

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HALOFİLİK ve HALOTOLERANT AKTİNOMİSETLERİN İZOLASYONU,  
KARAKTERİZASYONU, NRPS ve PKS GEN KÜMELERİNİN MOLEKÜLER  
TANIMLANMASI

DOKTORA TEZİ

Demet TATAR

Biyoloji Anabilim Dalı

AĞUSTOS 2014  
SAMSUN





T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HALOFİLİK ve HALOTOLERANT AKTİNOMİSETLERİN İZOLASYONU,  
KARAKTERİZASYONU, NRPS ve PKS GEN KÜMELERİNİN MOLEKÜLER  
TANIMLANMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Demet TATAR  
(08210571)**

**Tezin Savuma Tarihi : 5 Ağustos 2014**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN**

Doktora Tez Çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi 1901.11.011'nolu Proje ile Desteklenmiştir.



Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalında

Demet TATAR Tarafından Hazırlanan

**HALOFİLİK ve HALOTOLERANT AKTİNOMİSETLERİN  
İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU, NRPS ve PKS GEN  
KÜMELERİNİN MOLEKÜLER TANIMLANMASI**

başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 05/08/2014 tarihinde yapılan sınav ile  
DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ  
Karadeniz Teknik Üniversitesi



Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Doç. Dr. Kamil IŞIK  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



.../.../2014

Prof. Dr. Hüseyin DEMİR

Enstitü Müdürü



*Değerli Aileme ve Eşime,*



## ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarımın her aşamasında değerli katkıları ve bilgileriyle beni yönlendiren Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN'e sonsuz şükranlarımı sunarım. Tez çalışmamda tecrübe ve yardımlarından faydalandığım tez izleme komitesi üyesi Sayın, Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON ve Doç Dr. Kamil IŞIK'a teşekkür ederim.

Yağ asiti analizlerinin yapılmasında desteğini aldığım Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kıymet GÜVEN'e, Anadolu Üniversitesi'ne ve ayrıca elektron mikroskobisi görüntüleme işlemlerinde sağladığı katkılardan dolayı Sayın Doç Dr. Demet ÇETİN'e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan değerli çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. Aysel VEYİSOĞLU'na, Araş. Gör. Hayrettin SAYGIN'a, Yüksek lisans öğrencisi Cengiz NİGİZ'e, Doktora öğrencisi Salih SARICAOĞLU'na ve Yüksek lisans öğrencisi A. Rıdvan TOPKARA'ya teşekkür ediyorum.

Maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen ve doktora tezim süresince gösterdiği sabır ve anlayıştan dolayı sevgili eşim Dr. Serdar TATAR'a teşekkür ediyorum.

Çalışmam süresince manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli aileme şükranlarımı sunuyorum.

Bu tez çalışmasını, PYO. FEN. 1901.11.011 no'lu proje ile destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına teşekkürü bir borç bilirim.

Ağustos 2014

Demet TATAR



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xv
KISALTMALAR .....	xvii
ÖZET.....	xix
ABSTRACT .....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1 Tuz Gölü ve Özellikleri.....	5
2.2 Çamaltı Tuzlası ve Özellikleri.....	6
2.3 Halofilik Mikroorganizmalar .....	7
2.4 Topraktaki Halofilik ve Halotolerant Mikroorganizmalar .....	9
2.5 Tuzlu Ortamlarda Bulunan Aktinomisetler.....	11
2.5.1 <i>Actinopolyspora</i> cinsi .....	13
2.5.2 <i>Amycolatopsis</i> cinsi .....	13
2.5.3 <i>Nocardiopsis</i> cinsi .....	14
2.5.4 <i>Prauserella</i> cinsi.....	15
2.5.5 <i>Saccharomonospora</i> cinsi.....	15
2.5.6 <i>Streptomonospora</i> cinsi .....	16
2.5.7 <i>Streptomyces</i> cinsi .....	17
2.6 Halofilik Bakterilerin Hücresel Yapıları.....	17
2.6.1 Halofilik bakterilerin hücre duvar yapıları .....	17
2.6.2 Halofilik bakterilerin ekstraselüler kapsülü .....	18
2.6.3 Halofilik bakterilerde kamçı .....	18
2.6.4 Sitoplazmik membran ve lipitleri.....	18
2.6.5 Halofilik bakterilerin polar lipitleri .....	19
2.6.6 Halofilik bakterilerin yağ asitleri .....	19
2.6.7 Halofilik bakterilerde solunum kinonları.....	19
2.6.8 Fotosentetik membranlar .....	19
2.6.9 Gaz vezikülleri .....	20
2.6.10 Endosporlar .....	20
2.7 Yüksek Tuzlu Çevrelere Adaptasyon .....	20
2.8 Halofillerin Biyoteknolojik Uygulamaları .....	23
2.8.1 Ekstraselüler enzimler .....	23
2.8.2 Uyum bileşiklerinin üretimi.....	23
2.8.3 Ekzopolisakkaritlerin üretimi.....	24
2.8.4 Karotenoidlerin üretimi .....	24
2.8.5 Toksik bileşiklerin biyodegradasyonu.....	24
2.8.6 Sekonder metabolit üretimi.....	25
2.9 Bakteriyel Sınıflandırmada Polifazik Yaklaşım.....	26
2.9.1 Genotipik metotlar.....	27
2.9.1.1 16S rRNA dizileme ile filogenetik ilişkinin ortaya çıkarılması .....	27
2.9.1.2 DNA-DNA hibridizasyonu .....	29
2.9.2 Kemotaksonomi .....	29
2.9.3 Fenotipik metotlar .....	30

2.10 Ribozomal Olmayan Peptit Sentetazlar ve Poliketit Sentazlar .....	30
2.10.1 Ribozomal olmayan peptit sentetazlar (NRPS) .....	31
2.10.1.1 Ribozomal olmayan peptit sentezi mekanizması .....	32
2.10.1.2 Ribozomal olmayan peptit sentetaz (NRPS) tipleri .....	34
2.10.2 Poliketit sentetazlar (PKS).....	35
2.10.2.1 Poliketit sentezi .....	35
2.10.2.2 Poliketit sentaz tipleri .....	37
2.11 NRPS ve PKS Sistemlerine Sahip Olan Mikroorganizmalar ile Sentezledikleri Poliketit ve Peptit Bileşikler .....	38
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>39</b>
3.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Kitler .....	39
3.2 Yöntem .....	39
3.2.1 Toprak ve sediment örnekleri .....	39
3.2.2 Mikroorganizmaların izolasyonu .....	40
3.2.3 İzolatların seçimi ve saflaştırılması.....	41
3.2.4 İzolatların kültürlenmesi ve stoklanması.....	41
3.2.5 Genomik DNA izolasyonu .....	41
3.2.6 16S rRNA'nın PZR amplifikasyonu .....	43
3.2.7 16S rRNA PZR ürünlerinin saflaştırılması ve dizi analizi .....	44
3.2.8 16S rRNA dizi verilerinin analizi .....	45
3.2.9 DNA-DNA homolojisi .....	45
3.2.10 Diaminopimelik asit (DAP) izomerlerinin belirlenmesi .....	46
3.2.11 Şeker analizleri.....	46
3.2.12 Yağ asiti analizi.....	47
3.2.13 Polar lipidlerin belirlenmesi .....	48
3.2.14 Menakinonların belirlenmesi .....	49
3.2.15 Fenotipik karakterizasyon.....	49
3.2.15.1 İzolatların tuz toleranslarının belirlenmesi .....	49
3.2.15.2 Fenotipik karakterlerin belirlenmesi.....	50
3.2.16 Kültürel ve morfolojik özelliklerin belirlenmesi .....	50
3.2.16.1 İzolatların farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişimleri.....	50
3.2.16.2 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile spor morfolojisi.....	52
3.2.17 Biyokimyasal testler .....	52
3.2.17.1 Allantoin hidrolizi .....	52
3.2.17.2 Arbutin hidrolizi .....	52
3.2.17.3 Nitrat redüksiyonu .....	53
3.2.17.4 Üre hidrolizi .....	53
3.2.18 Degradasyon testleri.....	54
3.2.19 Temel karbon kaynaklarını kullanabilme .....	55
3.2.20 Temel azot kaynaklarında gelişme .....	55
3.2.21 Fizyolojik testler .....	56
3.2.21.1 pH'ya tolerans .....	56
3.2.21.2 Sıcaklığa tolerans .....	56
3.2.21.3 NaCl toleransı.....	56
3.2.22 Antimikrobiyal aktivite testi.....	57
3.2.23 NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin PZR amplifikasyonu .....	57
3.2.24 NRPS ve PKS-I gen bölgelerinin klonlanması .....	58
3.2.24.1 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ve jelden saflaştırılması .....	58

3.2.24.2 NRPS ve PKS-I gen bölgelerinin pGEM-T easy vektöre klonlanması .....	59
3.2.24.3 Rekombinant plazmidin alıcı hücreye aktarılması .....	59
3.2.24.4 Rekombinant plazmit izolasyonu .....	60
3.2.24.5 Rekombinant plazmit kesim reaksiyonu .....	60
3.2.24.6 Rekombinant plazmit DNA konsantrasyonunun belirlenmesi ve analizi .....	60
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>61</b>
4.1 Bulgular .....	61
4.1.1 Tuzlu ortamlardan farklı aktinomisetlerin izolasyonu, saflaştırılması, stoklanması.....	61
4.1.2 16S rRNA geni PZR amplifikasyonu .....	63
4.1.3 16S rRNA geni dizi analizi ve filogenisi.....	63
4.1.4 DNA-DNA hibridizasyonu .....	78
4.1.5 Kemotaksonomik karakterizasyon .....	78
4.1.5.1 DAP analizi .....	79
4.1.5.2 Şeker analizi .....	79
4.1.5.3 Yağ asiti analizi .....	80
4.1.5.4 Polar lipidlerin belirlenmesi.....	83
4.1.5.5 Menakinonlarının belirlenmesi.....	86
4.1.6 Fenotipik karakterizasyon.....	89
4.1.6.1 İzolatların tuz toleranslarının belirlenmesi.....	89
4.1.6.2 Fenotipik özelliklerin belirlenmesi .....	89
4.1.7 Kültürel ve morfolojik özellikler.....	98
4.1.7.1 ISP 2, Modifiye Bennett's agardaki büyüme, gelişim morfolojileri ..	98
4.1.7.2 Farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişim morfolojileri .....	98
4.1.7.3 Spor morfolojisi.....	98
4.1.8 Antimikrobiyal aktivite testi .....	110
4.1.9 NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin PZR amplifikasyonu .....	112
4.1.10 Rekombinant plazmidin seçimi.....	115
4.1.11 Bazı rekombinant plazmitlerin <i>EcoRI</i> restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi.....	116
4.2 Tartışma .....	119
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>133</b>
5.1 Sonuçlar .....	133
5.2 Öneriler .....	134
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>137</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>153</b>
<b>EK A.....</b>	<b>155</b>
<b>EK B.....</b>	<b>169</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>193</b>



## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 2.1. Bazı halofilik ve halotolerant aktinomiset türlerinin listesi.....	12
Çizelge 2.2. Bazı aktinomisetlerdeki sekonder metabolit gen kümeleri .....	31
Çizelge 2.3. Poliketit sentaz tipleri.....	37
Çizelge 3.1. Toprak ve sediment örneklerinin kaynağı .....	40
Çizelge 3.2. Toprak ve sediment örneklerinden seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri.....	41
Çizelge 3.3. 16S rRNA gen bölgesi sekans çalışmalarında kullanılan primerlerin nükleotit dizileri .....	45
Çizelge 3.4. Fenotipik karakterizasyon çalışmasında kullanılan farklı karakterler...51	
Çizelge 3.5. NRPS, PKS-I ve II gen bölgeleri amplifikasyonu için kullanılacak primerler .....	57
Çizelge 4.1. Test izolatlarının numaraları, izolasyon ortamları ve izole edildikleri besiyerleri.....	62
Çizelge 4.2. 16S rRNA sekans sonuçlarına göre <i>Actinobacteria</i> sınıfına ait 38 test organizmasının en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği .....	65
Çizelge 4.3. 16S rRNA sekans sonuçlarına göre <i>Bacilli</i> sınıfına ait 12 test organizmasının en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği .....	66
Çizelge 4.4. <i>Actinopolyspora</i> cinsine ait izolatlar ve <i>Actinopolyspora</i> tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı.....	69
Çizelge 4.5. <i>Saccharomonospora</i> cinsine ait izolatlar ve en yakın <i>Saccharomonospora</i> tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı.....	74
Çizelge 4.6. <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatlar ve en yakın <i>Streptomyces</i> tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı.....	77
Çizelge 4.7. Bazı izolatların DNA-DNA hibridizasyon yüzdeleri .....	78
Çizelge 4.8. BNT52 <sup>T</sup> izolatının ve tip türlerinin yağ asiti profilleri.....	81
Çizelge 4.9. BNT558 <sup>T</sup> , SM3501 <sup>T</sup> , SM3513 izolatları ve tip türlerinin yağ asiti profilleri .....	82
Çizelge 4.10. D31, BN506 izolatları ve tip türlerinin yağ asiti profilleri.....	83
Çizelge 4.11. Analizi yapılan bazı test izolatlarının menakinon profilleri .....	88
Çizelge 4.12. Analizi yapılan bazı test izolatlarının kemotaksonomik özellikleri.....	89
Çizelge 4.13. Test organizmalarının % 0, % 5, % 8, % 10, % 15 ve % 20'lik tuz konsantrasyonunda gelişimi.....	90
Çizelge 4.14. Bazı izolatların ve tip türlerinin temel karbon ve azot kaynaklarındaki gelişimi, bazı maddeleri degrade edebilme kabiliyetlerini gösteren testler. ....	92
Çizelge 4.15. Bazı izolatların ve tip türlerinin biyokimyasal ve fizyolojik testleri.....	97

<b>Çizelge 4.16.</b> Diğer yirmidört izolatın ve tip türlerinin temel karbon ve azot kaynaklarındaki gelişimi, bazı maddeleri degrade edebilme kabiliyetlerini gösteren testler .....	95
<b>Çizelge 4.17.</b> Diğer yirmidört izolatın ve tip türlerinin biyokimyasal ve fizyolojik testleri.....	97
<b>Çizelge 4.18.</b> B17, B18, BN506, BNT50 ve BNT52 <sup>T</sup> izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri.....	102
<b>Çizelge 4.19.</b> BNT5310, BNT558 <sup>T</sup> , C22, C23, C243 ve D31 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri.....	103
<b>Çizelge 4.20.</b> D32, D37, E45, G5109, HV122, HV125 ve MC2101 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri.....	104
<b>Çizelge 4.21.</b> MC2113, MC2114, MTC01, MTC02, MTC03 ve MTC08 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri.....	105
<b>Çizelge 4.22.</b> MTC09, MTC16, SBC06, SBC07, SBC10 ve SBC18 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri.....	106
<b>Çizelge 4.23.</b> SC1, SC124, SM3126A ve SM3126B izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri.....	107
<b>Çizelge 4.24.</b> SM3501 <sup>T</sup> , SM3513, TS205 ve TS212 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri.....	108
<b>Çizelge 4.25.</b> Test organizmalarının farklı mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm).....	111
<b>Çizelge 4.26.</b> Test izolatların NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin PZR amplifikasyon sonuçları .....	114
<b>Çizelge 4.27.</b> BNT52 <sup>T</sup> , SM3501 <sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarına ait NRPS gen bölgesinin Blastx sonuçlarına göre benzerlikleri .....	116
<b>Çizelge 4.28.</b> SM3501 <sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarına ait PKS-I gen bölgesinin Blastx sonuçlarına göre benzerlikleri .....	117

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Tuz Gölü .....	5
Şekil 2.2. Tuz Gölü ve Uydu Görüntüsü .....	6
Şekil 2.3. Çamaltı Tuzlası .....	6
Şekil 2.4. Çamaltı Tuzlasının Uydu Görüntüsü .....	7
Şekil 2.5. rRNA sekansına bağlı olarak farklı domainlerdeki mikroorganizmaların filogenetik dağılımı .....	8
Şekil 2.6. Bazı ozmotik olarak stabilize edici bileşikler .....	22
Şekil 2.7. Bazı halofilik ve halotolerant aktinomisetler tarafından sentezlenen biyoaktif metabolitler .....	26
Şekil 2.8. Ribozomal olmayan peptit sentetazlardaki modül yapısı .....	32
Şekil 2.9. Ribozomal olmayan peptit sentezi .....	33
Şekil 2.10. Doğrusal (tip A) peptit sentetazın yapısı .....	34
Şekil 2.11. Tekrarlı (tip B) peptit sentetazın yapısı .....	34
Şekil 2.12. Doğrusal olmayan (tip C) peptit sentetaz yapısı .....	35
Şekil 2.13. Poliketit sentazların modül yapısında bulunan temel bölgeler .....	35
Şekil 2.14. Poliketit sentezi .....	36
Şekil 3.1. pGEM-T Easy vektör .....	59
Şekil 4.1. % 15 NaCl ilaveli marin agar ve % 15 NaCl ilaveli soy bean meal agar izolasyon petri görüntüleri .....	61
Şekil 4.2. Bazı test izolatlarının 16S rRNA gen bölgesine ait amplifikasyon ürünlerinin % 1,5' luk agaroz jel elektroforez görüntüsü .....	63
Şekil 4.3. 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre aktinomiset test izolatlarının cinslere göre dağılımı .....	67
Şekil 4.4. Sekansı yapılan <i>Actinopolyspora</i> izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram .....	68
Şekil 4.5. Sekansı yapılan <i>Amycolatopsis cihanbeyliensis</i> BNT52 <sup>T</sup> izolatının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram .....	70
Şekil 4.6. Sekansı yapılan <i>Nocardioopsis</i> izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram .....	71
Şekil 4.7. Sekansı yapılan <i>Prauserella</i> sp. MC2114 izolatının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram .....	72
Şekil 4.8. Sekansı yapılan <i>Saccharomonospora</i> izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram .....	73
Şekil 4.9. Sekansı yapılan <i>Streptomonospora</i> sp. BN506 izolatının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram .....	75
Şekil 4.10. Sekansı yapılan <i>Streptomyces</i> izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram .....	76
Şekil 4.11. İzolatların A <sub>2</sub> pm izomerlerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı .....	79
Şekil 4.12. Bazı izolatlarının şeker profillerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı .....	80

Şekil 4.13. <i>Amycolatopsis</i> sp. BNT52 <sup>T</sup> izolatlarına ait molibdofosforik asit ile spreyleneşmiş polar lipit profili.....	84
Şekil 4.14. <i>Streptomonospora</i> sp. BN506 izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneşmiş polar lipit profili.....	84
Şekil 4.15. <i>Streptomyces</i> sp. BNT558 <sup>T</sup> izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneşmiş polar lipit profili.....	85
Şekil 4.16. <i>Streptomyces</i> sp. SM3501 <sup>T</sup> izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneşmiş polar lipit profili.....	85
Şekil 4.17. <i>Streptomyces</i> sp. SM3501 <sup>T</sup> izolatının HPLC menakinon kromatogramı.	86
Şekil 4.18. <i>Streptomyces</i> sp. BNT558 <sup>T</sup> izolatının HPLC menakinon kromatogramı.	87
Şekil 4.19. <i>Streptomonospora</i> sp. BN506 izolatı HPLC menakinon kromatogramı. .	88
Şekil 4.20. Test izolatlarının farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimini gösteren sütun grafik .....	91
Şekil 4.21. Bazı izolatlara ait karbon, azot kaynağı ve degradasyon testleri.....	91
Şekil 4.22. BNT558 <sup>T</sup> izolatı ve en yakın tip türünün koloni morfolojileri. ....	99
Şekil 4.23. SM3501 <sup>T</sup> izolatı ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri .....	100
Şekil 4.24. BNT558 <sup>T</sup> izolatının yedi farklı besiyerindeki morfolojik görüntüsü ....	101
Şekil 4.25. Farklı cinslere ait izolatların misel yapıları ve spor morfolojilerinin belirlendiğı taramalı elektron mikroskop görüntüleri .....	109
Şekil 4.26. Kuyu agar difüzyon metodu ile gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite testi. ....	110
Şekil 4.27. Bazı izolatların NRPS gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	112
Şekil 4.28. Bazı izolatların PKS-I gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	113
Şekil 4.29. Bazı izolatların PKS-II gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	113
Şekil 4.30. Test izolatlarında NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin dağılımını gösteren sütun grafik. ....	115
Şekil 4.31. BNT52 <sup>T</sup> izolatının NRPS gen bölgesi için mavi/beyaz koloni ayrımını gösteren ampisilinli LB agar petripleri.....	115
Şekil 4.32. Bazı rekombinant plazmitlerin <i>EcoRI</i> restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi.....	116
Şekil 4.33. BNT52 <sup>T</sup> , SM3501 <sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının NRPS gen bölgesine ait Adenilasyon domainlerinin amino asit dizisine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	117
Şekil 4.34. SM3501 <sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının PKS-I gen bölgesine ait Metil/Malonil CoA Transferaz domainlerinin amino asit dizisine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	118

## KISALTMALAR

<b>ATCC</b>	: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
<b>bç</b>	: Baz çifti
<b>DAP</b>	: Diaminopimelik asit
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>ddH<sub>2</sub>O</b>	: Deiyonize distile su
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>DPG</b>	: Difosfatidilgliserol
<b>DSMZ</b>	: Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültür Koleksiyonu
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin-tetra-asetik asit
<b>g</b>	: Gram
<b>IPTG</b>	: İzopropil-β-D-tiyogalaktozit
<b>ISP</b>	: International <i>Streptomyces</i> Project
<b>GL</b>	: Glikolipit
<b>KCTC</b>	: Kore Tip Kültür Koleksiyonu
<b>km<sup>2</sup></b>	: Kilometrekare
<b>M</b>	: Molar
<b>m</b>	: metre
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>nt</b>	: Nükleotit
<b>NRPS</b>	: Ribozomal Olmayan Peptid Sentetaz
<b>PC</b>	: Fosfatidilkolin
<b>PE</b>	: Fosfatidiletanolamin
<b>PG</b>	: Fosfatidilgliserol
<b>PI</b>	: Fosfatidilinozitol
<b>PL</b>	: Fosfolipit
<b>PME</b>	: Fosfatidilmetiletanolamin
<b>PN</b>	: Aminofosfolipit
<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PKS</b>	: Poliketit Sentaz
<b>rRNA</b>	: Ribozomal RNA
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>sp.</b>	: Tür (tek)
<b>subsp.</b>	: Alt tür
<b>TE</b>	: Tris-EDTA Tamponu
<b>TLC</b>	: İnce Tabaka Kromatografisi
<b>T<sub>m</sub></b>	: Erime Sıcaklığı
<b>°C</b>	: Santigrat Derece
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>µm</b>	: Mikrometre

**X-Gal** : 5-brom-4-klor-3-indolil- $\beta$ -D-galaktopiranosit

# HALOFİLİK ve HALOTOLERANT AKTİNOMİSETLERİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU, NRPS ve PKS GEN KÜMELERİNİN MOLEKÜLER TANIMLANMASI

## ÖZET

Bu çalışmada halofilik ve halotolerant aktinomisetlerin izolasyonu, karakterizasyonu, NRPS ve PKS gen kümelerinin moleküler tanımlanması gerçekleştirildi.

Halofilik ve halotolerant aktinomiset izolatları Türkiye’de Tuz Gölünün farklı bölgelerinden alınan toprak ve sediment örnekleri ile Çamaltı Tuzlası ve Şirvan tuzlu toprağından alınan örnekler dilüsyon plak yöntemi ile % 5 ile % 20,6 arasında değişen oranlarda NaCl ilaveli 11 farklı besiyerinden izole edildi. Test izolatlarının 16S rRNA gen bölgesi PZR amplifikasyonu 27f ve 1525r primerleri ile gerçekleştirildi. Filogenetik ağaçlar MEGA 5.2 yazılımı kullanılarak Neighbour Joining algoritması ile gerçekleştirildi. Filogenetik verilere göre en yakın ilişkili akraba türler ile en fazla nükleotit farkı bulunan suşların DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları yapıldı. Tüm izolatların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve antimikrobiyal aktivite testleri gerçekleştirildi. Ayrıca test izolatlarının NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin varlığı ilgili primerler ile araştırıldı. Yeni tür olan ve yeni tür olma ihtimali bulunan antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı izolatların NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgeleri klonlanarak amino asit dizileri belirlendi.

Farklı tuz oranlarına sahip 11 seçici besiyerinden toplam 38 organizma izole edildi ve 38 izolatın 16S rRNA gen bölgesi dizi analiz sonuçlarına göre 11’i *Actinopolyspora* cinsi üyesi, 1’i *Amycolatopsis*, 2’si *Nocardiopsis* cinsi üyesi, 1’i *Prauserella*, 19’u *Saccharomonospora* cinsi üyesi, 1’i *Streptomonospora* cinsi üyesi ve 3 tanesinin de *Streptomyces* cinsi üyesi olduğu tespit edildi.

Polifazik taksonomik verilere göre Cihanbeyli izolatı olan BNT52<sup>T</sup>, *Amycolatopsis cihanbeyliensis* sp. nov. BNT52<sup>T</sup> adı ile yayınlandı.

**Anahtar Kelimeler:** Polifazik taksonomi, Halofilik ve halotolerant aktinomiset, NRPS, PKS-I ve PKS-II geni



# ISOLATION, CHARACTERIZATION OF HALOPHILIC and HALOTOLERANT ACTINOMYCETES and MOLECULAR IDENTIFICATION OF THEIR NRPS and PKS GENE CLUSTERS

## ABSTRACT

In this study, isolation, characterization of halophilic and halotolerant actinomycetes and molecular identification of their NRPS and PKS gene clusters were carried out.

Halophilic and halotolerant actinomycetes isolates were isolated from soil and sediment samples from different region near The Salt lake, Camalti saltern and Sirvan saline soil using a dilution plate on eleven selective media with % 5 - % 20,6 NaCl. PZR amplification of 16S rRNA gene region of test isolates were performed with primers of 27f and 1525r. Phylogenetic trees were constructed with the neighbour joining algorithm with MEGA 5.2 software. According to phylogenetic data, DNA-DNA hybridizations of test isolates having the most nucleotide difference with the nearest neighbour strain were carried out. Morphological, physiological, biochemical tests and antimicrobial activity of all isolates were performed. In addition, NRPS, PKS-I ve PKS-II gene regions of all isolates were investigated with related primers. Amino acid sequences were determined with cloning of NRPS, PKS-I and PKS-II gene regions of new species and possible new species having antimicrobial activity.

All thirty eight organism were isolated on eleven selective media with different salt proportions and according to 16S rRNA gene sequence analysis of 38 isolates, eleven *Actinopolyspora* isolates, one *Amycolatopsis*, two *Nocardiosis* isolates, one *Prauserella*, nineteen *Saccharomonospora* isolates one *Streptomonospora* isolate and three *Streptomyces* isolates were determined.

Based on the polyphasic taxonomic data, isolate BNT52<sup>T</sup> from Cihanbeyli with the name *Amycolatopsis cihanbeyliensis* sp. nov. BNT52<sup>T</sup> were published.

**Key Words:** Polyphasic taxonomy, Halophilic and halotolerant actinomycetes, NRPS, PKS-I and PKS-II genes



## 1. GİRİŞ

Hipersalin (aşırı tuzlu) çevreler, hipersalin su ve toprakları kapsamaktadır. Hipersalin sular, deniz suyundan daha yüksek konsantrasyonda tuza sahip olan ortamlar olarak tanımlanmaktadır (Rodriguez-Valera, 1988). Kaurichev'e (1980) göre, % 0,2 (w/v)'den daha fazla çözünebilir tuz içeren topraklar ise, salin (tuzlu) topraklar olarak düşünülmektedir.

Hipersalin ortamlar tuzluluğu yüksek olan ekstrem habitatlar olup thalassohalin ve athalassohalin olmak üzere iki temel gruba ayrılmaktadır. Thalassohalin ortamlar, deniz suyunun buharlaşması ile oluşmaktadır. Thalassohalin ortama örnek olarak solar tuzlular verilebilir. Utah'daki Great Salt Lake (Büyük Tuz Gölü) gibi bazı göller ya da salin topraklar, thalassohalin ortamlardır. Athalassohalin ortamlar ise, deniz suyundan oldukça farklı iyonik kompozisyona sahiptir. Daha yoğun olarak çalışılan athalassohalin ortamlar, ölü deniz ve bazı alkalın (soda) göllerdir. Bu ortamlar magnezyum ya da kalsiyum iyonları bakımından fakir ve karbonatlar bakımından zengindir. Böylece çok alkali pH'da (pH 9-11,5) bir ortam oluşmaktadır.

Tuz Gölü, Kaldırım, Kayacık, Yavşanlı Tuzluları ve Çamaltı tuzlası ülkemizdeki hipersalin çevrelere örnek oluşturmaktadır. Büyük Tuz Gölü (Great Salt Lake) ve Ölü Deniz (Dead Sea) ise dünya üzerinde yer alan diğer bazı hipersalin ortamlardır.

Halofilik mikroorganizmalar oldukça çeşitlilik göstermektedir. Yüksek tuz konsantrasyonunda yaşamaya adapte olmuş mikroorganizmalar Archaea, Bacteria ve Eucarya domainleri içerisinde yer almaktadır (Yanhe ve diğ., 2010).

Yüksek tuz konsantrasyonuna sahip ortamlarda en yaygın bulunan organizmalar ılımlı halofilik bakteriler, ekstrem halofilik bakteriler ve arkelerdir ancak bu ortamlarda küçük bir rol oynadığı düşünülmesine rağmen halotolerant mikroorganizmalarda bulunabilmektedir (Rodriguez-Valera, 1988).

Optimum bir büyüme için yüksek tuz konsantrasyonunun gerekliliği halofili olarak tanımlanmaktadır. Halofili bakteriyel alemde oldukça yaygındır. Özellikle

*Cyanobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes*, ve *Bacteroidetes* filumları içerisinde halofilik üyeler rastlanmaktadır (Oren, 2008).

Vejetasyon yoğunluğu ve tipi, tuzlu topraklardaki organik madde içeriğini etkilemektedir. Yüksek organik madde içeriği halofitik bitkilerin rizosferinde bulunmaktadır (Batanouny, 1979; Quesada ve diğ., 1982; Zahran, 1989).

Halofilik bakterilerin fizyolojik özellikleri büyük oranda değişiklik göstermektedir. Kemolitotrof olanların yanı sıra aerobik ve anaerobik kemoheterotroflar, fotoototrofik ve fotoheterotrofik türler de bulunmaktadır (Ollivier ve diğ., 1994; Oren, 1999).

Aşırı halofilik mikroorganizmalar ekstrem koşullara dayanıklı olması ve bu ortamlara gösterdiği adaptasyon nedeniyle biyoteknolojik yönden oldukça önemlidir. Bu halofilik mikroorganizmaların ürettiği enzimler özellikle deterjan ve tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca petrol kontaminasyonunun giderilmesi ve biyoyakıt üretiminde de bu mikroorganizmalardan yararlanılmaktadır (Yanhe ve diğ., 2010).

Halofilik aktinomisetlerden elde edilen sekonder metabolitler de yeni antibiyotiklerin sentezi için kaynak oluşturmaktadır. Yeni antibiyotiklerin keşfi ile halofilik aktinomisetler araştırmacıların ilgisini çekmiştir. *Nocardiopsis*, *Saccharomonospora* ve *Streptomyces* cinslerine ait halofilik aktinomiset türleri ürettikleri sekonder metabolitler bakımından oldukça önemlidir. Örneğin, antifungal, antibakteriyel ve antioksidant aktiviteye sahip yeni terfeniller halofilik bir aktinomiset olan *Nocardiopsis gilva* YIM 90087 tarafından sentezlenmiş olup *Saccharomonospora paurometabolica* YIM 90007 tarafından yarı sentetik  $\beta$ -laktam antibiyotik üretiminde kullanılan penisilin açılaz enzimi sentezlenmektedir. Ayrıca, halofilik ve alkalifilik bir aktinomiset olan *Streptomyces sannanensis* RJT-1 izolatının *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis* gibi Gram pozitif organizmalara karşı aktivite gösteren potansiyel bir antibiyotik üreticisi olduğu belirlenmiştir (Yanhe ve diğ., 2010; Tian ve diğ., 2013; URL-1; Vasavada ve diğ., 2006) .

Bu çalışmanın amaçları;

- ✓ Tuzlu ortamlardan elde edilen toprak ve sediment örneklerinden halofilik ve halotolerant aktinomisetlerin seçici besiyerlerinde izole edilmesi,
- ✓ İzolatların genotipik, fenotipik ve kemotaksonomik yöntemler kullanılarak cins ve tür düzeyinde tanımlanması,
- ✓ İzole edilen suşların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi,
- ✓ İzolatların PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgelerinin varlığının araştırılması,
- ✓ BNT52<sup>T</sup> izolatının NRPS gen bölgesinin, SM3501<sup>T</sup>, SM3513 izolatlarının ise NRPS ve PKS-I gen bölgelerinin moleküler düzeyde karakterizasyonu,
- ✓ İzolatların sahip oldukları antibiyotik gen bölgeleri ile gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteleri arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığının ortaya çıkarılmasıdır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Tuz Gölü ve Özellikleri

Tuz Gölü havzası, İç Anadolu’da Ankara ilinin güneyi ile Konya ilinin kuzeydoğusunda yer almış olup karalar arası kapalı bir havza konumundadır. Ankara, Konya ve Aksaray il sınırları içerisinde bulunmaktadır (**Şekil 2.1-2.2**).

