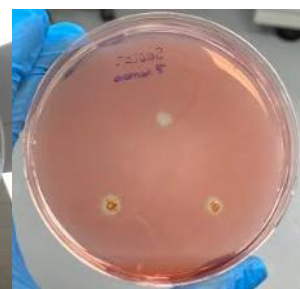
h)



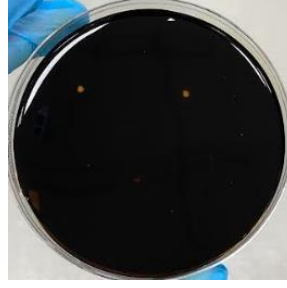
i)



i)



j)



k)

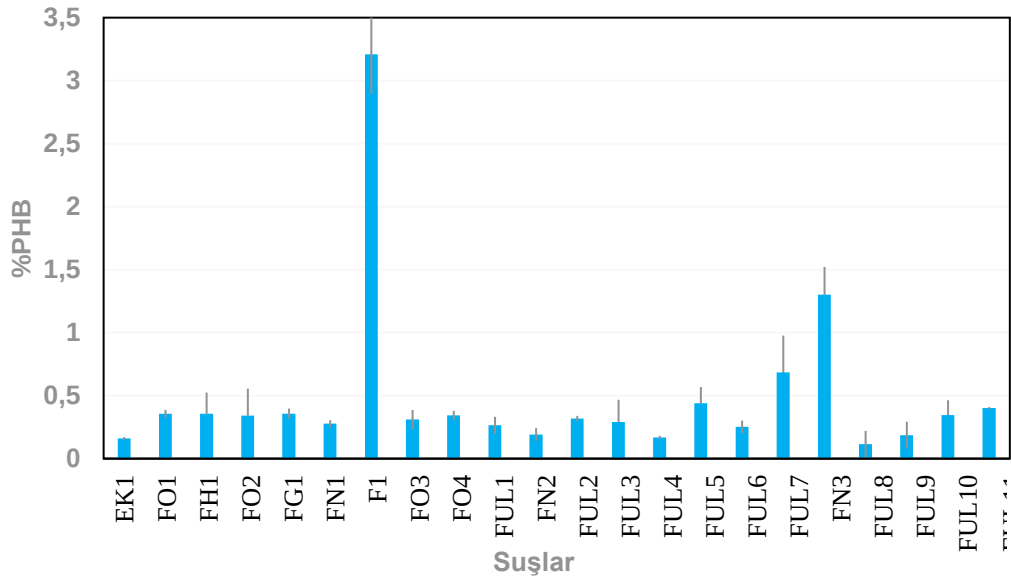
Şekil 4.13. Suşların enzim aktiviteleri a) Lipaz, b) Proteaz, c) Selülaz, d) Amilaz e-h) 2 numaralı izolata ait sırasıyla proteaz, lipaz, selülaz ve amilaz enzim aktivitelerine ait petriler, ı-k) 7 numaralı izolata ait sırasıyla proteaz, lipaz, selülaz ve amilaz petrileri

Tablo 4.7. Suşların ekstreozim üretim durumları

Suşlar	Amilaz	Selülaz	Proteaz	Lipaz
<i>Chryseobacterium</i> sp. EK1	+	+	+	+
<i>Pedobacter</i> sp. FO1	+	+	+	+
<i>Pseudomonas</i> sp. FH1	+	+	+	+
<i>Pedobacter</i> sp. FO2	+	+	-	+
<i>Planococcus</i> sp. FG1	+	+	+	+
<i>Flavobacterium</i> sp. FN1	+	-	+	+
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. F1	+	+	+	+
<i>Pedobacter</i> sp. FO3	-	+	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL1	+	-	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL2	+	-	-	+
<i>Flavobacterium</i> sp. FN2	+	+	+	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL3	+	-	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL4	+	-	+	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL5	+	+	+	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL6	+	-	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL7	+	-	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL8	+	-	-	+
<i>Flavobacterium</i> sp. FN3	+	+	+	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL9	+	-	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL10	+	-	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL11	+	-	-	+
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL12	+	-	-	+

4.4. Suşların PHB üretimleri

Suşlara ait 120 saatlik MSM kültürlerinden PHB ekstrakte edilmiş ve %PHB üretimlerine ait sonuçlar Şekil 4.14’te verilmiştir. Buna göre, genel olarak hücre başına oldukça düşük miktarda elde edilen PHB verimi, en iyi *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşunda tespit edilmiştir.

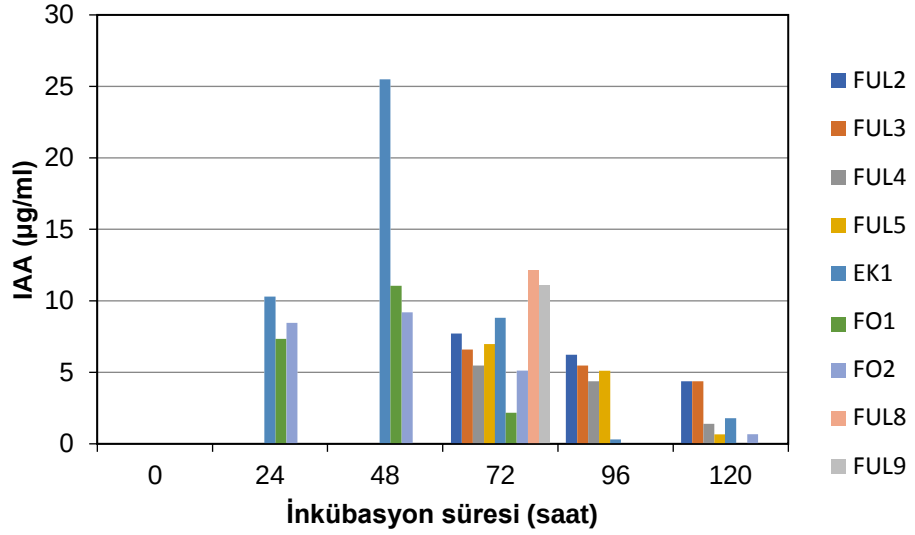


Şekil 4.14. Suşlara ait %PHB üretimler

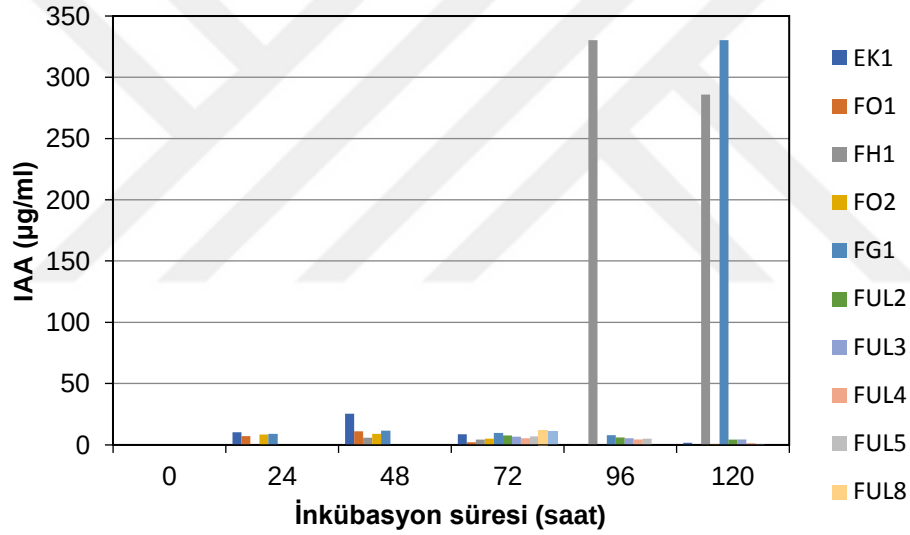
4.5. Suşların PGPR özelliklerinin belirlenmesi

4.5.1. Suşlarda IAA üretimi

Suşların 120 saat fermantasyonu süresince her 24 saatte bir alınan örneklerde IAA üretimine bakılmıştır. Buna karşın, *Chryseobacterium* sp. FN1, *Pseudoalteromonas* sp. F1, *Pedobacter* sp. FO3, *Psychrobacter* sp. FUL1, FUL6, FUL7, FUL10 ve FUL11 ile *Flavobacterium* sp. FN2 ve FN3 suşlarında hiçbir örneklem saatinde IAA üretimi tespit edilmemiştir. *Psychrobacter* sp. FUL1 *Psychrobacter* sp. FUL8 ve FUL9 suşlarında sadece 72. saatte sırasıyla, 1.41, 12.15 ve 11.03 µg/ml IAA üretimi belirlenmiştir. Öte yandan, *Psychrobacter* sp. FUL2, FUL3, FUL4 ve FUL5 suşlarında IAA üretimleri 72-120. saatler arasında ve maksimum 7.7 µg/ml olmak üzere *Psychrobacter* sp. FUL2’de tespit edilmiştir (Şekil 4.15). 330.29 µg/ml değerindeki en yüksek IAA üretimi inkübasyonun 96. saatinde *Pseudomonas* sp. FH1 ve 120. saatinde *Planococcus* sp. FG1 sağlanmıştır (Şekil 4.16).



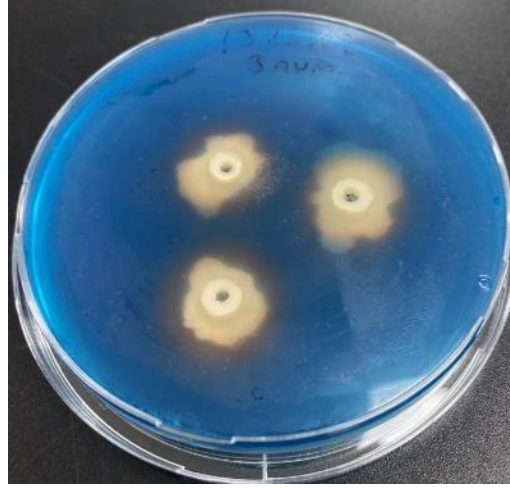
Şekil 4.15. Suşların zaman bağlı IAA üretim kapasiteleri



Şekil 4.16. En iyi IAA üretimini sağlayan *Pseudomonas* sp. FH1 ve *Planococcus* sp. FG1 suşlarının zaman bağlı IAA üretimleri

4.5.2. Suşlarda siderofor üretimi

Chromoazürol S besiyeri içerisinde 7 gün 15 °C’de inkübe edilen kültürler içerisinde *Pseudomonas* sp. FH1 tarafından az miktarda siderofor üretimi (zon çapı 13 mm) tespit edilmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. *Pseudomonas* sp. FH1 tarafından siderofor üretimi

4.6. Suşların farklı ağır metallere direnç/tolerans profilleri

Suşların 50 mg/ml ve 100 mg/ml konsantrasyonlarda ağır metal içeren petrilere 7 gün süre ile 15 °C’de inkübe edilmesi sonucu elde edilen sonuçlar Tablo 4.8’de verilmektedir. Sonuçlar incelendiğinde *Flavobacterium* sp. FN1, FN3, *Pedobacter* sp. FO2, *Planococcus* sp. FG1, *Pseudoalteromonas* sp. F1 ve *Psychrobacter* sp. FUL9 suşlarının test edilen ağır metallere karşı en düşük konsantrasyonda bile duyarlılık gösterdikleri tespit edilmiştir. *Pseudomonas* sp. FH1; 50 mg/ml Cr^{+3} , ve 100 mg/ml konsantrasyonundaki Pb^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} ’ya direnç göstermiştir. Cd^{+2} ve Ni^{+2} ’e karşı tüm suşlar duyarlıdır. *Chryseobacterium* sp. EK1, *Pedobacter* sp. FO1, FO4, *Psychrobacter* sp. FUL1, *Flavobacterium* sp. FN2 100 mg/ml Pb^{+2} ’ye, *Pedobacter* sp. FO3, *Psychrobacter* sp. FUL2, FUL5 ve FUL7 50 mg/ml Pb^{+2} ’ye tolerans göstermektedir. Öte yandan, *Psychrobacter* sp. FUL3, FUL4 ve FUL5 100 mg/ml Zn^{+2} , *Psychrobacter* sp. FUL4 ve FUL5 Cr^{+3} (sırasıyla 100 ve 50 mg/ml) varlığında üreyebilmiştir.

