

## Termofil Bakteriler; Sıcak Su Kaynaklarında Yaşayan Gram Negatif Basillerin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri<sup>1</sup>

Seda Ercan Akkaya,<sup>2</sup> Merih Kıvanç<sup>3</sup>

### Özet

Bizim yaşam koşullarımızdan oldukça farklı şartlarda yaşayan canlı gruplarından biri olan ekstrem termofilik bakteriler son yıllarda oldukça yoğun ilgi duyulan araştırma odaklarından biri olmuştur. Pek çok canlı grubunun yaşayabilmesinin imkansız olduğu sıcaklıklarda bile enzimlerini kullanabilen ve yaşamlarını sürdürebilen ekstrem termofiller termostabil biyokatalizörlerinden dolayı çok ilgi çekmektedir. Birçok hipertermofil mikroorganizma, *Archaea* grubu içinde yer almaktadır. Bunların bir alt grubunun ise optimum 75 °C'de yaşayan ekstrem termofiller olduğu bildirilmiştir.

Bu derlemede termofilik Gr (-) basillerin yaşama ortamlarının özellikleri, izolasyonları ve tanımlama yöntemleri, *Thermus* ve *Meiothermus* cinslerine ait genel özellikler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Gr (-) termofiller, *Thermus*, *Meiothermus*, Termal kaynaklar

### Giriş

Günümüzde biyosferin yaygın ve önemli bir kısmını oluşturan mikroorganizmaların besin üretiminde kullanılanlar ve hastalık yapanlarının dışında büyük bir çoğunluğu, tanımlanamamıştır (1).

Yaşam koşullarımızdan oldukça farklı şartlarda yaşayan ekstrem canlı gruplarından biri olan termofilik bakteriler son yıllarda yoğun ilgi duyulan araştırma odaklarından biri olmuştur. Pek çok canlı grubunun yaşayabilmesinin imkânsız olduğu sıcaklıklarda bile enzimlerini kullanabilmeleri ve yaşamlarını sürdürebilmeleri, araştırmacıları bu konuda çalışmalar yapmaya yöneltmiştir. Dünyamızda solfatarik alanlar, hidrotermal kuyular, sıcak su kaynakları gibi çeşitli jeotermal alanlardan aerobik termofillerin izolasyonları yapılmaktadır (2).

<sup>1</sup> Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca 011051 nolu proje kapsamında desteklenmiş olan birinci yazarın Doktora tezinden hazırlanmıştır.

<sup>2</sup> Anadolu Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir. Yazışmalardan sorumlu yazarın E-Posta adresi: [sedaercanakkaya@gmail.com](mailto:sedaercanakkaya@gmail.com)

<sup>3</sup> Prof. Dr., Anadolu Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

Yapılan pek çok çalışmada sıcaklığın mikroorganizmaların fizyolojik aktiviteleri ve gelişimleri üzerindeki en önemli faktörlerden biri olduğu, yüksek sıcaklığın farklı mikroorganizmalar tarafından farklı düzeyde tolere edildiği tespit edilmiş; pek çok ökaryotik canlı kısa bir süre bile 50 °C sıcaklığa dayanamazken bazı mikroorganizmaların oldukça yüksek sıcaklıklarda yaşayabildiği bildirilmiştir (3).

Ekstrem termofiller içinde yüksek sıcaklıkta yaşayanlar termostabil biyokatalizörlerinden dolayı çok ilgi çekmektedir. Birçok ekstremofil mikroorganizma, *Archaea* grubu içinde yer almaktadır. Bunların diğer bir grubu ise optimum 75 °C'de yaşayan ekstrem termofillerdir (1).

Jeotermal kaynaklar açısından oldukça zengin olan ülkemizde İller Bankası'nın 2001 yılında yayınlamış olduğu listeye göre resmi kayıtlara alınmış 140 adet jeotermal saha bulunmaktadır (4). Yapılan literatür araştırmaları bu alanda daha önce yapılmış kapsamlı çalışmaların olmadığını ortaya koymaktadır.

Bu derleme, ülkemiz termal kaynaklarının genel özelliklerinin tanımlanması, bu alanda yapılacak olan yeni araştırmalara yol göstermesi ve ülkemizde yeterince çalışılmamış olan termofilik türlerin biyoteknolojik önemleri anlatılmaya çalışılmıştır.

## **Termal çevreler**

Pek çok sıcak kaynak, kaynama noktasına yakın sıcaklıklara sahiptir. Ayrıca bazı termal çukurlarda 150-500 °C civarında buhar fışkırır. Deniz dibindeki hidrotermal çukurlar 350 °C ya da daha yüksek sıcaklıklara sahiptir. Dünya üzerindeki sıcak su kaynakları Batı Amerika, Orta Afrika, Yeni Zelanda, İzlanda, Japonya, İtalya, Endonezya, Orta Amerika, Orta Afrika gibi ülkelerin bulunduğu geniş bir alanda bulunur. Bunların yanında Yellow Stone Ulusal parkı oldukça farklı sıcak su kaynağını bir arada bulunduran büyük bir alandır. Bu sıcak sular, çeşitli kimyasal bileşiklere ve çeşitli pH değerlerine sahip olmakla birlikte kemoorganotrof mikroorganizmalar için yeterli düzeyde besin maddesine sahiptir (1,5).

Termofil mikroorganizmalar optimum 45 °C'de, hipertermofiller optimum 80 °C'de büyümektedirler. Bu yüksek sıcaklık doğada sınırlı alanlarda bulunur. Örneğin güneş enerjisi ile ısınan topraklar gün ortasında yaklaşık 50 °C'ye hatta bazen 70 °C'ye ulaşabilmektedir. Kompostlar ve silolarda sıcaklık 50-65 °C'ye ulaşmaktadır. Bunun yanında son derece yüksek ısıya sahip volkanik alanlar da doğada yer almaktadır (6).

Derin deniz çukurlarının bulunduğu çevrelerde obligat anaerobik pek çok tür bulunmasına rağmen son zamanlarda bu alanlarda yaşayan fakültatif aerobik türlere de rastlanmıştır, diğer taraftan pek çok zorunlu aerobik bakteri Orta Atlantik sınırı ve Guaymas havzasında bulunan derin deniz hidrotermal çukurlarından izole edilmiştir. Bu sonuçlara bakarak termofilik, obligat ya da fakültatif aerobik popülasyonların hidrotermal çukurların oksidatif mikrohabitatlarında yer aldıkları saptanmıştır (7).

Ülkemiz sınırları içinde ise sıcaklığı 40 °C'nin üzerinde olan 133 adet sıcak su kaynağı bulunmaktadır (4).

## Sıcak sulardaki termofiller

Termofilik basiller genellikle sıcak su kaynakları, solfatarlar ve jeotermal olarak ısınmış topraklardan izole edilirler. Termofil olmalarına rağmen mezofil çevrelerde de bulunabilirler. Bu çevrelerin yanı sıra topraktan, gübreden, lağım arıtma sistemlerinden, nehir ve göllerden, hava kontaminantlarından ve konservelelerden de izole edilebilirler (8).

Kuzey İrlanda Eyafjordur bölgesindeki deniz tabanında bulunan büyük deniz dibi sıcak su konik kaynaklarının keşfedilmesi ve tanımlanması üzerine yapılan bir çalışmada 72 °C'de pH'ı 10 olan su örnekleri incelenmiş, Gr(+) bakteriler, *Archaea* ve *Desulfurococcus mobilis* üyeleri izole edilmiştir. Bu izolatlar 16S rRNA analizi uygulanmış, izole edilen 45 izolatın 41'inin *Aquificales* ordosuna, 10 tanesinin *Korarchaeota*'ya ait dizilim gösterdiği saptamıştır. İzolatların fizyolojik özelliklerinin tamamıyla kaynak suyu habitatının indikatörleri olduğu belirlenmiş, karasal mikroorganizmaların yeraltından taşınmış olabileceği bildirilmiştir(9).

Yellowstone Ulusal Parkında yapılan bir çalışmada, sıcaklığı 35-60 °C, pH'sı 7-9 olan 5 farklı sıcak su kaynağından alınan örneklerde yeni klorofilli sülfürsüz bakteri türleri izole edilmiş ve bazı alanların türe spesifik olduğu gösterilmiştir (10).

Beldüz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise *Archaea* ve *Eubacteria* türlerinin dünyamızın ilk dönemlerinden bu yana var olduğu ve pek çok farklı cinsi içerdiği bildirilmiş, Türkiye'nin kuzeydoğu bölgesi sıcak sularında bulunan termofilik *Bacillus flavothermus* türlerinin karakterizasyonu yapılmaya çalışılmıştır (11).

## Termofilik Gram negatif basiller

*Prokaryot* canlıların yaşamını sürdürebilmesi için farklı üst sıcaklık limitleri vardır. Fotosentezde bu limit 75 °C civarındadır. Yüksek sıcaklıklarda tür çeşitliliği sınırlıdır. Yeryüzünde sıcak alanlar daha çok sıcak su kaynakları tarafından oluşturulur. Sıcak su kaynakları farklı pH değerlerine sahip olabilir. Bunlar pH 2-4 ve pH 8-10 arasında olanlardır. Nötr pH da olan sıcak su kaynakları çok yaygın değildir. Doğal termal çevrelerde sıcaklık 30-100 °C, pH 1-11 arasındaki değerlerde değişebilir (6).