Kuzeybatı-Güneydoğu yönünde uzun eksenli boyunca 87 km kadar uzanmakta ve maksimum genişliği 40 km’ye erişmektedir. Gölün alanı 1665 km<sup>2</sup>’dir (Kılıç, 2003).



**Şekil 2.1.** Tuz Gölü (URL-2)

Tuz, Türkiye’de başta Tuz Gölü (Ankara/Şerefli Koçhisar “Kaldırım ve Kayacık Tuzlaları” ve Konya/Cihanbeyli “Yavşan Tuzlası”) olmak üzere, deniz ve kaya tuzlarından elde edilmektedir. Bu üretimde Tuz Gölü’nün payı yaklaşık % 70 kadardır, diğer bir deyişle Tuz Gölü Türkiye tuz ihtiyacının 2/3’ünü karşılamaktadır (Kılıç ve Uyanık, 2001).

Tuz Göllerinin bir kısmı eski deniz yatakları olabileceği gibi bazıları da geniş yer çöküntülerinde, civar bölgelerindeki kaya tuzlarından geçerek, bu çukurlarda toplanan tuzlu sulardan meydana gelirler. Yaz aylarında yüksek bir yoğunluk kazanan sular buharlaşarak, sanki deniz sularının toplanma havuzları gibi tuz tavası haline gelirler. Tuzlu su göllerinde, tuzlu su kaynakları ve kuyularına hemen her ülkede rastlanmaktadır. Dünyanın en büyük tuz gölü Great Salt (Büyük Tuz) gölüdür

(Utah, ABD). Ülkemizde İç Anadolu'da yer alan Tuz Gölü dünyadaki en önemli tuz göllerinden biridir. Tuz göllerinden alınan tuz büyük oranda saf bir şekildedir (Koday, 1999).



Şekil 2.2. Tuz Gölü ve Uydu Görüntüsü (URL-3)

## 2.2 Çamaltı Tuzlası ve Özellikleri

Çamaltı tuzlası Ege Bölgesinin Ege Bölümünde, Gediz Irmağının delta ovası içerisinde Ege Denizinin de kıyısında yer almaktadır. Söz konusu tuzla Gediz Irmağı deltasında 58 km<sup>2</sup> alan üzerinde kurulu ülkemizin en büyük deniz tuzlasıdır (Şekil 2.3-2.4).

Tuzlalar, güneş ışığından faydalanarak deniz suyunun buharlaştırılması yöntemiyle tuz üretmek için kurulmuş birbirine bağlı veya bağlı olmayan değişik boyutlardaki havuzlardan oluşmuş bir sistemdir (Tıraş, 2007).



Şekil 2.3. Çamaltı Tuzlası (URL-4)

Çamaltı tuzlası genel olarak I. ve II. tuzla, su depolama alanları ve kristalizasyon havuzları olarak 4 ana kısma ayrılmaktadır. Bunlardan su depolama havuzları % 5-15 ve kristalizasyon havuzları da % 15-30 tuzluluktur. Tuz üretim parsellerinin derinliği 5-15 cm olmakla beraber 1,5 m derinlikteki tuz havuzlarıyla su iletim kanalları da mevcuttur. Tuz parsellerinin zemini sıkıştırılmış topraktır. Tuzlanın deniz ile bağlantısını ana kanal üzerine kurulmuş olan pompalar sağlamaktadır. Böylece değişik boyutlardaki havuzlara verilen deniz suyu kademeli olarak tuz kristalizasyon havuzlarına dağıtılmaktadır.

İzmir Çamaltı Tuzlası, Türkiye toplam tuz üretiminin (2 115 751 ton) yaklaşık % 25' ini karşılamaktadır (Tıraş, 2007).



Şekil 2.4. Çamaltı Tuzlasının Uydu Görüntüsü (URL-5)

### 2.3 Halofilik Mikroorganizmalar

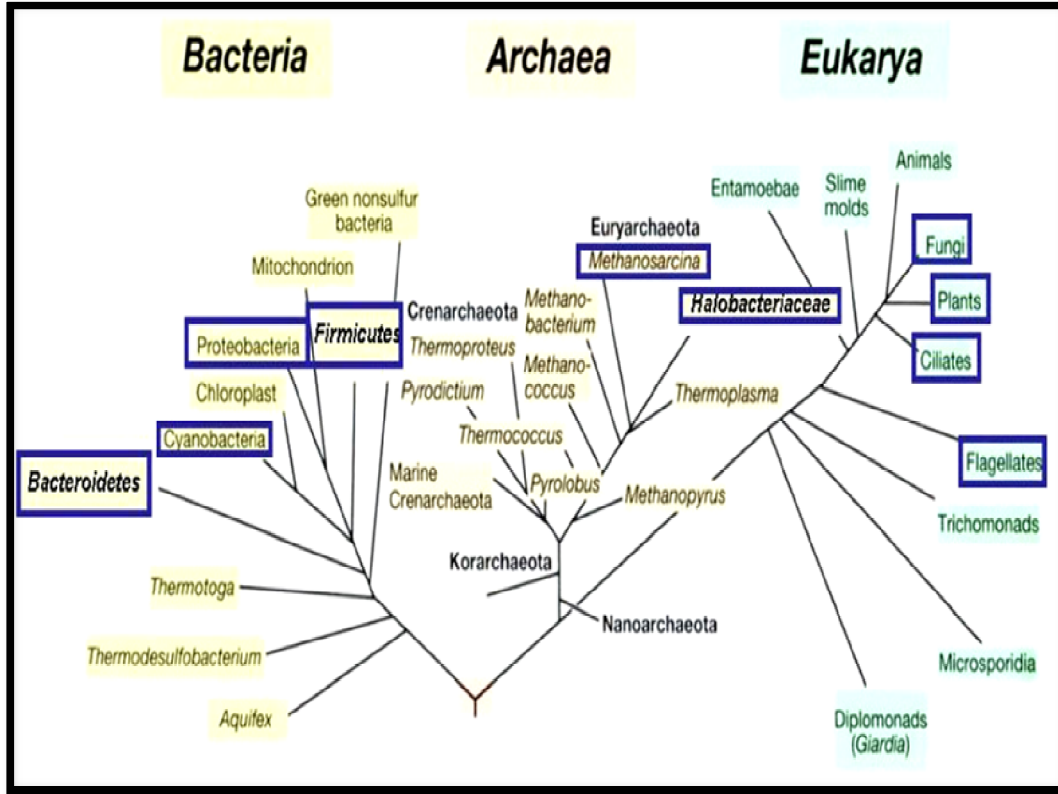
Gelişimi için yüksek miktarda tuz konsantrasyonuna gerek duyan mikroorganizmalardır. Kushner, (1985) mikroorganizmaları geliştikler optimum NaCl miktarına göre sınıflandırmıştır :

- a) Halofilik olmayanlar,
- b) Az halofiller, % 1-3 arasında NaCl konsantrasyonunda gelişenler,
- c) Orta derecede halofiller, % 3-15 arası NaCl konsantrasyonunda gelişenler,
- d) Aşırı halofiller, % 15'den daha fazla NaCl konsantrasyonunda gelişenler,

Bunlardan farklı olarak halotolerant mikroorganizmalar ise, tuz varlığında veya yokluğunda gelişebilen organizmalardır.

rRNA dizi verilerine dayalı filogenetik analizlere göre halofiller, Archaea, Bacteria ve Eukarya domainlerinde yer almaktadır (Oren, 2002a,b; 2006a). rRNA

dizi verilerine bağı olarak üç farklı domaindeki mikroorganizmaların filogenetik dağılımı Şekil 2.5'te verilmiştir.



Şekil 2.5. rRNA dizi verilerine bağı olarak farklı domainlerdeki mikroorganizmaların filogenetik dağılımı (Madigan ve Martinko, 2006)

Archaea domainindeki halofilik mikroorganizmalar, *Halobacteriaceae*, *Methanospirillaceae* ve *Methanosarcinaceae* familyaları içerisinde yer almaktadır (Oren, 2002a). Bacteria domainindeki halofilik mikroorganizmalar ise *Halanaerobiales* ordosuna ait (*Firmicutes* filumu) *Halanaerobiaceae* ve *Halobacteroidaceae* familyaları ve *Oceanospirillales* ordosuna ait *Halomonadaceae* (*Gammaproteobacteria* sınıfı) familyasında yer almaktadır (Oren, 2008).

Halofilik aktinomisetler ise *Streptosporangineae*, *Streptomycineae*, *Pseudonocardineae*, *Actinopolysporineae*, *Micrococcineae* alt ordolarında bulunmaktadır. *Nocardiopsis* familyasında yer alan *Nocardiopsis* (Meyer, 1976), *Thermobifida* (Zhang ve diğ., 1998) ve *Streptomonospora* (Cui ve diğ., 2001) halofilik türlerin bulunduğu cinsleri, *Pseudonocardaceae* familyası ise halofilik türleri içeren *Actinopolyspora*, *Amycolatopsis*, *Prauserella*, *Saccharomonospora* cinslerini içermektedir (Hamedi ve diğ., 2013).

Tek hücreli yeşil alg olan *Dunaliella* cinsi ayrıntılı bir şekilde araştırılmıştır. *Dunaliella*, organik ozmotik uyum bileşiklerini kullanarak tuz adaptasyon çalışmalarında ve biyoteknolojik uygulamalarda popüler bir model sistem olmuştur (Oren, 2005). Algler uyum bileşikleri olarak polyolleri kullanmaktadır. *Dunaliella salina* ise ozmotik strese karşı yanıt olarak gliserol sentezlemektedir (Chen ve Jiang, 2009). *D. salina* ve *D. bardawil* tarafından üretilen değerli bir kimyasal olan  $\beta$ -karoten gıda renklendirici, pro-vitamin A (retinol), kozmetikte katkı maddesi olarak tercih edilmektedir (Oren, 2005). Tuz göllerinde tuzlu su karideslerinin (*Artemia salina*, *A. franciscana*) varlığı bilinmektedir (Oren, 2008).

1998 yılından beri hipersalin ortamlardan çok sayıda fungus türü izole edilmiştir. *Wallemiomycetes* sınıfı, *Wallemiales* ordosunda yer alan *Wallemia* cinsine ait *W. sebi*, *W. muriae* ve *W. ichthyophaga*, *Emericella* cinsinde yer alan, *E. appendiculata* ve *E. stella-maris*, siyah maya *Trimmatostroma salinum*, *Cladosporium* cinsine ait *C. dominicanum*, *C. fusiforme*, *C. halotolerans*, *C. herbarioides*, *C. psychrotolerans*, *C. ramotenellum*, *C. salinae*, *C. spinulosum*, *C. subinflatum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum* ve *C. velox* türleri hipersalin çevrelerde bulunmaktadır. *Aureobasidium pullulans* var. *pullulans* ve *Candida* cinsine ait *C.gali*, *C. pseudorugosa* ve *Eurotium halotolerans* hipersalin ortamlardan izole edilmiştir (Gunde-Cimerman ve Zalar, 2014). Siyah maya *Hortaea werneckii* türü de (Gunde-Cimerman ve diğ., 2000) hipersalin çevrelere özgü bir organizmadır.

Ekstrem halofilik arkelere saldıran fajlar ilk olarak 1974 yılında tanımlanmış fakat hipersalin ekosistemlerde virüsler geniş ölçüde keşfedilmemiştir. Tek ya da çift zincirli DNA genomu içeren, bir lipid zarına sahip olan pleomorfik virüslerin izolasyonu ve karakterizasyonu tuzlu ortamlardaki viral çeşitliliği göstermiştir. Shaun Heaphy (Leicester, United Kingdom) iç Moğolistan'da bir tuz gölünden izole edilen *Halorubrum kocurii*'yi enfekte eden baş ve kuyruk kısmına sahip iki yeni litik virüsü (*Siphoviridae*'den BJ1 virüsü ve *Myoviridae*'den BJ2 virüsü) keşfetmiştir (Yanhe ve diğ., 2010).

## 2.4 Topraktaki Halofilik ve Halotolerant Mikroorganizmalar

Hipersalin (aşırı tuzlu) ortamlar, hipersalin su ve topraklardan oluşmaktadır. Hipersalin akuatik habitatlarla karşılaştırıldığında salin (tuzlu) topraklardan izole edilen halofilik ve halotolerant mikroorganizmaların çeşitliliği hakkında çok az bilgi

bulunmaktadır. 1980'lerde tuzlu topraklarda mikrobiyal çeşitlilik üzerine öncülük eden çalışmalar gerçekleştirilmeye başlanmıştır (Ventosa ve diğ., 2008).

Tuzlu topraklarda bulunan çok sayıda izolat, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Salinivibrio*, *Flavobacterium* ve *Acinetobacter* cinsleri içinde tanımlanan Gram negatif çomak şekilli bakterilerdir. Yine tuzlu topraklardan izole edilen Gram pozitif çomaklar ve gram pozitif koklardan oluşan bu gruptaki izolatlar *Bacillus*, *Nesterenkonia*, *Arthrobacter*, *Marinococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Nocardia* ve *Actinomyces* cinslerinde belirlenmiştir. Ekstrem halofilik arkelerin çok az bir kısmı tuzlu topraklardan izole edilmiştir. Bu izolatlar *Halobacterium* cinsi içinde belirlenmiştir (Ventosa ve diğ., 2008).

Son yapılan çalışmalar Gram pozitif mikroorganizmaların tuzlu topraklarda yoğun olarak bulunduğunu göstermiştir. Ventosa ve diğ. (1983) Alicante (İspanya) kıyısında yer alan tuzlu topraktan bir grup Gram pozitif halofilik kok izole etmiştir. İlimli halofillerin tümü % 2-5 ve % 25-30 arasında toplam tuzda ve optimum olarak % 10-15 tuz oranı içeren besiyerlerinde gelişmiştir (Ventosa ve diğ., 2008).

Halofilik arkeler kırmızıdan pembeye değişen renklerde karotenoid pigmentleri üreten aerobik mikroorganizmalardır. Eter bağlı izoprenoid zincirleri içeren membranlar gibi arkeal özelliklere sahiptir. En tipik özelliği tuz gereksinimidir. Çok sayıda tür gelişimi için en az % 9 NaCl'ye ihtiyaç duymakta ve optimum olarak % 20-25 NaCl içeren ortamlarda gelişim göstermektedir. Halofilik arkelere hipersalin çevrelerde sık rastlanmaktadır. Çok sayıda tür, tuzlanmış yiyecekler ve yer altı tuz depolarının yanı sıra tuz gölleri, soda gölleri ya da tuzlalar gibi akuatik habitatlardan izole edilmiştir (Ventosa ve diğ., 2008).

Yalnızca birkaç haloarkeal tür, tuzlu topraklardan izole edilmiştir. *Haloarcula argentinensis* ve *Haloarcula mukohatae* Arjantin'den izole edilen iki türdür (Ihara ve diğ., 1997). *Haloarcula japonica* Japonya'daki tuzla toprağından (Takashina ve diğ., 1990), *Halorubrum distributum* (Sinonim *Halobacterium distributum*) alkali topraklardan (Zvyagintseva ve Tarasov, 1987; Oren ve Ventosa, 1996) ve *Haloterrigena turkmenica* (Sinonim *Halococcus turkmenicus*) Türkmenistan'da sülfat içeren bir tuzlu topraktan izole edilmiştir (Zvyagintseva ve Tarasov, 1987; Ventosa ve diğ., 1999).

Topraktan izole edilen ve tanımlanan çok sayıda ilimli halofilik bakteri heterotroftir. Baskın olarak aşırı tuzlu (hipersalin) sucul habitatlardan Gram negatif türler elde edilmesine karşın, tuzlu ya da aşırı tuzlu (hipersalin) topraklarda çok

sayıda Gram pozitif tür de elde edilmiş ve bunlar taksonomik olarak karakterize edilmiştir. Hipersalin toprakların mikrobiyotası, hipersalin suların mikrobiyotasından daha ziyade tuzlu olmayan habitatların mikrobiyotasına benzerlik göstermektedir (Ventosa ve diğ., 2008).

## **2.5 Tuzlu Ortamlarda Bulunan Aktinomisetler**

Fazla tuzlu çevrelerde aktinomisetlerin varlığı ve bu organizmaların yüksek tuz konsantrasyonuna toleransı ilk olarak Tresner ve diğ. (1968) ve Gottlieb (1973) tarafından tanımlanmıştır.

*Nocardiopsaceae* familyasındaki *Nocardiopsis* (Meyer, 1976), *Thermobifida* (Zhang ve diğ., 1998) ve *Streptomonospora* (Cui ve diğ., 2001) cinsleri halofilik ve halotolerant türler içermektedir. *Actinomycetales* ordosuna ait olan *Pseudonocardiaceae* familyasında çok sayıda cins bulunmaktadır. Bu cinslerden üç tanesi tuzlu toprak örneklerinden izole edilen halofilik türleri içeren *Actinopolyspora*, *Saccharomonospora* ve *Prauserella* cinslerini içermektedir. 2011 yılı verilerine göre 26 cinsten elde edilen 70 geçerli halofilik ve halotolerant aktinomiset türlerinin listesi **Çizelge 2.1**'de verilmiştir (Hamedi ve diğ., 2013).

**Çizelge 2.1.** Bazı halofilik ve halotolerant aktinomiset türlerinin listesi

Halofilik ve halotolerant aktinomiset türleri	NaCl (%)	Halofilik ve halotolerant aktinomiset türleri	NaCl (%)
1. <i>Actinopolyspora alba</i>	10–25	36. <i>Nocardiopsis halotolerans</i>	0–15
2. <i>Actinopolyspora algeriensis</i>	7–32	37. <i>Nocardiopsis rosea</i>	0–18
3. <i>Actinopolyspora erythraea</i>	10–25	38. <i>Nocardiopsis rhodophaea</i>	0–18
4. <i>Actinopolyspora halophila</i>	10–30	39. <i>Nocardiopsis chromatogenes</i>	0–18
5. <i>Actinopolyspora mortivallis</i>	5–30	40. <i>Nocardiopsis baichengensis</i>	0–18
6. <i>Actinopolyspora xinjiangensis</i>	10–15	41. <i>Nocardiopsis arabia</i>	0–15
7. <i>Amycolatopsis halophila</i>	1–15	42. <i>Nocardiopsis litoralis</i>	1–15
8. <i>Amycolatopsis marina</i>	0,5–12	43. <i>Nocardiopsis salina</i>	3–20
9. <i>Amycolatopsis salitolerans</i>	0–13	44. <i>Nocardiopsis sinuspersici</i>	0–15
10. <i>Georgenia halophila</i>	1–15	45. <i>Nocardiopsis arvandica</i>	0–17,5
11. <i>Glycomyces halotolerans</i>	4–5	46. <i>Nocardiopsis terrae</i>	1–15
12. <i>Haloactinobacterium album</i>	2–16	47. <i>Nocardiopsis flavescens</i>	0–10
13. <i>Haloactinopolyspora alba</i>	7–23	48. <i>Nocardiopsis coralliicola</i>	0–18
14. <i>Haloactinospora alba</i>	9–21	49. <i>Prauserella halophila</i>	5–25
15. <i>Haloechothrix alba</i>	9–23	50. <i>Prauserella alba</i>	0–25
16. <i>Haloglycomyces albus</i>	3–18	51. <i>Prauserella marina</i>	0–5
17. <i>Isoptericola halotolerans</i>	0–25	52. <i>Saccharomonospora paurometabolica</i>	5–20
18. <i>Kocuria halotolerans</i>	0–10	53. <i>Saccharomonospora halophila</i>	10–30
19. <i>Kocuria aegyptia</i>	1–5	54. <i>Saccharomonospora saliphila</i>	5–20
20. <i>Marinactinospora thermotolerans</i>	0–5	55. <i>Saccharopolyspora qijiaojiangensis</i>	1–22
21. <i>Myceligenans halotolerans</i>	0–10	56. <i>Saccharopolyspora halophila</i>	3–20
22. <i>Nesterenkonia sandarakina</i>	1–15	57. <i>Saccharopolyspora lacisalsi</i>	5–25
23. <i>Nesterenkonia lutea</i>	0–20	58. <i>Salinactinospora qingdaonensis</i>	1–23
24. <i>Nesterenkonia halophila</i>	0,5–30	59. <i>Salinisphaera halophila</i>	6–29
25. <i>Nesterenkonia halotolerans</i>	0–25	60. <i>Salinispora arenicola</i>	3,5
26. <i>Nesterenkonia xinjiangensis</i>	0–25	61. <i>Salinispora tropica</i>	3,5
27. <i>Nesterenkonia alba</i>	0–6	62. <i>Serinicoccus profundi</i>	0–14
28. <i>Nesterenkonia aethiopica</i>	3–12	63. <i>Spinactinospora alkalitolerans</i>	1–15
29. <i>Nesterenkonia lacusekhoensis</i>	0–15	64. <i>Streptomonospora flavalba</i>	5–25
30. <i>Nesterenkonia halobia</i>	4–18	65. <i>Streptomonospora alba</i>	5–25
31. <i>Nesterenkonia jeotgali</i>	0–16	66. <i>Streptomonospora halophila</i>	5–20
32. <i>Nocardiopsis xinjiangensis</i>	3–20	67. <i>Streptomonospora amylytica</i>	5–20
33. <i>Nocardiopsis kunsanensis</i>	3–20	68. <i>Streptomyces oceani</i>	2,5–12,5
34. <i>Nocardiopsis halophila</i>	3–20	69. <i>Streptomyces pharmamarensis</i>	2–9
35. <i>Nocardiopsis composta</i>	0–15	70. <i>Yuhushiella deserti</i>	3,5

Halofilik aktinomisetler deniz suyu, tuzlu toprak, tuz gölü, alkalın tuzlu habitat ve diğer habitatlardan izole edilmiştir. Ancak halofilik aktinomisetlerin çoğu ise tuzlu topraklardan elde edilmiştir (Hamedi ve diğ., 2013).

### 2.5.1 *Actinopolyspora* cinsi

*Actinopolyspora* cinsi, *Actinomycetales* takımına ait olan *Pseudonocardiaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. Cinsin üyeleri Gram-pozitif, aerial miselyumlar üzerinde uzun spor zincirleri bulunan, substrat miselyum fragmentleri oluşturan mikroorganizmalardır. Hücre duvarı *mezo*-diaminopimelik asit ve önemli miktarda galaktoz ve arabinoz içermektedir. Mikolik asit bulundurmazlar (Meklat ve diğ., 2012).

Baskın menakinonları MK-9 (H<sub>4</sub>) ve MK-10 (H<sub>4</sub>)'dur. *iso*-C<sub>15</sub> : 0, *iso*- C<sub>16</sub> : 0, *iso*-C<sub>17:0</sub> ve *anteiso*-C<sub>17:0</sub> temel yağ asitleridir. *Actinopolyspora* cinsi üyelerinin fosfolipid paterni PIII (fosfatidilkolin içeren) grubunda yer almaktadır. DNA G+C içeriği % 64,2 ile 68 arasında değişmektedir (Tang ve diğ., 2011; Gochnauer ve diğ., 1975; Yoshida ve diğ., 1991).

*Actinopolysporineae* alt takımına ait ekstrem halofilik aktinomisetlerden oluşan *Actinopolyspora* cinsi ilk olarak Gochnauer ve diğ. (1975) tarafından önerilmiştir (Zhi ve diğ., 2009). Şu ana kadar cins içerisinde 11 tür tanımlanmış olup bunlar *A. halophila* (Gochnauer ve diğ., 1975), *A. mortivallis* (Yoshida ve diğ., 1991), *A. xinjiangensis* (Guan ve diğ., 2010), *A. erythraea* (Tang ve diğ., 2011), *A. alba* (Tang ve diğ., 2011), *A. algeriensis* (Meklat ve diğ., 2012), *A. saharensis* (Meklat ve diğ., 2013), *A. lacussalsi* (Guan ve diğ., 2013), *A. mzabensis* (Meklat ve diğ., 2013), *A. righensis* (Meklat ve diğ., 2013) ve *A. dayingensis* (Guan ve diğ., 2013) türleridir.

### 2.5.2 *Amycolatopsis* cinsi

*Amycolatopsis* cinsi, *Actinomycetales* takımının *Pseudonocardiaceae* familyası içerisinde yer alan Gram pozitif, aerobik, aside dirençsiz, dallanmış substrat hif oluşturan hareketsiz aktinomisetlerden oluşmaktadır. Spor zincirleri vejetatif hifler üzerinde meydana gelmektedir (Kim ve Goodfellow, 1999).

Hücre duvarı *mezo*-diaminopimelik asit ve önemli miktarda galaktoz ve arabinoz içermektedir. Mikolik asit bulundurmazlar (Ding ve diğ., 2007). *Amycolatopsis* suşları, düz zincirde, tekli doymamış, *iso*, *anteiso*- ve 10-*methyl* dallanmış doymuş yağ asitlerince zengindir (Yassin ve diğ., 1993a). Baskın menakinon olarak, MK9 (H<sub>2</sub>), MK9 (H<sub>4</sub>) ve MK9 (H<sub>5</sub>) içermektedir. *Amycolatopsis* suşları, fosfatidiletanolamin ve çeşitli difosfatidilgliserol, fosfatidil inozitol ve

fosfatidilinozitolmannozitlerin oluşumu ile fosfatidilgliserol içerir (Yassin ve diğ., 1991). DNA G+C içeriği % 66-74'tür (Kim ve Goodfellow, 1999).

*Amycolatopsis* cinsi izolatların çoğu topraktan izole edilmiştir. Bunun dışında bazı *Amycolatopsis* türleri ise tatlı su, insan ve hayvan klinik kaynakları, doğal mağaralar, bozkır toprakları ve tuz gölü gibi çevrelerden izole edilmiştir (Ding ve diğ., 2007; Tang ve diğ., 2010). *Amycolatopsis* cinsi üyelerinin yeni antimikrobiyal bileşiklerin kaynağı olduğu bilinmektedir. Cinsin tip suşu *A. orientalis* IMSNU 20058<sup>T</sup>'dir (Lechevalier ve diğ., 1986). Halofilik özellik gösteren bir türü *A. halophila* YIM 93223<sup>T</sup>'dir (Tang ve diğ., 2010). Günümüzde 64 tane *Amycolatopsis* türü 4 tane de alttürü karakterize edilmiştir (URL-6, <http://www.bacterio.net/amycolatopsis.html>).

### 2.5.3 *Nocardioptosis* cinsi

*Actinomycetales* takımına ait olan *Nocardioptosaceae* familyası içerisinde yer alan *Nocardioptosis* cinsi üyelerinin çoğu diğer aktinomisetlere morfolojik olarak benzemesine rağmen oldukça önemli kimyasal özelliklere sahiptir. Peptidoglikan tabakasında *mezo*-diaminopimelik asit, alanin, ve glutamik asit bulunmaktadır. Peptidoglikandaki muramik asit asetillenmiştir (Kroppenstedt, 1987). Tüm hücre hidrolizatlarında glukoz ve galaktoz belirlenmiştir.

Arabinoz, maduroz, ksiloz ya da ramnoz gibi tanınal şekerler bulunmamaktadır (Lechevalier ve Lechevalier, 1970; Grund ve Kroppenstedt, 1990; Yassin ve diğ., 1993b, 1997; Al-Tai ve Ruan, 1994; Chun ve diğ., 2000; Evtushenko ve diğ., 2000; Naumova ve diğ., 2001).

Hücre duvar teikoik asitleri gliserol ile ribitol, glukozamin, galaktozamin, süksinik, propionik asit gibi diğer temel bileşenlerden oluşmaktadır. Farklı *Nocardioptosis* türleri hücre duvar teikoik asit kompozisyonu aracılığıyla belirlenmektedir (Naumova ve diğ., 2001). Hücre duvarlarında mikolik asit bulunmamaktadır (Mordarska ve diğ., 1972; Minnikin ve diğ., 1975).

Fosfatidilkolin (cardiolipin), fosfatidilmetiletanolamin (PME), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilinositol (PI) ve az miktarda difosfatidilgliserol (DPG) içermektedir. Temel menakinonları, yan zincirlerinde 10 izopren alt birimi içermektedir.

*Nocardioptosis* suşlarında hidroksi yağ asitleri belirlenmemiş olup *iso*-dallanmış, *anteiso*-dallanmış ve 10-metil-dallanmış yağ asitleri bulunmaktadır (Grund ve Kroppenstedt, 1990). DNA G+C içeriği % 64 ile 69 arasında değişmektedir.

*Nocardiosis* cinsinin ılımlı halofilik türlerinin ilk örnekleri *N. halophila* (Al-Tai ve Ruan, 1994), *N. halotolerans* (Al-Zarban ve diğ., 2002a), *N. xinjiangensis* (Li ve diğ., 2003a) ve *N. salina*'dır (Li ve diğ., 2004). Daha sonra tanımlanan *N. gilva*, *N. rosea*, *N. rhodophaea*, *N. chromatogenes* ve *N. baichengensis* türleri ise hipersalin bir topraktan izole edilmiştir (Li ve diğ., 2006). Günümüzde 44 tane *Nocardiosis* türü 5 tane de alttürü karakterize edilmiştir (URL-7, <http://www.bacterio.net/nocardiosis.html>).

#### **2.5.4 *Prauserella* cinsi**

*Prauserella* cinsi, *Actinomycetales* takımında bulunan *Pseudonocardiaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. Cinsin üyeleri gram pozitif, aerobik, aside dirençsiz ve halofilik ya da halotolerant mikroorganizmalardır. Substrat miselyumları düzensiz çubuk şekilli kısımlara ayrılmakta ve aerial miselyumlar spor zincirlerini oluşturmaktadır. Hücre duvarı *mezo*-diaminopimelik asit ve önemli miktarda galaktoz ve arabinoz içermektedir (Bazıları riboz da içermektedir). MK-9(H<sub>4</sub>) baskın menakinondur. DNA G+C içeriği % 65,8–69,9'dur (Kim ve Goodfellow, 1999; Li ve diğ., 2003b).

Difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamin ve fosfatidilmetiletanolamin içermektedir. Mikolik asit içermez. Baskın menakinon olarak, MK9 (H<sub>2</sub>) ve MK9 (H<sub>4</sub>) içermektedir (Schäfer ve diğ., 2010).

*Prauserella* cinsine ait olan iki halofilik tür olan *P. halophila* ve *P. alba* tuzlu topraktan, diğer halofilik türler olan *P. salsuginis*, *P. flava*, *P. aidingensis*, *P. sediminis* ise Çin'de bir tuz gölünden izole edilmiştir (Li ve diğ., 2003b; 2009). Günümüzde 9 tane *Prauserella* türü karakterize edilmiştir (URL-8, <http://www.bacterio.net/prauserella.html>).

#### **2.5.5 *Saccharomonospora* cinsi**

Nonomura ve Ohara (1971), *Actinomycetales* takımına ait olan *Pseudonocardiaceae* familyası içinde *Saccharomonospora* cinsini tanımlamıştır. Aerial hifler üzerinde tek sporlar baskın olarak bulunurken bazen de çift spor ya da kısa zincirler oluşturmaktadır. Cinsin üyeleri arabinoz ve galaktoz (bazı türlerinde riboz da bulunabilir) şekerleri ile birlikte *mezo*-diaminopimelik asit içermektedir. MK-9(H<sub>4</sub>) baskın menakinonudur (Liu ve diğ., 2010). Mikolik asit bulundurmazlar. Cins üyelerinin çoğunluğu fosfatidiletanolamin (PE) ve difosfatidilgliserolü (DPG)

içermektedir. DNA G+C içeriği % 69-74 arasında değişmektedir. Şu ana kadar cins içerisinde 11 tür tanımlanmış olup bunlar *S. viridis* (Nonomura ve Ohara, 1971), *S. azurea* (Hu, 1987), *S. glauca* (Greiner-Mai ve diğ., 1988), *S. cyanea* (Hu ve diğ., 1988), *S. xinjiangensis* (Jin ve diğ., 1998), *S. halophila* (Al-Zarban ve diğ., 2002b) ve *S. paurometabolica* (Li ve diğ., 2003c), *S. saliphila* (Syed ve diğ., 2008), *S. marina* (Liu ve diğ., 2010) ve *S. oceani* (Zhang ve diğ., 2013a) türleridir. Bu türlerden sadece *S. halophila*, *S. paurometabolica* ve *S. saliphila* halofiliktir. *S. halophila* bu cinsin ilk halofilik türüdür ve Kuveyt'te bir bataklıktan izole edilmiştir (Al-Zarban ve diğ., 2002b). Ayrıca son zamanlarda *S. amisosensis* türü de marin sedimentten izole edilerek tanımlanmıştır (Veyisoglu ve diğ., 2013).