Tablo 4.8. Suşların farklı ağır metallerin varlığında üreme durumları

Suşlar	Ağır metaller (mg/ml)											
	Nikel (Ni^{+2})		Krom (Cr^{+3})		Kurşun (Pb^{+2})		Kadmiyum (Cd^{+2})		Çinko (Zn^{+2})		Bakır (Cu^{+2})	
	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100
<i>Chryseobacterium</i> sp. EK1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Pedobacter</i> sp. FO1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp. FH1	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
<i>Pedobacter</i> sp. FO2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>Planococcus</i> sp. FG1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Flavobacterium</i> sp. FN1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. F1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pedobacter</i> sp. FO3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL2	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Flavobacterium</i> sp. FN2	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL5	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL6	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Flavobacterium</i> sp. FN3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL11	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL12	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

4.7. Suşların farklı antibiyotiklere direnç/tolerans profilleri

Suşların 48 saat sonunda farklı antibiyotiklere karşı gösterdikleri duyarlılık/direnç durumları Tablo 4.9’de verilmektedir. *Pedobacter* sp. FO2, *Planococcus* sp. FG1, *Flavobacterium* sp. FN1, *Flavobacterium* sp. FN3 ve *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşları test edilen tüm antibiyotiklere karşı dirençlidir. *Psychrobacter* sp. suşları kanamisin, amikasin ve tetrasikline duyarlıdır. *Pedobacter* sp. FO3 ve FO4 suşları da amikasin sıışındaki ampisilin, kamamisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine duyarlılık göstermiştir.

Tablo 4.9. Suşların farklı antibiyotiklere duyarlılıkları

Suşlar	Antibiyotik zon çapları (mm)							
	Kanamisin (K-30)	Amikasin (AM-30)	Ampisilin (AMK-10)	Tetrasiklin (TET-30)	Thiostrepton (30 µg)	Flukanozol (30 µg)	Ketokonazol (30 µg)	Griseofulvin (30 µg)
<i>Chryseobacterium</i> sp. EK1	25	20	28	44	31	21	R	30
<i>Pedobacter</i> sp. FO1	R*	R	R	43	26	R	R	R
<i>Pseudomonas</i> sp. FH1	22	26	R	22	R	R	R	R
<i>Pedobacter</i> sp. FO2	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Planococcus</i> sp. FG1	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Flavobacterium</i> sp. FN1	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. F1	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Pedobacter</i> sp. FO3	29	R	58	35	R	R	R	R
<i>Pedobacter</i> sp. FO4	29	R	55	32	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL1	29	R	40	35	R	R	R	R
<i>Flavobacterium</i> sp. FN2	29	R	41	35	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL2	30	R	50	35	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL3	35	R	40	34	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL4	31	R	40	21	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL5	26	R	42	30	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL6	28	12	43	35	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL7	30	R	40	30	35	R	R	R
<i>Flavobacterium</i> sp. FN3	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL8	30	R	45	32	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL9	32	R	37	29	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL10	35	R	45	30	R	R	R	R
<i>Psychrobacter</i> sp. FUL11	40	40	20	40	R	R	R	R

R*: Dirençli

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Antarktika, soğuk havası, nem eksikliği, ve kuvvetli rüzgarları gibi olumsuz koşullar nedeniyle dünyadaki en zorlu ortamlardan biridir. Buna rağmen, kıta hayatta kalabilmek için farklı adaptasyonlar geliştirmek zorunda kalan mikroorganizmalar tarafından kolonize edilmiştir. Denizler, göller, göletler, nehirler, akarsular, kayalar ve topraklar dahil olmak üzere her Antarktika habitatında funguslar, bakteriler, arkealar ve mayalar izole edilmiştir (Rios vd., 2022).

Çalışmamızda, Antarktika kıtasındaki Horse Shoe, Bryde, King George ve Galindez Adalarından temin edilen göl suyu ve deniz suyu örneklerinden ekstremozim üretimi, dizel parçalama, antibiyotik direnci gibi özellikleri bakımından seçilerek toplamda 22 adet bakteri 1 adet fungus olmak üzere 23 mikroorganizma izole edilmiştir. Yapılan filogenetik analizler sonucu, izolatların birer adet *Chryseobacterium* sp. (EK1), *Planococcus* sp. (FG1), *Pseudomonas* sp. (FH1), *Pseudoalteromonas* sp. (F1), *Aspergillus* sp. (AKK1), üç *Flavobacterium* sp. (FN1-FN3), dört *Pedobacter* sp. (FO1-FO4), ve 11 *Psychrobacter* sp. (FUL1-FUL11) oldukları belirlenmiştir. Bu zamana kadar yapılmış olan çalışmalar içerisinde kutup tatlı su örneklerinden izole edilmiş bakteriler içerisinde en yüksek oranda izole edilen bakteriler *Flavobacterium* sp. ve *Pseudomonas* sp. türlerine aittir (Matsui, Kawamata, Kosugi, Imura, & Kurosawa, 2017). Kutup deniz suyu örneklerinden izole edilmiş bakterilerde ise *Colwellia*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas* ve *Glaciecola* türleri ile benzerlik gösteren bakteri popülasyonunun yüksek olduğu görülmüştür (Zeng, 2019). Literatürle uyumlu bir şekilde mevcut çalışmamızda, deniz suyundan en fazla sayıda *Psychrobacter* sp. suşları izole edilmiştir. Ayrıca, tatlı göl suyu içerisinde izolen edilen bakterilerin bir tanesi *Chryseobacterium* sp., 2 tanesi *Pedobacter* sp. ve 1 tanesi *Pseudomonas* sp. ile benzerlik göstermektedir.

Bu suşlar içerisinde *Pedobacter* sp. FO2, *Flavobacterium* sp. FN1, *Flavobacterium* sp. FN3 ve *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşları psikrotolerant olup maksimum üreme sıcaklıkları 20 °C'dir. *Pedobacter* sp. FO2 örneğinin temin edildiği koordinatlar Galindez Adası'nı göstermekte olup örnek temini sağlanan diğer adalara nazaran sıcaklık ortalama değerleri daha yüksek görülmektedir. Buna bağlı olarak bu örneğe ait deneylerde ortalama sıcaklık değerlerinin daha yüksek olması beklenen bir durumdur. Galindez Adası'ndan sağlanan örnekler ile yapılan bir çalışmada izole

edilen mikroorganizmaların çoğunun hem $+4 \pm 1$ °C'de hem de 20 °C'nin üzerinde gelişebilen psikrotolerant suşlar olduğu saptanmıştır (Vasileva-Tonkova et al., 2014). King George Adası'ndan alınan örneklerden izole edilen suşların çoğunluğunun 5 ila 30 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında üreyebildiği gözlemlenmiştir (Zdanowski & Węgleński, 2001). Antarktika'da daha çok psikrotolerant mikroorganizmaların izolasyonu bu ekosistemdeki istikrarsız ortamlara ve geniş sıcaklık dalgalanmalarına adaptasyon ile ilişkili olabilir (Onofri, Selbmann, Zucconi, & Pagano, 2004; Vasileva-Tonkova et al., 2014).

Bilindiği üzere, bakteri komunitelerinin başarısı pH ve su içeriğinden büyük oranda etkilenmektedir (Nopnakorn vd., 2023). Suşlar pH toleransları bakımından değerlendirildiklerinde, en geniş pH tolerans aralığına sahip olan suşlar *Planococcus* sp. FG1 ve *Psychrobacter* sp. FUL12 olarak tespit edilmiştir (pH: 5.0-12.0). Gelişimi için en dar pH aralığına sahip suş ise *Pedobacter* sp. FO1 (pH: 7.0) ve *Flavobacterium* sp. FN3 (pH: 8.0)'tür. Beklenildiği üzere, tatlı göl suyundan izole edilen suşların NaCl toleransları bulunmazken %15 NaCl varlığında gelişebilen tek suş *Psychrobacter* sp. FUL1 olup halofilik özellik göstermektedir. *Planococcus* sp. FG1 ise %10 NaCl'ye kadar tuz varlığında üreyebilmektedir. *Pseudoalteromonas* sp. F1 ise yalnızca %6 NaCl varlığında üreyebilmektedir. *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşu en yüksek tuz konsantrasyonuna sahip örneklem yerinden (King George Adası) izole edildiği halde, çalışmamızda en yüksek tuz konsantrasyonu varlığında gelişim gösterebilen *Psychrobacter* sp. FUL1 Bryde Adası kaynaklıdır. Daha önce, Kuzey kutbu örnekleri ile yapılan bir çalışmada ise *Mesonina* sp. türüne benzer bakteri suşunun %3-9 oranlarında NaCl içerisinde üreyebildiği görülmüştür (Huan et al., 2019).

Antarktika'da yaşayan ekstremofilik mikroorganizmalar biyoteknolojik çalışmalar için oldukça ilgi çekicidir. Ekstremozimler, ekstremofilik mikroorganizmaların yaşadığı çevresel koşullarda (örneğin, yüksek veya düşük sıcaklıklar, asidik veya alkalik pH, yüksek basınç, tuzluluk, radyasyon) veya bunlara yakın koşullarda optimum performans gösterecek şekilde adapte olmuştur (Brininger, Spradlin, Cobani, & Evilia, 2018). Denatüre koşullarına karşı artan stabiliteye sahip bu yeni ekstrem biyokatalizörler, yüksek verimli olmaları, mezofilik muadillerine göre daha yüksek aktivite ve sağlamlıkları, standart olmayan koşullarda reaksiyonları yürütebilmeleri, ekstrem endüstriyel koşullarda, geniş bir yelpazede düşük miktarlarda yan ürünler üretmeleri ile öne çıkmaktadır (Espina, Muñoz-Ibacache, Cáceres-

Moreno, Amenabar, & Blamey, 2022). Söz gelimi, Rios vd. (2022) Antarktika kuş yuvalarından keratinolitik aktiviteye sahip bir *Pedobacter* sp. suşunu izole etmiştir. Biyokimyasal karakterizasyon çalışmaları ilgili keratinaz enziminin, farklı deterjan ve ağartma maddelerinin varlığında stabilitesi ve yıkama performansı değerlendirildiğinde, çamaşır deterjanı katkı maddesi olarak kullanım potansiyeli açısından umut verici sonuçlar gösterdiğini bildirmişlerdir. Soğuk aktif özelliklere sahip lipaz genellikle ekstraselüler özelliktedir ve üretimleri büyük ölçüde nitrojen-karbon kaynakları, sıcaklık, çalkalama hızı, pH, inorganik kaynaklar ve çözünmüş oksijen gibi beslenme ve fizikokimyasal faktörlerden etkilenir (Prasad, 2014). Arktik bakterilerin ekstraselüler enzim üretme potansiyelleri incelendiğinde, *Oceanisphaera* sp. RSAP17 bakterisinin ekstreozim üretme potansiyeline sahip olduğu ve lipaz üretimi gerçekleştirdiği gözlemlenmiş, ancak amilaz, selüloz, üreaz enzimleri üretme potansiyeline sahip olmadığı tespit edilmiştir (Uddin, Roy, & Mandal, 2021). Bir başka psikrofil bakteri olan *Psychrobacter* sp. 94-6PB ile yapılan çalışmada ise bakterinin lipaz ve proteaz aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Perfumo, Freiherr von Sass, Nordmann, Budisa, & Wagner, 2020) . Bizim çalışmamızda da özellikle suşların amilaz ve lipaz üretiminin yaygın olduğu, ancak, proteaz ve selüloz üretimlerinin, *Psychrobacter* sp. FUL4 ve FUL5 haricinde diğer tüm *Psychrobacter* sp. suşlarında olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, *Chryseobacterium* sp. EK1, *Pedobacter* sp. FO1, *Pseudomonas* sp. FH1, *Planococcus* sp. FG1, *Pseudoalteromonas* sp. F1, *Flavobacterium* sp. FN2 ve FN3 ile *Psychrobacter* sp. FUL5 suşlarının dört enzim aktivitesine de sahip oldukları gösterilmiştir.