Sıcak su kaynaklarında yaygın olarak bulunan bakterilerin başında *Thermus* cinsi gelir. Bu cinsin birincil yayılma alanları öncelikle termal çevrelerdir. Ülkemizde termal çevrelerin kimyasal yapısı ile ilgili yapılmış detaylı çalışmalar bulunmamaktadır. *Thermus* cinsine ait türlerin dağılımında kimyasal yapının yanı sıra ışığın da etkisi vardır. Su sıcaklığının canlıların dağılımı üzerindeki etkisi hakkında bilgiler olmasına rağmen kimyasal elementlerin biyolojik çevre üzerindeki etkisi hakkında yapılmış çalışmalar sınırlıdır. Nitrojen, fosfor, organik karbon, çözülmüş gazlar ve sülfid miktarı canlılar üzerinde önemli etkiye sahiptir. Ayrıca bazen kaynak içi ve dışındaki konsantrasyonları da değişmektedir. Örneğin kaynak içindeki miktar yüzeye karşılaştırılırsa, pH düşük, sülfid yüksek oranlarda bulunabilir. Sıcak su kaynaklarının kimyasal yapısının *Thermus*'ların fenotipleri üzerinde de etkili olduğu bildirilmiştir (12).

Da Costa ve Rainey'in çalışmasında, *Thermaceae* familyası içinde yer alan *Thermus*lar incelenmiştir. Bu grubun üyelerine ait bütün suşlar Gr(-), çubuk şeklinde filamentli, hareketsiz, pek çoğu sarı ya da kırmızı pigmentli, bazıları şeffaf renktedir. Zorunlu aerobik olmalarına rağmen bazı suşların nitrat ve nitriti elektron alıcısı olarak kullanıp anaerobik büyüme gösterdikleri saptanmıştır. Tüm üyeleri oksidaz pozitif, 50-70 °C'de optimum büyüeyebilen, endospor oluşturmamayan, menaquinon 8'i dominant olarak bulunduran bu grubun, *Thermus* ve *Meiothermus* olarak iki cinse ayrıldığı bildirilmiştir (13).

Bu iki cinse ait üyelerin optimum büyüme sıcaklıkları ile ilgili yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre de *T. aquaticus* YT-1 optimum 70 °C, maksimum 79 °C, minimum 40 °C'de gelişme gösterir ve pek çok suş da *T. aquaticus* gibi gelişir. *T. filiformis*, optimum 73 °C, maksimum 80 °C, minimum 37 °C'de, *T. thermophilus*, optimum 65-72 °C, maksimum 85 °C, minimum 47 °C'de, *Meiothermus ruber*, optimum 60 °C, maksimum 70 °C, minimum 35-40 °C'de, *M. cerberus* optimum 55 °C'de *M. cliophilus* optimum 50 °C'de, *M. silvanus* optimum 55 °C'de geliştiği bildirilmiştir (14).

### **Besin kaynakları**

Yapılan araştırmalardan tespit edildiğine göre *Thermus* türleri zorunlu heterotroftur. Büyümeleri için organik besin kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Bu canlılar 70-75 °C deki termal kaynaklarda çok yaygın olarak bulunurlar (15).

Alg ve bakterilerin kaynak yüzeyinde oluşturduğu tabakanın çürümesi ile *Thermus* için organik besin maddeleri ortaya çıkar. Bu örtü izolator görevi yaptığından düşük hava sıcaklıklarında da büyüme imkânı sağlar. Ayrıca sıcak su kaynağında serbest veya bir yere bağlı olarak yaşayan heterotrofların ölmesi ve çürümesi sonucunda açığa çıkan organik substratlar da *Thermus* tarafından kullanılır. Yine sıcak su kaynaklarında 73-75 °C'de gelişen ve fotosentez yapan kemoototroflar da bu canlılar için besin kaynağıdır. Sıcak su kaynaklarının etrafında bulunan topraktan ve bitki örtüsünden kaynağa akan besin maddeleri de *Thermus* için besin olabilir. Bu tür ortamlarda açığa çıkan besin maddelerinin *Thermus*ların gelişebilmesini ve yayılmasını etkilediği bildirilmiştir (12).

Ayrıca jeotermal olarak ısınan tesisler ile evsel ve endüstriyel olarak ısınmış sulardan da *Thermus* izolasyonu yapılmıştır (15).

*Thermus* türlerinin beslenme şekilleri üzerine yapılmış kapsamlı araştırmalar yoktur. Ancak çok sınırlı besin maddeleri ile büyüme gösterebilmeleri onların oligotrof olduklarını göstermektedir. *Thermus* türlerinin pH ve sıcaklık ihtiyaçları oldukça değişkendir. pH 5.1-10.5 arasında değişirken sıcaklık toleransları 30-90 °C'ler arasında değişim gösterir. *Thermus* türleri çoğunlukla obligat aerobiktir, ancak çözünmüş oksijenin düşük olduğu sulardan da izolasyon yapılmıştır. Diğer taraftan nitrat ve nitrit indirgeyen türlerin Yeni Zelanda ve Yellowstone parkından izole edildiği bildirilmiştir (16).

Ayrıca, düşük ve yüksek sülfid içeren çevrelerden *Thermus* izolasyonu yapılmıştır. *Thermus* türleri üzerinde yapılan tuzluluk toleransı araştırmalarına göre nötral ya da

alkali özellikteki ortamlarda, düşük tuz konsantrasyonunda yaygın büyüme gözlemlendiği, maksimum tuz toleransının % 6 olduğu bildirilmiştir. *Rhodothermus marinus* siğ deniz suyundan izole edilmiş olmasına karşın, *T. aquaticus* YT1'in tuz oranı % 0,5 olsa bile gelişemediği, pek çok suş % 1'de büyüyemezken, bazı halotolerant suşların ise % 3-5 oranında geliştikleri saptanmıştır (12).

## Enzimleri

Mikroorganizmalar, yaşamlarını sürdürebilmek için çevresel şartlara adaptasyonlarını sağlayan çeşitli enzimlere sahiptirler. Sıcak su kaynakları üzerinde gelişen termofiller ile ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmaların çoğu yüksek sıcaklığa direnç gösteren termofil enzimlerin araştırılması üzerinedir. Son yıllarda bakteriyal kaynaklardan 2400'ün üzerinde endonükleaz enzimi identifiye edilmiş, bu enzimlerin 220'sinin farklı özellik gösterdiği ve çoğunlukla *Thermus* ve *Bacillus stearothermophilus* türlerinden izole edildiği bildirilmiştir (17). *T. thermophilus* HB8 suşu ile yapılan bir çalışmada pulsed-field jel elektroforezi ile endonükleaz HpaI, MnlI ve NdeI enzimlerinin gen haritaları çıkarılmış, bu enzimlerin gen büyüklüğünün 1.74 Mbp olduğu saptanırken, *E.coli* ve diğer mezofillerin genlerinden daha küçük yapıya sahip oldukları bildirilmiştir (18).

Yüksek sıcaklıklara adapte olmuş *Thermus* türlerinin sahip olduğu enzimler, mezofillerin enzimlerine göre sıcaklığa daha dayanıklıdır. Bilinen enzimler içerisinde en yaygın olanı *T. aquaticus* dan izole edilen Taq DNA Polimerazdır (1). Thermal dayanıklılığa sahip enzimler şunlardır: Laktat dehidrojenaz, Malat dehidrojenaz, İzositrat dehidrojenaz, 3-izopropanol dehidrojenaz, Ferrodoksin, GALP dehidrojenaz, L-alanin dehidrojenaz, NADH dehidrojenaz, NADH oksidaz, Katalaz, Superoksit dismutaz, Sitokromlar, tRNA metil transferaz, RNA polimeraz, DNA polimeraz, Proteaz, Amilaz, Glikozidaz, Pullulanaz, Alkalin fosfotaz, Ribonükleaz, Asparginaz, İnorganik fosfotaz, ATPaz, DNA endonükleaz, Anthranilat sentetaz, Enolaz, Fumaraz, Tripton sentetaz, D-Ksiloz isomeraz, Aminoasit sentetaz, CoA sentetaz, DNA ligaz (19, 20).

Enzimler üzerine yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Thermal kaynaklardan izole edilen *Thermus* cinsine ait 152 restriksiyon endonükleaz enzimi varlığı araştırılmış, 27 izolatta *TaqI* izoşizomerin varlığı gözlenmiştir. (17). Diğer bir çalışmada da farklı *Thermus* türlerinden izole edilen iki farklı *TaqI* endonükleaz, *E.coli* içine klonlanmış, saflaştırılmış ve özelliklerini belirleme çalışmaları yapılmıştır. İzole edilen *tsp321*'in sığağa daha dirençli olduğu, 90 °C'de aktivitesini sürdürdüğü bildirilmiştir (21).

## Plazmitleri

*Thermus*larda plazmit yapıları, ilk olarak 1978'de tanımlanmıştır. Sekiz suş üzerinde çalışma yapılmış bunlardan dört tanesinde plazmid DNA bulunmuştur. 11 restriksiyon enzimi kullanılarak *pTT1* plazmiti haritası yapılmıştır. Daha sonra yapılan benzer çalışmalar ile *T. flavus* da *pTF62*, *T. thermophilus* da *pVV8* plazmiti izole edilmiştir.

Ayrıca *T. aquaticus*'dan yapılan izolasyonda da dört plazmit bulunduğu saptanmıştır (22). Yapılan bir başka çalışmada da *T. ruber*'e ait 64 megadalton büyüklüğünde plazmit varlığı saptanmıştır (23).

## **Bakteriyofajları**

İlk olarak 1975'de *Thermus* türlerini enfekte eden bakteriyofajların olduğunu bildirmiş, yapılan farklı bir çalışma da iki tabakalı agar plakları üzerinde *T. thermophilus* HB8 üzerinde çeşitli bakteriyofajlar izole edilmiştir. İzole edilen fajların *Thermus* cinsine ait Japonya orijinli beş farklı türü daha enfekte ettiği ancak Japonya orijinli olmayan *T. aquaticus* YT1 suşunun bu enfeksiyona direnç gösterdiği bildirilmiştir (22).