### 2.5.6 *Streptomonospora* cinsi

*Actinomycetales* takımının *Nocardiopsaceae* familyası içerisinde yer alan Gram pozitif, dallanmış hif yapısına sahip aerobik organizmalardır. Aerial miselyum hareketsiz kısa spor zincirleri oluşturmaktadır. Bu kısa zincirlerdeki sporlar oval ya da çubuk şeklinde ve yüzeyleri pürüzlüdür. Substrat miselyumunu yoğun olarak fragment oluşturmayan dallanmış hifler oluşturmaktadır. Hücre duvarı *mezo*-diaminopimelik asit içermektedir. Hücre duvarında galaktoz veya galaktoz ve arabinoz bulunmaktadır. Mikolik asit bulundurmazlar. Fosfatidilgliserol, fosfatidiletanolamin, fosfatidilkolin ve fosfatidilinositol, difosfatidilgliserol, fosfatidilmetiletanolamin ve fosfatidilserin içermektedir. Menakinon kompozisyonu MK-9(H<sub>2</sub>), (H<sub>4</sub>), (H<sub>6</sub>), (H<sub>8</sub>) ile MK-10(H<sub>2</sub>), (H<sub>4</sub>), (H<sub>6</sub>), (H<sub>8</sub>) serilerinin bir ya da daha fazla temsilcisinden oluşmaktadır. DNA G+C içeriği % 69 ile 71 arasında değişmektedir. Tip türü *Streptomonospora salina* YIM 90002<sup>T</sup>'dir (Li ve diğ., 2003d).

*S. nanhaiensis* ve *S. sediminis* türleri marin sedimentten izole edilmiştir (Zhang ve diğ., 2013b). Gram pozitif, dallanmış hifli aerobik olan bu organizmalar % 15 NaCl içeren besiyerlerinde en iyi gelişim göstermiştir. Günümüzde 8 tane *Streptomonospora* türü karakterize edilmiştir (URL-9, <http://www.bacterio.net/streptomonospora.html>). Bunlardan 5'i halofilik 1'i ise halotolerant özelliktedir. Son yapılan bir çalışmada *Nocardiopsis arabia* (Hozzein ve Goodfellow, 2008) türü *Streptomonospora arabica* olarak yeniden sınıflandırılarak isimlendirilmiştir (Zhang ve diğ., 2013b).

### 2.5.7 *Streptomyces* cinsi

*Streptomyces* cinsi, *Actinomycetales* takımında yer alan *Streptomycetaceae* familyasının gram pozitif aerobik üyelerinden oluşmaktadır (Stackebrandt ve diğ., 1997). DNA G+C içeriği % 69 ile 78 arasında değişmektedir. Vejetatif hifler yoğun dallanmış miselyumları nadiren de fragmentleri oluşturmaktadır. Aerial miselyumlar üç ve daha fazla sayıda spor zincirleri meydana getirmektedir.

Katalaz pozitifdir ve genellikle nitratı nitrite indirgerler. Cins düzeyinde suşların tanımlanması için kemotaksonomik özellikler büyük öneme sahiptir. Hücre duvar peptidoglikanı büyük miktarda LL-diaminopimelik asit (LL-A<sub>2</sub>pm) içermektedir. Mikolik asit bulundurmeyen cins üyeleri büyük oranda doymuş *iso*- ve *anteiso* yağ asitlerini içermektedir. Baskın menakinon olarak, MK9 (H<sub>6</sub>) ve MK9 (H<sub>8</sub>) içermektedir. Kompleks polar lipid içeriğini genellikle difosfatidilgliserol, fosfatidiletanolamin, fosfatidilinositol ve fosfatidilinositol mannosit oluşturmaktadır (Kämpfer, 2006).

*Streptomyces*'lerin çok büyük bir kısmı topraktan izole edilirken sucul habitatlarda da geniş dağılım göstermektedirler. Farklı izolasyon kaynaklarından bazıları tatlı su örnekleri ve sedimentleri, derin deniz sedimentleri (Kutzner, 1981), bitkilerin yaprak, gövde ve kökleri (Hasegawa ve diğ., 2006) ve deniz süngerleridir (Xin ve diğ., 2008). *S. chilikensis* (Ray ve diğ., 2013) cinsin halofilik bir türü iken *S. albiacialis* (Kuznetsov ve diğ., 1992) halotolerant bir *Streptomyces* türüdür. Günümüzde 600'den fazla *Streptomyces* türü karakterize edilmiştir (URL-10, <http://www.bacterio.net/streptomyces.html>).

*Streptomyces* cinsinin en önemli özelliği antifungal, antiviral, antitümöral, antihipertansifler, antibiyotikler ve immün sistemi baskılayıcıları üretme yeteneğidir. Günümüzde kullanılan antibiyotiklerin % 80'i *Streptomyces*'ler tarafından sentezlenmektedir (de Lima Procopio ve diğ., 2012).

## 2.6 Halofilik Bakterilerin Hücresel Yapıları

### 2.6.1 Halofilik bakterilerin hücre duvar yapıları

*Halomonas elongata* türünün hücre zarı, hücrelerin geliştiği tuz konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak onun hidrofobitesinde belirgin değişimler göstermektedir. Yüksek NaCl konsantrasyonlarında yüklü fosfolipitlerin artışı hidrofilik eğilimi açıklayabilmektedir. Hidrofilik hücre yüzeyi yüksek tuzluluğa sahip suyun az olduğu

ortamlarda hücreyi su molekülü açısından daha cazip hale getirmekte ve bu şekilde hücrenin su kaybını önlemektedir.

*Halomonas* cinsinin peptidoglikan tabakasının ilgi çekici bir özelliği de hidrofobik yapıdaki lösün amino asitinin varlığıdır. Hidrofobik lösün amino asiti tüm hücre duvarı hidrofobisitesine katkı sağlamaktadır.

Fotosentetik mor sülfür olmayan bir bakteri olan *Rhodothalassium salexigens*'in hücre duvarı periyodik aralıklı alt ünitelerce oluşturulmuş bir S tabakasıyla çevrilidir ve hücre duvarında hiç lipopolisakkarit yer almamaktadır.

Halofilik aktinomisetlerden *Actinopolyspora halophila*'nın hücre duvarı geleneksel bir peptidoglikan hücre duvar yapısına sahiptir. Hücre duvar yapısı *Micropolyspora* ve *Saccharomonospora* cinslerindeki gibi kemotip IV hücre duvar yapısına benzemekte olup hücre duvarında mikolik asit bulunmamaktadır (Oren, 2002a).

### **2.6.2 Halofilik bakterilerin ekstraselüler kapsülü**

*Halomonas eurihalina* ilginç özelliğe sahip bir ekzopolisakkarit üretmektedir. Bunun % 42'si karbohidrat ve % 15'i proteinden oluşmaktadır. Kalan kısmın yapısı bilinmemektedir. Polimer oldukça vizkoz (özellikle asidik pH'da) ve termostabildir (Oren, 2002a). Tanımlanan başka bir ekzopolisakkarit üreticisi ise *Halomonas maura* türüdür (Bouchotroch ve diğ., 2001).

### **2.6.3 Halofilik bakterilerde kamçı**

Kamçı ile hareket farklı halofilik bakteri grupları arasında oldukça yaygındır. Özellikle kalın, kılıflı polar kamçı haloalkalifilik fotosentetik sülfür bakterisi *Halorhodospira abdelmalekii*' de görülmektedir (Oren, 2002a).

### **2.6.4 Sitoplazmik membran ve lipitleri**

Halofilik bakterilerin sitoplazmik membran özellikleri, iyon geçirgenliği ve integral membran proteinlerinin aktivitesi gibi fonksiyonları ayarlamak amacıyla dış kısımdaki tuz konsantrasyonu büyük ölçüde düzenlenmektedir.

Hücre membranının özelliklerindeki tuza bağlı değişimler, hem membran yapısında baskın olan fosfolipid tipleri düzeyinde hem de lipitlerdeki yağ asidi zincir tipleri bakımından tanımlanmıştır (Oren, 2002a).

### 2.6.5 Halofilik bakterilerin polar lipitleri

Çoğu türde bulunan temel polar lipitler fosfatidilkolin (PC) ve fosfatidiletanolamin (PE) dir. Difosfatidilgliserol (kardiolipin, CL) ve glikolipitler gibi ilave lipit tipleri de bulunabilir. Genellikle tuzluluk oranı arttıkça negatif yüklü fosfolipitler (PC, CL), nötral fosfolipitlerin (PE) seviyesine kadar artmaktadır.

Gram pozitif halofilik bakterilerde tuzluluk attıkça anyonik lipit kısmındaki artış genellikle difosfatidilgliserol (kardiolipin, CL) düzeyindeki bir artıştan kaynaklanmaktadır (Oren, 2002a).

### 2.6.6 Halofilik bakterilerin yağ asitleri

Çubuk şekilli gram negatif halofilik bakteriler (*Halomonas*, *Chromohalobacter* ve benzerleri) membran lipidlerinde genellikle düz zincirli doymuş ve tekli doymamış yağ asitlerini (C<sub>16:0</sub>, C<sub>16:1</sub> ve özellikle C<sub>18:1</sub>) içermektedir. Siklopropan yağ asitlerinin varlığı çok sayıda izolatta belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonundaki artış ile dallanmış yağ asitlerinin miktarı azalırken siklopropan yağ asitleri ve doymamış yağ asitleri genellikle artmaktadır. Siklopropan yağ asitleri tekli doymamış bir yağ asitinin çift bağının karşısına bir metil grubunun eklenmesi ile sentezlenmektedir.

Gram pozitif cinsler olan *Marinococcus*, *Nesterenkonia* ve *Halobacillus* cinslerinde C<sub>15:0</sub> ve C<sub>17:0</sub> gibi doymuş yağ asitleri baskındır (Oren, 2002a).

### 2.6.7 Halofilik bakterilerde solunum kinonları

Ubikinon ve menakinon tipte izoprenoid kinonlar halofilik bakterilerde tespit edilmiştir. Ubikinonlar (Q-7, Q-8 ve Q-9) halofilik *Proteobacteria*'da farklı miktarlarda bulunur. *Salinivibrio costicola* hem ubikinonları (Q-8) hem de menakinonları (MK-8) içermektedir (Oren, 2002a). *Actinopolyspora halophila*'da kısmen hidrojenlenmiş menakinonların kompleks bir karışımı ve 9 izopren birimi ile tetrahidro-menakinonlar (MK-9 H<sub>4</sub>) baskın durumdadır (Collins ve diğ., 1981).

### 2.6.8 Fotosentetik membranlar

Fotosentetik prokaryotlar, hücre içi membran sistemlerine sahiptir. Grup içinde halofilik temsilcileri olan *Cyanobacteria*, intraselüler tilakoidleri içermektedir. Hücre içi fotosentetik membranların çok farklılık gösteren tipleri halofilik anoksijenik fotosentetik bakteriler arasında görülmektedir. *Halochromatium* ve *Thiohalocapsa* cinsleri veziküler tip hücre içi membrana sahiptirler. Veziküler tip fotosentetik

membran aynı zamanda *Rhodovibrio salinarium* ve *Rhodovibrio sodomensis*'de bulunur. *Rhodothalassium salexigensis* sitoplazmik membrana paralel yer alan fotosentetik membrana sahiptir. Tilakoidimsi membranlar orta derecede halofilik *Ectothiorhodospira* ve gerçek halofilik *Halorhodospira*'da görülür. Tüm tilakoidlerde ışıklandırma periplazmik boşluk ile yapılmaktadır (Oren, 2002a).

### 2.6.9 Gaz vezikülleri

Halofilik *Archaea*'da gaz veziküllerine sıklıkla rastlanırken halofilik bakterilerde gaz vezikülleri nadiren görülmektedir. *Cyanobacteria*'ya ait gerçek halofilik temsilciler gaz vezikülleri içermemektedir. *Ectothiorhodospira vacuolata* gaz vezikülleri üretmektedir. Ancak *Ectothiorhodospira vacuolata* hafif derecede halofiliktir ve sadece 10-60 g/l NaCl'de gelişim göstermektedir.

*Sporohalobacter lortetii* ve *Orenia sivashensis* gaz veziküllerine sahip değildir (Oren, 2002a).

### 2.6.10 Endosporlar

Isı toleransına sahip endosporlar bazı halofilik bakteri gruplarınca üretilmektedir. *Clostridiaceae* (*Clostridium halophilum* ve *Desulfotomaculum halophilum*), *Halanaerobiaceae* (*Natroniella acetigena*), *Halobacteroidaceae* (*Sporohalobacter lortetii*, *Orenia* türleri, *Halonatronum saccharophilum*), *Bacillaceae* (*Bacillus*, *Gracilibacillus*, *Halobacillus* ve *Salibacillus*) üyelerinde endospor oluşumu görülmektedir (Oren, 2002a).

## 2.7 Yüksek Tuzlu Çevrelere Adaptasyon

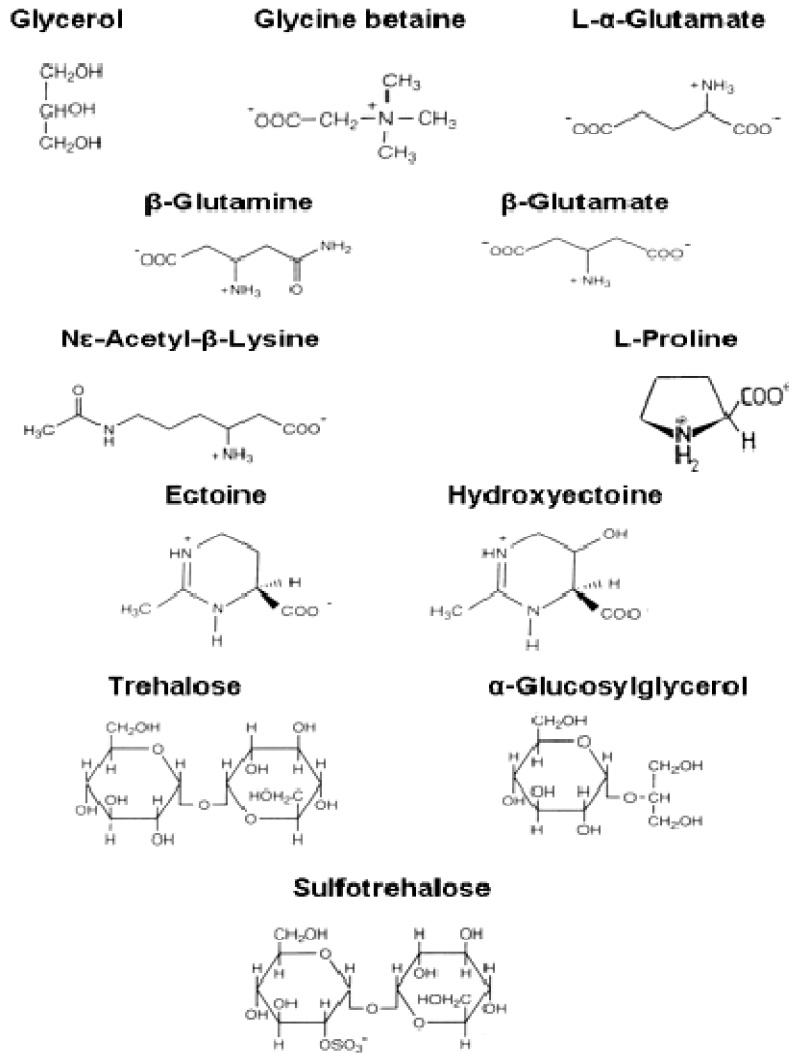
Biyolojik membranlar suya karşı geçirgendir. İlave bir turgor basıncı meydana geldiğinde sitoplazma dış ortama karşı hiperozmotik tutulmaktadır. *Halobacteriaceae* familyasında yer alan halofilik *Archaea*'de önemli bir turgor basıncı bulunmamaktadır fakat diğer halofilik mikroorganizmaların halofilik olmayanlarınkine benzer şekilde bir turgor basıncına sahip olması beklenmektedir (Oren, 2008).

Ortam ile sitoplazmaları arasında ozmotik dengeyi sağlamak için halofilik mikroorganizmalar tarafından kullanılan iki farklı strateji bulunmaktadır. Bunlardan birincisi potasyum ve klor birikimi diğeri ise organik ozmotik çözücünün birikimi ve

biyosentezine dayanmaktadır. İlk stratejiye göre, doymuşa yakın tuz konsantrasyonlarında proteinlerin özel konformasyonları ve aktivitelerini devam ettirebilmeleri ve hücre içi enzimatik sistemin adaptasyonu için bu strateji gerekmektedir (Lanyi, 1974). Böyle organizmaların proteomu oldukça asidiktir ve çok sayıda protein düşük tuz konsantrasyonunda denatüre olmaktadır. Böyle yüksek tuz konsantrasyonunda yaşayan mikroorganizmalar düşük tuz konsantrasyonunda hayatta kalamazlar. *Halobacteriaceae* familyasına ait ekstrem halofilik arkelerden iyi bilinenleri *Halobacterium salinarum* ve *Haloarcula marismortui* gibi türlerdir. Bunlar bir hücrenin yaşamı üzerinde yüksek hücre içi KCl konsantrasyonun sürdürülmesinin etkilerini incelenmesinde popüler model organizmalardır. Tuz adaptasyon stratejisi aerobik halofilik arkelerde sınırlıdır. Anaerobik fermentatif *Halanaerobiales* (Bacteria, *Firmicutes*) ordosuna ait mikroorganizmalar sitoplazmalarını ozmotik olarak dengelemek için organik çözücülerden ziyade KCl kullanmaktadır ve tuz varlığını tolere edebilmek için intraselüler mekanizmalarının adaptasyonu sağlanmıştır (Oren, 1986; 2006b). Doğada çok daha yaygın olan haloadaptasyonun ikinci stratejisi organik ozmotik çözücünün birikimi ve biyosentezine dayanmaktadır. Bu stratejiyi kullanan hücreler mümkün olduğu kadar fazla tuzu sitoplazmalarından çıkarmaktadır. Yüksek konsantrasyonda organik stabilize edici maddeler normal enzimatik aktiviteye büyük ölçüde engel olmamaktadır. Hücre proteinlerinin birkaç adaptasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. Böyle organizmalar çoğunlukla geniş tuz konsantrasyon aralığına şaşırtıcı bir şekilde adapte olabilmektedir (Ventosa ve diğ., 1998).

Çok sayıda stabilize edici ajan amino asit, amino asit türevleri, şekerler ya da şeker alkollere dayanmaktadır (Galinski, 1986; Roberts, 2006). Çoğu ya yüksüz ya da çift yüklüdür. Organik maddelerin en büyük çeşitliliği bacteria domaininde belirlenmiştir. Bazı bileşikler çok sayıda organizma tarafından kullanılmaktadır. Glisin betain çok farklı tipte organizma tarafından ozmotik madde olarak kolaylıkla kullanılmaktadır (Imhoff ve Rodriguez-Valera, 1984). Heterotrofik *Actinopolyspora halophila*'da (*Actinobacteria*) glisin betain biyosentezinin varlığı uzun zaman önce keşfedilmiştir. Bacteria domaininde stabilize edici madde olarak glisin betainden çok daha fazla bulunanları ise siklik amino asit türevleri olan ektoin ve hidroksi ektoindir. *Ectothiorhodospira -Halospira* grubunun anoksijenik fototroflarda orijinal olarak keşfedilmiştir (Galinski, 1986). Ektoinin şimdilerde çok sayıda aerobik heterotrofik bakteri tarafından sentezlendiği bilinmektedir (Ventosa ve diğ., 1998; Roberts,

2005). Ektoin ayrıca son zamanlarda halofilik metanotrof ve metilotroflarda majör ozmotik madde olarak tanımlanmıştır. Bazı bileşikler filogenetik ağaç boyunca yayılmış olmasına rağmen diğer maddeler bazı mikroorganizma gruplarına özgü olabilmektedir (**Şekil 2.6**). Örneğin, glukozilgliserol sadece orta derecede halofilik ya da oldukça halotolerant siyanobakterilerde bulunmaktadır. Ancak bazı pseudomonadlarda da belirlenmiştir. Ne-asetil- $\alpha$ -lizin ve N $\delta$ -asetilornitin *Firmicutes* içerisinde sadece aerobik üyelerde tespit edilmiştir. Diğer bir bileşik olan prolin özellikle *Firmicutes* içerisinde bulunmaktadır (Pocard ve diğ., 1994; Mikkat ve diğ., 2000). Aynı zamanda halofilik/halotolerant diatomlarda bulunmaktadır (Kulhmann ve Bremer, 2002; Saum ve Müller, 2007). *Bacillus subtilis*'te ozmotik amaçlar için prolin üretiminde rol alan özel bir biyosentetik yol belirlenmiştir (Belitsky ve diğ., 2001).



**Şekil 2.6.** Bazı ozmotik olarak stabilize edici bileşikler (Oren, 2008)

## 2.8 Halofillerin Biyoteknolojik Uygulamaları

Termofil ve alkalifiller gibi ekstremofilik mikroorganizmaların diğer grupları ile kıyaslandığında üç domaindeki halofiller biyoteknolojik uygulamalarda nispeten daha az kullanılmaktadır.

### 2.8.1 Ekstraselüler enzimler

Yıllardır tuzlu topraklardan izole edilen halofilik ve halotolerant mikroorganizmaların farklı enzimleri tanımlanmıştır. Bu enzimler yiyeceklerin işlenmesi, biyosentetik işlemler ve yıkama gibi endüstriyel işlemlerde kullanılabilir. Halofilik enzimler yüksek tuz konsantrasyonunda aktif ve stabildir. Halofilik enzimler ozmotik strese karşı çıkmasını sağlayan spesifik moleküler özellikler göstermektedir. Genellikle bu enzimler yüzeylerinde çok miktarda asidik rezidü, fazla miktarda bazik rezidü az miktarda da hidrofobik rezidü bulundurmaktadır (Ventosa ve diğ., 2008).

Halofilik enzimler yüksek tuz konsantrasyonunda aktif ve stabildir. Halofilik enzimler ozmotik strese karşı çıkmasını sağlayan spesifik moleküler özellikler göstermektedir. Genellikle bu enzimler yüzeylerinde çok miktarda asidik rezidü, fazla miktarda bazik rezidü az miktarda da hidrofobik rezidü bulundurmaktadır (Ventosa ve diğ., 2008).

Tuzlu topraklardan izole edilen birkaç halofilik bakteri tarafından amilaz enzimleri üretilmektedir. *Nesterenkonia halobia* aktivite gösterebilmesi için yüksek tuza bağımlılık gösteren bir amilaz enzimi üretmektedir. Böylece yüksek konsantrasyonda NaCl ya da KCl bulunmadığında enzim aktivitesini kaybetmektedir (Ventosa ve diğ., 2008). Keratinaz aktivitesi, tuzlu bataklık topraklardan izole edilen *Nocardiopsis halotolerans* ve *Saccharomonospora halophila*'da belirlenmiştir (Al-Zarban ve diğ., 2002a, b).

### 2.8.2 Uyum bileşiklerinin üretimi

Uyum bileşikleri, ozmotik dengeyi sağlamak için halofilik ve halotolerant bakteriler tarafından hücre içerisinde biriktirilen polyoller, amino asitler, şekerler ve betainler gibi düşük molekül ağırlıklı organik bileşiklerdir. Bu bileşikler enzim, nükleik asit, membran ve yüksek sıcaklık, kuruma ve donma gibi streslere karşı tüm hücreyi korumak için dengeleyici olarak görev yapmaktadır (Ventosa ve diğ., 2008).

Ektoinler yüksek tuz konsantrasyonunda gelişen bakteriler tarafından biriktirilen baskın olarak bulunan bir ozmolit sınıfını oluşturmaktadır. Ayrıca ektoin ve ektoin türevlerinin kozmetikte nemlendirici olarak patenti alınmıştır (Ventosa ve diğ., 2008). Stabilize edici bileşik olan ektoin çok sayıda kozmetik ve cilt bakım

ürünlerinde etken maddedir. Artan oranda tıbbi uygulamalarda önem kazanmıştır (Graf ve diğ., 2008). İlaveten, ektoin biyomoleküller için bir koruyucu ve PCR ile DNA mikroarray teknikleri gibi moleküler biyoloji uygulamalarında geliştirici-aktive edici (enhansır) olarak kullanılmaktadır (Mascellani ve diğ., 2007; Schnoor ve diğ., 2004).

Nakayama ve diğ. (2000) kültür edilmiş tütün bitkisinde ektoin biyosentetik genlerini ekspreslemiştir ve hiperozmotik basınca karşı transgenik bitki toleransında bir artış elde edilmiştir. Özellikle kurak ve yarı kurak topraklarda çevresel stresin bitki büyüme ve verimliliği sınırlandırmasını önlemede ektoin biyosentetik genleri kullanılabilir.

Çoğu alkalifiller aynı zamanda halofilik olup deterjan, tekstil endüstrisi ve diğer işlemlerde kullanılan çok sayıda yararlı enzim tuzlu alkali göllerde büyüyen bu özellikteki bakterilerden elde edilmiştir (Yanhe ve diğ., 2010).

### **2.8.3 Ekzopolisakkaritlerin üretimi**

Tuzlu topraklardan izole edilen bazı ılımlı halofilik bakteriler ekzopolisakkaritler üretilebilmektedir. Ekzopolisakkaritler hem akışkanlık hem de sıvılaştırma özellikleri nedeniyle biyoteknolojik bir öneme sahip olmaktadır. Ekzopolisakkaritler tıp, eczacılık, gıda maddeleri, kozmetikler ve petrol endüstrisinde kullanılabilir.

Fas'ta bir tuzludan alınan toprak örneklerinden izole edilen *Halomonas maura* bir ekzopolisakkarit üretmektedir. Bu polimer oldukça viskoz özelliindedir (Ventosa ve diğ., 2008).

### **2.8.4 Karotenoidlerin üretimi**

Hipersalin habitatlarda yaşayan çok sayıda haloarke çoğu tuzla ve hipersalin göllerde kırmızı renk oluşumunu sağlayan karotenoidleri sentezlemektedir. Karotenoidlerin eczacılıkla ilgili endüstride ya da hayvan gıdalarında besin katkıları, gıda renklendiriciler olarak kullanılmaktadır (Ventosa ve diğ., 2008).

### **2.8.5 Toksik bileşiklerin biyodegradasyonu**

Pestisitler, herbisitler ve farmasötik ürünlerin üretimi gibi endüstriyel işlemlere ilaveten kağıt fabrikası ve petrokimyasal endüstriler, toksik bileşikleri içeren farklı tuz oranlarında atık sular üretmektedir. Tuzlu ortamlarda aromatik bileşikleri parçalayabilme yeteneklerinin belirlenmesinden sonra halofilik bakterilerin değişik

endüstriyel uygulamalar sonunda oluşan tuzlu atık suların arıtımında uygulanabilirliği ve tuzlu toprakların mikrobiyal çeşitliliği ile ilgili çalışmalarda önemli artış gözlenmektedir. Yeraltındaki tuzlu sudan izole edilmiş ılımlı halofilik bir bakteri olan *Arhodomonas aquaeoli* areobik olarak yağı degrade etme yeteneğine sahiptir (Ventosa ve diğ., 2008).

Halofilik bakteriler, doğada aromatik bileşiklerin biyolojik yıkımında görev almaktadırlar (Nicholson ve diğ., 2004; Garcia ve diğ., 2005; Cuadros-Orellana ve diğ., 2006). İki yeni ılımlı halofilik bakteri olan *Halomonas organivorans* ve *Thalassobacillus devorans* tuzlu topraklardan izole edilmiştir. *Halomonas organivorans* çeşitli organik bileşikleri (benzoik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, sinamik asit, salisilik asit, fenilasetik asit, fenilpropionik asit, fenol, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve *p*-aminosalisilik asit) kullanma yeteneğine sahip gram negatif bir bakteridir. *Thalassobacillus devorans* kontamine olmuş fenol bakımından zengin hipersalin topraklardan izole edilen gram pozitif bir bakteridir. Her iki yeni tür de kontamine olmuş hipersalin habitatların biyodegradasyonu için kullanılma potansiyeline sahiptir (Ventosa ve diğ., 2008).

Son zamanlarda Kleinsteuber ve diğ. (2006) Arjantin'deki Comodoro Rivadavia yakınındaki yüksek toprak tuzluluğuna sahip petrol üretiminde kullanılan bir bölgeyi mikrobiyolojik yönden araştırmışlardır.

Bunların yanı sıra, ağır metallere toleransı olan halofilik bakteriler kirlenmiş tuzlu ortamlarda indikatör organizmalar olarak kullanılabilir. Tuzlu topraklardan izole edilen bazı halotolerant ve halofilik bakteriler Co, Ni, Cd ya da Cr gibi yüksek konsantrasyondaki farklı metallere karşı tolerans göstermektedir (Ventosa ve diğ., 2008).

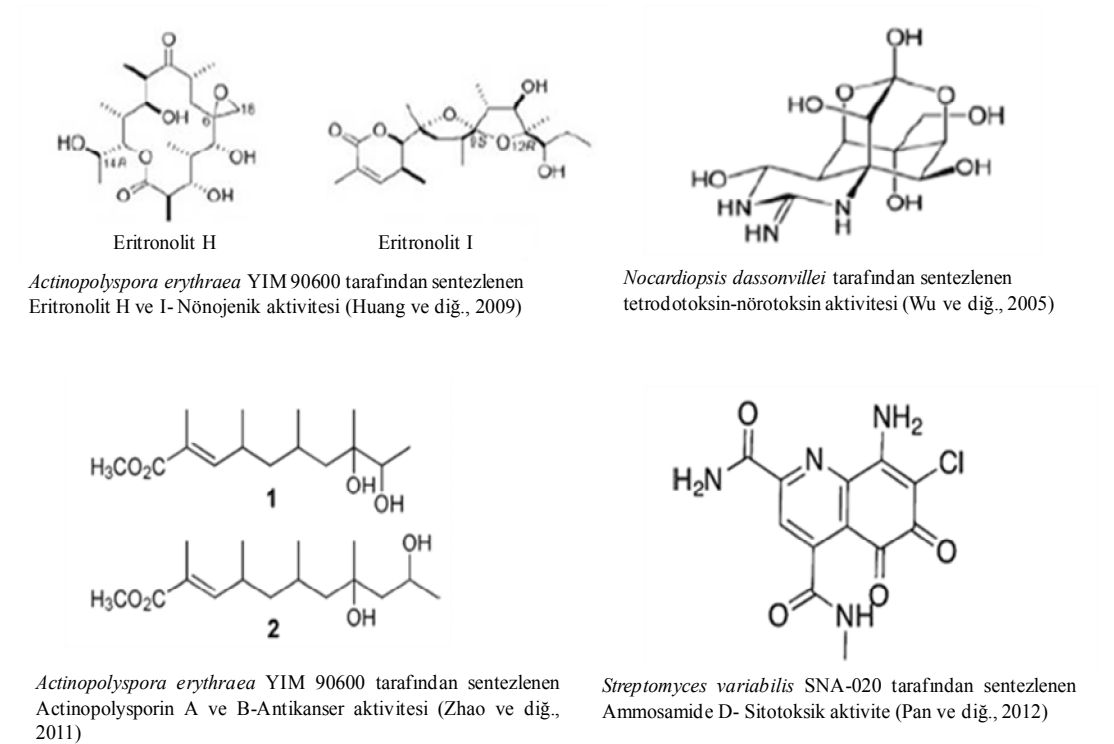
### **2.8.6 Sekonder metabolit üretimi**

Halofilik aktinomisetler yeni antibiyotiklerin üretimi için bir kaynak olarak görülmektedir. *Actinopolyspora*, *Nocardiopsis*, *Saccharomonospora* ve *Streptomyces* cinslerine ait halofilik aktinomiset türleri ürettikleri sekonder metabolitler bakımından oldukça önemlidir (Hamedi ve diğ., 2013; Yanhe ve diğ., 2010).

Alkali bir topraktan izole edilen halofilik ve alkalifilik bir aktinomiset olan *Streptomyces sannanensis* RJT-1 izolatının gram pozitif bakterilere karşı aktivite gösteren potansiyel bir antibiyotik üreticisi olduğu belirtilmiştir (Hamedi ve diğ., 2013).

Dimerik diazobenzofluorene glikozit yapıya sahip olan Lomaivitisin A ve B, *Micromonospora lomaivitiensis* LL-371366 türü tarafından üretilen güçlü sitotoksik metabolitlerdir (Hamedi ve diğ., 2013).

Ekstremofil aktinomisetler aynı zamanda antifungal metabolitler bakımından keşfedilmemiş bir kaynaktır. Bazı halotolerant *Streptomyces* izolatlarının tütün mozaik virüsü (tobamovirus) ve patates çizgi virüsüne (Y potyvirus) karşı antiviral aktivitesi bulunmaktadır. Bazı halofilik ve halotolerant aktinomisetler tarafından sentezlenen biyoaktif metabolitler **Şekil 2.7'**de verilmiştir (Hamedi ve diğ., 2013).



**Şekil 2.7.** Bazı halofilik ve halotolerant aktinomisetler tarafından sentezlenen biyoaktif metabolitler (Hamedi ve diğ., 2013)

## 2.9 Bakteriyel Sınıflandırmada Polifazik Yaklaşım

Polifazik yaklaşım, moleküler tekniklerle elde edilen bilgilere ilaveten morfolojik ve biyokimyasal verilere dayanarak bakteriyel türleri ayırmak için kullanılmaktadır (Prakash ve diğ., 2007).

## 2.9.1 Genotipik metotlar

Bakteriyel tür tanımı için önceleri çok sayıda tanımlama yapılmış fakat 16S rRNA gen dizileme ve DNA-DNA hibridizasyonu gibi genotipik metotların ortaya çıkışı ile bakteriyel tür kavramı yeniden düzenlenmiştir.