Bakterilerin biyokimyasal analizlerini kısa sürede gerçekleştirebilme tekniklerinden birisi de Vitek 2 Compact cihazının kullanımıdır. İnce plastik kartlar üzerinde bulunan mikro kuyucuklardaki bakteriyel üreme ve metabolit değişimlerin florasan tabanlı olarak tespit edilmesine dayanan bir sistem ile analiz gerçekleştirmektedir. Metabolik aktivitelerin ölçümü esnasında, asitleştirme, alkanizasyon, enzim hidrolizi ve inhibe edici maddelerin varlığında bakterin gelişimini belirler (Aubertine, Rivera, Rohan, & Larone, 2006). Çalışmamız içerisinde yer alan bakterilerin *Planococcus* sp. FG1 harici tüm izolatlar gram negatif olarak bulunmuştur. Vitek 2 compact cihazı analizinde gram negatif reaktif kartlar ile yapılan analizde fotosentez gen ekspresyonunu antireprese edici APPA, fotosentezde klorofilin indirgenmesinde önemli rol oynayan ve izolatların çoğunluğunda pozitif sonuç veren tirozin, selülozın mikrobiyal hidrolizasyonunun ürünü olan D-

cellulobiose, insanlarda kolejen ile ilişkilendirilen ve yaraların iyileşmesinde önemli rol oynadığı düşünülen L-prolin gibi biyoteknolojik açıdan önemi olan birçok maddenin bakteriler tarafından üretimi tespit edilmiştir. Literatürde yer alan makaleler içerisinde Antarktika kıtası üzerinde yapılan çalışmalarda arasında Kırkinci vd. (2021) ve Otur vd. (2023) biyokimyasal karakterizasyon çalışması Vitek 2 compact cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Antarktika'da araştırma, turizm ve ulaşım faaliyetlerinin artmasıyla birlikte bu bölgedeki insan baskısı artmıştır. Bu faaliyetler, potansiyel kirlilik kaynaklarını temsil eden araştırma istasyonları ve transfer sistemlerinin kurulmasına yol açmıştır (Marina-Montes, Pérez-Arribas, Escudero, Anzano, & Cáceres, 2020). Bu kirleticiler içerisinde, petrol türevleri, ağır metaller, ve perklorat gibi toksik inorganik tuzlar yer almaktadır. 2015 yılında Galindez Adası'nda Ukrayna'ya ait Antarktika İstasyonu alanında toplanan toprak örneklerinde, Cu^{+2} içeriği 0.2 ila 1856.3 mg/kg, Zn^{+2} 0.4-667 mg/kg, Pb^{+2} içeriği 3.1-1760 mg/kg, Cd^{+2} içeriği 0.6-29,8 mg/kg ve Mn^{+2} içeriği 0.6-495 mg/kg aralığında ölçülmüştür (Parnikoza et al., 2017). Başka bir çalışmada, King George Adası'ndaki üç bölge ağır metal varlığı, ağır metale dirençli bakteri ve bu toksik elementlere direnç kazandıran genlerin varlığı açısından taranmıştır. En yüksek ağır metal konsantrasyonları, petrolle kirlenmiş toprak örneklerinde (King George Adası-Arctowski istasyonunun civarı) gözlemlenmiştir. Üç örneklem noktasından alınan toprak örneklerinin bakır ve çinko açısından zengin olduğu, ayrıca, tespit edilen arsenik (tüm örneklerde), kadmiyum (Arctowski istasyonundan ve penguen kolonisinden alınan örneklerde) ve civanın (Arctowski istasyonundan alınan örneklerde) dünya çapındaki topraklarda bulunan miktarlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Hooda, 2010). Acevedo vd. (2022), Antarktika'nın Deception, Horseshoe ve Half Moon Adaları'ndaki deniz çökeltiilerinden bakteriyel mikroorganizmalar izole etmişler ve 16S rRNA gen dizisi analiz sonuçlarına göre filogenetik olarak *Psychrobacter cryohalolentis*, *Psychrobacter urativorans*, *Idiomarina loihiensis*, *Psychrobacter nivimaris*, *Sporosarcina aquimarina* ve *Pseudomonas lactis* ile yakın akraba olduklarını belirlemişlerdir. Ayrıca, bu isolatlarının %30'a kadar NaCl toleransına sahip ve 10.000 mg/L'lik yüksek bir perklorat konsantrasyonunda hayatta kalabildiklerini göstermişlerdir (Acevedo-Barrios et al., 2022). Grubumuza ait bir çalışmada, Antarktika kıtası-Ardley Adasından izole edilmiş *F. azizsancarii* bakterisinin karbon kaynağı olarak %5 dizel içeren besiyerinde ürettiği raporlanmıştır (Otur, Okay, & Kurt-Kızıldoğan, 2022).

Başka bir çalışmada ise, yine bir kutup bakterisi olan *Flavobacterium* Kopri-43'ün dizeli parçalama potansiyeli ortaya konmuştur (Chaudhary, Kim, Kim, & Kim, 2019). Yaptığımız çalışmada, *Pseudomonas* sp. FG1 sp. %5 dizel, *Flavobacterium* sp. FN2 ve *Psychrobacter* sp. FUL3 suşlarının %10 dizel, *Psychrobacter* sp. FUL5 ve FUL6 suşlarının ise %10 gaz yağını tek karbon kaynağı olarak kullandığı tespit edilmiştir.

Ağır metaller (HM'ler) ve poliklorobifeniller (PCB'ler), biyota ve halk sağlığı üzerinde zararlı etkileri olan çeşitli antropojenik kaynaklar yoluyla kutuplara girmektedirler. Bu durum canlılar açısından olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Arktik bölgesindeki ağır metallerin parçalanabilirliği için mikroorganizmaların olası etkileri araştırıldığında, Arktik Kongsfjorden'de izole edilen gram negatif bakteriler üzerinde ağır metallerin toksisite düzeyi $Hg^{+2} > Cd^{+2} > Cu^{+2} > Zn^{+2} > Pb^{+2} > Se^{+2}$ şeklinde bulunmuştur. Çoklu metal dirençli izolatların antibiyotik direnci araştırılmış ve test edilen tüm izolatlarda antibiyotik direnci ile metal direnci arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir (Neethu, Mujeeb Rahiman, Saramma, & Mohamed Hatha, 2015). Çalışmamızda Cd^{+2} ve Ni^{+2} 'e karşı tüm suşlar duyarlı olup, suşlar içerisinde farklı ağır metallere direnç/duyarlılık gelişmiştir. Söz gelimi, *Flavobacterium* sp. FN1, FN3, *Pedobacter* sp. FO2, *Planococcus* sp. FG1, *Pseudoalteromonas* sp. F1 ve *Psychrobacter* sp. FUL9 suşlarının test edilen ağır metallere karşı en düşük konsantrasyonda bile duyarlılık göstermişlerdir. *Pseudomonas* sp. FH1; 50 mg/ml Cr^{+3} , ve 100 mg/ml konsantrasyonundaki Pb^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} 'ya direnç göstermiştir. *Chryseobacterium* sp. EK1, *Pedobacter* sp. FO1, FO4, *Psychrobacter* sp. FUL1, *Flavobacterium* sp. FN2 100 mg/ml Pb^{+2} 'ye, *Pedobacter* sp. FO3, *Psychrobacter* sp. FUL2, FUL5 ve FUL7 50 mg/ml Pb^{+2} 'ye tolerans göstermektedir. Öte yandan, *Psychrobacter* sp. FUL3, FUL4 ve FUL5 100 mg/ml Zn^{+2} , *Psychrobacter* sp. FUL4 ve FUL5 Cr^{+3} (sırasıyla 100 ve 50 mg/ml) varlığında üreyebilmiştir. Genel olarak test edilen ağır metallerin izolatlarımız üzerindeki toksisite durumları $Ni^{+2} = Cd^{+2} > Cu^{+2} > Cr^{+3} > Zn^{+2} > Pb^{+2}$ şeklinde ifade edilebilir. Çalışmamızda diğer çalışmalarla benzer şekilde (Neetu vd., 2015; Centurion 2019; 2022) İzolatlarda antibiyotik-ağır-metal-biosit direnç/tolerans mekanizmaları arasındaki korelasyonu işaret eden bir rezistom profili söz konusudur. Çalışmamızda suşların aminoglikozit (kanamisin, amikasin), betalaktam (ampisilin), tetrasiklin ve siklik oligopeptit (thiostrepton) varlığında direnç/duyarlılık verileri incelendiğinde suşların genel olarak

en fazla tetrasikline duyarlılık gösterdikleri, öte yandan thiostreptona dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, psikrotolerant bakteri *Pseudomonas* sp. B14-6 suşunun metabolik aktivitesini modüle ederek aminoglikozitlere sıcaklığa bağlı tolerans gösterdiği ve ayrıca streptomisin antibiyotiğine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Kang et al., 2022). Ayrıca, Antarktika göl suyu izolatu *F. azizsancarii* genomundaki çeşitli genlerin beta laktam ve makrolid antibiyotiklere direnç sağladığı gözlemlenmiştir (Otur et al., 2022). Galindez Adası'ndan örneklerle yapılan bir çalışmada izole edilen bakterilerin, başlıca linkomisin (%79) olmak üzere sırasıyla sefazolin (%75), ampisilin (%71), novobiosin ve eritromisin (%62), kloramfenikol ve vankomisin (%58) ve tetrasiklin (%42) antibiyotiklerine direnç gösterdikleri tespit edilmiştir (Tomova, Stoilova-Disheva, Lazarkevich, & Vasileva-Tonkova, 2015). King George Adası kıyılarında polistiren makro-plastik parçaları ile ilişkili bakteri florasında sefuroksim ve sefazolin (sefalosporinlere ait), sinoksasin (kinolonlara ait) ve ampisilin, amoksisilin + klavulanik asit, karbenisilin ve mezlosiline (beta-laktamlara ait) karşı çoklu antibiyotik direnci belirlenmiştir (Laganà et al., 2019). 2006 yılında King George Adası'ndan toplanan buz ve kar örneklerinden izole edilen bazı Antarktika türleri de β -laktamlara karşı oldukça dirençli fenotipte ve bunların çoğunun penisilin, oksasilin, ampisilin ve karbenisilin varlığında üreyebildikleri gözlemlenmiştir (Morozova et al., 2022).

Polihidroksialkanoatlar (PHA'lar), sınırlı büyüme koşulları altında prokaryotlarda biriken ve biyolojik olarak parçalanabilen polimerler olup bakteriyel biyoplastikler olarak adlandırılmaktadırlar. Son araştırmalar hücre içi karbon depolama bileşiklerinin, örneğin, PHA'ların mikroorganizmaların sıcaklık düşüşüne maruz kaldıklarında mikrobiyal direnç geliştirmelerinde çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Tribelli & López, 2011). Arktik bölgesinden izole edilen *Pseudomonas* sp. suşlarının bir PHA türevi olan poli(3-hidroksibütirat) (PHB) ürettikleri ve ilgili genlerin başka mikroorganizmalara aktarılması durumunda PHB üretiminin sağlanabildiği bilinmektedir (Lee et al., 2021). Bununla birlikte, çalışmamızda izole edilen suşlarda oldukça düşük seviyede PHA üretimi tespit edilmiş olup diğerlerine kıyasla en belirgin PHA üretimi *Pseudoalteromonas* sp. F1 suşuna aittir.

Arktik bölgelerden izole edilen mikroorganizmalarda PGPR özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, *Cryobacterium* sp. MLB-32 suşunda oksin, sitokinin, absisik asit, etilen, salisilik asit ve IAA gibi bitki büyümesini teşvik eden hormonların biyosentezi ile ilişkili genlerin bulunduğu, ve bu genlerin soğuk ortamlarda PGPR olarak kullanılmaya yönelik potansiyelinin olduğu tespit edilmiştir (Singh, Kapse, Arora, Singh, & Dhakephalkar, 2015). İzole ettiğimiz bakterilerin PGPR özelliklerini araştırdığımızda, 330.29 µg/ml değerindeki en yüksek IAA üretimi inkübasyonun 96. saatinde *Pseudomonas* sp. FH1 tarafından gerçekleştirilmiş, diğer yandan siderofor üretimine bakıldığında yalnızca *Pseudomonas* sp. FH1 bakterisinde siderofor üretimi gözlemlenmiştir.

Çalışmamız Antarktika kıtasından göl ve deniz suyu örneklerinden farklı özelliklere sahip mikroorganizmaların izolasyonunu ve karakterizasyonunu kapsamaktadır. Ekstremofilik mikroorganizmaların farklı sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu varlığında gelişim özellikleri ile ekstremozim kapasiteleri, ağır metal/antibiyotik rezistans profilleri, petrol türevlerini parçalamak suretiyle biyoremediasyon özellikleri, ekstrem koşullara dirençte PHA üretimleri ya da PGPR özellikleri (siderofor, IAA üretimleri) bakımlarından birlikte değerlendirilmeleri biyoteknolojik açıdan önemli aday suşların ve potansiyellerin ortaya çıkarılması bakımından oldukça önemlidir. Dolayısıyla, çalışmamızın devamında, her bir suş bu açılardan değerlendirilerek sahip oldukları yeni özelliklerin detaylı incelenmesi ve güçlendirilmesi yönünde çalışmalar yapılacaktır.

