

## Effects of Environmental Stress Conditions on Biofilm Formation by Thermophilic *Geobacillus kaustophilus*

Tuba Korkmaz, İnci Özdemir

Gebze Institute of Technology, Molecular Biology and Genetic Department, Gebze, Kocaeli, i.ozdemir@gyte.edu.tr

**Objectives:** Biofilm is a functional consortium of microorganisms attached to the surface and is embedded in the extracellular polymeric substances (EPS) produced by the microorganisms. Microbial attachment and biofilm formation are influenced by number of factors including biological factors and environmental factors. In this study, we studied biofilm formation capability of thermophilic *Geobacillus kaustophilus* on polystyrene surface.

**Materials and Methods:** *Geobacillus kaustophilus* was grown in TSB medium at 55°C for 5-7 days in 96-well plates. Biofilm formation was indirectly assessed by staining with 1% crystal violet and measuring crystal violet absorbance, using destaining solution. Biofilm forming cells were detected on nutrient agar.

**Results:** The maximum biofilm formation performed by *Geobacillus kaustophilus* at the optimum growth temperature. The ability of *Geobacillus kaustophilus* to form biofilm on polystyrene surfaces was enhanced by increasing glucose concentration up to 5% and increasing NaCl concentration up to 3% in TSB. After treatment with different concentrations of lysozyme and SDS, biofilm formation by vegetative cells on polystyrene surface was dramatically decreased. When compared to vegetative cells, *Geobacillus kaustophilus* spores tightly attached to polystyrene surface and they were less sensitive to several agents used in cleaning processes.

**Conclusion:** This study for the first time, reports the biofilm formation by *Geobacillus kaustophilus*. Informations applied by this research may influence the design of removal procedures and methods to control biofilms of thermophilic bacilli in dairy manufacturing plants.

**Keywords:** Biofilm, spore, *Geobacillus kaustophilus*, thermophilic, polystyrene

## Bazı Nocardioform İzolatların 16S rRNA, *rpoB* ve *gyrB* Gen Dizi Analizleri ile Moleküler Sistematiği

Fadime Özdemir Koçak, Kamil Işık

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Samsun, fadikocak@hotmail.com

**Amaç:** Farklı lokalitelerden izolasyonu gerçekleştirilen 23 Nocardioform izolatın 16S rRNA (16S), RNA polimerazın  $\beta$  alt ünitesini kodlayan (*rpoB*) ve DNA girazın  $\beta$  alt ünitesini kodlayan tip II DNA topoizomeraz (*gyrB*) gen dizi analizleri ile moleküler sistematik çalışmaların gerçekleştirilmesi ve sistematik olarak yerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Birde, izolatların moleküler tiplendirilmesi, mikolik asit profili ve morfolojik özelliklerle de desteklenmesi hedeflenmiştir.

**Gereçler ve Yöntemler:** Materyalimizi, 10 farklı lokaliteden dilüsyon plaka yöntemi ve sükröz-santrifügasyon yöntemi kullanılarak izolasyonu gerçekleştirilen 23 nocardioform toprak izolatları ile akraba tip türleri oluşturmuş ve bu örneklerle MLSA (Multilokus Sekans Analizleri) uygulanmıştır.

PCR yöntemiyle çoğaltılan gen bölgelerinin dizileme işlemleri MacroGen firmasından hizmet alımı ile yapılmıştır. İlgili gen bölgeleri için (16S rRNA, *gyrB* ve *rpoB*) tip türlerinin nükleotit sekans verileri, NCBI, DDBJ ve EMBL gibi veri bankalarından elde edilmiştir. MLSA veri seti maximum-parsimony ve neighbour-joining algoritmaları ile MEGA 4.1 ve PHYLIP programları kullanılarak analiz edilmiştir. Filogenetik analizlerde yüksek bootstrap değerleri ile test sonuçları desteklenmiştir.

**Bulgular:** İzolasyon yöntemleriyle elde edilen 125 toprak izolatı mikroskopik ve morfolojik özelliklerine göre belirlenmiş ve bu organizmaların 89'una ve Özdemir Koçak (2005) tezinde kullanılan 23 izolata kemotaksonomik yöntemlerden mikolik asit metil esterlerinin belirlenmesi amacıyla İnce Tabaka Kromatografi (TCL) yöntemi uygulanmıştır. Mikolik asit varlığı belirlenen 18 organizmadan 2'sinin *Gordonia* ve 16'sının *Nocardia* olduğu; 16S rRNA, *rpoB* ve *gyrB* gen bölgesi analizleriyle de belirlenmiştir. Mikroskopik ve morfolojik olarak farklı olduğu belirlenen 5 izolattan birinin *Nocardioides* ve 4'nün *Kribbella* cinsine ait olduğu yine MLSA ile gerçekleştirilmiştir. MLSA gen bölgelerinin filogenetik analizleri sonucunda; FMN18, *Nocardia speluncae*'a, FMN22, *Kribbella swartbergensis*'e, FSN23 *K. hippodromi* tip türlerine ve FMN08 nolu izolatında *Nocardioides albus* tip türüne filogenetik akrabalıkları görülmüştür.

**Sonuç:** 16S rRNA, *rpoB* ve *gyrB* gen bölgelerinin dizi analizleri sonucunda ilgili gen bölgelerinin filogenetik ağaçları arasında uyum olduğu ve 16S rRNA gen bölgesi ile birlikte MLSA gen bölgelerinin kullanımının faydalı bir yaklaşım olduğu belirlenmiştir. MLSA yaklaşımları, toprak izolatlarının olası yeni birer tür olarak tanımlanmaları için başarıyla uygulanmış ve mevcut *Nocardia*, *Kribbella* ve *Nocardioides* taksonomisine katkıda bulunmuştur. Aynı zamanda MLSA yaklaşımları, geleneksel yöntemlerle tanımlaması zor olan Nocardioform izolatların belirlenmesinde oldukça yararlı olduğu kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Gordonia*, *Nocardia*, *Kribbella*, *Nocardioides*, 16S rRNA, *rpoB*, *gyrB*

**Teşekkür:** Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi PYO.FEN.1904.09.009 Proje ile desteklenmiştir. Çalışmanın şekillenmesinde katkıları olan Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN ve Prof. Dr. Cafer EROĞLU'nada teşekkür ediyoruz.

## SG-008

### **Pulsed-Field Jel Elektroferez Tekniği (PFGE) İle Biyoluminesen *Shewanella woodyi* Suşlarının Genomik Polimorfizminin Belirlenmesi**

Esra Ersoy Ömeroğlu, İsmail Karaboz

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bornova, İzmir, [esra.ersoy@ege.edu.tr](mailto:esra.ersoy@ege.edu.tr)

**Amaç:** İzmir Körfezi'nden belirli zamanlarda alınan sediment, kalamar ve balık örneklerinden izole edilen ve 16S rRNA gen bölgesine dayalı olarak tanımlanması gerçekleştirilmiş olan 11 biyoluminesen *Shewanella woodyi* suşunun PFGE tekniği kullanılarak genomik polimorfizminin belirlenmesi amaçlanmıştır.