Bir bakteriyel tür, fenotipik ve kemotaksonomik özellikler bakımından uyumlu olan, % 70 ve yukarısında DNA homoloji değeri veren, 5°C veya daha az  $\Delta T_m$  değeri gösteren organizma grubu olarak tanımlanmaktadır. Bunlara ilaveten 16S rRNA gen dizi analizi (>% 97) ile elde edilen verilerle de desteklenmektedir. 16S rRNA gen dizi analizine göre % 3'ten daha fazla dizi uyumsuzluğu gösteren bakteriyel suşların farklı tür olduğu düşünülmektedir.

DNA temelli moleküler tekniklerdeki ilerlemeler bakteriyel tanımlama sistemini kökten değiştirmiştir. Bu teknikler Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Plazmit Profillemesi, Ribotiplendirme, Çoğaltılmış Ribozomal DNA Restriksiyon Analizi (ARDRA), Değişken Alanlı (Pulsed Field) Jel Elektroforezi (PFGE) ve Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA'dan (RAPD) oluşmaktadır.

Klasik olarak, alt tiplendirme biyokimyasal (biyotiplendirme), serolojik (serotiplendirme), faj ve antibakteriyosin tiplendirme metotları ile gerçekleştirilmektedir. Fakat DNA temelli tiplendirme metotları çoğaltılabilirliği, kolaylığı ve yüksek ayırım gücü sayesinde daha popüler ve büyük oranda kabul edilebilir olmaktadır (Prakash ve diğ., 2007).

### 2.9.1.1 16S rRNA dizileme ile filogenetik ilişkinin ortaya çıkarılması

1980'lerde, genomun korunmuş bölgesi esas alınarak yapılan filogenetik karşılaştırmaların sadece fenotipik ve diğer özelliklere dayanarak yapılan sınıflandırmadan daha kararlı sonuçlar verdiğini ortaya çıkarmıştır. Bundan dolayı, filogenetik karşılaştırma yapmak için rRNA moleküllerinin kullanımı yaygınlaşmıştır. 5S, 16S, 23S gibi rRNA molekülleri ve bunlar arasındaki boşluklar filogenetik analizler için kullanılabilir. Fakat 5S rRNA (120 bç) ve 23S rRNA (3300 bç) moleküllerinin kullanımı sınırlıdır. 16S rRNA geni (1650 bç) mikrobiyal sistematik alanında en yaygın kullanılan markırdır.

16S rRNA gen dizisi, 16S rRNA molekülünün organizmalar arasında uygun varyasyon düzeyini temsil eden değişim (evolüsyon) oranı, horizontal gen

transferinin olmaması, protein sentezinde ribozomun esas rolü, oldukça korunmuş yapısı ve evrensel dağılımı nedeniyle bakteriler arasındaki filogenetik ilişkinin ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır.

16S rRNA gen dizisi Ribosomal Database Project II (<http://rdp.cme.msu.edu/>) ve Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) gibi veritabanlarında depolanmaktadır. Bakteriyel türler arasındaki ilişkinin derecesi PAUP, PHYLIP ve MEGA 4, 5 gibi ağaç oluşturma programları kullanılarak filogenetik ağaç ya da dendogram oluşturulması ile incelenebilmektedir. Filogenetik ağaçlar en yaygın olarak Neighbour-Joining, Maksimum Parsimoni ve Maksimum Likelihood metotları kullanılarak oluşturulabilmektedir (Prakash ve diğ., 2007).

Ağaç oluşturma metotları hizalanmış sekanslar arasındaki pozisyonel farklılıkların sayısı ve karakteri ilişkinin ortaya çıkarılmasının temelini oluşturmaktadır. Bu primer veri daha sonra evölüsyon modellerine göre ağaç oluşturma algoritmalarını kullanarak işlenmektedir. Genellikle filogenetik analizler değişkenlik ya da benzerlik gibi kriterlere göre pozisyonel seçim ya da ağırlıklandırma olarak incelenebilmektedir.

Neighbor-Joining (Saitou ve Nei, 1987) gibi uzaklık (distance) ağaç oluşturma metodu baz farklılıklarının hesaplanması ve hizalanmış sekansların ikili olarak karşılaştırılması ile elde edilen uzaklık matrisi değerlerine bağlı olmaktadır. Bu ağaç oluşturma programı çoğunlukla tanımlanan çiftler ve son olarak da en düşük uzaklık değerini paylaşan sekans grupları aracılığıyla modifiye küme analizlerini gerçekleştirmektedir. Belirlenen farklılıklar evölüsyon modellerine göre ağaç oluşturmadan önce genellikle evrimsel uzaklık değerlerine dönüştürülmektedir. Jukes Cantor metodu belirlenen uzaklığın daha fazla artmasını sağlamaktadır. Uzaklık metotlarının tersine, maksimum parsimoni temelli ağaç oluşturma yaklaşımları veri girişi olarak orijinal dizi verilerini kullanmaktadır. Maksimum parsimoni kriterlerine göre ağaç oluşturma ve optimizasyon değişiminin en az olduğu bir evölüsyon modele dayanmaktadır. Parsimoni metotları toplam ağaç uzunluğunu en aza indiren ağaç topolojilerini araştırmaktadır. En parsimonik ağaç topolojileri, orijinal dizi verileri ve ağaç topolojisi arasında bağlantı kurmak için minimum sayıda baz değişim tahminine ihtiyaç duymaktadır (Ludwig ve Klenk, 2001).

Maksimum likelihood metodu filogeninin oluşturulmasında en güvenilir istatistiksel yoldur (Felsenstein, 1981). Filogenetik çıkarımda bulunmak için bu yaklaşım bir bölgeden diğerine dizileri analiz ederek belirgin bir evölüsyon modelini

ortaya çıkarmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu metodun amacı en yüksek benzerliğe sahip olan ağacı ortaya çıkarmaktır. Bir filogenetik ağaçtaki dalların diziliminin istatistiksel önemi bootstrap (seç bağla) prosedürü gibi yeniden örnekleme metodu ile test edilebilmektedir (Felsenstein, 1985). Bu yaklaşım rastgele yeniden hizalanan pozisyonlarının bazılarının diğerlerine göre daha sık ortaya çıktığını göstermektedir. Prosedüre göre işlem genellikle alternatif olarak uçları kesilmiş ya da yeniden hizalanmış veri setlerinin 100 ile 1000 defa arasında tekrar edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Bootstrap (seç bağla) tahmininde bir dal ne kadar çok defa ortaya çıkarsa, bu dalın gerçekte var olduğu konusunda güven artmaktadır.

### **2.9.1.2 DNA-DNA hibridizasyonu**

DNA-DNA hibridizasyon tekniği, iki bakteriyel türün tüm genomu arasındaki bir karşılaştırmaya dayanmaktadır. Türlerin açıklanması amacıyla bakteriyel sınıflandırmada DNA-DNA hibridizasyon metodu uygulaması sistematikte Ad Hoc komitesi tarafından değerlendirilmiştir (Stackenbrandt ve diğ., 2002). Bu komitenin önerilerine göre bakteriyel türler genellikle % 70 ve daha yüksek DNA-DNA hibridizasyon değeri ile 5°C ve daha az  $\Delta T_m$  değerlerine sahip organizma grubudur. Fakat bu tekniğin gerçek sekans benzerliğini değil benzerliğin bağıl yüzdesini verdiğine dikkat edilmelidir (Prakash ve diğ., 2007).

### **2.9.2 Kemotaksonomi**

Kemotaksonomi terimi farklı kimyasal bileşenler ya da bakteriyel hücrelerin kemotaksonomik markırları ile ilgili bilgi toplanması için analitik metotların uygulanmasını ifade etmektedir. Kemotaksonomi prensibi farklı mikrobiyal gruplar arasında bu markırların kararsız olarak dağılımına dayanmaktadır. Bu analitik metotların dağılımı gruptan gruba değişmektedir. En yaygın olarak kullanılan kimyasal markırlar peptidoglikan, teikoik asit, polar lipitler, yağ asitlerinin oranı ve kompozisyonu, lipopolisakkarit, izoprenoid kinonlar ve poliaminler gibi hücre duvar/membran bileşenlerinden oluşmaktadır. Teikoik asitler gliserol polimerleridir ve spesifik olarak Gram-pozitif bakterileri karakterize etmek için kullanılmaktadır. Terpenoid lipidlerin bir sınıfına ait olan solunum (respiratory) kinonlar bakteriyel plazma membranının bileşenleridir ve mikrobiyal sistematik açısından önemlidirler. Farklı kromatografik teknikler kullanılarak bu bileşenlerin analizi cins derecesine kadar bakterileri başarılı bir şekilde sınıflandırabilmektedir (Prakash ve diğ., 2007).

### **2.9.3 Fenotipik metotlar**

Fenotip, genotipin gözlenebilir ifadesidir ve organizmanın morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini kapsamaktadır. Moleküler tekniklerdeki ilerlemelerden önce bakteriyel taksonomi yalnızca fenotipik özelliklerin karşılaştırmalı çalışmalarına dayanmaktaydı. Bu tür analizler için klasik mikrobiyal laboratuarda kullanılan geleneksel fenotipik testler, farklı büyüme substratlarında organizmanın büyüme durumu, tuz, pH, sıcaklık gibi farklı şartlarda ve farklı türde antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılıkları üzerine mikroorganizmaların büyüme oranlarını gösteren testlerdir.

Fenotipik metotlardaki majör dezavantajlardan biri aynı organizmanın farklı çevresel şartlarda farklı fenotipik karakterler gösterebildiği gen ekspresyonunun şartlı yapısıdır. Nümerik taksonomi prokaryotlar için stabil bir sınıflandırma sisteminin gelişimini desteklemekte ve bu yol aracılığıyla üretilen veri setleri bilginin depolanması ve identifikasyon sistemleri için kullanılmaktadır (Prakash ve diğ., 2007).

### **2.10 Ribozomal Olmayan Peptid Sentetazlar ve Poliketit Sentazlar**

Aktinomisetlerde sekonder metabolit gen kümeleri bazen plazmitler üzerinde bulunabilse de çoğunlukla kromozom üzerinde yer almaktadır. DNA replikasyonu, transkripsiyon, translasyon ve primer metabolizma gibi gerekli fonksiyonları kodlayan kontrol genleri çoğunlukla kromozomun merkezinde konumlanırken, sekonder metabolit gen kümeleri kromozomun uç kısımlarında bulunmaktadır (Osborn, 2010).

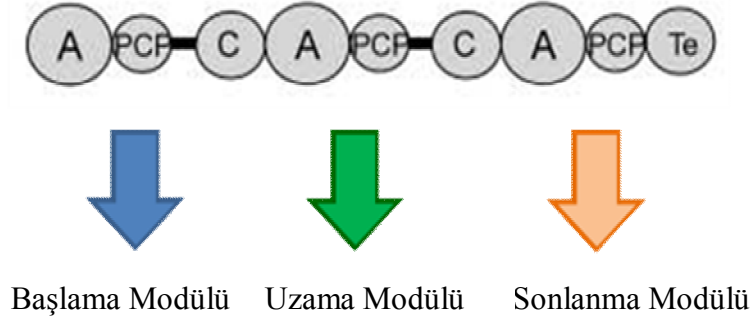
**Çizelge 2.2.** Bazı aktinomisetlerdeki sekonder metabolit gen kümeleri (Nett ve diğ., 2009)

Aktinomiset türleri	Genom büyüklüğü ( $\approx$ )	Sekonder metabolit gen kümelerinin sayısı
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	8,6 Mb	29
<i>Streptomyces avermitilis</i> MA-4680	9 Mb	37
<i>Streptomyces griseus</i> IFO 13350	8,5 Mb	36
<i>Saccharopolyspora erythraea</i> NRRL2338	8,2 Mb	27
<i>Salinispora tropica</i> CNB-440	5,1 Mb	19
<i>Salinispora arenicola</i> CNS-205	5,7 Mb	30

*Streptomyces avermitilis*'in genomunda 37 sekonder metabolit gen kümesi bulunmakta olup bunlar toplam genomun % 7'sini temsil eder. Bu sekonder metabolit gen kümelerinden 13'ü poliketit sentaz, 8'i ribozomal olmayan peptit sentetaz gen kümeleridir. *Salinispora tropica*'da ise 19 sekonder metabolit gen kümesi bulunmaktadır ve toplam genomun % 9'una karşılık gelmektedir. Bu sekonder metabolit gen kümelerinin 6'sı poliketit sentaz ve 3'ü ribozomal olmayan peptit sentetaza ait gen kümeleridir (Nett ve diğ., 2009).

### 2.10.1 Ribozomal olmayan peptit sentetazlar (NRPS)

Ribozomal olmayan peptit sentetazlar, peptit sentetaz gen kümeleri tarafından kodlanmaktadır. Protein sentezinde olduğu gibi, bu enzimler de ribozomlarda sentezlenir. Sekonder metabolitlerin sentezi ise peptit sentetazların kalıp olarak kullanılmasıyla sitoplazmada gerçekleşir. Ribozomal olmayan peptit sentetazlar modül olarak adlandırılan alt birimlerden oluşurlar. Modül, son ürünü oluşturmak üzere amino asit eklenmesinden sorumlu olan polipeptit zincirinin bir bölümüdür. Modüller, domain adı verilen bölgelerden oluşmaktadır (**Şekil 2.8**). Domain yapısı ribozomal olmayan peptit sentezinin özel basamaklarını katalizleyen enzimatik birimlerdir (Schwarzer ve diğ., 2003).



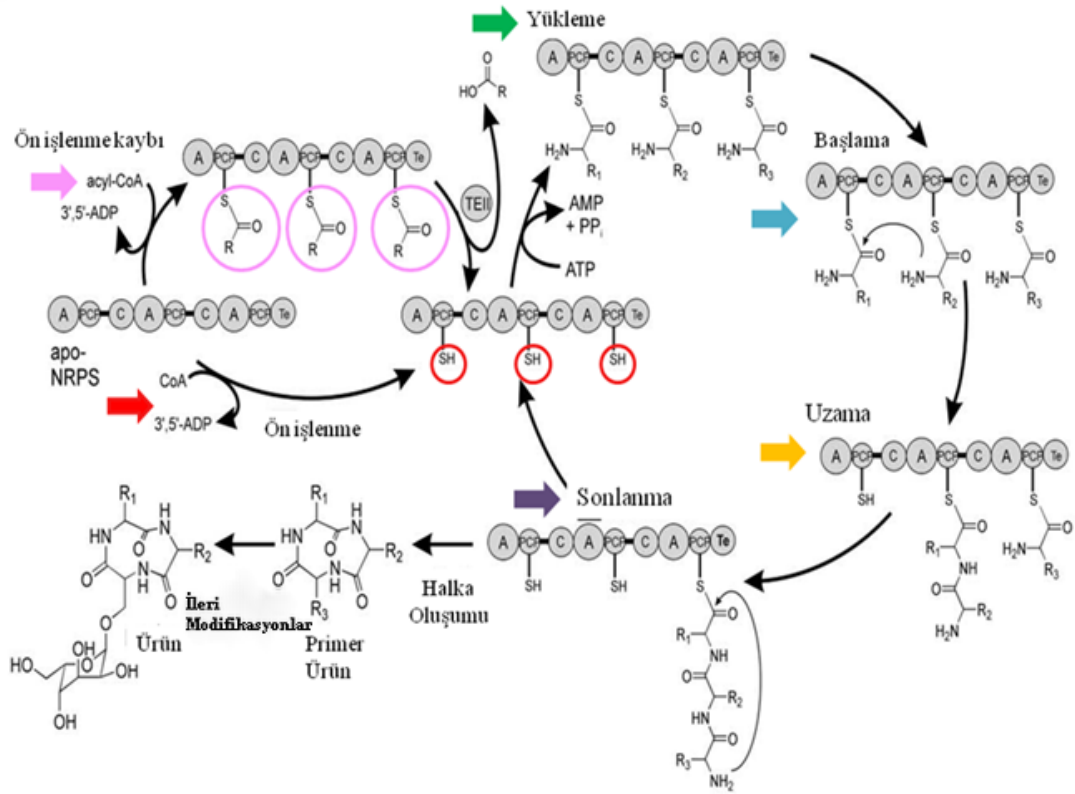
**Şekil 2.8.** Ribozomal olmayan peptit sentetazlardaki modül yapısı (Schwarzer ve diğ., 2003)

Ribozomal olmayan peptit sentetazlar temel olarak Adenilasyon (A), Peptidil taşıyıcı protein (PCP) ve Kondensasyon (C) bölgeleri ve ilaveten bir tiyosteraz (Te) bölgesini de içermektedir (Schwarzer ve diğ., 2003). Ayrıca oluşacak ürüne göre, epimerizasyon ve metilasyon gibi bölgeler de modüllerde yer alabilmektedir (Zocher ve diğ., 1997; von Dohren ve diğ., 1999; Weber ve diğ., 2001).

Heterosiklik halka oluşumu bölgesi (Cy) bulunan modülde bu bölge kondensasyon bölgesinin yerine geçmektedir. Hem peptit bağı oluşumundan hem de halka oluşumundan sorumludur. Metilasyon bölgesi tarafından ise metil grubu eklenmektedir. Metil grubu peptit bağı oluşumundan önce ilave edilmektedir. Peptit yapısına D-amino asitlerin eklenmesi, epimerizasyon (E) bölgesi tarafından gerçekleştirilir. Epimerizasyon bölgesi ilgili modülün peptidil taşıyıcı proteininin C-terminal komşusudur (Schwarzer ve diğ., 2003).

### 2.10.1.1 Ribozomal olmayan peptit sentezi mekanizması

Ribozomal olmayan peptit sentezi mekanizması ilk olarak 1971 yılında, yağ asiti sentez mekanizmasını da aydınlatmış olan Fritz Lipmann tarafından ortaya atılmış ve “tiyotemplate mekanizması” olarak adlandırılmıştır. Tiyotemplate Mekanizması; Kalıp görevinin mRNA yerine peptit sentetazın üstlendiği amino asitlerin enzim kompleksindeki tiyol gruplarına bağlanmasıyla peptit yapısının oluştuğu mekanizmadır (**Şekil 2.9**) (Schwarzer ve diğ., 2003).



Şekil 2.9. Ribozomal olmayan peptit sentezi (Schwarzer ve diğ., 2003)

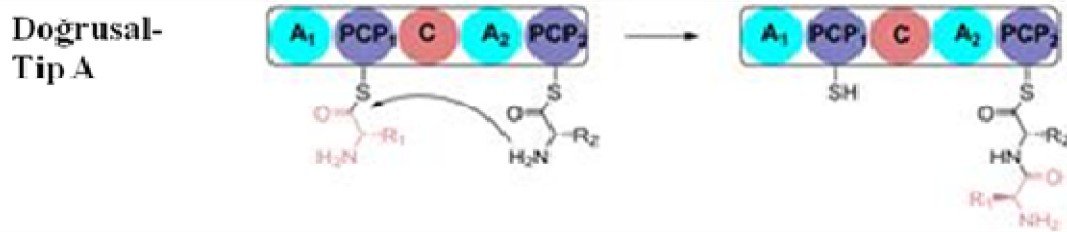
Ribozomal olmayan peptit sentetaz gen kümelerinin transkripsiyonu ve translasyonu sonucunda oluşan enzim yapısı inaktif haldedir. Bu inaktif haldeki enzim yapısını aktive etmek için 4'-fosfopantotein grubunu içeren asetil koenzim A reaksiyona katılır ve 4'-fosfopantoteinil transferaz enzimi peptidil taşıyıcı proteinlerin ucuna 4'-fosfopantotein grubunu transfer eder. Böylece aktif enzim yapısı oluşur. Bu transfer işlemi sırasında 4'-fosfopantotein grubunun yanı sıra asetil grubu da peptidil taşıyıcı proteine eklenirse enzim inaktif halde kalmaya devam eder. Aktive etmek amacıyla tiiyoesteraz tip II enzimi, asetil gruplarını hidroliz ederek ortamdan uzaklaştırır ve sonuçta aktif enzim yapısı oluşur.

Biyosentez işlemi, ön işlem sonucunda başlamaktadır. İlk amino asit birinci modüldeki adenilasyon bölgesi tarafından tanınır ve aktive edilir. Oluşan aktif amino açil adenilat yapısı, peptidil taşıyıcı proteinin tiyol grubuna kovalent olarak bağlanır. Bu ilk modüldeki aktif amino asit, peptidil taşıyıcı proteinin 4'-fosfopantotein grubu yardımıyla kondensasyon bölgesinin alıcı konumuna taşınır ve ikinci modülde bulunan peptidil taşıyıcı proteinin tiyol grubuna bağlı olan diğer aktif amino asit ise kondensasyon bölgesinin verici konumuna taşınır ve kondensasyon bölgesinin alıcı ve verici konumlarındaki amino asitler arasındaki ilk

peptit bağı oluşumu aşaması başlama basamağı olarak adlandırılır. Oluşan ilk peptit zinciri ile diğer modüllerdeki aktifleşmiş amino asitler arasında peptit bağı oluşumu uzama basamaklarıdır. Sonlanma aşamasına gelindiğinde ise uzayan peptit zinciri son modülün en sonunda yer alan tiyoesteraz bölgesi aracılığıyla peptit sentetazdan ayrılır. Sonuçta ya doğrusal ya da halkasal yapıda bir peptit zinciri meydana gelir. Oluşan bu primer yapı bazı modifikasyonlara (glikozilasyon gibi) uğrayabilir (Schwarzer ve diğ., 2003).

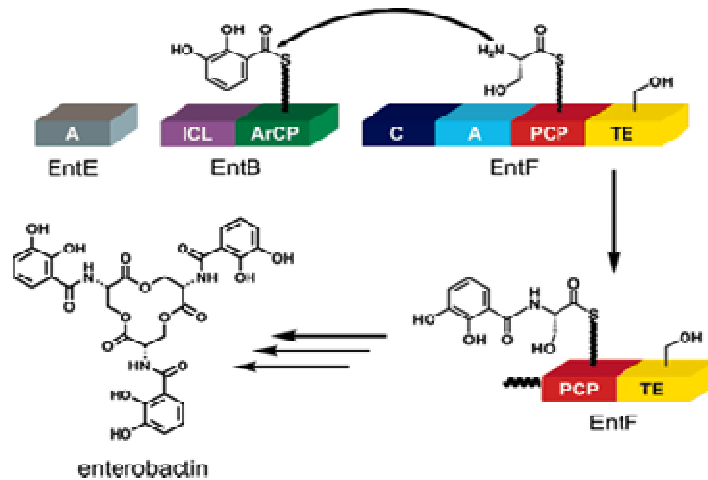
### 2.10.1.2 Ribozomal olmayan peptit sentetaz (NRPS) tipleri

Doğrusal (tip A) peptit sentetazlar, A-PCP-[C-A-PCP] $_n$ -C-A-PCP-Te şeklinde sıralanan peptit sentetazlardır. Bir başlama modülü (A-PCP) sonrasında uzama (elongasyon) modülü (C-A-PCP) ve son olarak bir sonlanma (terminasyon) modülünün (C-A-PCP-Te) sıralı bir şekilde dizilmesi ile oluşan enzim yapısıdır (Şekil 2.10).



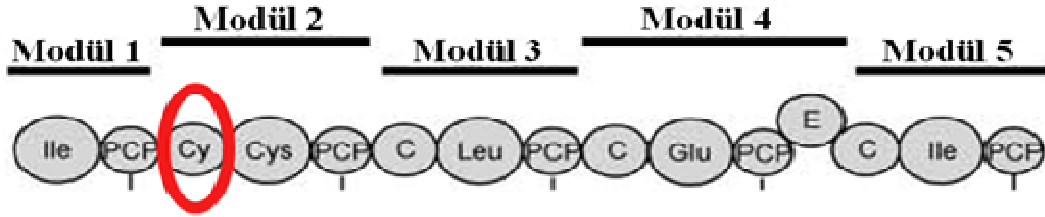
Şekil 2.10. Doğrusal (tip A) peptit sentetazın yapısı (URL-11)

Tekrarlı (tip B) peptit sentetazda ise ürün grubunu tamamlamak için bir defadan fazla modül ve bölge kullanılır. Örneğin, enterobaktin sentetazın yapısı Şekil 2.11'de gösterilmiştir.



Şekil 2.11. Tekrarlı (tip B) peptit sentetazın yapısı (Zhou ve diğ., 2007)

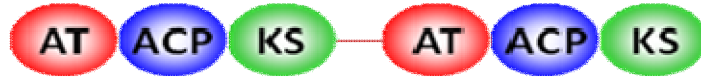
Doğrusal olmayan (tip C) peptit sentetazlar (**Şekil 2.12**), genel modül yapısından farklı özellik içermektedir (Schwarzer ve diğ., 2003).



**Şekil 2.12.** Doğrusal olmayan (tip C) peptit sentetaz yapısı (Schwarzer ve diğ., 2003)

### 2.10.2 Poliketit sentetazlar (PKS)

Poliketit sentazlar da yapısal olarak ribozomal olmayan peptit sentetazlara benzerlik göstermektedir. Poliketitler, farmakolojik olarak önemli yeni antibiyotiklerin kaynağını oluşturur (Hertweck, 2009). Poliketit sentazların modülünde yer alan temel bölgeler açıl transferaz (AT), açıl taşıyıcı protein (ACP) ve ketosentaz (KS) bölgeleridir (**Şekil 2.13**).

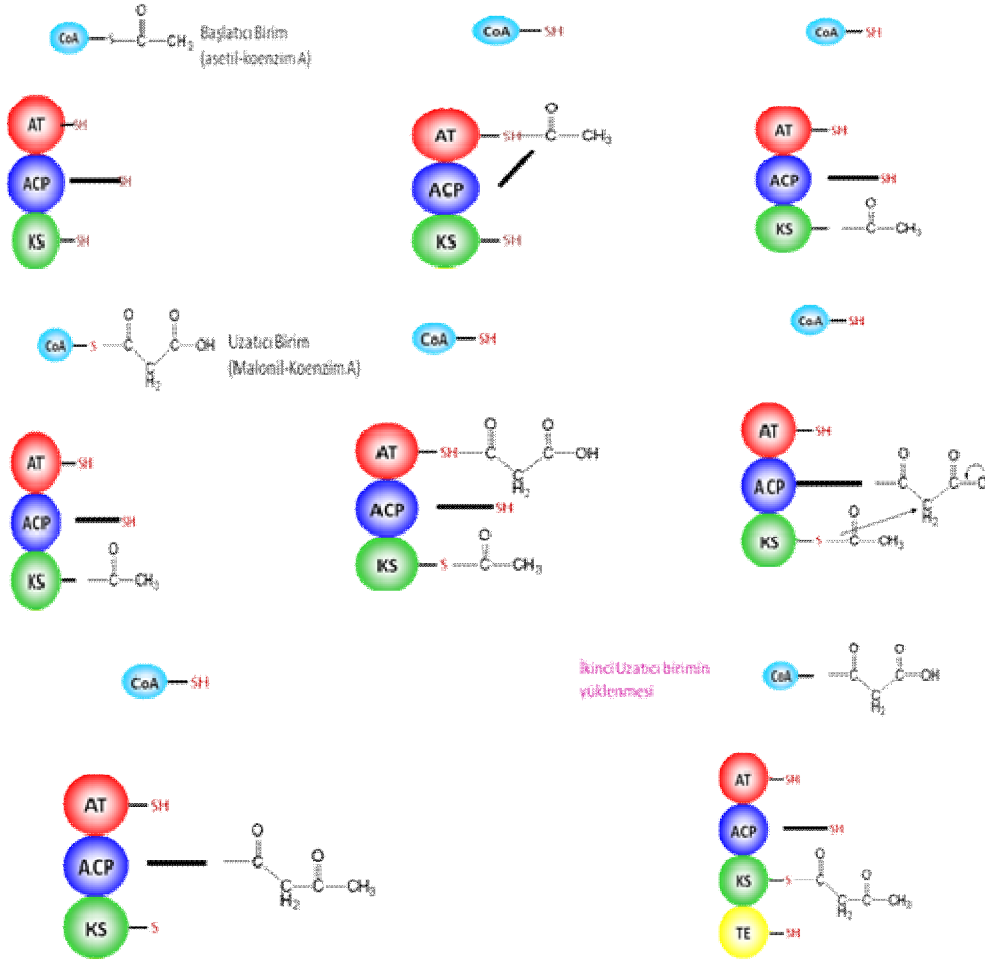


**Şekil 2.13.** Poliketit sentazların modül yapısında bulunan temel bölgeler (URL-12)

Poliketit sentazlarda yer alan ilave modifikasyon bölgeleri ise,  $\beta$ -ketoaçıl redüktaz (KR), dehidrataz (DH), enoil redüktaz (ER), metiltransferazlardır (MET).  $\beta$ -ketoaçıl redüktaz (KR)  $\beta$ -Keton grubunu hidroksil grubuna, dehidrataz (DH) hidroksil grubunu enoil grubuna, enoil redüktaz (ER) enoil grubunu alkil grubuna indirgemektedir. Metiltransferazlar (MET) ise, poliketit zincirine metil grubunu transfer etmektedir (Kroken ve diğ., 2003).

#### 2.10.2.1 Poliketit sentezi

Ribozomal olmayan peptit sentezindeki aminoasitler yerine poliketit sentezinde ise; başlatıcı birimler olarak asetil-koenzim A ve propiyonil-koenzim A; uzatıcı birimler olarak da malonil-koenzim A ve metilmalonil-koenzim A kullanılabilir (**Şekil 2.14**).



Şekil 2.14. Poliketit sentezi (URL-12)

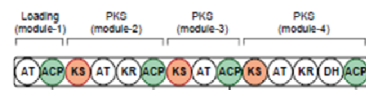

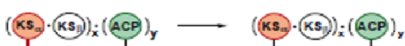

Poliketit sentaz gen kümelerinin transkripsiyon ve translasyonundan sonra sentezlenen poliketit sentaz enzim yapısı inaktif haldedir. Aktif hale dönüştürülme işlemi ribozomal olmayan peptid sentetazdaki gibi gerçekleştirilmektedir.

Sentez için başlatıcı birim açıl transferaz bölgesi tarafından tanınır ve açıl taşıyıcı protein bölgesine transfer edilir. Bu bölge başlatıcı birimi ketosentaz bölgesine aktarır ve birinci uzatıcı birim açıl transferaz bölgesine yüklendikten sonra açıl taşıyıcı protein bölgesine aktarılır ve ketosentaz bölgesinde yer alan başlatıcı birim ile açıl taşıyıcı protein bölgesindeki uzatıcı birim arasında bir dekarboksilasyon olayı meydana gelir. Bu reaksiyon sonucunda C-C bağı oluşur ve 1 mol CO<sub>2</sub> açığa çıkar. Aynı şekilde diğer uzatıcı birimlerde sırasıyla bu poliketit zincirine eklenir. Zincir sonlandırılacağı zaman tiyoesteraz bölgesine aktarılır ve enzim yapısından ayrılır (Weissman ve Leadlay, 2005).

### 2.10.2.2 Poliketit sentaz tipleri

Poliketit sentazlar modüler, tekrarlı tip I, tekrarlı tip II ve tekrarlı tip III poliketit sentazlar olarak ayrılırlar (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Poliketit sentaz tipleri (Watanabe ve Ebizuka, 2004)

Grup	Protein Yapısı	Bulunduğu Organizma
Modüler Tip I Poliketit Sentaz	Çok sayıda modül içeren tek bir proteindir. 	Bakteriler
Tekrarlı Tip I Poliketit Sentaz	Tek bir modül içeren tek bir proteindir. Çok sayıda tekrar eder. 	Funguslar
Tekrarlı Tip II Poliketit Sentaz	Çok sayıda küçük proteinden oluşur. Bölgeler modül içinde değil ayrı olarak bulunurlar. 	Bakteriler
Tekrarlı Tip III Poliketit Sentazlar	Çok sayıda tekrar eden bölge tek bir protein yapısıdır. 	Bitkiler ve Bakteriler

Rapamisin, *Streptomyces hygroscopicus* tarafından modüler tip I poliketit sentaz aracılığıyla sentezlenen bağışıklık sistemi baskılayıcıdır. Lovastatin, *Aspergillus terreus* tarafından tekrarlı tip I poliketit sentaz aracılığıyla sentezlenmektedir. Kolesterol düşürücü bir aktiviteye sahiptir. Tetrasiklin, *Streptomyces rimosus* tarafından tekrarlı tip II poliketit sentaz aracılığıyla sentezlenmekte ve protein sentezini inhibe etmektedir. Antibakteriyel aktiviteye sahiptir. 1,3,6,8-Tetrahydroxynaphthalene (THN) ise, *Streptomyces griseus* tarafından tip III poliketit sentaz aracılığıyla sentezlenme olup melanin biyosentezinde bir ara üründür (Gokhale ve Tuteja, 2001).

## 2.11 NRPS ve PKS Sistemlerine Sahip Olan Mikroorganizmalar ile Sentezledikleri Poliketit ve Peptit Bileşikler

Aktinomisetlerde, *Streptomycetaceae*, *Micromonosporaceae* ve *Pseudonocardiaceae* familyalarına ait türler tarafından çok sayıda peptit ve poliketit sentezlenmektedir. Poliketit sentaz ve ribozomal olmayan peptit sentetaz biyosentetik sistemleri, sadece aktinomisetlerde değil aynı zamanda mikobakterilerde, siyanobakterilerde ve filamentöz mantarlarda yoğun olarak tanımlanmıştır (Beyer ve diğ., 1999; Bingle ve lazarus, 1999; Christiansen ve diğ., 2001; Nicholson ve diğ., 2001; Sauser ve diğ., 2002).