## **Sınıflandırma**

### ***Thermus* cinsi**

*Thermus* cinsi üyeleri karasal sıcak su kaynaklarından yaygın olarak izole edilen ekstrem termofilik, aerobik bakterilerdir. Bütün suşlar optimum olarak 55 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda nötr ve alkali pH seviyelerinde, zorunlu heteretrof olarak gelişirken, nadiren mikсотrofik olarak gelişen suşlar da bulunur. Bazı *Thermus* türlerinin O<sub>2</sub> yerine NO<sub>3</sub>, Fe(III) ve S<sup>0</sup>'ü elektron alıcısı olarak kullandığı ve anaerobik şartlar altında yaşayabildikleri saptanmıştır. *Thermus*'lar pek çok doğal ve yapay kaynaktan bulunabilirler. İlk izole edilen *Thermus aquaticus* Ulusal Yellow Stone Parkından nötr ve alkali sıcak suların izole edilmiş, daha sonra yapılan çalışmalarda Yellow Stone Parkı ve diğer karasal suların yanı sıra deniz dibindeki termal çukurlardan da izole edilmiştir(14).

Williams ve Sharp'ın bildirdiğine göre *Thermus* cinsine ait bakteriler gram negatif, heterotrofik, hareketsiz, çubuk şeklindedir. Çoğu zorunlu aerobiktir. pH 6,0-10,5 aralığında, optimum nötr pH'da ve 55-80 °C aralığında, optimum 70 °C'de gelişen, düşük konsantrasyonlu organik materyallerin bulunduğu ortamlarda büyüeyebilen bakterilerdir. % 0,1 tripton, % 2,5-3 yeast ekstrakt ve düşük mineral tuzlarının bulunduğu besi ortamları, gelişmeleri için yeterlidir. Bu grup bakteriler için özel bir zenginleştirme ortamı yoktur; mineral tuz içeren minimal organik ortamlarda gelişebilirler. *Thermus* suşları seçici olarak *Thermus* besi ortamında, çalkalamalı inkübasyon ortamında gelişir. İlk yapılan çalışmalarda Japon bilim adamları bu bakterileri *Flavobacterium thermophilum* grubuna dahil etmişler daha sonraki çalışmalar sonucunda *Thermus* ismi verilmiştir (14, 24).

### ***Thermus aquaticus***

Çubuk şeklinde 0.5-0.8µm çaplı, kısa filamentli, 70 °C'de 48 saat inkübasyon sonucunda 1 mm çapında parlak sarı koloniler oluşturur. Kazein, jelatin ve nişastayı hidroliz edebilen, laktöz ve melibiozu kullanamayan, nitrat ve nitriti indirgeyemeyen bu türün tamamında, 3-OH yağ asidinin bulunduğu, yağ asidi oranının iso15 için %28, iso 17 için %48 olduğu saptanmış, % G+C oranının ise 60-64 arasında bulunduğu (Tablo 1 ve 5) bildirilmiştir (13, 25).

### ***Thermus brockianus***

Çubuk şeklinde, kısa filamentlere sahip, soluk sarı koloniler oluşturan, kazeini hidrolize edemeyen bu türün yalnızca birkaçının nişasta ve jelatini kullanabildiği, nitrat ve nitriti indirgediği, laktoz, trehaloz ve melibiozu karbon kaynağı olarak kullandığı (Tablo 1., 3., 5), 3-OH yağ asidi bulundurmadığı ve % G+C oranının 63 olduğu bildirilmiştir (3).

### ***Thermus filiformis***

Parlak sarı koloniler oluşturan *T. filiformis*, sabit filamentli ve çubuk şeklindedir. Tip suşu Wai33 yüksek oranda anteiso ve anteiso 3-OH yağ asidi içerirken, diğer suşlarda anteiso 3-OH yağ asidinin düşük oranda, 3-OH yağ asidinin hiç olmadığı, % G+C oranının ise 65 olduğu (Tablo 1., 3., 5) bildirilmiştir (26, 13).

### ***Thermus oshimai***

Çubuk şeklindeki hücreler kısa filamentlere sahiptir. Soluk sarı ya da renksiz koloniler oluşturan *T. oshimai* kazein ve fibrini indirgeyebilir. Sakkaroz, maltoz, laktoz ve trehalozu karbon kaynağı olarak kullanır,  $\alpha$  ve  $\beta$ -galaktozidaz enzimlerine sahiptir, % G+C oranı 63 tür (13).

### ***Thermus scodoductus***

Flamentli hücrelere sahip olan *T. scodoductus*, 0,5x1,5 $\mu$ m boyutlarında, 65-70 °C'de büyüyebilir ve renk oluşturmaz ancak yaşlı kültürler koyu renkte pigment oluşturur. % G+C oranı 65'dir (Tablo 1., 3., 5) (27, 13).

İzlanda'da sülfite zengin nötral sıcak sularda yapılmış bir araştırmada termofilik, fakültatif, mikсотrofik sülfür oksitleyen bakteri *Thermus scodoductus* izolasyon ve identifikasyonu yapılmış, izole edilen yeni IT-7254 suşunun elektron vericisi olarak elementel sülfür ve tiosulfatı, elektron alıcısı olarak oksijen ve nitratı kullandığı, karbon kaynağı olarak asetat ve diğer organik bileşiklerden yararlandığı saptanmış, yeni izolatin *T.scodoductus*'a % 84 DNA:DNA homolojisi gösterdiği bildirilmiştir (28).

### ***Thermus thermophilus***

Kısa filamentlere sahip çubuk şekilli hücreler, *Thermus* besi yerinde parlak sarı koloniler oluşturur. Bütün suşlar % 3 NaCl içeren *Thermus* besi ortamında ve 80-82 °C sıcaklıkta büyüme gösterebilir. Bu tür, içinde halotolerant suşları da barındırır. % G+C oranı 65 dir (13). Denizin 2000 metre derininde bulunan termal kaynaklardan alınan su örnekleri ile yapılmış bir çalışmada izole edilen *Thermus thermophilus* Gy1211 suşunun optimum 75 °C, pH 8,0, % 2 NaCl'de geliştiği, bu suş ile % 74 DNA-DNA homolojisi gösteren *T. thermophilus* HB-8'in ise bu şartlar altında zayıf büyüme gösterdiği saptanmıştır (29).

Tablo 1. *Thermus* cinsinin biyokimyasal özellikleri (+: Pozitif, -: Negatif, ND: Veri yok ) (13).

Karakteristikler	<i>T. aquaticus</i> YT-1	<i>T. brockianus</i> Ys38	<i>T. filiformis</i> Wai33A1	<i>T. oshimai</i> SPS17	<i>T. scodotuctus</i> SE-1	<i>T. igniterrae</i> HN1-8	<i>T. antracianici</i> HN-T
Pigmentasyon	Koyu sarı	Açık sarı	Koyu sarı	Açık sarı	Renksiz	Sarı	Sarı
Koloni öz.	Kompak	Yaygın	Kompak	Kompak	Kompak	ND	ND
Opt. sıcaklık	70	70	70	70	65-70	ND	ND
80 °C'de büyüme	-	-	-	-	-	-	-
%1 NaCl	+	ND	-	-	-	-	+
%3 NaCl	-	-	-	-	-	-	-
Anaerobik. büy.	-	+	-	+	+	ND	ND
Oksidaz	+	+	+	+	+	ND	ND
Katalaz	+	+	+	+	+	ND	ND
DNaz	+	ND	-	-	ND	ND	ND
α-galaktozidaz	+	+	+	+	ND	-	+
β-galaktozidaz	-	+	+	+	ND	+	+
Elastin	+	ND	-	+	ND	+	-
Fibrin	+	ND	-	+	ND	+	+
Kazein	+	-	-	+	ND	+	+
Jelatin	+	-	+	+	-	+	+
Nişasta	+	-	-	-	-	+	+
Arbutin	-	+	+	+	ND	+	+
Eskulin	-	+	+	+	+	+	Z
D-Glikoz	+	+	+	+	+	+	+
D-Fruktoz	+	+	+	+	ND	+	+
L-Ramnoz	-	ND	-	-	ND	ND	ND
L-Arabinoz	-	ND	-	-	-	ND	ND
D-Ksiloz	-	-	-	-	ND	-	-
D-Galaktoz	+	+	+	+	ND	-	+
D-Mannoz	+	ND	-	+	ND	ND	ND
D-Selüloz	+	-	-	-	ND	-	+
Laktoz	+	+	+	+	ND	-	-
Sakkaroz	+	+	+	+	ND	-	-
D-Trehaloz	+	+	+	+	ND	-	-
D-Melibioz	+	+	+	+	ND	-	-
D-Rafinoz	+	+	+	+	ND	-	-
Dekstrin	-	ND	-	-	ND	ND	ND
Salisin	-	ND	+	+	ND	ND	ND
D-Mannitol	-	ND	+	+	ND	ND	ND
D-Sorbitol	-	ND	-	-	ND	ND	ND
myo-inositol	-	ND	-	-	ND	-	-



Karakteristikler	<i>T. aquaticus</i> YT-1	<i>T. brockianus</i> Ys38	<i>T. filiformis</i> Waf33A1	<i>T. oshimai</i> SPS17	<i>T. scodotuctus</i> SE-1	<i>T. igniterrae</i> HN1-8	<i>T. antracniciani</i> HN-T
Gliserol	-	ND	-	-	+	-	-
Pirüvat	+	+	+	+	+	ND	ND
Asetat	+	ND	+	+	ND	ND	ND
Sitrat	-	ND	-	-	ND	-	Z
Laktat	-	ND	-	-	ND	ND	ND
Malat	+	ND	+	+	ND	-	ND
Süksinat	+	ND	+	+	-	ND	+
Arjinin	+	ND	+	+	ND	-	ND
Pirolin	+	+	+	+	+	ND	+
Ornitin	+	ND	+	+	ND	ND	ND
Serin	+	ND	-	-	ND	-	+
Asetamit	-	ND	-	-	ND	ND	ND
%GC	64	63	65	63	65	ND	ND