EKLER

EK 1. Proje Kapsamında Alınacak Örneklerin İzin Belgeleri

EK 2. Antarktika ‘‘ANNEX 2-ANTARKTİK FAUNA VE FLORANIN KORUNMASI SÖZLEŞMESİ’’ Kapsamında İlgili Örneklerin Toplanmasına Dair İzin Belgesi

EK 3. Proje Yürütücülerinden Alınan İzin Dilekçeleri

EK 4. Besiyeri İçerikleri ve Hazırlanışları

EK 5. Tamponlar, Çözeltiler ve Antibiyotikler

EK 6. Enzimler Ve Kimyasal Maddeler

EK 7. İzolatların 16S/18S rRNA Gen Dizilerine Ait Nükleotit Dizileri

EK 1. Proje Kapsamında Alınacak Örneklerin İzin Belgeleri

EK-1A



Turkish Antarctic Expedition
2018 - 2019

Permit N° 17 - 2019

For Collection of Antarctic Scientific Samples

The Head of the Environmental Section of the Turkish Antarctic Program, according to the Protocol on Environmental Protection to the Antarctic Treaty, Annex 2 -Conservation of Antarctic Fauna and Flora-, following the Scientific Committee on Antarctic Research (SCAR) Environmental Guidelines, authorizes the collection of scientific samples for the project below:

- 1. PROJECT:** Genomic analysis of herbicides (Dalapon and Bromoxynil) fragmenting psychophilic and psychrotolerant microorganism studies
- 2. RESEARCHERS:** Ersan Basar
- 3. INSTITUTION:** Karadeniz Technical University
- 4. SAMPLES TO BE COLLECTED:**

Sample	Amount
Lake Water	250 ml
Fresh Water	250 ml
Soil	250 ml
Salinity Water	250 ml
Ice	250 ml
Water with algae	500 ml
Water mix soil	250 ml
- 5. COLLECTION SITES:** Western Antarctic Peninsula
- 6. COLLECTION TIME:** 25th of January 2019 – 9th of March 2019



TUTAK
Türkisch Antarctic Expedition
Environmental Officer
2019

ITU Polar Research Center, 34940 Tuzla/İST/Turkey, Phone +90 - 216 - 4462051 (1188), kutug@itu.edu.tr

EK 2.

Antarktika ‘‘ANNEX 2-ANTARKTİK FAUNA VE FLORANIN KORUNMASI SÖZLEŞMESİ’’ Kapsamında İlgili Örneklerin Toplanmasına Dair İzin Belgesi


Turkish Antarctic Expedition
2018 - 2019

Permit N° - 29 - 2019

For entrance to an Antarctic Specially Protected Area

The Head of the Environmental Section of the Turkish Antarctic Program, according to Decision 1 (2002), XXV-ATCM, on Antarctic Protected Areas, and following Annex V of the Protocol on Environmental Protection to the Antarctic Treaty, authorizes for scientific purposes the entrance of the following scientists to the Antarctic Specially Protected Area (ASPA) indicated:

1. PROJECT	Genomic analysis of herbicides (Dalapon and Bromoxynil) fragmenting psychophilic and psychrotolerant microorganism studies
2. RESEARCHER	Prof. Dr. Ersan Basar
3. PROTECTED AREA	Ardley Island, Maxwell Bay, King George Island, ASPA No:150,
4. INSTITUTION	Karadeniz Technical University
5. ACTIVITIES	Lake water samples from the fresh water sources on Ardley Island will be sampled (250 ml each). Climbing to the lakes through the land.
6. COLLECTION TIME	25th of January 2019 – 9th of March 2019
7. ADMINISTRATION	The scientists have been provided with the Antarctic Specially Protected Area No. 150 Ardley Island, Maxwell Bay, King George Island Management Plan. They have agreed to follow all its recommendations and deliver a report on the activities conducted there


Belge TUTAK
Turkish Antarctic Expedition
Environmental Officer 2019

ITU Polar Research Center, 34940 Tuzla/İST/Turkey. Phone :+90 - 216 - 4462054 (1188). kuzey@itu.edu.tr

EK 3. Proje Yürütücülerinden Alınan İzin Dilekçeleri

EK-3A

10.02.2022

İlgili Makama;

Üçüncü Ulusal Antartika Bilim Seferi kapsamında (Permit N°04-2019) “From pico- to Meso-Plankton in Antartic pelagic ecosystem: Pigment composition, Community structure, Procaryotic metageni” projesinde kullanılmak üzere temin edilmiş deniz suyu numunelerinden bir kısmı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü yüksek lisans öğrencisi Fulya ÖZAYDIN’a verilmiştir. İlgili öğrencinin Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN danışmanlığında ve tez çalışmaları kapsamında, Antarktika Bölgesi deniz suyu örneklerinden mikroorganizma izolasyonu, karakterizasyonu ve biyoteknolojik potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla bu numuneleri kullanılması uygundur.

Prof. Dr. Fatma TELLİ KARAKOÇ
Karadeniz Teknik Üniversitesi
Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi

EK-3B

İlgili makama;

Üçüncü Ulusal Antartika Bilim Seferi kapsamında "Genomik analizler ile herbisitleri (Dalapon ve Bromoksinil) Parçalayabilen Psikrofil ve Psychrotolerant mikroorganizma çalışmaları" isimli projede kullanılmak üzere temin edilmiş tatlı göl suyu numunelerinden bir kısmı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü yüksek lisans öğrencisi Fulya ÖZAYDIN'a verilmiştir. İlgili Öğrencinin Doç. Dr. Aslıhan KURT KIZILDOĞAN danışmanlığında ve tez çalışmaları kapsamında, ilgili numunelerden mikroorganizma izolasyonu, karakterizasyonu ve biyoteknolojik potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla bu numuneleri kullanılması uygundur.

Dr. Yılmaz KAYA

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Ziraat Fakültesi



EK 4. Besiyeri İçerikleri Ve Hazırlanışları

Nutrient Broth Sıvı Besiyeri

Nutrient Broth (NB)	g/l
Nutrient Broth (Merck)	8.0

121°C’de 15 dk otoklavda steril edilir.

Nutrient Agar Katı Besiyeri (NA)

Nutrient Agar (NA)	g/l
Nutrient Broth (Merck)	8.0
Agar	20

121°C’de 15 dk otoklavda steril edilir.

MSM (Mineral Salt Medium) Katı Besiyeri

MSM Medium	g/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.0
KH ₂ PO ₄	1.5
Na ₂ HPO ₄	1.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.01
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.001

pH:7.0’a 2 M NaOH yardımı ile ayarlanır

Agar	20
------	----

121°C’de 15 dk otoklavda steril edilir.

PHA Sıvı Besiyeri

PHA Medium	g/l
Na ₂ HPO ₄	6
KH ₂ PO ₄	3
NH ₄ Cl	0.5
MgSO ₄	1 mM
CaCl ₂	0.1 mM
Glikoz	5

121°C’de 15 dk otoklavda steril edilir.

TY Sıvı Besiyeri

TY Medium **g/l**

Trypton 5

Yeast Extract 3

pH: 7.0'a ayarlanır.

121°C'de 15 dk otoklavda steril edilir.

Chromoazurol S Agar Katı Besiyeri**Fe-CAS indükatör (Solüsyon 1)**FeCl₃.6H₂O 1 mM

HCl 10 mM

FeCl₃.6H₂O 10 mM HCl içerisinde çözülür.

CAS(Chromoazurol S) 1.21 mg/ml olarak hazırlanarak 50 ml dH₂O içerisinde çözülür.

HDTMA (Hexadecyltrimethylammonium bromide) 1.82 mg/ml olacak şekilde 40 ml dH₂O içerisinde çözülür. 3 solüsyon karıştırılır ve koyu mavi renk oluşumu gözlenir.

121°C'de 15 dk steril edildikten sonra 50°C'ye düşürülerek besiyeri içerisine eklenir.

Solüsyon 2 **800 ml**

PIPES 30.24

KH₂PO₄ 0.3

NaCl 0.5

NH₄Cl 1.0

pH: 6.8' %50'lik KOH ile ayarlanır.

Agar 15

121°C'de 15 dk otoklavda steril edilir.

Solüsyon 3 **70 ml/g**

Glikoz 2

Mannitol 2

MgSO₄ 0.493CaCl₂ 0.011MnSO₄.H₂O 0.0117H₃BO₃ 0.0014CuSO₄.5H₂O 0.0004ZnSO₄.7H₂O 0.0012Na₂MoO₄.2H₂O 0.001

121°C’de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra 50°C’ye soğutularak besiyeri içersine eklenir.

Solüsyon 4

30 ml dH₂O içersinde %10 casamino acid olacak şekilde çözölerek filtre sterilizasyonu yapılır ve besiyeri içersine eklenir.



EK 5. Tamponlar, Çözeltiler Ve Antibiyotikler

Genomik DNA İzolasyonu

SET Tamponu

NaCl 75 mM

EDTA (pH 8,0) 25 mM

Tris-HCl (pH 7,5) 20 mM

TE Tamponu

Tris-HCl (pH 8,0) 10 mM

EDTA (pH 8,0) 1 mM

121°C’de 15 dk otoklavda steril edilir.

CTAB/NaCl Çözeltisi (10 % CTAB/0,7 M NaCl)

80 ml distile su içerisine 4,1 g NaCl eklenir. Sonrasında 10 g CTAB (hexadecyltrimethyl ammonium bromide) eklenerek 65 °C’de çözündürülür. Son hacim 100 ml’ye distile su ile tamamlanır.

Agaroz Jel Elektroforezi

Tris-Asetat-EDTA Tamponu (TAE) (50X)

Trizma Base 242 g

Glasiyal Asetik Asit 57.1 ml

EDTA (0,4 M, pH 8,0) 125 ml

Distile su ile hacim 1000 ml’ye tamamlanır.

Etidyum Bromür Çözeltisi

Etidyum Bromür (10 mg/ml) 100 µl/l

TAE Buffer (1X) 1l

5 mM NaOH

20 g NAOH tartılır. 80 mL suda çözündürülür. Üzeri 100 mL ye saf su ile tamamlanır.

Antibiyotik Stokları

	Stok Konsantrasyonu (mg/ml)	Kullanılan Konsantrasyon (µg)
Ketokanazol	100	30
Flukanazol	100	30

Griseofulvin	100	30
Thiostrepton	100	30

Lugol İyodür Çözeltisi

100 ml için

İyodin	1 gr
Potasyum iyodür	2 gr

Congo Red

100 ml için

Congo red	0.1 gr
%10 SDS	100 ml için
SDS	10 gr

Fenol/Klorofom/İzoamilalkol karışımı

50 ml için

Fenol	25 ml
Kloroform	24 ml
İzoamilalkol	1 ml
Lizis Tamponu	
Tris-HCl	50mM
EDTA	50 mM
SDS	%3

%0.8'lik agaroz jel hazırlığı

100 ml için

Agaroz	0.8 gr
--------	--------

EK 6. Enzimler Ve Kimyasal Malzemeler

Kimyasallar	Markası
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sigma
Agar	Bacto
Amikasin (AK30)	Oxoid
Ampisilin (AMP10)	Oxoid
CaCl ₂ .2H ₂ O	Sigma
CdCl ₂	Sigma
CMCNA	Sigma
Congo Red	Sigma
Congo red	Sigma
CuSO ₄ .5H ₂ O	Merck
CuSO ₄ 5H ₂ O	Sigma
EDTA	Sigma
Enzimler	
Etanol	Isolab
Etidyum Bromür	Sigma
Fenol	Ambresco
FeSO ₄ .7H ₂ O	Sigma
Glacial asetik Asit	Merck
Glikoz	Merck
H ₃ BO ₃	Merck
HCl	Sigma
Hexadecyltrimethyl ammonium bromide	Sigma
HgCl ₂	Sigma
Indol-3 acetic acid	Duchefa
İodine	Merck
İzoamilalkol	Merck
İzopropanol	Isolab
Kanamisin (K30)	Oxoid
KH ₂ PO ₄	Sigma
Kloroform	Merck
Lizozim	Sigma

Lizozim	Sigma
Mannitol	Merck
MgCl ₂	Merck
MgSO ₄ .7H ₂ O	Merck
MnSO ₄ .H ₂ O	Merck
Na ₂ HPO ₄	Sigma
Na ₂ HPO ₄	Sigma
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Merck
NaCl	Merck
NaOH	Merck
NH ₄ Cl	Merck
Nişasta	Merck
Nutrient Broth	Merck
Pb(CH ₃ COO) ₂	Sigma
PIPES	Sigma
Potassium iodine	Merck
Proteinaz K	Sigma
Q5® High-Fidelity DNA Polimeraz	NEB
RNAz A	Thermo Scientific
SDS	Merck
Süt tozu	Sigma
Tetrasiklin (TE30)	Oxoid
Tris-HCl	Merck
Trizma Base	Sigma
Tween 80	Sigma
ZnCl ₂	Sigma
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Merck
Markörler	
Generuler 1 kb DNA ladder	Thermo Scientific

GeneRuler 1 kb DNA Ladder

bp	ng/0.5µg	%
10000	30	6
8000	30	6
6000	70	14
5000	30	6
4000	30	6
3500	30	6
3000	70	14
2500	25	5
2000	25	5
1500	25	5
1000	60	12
750	25	5
500	25	5
250	25	5