Ribozomal olmayan peptit üreticileri çoğunlukla aktinomiset ve *Bacillus* gibi toprakta yaşayan mikroorganizmalardır (Cheng ve diğ. 2002; Horwood ve diğ. 2004). Ancak son çalışmalar, denizel mikroorganizmaların da ribozomal olmayan peptit metabolitleri için önemli bir kaynak olarak ortaya çıktığını göstermiştir (Blunt ve diğ., 2007; 2008).

Tıpta, tarımda ve biyokimyasal araştırmalarda geniş alandaki uygulamalara sahip, biyolojik olarak aktif poliketit ve peptit bileşikleri, tip I poliketit sentazlar (PKS-I) ve ribozomal olmayan peptit sentetazlar (NRPS) tarafından sentezlenir. Bu yapısal olarak çeşitli metabolitler, antifungaller (örneğin nystatin-poliketit), antitümör ajanlar (örneğin ansamitosin-poliketit, bleomisin-hibrit poliketit peptit), antihelmintikler (örneğin avermektin-poliketit) ve immun sistemi baskılayıcı ajanlar (örneğin rapamisin-poliketit ve FK506-poliketit) ve diğer antibiyotikler (örneğin penisilinler-peptit, vankomisin-peptit ve eritromisin-poliketit) arasında yer alır (Ayuso-Sacido ve Genilloud, 2005).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından elde edilen kimyasal maddeler sikloheksimid, gliserol, guanidin tiyosiyanat, tris, EDTA, lizozim, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, molibdofosforik asit, NaCl, EtOH, diaminopimelik asit, HCl, metanol, piridin, toluen, ninhidrin, aseton, kloroformdur. Fluka (Almanya) firmasından temin edilen kimyasallar adonitol, D-arabinoz, D-sellobiyoz, D-fruktoz, D-sorbitol, D-galaktoz, D-mannoz, D-mannitol, dekstrin, dekstran, inülin, L-sorboz, L-arabinoz, laktoz, L-glutamik asit, maltoz, süksinik asit, sukroz, ksilitol, ksiloz, alfa-isolösin, glisin, L-alanin, L-arjinin, L-sistein, L-histidin, L-hidroksiprolin, L-metionin, L-fenilalanin, L-prolin, L-serin, L-treonin, L-valin, adenin, kazein, nişasta, Tween 40, Tween 80, ksantindir. Merck (Almanya) firmasından temin edilen kimyasallar ise n-hekzan, n-bütanol, Ba(OH)<sub>2</sub>, NaOH, GoTaq Hotstart Master Mix (Promega), Qiaquick PCR Pürifikasyon kiti (Qiagen), pGEM-T Easy Vektör Sistemi II (Promega), QIAquick Jel Ekstraksiyon Kiti (Qiagen), *EcoRI* Restriksiyon Endonükleaz enzimidir (Promega).

#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 Toprak ve sediment örnekleri

Türkiye’de Tuz Gölünün farklı bölgelerinden alınan toprak ve sediment örnekleri ile Çamaltı Tuzlası ve Şirvan tuzlu toprağından alınan örnekler steril torbalara konuldu ve kullanıma kadar +4 °C’de saklandı (**Çizelge 3.1**).

**Çizelge 3.1.** Toprak ve sediment örneklerinin kaynağı

No	Kaynak
1	Çayırılık ve Sazlık Yüzey Tuzsuz Sınır 30 m (Şereflikoçhisar/Ankara)
2	Tuz Gölü Kenarı (Şereflikoçhisar/Ankara)
3	Çayır, Saz, Göle 10 m uzaklıkta (Şereflikoçhisar/Ankara)
4	Su Alanı Yüzey Tuzlu Bitkisiz Sınır 5 m (Şereflikoçhisar/Ankara)
5	Tuz Gölü Sedimenti-Tuz Gölü kıyısı tuz tabakasının altı (Şereflikoçhisar/Ankara)
6	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan (Şereflikoçhisar/Ankara)
7	Tuz Gölünden 100 m uzaklık (Göl tarla arası) (Şereflikoçhisar/Ankara)
8	Tuz Gölü Kenarı 50 m içerisi (Şereflikoçhisar/Ankara)
9	Şerefli Koçhisar'dan 30 km önce bitkilerin arasındaki toprak alan (Şereflikoçhisar/Ankara)
10	Cihanbeyli Yavşan Tuzlası (Şereflikoçhisar/Ankara)
11	Çamaltı Tuzlası 1. Havuz-Sediment (İzmir)
12	Şirvan Toprağı (Şirvan/Siirt)

### 3.2.2 Mikroorganizmaların izolasyonu

Farklı aktinomiset gruplarının izolasyonu için % 5 ile % 20,6 arasında değişen oranlarda NaCl ilaveli Humik asit vitamin, Nişasta kazein, SM3, GW3, Modifiye Bennett's, Marin, Soy-bean meal agar ve Medium B, C, D, E besiyerleri hazırlandı. Bazı besiyerlerine sikloheksimid (50 µg/ml) ilave edildi (**Çizelge 3.2**).

Bu çalışmada, olası aktinomisetlerin izolasyonu amacıyla dilüsyon plak tekniği uygulandı (Waksman, 1927).  $10^{-1}$ 'lik solüsyonlar, toprak ve sediment kolloidlerine tutunmuş olan aktinomisetlerin sporlarını ve misellerini ayırmak için 45 dakika süre ile çalkalandı. Daha sonra bu  $10^{-1}$  dilüsyonların içinde bulunması muhtemel olan istenmeyen diğer organizmaların vejetatif formlarının neden olabileceği kontaminasyonları azaltmak amacıyla 55 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 15 dakika bekletildi.  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ 'lik sediment ve toprak dilüsyonlarının yayma plak tekniği ile 3 tekrarlı ekim yapılarak 28 °C'de 30-60 gün süreyle inkübasyona bırakıldı.

**Çizelge 3.2.** Toprak ve sediment örneklerinden seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri

	<b>Kullanılan Besiyeriler</b>	<b>% NaCl</b>	<b>Antibiyotik</b>
1	Humik Asit Vitamin Agar (Hayakawa ve Nonomura., 1987)	% 15 NaCl	Sikloheksimid (50 µg/ml)
2	Nişasta Kazein Agar (Küster ve Williams., 1964)	% 15 NaCl	Sikloheksimid (50 µg/ml)
3	Modifiye Bennett's Agar (Jones, 1949)	% 5 NaCl	-
		% 10 NaCl	-
		% 15 NaCl	Sikloheksimid (50 µg/ml)
4	SM3 (Tan ve diğ., 2006)	% 15 NaCl	Sikloheksimid (50 µg/ml)
5	GW3 (Guan ve diğ., 2010)	% 15 NaCl	Sikloheksimid (50 µg/ml)
6	Marin Agar (ZoBell, 1941)	% 15 NaCl	Sikloheksimid (50 µg/ml)
7	Soy-Bean Meal Agar (Bredholdt ve diğ., 2007)	% 15 NaCl	Sikloheksimid (50 µg/ml)
8	Medium B (Oren ve Litchfield,1999)	% 20 NaCl	-
9	Medium C (Oren ve Litchfield,1999)	% 17,5 NaCl	-
10	Medium D (Oren ve Litchfield,1999)	% 20,6 NaCl	-
11	Medium E (Oren ve Litchfield,1999)	% 12,5 NaCl	-

### **3.2.3 İzolatların seçimi ve saflaştırılması**

İzole edildikleri besiyerlerinde 28 °C'de 30-60 gün inkübasyona bırakılan izolatlar steril kürdanlarla cycloheximide (50 µg/ml) ilaveli besiyerlerine aktarıldı. Elde edilen izolatlar gelişimlerine uygun besiyeriler kullanılarak 28 °C'de inkübe edildi ve saflaştırıldı.

### **3.2.4 İzolatların kültürlenmesi ve stoklanması**

İzolatlar numaralandırılıp saf kültürleri elde edilerek % 30'luk gliserol içeren otoklavlanmış vidalı kapaklı tüplere steril kürdanla transfer edilerek -80 °C'de stoklandı (Choi ve diğ., 2007).

### **3.2.5 Genomik DNA izolasyonu**

16S rRNA ile ilgili PZR çalışmaları için test organizmalarının genomik DNA'ları Pitcher ve diğ. (1989) tarafından tanımlanan "Guanidin thiosiyanat DNA izolasyonu" metoduna göre yapıldı.

Test organizmaları izole edildikleri besiyerlerinde geliştirildikten sonra yine aynı besiyeri ortamlarından oluşan brothlara aktararak çalkalamalı inkübatörde

(Excella, New Brunswick Scientific Co, Inc, NJ) 37 °C'de 7 gün 180 devirde büyütüldü. Her bir broth kültürden steril otomatik pipetler ile 1 ml alınarak steril 1,5 ml'lik eppendorflara transfer edildi ve 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek hücre pelleti çöktürüldü. Çöken hücre pelletinin üstünde kalan sıvı faz uzaklaştırıldı. Bu işlem yeterli hücre pellet (yaklaşık 300-400 µg) elde edilinceye kadar tekrarlandı. Daha sonra steril ddH<sub>2</sub>O ile 3 kez yıkandı ve hücre pelletleri DNA izolasyonuna kadar -20 °C'de tutuldu.

### **Uygulama:**

1. -20 °C'de tutulan hücre pelletleri buzlar çözülene kadar oda sıcaklığında bekletildi. Hücre pelleti üzerine 100 µl TE tamponu (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8) ilave edildi. Kültür, 13 000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek bir kez daha yıkandı. Daha sonra tampon eppendorf tüpten otomatik pipet ile uzaklaştırıldı.
2. 50 mg ml<sup>-1</sup> lizozim (Sigma) içeren TE tamponu -20 °C'den alınarak 100 µl lizozim, kültür içeren eppendorf tüpe transfer edildi. Otomatik pipet ile homojenize edilerek 37 °C'de bir gece boyunca inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrası, 500 µl guanidin thiosiyanat karışıma ilave edildi ve 37 °C'de 10 dk inkübe edilerek liziz işlemi gerçekleştirildi ve 5 dk buzda soğutuldu.
4. Lizata 250 µl 7,5 M amonyum asetat eklendi ve birkaç defa tüp alt üst edilerek 10 dk buzda soğutuldu.
5. Lizata 500 µl kloroform-izoamil alkol (24:1 v/v) ilave edildi ve birkaç defa tüp altüst edilerek 13 000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası süpernatant otomatik pipet ile steril yeni bir eppendorf tüpe transfer edildi ve 540 µl soğuk izopropanol ilavesi ile DNA'nın çökmesini takiben 13 000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
7. İzopropanol dikkatli bir şekilde otomatik pipet ile uzaklaştırıldı. 100-150 µl soğuk % 70'lik etanol ilave edilerek 13 000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Bu işlem 2 defa tekrarlandı. İki kez alkol yıkamasından sonra alkol uzaklaştırıldı ve kapaklar açık bırakılarak yaklaşık 20 dk kurumaya bırakıldı.
8. 90 µl TE tamponu DNA pelletine ilave edilerek 5 dk bekletildi.
9. 10 µl RNAaz ilave edilerek 37 °C'de 1 saat inkübasyon sonrasında 20 µl proteinaz K eklendi ve 37 °C'de bir gece boyunca inkübasyona bırakıldı.

10. 10 µl 8 M LiCl<sub>2</sub> ilavesini takiben üzerine 130 µl fenol-kloroform-izoamil alkol eklendi ve 13 000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz steril yeni ependorf tüplere aktarıldı.
11. Ayrıca, 130 µl kloroform-izoamil alkol (24:1 v/v) ilave edildi ve 13 000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz steril yeni ependorf tüplere aktarıldı.
12. Toplam hacmin 2,5 katı olacak şekilde izopropanol ilave edildi ve tüpler altüst edilerek 13 000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Alkol, otomatik pipet ile uzaklaştırıldı.
13. 100 µl % 70'lik etanol ilave edilerek 13 000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve alkol uzaklaştırıldı. Bu işlem bir defa daha tekrarlandı.
14. DNA pelleti oda sıcaklığında 20 dk beklenerek kurutuldu ve 30-50 µl ddH<sub>2</sub>O ilave edilerek oda sıcaklığında 15 dk süspansiyon edildi ve -20 °C'de gereksinim duyulana kadar stoklandı.
15. DNA'nın kontrolü için % 1'lik agaroz jelde (30 ml 1X TBE tampon, 0,3 g agaroz) 100 voltta 30 dakika yürütüldü ve UV transillüminatör'de (Vilber Lourmat, UV) kontrol edildi. Görüntüleme sisteminde (DNR Minilumi Bio Imaging System) fotoğraflandı ve kaydedildi.

### **3.2.6 16S rRNA'nın PZR amplifikasyonu**

#### **Uygulama:**

1. Polimeraz zincir reaksiyonları için Promega firmasından temin edilen GoTaq Hot Start Master Mix (Promega Corporation, USA) kullanıldı. Primer stoklar (20 µM, BioTech) 27f (forward primer: 16S rRNA'nın başlangıç bölgesine bağlanan evrensel primer, 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 1525r (reverse primer: 16S rRNA'nın son bölgesine bağlanan evrensel primer 5'-AAGGAGGTGWTCCARCC-3')

2. PZR amplifikasyonu için kullanılan bir örnek için 50 µl ölçüdeki bir reaksiyon karışımı:

GoTaq Hot Start Master Mix (Promega)	25 µl
27f (10 µM)	1 µl
1525r (10 µM)	1 µl
ddH <sub>2</sub> O	21 µl
DNA	2µl

Toplam 50 µl

3. PZR reaksiyonu aşağıdaki şartlarda başlatıldı.

Denatürasyon				Bitiş	Soğuma
	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	Uzama	
	95 °C	55 °C	72 °C	72 °C	25 °C
15 dk	1 dk	1 dk	3 dk	10 dk	1 dk
1 döngü	35 döngü			1 döngü	

3 µl PZR ürünü, % 1'lik agaroz jelde (30 ml 1X TBE tampon, 0,3 g agaroz) PZR DNA marker (Sigma, 50 bp) ile 100 voltta 30 dakika yürütüldü ve UV transillüminatör'de (Vilber Lourmat, UV) kontrol edildi. Görüntüleme sisteminde (DNR Minilumi Bio Imaging System) fotoğraflandı ve kaydedildi.

### 3.2.7 16S rRNA PZR ürünlerinin saflaştırılması ve dizi analizi

PZR ürünleri % 1'lik agaroz jelde (30 ml 1X TBE tampon, 0,3 g agaroz) PZR DNA marker ile birlikte 100 voltta 30 dakika yürütülerek UV-transillüminatör (Vilber Lourmat, UV) üzerinde kontrol edildikten sonra QIAquick PZR pürifikasyon kiti (Qiagen, Valencia, USA) kullanılarak saflaştırıldı. Saflaştırılan amplifikasyon ürünleri 16S rRNA gen bölgesinin yaklaşık uzunluğunun tamamının dizi analizi için en az altı primer ile (**Çizelge 3.3**) ABI PRISM3730XL Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) otomatik dizi analizi cihazı kullanılarak MacroGen Inc. (Hollanda) firmasında dizileme işlemi gerçekleştirildi.

**Çizelge 3.3.** 16S rRNA gen bölgesi sekans çalışmalarında kullanılan primerlerin nükleotit dizileri

Primer kodu	Sekans (5'-3')	Size	Bağlanma bölgesi <sup>1</sup>		Kaynak
			5'	3'	
27f	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	20	8	27	Lane, 1991
Mg3f	CTACGGG <sup>R</sup> SGCAGCAG	16	342	357	Chun, 1995
Mg4f	AATTCCTGGTGTAGCGGT	18	675	692	Chun, 1995
800r	TACCAGGGTATCTAATCC	18	800	782	Chun, 1995
Mg5f	AAACTCAAAGGAATTGACGG	20	907	926	Chun, 1995
Mg6f	GACGTC AAGTCATCATGCC	19	1190	1208	Chun, 1995

M; adenin veya sitozin, R; adenin veya guanin, S; guanin veya sitozini ifade etmektedir.

<sup>1</sup> Sayılar *Escherichia coli* *rrnB* sistronunun (GenBank JO1695; Brosius ve diğ., 1978) 16S rRNA' sının gen dizisine görelerdir.

### 3.2.8 16S rRNA dizi verilerinin analizi

İzolatların 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi tamamlandıktan sonra elde edilen dizi verisi ChromasPro 1.7.5 programı ile birleştirildi ve EzTaxon Server (URL-13; Kim ve diğ., 2012) kullanılarak izolatların en yakın akraba organizmalarıyla olan 16S rRNA nükleotit benzerliği belirlendi. Filogenetik analizler için MEGA 5.2 programı, hizalama için de aynı programın kullanılarak CLUSTAL\_W (Tamura ve diğ., 2011) seçeneği kullanıldı. Filogenetik dendogramların çizilmesinde Neighbour Joining (Saitou ve Nei, 1987) metodu ve Jukes-Cantor evrimsel uzaklık matrisi kullanıldı. Bootstrap testi 1000 tekrarlı olarak yapıldı.

### 3.2.9 DNA-DNA homolojisi

16S rRNA dizi verilerine göre en yakın filogenetik komşusu ile nükleotit farklılığı en fazla olan ve dizi benzerliği % 97 ve üzeri olan suşlardan başlamak üzere yeni tür olma potansiyeli yüksek izolatların DNA-DNA hibridizasyon deneyleri, Almanya'nın Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) firması tarafından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi. DNA-DNA hibridizasyon deneyleri için Cashion ve diğ. (1977)'nin tanımladığı gibi kromozomal DNA Fransız Basınç Hücresi kullanılarak izole edildi, hidroksiapatitte kromatografi ile saflaştırıldı. DNA-DNA hibridizasyonu De Ley ve diğ. (1970)'e göre 6×6 çoklu hücre değiştiricisi kullanılarak Cary 100 Bio UV/VIS spektrofotometre ile kantitatif olarak ölçüldü.

### 3.2.10 Diaminopimelik asit (DAP) izomerlerinin belirlenmesi

İzolatların diaminopimelik asit varlığının belirlenmesi ve izomerlerin (*LL*-, mezo- ve hidroksi-) karakterizasyonu Becker ve diğ. (1965) tarafından tanımlanan ve Staneck ve Roberts (1974) tarafından modifiye edilen tüm-hücre hidrolizatlarının ince-tabaka kromatografisi metodu kullanılarak belirlendi.

Liyofilize hücre örneği her biri ~50 mg olacak şekilde otoklava dayanıklı vidalı kapaklı cam tüplere transfer edildi. Örnekler üzerine 1 ml 6N HCl ilave edildikten sonra kapakları kapatılarak hidroliz için 100 °C'de 18 saat tutuldu. Hidrolizatlar oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 6000 rpm'de 4 dk santrifüj edildi ve süpernatant yeni bir vidalı kapaklı cam tüpe transfer edildi. Süpernatantın bulunduğu cam tüpler ağzı açık olacak şekilde 120 °C'ye ayarlı inkübatöre yerleştirildi ve ortalama 2-3 saat tutularak sıvı kalmayınca kadar kurutuldu. Kurumuş hidrolizatlar 1 ml steril saf suda çözüldü ve 100 °C'ye ayarlı inkübatörde tekrar kurutuldu. Kurumuş hidrolizatlar 200 µl steril ddH<sub>2</sub>O ile çözümlenerek otomatik pipet ile eppendorf tüplere transfer edildi. 20x20 cm selüloz ince-tabaka (Chromatogram-Eastman Kodak No. 13255) üzerine çözülmüş örnekler 3 µl olacak şekilde inoküle edildi. İnce-tabaka metanol (J.T. Baker): distile su: 10 N HCl: piridin (Merck) (80: 26,25: 3,75: 10 v/v)'den oluşan çözücü içerisine konuldu. Çözücü, tabakanın üst kısmında 1 cm kalana kadar yükseldikten sonra (2-2,5 saat) tabaka çözücü içerisinden alındı. Çözücü içerisinden alınan ince-tabaka çeker ocakta 15 dk kurutuldu. Spotlar aseton içerisinden çözülmüş ninhidrin (% 0,2 w/v) ile spreylendi ve 100 °C'de 5 dk kurutularak gözlenebilir hale getirildi ve fotoğraflandı.

### 3.2.11 Şeker analizleri

Tüm hücre hidrolizatlarının şeker analizleri Staneck ve Roberts (1974)'in metoduna göre belirlendi. Yaklaşık 50 mg kuru hücre 2 ml'lik viallere eklendi, 1,5 ml 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'de 100 °C'de 3 saat hidroliz edildi. Hidrolizat doygun Ba(OH)<sub>2</sub> ile pH 5-5,5'e ayarlandıktan sonra, 6000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Üst faz dikkatli bir şekilde ayrı bir tüpe alındıktan sonra sıvı tamamen uzaklaşmıncaya kadar buharlaştırıldı. Kalıntı 0,1 ml dH<sub>2</sub>O ve 0,25 ml piridinle çözüldü ve her bir örnek Merck 60-F254 silica gel TLC plakalarına 5'er µl olacak şekilde standart karışımları ile birlikte yüklendi. Plaka iyice kuruduktan sonra n-butanol:distile su:piridin:toluen (10:6:6:1, v/v) yürütücü fazında ortalama 4 saat yürütüldü. TLC plaka daha sonra 30 dk

kurutuldu. İyice kurutulduktan sonra anilin-fitalat ayırıcı ile spreylendi ve 100 °C'de 4 dk kurutuldu. İzolatların şeker tipleri belirlenirken aktinomisetlerde varlığı bilinen 7 temel şeker standart olarak kullanıldı. Bu şekerler TLC plakasında iki gruba ayrılarak TLC tabakaya yüklendi. İlk grupta galaktoz, arabinoz ve ksiloz, ikinci grupta ise glukoz, mannoz, riboz ve ramnoz bulunmaktadır. Altı karbonlu şekerler, kahve ve koyukahve tonlarında, beş karbonlu şekerler ise kıvılcık tonlarında belirginleşti. Aynı zamanda aynı şartlarda yüklenen standart şekerler ve izolatlardan elde edilen şeker hidrolizatı yürütme işleminden sonra hizalanarak şeker tipleri belirlendi.

### **3.2.12 Yağ asiti analizi**

Test organizmalarının yağ asiti metil esterlerinin (FAME) izolasyonunu takiben FAME analizleri MIDI (Microbial Identification System) (Microbial ID, Inc. Newark, Del.) sistemini kullanan G2614A otosampler ve 6783 enjektörü ile donanımlı Agilent Technologies 6890N gaz kromatografisi (GC) ile Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Test organizmalarının yağ asidi profillerinin belirlenmesi için üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde Actinomyces Library Culture Technique [Microbial Identification System, Microbial ID (MIDI), Inc., Newark, DE, USA] kullanıldı. Bu amaçla, tip türü ve test izolatlarının saf kültürleri Triptik soy agar (Ek A) (TSA, Merck) üzerinde çizgi ekimi yapılarak geliştirildi ve 1 öze dolusu kültür, 20 ml Triptik soy sıvı besiyerine (TSB, Merck) aktarılarak 150 rpm'de 72 saat süre ile 28 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası alınan 5 ml başlangıç (starter) kültür 50 ml TSB içine aşılanarak 150 rpm de 28 °C de 5 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonrası yağ hücreler filtrasyon (sellüloz filtre, 0.45 µm çaplı) ile toplanarak yaklaşık 250 mg yağ hücre kütlesi vidalı teflon kapaklı tüplere aktarıldı ve 4 basamaklı işlem ile yağ asiti metil esterleri (FAME) ekstrakte edildi.

*Saponifikasyon:* 1 ml metanol ortamında baz [45 g sodyum hidroksit (ACS sertifikalı), 150 ml etanol (HPLC grade) ve 150 ml deiyonize distile su] ekleyerek vortekslendi ve kaynar 95-100 °C'lik su banyosunda 30 dakika bekletildi. Bu aşamada sıcaklık ile beraber metanol ortamındaki yüksek derişimli baz hücreleri parçalayarak yağ asitlerini lipitlerden ayırdı.

*Metilasyon:* 2 ml metilasyon reaktifi [(325 ml 6 N HCl ve 275 ml metanol (HPLC grade)] eklenerek vortekslendi ve 80 °C'lik su banyosunda 10 dakika tutuldu. Bu işlem, sodyum tuzu halindeki yağ asitlerini Gaz Kromatografisi GC analizinde yağ asitlerinin uçuculuğunu arttırmak için metil esterlerine dönüştürdü.

*Ekstraksiyon:* 1,25 ml ekstraksiyon çözeltisinden [(200 ml hekzan (HPLC grade) ve 200 ml metil tert-bütül eter (HPLC grade) ] ilave edildi. 10 dakika tüp çalkalayıcı ile çalkalandı. Temiz bir pastör pipeti ile sulu alt faz hekzan tabakasında bulaştırılmadan alındı. Yağ asidi metil esterleri, asidik sulu fazdan ayrıldı ve sıvı-sıvı ekstraksiyonuyla organik faza transfer edildi.

*Baz yıkama:* Serbest yağ asitlerini ve organik ekstraktaki kalıntı ajanları uzaklaştırmak için 3 ml seyreltik bir baz çözeltisi [10,8 g sodyum hidroksit (ACS sertifikalı) ve 900 ml deiyonize distile su] eklendi. 5 dakika rotator ile çalkalandı. Emulsiyon oluşumunun ardından 1 kaç damla doymuş tuz çözeltisinden damlatıldı. Temiz bir pastör pipeti yardımı ile üstteki organik fazın yaklaşık 2/3'ü temiz bir GC şişesine aktarıldı.

FAME analizleri MIDI (Microbial Identification System) (Microbial ID, Inc. Newark, Del.) sistemini kullanan G2614A otosampler ve 6783 enjektörü ile donanımlı Agilent Technologies 6890N gaz kromatografisi ile kromatografi şartlarının üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde ACTIN-1 3.80 kütüphanesine uygun olarak ayarlanmasıyla gerçekleştirilmiştir. FAME pikleri MIDI Microbial Identification System, software version ACTIN-1 3.80 ile analiz edildi.

### **3.2.13 Polar lipitlerin belirlenmesi**

İzolatların polar lipid analizleri Almanya'nın Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) firması tarafından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi. Polar lipid analizleri Minnikin ve diğ. (1984)'nin tanımladığı metoda göre yapıldı. Bu yöntemle göre, 15 ml teflon kaplı vidalı kapaklı tüplere ortalama 100 mg kuru hücre eklenerek 3 ml MeOH/ % 0,3 NaCl (100/10) ve 3 ml petrol eteri ilave edildi, tüp karıştırıcıda 30 dk karıştırıldı ve 1500 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Üst faz ayrı bir tüpe ayrıldı ve alt faza aynı işlem bir defa daha yapıldı. Hidrolizat sıcak su banyosunda 5 dk kaynatıldı ve sıcaklık oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutuldu. Daha sonra 2,3 ml CHCl<sub>3</sub>/MeOH/% 0,3 NaCl (90/100/30 v/v) ilave edildi ve karıştırıcıda 1 saat karıştırıldı. Santrifüj işleminin ardından üst faz yeni bir vidalı kapaklı tüpe alındı ve tekrar 0,75 ml CHCl<sub>3</sub>/MeOH/ % 0,3 NaCl (50/100/40

v/v) eklendi, 30 dk karıştırıldı. Santrifüj sonrası üst faz aynı tüpe alındı ve ekstrakta 1,3 ml CHCl<sub>3</sub>, 1,3 ml % 0,3 NaCl eklendi ve iyice karıştırıldı. Santrifüj sonrası alt faz temiz bir tüpe alındı ve azot gazı ile buharlaştırıldı. 100 µl CHCl<sub>3</sub>:MeOH (2:1 v/v)'de çözüldü ve her bir örnekten 10 µl alınarak Merck 60-F254 silica gel TLC plakalarına yüklendi. İki boyutlu yapılacak yürütme işleminde ilk yürütmede CHCl<sub>3</sub>/MeOH/ddH<sub>2</sub>O (65/25/4), ikinci yürütmede CHCl<sub>3</sub>/Asetik asit/MeOH/ddH<sub>2</sub>O (80/15/12/4 v/v) yürütücü faz olarak kullanıldı. Tüm lipidlerin belirlenmesi için % 10'luk molibdofosforik asit ile sprey işleminden sonra 140 °C'de 10 dakika kurutuldu. Böylece TLC plakalar üzerindeki lipitler belirlendi. Ayrıca amino gruplarında ninhidrin, glikolipitlerde α-naftol ve fosfat gruplarının belirlenmesinde ise molibden blue boyaları kullanılabilir.

### **3.2.14 Menakinonların belirlenmesi**

Organizmaların menakinonlarının belirlenmesi Almanya'nın Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) firması tarafından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi. Collins ve diğ. (1977) ve Tamaoka ve diğ. (1983)'e göre belirlendi. Yaklaşık 100 mg liyofilize hücre 20 ml kloroform/metanol (2:1) ile 1-2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldı, 0.45 µm'lik filtreden geçirildi, döner buharlaştırıcıda (<37 °C) buharlaştırıldı ve 200 µl asetonda çözüldü. Kiesel Gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) TLC plakaya yüklenen saf menakinonlar benzende yürütüldü ve 254 nm UV'de kontrol edildi. Menakinon (Sigma) standartının hizasındaki bant plakadan kazınarak plakadan temiz bir tüpe alındı ve tekrar 200 µl asetonda çözüldü ve Dionex - UltiMate 3000 HPLC cihazında analiz edildi. HPLC'de mobil faz olarak metanol-izopropil eter (3:1, v/v) dakikada 1 ml akış hızı ve 30 °C olacak şekilde yürütüldü, 270 nm UV'de analiz edildi.

### **3.2.15 Fenotipik karakterizasyon**

#### **3.2.15.1 İzolatların tuz toleranslarının belirlenmesi**

Fenotipik karakterlerin belirlenmesinden önce test organizmalarının % 0, % 5, % 8, % 10, % 15 ve % 20 NaCl konsantrasyonlarında gelişme kabiliyetleri test edildi. Bazal ortam olarak Modifiye Bennett's Agar (Jones, 1949) kullanıldı. Böylece test izolatlarının gelişebildiği en uygun ortak tuz konsantrasyonları tespit edildi.

### **3.2.15.2 Fenotipik karakterlerin belirlenmesi**

İzolatların fenotipik karakterlerinin belirlenmesi için, temel hidroliz testleri ile karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme, belirli maddeleri degrade edebilme, sıcaklık ve pH toleransı gibi bazı fizyolojik testler uygulandı. Tüm testlerde bazal ortamlara % 10 NaCl ilave edilmiş olup sadece *Amycolatopsis* ve *Streptomyces* cinsi izolatları ve tip türlerine ait bazal ortamlara tuz ilave edilmedi.

Test izolatları ve 16S rRNA gen dizi analizine göre en yakın olan tip türleri en az 68 farklı karakter üzerinden fenotipik değerlendirmeye tabi tutuldu. Fenotipik karakterizasyon çalışmasında kullanılan karakterler **Çizelge 3.4'** de verildi.

### **3.2.16 Kültürel ve morfolojik özelliklerin belirlenmesi**

#### **3.2.16.1 İzolatların farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişimleri**

Test organizmaları, % 10 NaCl içeren Oatmeal agar (ISP 3; Shirling ve Gottlieb, 1966) kültür ortamında 37 °C' de 14 gün inkübe edilerek hava miselyum spor rengi, substrat miselyum rengi, çözünebilir pigment rengi ve gelişimi belirlendi. Tüm test organizmalarının, melanin pigmenti üretilip üretilmediği % 10 NaCl içeren Pepton-Yeast Ekstrakt Demir Agar (ISP 6; Shirling ve Gottlieb, 1966) ve Tirozin Agar (ISP 7; Shirling ve Gottlieb, 1966) kültür ortamlarında 37 °C'de 14-21 günlük inkübasyondan sonra belirlendi.

Ayrıca test organizmaları gelişme ve morfolojik özellikleri % 10 NaCl içeren modifiye Bennett's agar, Yeast Ekstrakt-Malt Ekstrakt Agar (ISP 2; Shirling ve Gottlieb, 1966), İnorganik Tuz Nişasta Agar (ISP 4; Shirling ve Gottlieb, 1966), Gliserol Asparajin Agar (ISP 5; Shirling ve Gottlieb, 1966) üzerinde 37 °C' de 14-21 gün inkübasyondan sonra tespit edildi.