### ***Meiothermus* cinsi**

*Meiothermus ruber* orijinal suşu, 1984'te termal kaynaklardan alınan sıcak su örneklerinde potato-yeast-extract-pepton besi ortamında 1986 yılında yapılan başka bir çalışmada ise, maya fabrikasından alınan atık su örneklerinde üretilmiş diğer *Meiothermus* izolatları ise Thermus besi ortamında geliştirilerek izole edilmişlerdir. *Meiothermus* türleri Thermus besi ortamında kolayca büyüebilmektedir. *M. ruber*, sıvı Thermus besi ortamı üzerinde 60 °C'de 2-3 gün ön zenginleştirmeden sonra, katı besi ortamında kırmızı pembe koloniler oluşturur. *Meiothermus* cinsinin ilk suşu Loginova ve Egorova tarafından Kamckhatka Peninsula'dan 1975 yılında izole edilmiş ve *Thermus ruber* olarak isimlendirilmiştir ancak bu tür Approved List of Bacteria Names içinde yer almamıştır. İsim daha sonra 1984 yılında orijinal olarak yayınlanmış ve *Thermus* cinsi içine dâhil edilmiştir. Bu gruba ait farklı türlerin izolasyonundan sonra düşük sıcaklıkta üremeleri, DNA-DNA homolojileri ve 2-OH yağ asidi seviyeleri dikkate alınarak 1996 yılında Nobre ve arkadaşlarının çalışmaları ile *Meiothermus* olarak isimlendirilmeleri teklif edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, *M. ruber*, *M. silvanus*, *M. cerberus*, *M. cliarophilus* türlerinin temel biyokimyasal ve fizyolojik karakteristiklerine göre kolayca ayrılabilirdikleri bildirilmiştir (24, 30, 13).

### ***Meiothermus ruber***

Bu türe ait bakterilerin uzunlukları değişken olup, hücrelerin genişlikleri ise 0,5-0,8 µm dir. Koloniler, 1-2 mm çapında ve koyu kırmızı yada pembe renklidir. Bu tür katalaz pozitif olamsı, yüksek sıcaklıkta büyüebilmesi ve yağ asidi dizilişi ile bu cinsin diğer üyelerinden ayrılır. Bakteriosin benzeri yapıların varlığı tespit edilen *M. ruber* süksinat, malat ve myo-inositol'ü kullanır, % G+C oranı ise, 61-66 olarak bildirilmiştir (Tablo 2, 3, 4) (31, 13, 23).

Portekiz'in kuzeyinde bulunan Vizela ve iç bölgesindeki Alcafachea'dan alınan sıcak su kaynaklarından alına örneklerde turuncu-kırmızı pigmentli *Thermus silvanus*

sp.nov. ve sarı pigmentli *T. chliarophilus* sp. nov. izole edilmiş, *T. silvanus* 55 °C, *T. chliarophilus*, 50 °C'de optimum büyüme göstermiş, her iki tür de katalaz negatif özellikte olup biyokimyasal özellikleri, yağ asidi dizilişleri ve 16S rRNA dizilişlerinin *T. ruber* ve diğer formlardan farklı olduğu bildirilmiştir (32).

Tablo 2. *Meiothermus* türlerinin biyokimyasal özellikleri (+: Pozitif, -: Negatif, ND: Veri yok) (30, 31, 13).

Özellikler	<i>Me. rosaceus</i> RH9901 <sup>T</sup>	<i>Me. ruber</i> DSM1279 <sup>T</sup>	<i>Me. silvanus</i> DSM9946 <sup>T</sup>	<i>Me. chliarophilus</i> DSM9947 <sup>T</sup>	<i>Me. cerberus</i> DSM11376	<i>Me. timidus</i>
Büyükük (µboy/genişlik)	0,5-0,8x5-10	0.5-0,8x3-6	0.5-0,8	0,5-0,8	0.5-0,8	ND
Koloni rengi	Pmb-Krm	A. Krm.	Trn-Krm.	Sarı	Krm-Trn	Sarı
Spct. da absorpsiyon	446,482,520	452,474,496	ND	ND	Nd	ND
Koloni büyüklüğü(mm)	2-4	ND	0,5-1,2	0,8-1,2	1-2	ND
Yuvarlak uç	+	+	ND	ND	ND	ND
Halka görünüm	+	ND	ND	ND	ND	ND
Kahverengi görünüm	+	ND	ND	ND	ND	ND
Jelatin hidrolizi	-	+	+	.	+	ND
Nişasta hidrolizi	-	-	-	+	-	+
Fibrin hidrolizi	ND	+	-	+	+	ND
Elastin hidrolizi	ND	+	+	.	+	+
Casein hidrolizi	ND	+	+	.	+	+
Nitrat indirgenmesi	-	-	+	.	-	+
Katalaz	+	+	-	-	-	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+
DNaz	ND	+	+	+	+	ND
A-galaktozidaz	ND	+	-	+	+	ND
B-galaktozidaz	ND	+	+	+	+	ND
Min.pH	4,5	ND	5	5	5	ND
Opt.pH	8,5	ND	8	8	7,5	8,3
Max.pH	10	ND	10	10	10,5	ND
Min.°C	40	35-40	40	40	35	ND
Opt. °C	55	60	55	50	55	55-60
Max. °C	70	70	65	60	60	ND
Sakkaroz	-	+	-	+	+	+
Maltoz	-	+	+	+	+	+
Asetat	+	-	-	-	ND	+
Mannitol	+	+	-	+	-	+
Sorbitol	+	+	.	+	-	+
Sitrat	-	-	-	-	-	ND
Pirüvat	ND	-	+	+	+	+
% G+C	66,4	61	63,6	69,9	60,9	65,1

Tablo 3. *Thermus* ve akraba türlerin karakteristikleri (Opt: Optimum, Mak: Maksimum, Min: Minimum, +: Pozitif sonuç, -: Negatif sonuç, ND: Veri yok) (14).

Tür ve tip Suş	% G+C	Ornitin Peptidoglukan	Mena-quinon	Büyüme sıcaklığı °C		
				Min.	Opt.	Mak.
<i>T.aquaticus</i> YT1 ATCC 25106 DSM 625	67 65 64	+	+	70	79	40
<i>T.ruber</i> BKMB1258 ( <i>Meiothermus Ruber</i> ) NCIMB 11269 DSM 1279	66 62 61	+	+	60	70	37
<i>T. thermophilus</i> HB8 DSM625 ATCC2762 NCIMB 11244	64 69 62	+	+	73	85	40
<i>T. filiformis</i> Wai 33AI ATCC 43280	65	ND	+	73	80	37
<i>T. brockianus</i> Ys-36 NCIMB	60	+	+	70	ND	ND
<i>Rhodothermus marinus</i> ATCC 43812 DSM 4252	64 65	ND	ND	70	77	54

### ***Meiothermus cerberus***

Bu türün üyeleri kırmızı-turuncu renkli koloniler oluşturur. Katalaz negatif, sistein, tiosulfat ve tioglikonat gibi bileşikler indirgeyebilir, *Thermus* besi ortamında üreme gösterir; pirüvat, glutamat ve pirolini kullanabilirler. 3-OH yağ asitlerinin oranı 2-OH yağ asitlerinden daha yüksektir. % G+C oranı 60,9 olarak bildirilmiştir (Tablo 2, 4) (27, 13). Chung ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada İzlanda jeotermal kaynaklarından yüksek seviyede 3-hidroksi yağ asidi içeren (Tablo 4), kırmızı-turuncu pigmentli, 55 °C 'de optimum büyüme gösteren *Meiothermus cerbereus* sp. nov., izole edilmiş bu izolatin büyümek için sıvı besi ortamında sistein, tiosulfat, tioglikolat ihtiyacı incelenmiş, diğer *Meiothermus* türlerine benzemediği tespit edilmiştir (27).

### ***Meiothermus chliarophilus***

Hücre ve koloni özellikleri diğer türlerdeki gibi olan bu tür, parlak sarı koloni oluşturur, katalaz negatiftir, düşük sıcaklıktaki sularda üreme gösterir ve 69,9 % G+C oranına sahiptir (Tablo 2) (32, 13).

### ***Meiothermus silvanus***

İzlanda ve Portekiz sıcak sularından izole edilen bu tür, yaklaşık 55 °C'de gelişen, kırmızı koloni oluşturan, katalaz ve  $\alpha$ -glikosidaz negatiftir. Pirolini hidroliz edemez, 2-OH anteiso yağ asidi oranı diğer türlerdekinden daha fazladır. Bu türün glikolipitleri uzun zincirli 1-2 diol ve gliserolipidlerin karışımından oluşur. % G+C oranının ise 63,6 olduğu bildirilmiştir (Tablo 2) (32, 13).

### ***Meiothermus rosaceus***

Chen ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, Yuan China sıcak su kaynaklarından izole edilen ve pembemsi kırmızı pigment oluşturan *M. rosaceus*, Gr(-), 40-70 °C'de

üreyen, sakkaroz ve maltozu kullanamayan, nişasta ve jelatini hidroliz edemeyen, % G+C oranı 66,4 olan yeni tür olarak bildirilmiştir (31).

Tablo 4. *Meiothermus* cinsine ait bazı türlerin yağ asidi analizleri (35, 31, 21).