1% agarose

0.5 µg/lane, 8 cm length gel, **a)**
1X TAE, 7 V/cm, 45 min

Kitler

NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up

MACHEREY-NAGEL

EK 7. İzolatların 16s rRNA/ITS Gen Bölgelerine Ait Nükleotit Dizileri

1 Numaralı İzolat: *Chryseobacterium* sp. EK1

CGCGAGGGGAGCTAACACATGCAAGCCGAGCGGTATTCTGGATTTATTTCAGGAGAGA
GCGGCGTACGGGTGCGTAACACGTGTGCAACCTACCTTTATCAGGGGAATAGCCTTT
CGAAAGGAAGATTAATACTCCATAATATATTAGATGGCATCATTTAATATTGAAAAC
TCCGGTGGATAAAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAACGGCTCA
CCAAGTCAATGATCTTTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCCACACTGGTACTGAGA
CACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGGAAATA
GCCTTTTCGAAAAGGAAGATTAATACTCCATAATATATTAGATGGCATCATTTAATTA
TTGAAAACCTCCGGTGGATAAAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTA
ACGGCTCACCAAGTCAATGATCTTTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCCACACTG
GTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAAT
GGGTGAAAGCCTGATCCAGCCATCCCGCGTGAAGGATGACGGTCCTATGGATTGTAA
ACTTCTTTTGTATAGGAATAAACCTTTCTACGTGTAGAAAGCTGAAGGTACTATACG
AATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGT
TATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGACCGATAAGTCAGTGGTGAA
ATCTCATAGCTTAAGTATGAACTGCCATTGATACTGTCGGTCTTGAGTAAATTAGA
GGTAGCTGGAATAAGTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACTTAGAACACCAA
TTGCGAAGGCAGGTTACCATGATTTAACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGC
GAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGCTAACTCGTTTTTGG
GGCGCAAGCTTCAGAGACCAAGCGAAAGTGATAAGTTAGCCACCTGGGGAGTACGTT
CGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTG
GTTTAATTTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGGGAAATGACAGGC
TTAGAAATAGGCTCTTCTTCGGACATTTTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCT
CGTGCCGTGAGGTGTTAGGTTAAGTCCTGCAACGAGCGCAACCCCTGTCACTAGTTG
CTAACATTAAGTTGAGGACTCTAGTGAGACTGCCTACGCAAGTAGAGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTTACGCCTTGGGCCACACACGTAATACAATGG
CCGGTACAGAGGGCAGCTACACAGCGATGTGATGCGAATCTCGAAAGCCGGTCTCAG
TTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCTATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGCA
TCAGCCATGGCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCA
TGGAAGTCTGGGGTACCTGAAGTCGGTGACCGTAAAAGGAGCTGCCTAGGTAAACCG
GTTGG

2 numaralı izolat: *Pedobacter* sp. F01

GGAAGCGGCAGCTATACTGCAGTCGACGATACTCTTTAGCTTGCTAAGGAGGAAAGT
GGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAACCTACCTTAATCAGGGGGGATAGCCCGAAG
AAATTTCGGATTAAACACCGCATAAAATCACAGTACAGCATTGTACAATGATCAAATAT
TTATAGGATTAAGATGGGCATGCGTGACATTAGTTAGTTGGCGGGGTAACGGCCAC
CAAGACCACGATGTCTAGGGGATCTGAGAGGATGACCCCCCACACTGGTACTGAGAC
ACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAAGGAATATTGGTCAATGGAGGCAACT
CTGAACCAGCCATGCCGCGTGCAAGGAAGACAGCCCTCTGGGTCGTAAACTGCTTTTA
TTCGGGAATAAACCTATCTACGTGTAAGTAGCTGAATGTACCGAAGGAATAAGGATC
GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTATCCGGATT
TATTGGGTTTAAAGGGTGCGTAGGCGGCTTTTTAAGTCAGGGGTGAAAGACGGTGGC
TCAACCATCGCAGTGCCCTTGATACTGAAGAGCTTGAATGAACTAGAGGTAGGCGGA
ATGTGACAAGTAGCGGTGAAATGCATAGATATGTCACAGAACACCGATTGCGAAGGC
AGCTTACTATGGTTATATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATT
AGATAACCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGAATACTCGCTGTTAGCGATACACAG
TTAGCGGCTAAGCGAAAGCGTTAAGTATTCACCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTG
AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGAGGAGCATGTGGTTTAATTTCG
ATGATACGCGAGGAACCTTACCCGGGCTTGAAAGTTAGTGAATCATTTAGAGATAGA

TGAGTCCGCAAGGACACGAACTAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGCCGTG
AGGTGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATGTTTAGTTGCCAGCACGT
AATGGTGGGGACTCTAAACAGACTGCCTGTGCAAACAGAGAGGAAGGAGGGGACGAC
GTCAAGTCATCATGGCCCTTACGTCCGGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTAC
AGAGGGCAGCAAGCTGGTAACAGCAAGCAAATCTCCAAAAGCCATTACAGTTCGGA
TAGAGGTCTGCAACTCGACCTCTTGAAGTTGGATTTCGCTAGTAATCGTATATCAGCA
ATGATACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACTCCGCCCCGTCAAGCCATGGAAG
TTGGGGGTACCTAAAGTATGTAACCGCAAGGAGCTCTACGTAATCCATGC

3 numaralı izolat: Pseudomonas sp. FH1

GTCGTGGGGGCGGCCTACACATGCAGTCGAGCGGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTG
AGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGT
TCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGG
GCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTC
ACCAAGGCAACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAG
ACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAA
GCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTA
AGTTGGGAGGAAGAGCAGTTACCTAATACGTGATTGTTTTGACGTTACCGACAGAAT
AAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAA
TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATC
CCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCATTCAAACCTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGG
TGGTGGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGG
CGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAG
CCTTGAGCTCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTC
TAGAGATAGATTGGTGCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTTGTCCTTAG
TTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAA
GGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGTTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCAGAAAACCGA
TCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAAT
CGCGAATCAGAAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCA
CACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACTTCGGGAGGACGGTACC
ACGGTTTATTAAACGG

4 numaralı izolat: Pedobacter sp. F02

GGCCATCGGGAGCTACACATGCAGCCGAGCGGTATTTATTCTTCGGTAATAGAGAGA
GCGGCGTACGGGTGCGTAACACGTGTGCAACCTACCTTTATCAGGGGAATAGCCTTT
CGAAAGGAAGATTAATACTCCATAATATATTAGATGGCATCATTTAATATTGAAAC
TCCGGTGGATAGAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAACGGCTCA
CCAAGTCAATGATCTTTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCCACACTGGTACTGAGA
CACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGTGAAAG
CCTGATCCAGCCATCCCGCGTGAAGGATTAAGGTCCTATGGATTGTAAACTTCTTTT
GTATAGGAATAAACCTAGATACGTGTATCTAGCTGAAGGTACTATACGAATAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTATCCGGAT
TTATTGGGTTTTAAAGGGTGCGTAGGCGGCCTGTTAAGTCAGAGGTGAAAGACGGTAG
CTCAACTATCGCAGTGCCTTTGATACTGATGGGCTTGAATGAACTAGAGGTAGGCGG
AATGAGACAAGTAGCGGTGAAATGCATAGATATGTCTCAGAACACCGATTGCGAAGG
CAGCTTACTATGGTTTTATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGAACACTCGCTGTTGGCGATACACA

GTCAGCGGCTAAGCGAAAGCGTTAAGTGTTCACCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATT
GAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGAGGAGCATGTGGTTTAATTC
GATGATACGCGAGGAACCTTACCCGGGCTTGAAAGTTAGTGAAGAATTTAGAGATAG
ATTCGTCCGCAAGGACACGAAACTAGGTGCTGCGATGGCTGTCGTACAGCTCGTGCCGT
GAGGTGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATGTTTAGTTGCCAGCACG
TAATGGTGGGGACTCTAAACAGACTGCCTGTGCAAACAGAGAGGAAGGAGGGGACGA
CGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGTCCGGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTA
CAGAGGGCAGCTAGCCGGCAACGGTATGCGAATCTCACAAAGCCATTACAGTTCGG
ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTTGGATTGCTAGTAATCGCGTATCAGC
AATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAA
GTTGGGGGTACCTAAAGTATGTAACCGCAAGGAGC

5 numaralı izolat: *Planococcus* sp. FG1

CTAATACATGCAAGTCGAGCGGAACCTTGGGAGCTTGCTCCCATTTGTTTAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCTGCAGATCGGGATAACTCCGGGAAACC
GGTGCTAATACCGAATAGTTTGCGGCCTCTCCTGAGGCTGCACGGAAAGACGGTTTC
GGCTGTCACTGCAGGATGGGCCCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCT
ACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAG
ACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAA
GTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGACGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTT
GTGAGGGAAGAACAAGTACCAAGTAACACTACTGGTACCTTGACGGTACCTCACCAGAA
AGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTC
CGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCTTTAAGTCTGATGTGAAAGCC
CACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAA
AGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGC
GAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGG
TTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCCACTGCCCGGT
GTAGAGATACACTTTTCCCTTCGGGGACAGTGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCT
CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTT
AGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAA
GGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGACGGTACAAAGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCCAATCCCATAAACCGT
TCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAAT
CGTGGATCAGCATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCA
CACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCCTTG

6 numaralı izolat: *Flavobacterium* sp. FN1

CGCGAAGGCGGCTTACACATGCAAGTCGAGGGGTATGGTTCTTCGGAACCAGAGACC
GGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCCAGAG
AAATTTGGATTAATACCTCATAGTATATTGGTCTCGCATGAGATTATTATTAAAGAT
TTATCGGTGAAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTAC
CAAGACTACGATGGGTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCCACTGGTACTGAGAC
ACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGC
CTGATCCAGCCATGCCGCGTGCAAGATGACGGTCCTATGGATTGTAACTGCTTTTA
TACGAGAAGAAACACTAGTTTCGTGAACTAGCTTGACGGTATCGTAAGAATAAGGATC
GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTATCCGGAAT
CATTTGGGTTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTCAGATAAGTCAGTGGTGAAGCCCATCGC
TCAACGGTGGAACGGCCATTGATACTGTCTGACTTGAATTATTAGGAAGTAAC TAGA
ATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAATTGCGAAGGC
AGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATT

AGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGCTGTTGGGAGCAATCTC
AGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGAACGCAAGTTTGAA
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAT
GATACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGTAGATTGACCGGTTTGGAACAGAC
TTTTTCGCAAGACAATTTACAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGG
TGTCAGGTAAAGTCCTATAACGAGCGCAACCCCTGTTGTTAGTTGCCAGCGAGTCAT
GTCGGGAACCTCTAACAAGACTGCCAGTGTAACCTGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTC
AAATCATCACGGCCCTTACGCCTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAGA
GAGCAGCCACTAGGCAACCAGGAGCGAATCTACAAAACCGTTCTCAGTTCCGGATCGG
AGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGGATATCAGCCATGA
TCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGG
GGGTGCCTGAAGTCGGGACCGCAAGGAGCTGCCTAGGTAACTTTTT

7 numaralı izolat: *Pseudoalteromonas* sp. F1

CCCGGGGCGGCTAAACATGCAAGTCGAGCGGTAAACAGAAAGTAGCTTGCTACTTTGC
TGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCTTGGGAACATGCCTTGAGGTGGGGGACAA
CAGTTGGAACGACTGCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGGGGGCTTCGGC
TCTCGCCTTTAGATTGGCCCAAGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACC
AAGGCGACGATCCCTAGCTGGTTTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCC
TGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGT
CAGGAGGAAAGGTTAATAGTTAATACCCGCTAGCTGTGACGTTACTGACAGAAGAAG
CACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCGAGCGTTAATCG
GAATTACTGGGCGTAAAGCGTACGCAGGCGGTTTGTTAAGCGAGATGTGAAAGCCCC
GGGCTCAACCTGGGAACCTGCATTTTCGAACTGGCAAACCTAGAGTGTGATAGAGGGTGG
TAGAATTTTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGGCGA
AGGCAGCCACCTGGGTCAACACTGACGCTCATGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAACGG
GATTAGATACCCCGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGAAGCTCGGAGCCT
CGTTTCTGTTTTTCAAAGCTAACGCATTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCA
AGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT
AATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTACACTTGACATACAGAGAACTTACCAGA
GATGGTTTGGTGCCTTCGGGAACCTCTGATACAGGTGCTGCATGGCTGTGTCGTCAGCTC
GTGTTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGC
TAGCAGGTAATGCTGAGAACTCTAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTG
GGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGTGTAGGGCTACACACGTGCTACAATG
GCGCATACAGAGTGCTGCGAACCTGCGAAGGTAAGCGAATCACTTAAAGTGCGTCGT
AGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCG
TATCAGAATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACC
ATGGGAGTGGGTGCTCCAGAAGTAGATAGTCTAACCCCTCGGGAGGACGTTACCCAC
GGAGGTCAGT