**Çizelge 3.4.** Fenotipik karakterizasyon çalışmasında kullanılan farklı karakterler

<b>A. Besinsel Testler</b>				<b>B. Degredasyon Testi</b>		<b>(%, w/v)</b>	
<b>Temel Karbon ve Enerji Kaynakları (%, w/v)</b>		<b>Temel Azot ve Enerji Kaynakları</b>		<b>(%, w/v)</b>			
Adonitol	<b>1,0</b>	Laktoz	<b>1,0</b>	Alfa-iso-lösin	<b>0,1</b>	Kazein	<b>(% 1)</b>
D - arabinoz	<b>1,0</b>	L-glutamik asit	<b>1,0</b>	Glisin	<b>0,1</b>	Nişasta	<b>(% 1)</b>
D - sellobiyoz	<b>1,0</b>	Maltoz	<b>1,0</b>	L-Alanin	<b>0,1</b>	Tween 40	<b>(% 1)</b>
D - fruktoz	<b>1,0</b>	Sukroz (Sakkaroz)	<b>1,0</b>	L-Arjinin	<b>0,1</b>	Tween 80	<b>(% 1)</b>
D - sorbitol	<b>1,0</b>	Ksilitol	<b>1,0</b>	L-Sistein	<b>0,1</b>	Ksantin	<b>(% 0,4)</b>
D - galaktoz	<b>1,0</b>	Ksiloz	<b>1,0</b>	L-Histidin	<b>0,1</b>	Adenin	<b>(% 0,5)</b>
D - mannoz	<b>1,0</b>	Süksinik asit (% 0.1)	<b>0,1</b>	L-Hidroksiprolin	<b>0,1</b>		
D-mannitol	<b>1,0</b>	L-Arabinoz	<b>1,0</b>	L-Methionin	<b>0,1</b>		
Dextrin	<b>1,0</b>	Inulin	<b>1,0</b>	L-Fenilalanin	<b>0,1</b>		
Dextran	<b>1,0</b>	L- Sorboz	<b>1,0</b>	L-Prolin	<b>0,1</b>		
				L-Serin	<b>0,1</b>		
				L-Threonin	<b>0,1</b>		
				L-Valin	<b>0,1</b>		
<b>C. Biyokimyasal Testler</b>				<b>D. Fizyolojik Testler</b>			
	<b>(%, w/v)</b>			<b>pH:</b> 4, 5, 6, 8, 10, 11, 12			
Arbutin	<b>0,5</b>	Üre	<b>1,0</b>	<b>Sıcaklık:</b> 4 °C, 10 °C, 28 °C, 37 °C, 45 °C, 50 °C, 55 °C			
Allantoin	<b>1,0</b>	Nitrat	<b>0,1</b>	<b>NaCl Toleransı ( % NaCl)</b>			
				% 0, % 1, % 2, % 4, % 5, % 8, % 9, % 10, % 15, % 20, % 30 NaCl			

### **3.2.16.2 Taramalı elektron mikroskobisi (SEM) ile spor morfolojisi**

Test organizmalarının spor zincir morfolojileri Pridham ve diğ. (1958) göre ISP 2 agarda 37 °C' de 30 günlük inkübasyon sonrasında Nikon Optiphot binokuler ışık ve Taramalı Elektron Mikroskobu (JEOL JSM 6060, JEOL Ltd. Tokyo, Japan) kullanılarak incelendi. İnkübasyon sonrası, organizmaların geliştiği ve sporun yoğun olduğu kısımlardan 5 mm çapında birkaç agar blok alındı. Her örnek için ayrı alınan agar bloklar % 2 glüteraldehit içinde +4 °C' de 24 saat bekletilerek fiske edildi. Fiksasyon sonrası her agar blok dehidrasyon işlemi için sırası ile % 10-20-30-40-50-60-70-80-90-95-100'lük etanol ile 10 dk muamele edildi. Daha sonra örnekler sıvı CO<sub>2</sub> ile kritik nokta kurutucu (Polaron, CPD 7501) cihazda kurutuldu. Kurumuş agar bloklar altın püskürtücü (gold sputter) ile altın kaplanarak hazır hale getirildi. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile spor yüzey morfolojileri belirlenerek görüntülendi.

### **3.2.17 Biyokimyasal testler**

#### **3.2.17.1 Allantoin hidrolizi**

Allantoin hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. Bu amaçla, 5 ml'lik deney tüplerinin her birine 2'şer ml % 1 (w/v) konsantrasyonlarında allantoin ilave edilen bazal ortamlar konularak hazırlandı ve tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril hale getirildi. Otoklavdan çıkan steril tüpler eğik konuma getirilerek yatık agar hazırlandı. Steril öze ile inokülasyonu yapılan tüpler, 37 °C'de 21 gün inkübasyona bırakıldı. Negatif kontrol olarak allantoin içermeyen tüpler hazırlandı. İnkübasyon sonrasında, negatif kontrol ortamıyla karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrollerden farklı olarak koyu pembe renk oluşumu pozitif(+) sonuç olarak kaydedildi.

#### **3.2.17.2 Arbutin hidrolizi**

Arbutin hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. Bu amaçla, bazal ortam % 0,5 (w/v) konsantrasyonlarında Arbutin ilave edilerek hazırlandı. 5 ml'lik deney tüplerinin her birine 2'şer ml arbutin ilaveli bazal ortam konularak, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril hale getirildi. Otoklavdan çıkan steril tüpler eğik konuma

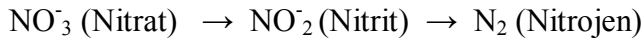
getirilerek yatık agar hazırlandı. Negatif kontrol olarak arbutin içermeyen tüpler hazırlandı. Steril öze ile inokülasyonu yapılan tüpler, 37 °C' de 21 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, mikroorganizma inokülasyonu yapılmış tüpler negatif kontrol ortamlarıyla karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrollerden farklı olarak koyu kahverengi/siyah renk oluşumu pozitif (+) sonuç olarak kaydedildi.

### 3.2.17.3 Nitrat redüksiyonu

Nitrat (% 0,1, w/v) redüksiyonu, Goodfellow (1971) tarafından tanımlanmış basal besiyeri kullanılarak belirlendi. Bu amaçla, 5 ml'lik tüplerin her birine 2'şer ml besiyeri konularak 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril hale getirildi. Steril öze ile inokülasyonu yapıldıktan sonra 37 °C'de 21 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında tüplere eşit miktarlarda nitrat redüksiyon ayıraçlarından ilave edildi. Sülfanilik asit, nitrit ile reaksiyona girerek diazonyum tuzunu oluşturur, naftilamin varlığında pembe-kırmızı (koyu kırmızı: stabil red azo) renk oluşur. Renginde bu şekilde değişiklik gösteren tüpler nitrat redüksiyonu için pozitif (+) sonuç olarak değerlendirilir. Renk değişiminin meydana gelmemesi iki sonuçtan birinin göstergesidir:

1. Ya nitratın, nitrit aşamasından daha aşağı kademede indirgendiğini gösterir.

Yani; Azot gazına kadar indirgendiğini gösterir.



2. Ya da nitratın indirgenmediğini gösterir.

Bu nedenle, renk değişimi olmayan tüplere az miktarda Çinko iyonlarını ( $\text{Zn}^{+2}$ ) içeren nitrat redüktaz enzimiyle aynı reaksiyonu katalizleyen çinko tozu eklendi. Böylece eğer ortamda nitrat kalmışsa çinko tozu ilavesiyle nitrite çevrilecek, karakteristik kırmızı renk oluşumu gözlenecektir. Bu şekilde gözlenen test tüpleri negatif sonuç olarak kaydedildi. Bununla birlikte, çinko tozunun ilavesiyle herhangi bir renk değişimi gözlenmediği durumda nitratın nitrojen gazına indirgendiğini gösterir ve bu reaksiyonlarda pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

### 3.2.17.4 Üre hidrolizi

Üre hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. % 1 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanan üre ayrı olarak 100 ml saf su içerisinde çözüldü ve filtrasyon tekniği ile steril edildi. Üre,

otoklavda steril edilmiş bazal ortam içeriğine aseptik şartlarda ilave edilerek karıştırıldı ve besiyeri aseptik koşullarda 5 ml'lik steril tüplere her tüpte 2'şer ml olacak şekilde transfer edildi. Negatif kontrol olarak üre içermeyen tüpler hazırlandı. Steril öze ile inokülasyonu yapılan tüpler, 28 °C'de 7 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, pozitif ve negatif kontrol ortamları karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrolden farklı olarak sarı/turuncudan parlak pembe/kırmızıya renk değişimi pozitif (+) olarak kaydedildi.

Üre hidrolizi, üreden üreaz enzimi ile amonyum ve karbondioksitin açığa çıkmasıyla gerçekleşir. İndikatör olarak reaksiyon sonunda sarı/turuncudan parlak pembe/kırmızıya renk değişikliği gösteren fenol kırmızısı ayıracı kullanıldı.

### 3.2.18 Degradasyon testleri

Adenin (% 0,5, w/v), kazein (% 1,0, w/v), nişasta (% 1,0, w/v) ve ksantin (% 0,4, w/v) degradasyonu Williams ve diğ. (1983) tarafından tanımlanmış metotlar kullanılarak belirlendi. Bazal ortam olarak % 10 NaCl ilaveli Bennett's Agar (Jones, 1949) ve *Streptomyces* cinsi izolatları ile *Streptomyces* tip türleri için ise bazal ortam olarak tuz ilavesiz yeast ekstrakt-malt ekstrakt agar (ISP 2) kullanıldı. Ayrıca *Amycolatopsis* cinsi izolatları ile *Amycolatopsis* tip türleri için ise bazal ortam olarak Marin agar kullanıldı. Test suşlarının inokülasyonu Multipoint inokulator (Order Code SCAN 400, Mast Group Ltd., Merseyside, UK) kullanılarak yapıldı. Test suşlarının inokülasyon işlemi, 12'şerli gruplar oluşturularak sağlandı.

Adenin, ksantin ve kazein degradasyonu için inokülasyonlu petripler 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyonun 14, 21 ve 30. günlerinde petripler kontrol edilerek okundu ve her bir test suşunun besiyeri ortamında oluşturduğu koloniler etrafında veya petri plağın alt kısmından bakıldığında açık bir zon oluşmuşsa pozitif (+), oluşmamışsa negatif (-) sonuç olarak değerlendirildi. Koloni etrafında veya altında açık zon oluşması o test suşunun o maddeyi degrades edebilme özelliği olduğunu gösterir.

Nişasta degradasyonunun testinde, nişasta (Starch: % 1, w/v) 50 ml saf su içerisinde çözüldükten sonra bazal ortam içeriğine katıldı ve besiyeri otoklavlanarak steril edildi. İnokülasyon sonrası 37 °C'de 30 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda Lugol's iodin eriyiği petri yüzeyine ince bir tabaka oluşturacak şekilde dökülerek nişasta degradasyonu değerlendirilmesi yapıldı. (Cowan ve Steel, 1974). Nişasta degradasyonu değerlendirilmesinde ortama dökülen iodin ortamda nişasta

varsa nişastayla birleşip koyu mavi bir kompleks oluşturur. Nişasta molekülleri amilaz enzimleri ile oligosakkarit ve diğer basit şekerlere parçalandığında ise meydana gelen bu küçük moleküller iodinle kompleks oluşturamaz. Bu nedenle oligosakkarit ve diğer basit şekerlerin ortamdan varlıkları büyüme alanı etrafındaki açık zon olarak belirlenmekte ve değerlendirme sırasında bu durum pozitif (+) olarak kaydedildi.

Tween 40, 80 (% 1, w/v) degradesyonu, Nash ve Krent (1991) tarafından tanımlanan % 10 NaCl ilaveli pepton agar bazal ortamı kullanılarak değerlendirildi. *Amycolatopsis* ve *Streptomyces* cinsi izolatları ile *Streptomyces* tip türleri için ise bazal ortam olarak tuz ilavesiz pepton agar kullanıldı. İnokülasyonlu plaklar, 37 °C'de inkübe edildi ve değerlendirme inkübasyonun 30. gününde yapıldı. Çözünemeyen kalsiyum tuzu kristalleri koloniler etrafında opak bir halka oluşturduğunda pozitif (+) sonuç olarak değerlendirilir.

### **3.2.19 Temel karbon kaynaklarını kullanabilme**

Karbon kaynaklarında gelişme testi için basal ortam olarak ISP 9 besiyeri kullanıldı (ISP 9; Shirling ve Gottlieb, 1966). Uygun miktarlardaki her bir karbon kaynağı, basal ortamına aseptik koşullarda ilave edildi. Negatif kontrol olarak sadece bazal ortam, pozitif kontrol olarak da glukoz (% 1,0; w/v) ilave edilmiş basal ortamlar kullanıldı. İnokülasyon iki kontrol ortamına da yapıldı. İnokülasyonlu plaklar, 37 °C'de inkübasyona bırakıldı ve değerlendirme, inkübasyonun 30. günde pozitif ve negatif kontrol plaklarının her ikisi ile karşılaştırılarak yapıldı. Test suşlarının gelişmesi, negatif kontrol plağındaki gelişmelerden daha geniş veya pozitif kontrol plağındaki gelişmelere eşit veya yakınsa pozitif (+); negatif kontrol plağındaki gelişmelere eşit veya yakınsa negatif (-) olarak kaydedildi.

### **3.2.20 Temel azot kaynaklarında gelişme**

Azot kaynaklarında gelişme testi için Williams ve diğ. (1983) tarafından tanımlanan azot kaynağı kullanım bazal ortamı kullanıldı. Gerekli miktardaki her bir azot kaynağı tinalizasyon tekniği ile steril hale getirilerek steril bazal ortama aseptik koşullarda ilave edildi. Negatif kontrol olarak sadece bazal ortam kullanıldı, pozitif kontrol olarak da % 0,1 (w/v) konsantrasyonlarında L-asparajin ilave edilmiş bazal ortamlar kullanıldı. Bütün plaklara test inokülasyonu, her petriye 12 organizma olacak şekilde multipoint inokülatör ile yapıldı. İnokülasyonlu plaklar, 37 °C' de

inkübe edilerek değerlendirme inkübasyonunun 30. günde pozitif ve negatif kontrol plaklarının her ikisi ile karşılaştırılarak yapıldı. Test suşlarının gelişmesi negatif kontrol plağındaki gelişmelerden daha geniş veya pozitif kontrol plağındakilere daha yakınsa pozitif (+); negatif kontrol plağındakine eşit veya daha yakınsa negatif (-) sonuç olarak kaydedildi.

### **3.2.21 Fizyolojik testler**

#### **3.2.21.1 pH'ya tolerans**

Test suşları, pH 4, pH 5, pH 6, pH 8, pH 10, pH 11 ve pH 12 olmak üzere 7 farklı pH değerinde gelişme kabiliyetleri üzerine test edildi. Bazal ortam olarak % 10 NaCl ilaveli Modifiye Bennett's agar (Jones, 1949) kullanıldı ve *Streptomyces* cinsi izolatları ile *Streptomyces* tip türleri için ise bazal ortam olarak tuz ilavesiz ISP 2 (Shirling ve Gottlieb, 1966) besiyeri kullanıldı. Ayrıca *Amycolatopsis* cinsi izolatları ile *Amycolatopsis* tip türleri için ise bazal ortam olarak Marin agar kullanıldı. Test suşlarının bütün plaklara inokülasyonu, multipoint inokülatör vasıtasıyla yapıldı ve inokülasyonlu plaklar 37 °C'de 30 gün inkübasyondan sonra okundu. Test plağında gelişme gösteren suşlar pozitif (+), gelişme göstermeyenler negatif (-) sonuç olarak değerlendirildi.

#### **3.2.21.2 Sıcaklığa tolerans**

Test suşları, 4 °C, 10 °C, 28 °C, 37 °C, 45 °C, 50 °C ve 55 °C olmak üzere 7 farklı sıcaklık değerinde gelişme kabiliyetleri üzerine test edildi. Bazal ortam olarak % 10 NaCl ilaveli Bennett's agar (Jones, 1949) kullanıldı ve *Streptomyces* cinsi izolatları ile *Streptomyces* tip türleri için ise bazal ortam olarak tuz ilavesiz ISP 2 (Shirling ve Gottlieb, 1966) besiyeri kullanıldı. Ayrıca *Amycolatopsis* cinsi izolatları ile *Amycolatopsis* tip türleri için ise bazal ortam olarak Marin agar kullanıldı.

4 °C, 10 °C, 28 °C, 37 °C'deki petripler 30. günde 45 °C, 50 °C ve 55 °C'deki petripler 7. günde kontrol edilerek değerlendirildi. Test plağında gelişme gösteren suşlar pozitif (+) sonuç olarak değerlendirildi.

#### **3.2.21.3 NaCl toleransı**

Test suşlarının, % 0, % 1, % 2, % 4, % 5, % 8, % 9, % 10, % 15, % 20 ve % 30 NaCl konsantrasyonlarında gelişme kabiliyetleri üzerine test edildi. Bazal ortam olarak

Bennett's agar (Jones, 1949) kullanıldı ve *Streptomyces* cinsi izolatları ile *Streptomyces* tip türleri için ise bazal ortam olarak tuz ilavesiz ISP 2 (Shirling ve Gottlieb, 1966) besiyeri kullanıldı. Ayrıca *Amycolatopsis* cinsi izolatları ile *Amycolatopsis* tip türleri için ise bazal ortam olarak Marin agar kullanıldı. Test suşları multipoint inokülatör ile inoküle edildikten sonra 37 °C' de 30 gün inkübe edildi. Test plağında gelişme gösteren suşlar pozitif (+), gelişme göstermeyenler negatif (-) sonuç olarak değerlendirildi.

### 3.2.22 Antimikrobiyal aktivite testi

Tüm izolatlar, 14 farklı mikroorganizmaya karşı agar kuyu difüzyon metodu kullanılarak antimikrobiyal aktivite testine tabi tutuldu (Zamanian ve diğ., 2005).

İzolatlar gelişimleri için farklı tuz oranlarına sahip uygun sıvı besiyerlerine inoküle edildi. Çalkalamalı inkübatörde (Excella, New Brunswick Scientific Co, Inc, NJ) 37 °C'de 7 gün 200 devirde geliştirildi. Whatman No:1 filtre kağıdı ile filtreden geçirildi. Filtrata 1:1 (v/v) oranında kloroform eklendi ve 1 saat yüksek devirde çalkalamalı inkübatörde bekletildi. Kloroformu ortamdan uzaklaştırmak için ekstraksiyon liyofilizatörde buharlaştırıldı. Liyofilize hale gelmiş örnekler 1'er ml 0,2 M fosfat tamponunda çözüldü ve yüzeyine mikroorganizma yayılan agar üzerindeki kuyulara 100'er µl olacak şekilde yüklendi. 37 °C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon sonrasında kuyular etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçüldü.

### 3.2.23 NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin PZR amplifikasyonu

Halofilik ve halotolerant aktinomiset izolatlarının ribozomal olmayan peptid sentetaz (NRPS), poliketit sentaz I ve II gen bölgeleri spesifik primerler ile araştırıldı.

**Çizelge 3.5.** NRPS, PKS-I ve II gen bölgeleri amplifikasyonu için kullanılacak primerler

Gen Bölgeleri	Primerler	Baz Büyüklüğü	Ürün Büyüklüğü	Referans
NRPS	A3F (5'GCSTACSYSATSTACACSTCSGG3')	23	700 bp	(Ayuso-Sacido ve diğ., 2005)
	A7R (5'SASGTCVCCSGTSCGGTAS3')	19		
PKS-I	K1F (5'TSAAGTCSAACATCGGBCA3')	19	1200-1400 bp	(Ayuso-Sacido ve diğ., 2005)
	M6R (5'CGCAGGTTSCSGTACCAGTA3')	20		
PKS-II	KSαF (5'TSGCSTGCTTGGAYGCSATC3')	20	613 bp	(Metsa-Ketela ve diğ., 1999)
	KSαR (5'TGGAANCCGCCGAABCCGCT3')	20		

Primerlerdeki B: Guanin, sitozin veya timin, S: Guanin veya sitozin, Y: Timin veya sitozin, V: Guanin, adenin veya timin, N: Adenin, timin, sitozin veya guanini ifade etmektedir (**Çizelge 3.5**).

NRPS için dejenere primerler adenilasyon domaininin korunmuş amino asit dizilerine göre, PKS-I ketosentaz ve metil-malonil CoA transferaz domainlerinin korunmuş amino asit dizilerine, PKS-II ise  $\beta$ -ketoaçil sentaz (KS $\alpha$ ) domaininin korunmuş amino asit dizileri esas alınarak hazırlanmıştır.

<b>Polimeraz Zincir Reaksiyonu</b>	<b>Toplam Hacim 50 <math>\mu</math>l</b>
DNA (<250 ng)	2 $\mu$ l
Forward Primer- 0.4 $\mu$ M	1 $\mu$ l
Reverse Primer- 0.4 $\mu$ M	1 $\mu$ l
GoTaq Hot Start Master Mix	25 $\mu$ l
DMSO	5 $\mu$ l
Nükleaz içermeyen su	11 $\mu$ l

Reaksiyon şartları, 95 °C’de 5 dk (ön denatürasyon), 95 °C’de 30 sn, 54 °C’de 1 dk (K1F/M6R ve KS $\alpha$ F/ KS $\alpha$ R primerleri için), 58 °C’de 1 dk (A3F-A7R primerleri için), 72 °C’de 4 dk (30 döngü) ve 72 °C’de 10 dk olacak şekilde gerçekleştirildi.

### **3.2.24 NRPS ve PKS-I gen bölgelerinin klonlanması**

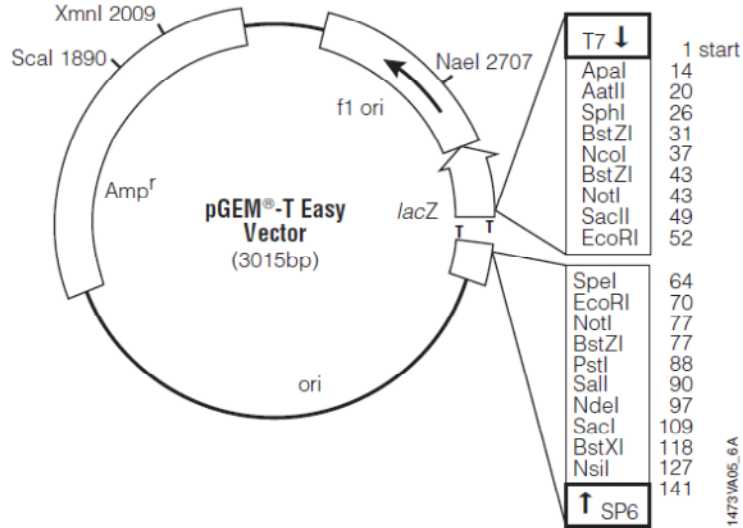
*Streptomyces* ve *Amycolatopsis* cinslerinin sekonder metabolit sentezindeki önemi ve farklı mikroorganizma gruplarına karşı göstermiş oldukları antimikrobiyal aktiviteler sonucunda *Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup>, *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> ve *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının NRPS, *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup>, *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının PKS-I gen bölgeleri klonlama çalışmalarında yer almıştır.

#### **3.2.24.1 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ve jelden saflaştırılması**

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucu elde edilen PZR ürünleri % 1,5’lik agaroz jelde yürütüldü. PZR ürünü jelden kesilerek QIAquick Jel Ekstraksiyon Kiti (Qiagen) aracılığıyla temizlendi.

### 3.2.24.2 NRPS ve PKS-I gen bölgelerinin pGEM-T easy vektöre klonlanması

Jelden temizlenen DNA fragmentleri, pGEM-T Easy vektöre (Promega) klonlandı (Şekil 3.1). Reaksiyon 1 µl pGEM-T Easy vektörü, 7,5 µl 2X ligasyon tamponu, 1 µl T4 DNA ligaz ve 5,5 µl DNA fragmenti bir araya getirilerek 15 µl'lik hacim içinde gerçekleştirildi. Karışım 4 °C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı.



Şekil 3.1. pGEM-T Easy vektör

### 3.2.24.3 Rekombinant plazmidin alıcı hücreye aktarılması

Ligasyon ürününden 2 µl alınarak 50 µl'lik kimyasal kompetent *Escherichia coli* JM109 hücresine aktarıldı. Pipetaj yapılmadan yavaşça karıştırıldı. 20 dk buz üzerine alınarak daha sonra 42 °C'de 45-50 saniye hücreler bekletildi. Hemen ardından 2 dk buz üzerine alınarak tüplere SOC sıvı ortamından 950 µl eklendi. 37 °C'de 1,5 saat 150 rpm'de inkübe edildikten sonra transformasyon ürününden 100 µl 100 µg/ml ampisilin içeren LB agar petrilere (üzerine 100 mM'lık IPTG'den 100 µl ve 50 mg/ml'lik X-Gal'den 20 µl ilave edilmiş petrilere) yayıldı. Petrilere 37 °C'de bir gece inkübe edilerek inkübasyon sonrasında mavi/ beyaz koloni morfolojisine göre ayırım yapılır. Buna göre bir laktoz analogu olan IPTG (İzopropil-β-D-tiyogalaktozid) bileşiği kullanıldığında *E.coli*'de indüksiyon meydana gelmektedir. Sentezlenen β-galaktozidaz enzimi X-Gal (5-brom-4-klor-3-indolil-β-D-galaktopiranosit) bileşiğini parçalayarak ortamda mavi renkli koloniler oluşturur. Mavi koloniler içerisinde PZR ürünü bulunmayan plazmitleri içermektedir. Beyaz koloniler ise rekombinant plazmitleri içerdiğinden ortamdaki beyaz kolonilerden seçim yapılmaktadır.

#### **3.2.24.4 Rekombinant plazmit izolasyonu**

Plazmit DNA izolasyonu için S.N.A.P. MiniPrep Kit (Invitrogen) kullanıldı. Beyaz kolonilerden alınarak 6 ml ampisilin (100 µg/ml) içeren Luria Bertani (LB) sıvı besiyerine kürdan ile ekim yapılarak 37 °C’de 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kültürün bir kısmı (850 µl) stokların oluşturulması amacıyla ayrılarak üzerlerine 150 µl steril gliserol eklenerek -20 °C’de muhafaza edildi.

#### **3.2.24.5 Rekombinant plazmit kesim reaksiyonu**

İzole edilen plazmit DNA’ların DNA fragmentlerini içerip içermediğini tespit etmek için bu plazmit DNA’ları *EcoRI* restriksiyon enzimi ile muamele edildi. 10 µl DNA, 0,5 µl *EcoRI* (promega), 2 µl enzime ait 10X reaksiyon tamponu ve 7,5 µl H<sub>2</sub>O olacak şekilde 20 µl’lik hacimlerde reaksiyonlar hazırlandı ve 37 °C’de 2 saat inkübe edildi. Ardından % 1’lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü.

#### **3.2.24.6 Rekombinant plazmit DNA konsantrasyonunun belirlenmesi ve analizi**

Spektrofotometrede 260 nm’deki absorbans değeri ölçüldü. Absorbansın ‘1’ değeri 10 mm ışık yolu olan bir küvette, 50 µg/ml miktarında çift zincirli DNA’yı temsil ettiği bilinmektedir (Topal Sarıkaya, 2008). DNA konsantrasyonu (µg/ml) = OD260 x Seyreltme katsayısı x 50 µg/ml formülü kullanılarak hesaplanmıştır. DNA (µg/ml)= 200 ng/µl olacak şekilde her tüp 20 µl hazırlandı.

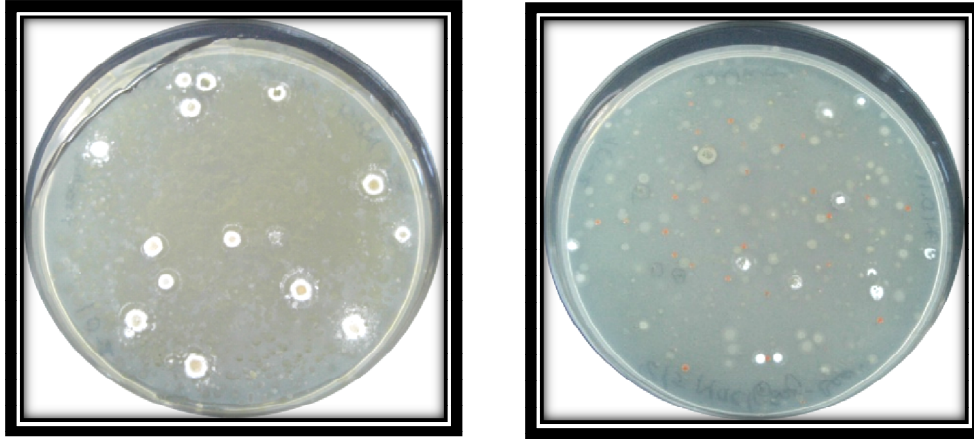
Sekanslama işlemi, Macrogen firması tarafından Hollanda’da gerçekleştirildi. NRPS ve PKS-I gen kümelerinin ilgili domainlerinin dizilimleri NCBI web sayfasında Blast programında incelendi (URL-14: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Bulgular

#### 4.1.1 Tuzlu ortamlardan farklı aktinomisetlerin izolasyonu, saflaştırılması, stoklanması

İzolasyon işlemi 11 farklı besiyeri kullanılarak gerçekleştirildi. İzolasyon için hazırlanan petriyeler 28 °C’de 30-60 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Bazı izolasyon petri görüntüleri **Şekil 4.1**’de gösterildi. Saflaştırılan 50 test izolatı, % 30’luk gliserol içerisine aktarılarak -80 °C’de stoklandı (**Çizelge 4.1**).



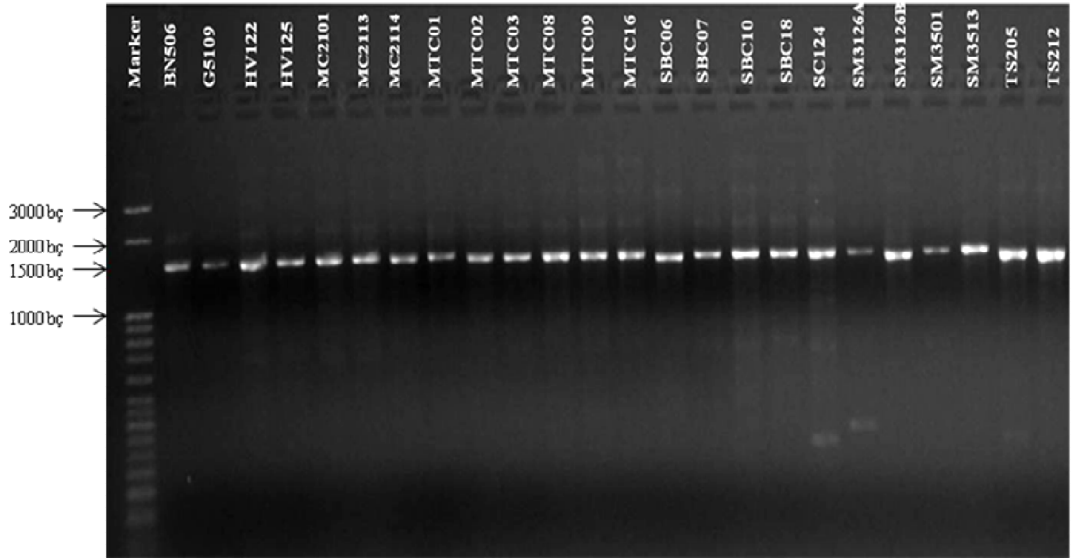
**Şekil 4.1.** % 15 NaCl ilaveli marin agar ve % 15 NaCl ilaveli soy bean meal agar izolasyon petri görüntüleri.