Yağ Asitleri	<i>Me. ruber</i> DSM 1279 <sup>T</sup>	<i>Me. silvanus</i> DSM 9946 <sup>T</sup>	<i>Me. chiarophilus</i> DSM 9947 <sup>T</sup>	<i>Me. cerberus</i> DSM 11376	<i>Me. taiwanensis</i>	<i>Me. timidus</i> SPS 243
13:0 Iso	0,6	0,8	1,5	1,4	0,7	1,3
14:Iso	0,7	0,7	1,7	2,7	0,7	ND
14:0	0,6	0,3	0,7	-	-	-
13:0 Iso 30H	0,4	0,8	-	-	1,1	0,5
15:1 Iso ω9c	2,7	-	-	3,8	0,3	-
15:0 Iso	33,0	25,6	42,1	34,6	38,4	46,5
15:0 Anteiso	5,5	26,5	8,1	11,1	2,9	3,0
15:0	1,8	0,4	2,1	1,6	2,0	0,5
16:1 Alcohol	0,8	-	-	1,9	-	-
16:0 Iso	2,9	1,5	2,5	4,0	2,6	0,8
15:0 Iso 2OH	0,7	0,9	0,5	-	0,7	1,1
16:0	7,6	6,4	9,1	4,5	6,1	6,4
UN	1,1	2,5	0,7	-	0,4	-
15:0 Iso 3OH	-	-	1,0	-	-	2,5
17:1 Iso ω9c	6,6	-	-	4,8	1,1	-
17:1 Anteiso ω9c	1,0	-	-	-	-	-
17:0 Iso	13,3	10,0	16,4	5,8	17,4	27,6
17:0 Anteiso	3,7	6,4	2,7	2,5	2,4	1,8
17:1 ω6c	0,8	1,3	0,7	-	0,3	-
17:0	0,8	0,3	1,2	-	1,7	0,3
16:0 2OH	0,6	0,5	0,4	-	1,0	-
17:0 Iso 2OH	7,8	9,6	7,3	3,3	12,0	6,9
17:0 Anteiso 2OH	0,4	3,0	0,6	-	0,2	-
17:0 Iso 3OH	1,1	-	-	4,7	-	0,8
17:0 Anteiso 3OH	0,6	-	-	1,4	-	-
18:0 Iso diol	-	1,6	-	-	4,5	1,6

### ***Meiothermus taiwanensis***

Taiwan sıcak su kaynaklarında izole edilen bu türün aerobik, spor oluşturmeyen, kırmızı pigment oluşturan, optimum 55-60 °C'de gelişen, ancak 40-70 °C ler arasında büyüme gösterebilen, heterotrofik uzun filamentli, farklı genişliklere sahip olduğu tespit edilmiş ve yeni tür olarak önerildiği bildirilmiştir (Tablo 2, 4) (33).

### ***Meiothermus timidus***

Sarı pigment oluşturan, 55-60 °C'deki sıcaklıklarda ve pH 8,3 de optimum gelişme gösteren, katalaz ve oksidaz pozitif olan, ramnoz, ribitol ve gliserolü karbon kaynağı olarak kullanamayan *M. timidus*, Pires ve arkadaşları tarafından Portekiz ve Azores sularından izole edilmiştir. *Meiothermus* cinsi içinde yeni tür olarak yer alması önerilmiştir (34).

Tablo 5. *Thermus* cinsine ait yağ asidi analizleri. (50).

	<i>T.aquaticus</i> YT-1	<i>T.ignitrrae</i> RF-4 <sup>T</sup>	<i>T.antranikianii</i> HN3-7 <sup>T</sup>	<i>T.brockianus</i> Ys38	<i>T.filiformis</i> Wai33 A1	<i>T.ooshimai</i> SPS-17	<i>T.scodoductus</i> SE-1	<i>T.thermophilus</i> HB8
14:0 iso	0,9	-	-	16	09	05	-	08
15:0 iso	17,6	50,7	10,8	33,5	4,1	37,7	15,8	32,4
15:0 anteiso	1,9	2,9	1,7	3,1	18,9	3,8	16,1	4,7
15:0	-	1,3	1,9	0,6	-	3,7	1,1	-
16:0 iso	13,0	1,0	9,6	12,1	8,4	3,1	3,8	5,8
16:0	16,3	9,0	11,9	9,2	3,5	2,7	8,0	8,0
UN <sup>b</sup>	-	-	-	-	2,9	-	2,5	-
15:0 iso 3-OH	3,2	-	-	-	0,6	-	-	-
15:0 anteiso 3-OH	-	-	-	-	1,1	-	-	-
17:0 iso	27,0	31,1	51,0	34,1	6,6	36,1	25,3	41,9
17:0 anteiso	2,7	1,9	6,2	3,3	36,7	3,7	25,8	5,7
17:0	-	-	3,1	-	-	2,1	1,2	-
16:0 iso 3-OH	2,4	-	-	-	0,9	-	-	-
16:0 3-OH	2,5	-	-	-	-	-	-	-
18:0 iso	0,6	-	1,4	0,5	0,9	-	-	-
18:0	0,9	-	-	-	-	-	-	-
17:0 iso 3-OH	7,6	-	-	-	2,4	-	-	-
	0,7	-	-	-	8,8	-	-	-

## Diğer Termofilik Basiller

### *Thermomicrobium*

Zorunlu aerobik, Gr(-) ve heteretroftur. Absorbans piki 494 nm olan kırmızı karatenoit pigmenti oluşturmaktadır. İlk olarak % 0,1 yeast extract, % 0,1 tripton içeren Allen's salts besi ortamı plakları üzerinde 70 °C'de 5 gün inkübasyon ile izole edilmiştir. 45-80 °C ve pH 7,5-8,7 arasında gelişmektedir. Optimum büyümenin 70-75 °C ve pH 8,2-8,5 arasında olduğu bildirilmiştir (Tablo 6.) (35).

### *Thermoleophilum*

Mineral salt besi ortamında 60 °C'de pH 6,5-7,5 arasında 1 haftada büyüme gösteren Gr(-) çubuklardır. Koloniler küçük yarı şeffaf yada beyazdır. 45-70 °C ler arasında büyüme göstermektedir. 50 µg/ml Chlortetracyclin, 50 µg/ml streptomisin, 5 µg/ml canamicin, 5 µg/ml eritromisin, 5µg/ml neomicin, 10 µg/ml cloramphenicol, 10 µg/ml penicilin, 1 µg/ml novobiocine hassasiyet göstermektedir. Bütün suşların tek tür içinde yer aldığı bildirilmiştir (Tablo 6) (35, 12).

### *Rhodothermus*

Gr(-) çubuk şeklinde flamentsiz ve hareketsiz bakterilerdir. Kırmızı karatenoit içerirler. % 2 NaCl katılmış, % 0,25 yeast extract ve % 0,25 tripton içeren besi yeri 162 de, optimum 65 °C ve pH 7,0 da gelişmektedir. 54-77 °C arasındaki sıcaklıklara, % 0,5-6 NaCl değerlerine tolerans göstermektedir. 5 µg/ml kanamisin, 30 µg/ml eritromisin,

15 µg/ml neomisin, 30 µg/ml cloramfenikol, 5 µg/ml penisilin G, 10 IU ampisilin, 10 µg/ml tetrasiklin, 15 µg/ml polymiksine hassasiyet gösterdiği saptanmıştır (Tablo 6) (12).

Tablo 6. Diğer Termofilik Basillerin Biyokimyasal Özellikleri. (12).

Karakter	<i>Thermomicrobium</i>	<i>Thermoleophilum</i>	<i>Rhodothermus</i>
Hücre formu	Pleomorfik çubuk 1,3-1,8x3-6 µm	Kısa çubuk 0,4x 0,7-1,5µm	Çubuk 0,5x 2-2,5µm
Büyüme şekli	Tek ya da çift hücre	Tek hücre	Tek ya da çift hücre
Optimum °C	70-75 °C	60 °C	65 °C
Büyüme aralığı	45-80 °C	45-70 °C	54-77 °C
Hücre duvarı	Protein alt ünitesi	Peptidoglukan içinde ornitin	ND
G+C	%64	%69-70	%64,5
Optimum pH	8,02-8,5	7,0	7,0
Karbon kaynakları			
Glikoz	-	-	+
Laktoz	ND	-	+
Sakkaroz	+	-	+
Maltoz	ND	-	+
Glutamat	+	-	+
Pruvat	ND	-	+
Asetat	-	-	+
Gliserol	+	-	-
Mannitol	-	-	ND
n-Alkaner C12-30	ND	+	ND
Jelatin hidrolizi	ND	ND	-
Katalaz	ND	+	+
Oksidaz	ND	ND	+
Nitrattan Nitrit	ND	ND	-

### ***Sacchorococcus***

Gr(+) özelliği sahip, 50-100 hücrenin bir araya gelmesi ile toplu halde bulunan bakterilerdir. Şeker fabrikalarından izole edildikleri ve 70 °C'de pH 6,5 de 16-24 saat süren inkübasyon sonunda gelişme gösterdikleri bildirilmiştir (Tablo 7) (12).

### ***Acidothermus***

Gram boyama reaksiyonları değişebilen 0,4-0,5 µm çaplı, 2-5 µm uzunluğunda ince çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen bakterilerdir. Flamentlere sahiptirler. pH 5,2'de, içine % 0,05 yeast-extrakt, % 0,05 D-sellobioz, ve % 0,5 selülozik substrat ilave edilmiş, düşük fosfat içeren tuzlu besi ortamında 50-65 °C'de 1-2 haftada gelişebilen bu grubun üyelerinin oksidaz pozitif, katalaz negatif reaksiyon gösterdikleri bildirilmiştir. (Tablo 7) (12).

Tablo 7. Diğer Termofilik Basillerin Biyokimyasal Özellikleri. (51).