8 numaralı izolat: *Pedobacter* sp. F03

CCTGCGCGGCTAAAATGCAAGTCGAAGCGATACTCATTATCTTGTGCTAGAGGAAAG
TGCGCGACGGGATGCGGTAACGTGCTATGCAACCTACCTTAATCTAGGGGAGAGACC
GAAGANATTNGGATTAACTCCTACACTAAATTCAACCTACAGCATTGTAGGGGGAT
CTTATAGCTATCGGATTAAGATGAGCCTGCGTGACATTAGTTAGATGGCGGGGTAAAC
GGCCACCAAGACCACGATGTCTAGGGGATCTGAGAGGATGACCCCCACACTGGTA
CTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATGGA
GGCAACTCTGAACCAGCCATGCCGCGTGATGAAGACAGCCCTCTGGGTCGTAAACT
GCTTTTATTCGGGAATAAACCTATCTACGTGTACATAGCTGAATGTACCGAAGGAAT
AAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTAT
CCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGTGCGTAGGCGGCTTTTTTAAGTCAAGGGTGAAAGA
CGGTGGCTCAACCATCGCAGTGCCCTTGATACTGAACAGCTTGAATGAAGTAGATGT

AAGCGGAATGTGACAAGTAGCGGTGAAATGCATAGATATGTCACAGAACACCGATTG
CGAAGGCAGCTTACTATGGTTATATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGTC
CCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCTG
CAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAG
TTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAACCTCTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAA
GGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGTAGGTACAGAGGGCAGCTACACAGCGATGTGATGCGAATCTCAAAAAGCCTA
TCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGAAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCA
CACCATGGGAGTTGATTGCACCAGAAGTGGATAGCTTAACCTTCGGGGAAGCGTCAC
C

9 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL1

GCTTACACATGCAGTCGAGCGGAACGATGGTAGCTTGCTACCAGGCGTCGAGCGGCG
GACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGCGGGGATAGCACGGGGAACT
CGTATTAATACCGCATACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTACTGCTCTCGCTA
TTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCCTACCATGGCGAC
GATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGAGACACGGCCCCG
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCCTGATCCAG
CCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAAGCAGTGAAGA
AGACTCTTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAATAAGCACCGGCT
AACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACT
GGGCGTAAAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAA
CCTGGGAACTGCATCTGAAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGGGAAGTAGAATTT
CAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCT
TCCTGGCATCATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGTCCCTTGAGGACT
TAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAA
AACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGA
TGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCTGCAGAGATGCGG
GAGTGCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTG
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTACCAGCGGG
TTAAGCCGGGAACTCTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAAGAAGGCGGGGACAA
CTTCAAGTCATCAGGGCCCTTACAACCAGGGCTACCACGTGTAAATGGG

10 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL2

GGGATGGCGGCAGGCTACACATGCAGTCGAGCGGAACGATGGTAGCTTGCTACCAGG
CGTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGCGGGGATAG
CACGGGGAACTCGTATTAATACCGCATACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTA
CTGCTCTCGCTATTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCC
TACCATGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGA
GACACGGCCCCGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAA
ACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTT
AAGCAGTGAAGAAGACTCTTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAA
TAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAAT
CCCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATCTGAAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGG
GAAGTAGAATTTACAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATG
CGAAGGCAGCTTCCTGGCATCATACTGACACTGAGGCTTGAAAGCGTGGGTAGCAA

ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGT
CCCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGG
CCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGT
GGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCT
GCAGAGATGCGGGAGTGCCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTA
GTTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAACCTCTAAGGATACTGCCAGTGACAAACTGGAGGA
AGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGTAGGTACAGAGGGCAGCTACACAGCGATGTGATGCGAATCTCAAAAAGCCT
ATTGTAGTCCAGATTGGAGTTTGCAACTTGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTC
ACACCATGGGAGTTGATTGCACCAGAAGTGGATAGCTTAACCTTCGGGAGGCGTCAC
C

11 numaralı izolat: *Aspergillus* sp. AKK1

CCTACCTGATCCGAGGTCAACCTGGGAAAAATGGTTGTTTTGCGTTCGGCAAGCGCC
GGCCGGGCCTACAGAGCGGGTGACAAAGCCCCATACGCTCGAGGATCGGACGCGGTG
CCGCCGCTGCCTTTGGGGCCCGTCCCCCGGAGAGGGGACGACGACCCAACACACA
AGCCGTGCTTGATGGGCAGCAATGACGCTCGGACAGGCATGCCCCCGGAATACCAG
GGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATGATTACGGAATTCTGCAATTCACACTA
GTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCGGAACCAAGAGATCCATTGTTGA
AAGTTTTAACTGATTGCGATACAATCAACTCAGACTTCACTAGATCAGACAGAGTTC
GTGGTGTCTCCGGCGGGCGCGGGCCCGGGGCTGACGCCCCCGGCGGCCATGACGGCG
GGCCCGCCGAAGCAACTAAGGTACAGTAAACACGGGTGGGAGGTTGGGCTCGCTAGG
AACCTTACACTCGGTAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAACCTTGTTACGA
CTTTTACTTCTCTAAATGACCAAGAA

12 numaralı izolat: *Flavobacterium* sp. FN2

GCTTACACATGCAGTCGAGGGGTATGGTTCTTCGGAACCAGAGACCGGCGCACGGGT
GCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCAGAGAAATTTGGATT
AATACCTCATAGTATATTGGTCTCGCATGAGATTATTATTAAAGATTTATCGGTGAA
AGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGACTACGA
TGGGTAGGGGTCTTGAGAGGGAGATCCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGAC
TCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCC
ATGCCGCGTGCAGGATGACGGTCCTATGGATTGTAACTGCTTTTATACGAGAAGAA
ACACTGGTTTCGTGAACCAGCTTGACGGTATCGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCG
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTA
AAGGGTCCGTAGGCGGTCAGATAAGTCAGTGGTGAAAGCCCATCGCTCAACGGTGGA
ACGGCCATTGATACTGTCTGACTTGAATTATTAGGAAGTAAGTAGAATATGTAGTGT
AGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTACT
AATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGCTGTTGGGAGCAATCTCAGTGGCTAAGC
GAAAGTGATAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGAACGCAAGTTTGAACTCAAAGGAA
TTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAG
AACCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCCTTCGG
GAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGT
TAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAA
CTCTAAGGATACTGCCAGTGACAAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATC
ATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTAGGTACAGAGGGCAGCT
ACACAGCGATGTGATGCGAATCTCAAAAAGCCTATCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGC
AACTCGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGA
ATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGATTGCACCA
GAAGTGGATAGCTTAACCTTCGGGGAGGCGTTCACCCACGG

13 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL3

CATGCAGTCGAGCGGAACGATGGTAGCTTGCTACCAGGCGTCGAGCGGCGGACGGGT
GAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATAGCACGGGGAACTCGTATTA
ATACCGCATACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTACTGCTCTCGCTATTAGATG
AGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCCTACCATGGCGACGATCTGT
AGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGAGACACGGCCCGGACTCCTA
CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCCTGATCCAGCCATGCC
GCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAAGCAGTGAAGAAGACTCT
TCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTG
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTA
AAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGA
ACTGCATCTGAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGGGAAGTAGAATTTAGGTGT
AGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCTTCCTGGC
ATCATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGTCCCTTGAGGACTTAGTGAC
GCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAA
ATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACG
CGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCC
TTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGT
TGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCGGGTTAAGCC
GGGAACCTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGAGGACGTCAAG
TCATCATGGCCCTTACGACCAGGGTTACACACGTGTTACAATGGTAGGTACAGAGGG
CAGTTACACAGCGATGTGATGGGAATTTCAAAAAGCCTATCGTAGTCCAGATTGGAG
TCTGCAACTGGACTCCATGAAGTAGGAATCGTTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGC
GGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGATTG
CACCAGAAGTGGTTAGCCTAAACTTAGTGAGGGCGTTACCCACGG

14 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL4

CGTATGGGCGGCGGCTTACACATGCAGTCGAGCGGAACGATGATAGCTTGCTACCAG
GCGTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATA
GCACGGGGAACTCGTATTAATACCGCATACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTT
ACTGCTCTCGCTATTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGC
CTACCATGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTG
AGACACGGCCCGGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGA
AACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTT
TAAGCAGTGAAGAAGACTCTTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGA
ATAAGCACCGGCTAACTTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGT
TAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAA
ATCCCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATCTGAAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGA
GGGAAGTAGAATTTAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGA
TGCGGAAGGCAGCTTCCTGGCATCATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGC
AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGG
GTCCCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTAC
GGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCAT
GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATC
CTGCAGAGATGCGGGAGTGCCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTG
TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCT
TATTACCACCGGGTTAAGCCGGGAACCTTAAGGATACTGCCANTGACAACTGGAGG
AAGGCGGGGACGACGTCAGTTATCATGGGCCTTACGACCAGGGCTACCACCTGCTCC
ATGGTAGGTCCGAGGCAGCTCCACCCATTGGATGCGAATTTAAAAAACCTATCGTA
GTCCAGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAATCGCGG
ATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCA

TGGGAGTTGATTGCACCAGAAGTGGATAGCTAACCTCGGGGAGGCGTCACCACGGTT
GGTAATGC

15 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL5

TGCAAGTCGAGGGGTATGGTTCTTCGGAACCAGAGACCGGCGCACGGGTGCGTAACG
CGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCCAGAGAAATTTGGATTAATACCTC
ATAGTATATTGGTCTCGCATGAGATTATTATTAAAGATTTATCGGTGAAAGATGAGC
ATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGACTACGATGGGTAGG
GGTCCTGAGAGGGAGATCCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCG
TGCAGGATGACGGTCCTATGGATTGTAACTGCTTTTATACGAGAAGAAACACTAGT
TCGTGAACTAGCTTGACGGTATCGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCA
GCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGC
GTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATC
TGAAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGGGAAGTAGAATTTAGGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCTTCCTGGCATCATACT
GACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC
GCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGTCCCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAA
CGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTG
ACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAAC
CTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAA
TTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAA
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAACCTC
TAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATG
GCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTAGGTACAGAGGGCAGCTACA
CAGCGATGTGATGCGAATCTCAAAAAGCCTATCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGCAAC
TCGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATA
CGTTGCCCGGGCCTCGTACACACCGCCCCCTCACACCATGGGAGCTGATTGCACCAGA
AGTCGATAGCTTAACCTTCGCGGAGGCGTTACCC

16 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL6

CATGCAGTCGAGCGGAACGATGGTAGCTTGCTACCAGGCGTCGAGCGGCGGACGGGT
GAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATAGCACGGGGAAACTCGTATTA
ATACCGCATACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTACTGCTCTCGCTATTAGATG
AGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCCTACCATGGCGACGATCTGT
AGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGAGACACGGCCCGGACTCCTA
CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCCTGATCCAGCCATGCC
GCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAAGCAGTGAAGAAGACTCT
TCGGTTAATACCCGAGACGATGACATTAGCTGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTG
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTA
AAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGA
ACTGCATCTGAAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGGGAAGTAGAATTTAGGTGT
AGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCTTCCTGGC
ATCATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGTCCCTTGAGGACTTAGTGAC
GCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAA
ATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACG
CGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATATCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCC
TTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGT
TGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCGGGTTAAGCC
GGGAACCTAAGGATACTGCCAGTGACAACCTGGAAGAAGGGGGGACAACCTTCAGTCA
TCAGGGCCCTTACAACAGGGCTACCACGTGCTACATGGTGGTACA

17 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL7

TCCGGGGGGGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGAAACGATGATAGCTTGCTACCAGG
CGTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATAG
CACGGGGAAACTCGTATTAATACCGCATAACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTA
CTGCTCTCGCTATTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCC
TACCATGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGA
GACACGGCCCCGGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAA
ACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTT
AAGCAGTGAAGAAGACTCTTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAA
TAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAAT
CCCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATCTGAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGG
GAAGTAGAATTTTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATG
GCGAAGGCAGCTTCCTGGCATCATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAA
ACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGT
CCCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGG
CCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGT
GGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCT
GCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTA
GTTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAACCTCTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGA
AGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGTAGGTACAGAGGGCAGCTACACAGCGATGTGATGCGAATCTCAAAAAGCCT
ATCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTC
ACACCATGGGAGTTGATTGCACCAGAAGTGGATAGCTTAACCTTCGGGGAGGCGTTC
ACC

18 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL8

CCCGGGGCGGCTTAACATGCAAGTCGAGCGGAAACGATGGTAGCTTGCTACCAGGC
GTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATAGC
ACGGGGAAACTCGTATTAATACCGCATAACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTAC
TGCTCTCGCTATTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCCT
ACCATGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGAG
ACACGGCCCCGGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAA
CCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTA
AGCAGTGAAGAAGACTCCTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAAT
AAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAA
TCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAATC
CCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGTTAAGCTAGAGTATGTGAGAGGG
AGGTAGAATTTTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGG
CGAAGGCAGCTTTCTGGCATCATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAAA
CAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGTC
CCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCTG
CAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAG
TTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAACCTCTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAA
GGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGTAGGTACAGAGGGCAGCTACACAGCGATGTGATGCGAATCTCAAAAAGCCTA
TCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCA

CACCATGGGAGCTTGATTGCACCAGAAGTGGATAGCTTAACCTTCGGCGGAAGGCGT
TCACCCAGCG

19 numaralı izolat: *Flavobacterium* sp. FN3

GGGCGGCTTACACATGCAAGTCGAGGGGTATGGTTCTTCGGAACAGAGACCGGCGC
ACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCAGAGAAATT
TGGATTAATACCTCATAGTATATTGGTCTCGCATGAGATTATTATTAAAGATTTATC
GGTGAAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGA
CTACGATGGGTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCCACACTGGTACTGAGACACGGA
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGAT
CCAGCCATGCCGCGTGCAGGATGACGGTCCTATGGATTGTAACTGCTTTTATACGA
GAAGAAACACTAGTTTCGTGAACTAGCTTGACGGTATCGTAAGAATAAGGATCGGCTA
ACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAACGGAGGATCCAAGCGTTATCCGGAATCATTG
GGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTGAGATAAGTCAGTGGTGAAAGCCCATCGCTCAAC
GGTGGAACGGCCATTGATACTGTCTGACTTGAATTATTAGGAAGTAACTAGAATATG
TAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAATTGCGAAGGCAGGTT
ACTACTAATGTATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAACTGTTGGGAGCAATCTCAGTGG
CTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGAACGCAAGTTTGAAACTCA
AAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGATGATAC
GCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGTAGATTGACCGGTTTGGAACAGACTTTTC
GCAAGACAATTTACAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTCA
GGTTAAGTCCTATAACGAGCGCAACCCCTGTTGTTAGTTGCCAGCGAGTCATGTCGG
GAACTCTAACAAGACTGCCAGTGTAACCTGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATC
ATCACGGCCCTTACGCCTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAGAGAGCA
GCCACTACGCAAGTAGGAGCGAATCTACAAAACCGTTCTCAGTTCGGATCGGAGTCT
GCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGGATATCAGCCATGATCCGG
TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTG
CCTGAAGTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCTAGTTAAACCAAGTGT

20 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL9

CGGTGCGTCAAGCTACACATGCAGTCGAGCGGAACGATGGTAGCTTGCTACCAGGCG
TCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATAGCA
CGGGGAAACTCGTATTAATACCGCATACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTACT
GCTCTCGCTATTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCCTA
CCATGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGAGA
CACGGCCCCGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAAC
CCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAA
GCAGTGAAGAAGACTCTTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAATA
AGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAAT
CGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAATCC
CCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATCTGAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGGGA
AGTAGAATTTAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGGC
GAAGGCAGCTTCCTGGCATCATACTGACACTGAGGCTCGAAA

21 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL10

TCCGCGGGGAGCTTACCATGCAAGTCGAGCGGAACGATGGTAGCTTGCTACCAGGC
GTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATAGC
ACGGGGAAACTCGTATTAATACCGCATACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTAC
TGCTCTCGCTATTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCCT
ACCATGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGAG
ACACGGCCCCGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAA
CCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTA
AGCAGTGAAGAAGACTCTTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAAT

AAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAA
TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGCGTAGGTGGCTTGATAAGTCAGATGTGAAATC
CCCGGGCTTAACTGGGAAGTGCATCTGAACTGTTAGGCTAGAGTAGGTGAGAGGG
AAGTAGAATTTTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGATGG
CGAAGGCAGCTTCCTGGCATCATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGTC
CCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCTG
CAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCTAG
TTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAAGTCTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAA
GGCGGGGAGGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGTTACACACGTGTTAC
AATGGTAGGTACAGAGGGCAGTTACACAGCGATGTGATGCGAATTTCAAAAAGCCTA
TCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGCAACTGGACTCCATGAAGTAGGAATCGTTAGTAAT
CGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCA
CACCATGGGAGTTGATTGCACCAGAAGTGGTTAGCCTAACCTTAGTGAGGGCGTTCA
CCCACGGTGGTAGGG

22 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL11

CCTAGTCGGATAGCTAGTGGGGGGGAAAGCCTACCAGGCGACGATCGTAGTTGTTGG
GAGGATGATCAGCCCCCGGGAATGAGACCCGCCCGGATTCTACGGAGGCAGCAGTG
GGAATATTGGCATGGGGGAAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGGGGAAGAAGCCTT
TTGGTTGTAAAGCACTTTAAGCAGTAAGAAGACTCCGTGGTTAATACCCACGGACGA
TGACATTAGCTGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
AGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGTGGCTCGA
TAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGTTGAG
CTAGAGTATGTGAGAGGAAGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAT
CTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCTTTCTGGCATAATACTGACACTGAGGCTC
GAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATG
TCTACTAGTCGTTGGGTCCCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGA
CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTT
GACATATCTAGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATTAGAATACAGGT
GCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAG
CGCAACCCTTGTCCCTTAGTTACCAGCGGGTTAAGCCGGGAAGTCTAAGGATACTGCC
AGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCA
GGGCTACACACGTGCTACAATGGTAGGTACAGAGGGCAGCTACACAGCGATGTGATG
CGAATCTCAAAAAGCCTATCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAA
GTAGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCT
TGTACACACCGCCCGTCAACCATGGGAGTTGATTGCACCAGAAGTGGATAGCTTAA
CCTTCGGGGAGGCGTTCACCCACGGGGGTACGTG

23 numaralı izolat: *Psychrobacter* sp. FUL12

CTGTGGGGGCAGGCTTACACATGCAGTCGAGCGGAACGATGATAGCTTGCTATCAGG
CGTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAGGAATCTACCTAGTAGTGGGGGATAG
CACGGGGAACTCGTATTAATACCGCATAACGACCTACGGGAGAAAGGGGGCAGTTTA
CTGCTCTCGCTATTAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGATGGTGGGGTAAAGGCC
TACCATGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACCGGGACTGA
GACACGGCCCCGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAA
ACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTT
AAGCAGTGAAGAAGACTCTTCGGTTAATACCCGGAGACGATGACATTAGCTGCAGAA

TAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGTGGCTCGATAAGTCAGATGTGAAAT
CCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGTTGAGCTAGAGTATGTGAGAGG
AAGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATG
GCGAAGGCAGCCTTCTGGCATAATACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAGTCGTTGGGT
CCCTTGAGGACTTAGTGACGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGG
CCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGT
GGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATATCTAGAATCCT
GCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATTAGAATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCTTA
GTTACCAGCGGGTTAAGCCGGAACCTCTAAGGATACTGCCAGTGACAAACTGGAGGA
AGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGTAGGTACAGAGGGCAGCTACACAGCGATGTGATGCGAATCTCAAAAAGCCT
ATCGTAGTCCAGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTAGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTC
ACACCATGGGAGTTGATTGCACCAGAAGTGGATAGCTTAACCTTCGGGGAGGCGTTC
ACCCACGGGGG

KAYNAKLAR

- Acevedo-Barrios, R., Rubiano-Labrador, C., Navarro-Narvaez, D., Escobar-Galarza, J., González, D., Mira, S., . . . Miranda-Castro, W. (2022). Perchlorate- reducing bacteria from Antarctic marine sediments. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(9), 1-13.
- Ahmed, F., Fakhruddin, A., & Kabir, M. (2018). Degradation of diesel and phenol using bacteria isolated from petroleum hydrocarbon contaminated soil. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 53(1), 53-62.
- Aislabie, J., Saul, D. J., & Foght, J. M. (2006). Bioremediation of hydrocarbon-contaminated polar soils. *Extremophiles*, 10(3), 171-179.
- Alexander, D., & Zuberer, D. (1991). Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of soils*, 12(1), 39-45.
- Aubertine, C. L., Rivera, M., Rohan, S. M., & Larone, D. H. (2006). Comparative Study of the New Colorimetric VITEK 2 Yeast Identification Card versus the Older Fluorometric Card and of CHROMagar Candida as a Source Medium with the New Card. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(1), 227-228. doi:doi:10.1128/JCM.44.1.227-228.2006
- Babu, J., Pramod, W. R., George, T., & Nitisha, S. (2007). Cold-active microbial lipases: a versatile tool for industrial applications. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 2(2), 39-48.
- Bergstrom, D., & Robinson, S. (2010). Casey: the Daintree of Antarctica. In.
- Bratchkova, A., & Ivanova, V. (2011). Bioactive metabolites produced by microorganisms collected in Antarctica and the Arctic. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25(sup1), 1-7.
- Brininger, C., Spradlin, S., Cobani, L., & Evilia, C. (2018). *The more adaptive to change, the more likely you are to survive: Protein adaptation in extremophiles*. Paper presented at the Seminars in cell & developmental biology.
- Cavicchioli, R., Charlton, T., Ertan, H., Omar, S. M., Siddiqui, K., & Williams, T. (2011). Biotechnological uses of enzymes from psychrophiles. *Microbial biotechnology*, 4(4), 449-460.
- Centurion, V., Delforno, T., Lacerda-Júnior, G., Duarte, A., Silva, L., Bellini, G., . . . Oliveira, V. (2019). Unveiling resistome profiles in the sediments of an Antarctic volcanic island. *Environmental Pollution*, 255, 113240.
- Chaudhary, D. K., Kim, D.-U., Kim, D., & Kim, J. (2019). *Flavobacterium petrolei* sp. nov., a novel psychrophilic, diesel-degrading bacterium isolated from oil-contaminated Arctic soil. *Scientific Reports*, 9(1), 4134. doi:10.1038/s41598-019-40667-7
- Choi, S. Y., Yoon, K.-h., Lee, J. I., & Mitchell, R. J. (2015). Violacein: properties and production of a versatile bacterial pigment. *BioMed research international*, 2015.
- Convey, P. (2017). Antarctic ecosystems.
- Cutting, S. M. (1990). Genetic analysis. *Molecular biological methods for Bacillus*. Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74(3), 417-433.
- Dieser, M., Greenwood, M., & Foreman, C. M. (2010). Carotenoid pigmentation in Antarctic heterotrophic bacteria as a strategy to withstand environmental stresses. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 42(4), 396-405.
- Doytchinov, V. V., & Dimov, S. G. (2022). Microbial community composition of the Antarctic ecosystems: Review of the bacteria, fungi, and archaea identified through an NGS-based metagenomics approach. *Life*, 12(6), 916.
- Ergül, H. A., Erdem, T., Pelin, E. G., Tonay, A. M., Aksan, S., & Öztürk, B. (2022). Assessment of Pesticide, Dioxin-like Polychlorinated Biphenyl, and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Existence around Galindez Island, and Comparison with the Organic Pollution Bibliography of the Antarctic Peninsula. *Sustainability*,