**Çizelge 4.1.** Test izolatlarının numaraları, izolasyon ortamları ve izole edildikleri besiyerleri

No	İzolat No	Toprak ve sediment örnekleri	Seçici Besiyerleri
1	B17	Tuz gölü kenarı	Medium B- % 20 NaCl
2	B18	Şerefli Koçhisar'dan 30km önce bitkilerin arasındaki toprak alan	Medium B- % 20 NaCl
3	BN506	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Modifiye Bennett's Agar- % 15 NaCl
4	BN517	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Modifiye Bennett's Agar- % 15 NaCl
5	BNT50	Cihanbeyli Yavşan tuzlası	Modifiye Bennett's Agar- % 10 NaCl
6	BNT52 <sup>1</sup>	Cihanbeyli Yavşan tuzlası	Modifiye Bennett's Agar- % 5 NaCl
7	BNT5310	Cihanbeyli Yavşan tuzlası	Modifiye Bennett's Agar- % 5 NaCl
8	BNT558 <sup>1</sup>	Tuz gölü kenarı- 50 m içerisi	Modifiye Bennett's Agar- % 5 NaCl
9	C22	Şerefli Koçhisar'dan 30km önce bitkilerin arasındaki toprak alan	Medium C- % 17,5 NaCl
10	C23	Şerefli Koçhisar'dan 30km önce bitkilerin arasındaki toprak alan	Medium C- % 17,5 NaCl
11	C243	Cihanbeyli Yavşan tuzlası	Medium C- % 17,5 NaCl
12	D31	Şerefli Koçhisar'dan 30km önce bitkilerin arasındaki toprak alan	Medium D- % 20,6 NaCl
13	D32	Tuz gölünden 100m uzaklık (Göl tarla arası)	Medium D- % 20,6 NaCl
14	D37	Cihanbeyli Yavşan tuzlası	Medium D- % 20,6 NaCl
15	E45	Cihanbeyli Yavşan tuzlası	Medium E- % 12,5 NaCl
16	G5109	Çamaltı tuzlası-1.Havuz sediment	GW3-% 15 NaCl
17	HV122	Tuz Gölü Sedimenti-Tuz Gölü kıyısı tuz tabakasının altı	Humik Asit-Vitamin Agar -% 15 NaCl
18	HV125	Tuz Gölü Sedimenti-Tuz Gölü kıyısı tuz tabakasının altı	Humik Asit-Vitamin Agar -% 15 NaCl
19	MC2101	Tuz gölü ayrık tuz yüzeyde	Medium C- % 17,5 NaCl
20	MC2111	Tuz gölü ayrık tuz yüzeyde	Medium C- % 17,5 NaCl
21	MC2113	Tuz gölü ayrık tuz yüzeyde	Medium C- % 17,5 NaCl
22	MC2114	Tuz gölü ayrık tuz yüzeyde	Medium C- % 17,5 NaCl
23	MC4110	Tuz gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Medium C- % 17,5 NaCl
24	MT106	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Marin Agar-% 15 NaCl
25	MTC01	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Marin Agar-% 15 NaCl
26	MTC02	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Marin Agar-% 15 NaCl
27	MTC03	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Marin Agar-% 15 NaCl
28	MTC08	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Marin Agar-% 15 NaCl
29	MTC09	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Marin Agar-% 15 NaCl
30	MTC16	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Marin Agar-% 15 NaCl
31	SBC06	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Soy-Bean Meal Agar-% 15 NaCl
32	SBC07	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Soy-Bean Meal Agar-% 15 NaCl
33	SBC10	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Soy-Bean Meal Agar-% 15 NaCl
34	SBC18	Tuz Gölü Sınırı-Bitkili Alan	Soy-Bean Meal Agar-% 15 NaCl
35	SC1	Şirvan Toprağı	Medium C- % 17,5 NaCl
36	SC124	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
37	SM3126A	Tuz Gölü Sedimenti-Tuz Gölü kıyısı tuz tabakasının altı	SM3 Medium-Gauze's Agar-%15 NaCl
38	SM3126B	Tuz Gölü Sedimenti-Tuz Gölü kıyısı tuz tabakasının altı	SM3 Medium-Gauze's Agar-%15 NaCl
39	SM3501 <sup>1</sup>	Çamaltı tuzlası-1.Havuz Sediment	SM3 Medium-Gauze's Agar-%15 NaCl
40	SM3513	Çamaltı tuzlası-1.Havuz Sediment	SM3 Medium-Gauze's Agar-%15 NaCl
41	TS203A	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
42	TS203B	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
43	TS205	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
44	TS206	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
45	TS209	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
46	TS212	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
47	TS215	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Nişasta-Kazein Agar-% 15 NaCl
48	TV603	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Humik Asit-Vitamin Agar -%15 NaCl
49	TV604	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Humik Asit-Vitamin Agar -%15 NaCl
50	TV607	Tuz Gölü su alanı yüzeyi tuzlu bitkisiz sınıra 5m	Humik Asit-Vitamin Agar -%15 NaCl

#### 4.1.2 16S rRNA geni PZR amplifikasyonu

Genomik DNA'sı izole edilen 50 izolattın 16S rRNA gen bölgesi 27f ve 1525r evrensel primerleri ile Gradient PZR'de çoğaltıldı. PZR sonrası çoğaltılan ortalama 1500 baz çifti büyüklüğündeki DNA bölgesi agaroz jel elektroforezinde görüntüledi ve Mini Lumi görüntüleme cihazında fotoğraflandı (**Şekil 4.2**).



**Şekil 4.2.** Bazı test izolatlarının 16S rRNA gen bölgesine ait amplifikasyon ürünlerinin % 1,5'lük agaroz jel elektroforez görüntüsü. Marker; Sigma, 50 bç DNA Ladder.

#### 4.1.3 16S rRNA geni dizi analizi ve filogenisi

16S rRNA gen bölgesi PZR amplifikasyonları gerçekleştirilen örnekler QIAquick PZR Pürifikasyon Kiti ile saflaştırıldıktan sonra, 27f, 800r, MG3f, MG4f, MG5f ve MG6f primerleri ile dizi analizi yapıldı. Elde edilen dizi verileri, Etaxon Server kullanılarak, uluslararası veritabanlarındaki en yakın akraba türlerin dizi verileri ile karşılaştırıldı ve % benzerlikleri belirlendi (**Çizelge 4.2**). 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre izolatların cinslere göre dağılımını gösteren grafik **Şekil 4.3**'te verildi. 16S rRNA dizi verilerine göre test izolatlarının filogenetik pozisyonlarının belirlenmesi için dendogramları oluşturuldu (**Şekil 4.4-4.10**). Dendogramlar neighbour-joining algoritması ve evrimsel uzaklık matrisi olarak Jukes ve Cantor (1969) metodu izlenerek gerçekleştirildi. Filogenetik analizler için MEGA 5.2 paket programı kullanıldı (Tamura ve diğ., 2011). Oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri (Felsenstein, 1985) 1000 tekrarlı olarak yapıldı.

Dizi analizi sonuçlarına göre 50 izolattan sadece 38 tanesinin *Actinobacteria* sınıfına 12 izolatında *Bacilli* sınıfına ait olduğu tespit edildi (**Çizelge 4.2-4.3**).

Çalışmanın kalan kısmı 38 izolat üzerinden devam etmiştir. Dizi verilerinin filogenetik analizleri sonucunda, *Actinopolyspora* cinsi üyesi 11, *Amycolatopsis* cinsi üyesi 1 izolat, *Nocardiopsis* cinsi üyesi 2, *Prauserella* cinsi üyesi 1 izolat, *Saccharomonospora* cinsi üyesi 19, *Streptomonospora* cinsi üyesi 1 izolat *Streptomyces* cinsi üyesi 3 izolat elde edilmiştir.

Kendi aralarında % 100 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği gösteren B17, B18, C22, C243 ve D32 *Actinopolyspora* izolatları en yakın filogenetik akraba türü olan *Actinopolyspora dayingensis* TRM 4064<sup>T</sup> ile % 99,86 (1422/2 nt) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Dendogramda ise birlikte kümelenmişlerdir. *Actinopolyspora* sp. C23, D37, E45 ve SC1 izolatları ile en yakın filogenetik akraba türü olan *Actinopolyspora erythraea* YIM 90600<sup>T</sup> arasında sırasıyla % 99,24 (1449/11 nt) , % 99,04 (1465/14 nt), % 99,93 (1465/1 nt), % 99,45 (1465/8 nt) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır. *Actinopolyspora* sp. G5109 izolatının en yakın akraba türü olan *Actinopolyspora xinjiangensis* TRM 4013<sup>T</sup> ile % 99,22 (1411/11 nt) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği tespit edilmiştir. *Actinopolyspora* cinsi üyesi olan D31 izolatı en yakın akraba türü olan *Actinopolyspora alba* YIM 90480<sup>T</sup> ile % 98,72 (1485/19 nt) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermiştir (**Çizelge 4.4, Şekil 4.4**).

*Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup> izolatının en yakın akrabaları *Amycolatopsis nigrescens* CSC17-Ta-90<sup>T</sup> ile % 96,65 (1405/47 nt), *Amycolatopsis magusensis* KT2025<sup>T</sup> ile % 96,64 (1458/49 nt), *Amycolatopsis sulphurea* DSM 46092<sup>T</sup> ile % 96,61(1444/49 nt), *Amycolatopsis dongchuanensis* YIM 75904<sup>T</sup> ile % 96,49 (1455/51 nt), *Amycolatopsis ultiminotia* RP-AC36<sup>T</sup> ile % 96,43 (1401/50 nt), *Amycolatopsis sacchari* K24<sup>T</sup> ile % 96,41 (1448/52 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır (**Şekil 4.5**).

Kendi aralarında % 95,79 (1473/62 nt) 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği gösteren *Nocardiopsis* cinsi üyesi BNT50 ve BNT5310 izolatlarının en yakın akraba türleri olan *Nocardiopsis halophila* KCTC 9825<sup>T</sup> ve *Nocardiopsis dassonvillei* subsp. *dassonvillei* DSM 43111<sup>T</sup> ile aralarında sırasıyla % 99,46 (1474/8 nt) ve % 99,80 (1478/3 nt) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır (**Şekil 4.6**).

*Prauserella* cinsi MC2114 izolatının en yakın tip türü olan *Prauserella aidingensis* YIM 90636<sup>T</sup> ile arasında % 99,52'lik (1451/7 nt) bir 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliğine rastlanmıştır (**Şekil 4.7**).

**Çizelge 4.2.** 16S rRNA sekans sonuçlarına göre *Actinobacteria* sınıfına ait 38 test organizmasının en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği

No	Suş Kodu	% NaCl	En Yakın Tip Türü	% Benzerlik-Nükleotit Farklılığı
1.	D31	% 20,6 NaCl	<i>Actinopolyspora alba</i> YIM 90480 <sup>T</sup>	% 98,72- 19/1485 nt
2.	B17	% 20 NaCl	<i>Actinopolyspora dayingensis</i> TRM 4064 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1422 nt
3.	B18	% 20 NaCl	<i>Actinopolyspora dayingensis</i> TRM 4064 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1422 nt
4.	C22	% 17,5 NaCl	<i>Actinopolyspora dayingensis</i> TRM 4064 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1422 nt
5.	C243	% 17,5 NaCl	<i>Actinopolyspora dayingensis</i> TRM 4064 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1422 nt
6.	D32	% 20,6 NaCl	<i>Actinopolyspora dayingensis</i> TRM 4064 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1422 nt
7.	C23	% 17,5 NaCl	<i>Actinopolyspora erythraea</i> YIM 90600 <sup>T</sup>	% 99,24- 11/1449 nt
8.	D37	% 20,6 NaCl	<i>Actinopolyspora erythraea</i> YIM 90600 <sup>T</sup>	% 99,04- 14/1465 nt
9.	E45	% 12,5 NaCl	<i>Actinopolyspora erythraea</i> YIM 90600 <sup>T</sup>	% 99,93- 1/1465 nt
10.	SC1	% 17,5 NaCl	<i>Actinopolyspora erythraea</i> YIM 90600 <sup>T</sup>	% 99,45- 8/1465 nt
11.	G5109	% 15 NaCl	<i>Actinopolyspora xinjiangensis</i> TRM 40136 <sup>T</sup>	% 99,22-11/1411 nt
12.	BNT52 <sup>T</sup>	% 5 NaCl	<i>Amycolatopsis nigrescens</i> CSC17-Ta-90 <sup>T</sup>	% 96,65- 47/1405 nt
13.	BNT50	% 10 NaCl	<i>Nocardiosis halophila</i> KCTC 9825 <sup>T</sup>	% 99,46- 8/1474 nt
14.	BNT5310	% 5 NaCl	<i>Nocardiosis dassonvillei</i> subsp. <i>dassonvillei</i> DSM 43111 <sup>T</sup>	% 99,80- 3/1478 nt
15.	MC2114	% 17,5 NaCl	<i>Prauserella aidingensis</i> YIM 90636 <sup>T</sup>	% 99,52- 7/1451 nt
16.	HV122	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,59- 6/1472 nt
17.	HV125	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,45- 8/1442 nt
18.	MC2101	% 17,5 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1463 nt
19.	MC2113	% 17,5 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,66- 5/1479 nt
20.	MTC01	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,80- 3/1469 nt
21.	MTC02	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,59- 6/1476 nt
22.	MTC03	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,66- 5/1472 nt
23.	MTC08	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,80- 3/1468 nt
24.	MTC09	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,80- 3/1473 nt
25.	MTC16	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,73- 4/1469 nt
26.	SBC06	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,80- 3/1471 nt
27.	SBC07	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,39- 9/1481 nt
28.	SBC10	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,52- 7/1463 nt
29.	SBC18	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,52- 7/1472 nt
30.	SC124	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,59- 6/1474 nt
31.	SM3126A	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1461 nt
32.	SM3126B	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,53- 7/1474 nt
33.	TS205	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,66- 5/1470 nt
34.	TS212	% 15 NaCl	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	% 99,46- 8/1472 nt
35.	BN506	% 15 NaCl	<i>Streptomonospora halophila</i> YIM 91355 <sup>T</sup>	% 98,14- 27/1451 nt
36.	BNT558 <sup>T</sup>	% 5 NaCl	<i>Streptomyces albiacialis</i> NRRL B-24327 <sup>T</sup>	% 98,91- 16/1471 nt
37.	SM3501 <sup>T</sup>	% 15 NaCl	<i>Streptomyces cacaoi</i> subsp. <i>cacaoi</i> NBRC 12748 <sup>T</sup>	% 98,43- 23/1464 nt
38.	SM3513	% 15 NaCl	<i>Streptomyces cacaoi</i> subsp. <i>cacaoi</i> NBRC 12748 <sup>T</sup>	% 98,64- 20/1466 nt

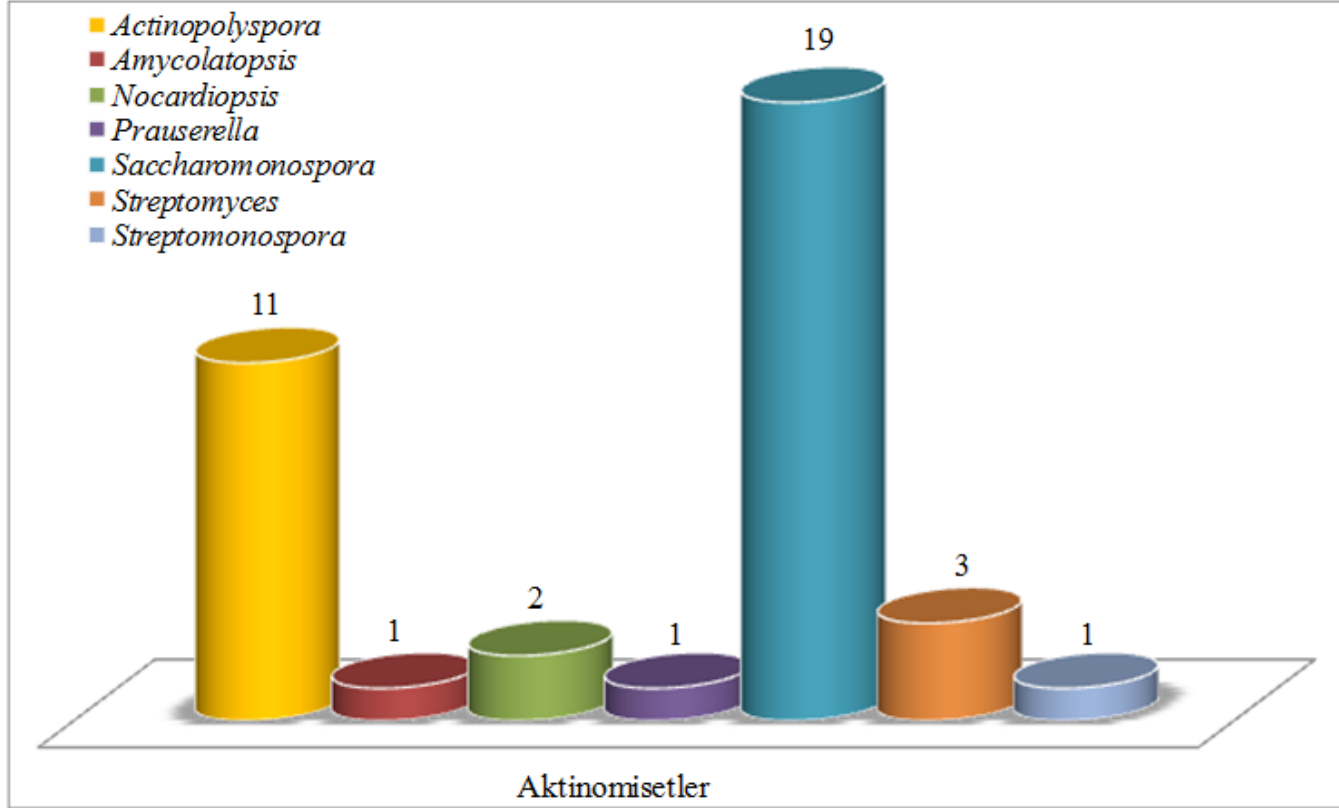
*Saccharomonospora* cinsi üyesi 19 izolatın *Saccharomonospora paurometabolica* YIM 90007<sup>T</sup> tip türü ile arasında % 99,39-99,86 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği 2-9 nt farklılık tespit edilmiştir (Çizelge 4.5., Şekil 4.8).

*Streptomonospora* sp. BN506 izolatının en yakın akrabaları *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> ile % 98,14 (1451/27 nt) ve *Streptomonospora arabica* S186<sup>T</sup> ile % 97,89 (1376/29 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır (**Şekil 4.9**).

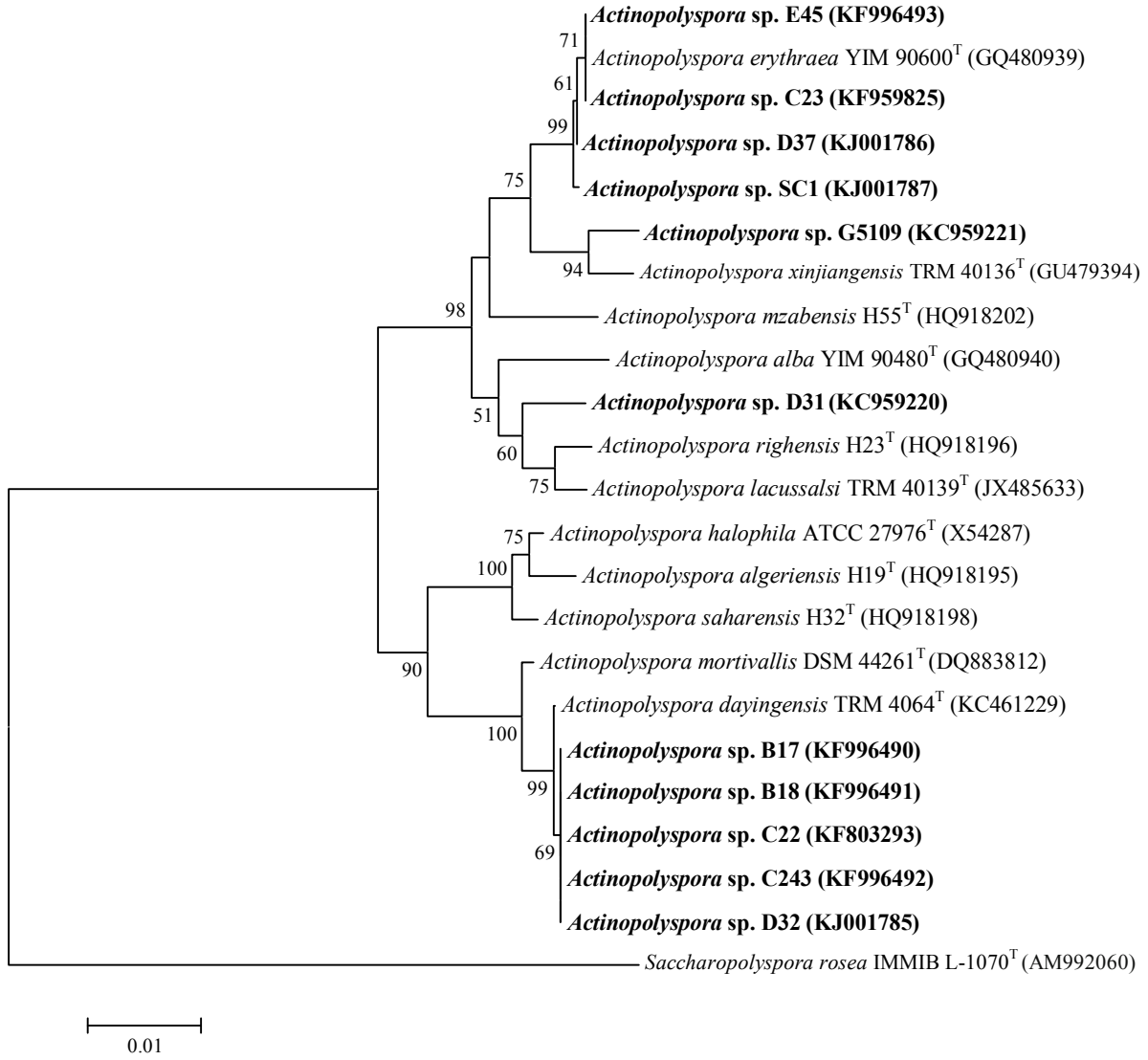
*Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatının en yakın akrabaları *Streptomyces albiacialis* NRRL B-24327<sup>T</sup> ile % 98,91 (1471/16 nt), *Streptomyces daliensis* YIM 31724<sup>T</sup> ile % 98,37 (1471/24 nt), *Streptomyces sclerotialus* DSM 43032<sup>T</sup> ile % 98,15 (1461/27 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır. *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatının en yakın akrabaları *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748<sup>T</sup> ile % 98,43 (1464/23 nt), *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> ile % 98,37 (1472/24 nt), *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> % 97,76 (1472/33 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır. *Streptomyces* sp. SM3513 izolatı, en yakın akrabaları *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748<sup>T</sup> ile % 98,64 (1466/20 nt), *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> ile % 98,03 (1470/29 nt) 16S rRNA dizi benzerliğine sahiptir. *Streptomyces* cinsine ait BNT558<sup>T</sup> izolatının SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatları ile aralarında % 96,94 (1471/45 nt), % 96,80 (1469/47 nt) 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliğine sahipken, SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 *Streptomyces* izolatları aralarında % 98,99 (1478/15 nt) 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği göstermektedir (**Çizelge 4.6, Şekil 4.10**).

**Çizelge 4.3.** 16S rRNA sekans sonuçlarına göre *Bacilli* sınıfına ait 12 test organizmasının en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği

No	Suş Kodu	% NaCl	En Yakın Tip Türü	% Benzerlik-Nükleotit Farklılığı
1.	BN517	% 15 NaCl	<i>Alkalibacillus halophilus</i> YIM 012 <sup>T</sup>	% 99,86- 2/1471 nt
2.	MC2111	% 17,5 NaCl	<i>Halobacillus alkaliphilus</i> FP5 <sup>T</sup>	% 99,52- 7/1484 nt
3.	MC4110	% 17,5 NaCl	<i>Bacillus hwajinpoensis</i> SW-72 <sup>T</sup>	% 99,19-12/1490 nt
4.	MT106	% 15 NaCl	<i>Halobacillus alkaliphilus</i> FP5 <sup>T</sup>	% 97,50-37/1481 nt
5.	TS203A	% 15 NaCl	<i>Filobacillus milosensis</i> DSM 13259 <sup>T</sup>	% 99,39- 9/1491 nt
6.	TS203B	% 15 NaCl	<i>Filobacillus milosensis</i> DSM 13259 <sup>T</sup>	% 99,44- 8/1490 nt
7.	TS206	% 15 NaCl	<i>Piscibacillus halophilus</i> HS224 <sup>T</sup>	% 99,18- 12/1462 nt
8.	TS209	% 15 NaCl	<i>Halobacillus alkaliphilus</i> FP5 <sup>T</sup>	% 99,20- 11/1465 nt
9.	TS215	% 15 NaCl	<i>Filobacillus milosensis</i> DSM 13259 <sup>T</sup>	% 99,93- 1/1468 nt
10.	TV603	% 15 NaCl	<i>Piscibacillus halophilus</i> HS224 <sup>T</sup>	% 99,45- 8/1466 nt
11.	TV604	% 15 NaCl	<i>Piscibacillus halophilus</i> HS224 <sup>T</sup>	% 99,17-12/1411 nt
12.	TV607	% 15 NaCl	<i>Halobacillus alkaliphilus</i> FP5 <sup>T</sup>	% 99,90- 2/1469 nt



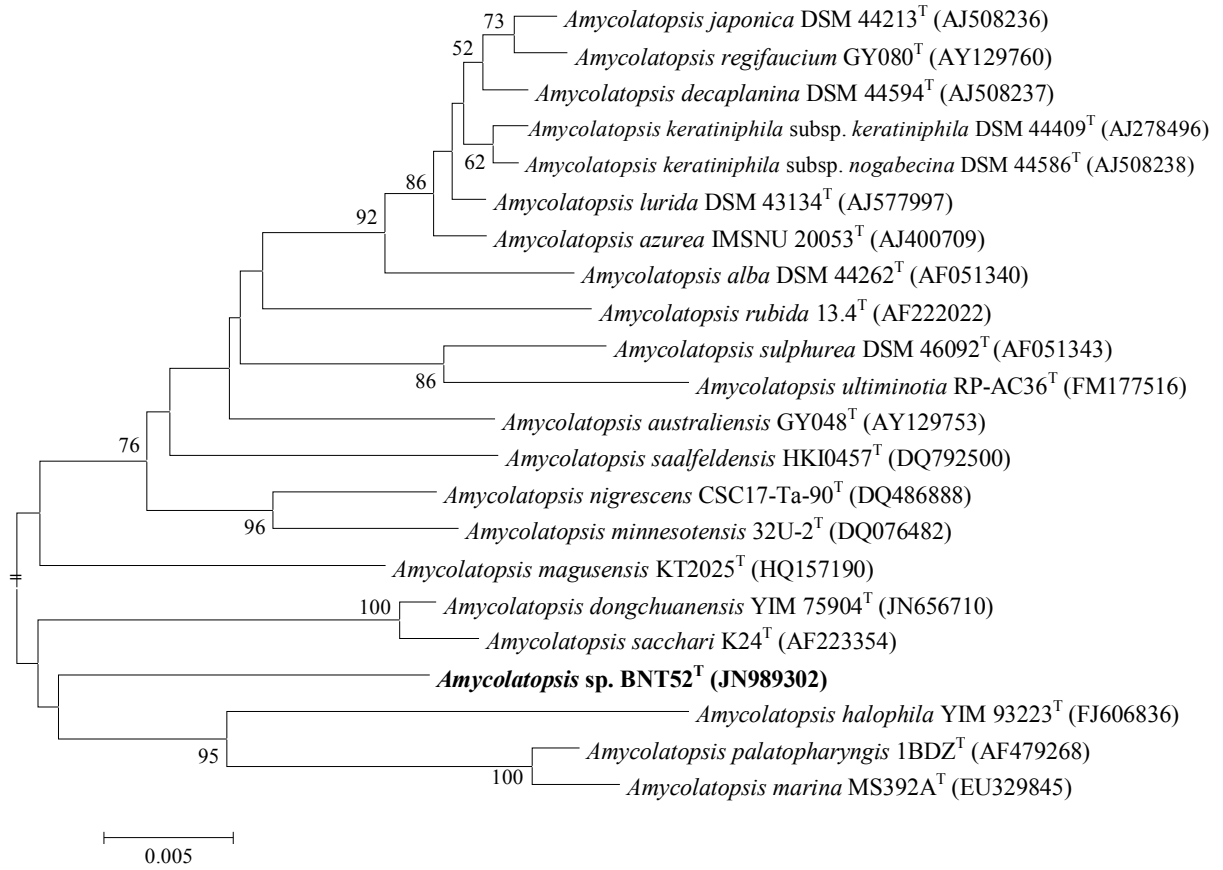
Şekil 4.3. 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre aktinomiset test izolatlarının cinslere göre dağılımı



**Şekil 4.4.** Sekansı yapılan *Actinopolyspora* izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0,01'dir.

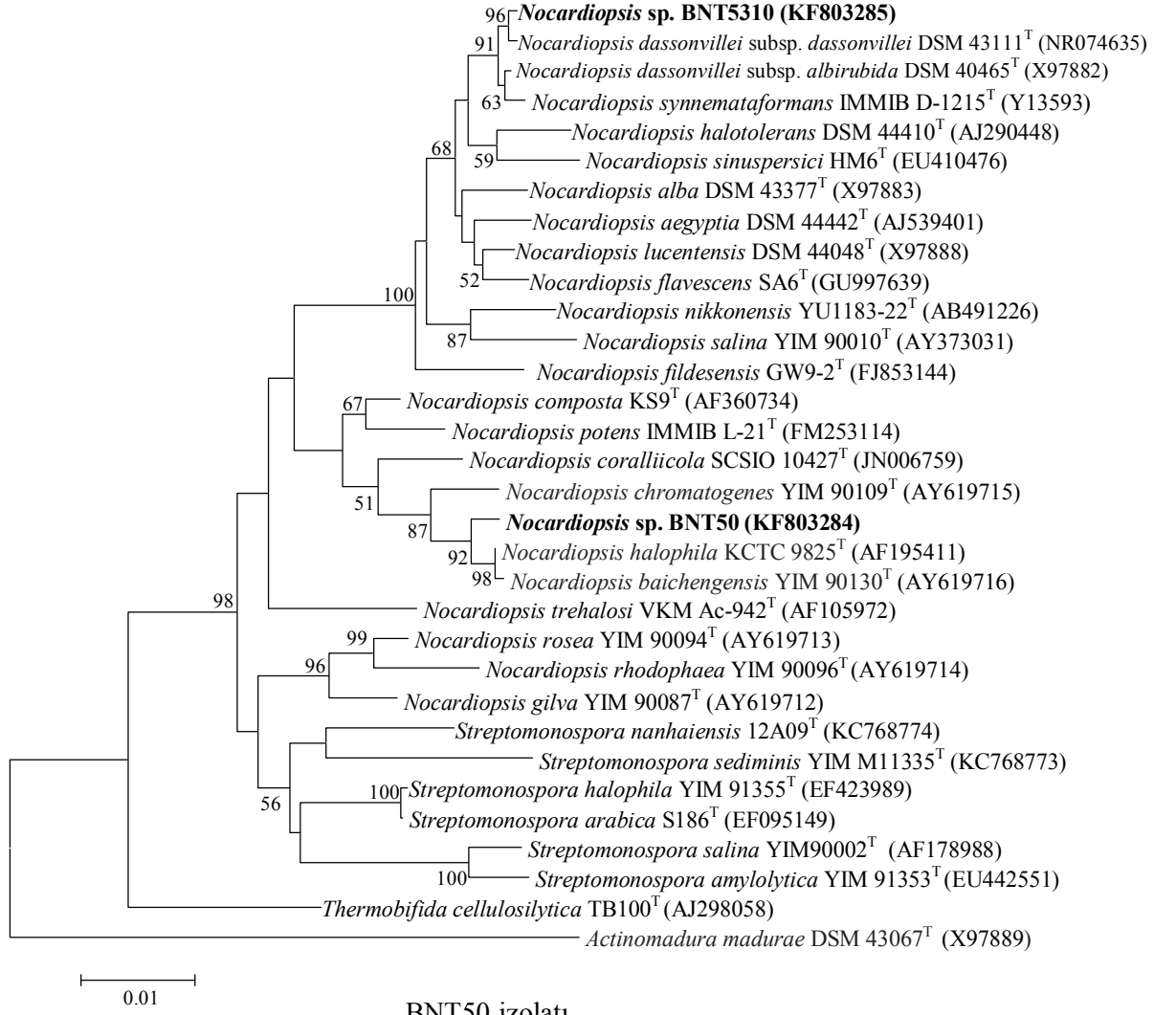
**Çizelge 4.4.** *Actinopolyspora* cinsine ait izolatlar ve *Actinopolyspora* tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