Karakter	<i>Sacharrococcus</i>	<i>Acidothermus</i>	<i>Scodothermus</i>
Hücre formu	Kok 1-2 µm	Basil 0,4x 0,2-5µm	Basil 0,5x -1,5µm
Büyüme şekli	Düzensiz yığınlar	Tek hücre	Tek ya da çift hücre
Optimum °C	68-70°C	50-60°C	60°C
Büyüme aralığı	50-78°C	37-70°C	42-73°C
Hücre duvarı	Peptidoglikan-DAP	Peptidoglikan-DAP	ND
G+C %	%47,8	%60,7	%65,5
Optimum pH	ND	5,0	7,5
Maltoz	+	+	+
Pirolin	ND	ND	+
Glutamat	ND	-	+
Asetat	ND	ND	+
Piruvat	-	-	-
Sakkaroz	+	-	+
Glikoz	+	-	-
Lactoz	-(değişken)	ND	-
Ksiloz	+	ND	ND
Mannitol	+	+	ND
Seluloz	ND	+	ND
Pirolin	ND	ND	+
Glutamat	ND	ND	+
Nitrat	ND	ND	-
Jelatin hidrolizi	-	+	-
Katalaz	+	-	+
Oksidaz	+	+	+
Lipaz	+	ND	ND
Nitrattan Nitrit	-	-	+
Antibiyotik direnci	Polimixin B	Penicilin G	Polimixin B

### ***Scodothermus***

Gr(-) 1,5µm uzunluğunda, 0,5 µm genişliğinde bakterilerdir. % 0,25 yeast ekstrakt ve % 0,25 tripton ilave edilmiş besi yeri 162 de 72 °C'de 2 günde gelişirler. Optimum pH 7,5 olmasına rağmen pH 6-8 arasında da gelişme gösterirler. Sıcaklığı 70-80 °C olan jeotermal kaynaklardan izole edilebilirler (Tablo 7). Büyümek için vitamin ve büyüme faktörlerine ihtiyaç duymayan bu grubun anaerobik ya da çok düşük oksijen konsantrasyonlarında geliştikleri bildirilmiştir (12).

### **1.4. Sıcak Sulardaki Hipertermofiller**

Pek çok sıcak su kaynağı, suyun kaynama noktasına yakın sıcaklık değerlerine sahiptir. Bu sularda hipertermofillerin çok çeşitli türlerine rastlamak mümkündür. Bu mikroorganizmaların büyümeleri, birkaç gün zenginleştirildikten sonra gözlenebilir ve büyüyen prokaryot kolonileri mikroskopik olarak incelenmiştir. Yapılan ekolojik çalışmalarda sıcak kaynaklarda bulunan mikroorganizmaların çok hızlı büyüdüğü ve bir saatten daha kısa bir sürede bölündükleri kaydedilmiş elde edilen kültürlerin

çoğunun oldukça farklı morfolojik ve fizyolojik özelliklere sahip olduğu saptanmıştır. Ribozomal RNA dizilimleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, çeşitli türlere ait bakteriler ve hipertermofilik *Archaea* arasında büyük evrimsel çeşitlilik olduğu gösterilmiştir. Bu hipertermofillerin bazılarının 100 °C'nin üstünde optimum büyüme gösterdikleri; bundan dolayı da laboratuvarında kaynama noktasına ulaşan sıcaklıkta, basınç altında büyütülebildikleri bildirilmiştir (5).

*Archaea*lar yüksek tuz, yüksek sıcaklık, düşük pH ve anoksik ortamlar gibi ekstrem çevre şartlarına adapte olabilmiş mikroorganizmalardır. Bu özelliklerinden dolayıdır ki yaşam ilk defa ortaya çıktığında Dünya üzerinde *Archaealar* dan bir grubun var olduğu düşünülmektedir (1).

Tablo 8. Hipertermofilik Basillerin Karakteristik Özellikleri. (39).

Cins	Morfoloji	O <sub>2</sub> İhtiyacı	DNA mol% G+C	Sıcaklık			Optm pH
				Min.	Ort.	Mak.	
Sulfolobales							
<i>Sulfolobus</i>	Loblu kok	Ae	37	55	75	87	2-3
<i>Acidianus</i>	Kok	Fac	31	60	88	95	2
<i>Metallosphere</i>	Kok	Ae	45	50	75	80	2
Thermoprotales							
<i>Stygiolobus</i>	Loblu kok	An	38	57	80	89	3
<i>Thermoproteus</i>	Basil	An	56	60	88	96	6
<i>Thermophilum</i>	Basil	An	57	70	88	95	5,5
<i>Pyrobaculum</i>	Basil	Fac	46	74	100	102	6
Desulfurococcales							
<i>Desulfurococcus</i>	Kok	An	51	70	85	95	6
<i>Staphylothermus</i>	Kok-kümesi	An	35	65	92	98	6-7
<i>Pyrodictium</i>	Flamentli disk	An	62	82	105	110	6
<i>Pyrolobus</i>	Kok	Fac	53	90	106	113	5,5
<i>Thermodiscus</i>	Kok	An	49	75	90	98	5,5
<i>Igneococcus</i>	Kok-düzensiz	An	-	65	90	103	5
<i>Hyperthermus</i>	Kok-düzensiz	An	56	75	102	108	7
Archaeoglobales							
<i>Archaeoglobus</i>	Kok	An	46	64	83	95	7
<i>Ferroglobus</i>	Kok-düzensiz	An	43	65	85	95	7
Thermococcales							
<i>Thermococcus</i>	Kok	An	37-57	70	88	98	6-7
<i>Pyrococcus</i>	Kok	An	38	70	100	106	6-8



Filogenetik olarak *Archaea* üç büyük gruba ayrılmaktadır. Bunlar *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota* ve *Korarchaeota* dır. *Korarchaeota* evrimsel olarak dallanma göstermez. *Crenarchaeota* üyelerinin bilinen tümü son derece sıcak ortamlarda yaşayan hipertermofil türleri içerir. Pek çok hipertermofil, kemolitotrofik ototroftur. Yaşadıkları ortamlar fotosenteze uygun olmadığından bu mikroorganizmalar zorlu çevresel şartların tek primer üreticileridir (5).

Hipertermofillerin soğukta yaşayan akrabaları buzlu kutup bölgesi sularından izole edilmiştir. *Euryarchaeota* ise *Archaea* nın çeşitli fizyolojik özellikteki gruplarını kapsar. Bunların çoğu *Crenarchaeota*'lar gibi hipertermofil, kemolitotrofik ototroftur ve metanı metabolizmalarında kullanırlar. *Archaea* aleminin filogenetik farkı, son derece termofilik doğaya sahip mikroorganizmalar olmalarıdır. Bu canlılar sıcak seven prokaryotları temsil ederler. Hipertermofillerin bazılarının suyun kaynama noktasından daha yüksek sıcaklıklarda geliştiği bildirilmektedir (1).

Birçok hipertermofilik *Archaea*, jeotermal ısınmış topraklardan ya da elementel sülfür içeren sulardan izole edilmiştir. Bunlardan birçok türün sülfürü çeşitli yollarla metabolize ettiği gösterilmiştir. Hipertermofillerin çoğu zorunlu anaeroptur. Enerji üretim mekanizmaları kemoorganotrofik ya da kemolitotroftiktir. *Thermococcus* ve *Thermoproteus* organik bileşikler oksitler ve S'i elektron alıcısı olarak kullanır. Pek çok hipertermofilik *Archaea* kemolitotrofik olarak büyüebilmekte ve H<sub>2</sub> yi enerji kaynağı olarak kullanmaktadır. Örneğin *Pyrodictium*'un, 110 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda, H<sub>2</sub> ve S eklenmiş mineral tuz ortamında anaerobik olarak geliştiği bildirilmiştir (5).

Hipertermofilik *Archaea* diğer prokaryotların gelişemediği çok yüksek sıcaklıklarda gelişebilmektedir. Eucaryotlar ve Eubacteriler ile karşılaştırıldığında, *Archaea* zarlarının, Eucaryotlar ve Eubacterilere benzemekle beraber kimyasal olarak tek katmanlı oldukları görülmektedir. Bu zarlarda lipitlerin birbirinin içine doğru işaret eden hidrofobik kısımları kovalent bağlıdır. Tek katmanlı lipitten oluşan zarlar hipertermofilikler arasında oldukça yaygındır. Ayrıca yağ asitlerince zayıf, eter bağlarıyla gliserole bağlı hidrokarbon yarımları bakımından zengindir.

Hücre duvarı incelemeleri yapılan *Archaea*'lardan *Methanobacterium* türlerinin pseudopeptidoglukan olarak adlandırılan peptidoglukan benzeri bir yapıya sahip oldukları, bu yapının aminoasitlerinin diğerlerinden farklı olarak L formunda olduğu ve içerdiği amino şekerler arasında β,1-3 bağları bulunmadığı saptanmıştır (1).

Son on yıldır ekstrem sıcaklık, basınç, pH ve iyonik ortamlarda gelişebilen ekstrem mikroorganizmalar araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Ekstrem termofiller sıra dışı durumlarda gelişme gösterdiğinden çeşitli modifikasyonlar gerektiren kültür metotlarının geliştirilmesi oldukça gerekli olmuştur. Buna rağmen, hidrothermal kaynaklardaki *Archaea* varlığının saptanması klasik mikrobiyal metodların kullanımıyla yeterince verimli olmamaktadır. Bu konuda son yıllarda yapılmış bir çalışmada kültüre alınamayan *Archaea*'nın özellikleri, 16S rDNA primerleri ve propları kullanılarak yapılmaktadır (36). Bu canlıların yaşam özelliklerinin tespitinde önceden kullanılan izolasyon tekniklerindeki gibi basit yapı genlerin tespiti ve kataloklanmasının yerine günümüzde kullanılan tekniklerle, ekolojik çevreden büyük miktarda DNA izolasyonu yapılarak, termofilik canlıların fizyolojik potansiyellerinin

belirlenmeye çalışıldığı ve bu yöntemin günümüzde oldukça yaygın olduğu bildirilmiştir (36, 37, 38).