- 14(7), 3994. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2071-1050/14/7/3994>
- Espina, G., Muñoz-Ibacache, S. A., Cáceres-Moreno, P., Amenabar, M. J., & Blamey, J. M. (2022). From the Discovery of Extremozymes to an Enzymatic Product: Roadmap Based on Their Applications. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 1271.
- Fan, M., Liu, Z., Nan, L., Wang, E., Chen, W., Lin, Y., & Wei, G. (2018). Isolation, characterization, and selection of heavy metal-resistant and plant growth-promoting endophytic bacteria from root nodules of Robinia pseudoacacia in a Pb/Zn mining area. *Microbiological Research*, 217, 51-59.
- Getachew, A., & Woldeesenbet, F. (2016). Production of biodegradable plastic by polyhydroxybutyrate (PHB) accumulating bacteria using low cost agricultural waste material. *BMC research notes*, 9(1), 1-9.
- Hooda, P. S. (2010). *Trace elements in soils* (Vol. 618): Wiley Online Library.
- Huan, R., Huang, J., Liu, D., Wang, M., Liu, C., Zhang, Y., . . . He, H. (2019). Genome sequencing of Mesonia algae K4-1 reveals its adaptation to the Arctic ocean. *Frontiers in microbiology*, 10, 2812.
- Intriago, P. (2012). Marine Microorganisms: perspectives for getting involved in cellulosic ethanol. *AMB Express*, 2(1), 1-12.
- Kang, M., Choi, T.-R., Ahn, S., Heo, H. Y., Kim, H., Lee, H. S., . . . Yang, Y.-H. (2022). Arctic Psychrotolerant Pseudomonas sp. B14-6 Exhibits Temperature-Dependent Susceptibility to Aminoglycosides. *Antibiotics*, 11(8), 1019. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/8/1019>
- Kirkinci, S. F., Edbeib, M. F., Aksoy, H. M., Marakli, S., & Kaya, Y. (2021). Identification of Dalapon degrading bacterial strain, Psychrobacter sp. TaeBurcu001 isolated from Antarctica. *Polar Science*, 28, 100656.
- Kochman-Kędziora, N., Noga, T., Olech, M., & Van De Vijver, B. (2018). Freshwater diatoms of the Ecology Glacier foreland, King George Island, South Shetland Islands. *Polish Polar Research*, 39(3).
- Králová, S., Busse, H.-J., Bezdiček, M., Sandoval-Powers, M., Nykrýnová, M., Staňková, E., . . . Sedláček, I. (2021). Flavobacterium flabelliforme sp. nov. and Flavobacterium geliluteum sp. nov., Two Multidrug-Resistant Psychrotrophic Species Isolated From Antarctica. *Frontiers in microbiology*, 12, 729977.
- Kristoffersen, V., Jenssen, M., Jawad, H. R., Isaksson, J., Hansen, E. H., Rämä, T., . . . Andersen, J. H. (2021). Two Novel Lyso-Ornithine Lipids Isolated from an Arctic Marine Lacinutrix sp. Bacterium. *Molecules*, 26(17), 5295.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Laganà, P., Caruso, G., Corsi, I., Bergami, E., Venuti, V., Majolino, D., . . . Cappello, S. (2019). Do plastics serve as a possible vector for the spread of antibiotic resistance? First insights from bacteria associated to a polystyrene piece from King George Island (Antarctica). *International journal of hygiene and environmental health*, 222(1), 89-100.
- Lee, H. S., Lee, H.-J., Kim, S. H., Cho, J. Y., Suh, M. J., Ham, S., . . . Lee, E. Y. (2021). Novel phasins from the Arctic Pseudomonas sp. B14-6 enhance the production of polyhydroxybutyrate and increase inhibitor tolerance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190, 722-729.
- Li, H., Zhang, Y., Li, D.-s., Xu, H., Chen, G.-x., & Zhang, C.-g. (2009). Comparisons of different hypervariable regions of rrs genes for fingerprinting of microbial communities in paddy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(5), 954-968.
- Marina-Montes, C., Pérez-Arribas, L., Escudero, M., Anzano, J., & Cáceres, J. (2020). Heavy metal transport and evolution of atmospheric aerosols in the Antarctic region. *Science of the total Environment*, 721, 137702.
- Matsui, M., Kawamata, A., Kosugi, M., Imura, S., & Kurosawa, N. (2017). Diversity of proteolytic microbes isolated from Antarctic freshwater lakes and characteristics of their cold-active proteases. *Polar Science*, 13, 82-90.

- McCarthy, J. S., Wallace, S. M., Brown, K. E., King, C. K., Nielsen, U. N., Allinson, G., & Reichman, S. M. (2022). Preliminary investigation of effects of copper on a terrestrial population of the antarctic rotifer *Philodina* sp. *Chemosphere*, 300, 134413.
- Møller, A. K., Barkay, T., Al-Soud, W. A., Sørensen, S. J., Skov, H., & Kroer, N. (2011). Diversity and characterization of mercury-resistant bacteria in snow, freshwater and sea-ice brine from the High Arctic. *FEMS Microbiology Ecology*, 75(3), 390-401.
- Morozova, O. V., Andreeva, I. S., Zhirakovskiy, V. Y., Pechurkina, N. I., Puchkova, L. I., Saranina, I. V., . . . Kamynina, T. P. (2022). Antibiotic resistance and cold-adaptive enzymes of antarctic culturable bacteria from King George Island. *Polar Science*, 31, 100756.
- Neethu, C., Mujeeb Rahiman, K., Saramma, A., & Mohamed Hatha, A. (2015). Heavy-metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from Kongsfjord, Arctic. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(6), 429-435.
- Nopnakorn, P., Zhang, Y., Yang, L., & Peng, F. (2023) Antarctic Ardley Island terrace — An ideal place to study the marine to terrestrial succession of microbial communities. *Frontiers in Microbiology* 14:942428. doi: 10.3389/fmicb.2023.942428
- Onofri, S., Selbmann, L., Zucconi, L., & Pagano, S. (2004). Antarctic microfungi as models for exobiology. *Planetary and Space Science*, 52(1-3), 229-237.
- Orellana-Saez, M., Pacheco, N., Costa, J. I., Mendez, K. N., Miossec, M. J., Meneses, C., . . . Poblete-Castro, I. (2019). In-depth genomic and phenotypic characterization of the antarctic psychrotolerant strain *Pseudomonas* sp. MPC6 reveals unique metabolic features, plasticity, and biotechnological potential. *Frontiers in microbiology*, 10, 1154.
- Otur, Ç., Okay, S., & Kurt-Kızıdoğan, A. (2022). Whole genome analysis of *Flavobacterium aziz-sancarii* sp. nov., isolated from ardley Island (Antarctica), revealed a rich resistome and bioremediation potential. *Chemosphere*, 137511.
- Parnikoza, I., Abakumov, E., Korsun, S., Klymenko, I., Netsyk, M., Kudinova, A., & Kozeretska, I. (2017). Soils of the argentine islands, antarctica: Diversity and characteristics. *Polarforschung*, 86(2), 83-96.
- Patki, J. M., Singh, S., Singh, S., Padmadas, N., & Dasgupta, D. (2021). Analysis of the applicative potential of pigments extracted from bacterial isolates of mangrove soil as topical UV protectants. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57.
- Perfumo, A., Freiherr von Sass, G. J., Nordmann, E.-L., Budisa, N., & Wagner, D. (2020). Discovery and Characterization of a New Cold-Active Protease From an Extremophilic Bacterium via Comparative Genome Analysis and in vitro Expression. *Frontiers in microbiology*, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.00881
- Prasad, M. (2014). Production of lipase enzyme from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from lipid rich soil. *Int J Pure Appl Biosci*, 2(1), 77-81.
- Rao, M., Xiao, M., & Li, W. (2017). Fungal and bacterial pigments: secondary metabolites with wide applications. *Front Microbiol* 8: 1113. In.
- Redón, J. (1985). Antarctic Lichens. *Instituto Antártico Chileno: Santiago de Chile, Chile*.
- Rios, P., Bezus, B., Cavalitto, S., & Cavello, I. (2022). Production and characterization of a new detergent-stable keratinase expressed by *Pedobacter* sp. 3.14. 7, a novel Antarctic psychrotolerant keratin-degrading bacterium. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 20(1), 1-14.
- Sajjad, W., Din, G., Rafiq, M., Iqbal, A., Khan, S., Zada, S., . . . Kang, S. (2020). Pigment production by cold-adapted bacteria and fungi: colorful tale of cryosphere with wide range applications. *Extremophiles*, 24(4), 447-473.
- Savenets, M., Pysarenko, L., & Pishniak, D. (2020). Microclimatic variations of land surface temperature on Galindez Island (western part of the Antarctic Peninsula). *Ukrainian Antarctic Journal*(2), 3-15.
- Schroeder, W. H., Anlauf, K., Barrie, L., Lu, J., Steffen, A., Schneeberger, D., & Berg, T. (1998). Arctic springtime depletion of mercury. *Nature*, 394(6691), 331-332.

- Singh, P., Kapse, N., Arora, P., Singh, S., & Dhakephalkar, P. (2015). Draft genome of *Cryobacterium* sp. MLB-32, an obligate psychrophile from glacier cryoconite holes of high Arctic. *Mar Genomics* 21: 25–26. In.
- Suryawanshi, R., Patil, C., Borase, H., Narkhede, C., Stevenson, A., Hallsworth, J., & Patil, S. (2015). Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. *International journal of cosmetic science*, 37(1), 98-107.
- Szumińska, D., Potapowicz, J., Szopińska, M., Czapiewski, S., Falk, U., Frankowski, M., & Polkowska, Ż. (2021). Sources and composition of chemical pollution in Maritime Antarctica (King George Island), part 2: Organic and inorganic chemicals in snow cover at the Warszawa Icefield. *Science of the total Environment*, 796, 149054.
- Tekin, E. (2011). *Dynamic expression of three "RNA processing and modification" Genes of Phanerochaete Chrysosporium under Pb stress*. Middle East Technical University,
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 22(22), 4673-4680. doi:10.1093/nar/22.22.4673
- Todorov, M., & Golemansky, V. (1996). Notes on testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) from Livingston Island, South Shetland Islands, Antarctic. *Bulgarian Antarctic Research. Life Sciences. Pensoft Publ., Sofia-Moscow*, 70-81.
- Tomova, I., Stoilova-Disheva, M., Lazarkevich, I., & Vasileva-Tonkova, E. (2015). Antimicrobial activity and resistance to heavy metals and antibiotics of heterotrophic bacteria isolated from sediment and soil samples collected from two Antarctic islands. *Frontiers in Life Science*, 8(4), 348-357.
- Tribelli, P. M., & López, N. I. (2011). Poly (3-hydroxybutyrate) influences biofilm formation and motility in the novel Antarctic species *Pseudomonas extremaustralis* under cold conditions. *Extremophiles*, 15(5), 541-547.
- Uddin, M. R., Roy, P., & Mandal, S. (2021). Production of extracellular lipase from psychrotrophic bacterium *Oceanisphaera* sp. RSAP17 isolated from arctic soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 114(12), 2175-2188. doi:10.1007/s10482-021-01671-y
- Vasileva-Tonkova, E., Romanovskaya, V., Gladka, G., Gouliamova, D., Tomova, I., Stoilova-Disheva, M., & Tashyrev, O. (2014). Ecophysiological properties of cultivable heterotrophic bacteria and yeasts dominating in phytocenoses of Galindez Island, maritime Antarctica. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 1387-1398.
- Venil, C. K., Dufossé, L., & Renuka Devi, P. (2020). Bacterial pigments: sustainable compounds with market potential for pharma and food industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 100.
- Wada, N., Sakamoto, T., & Matsugo, S. (2013). Multiple roles of photosynthetic and sunscreen pigments in cyanobacteria focusing on the oxidative stress. *Metabolites*, 3(2), 463-483.
- Wynn-Williams, D., Newton, E., & Edwards, H. (2001). *The role of habitat structure for biomolecule integrity and microbial survival under extreme environmental stress in Antarctica (and Mars?): ecology and technology*. Paper presented at the Exo-/astro-biology.
- Yuan, M., Yu, Y., Li, H.-R., Dong, N., & Zhang, X.-H. (2014). Phylogenetic diversity and biological activity of actinobacteria isolated from the Chukchi Shelf marine sediments in the Arctic Ocean. *Marine drugs*, 12(3), 1281-1297.
- Zahri, K. N. M., Gomez-Fuentes, C., Sabri, S., Zulkharnain, A., Khalil, K. A., Lim, S., & Ahmad, S. A. (2021). Evaluation of heavy metal tolerance level of the antarctic bacterial community in biodegradation of waste canola oil. *Sustainability*, 13(19), 10749.
- Zdanowski, M. K., & Węgleński, P. (2001). Ecophysiology of soil bacteria in the vicinity of Henryk Arctowski station, King George Island, Antarctica. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(6), 819-829.

- Zeng, Y. (2019). Phylogenetic diversity of dimethylsulfoniopropionatedependent demethylase gene *dmdA* in distantly related bacteria isolated from Arctic and Antarctic marine environments. *Acta Oceanologica Sinica*, 38(8), 64-71. doi:10.1007/s13131-019-1393-7
- Zhang, S.-J., Zeng, Y.-H., Zhu, J.-M., Cai, Z.-H., & Zhou, J. (2022). The structure and assembly mechanisms of plastsphere microbial community in natural marine environment. *Journal of hazardous materials*, 421, 126780.



ÖZ GEÇMİŞ

Fulya ÖZAYDIN, Ankara Faruk Nafiz Çamlıbel Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji bölümünden 28.06.2020 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ LEE Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi (06.03.2023).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0003-2900-9044

Yayınlar:

1. 8. Uluslararası 19 Mayıs Yenilikçi Bilimsel Yaklaşımlar Kongresi, 2022 “ Isolation and characterization of psychrophile and psycrotolerant microorganisms from polar fresh water and sea water samples”
2. 4th International Eurasian Conferance on Science, Engineering and Technology (EurasianScienTech 2022) “ Kutup tatlı göl suyu örneğinden *Chryseobacterium* sp. EK1’in izolasyonu ve karakterizasyonu”

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. 121Z821-TÜBİTAK 1001 “TunRS iki bileşenli sistemin *Streptomyces clavuligerus*’ta tunikamisin biyosentezi üzerindeki düzenleyici etkisinin araştırılması” projesinde bursiyer öğrenci
2. PYO.ZRT. 1904.22.004 “Kutup tatlı su ve deniz suyu örneklerinden psikrofil ve psikrotolerant mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonu” Araştırmacı.