## **Sınıflandırma**

### ***Sulfolobales***

Solfatar alanlar ve yüksek asitliğe sahip sulara buluna *Sulfolobales* üyeleri düşük iyonik değerlere sahip, içine sülfür karıştırılmış ve pH'sı 3'e ayarlanmış çeşitli besi ortamlarında büyürler. İnkübasyon sıcaklığı türe göre değişmekle birlikte, ortam asitliği, organik substratların varlığı ve sıcaklık artışı seçici özellik göstermektedir (Tablo 8) (1, 39, 40)

Termofilik ve hipertermofilik *Archaea*'nın 12 farklı türü ile yapılan bir çalışmada, optimum büyüme şartlarında organik solutlerin birikimi araştırılmış, *Pyrobaculum aerophilum*, *Thermoproteus tenax*, *Thermoplasma acidophilum* ve *Sulfolobales* ordosunun üyelerinin trehaloz ürettiği saptanmıştır. *P. furious* di-myo-inositol-1,1'(3,3')-fosfat ve  $\beta$ -mannosilgliserat, *Methanothermus fervidus*, cyclic-2,3-difosfolgliserat ve  $\beta$ - mannosilgliserat birikimi yaparken *Pirodictium occultum* da yalnız di-myo inositol-1,1'(3,3')-fosfat birikimi olduğu bildirilmiştir (41).

### ***Thermoprotales***

Bu gruba ait *Archaea*, sıcaklığı 100 °C ve daha yüksek volkanik biotoplarda bulunur. Flamentli çubuklar şeklinde olan hücreleri değişen uzunluktadır. İçine sülfür ilave edilmiş, düşük tuz konsantrasyonlu besi ortamında, H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20 v/v ) anaerobik gaz solunumuyla, bir haftada büyüme gösterirler (Tablo 8) (42, 43)

Bu konu yapılan bir çalışmada, *Pyrobaculum* cinsine ait yeni bir archaea üyesi bulunmuş, bu türün 100 °C'de optimum büyüme gösteren, zorunlu anaerob özellikte olduğu bildirilmiştir (43).

### ***Archaeoglobales***

Bu grup içinde yer alan bakteriler sulfat indirgeyen mikroorganizmalardır. Deniz altındaki anaerobik hidrotermal alanlarından izole edilirler. Büyümek için yüksek sıcaklık ve tuza ihtiyaç duyarlar. 85 °C'de sulfat ve tiosulfat içeren deniz suyunda, ön zenginleştirme yapıldıktan sonra, anaerobik şartlarda N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> yada H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20), 3 bar basınç altında, 70 °C'de, pH 6,9'da (Tablo 8) ve 80 rpm'de, 8 günde 1-2 mm çaplı yeşil-siyah koloniler oluştururlar (44).

### ***Thermococcales***

*Thermococcaceae* adında bir tek familya, *Thermococcus* ve *Pyrococcus* olarak iki cinse sahip bu ordonun üyeleri, deniz solfatar alanları ve alkali jeotermal kaynaklardan izole edilmiştir. Bu ordonun henüz isimlendirilmemiş üçüncü bir cinsi daha olduğu düşünülmektedir. Bilinen bütün türler termofilik ve anaerobiktir. Büyümeleri için 85-110 °C sıcaklık, N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> yada H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> den oluşan anaerobik ortam şartlarında, tripton, maya ekstraktı, glikojen, ve elementel sülfüre ihtiyaç duydukları saptanmıştır (Tablo 8) (45).

Japonya'da sıcak kaynaklardan izole edilmiş bir archaea olan *Thermococcus* sp. üzerinde yapılmış bir çalışmada, besin, ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılan cyclomaltodekstrin gulukanotransferaz üretimi gerçekleştirilmiştir (46).

## **Desulfurococcales**

*Desulfurococcales* ordosu üyelerinin bilinen pek çok *Archaea* gibi deniz altındaki volkanik habitatlarda yaşadıkları bildirilmektedir. Bu canlılar ortalama 100 °C'de gelişirler ancak, *Pyrolobus* optimum 106 °C'de gelişme göstermektedir. *Pyrodictium* üyeleri elemental sülfür ilave edilmiş ortamlarda düzensiz diskler halinde gelişirken, *Pyrolobus fumari* 113 °C gelişme sıcaklığı ile bilinen en termofilik türdür. 121 °C otoklav sıcaklığına 1 saat dayanabilmektedir. *Pyrolobus*'un ototrof olduğundan yanardağ bacaları, hidrotermal kaynakların çıkış alanlarında büyüme gösterdiği bildirilmiştir (1).

Hipertermofiller ile yapılan bir çalışmada da elektron donörü olarak hidrojen, akseptör olarak ise Fe(III)-sitrata bulunan besi yerinde *Pyrodictium islandicum* büyütülmüştür. *P. islandicum* hücre sayısı artarken Fe(III) azaldığı bulunmuştur. *P. islandicum*'ün hücre süspansiyonunda elektron donörü olarak hidrojen kullanılmasının yanında U(VI), Tc(VII), Cr(VI), Co(III) ve Mn(IV) metallerini de indirgediği görülmüştür. (47).

## **Sonuç**

Birçok hipertermofil mikroorganizma, *Archaea* grubu içinde yer almaktadır. Bunların bir alt grubunun ise optimum 75 °C'de yaşayan ekstrem termofiller olduğu bildirilmiştir (1)

*Archaea* grubuna ait mikroorganizmalar son derece ekstrem şartlara uyum sağlamış canlılardır. Hipertermofiller olarak adlandırılan bu mikroorganizmaların pek çoğu suyun kaynama noktası sıcaklığından daha yüksek sıcaklıklarda gelişebilir. Günümüzde hipertermofiller ve bunlardan izole edilen enzimler, yüksek ısıda bozulmaya uğramadıklarından dolayı endüstride pek çok reaksiyonun gerçekleşmesinde, atık metallerin toksisitesinin azaltılmasında, biyolojik metal özütlemesi gibi alanlarda kullanılmaktadır (46, 41, 47). Ayrıca biyolojik indirgenmenin hidrotermal alanlarda metallerin çeşitlenmesine katkıda bulunduğu ve hipertermofilik mikroorganizmalar ya da onların enzimlerinden toksik metallerin indirgenmesi ve metaller ile kontamine olmuş suların ve boya endüstrisinde anaerobik arıtma tanklarındaki atık suyun yeniden kullanılabilir hale gelmesinde yararlanılabileceği bildirilmiştir (47, 48).

Türkiye sıcak su kaynakları bakımından oldukça zengin bir ülke olmasına rağmen, yapılan literatür araştırmalarında bu kaynakların mikrobiyal özellikleri ve bu alanlarda yayılım gösteren mikroorganizmaların izolasyonu, identifikasyonu ve biyoteknolojik açıdan oldukça büyük değere sahip olan enzim sistemlerinin araştırılması ve enzim izolasyonlarının yapılmasına yönelik kapsamlı çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu konuda yapılan çalışmaların artmasıyla biyoteknolojik ve ekonomik önemi son derece yüksek olan termofillerin ülke ekonomisine önemli katkıda bulunacağı açıktır.

## **Teşekkür**

Çalışmalarımıza destek veren Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonuna ve bu çalışmanın hazırlanmasında bilimsel kaynak temininde bulunan Prof Dr. Tony WILLIAMS (Department of Biochemistry, Faculty of Basic Medical Sciences, Queen Mary and Westfield College, University of London)'a teşekkürlerimizi sunarız.

## KAYNAKLAR

1. Madigan, M.T., Martincó, J.M. ve Parker, J. (2000). Prokaryotic diversity the Archaea. Brock Biology of Microorganisms, (Ed: Corey, P.F.) 546-571.
2. Baker. G.C., Gaffer. S., Cowan. A.D. ve Suharto. A.R. (2001). Bacterial Community Analysis of Indonesian Hot Springs, *FEMS Microbiology Letters*, 200, 103-109.
3. Williams, R.A.D., Smith, K.E., Welch, S.G., Micallef, J., ve Sharp, R.J. (1995). DNA relatedness of *Thermus* suşs, description of *Thermus brockianus* sp. nov., and proposal to reestablish *Thermus thermophilus* (Oshima and Imahori), *IJSB.*, 45, 495-499.
4. ANONİM., (2001).Kaplıcaya Sahip Belediyeler Birliđi
5. Brock, T.D., (1986). Thermophiles, (Ed: Brock T.D.) A Willey-Interscience Publication, New York, 1-336.
6. Baross, J.A. ve Deming J., (1995). Growth at high temperatures: isolations and taxonomy, physiology, and ecology.The microbiology of deep-sea hydrothermal vents. (Ed: Karl, D.M.) CRC Pres, London, 169-208.
7. Sako, Y., Nakagawa. S., Takai. K. ve Horikosi. K. (2003).*Marinithermus hydrothermalis* gen nov., sp. nov., a strictly aerobic thermophilic bacterium from a deep-sea hydrothermal vent chimney. *IJSEM.*, 53, 59-65.
8. Kristjonsson, J. K. ve Stetter K.O. (1991).Thermophilic Bacteria Thermophilic Bacteria (Ed:Kristjonsson J.K) CRC Pres, Inc. London, 1-13.
9. Martensson, V.T., Kristjansson, J.K., Maria, H.K., Emundsson, D. K. S., Hannington, M., Petursdottir, S. K., Geptner, A., ve Stoffers, P. (2001). Discovery and Description of Giant Submarina Smectite Cones on the Seafloor in Eyjafjordur, Northern Iceland, and a Novel Thermal Microbial Habitat. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 827-833.
10. Boomer, S.M., Lodge, D.P., Dutton, B.E. ve Pierson, B. (2002). Molecular Characterization of Novel Red Green Nonsulfur Bacteria from Five Distinct Hot Spring Communities in Yellowstone National Park, *Applied and Environmental Microbiology*, 68. 346-335..
11. Beldüz. A.O., Dülger. S., Demirbađ. Z. (2003). *Anoxibacillus gonensis* sp. nov., thermophilic, xylose-utilising, endospore-forming bacterium, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 1315-1320
12. Alfredsson, G.A. ve Kristjonsson J.K., (1995). Ecology, distribution, and isolation of *Thermus* *Thermus* Species, (Ed: Sharp,R., ve.Williams, R.A.D.) Plenum Press, New York, 43-66
13. Da Costa, M. S., Nobre, M.F. ve Rainey, F. (2001). Archaea and Deeply Branching and Phototrophic Bacteria, Bergeys Manuel of Systematic Bacteriology. (Ed: Bone D.R., Castenholz R.W.) Pres Second Edition, 1. 395-420.
14. Williams, R.A.D., ve Da Costa, M.S. (1994). The Genus *Thermus* and Related Microorganisms, Prokaryotes, (Ed:Ballows A., Türüper H.G., Dworkin M., Harder W., Shleifer K.-H.), New York: Springer.Verlag, New York, 3745-3750.

15. Beffa, T., Blanc, M., Lyon, P. F., Vogt, G., Marchaiani, M., Fischer, J.L., ve Aragno, M. (1996). Isolation of *Thermus* Suşs from Hot Composts (60 to 80°C), *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1723-1727
16. Hugenholtz, P., Pitulle, C., Hersberger, K. ve Pace, N.R. (1998). Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone Hot Spring. *Journal of Bacteriology*, 180, 366-376.
17. Welch, S.G., ve Williams, R.A.D. (1995). Taq52 I, a novel and thermostable type II restriction endonuclease from the genus *Thermus*, recognising the pentanucleotide sequence GV(A or T) GC and cleaving DNA between the first and second bases of the recognition sequence: G ↓C(A or T)GC, *Nucleic Acid Research*, 23, 4573-4575.
18. Borges, K. M. ve Bergquist, P. L. (1993). Genomic Restriction Map of the Extremely Thermophilic Bacterium *Thermus thermophilus* HB8, *Journal of Bacteriology*, 175, 103-110
19. Da Costa, M. S (1995). The cell wall and lipids of *Thermus* (Ed: Sharp R., Williams R.), Plenum Press, New York., 143-153.
20. Colacino, F. ve Crichton R.R. (1997). Enzyme thermostabilization the state of the art. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 14, 211-271.
21. Cao, W., Lu. J., Welch, S., Williams, R.A.D. ve Brany, F. (1998). Cloning and thermostability of TaqI endonuclease isoschizomers from *Thermus* species SM32 and *Thermus filliformis* Tok6A1, *Biochem. Journal.*, 333, 425-431.
22. Rawen, N.D.H. (1995). *Genetica of Thermus Thermus Species*, (Ed: Sharp R., Williams R.), Plenum Press, New York., 157-184.
23. Becker, R. J., Becker, D. A. ve Starzyk, M. J. (1986). Bacteriocinlike Activity within the Genus *Thermus*, *Applied and Environmental Microbiology*, 52, 1203-1205
24. Sharp, R., ve Williams. R.A.D. (1988). Properties of *Thermus* Strains Isolated from Icelandic Hot Springs and DNA:DNA Homology of *Thermus ruber* and *Thermus aquaticus*. *AEM*, 54, 2049-2053.
25. Ray, P. H., White, D. C., ve Brock, T. D. (1971). Effect of Temperature on the Fatty Acid Composition of *Thermus aquaticus*. *Journal of Bacteriology*, 25-30.
26. Georganta, G. Simith, K. E. ve Williams, R. A. D. (1993). DNA:DNA Homology and cellular components of *Thermus filiformis* and other suşs of *Thermus* from New Zeland hot springs, *FEMS Microbiology Letters*, 107, 145-150.
27. Chung, A.P., Rainey, F., Nobre, M. F., Burghart, J. ve Da Costa, M.S., (1997). *Meiothermus cerbereus* sp. nov., new slightly thermophilic species with high level of 3-hydroxy fatty acids, *IJSB.*, 47, 1225-1230.
28. Skirnisdottir, S., Hereggvihddon, G.O., Holts, O. ve Kristjansson, J.K. (2001). Isolation and characterization of a mixotrophic sulfur-oxidizing *Thermus scodoductus*, *Extremophiles*, 5, 45-51.
29. Martensson, V.T., Birrien, J.L., Raguenes, G., Da Costa, M. ve Prieur, D. (1999). Isolation and charecterisation of *Thermus thermophilus* Gt1211 from deep-sea hydrothermal vent. *Extremophilles*, 3, 247-251.
30. Ferreira, A. M., Wait, R., Nobre, M. F. ve Da Costa M. S. (1999). Charecterization of Glycolipids from *Meiothermus* spp. *Microbiology.*, 145, 1191-1199.

31. Chen, C., Lin, L, Peng, Q., Ben, K. ve Zhou, Z. (2002). *Meiothermus rosaceus* sp. nov., isolated from tenghong hot spring in Yunan, Chin, *FEMS Microbiology Letters*, 216, 263-268.
32. Tenreiro, S., Nobre, M.F. ve Da Costa, M.S. (1995). *Thermus silvanus* sp.nov. and *T. chliarophilus* sp. nov., two new species related to *Thermus ruber* but with lower growth temperature, *IJSB.*, 45, 633-639.
33. Chen, M.Y., Lin, G. H., Lin, Y. T. ve Tsay, S. S. (2002). *Meiothermus Taiwanensis* sp. nov., a novel filamentous, thermophilic species isolated in Taiwan, *IJSEM.*, 52, 1647-1654.
34. Pires, A. L., Albuquerque, L., Tiago, I., Nobre, M.F., Empadinhas, N., Verssimio, A. ve Da Costa, M. S., (2005). *Meiothermus timidus* sp. nov., a new slightly thermophilic yellow-pigmented species. *FEMS Microbiology Letters*, 245, 39-45.
35. Perry J.J. (1992). The Genus *Thermoleophilum*, Prokaryotes, (Ed: Balows A., Tüüper H.G., Dworskin M., Harder W., Schleifer K.H.) Springer-Verlag, New York, 3780-3784.
36. Moussard, H., Henneke, G., Moreira, D., Jouffe, V., López-García, P., ve Jeanthon C. (2006). Thermophilic lifestyle for an uncultured Archaeon from hydrothermal vents: Evidence from environment genomics *Applied and Environmental Microbiology*, 72 2268-2271.
37. Allen, E. E., ve J. F. Banfield. (2005). Community genomics in microbial ecology and evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 3:489-498.
38. Campbell, B. J., Stein, J. L. ve Cary. S. C. (2003). Evidence of chemolithoautotrophy in the bacterial community associated with *Alvinella pompejana*, a hydrothermal vent polychaete. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:5070-5078.
39. Segerer, A. H. ve Steter K. O., *The Order Sulfolobales*, Prokaryotes, (Ed: Balows A., Tüüper H.G., Dworskin M., Harder W., Schleifer K.H.) Springer-Verlag, New York., 685-701 (1994)/a
40. Segerer, A. H. ve Steter K. O., *The Genus Thermoplasma*, Prokaryotes, (Ed: Balows A., Trper H.G., Dworskin M., Harder W., Schleifer K.H.) Springer-Verlag New York 713-717 (1994)/b
41. Martins, L.O., Huber, R., Huber, H., Stetter, K.O., Da Costa, M.S. ve Santos, H. (1997). Organic Solutes in Hyperthermophilic Archaea. *Applied Environmental Microbiology*, 63. 896-902.
42. Huber R, ve Steter K.O. (1994). The Order Thermoprotales. Prokaryotes. Prokaryotes (Ed: Balows A., Tüüper H.G., Dworskin M., Harder W., Schleifer K.H.), Springer-Verlag New York., 677-683.
43. Huber, R., Kristjónson, K. ve Steter, K.O. (1987). *Ptyobaculum* gen. Nov., a new genus of neutrophilic, rod shaped archaebacteria from continental solfatars growing optimally at 100°C, *Arch Microbiol*, 149, 95-101
44. Steter, K.O. (1994). The Genus *Archaeoglobus*, Prokaryotes, (Ed: Balows A., Trper H.G., Dworskin M., Harder W., Schleifer K.H.) Springer-Verlag New York, 707-711.
45. Zillig, W. (1994). The Order Thermococcales, Prokaryotes, (Ed: Balows A., Tüüper H.G., Dworskin M., Harder W., Schleifer K.H.) Springer-Verlag New York., 702-706.

46. Tachibana, Y., Kuramura, A., Shirasaka, N., Suzuki, Y., Yamamoto, T., Fujiwaea, S., Takagi, M., ve Imanaka, T. (1999). Purification and Characterization of an Extremely Thermostable Cyclomaltodextrin Glucanotransferase from a Newly Isolated Hyperthermophilic Archaeon, a Thermococcus sp., *AEM*, 65, 1991-1997.
47. Kashefi, K. ve Lovley, D.R. (2000). Reduction of Fe(III), Mn (IV), and Toxic Metals at 100<sup>0</sup> C by *Pyrobaculum islandicum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 1050-1056.
48. Plump, J.J., Bell, J., ve Stuckey, D.C. (2001). *Microbial Populations Associated with Treatment of an Industrial Dye Effluent in an Anaerobic Baffled Reactor*, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 3226-3235
49. Chung, A.P., Rainey, F., Valent, M., Nobre, M. F. ve Da Costa, M.S., (2000). *Thermus igniterrae* sp. nov. and *Thermus antranikianii* sp. nov. i two new species from Iceland. *IJSEM*, 50, 209-217.