	B17	B18	C22	C23	C243	D31	D32	D37	E45	G5109	SC1	<i>A.xinjiangensis</i> TRM 40136 <sup>T</sup>	<i>A.erythraea</i> YIM 90600 <sup>T</sup>	<i>A.alba</i> YIM 90480 <sup>T</sup>	<i>A.righensis</i> H23 <sup>T</sup>	<i>A.mzabensis</i> H55 <sup>T</sup>	<i>A.lacussalsi</i> TRM 40139 <sup>T</sup>	<i>A.saharensis</i> H32 <sup>T</sup>	<i>A.halophila</i> ATCC 27976 <sup>T</sup>	<i>A.algeriensis</i> H19 <sup>T</sup>	<i>A.mortivallis</i> DSM 44261 <sup>T</sup>	<i>A.dayingensis</i> TRM 4064 <sup>T</sup>
<b>B17</b>	---	0/1509	0/1510	62/1468	0/1508	67/1482	0/1505	63/1478	62/1473	73/1488	62/1477	65/1405	62/1459	72/1484	65/1361	74/1490	75/1396	40/1488	48/1500	50/1498	18/1510	2/1422
<b>B18</b>	100,00	---	0/1509	62/1468	0/1508	67/1482	0/1505	63/1478	62/1473	73/1488	62/1477	65/1405	62/1459	72/1484	65/1361	74/1489	75/1396	40/1488	48/1499	50/1497	18/1509	2/1422
<b>C22</b>	100,00	100,00	---	62/1468	0/1508	67/1482	0/1505	63/1478	62/1473	73/1488	62/1477	65/1405	62/1459	72/1484	65/1361	74/1492	75/1396	40/1488	48/1502	50/1500	18/1512	2/1422
<b>C23</b>	95,78	95,78	95,78	---	62/1468	33/1474	62/1468	1/1474	0/1474	23/1474	2/1474	22/1410	11/1449	34/1471	31/1365	31/1473	40/1400	57/1472	57/1472	59/1470	62/1471	62/1400
<b>C243</b>	100,00	100,00	100,00	95,78	---	67/1482	0/1505	63/1478	62/1473	72/1487	62/1477	65/1405	62/1459	71/1483	65/1361	73/1488	75/1396	40/1488	47/1498	49/1496	17/1508	2/1422
<b>D31</b>	95,48	95,48	95,48	97,76	95,48	---	67/1482	32/1484	33/1479	36/1488	31/1483	23/1410	33/1465	19/1485	23/1365	38/1488	22/1400	57/1479	57/1486	58/1484	66/1485	65/1400
<b>D32</b>	100,00	100,00	100,00	95,78	100,00	95,48	---	63/1478	62/1473	71/1484	62/1477	65/1405	62/1459	68/1480	65/1361	70/1485	75/1396	40/1488	44/1495	46/1493	14/1505	2/1422
<b>D37</b>	95,74	95,74	95,74	99,93	95,74	97,84	95,74	---	1/1479	22/1484	1/1483	21/1410	14/1465	33/1481	30/1365	30/1483	39/1400	58/1479	58/1482	58/1480	63/1481	63/1400
<b>E45</b>	95,79	95,79	95,79	100,00	95,79	97,77	95,79	99,93	---	23/1479	2/1479	22/1410	1/1465	34/1476	31/1365	31/1478	40/1400	57/1477	57/1477	59/1475	62/1476	62/1400
<b>G5109</b>	95,09	95,09	95,09	98,44	95,16	97,58	95,22	98,52	98,44	---	23/1483	11/1411	23/1465	40/1490	39/1366	48/1493	43/1401	64/1480	72/1491	74/1489	74/1491	67/1401
<b>SC1</b>	95,80	95,80	95,80	99,86	95,80	97,91	95,80	99,93	99,86	98,45	---	22/1410	8/1465	33/1480	29/1365	29/1482	38/1400	57/1479	57/1481	57/1479	62/1480	62/1400
<i>A.xinjiangensis</i> TRM 40136 <sup>T</sup>	95,37	95,37	95,37	98,44	95,37	98,37	95,37	98,51	98,44	99,22	98,44	---	22/1410	34/1407	30/1366	40/1410	34/1398	63/1409	66/1408	68/1406	67/1408	67/1400
<i>A.erythraea</i> YIM 90600 <sup>T</sup>	95,75	95,75	95,75	99,24	95,75	97,75	95,75	99,04	99,93	98,43	99,45	98,44	---	34/1462	31/1365	31/1464	40/1400	57/1463	57/1463	59/1461	62/1462	62/1400
<i>A.alba</i> YIM 90480 <sup>T</sup>	95,15	95,15	95,15	97,69	95,21	98,72	95,41	97,77	97,70	97,32	97,77	97,58	97,67	---	35/1362	39/1489	34/1397	57/1476	55/1488	58/1486	66/1487	65/1397
<i>A.righensis</i> H23 <sup>T</sup>	95,22	95,22	95,22	97,73	95,22	98,32	95,22	97,80	97,73	97,14	97,88	97,80	97,73	97,43	---	24/1365	10/1358	55/1364	56/1364	59/1361	64/1363	63/1359
<i>A.mzabensis</i> H55 <sup>T</sup>	95,03	95,03	95,04	97,90	95,09	97,45	95,29	97,98	97,90	96,78	98,04	97,16	97,88	97,38	98,24	---	26/1401	61/1481	59/1495	61/1493	69/1495	69/1402
<i>A.lacussalsi</i> TRM 40139 <sup>T</sup>	94,63	94,63	94,63	97,14	94,63	98,43	94,63	97,21	97,14	96,93	97,29	97,57	97,14	97,57	99,26	98,14	---	59/1400	60/1399	62/1397	74/1399	74/1393
<i>A.saharensis</i> H32 <sup>T</sup>	97,31	97,31	97,31	96,13	97,31	96,15	97,31	96,08	96,14	95,68	96,15	95,53	96,10	96,14	95,97	95,88	95,79	---	15/1492	18/1491	41/1491	40/1413
<i>A.halophila</i> ATCC 27976 <sup>T</sup>	96,80	96,80	96,80	96,13	96,86	96,16	97,06	96,09	96,14	95,17	96,15	95,31	96,10	96,30	95,89	96,05	95,71	98,99	---	16/1506	42/1509	41/1412
<i>A.algeriensis</i> H19 <sup>T</sup>	96,66	96,66	96,67	95,99	96,72	96,09	96,92	96,08	96,00	95,03	96,15	95,16	95,96	96,10	95,66	95,91	95,56	98,79	98,94	---	44/1504	43/1410
<i>A.mortivallis</i> DSM 44261 <sup>T</sup>	98,81	98,81	98,81	95,79	98,87	95,56	99,07	95,75	95,80	95,04	95,81	95,24	95,76	95,56	95,30	95,38	94,71	97,25	97,22	97,07	---	11/1422
<i>A.dayingensis</i> TRM 4064 <sup>T</sup>	99,86	99,86	99,86	95,57	99,86	95,36	99,86	95,50	95,57	95,22	95,57	95,21	95,57	95,35	95,36	95,08	94,69	97,17	97,10	96,95	99,23	---



No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Amycolatopsis nigrescens</i> CSC17-Ta-90 <sup>T</sup>	DQ486888	96,65	47/1405
2	<i>Amycolatopsis magusensis</i> KT2025 <sup>T</sup>	HQ157190	96,64	49/1458
3	<i>Amycolatopsis sulphurea</i> DSM 46092 <sup>T</sup>	AF051343	96,61	49/1444
4	<i>Amycolatopsis dongchuanensis</i> YIM 75904 <sup>T</sup>	JN656710	96,49	51/1455
5	<i>Amycolatopsis ultiminotia</i> RP-AC36 <sup>T</sup>	FM177516	96,43	50/1401
6	<i>Amycolatopsis sacchari</i> K24 <sup>T</sup>	AF223354	96,41	52/1448
7	<i>Amycolatopsis azurea</i> IMSNU 20053 <sup>T</sup>	AJ400709	96,15	56/1454
8	<i>Amycolatopsis palatopharyngis</i> 1BDZ <sup>T</sup>	AF479268	96,13	55/1422
9	<i>Amycolatopsis lurida</i> DSM 43134 <sup>T</sup>	AJ577997	96,12	54/1391
10	<i>Amycolatopsis marina</i> MS392A <sup>T</sup>	EU329845	96,10	57/1463
11	<i>Amycolatopsis decaplanina</i> DSM 44594 <sup>T</sup>	AJ508237	96,09	57/1457
12	<i>Amycolatopsis minnesotensis</i> 32U-2 <sup>T</sup>	DQ076482	96,04	58/1463
13	<i>Amycolatopsis keratiniphila</i> subsp. <i>keratiniphila</i> DSM 44409 <sup>T</sup>	AJ278496	96,00	56/1400
14	<i>Amycolatopsis keratiniphila</i> subsp. <i>nogabecina</i> DSM 44586 <sup>T</sup>	AJ508238	95,89	60/1460
15	<i>Amycolatopsis japonica</i> DSM 44213 <sup>T</sup>	AJ508236	95,82	61/1458
16	<i>Amycolatopsis alba</i> DSM 44262 <sup>T</sup>	AF051340	95,77	61/1442
17	<i>Amycolatopsis saalfeldensis</i> HKI0457 <sup>T</sup>	DQ792500	95,75	61/1434
18	<i>Amycolatopsis rubida</i> 13.4 <sup>T</sup>	AF222022	95,71	60/1399
19	<i>Amycolatopsis australiensis</i> GY048 <sup>T</sup>	AY129753	95,67	62/1433
20	<i>Amycolatopsis halophila</i> YIM 93223 <sup>T</sup>	FJ606836	95,63	64/1465

**Şekil 4.5.** Sekansı yapılan *Amycolatopsis cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> izolatının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotid pozisyon değişimi 0,005'tir.



No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Nocardioopsis halophila</i> KCTC 9825 <sup>T</sup>	AF195411	99,46	8/1474
2	<i>Nocardioopsis baichengensis</i> YIM 90130 <sup>T</sup>	AY619716	99,39	9/1479
3	<i>Nocardioopsis chromatogenes</i> YIM 90109 <sup>T</sup>	AY619715	98,25	25/1430

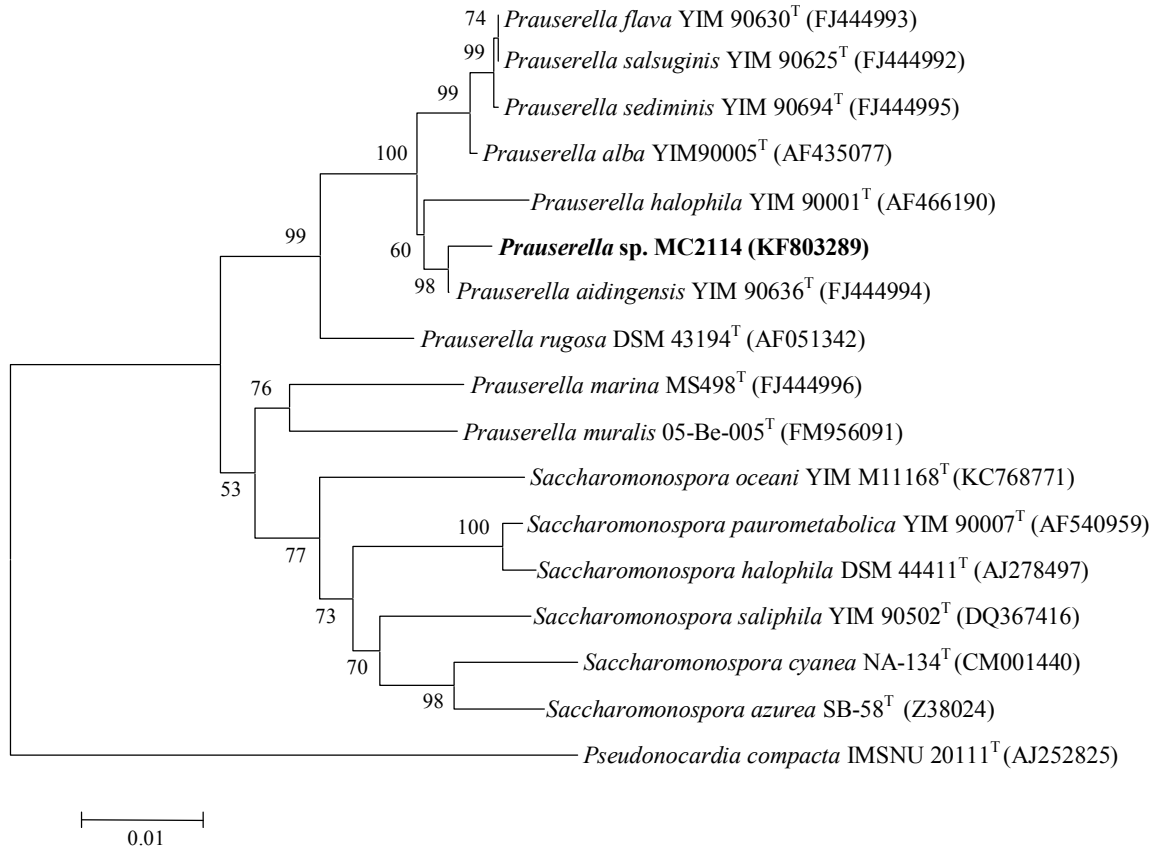
BNT50 ve BNT5310 izolatları arasındaki % benzerlik

	BNT5310
BNT50	% 95,79 (1473/62 nt)

BNT5310 izolatu

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Nocardioopsis dassonvillei</i> subsp. <i>dassonvillei</i> DSM 43111 <sup>T</sup>	NR074635	99,80	3/1478
2	<i>Nocardioopsis dassonvillei</i> subsp. <i>albirubida</i> DSM 40465 <sup>T</sup>	X97882	99,45	8/1461
20	<i>Nocardioopsis synnemataformans</i> IMMIB D-1215 <sup>T</sup>	Y13593	99,32	10/1478

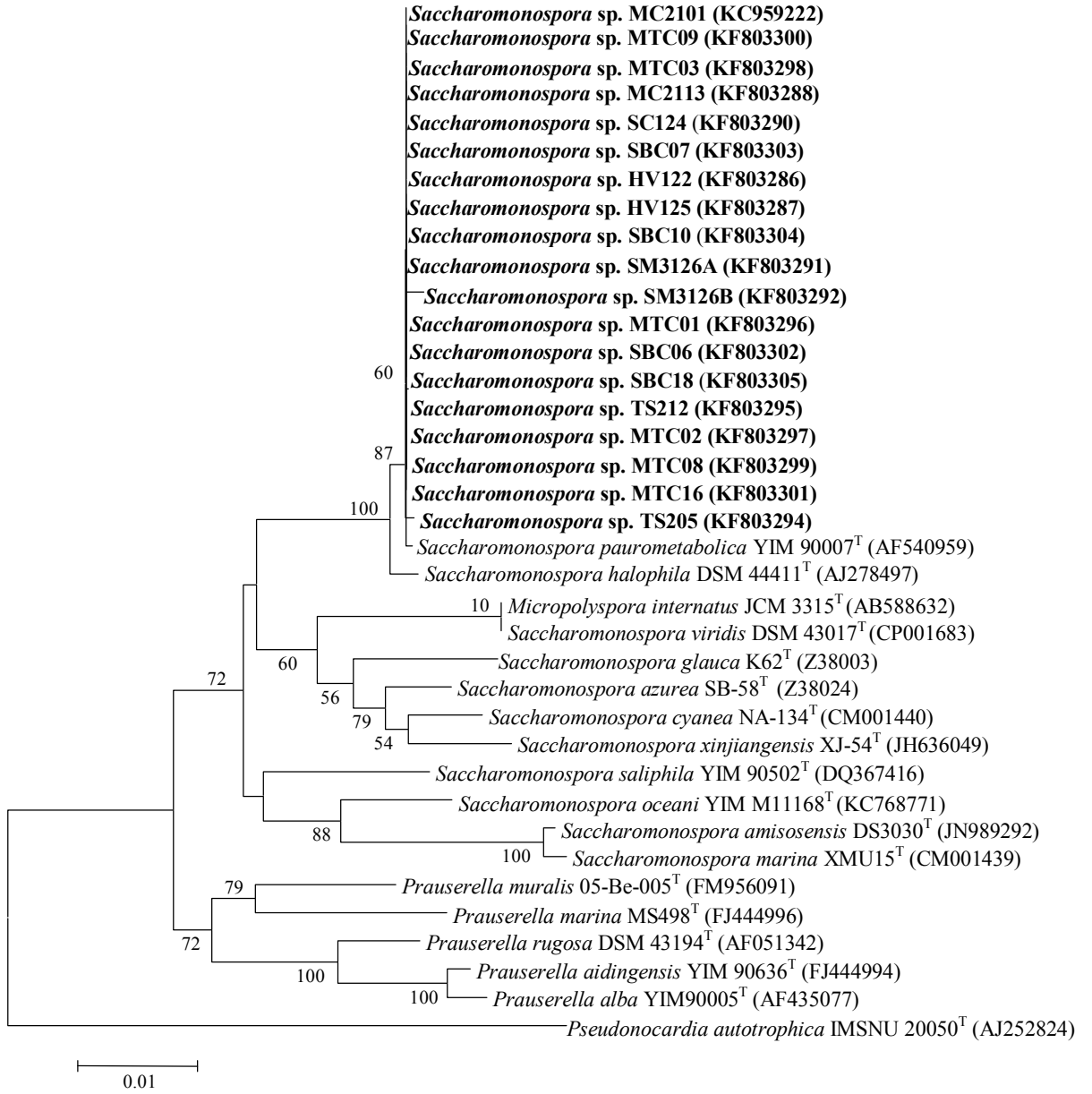
**Şekil 4.6.** Sekansı yapılan *Nocardioopsis* izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0,01'dir.



#### MC2114 izolatu

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Prauserella aidingensis</i> YIM 90636 <sup>T</sup>	FJ444994	99,52	7/1451
2	<i>Prauserella halophila</i> YIM 90001 <sup>T</sup>	AF466190	98,57	21/1464

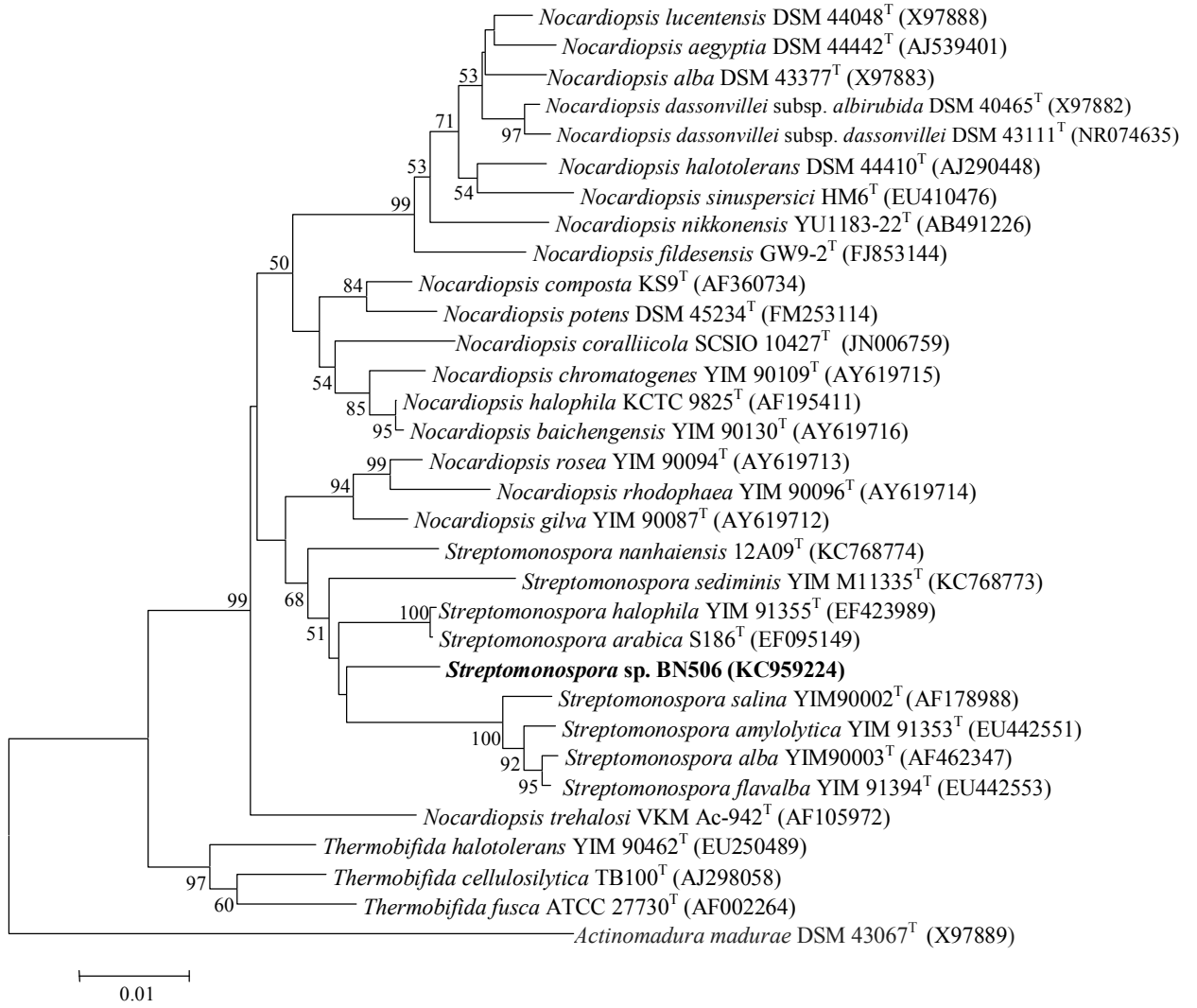
**Şekil 4.7.** Sekansı yapılan *Prauserella* sp. MC2114 izolatuının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0,01'dir.



**Şekil 4.8.** Sekansı yapılan *Saccharomonospora* izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0,01'dir.

**Çizelge 4.5.** *Saccharomonospora* cinsine ait izolatlar ve en yakın *Saccharomonospora* tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

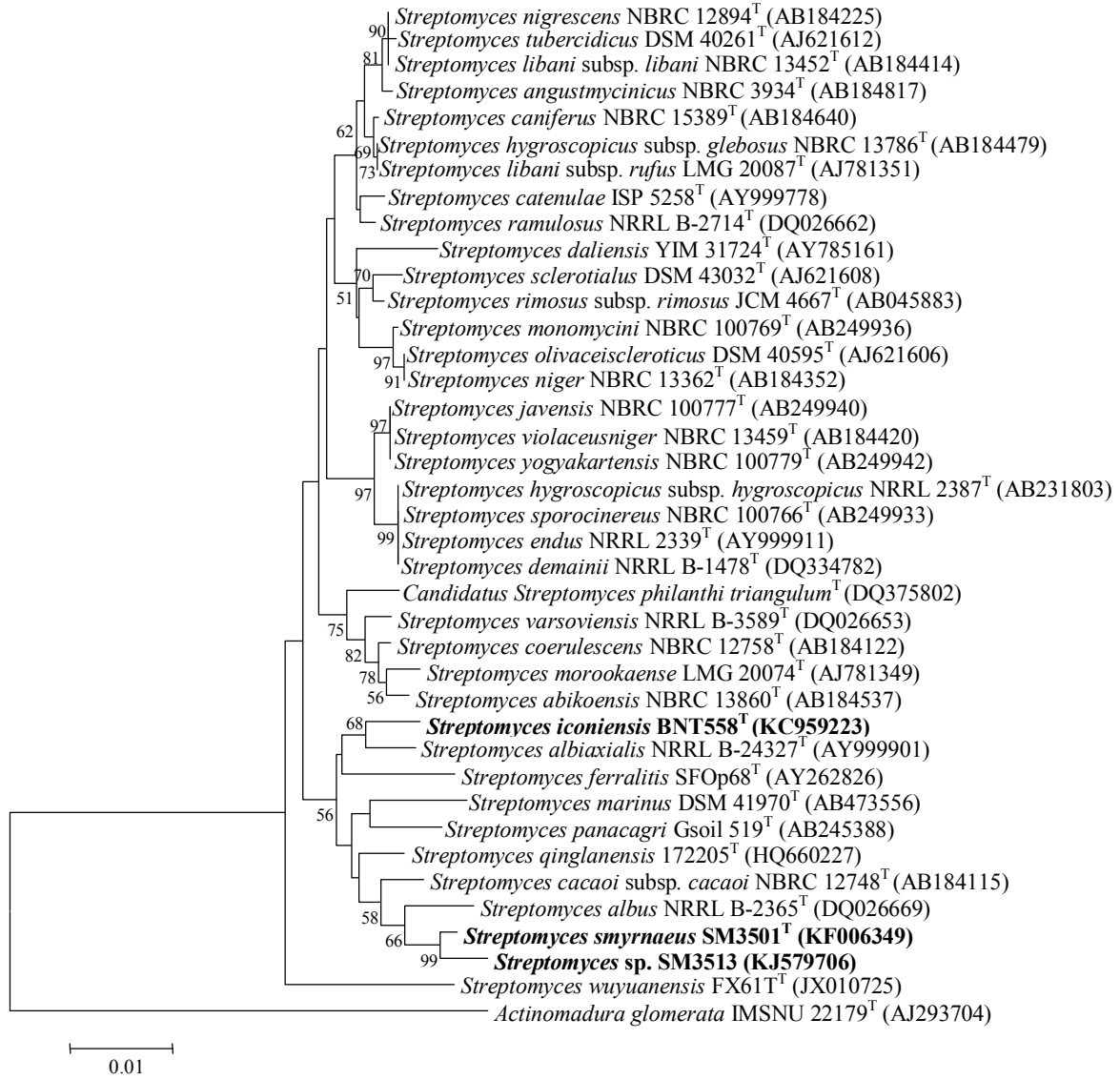
	HV122	HV125	SBC06	SBC07	SBC10	SBC18	SC124	SM3126A	SM3126B	TS205	TS212	MC2101	MC2113	MTC01	MTC02	MTC03	MTC08	MTC09	MTC16	<i>S.paurometabolica</i> YIM 90007 <sup>T</sup>	<i>S.halophila</i> DSM 44411 <sup>T</sup>
<b>HV122</b>	--	1/1437	4/1471	3/1472	4/1457	2/1472	4/1472	0/1461	5/1472	3/1470	10/1472	0/1463	5/1470	2/1469	4/1472	9/1472	1/1468	5/1472	2/1469	6/1472	10/1472
<b>HV125</b>	99,93	---	4/1436	3/1442	9/1442	1/1437	6/1439	0/1426	6/1439	3/1435	11/1437	0/1428	6/1440	2/1434	5/1441	10/1437	1/1433	5/1438	2/1434	8/1442	12/1442
<b>SBC06</b>	99,73	99,72	---	5/1471	4/1456	4/1471	4/1471	1/1461	6/1471	4/1470	7/1471	1/1463	5/1469	2/1469	4/1471	11/1471	1/1468	4/1471	2/1469	3/1471	7/1471
<b>SBC07</b>	99,80	99,79	99,66	---	11/1463	3/1472	7/1474	0/1461	5/1474	3/1470	11/1472	0/1463	11/1479	2/1469	3/1476	8/1472	1/1468	3/1473	1/1469	9/1481	13/1481
<b>SBC10</b>	99,73	99,38	99,73	99,25	---	6/1457	6/1459	0/1446	9/1459	4/1455	8/1457	0/1448	11/1461	3/1454	11/1461	7/1457	2/1453	8/1458	3/1454	7/1463	17/1463
<b>SBC18</b>	99,86	99,93	99,73	99,80	99,59	---	5/1472	0/1461	4/1472	4/1470	11/1472	0/1463	3/1470	2/1469	3/1472	11/1472	1/1468	4/1472	2/1469	7/1472	11/1472
<b>SC124</b>	99,73	99,58	99,73	99,53	99,59	99,66	---	2/1461	8/1474	5/1470	8/1472	2/1463	9/1472	3/1469	7/1474	12/1472	2/1468	7/1473	3/1469	6/1474	13/1474
<b>SM3126A</b>	100,00	100,00	99,93	100,00	100,00	100,00	99,86	---	2/1461	1/1461	2/1461	0/1461	0/1459	0/1461	0/1461	0/1461	0/1461	0/1461	0/1461	2/1461	6/1461
<b>SM3126B</b>	99,66	99,58	99,59	99,66	99,38	99,73	99,46	99,86	---	6/1470	13/1472	2/1463	8/1472	4/1469	7/1474	12/1472	3/1468	7/1473	4/1469	7/1474	15/1474
<b>TS205</b>	99,80	99,79	99,73	99,80	99,73	99,73	99,66	99,93	99,59	---	8/1470	1/1463	3/1468	1/1469	4/1470	9/1470	1/1468	4/1470	2/1469	5/1470	9/1470
<b>TS212</b>	99,32	99,23	99,52	99,25	99,45	99,25	99,46	99,86	99,12	99,46	---	2/1463	9/1470	6/1469	10/1472	9/1472	6/1468	9/1472	7/1469	8/1472	12/1472
<b>MC2101</b>	100,00	100,00	99,93	100,00	100,00	100,00	99,86	100,00	99,86	99,93	99,86	---	0/1461	0/1463	0/1463	2/1463	0/1463	0/1463	0/1463	2/1463	6/1463
<b>MC2113</b>	99,66	99,58	99,66	99,26	99,25	99,80	99,39	100,00	99,46	99,80	99,39	100,00	---	1/1467	5/1474	10/1470	1/1466	3/1471	2/1467	5/1479	14/1479
<b>MTC01</b>	99,86	99,86	99,86	99,86	99,79	99,86	99,80	100,00	99,73	99,93	99,59	100,00	99,93	---	2/1469	8/1469	0/1468	2/1469	1/1469	3/1469	7/1469
<b>MTC02</b>	99,73	99,65	99,73	99,80	99,25	99,80	99,53	100,00	99,53	99,73	99,32	100,00	99,66	99,86	---	10/1472	1/1468	1/1473	1/1469	6/1476	10/1476
<b>MTC03</b>	99,39	99,30	99,25	99,46	99,52	99,25	99,18	100,00	99,18	99,39	99,39	99,86	99,32	99,46	99,32	---	7/1468	9/1472	7/1469	5/1472	16/1472
<b>MTC08</b>	99,93	99,93	99,93	99,93	99,86	99,93	99,86	100,00	99,80	99,93	99,59	100,00	99,93	100,00	99,93	99,52	---	1/1468	0/1468	3/1468	7/1468
<b>MTC09</b>	99,66	99,65	99,73	99,80	99,45	99,73	99,52	100,00	99,52	99,73	99,39	100,00	99,80	99,86	99,93	99,39	99,93	---	1/1469	3/1473	10/1473
<b>MTC16</b>	99,86	99,86	99,86	99,93	99,79	99,86	99,80	100,00	99,73	99,86	99,52	100,00	99,86	99,93	99,93	99,52	100,00	99,93	---	4/1469	8/1469
<b><i>S.paurometabolica</i> YIM 90007<sup>T</sup></b>	99,59	99,45	99,80	99,39	99,52	99,52	99,59	99,86	99,53	99,66	99,46	99,86	99,66	99,80	99,59	99,66	99,80	99,80	99,73	---	6/1481
<b><i>S.halophila</i> DSM 44411<sup>T</sup></b>	99,32	99,17	99,52	99,12	98,84	99,25	99,12	99,59	98,98	99,39	99,18	99,59	99,05	99,52	99,32	98,91	99,52	99,32	99,46	99,59	---



#### BN506 izolatu

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Streptomonospora halophila</i> YIM 91355 <sup>T</sup>	EF423989	98,14	27/1451
2	<i>Streptomonospora arabica</i> S186 <sup>T</sup>	EF095149	97,89	29/1376
3	<i>Streptomonospora nanhaiensis</i> 12A09 <sup>T</sup>	KC768774	97,25	41/1490
4	<i>Streptomonospora sediminis</i> YIM M11335 <sup>T</sup>	KC768773	97,04	44/1489
5	<i>Nocardiopsis composta</i> KS9 <sup>T</sup>	AF360734	96,90	45/1452
6	<i>Nocardiopsis trehalosi</i> VKM Ac-942 <sup>T</sup>	AF105972	96,88	46/1474
7	<i>Nocardiopsis halophila</i> KCTC 9825 <sup>T</sup>	AF195411	96,87	46/1470
8	<i>Streptomonospora alba</i> YIM 90003 <sup>T</sup>	AF462347	96,87	46/1470
9	<i>Streptomonospora flavalba</i> YIM 91394 <sup>T</sup>	EU442553	96,78	48/1490
10	<i>Streptomonospora salina</i> YIM 90002 <sup>T</sup>	AF178988	96,71	49/1490
11	<i>Nocardiopsis baichengensis</i> YIM 90130 <sup>T</sup>	AY619716	96,64	50/1490
12	<i>Streptomonospora amylolytica</i> YIM 91353 <sup>T</sup>	EU442551	96,64	50/1489

**Şekil 4.9.** Sekansı yapılan *Streptomonospora* sp. BN506 izolatının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0,01'dir.



**Şekil 4.10.** Sekansı yapılan *Streptomyces* izolatlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0,01'dir.

**Çizelge 4.6.** *Streptomyces* cinsine ait izolatlar ve en yakın *Streptomyces* tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

	SM3501 <sup>T</sup>	SM3513	BNT558 <sup>T</sup>	<i>S.cacaoi</i> subsp. <i>cacaoi</i> NBRC 12748 <sup>T</sup>	<i>S.qinglanensis</i> 172205 <sup>T</sup>	<i>S.albus</i> NRRL B-2365 <sup>T</sup>	<i>S.albiaxialis</i> NRRL B-24327 <sup>T</sup>	<i>S.daliensis</i> YIM 31724 <sup>T</sup>	<i>S.sclerotialis</i> DSM 43032 <sup>T</sup>	<i>S.rimosus</i> subsp. <i>rimosus</i> JCM 4667 <sup>T</sup>	<i>S.ramulosus</i> NRRL B-2714 <sup>T</sup>	<i>S.olivaceiscleroticus</i> DSM 40595 <sup>T</sup>	<i>S.niger</i> NBRC 13362 <sup>T</sup>	<i>S.monomycini</i> NBRC 100769 <sup>T</sup>	<i>S.hygroscopicus</i> subsp. <i>glebosus</i> NBRC 13786 <sup>T</sup>	<i>S.ferrulitis</i> SFOp68 <sup>T</sup>
SM3501 <sup>T</sup>	---	15/1478	45/1471	23/1464	24/1472	33/1472	50/1472	49/1470	49/1461	43/1470	45/1466	53/1465	53/1464	46/1465	42/1464	44/1452
SM3513	98,99	---	47/1469	20/1466	29/1470	41/1469	50/1469	51/1467	53/1460	46/1467	48/1465	57/1464	57/1463	54/1464	49/1463	48/1451
BNT558 <sup>T</sup>	96,94	96,80	---	35/1463	35/1469	43/1471	16/1471	24/1471	27/1461	28/1471	29/1466	29/1465	29/1464	32/1465	33/1464	31/1454
<i>S.cacaoi</i> subsp. <i>cacaoi</i> NBRC 12748 <sup>T</sup>	98,43	98,64	97,61	---	28/1461	37/1463	33/1463	39/1461	41/1460	33/1461	35/1463	45/1463	45/1463	43/1463	37/1463	35/1451
<i>S.qinglanensis</i> 172205 <sup>T</sup>	98,37	98,03	97,62	98,08	---	27/1484	34/1484	34/1482	35/1461	28/1482	31/1466	39/1465	39/1464	44/1465	40/1464	31/1452
<i>S.albus</i> NRRL B-2365 <sup>T</sup>	97,76	97,21	97,08	97,47	98,18	---	44/1486	39/1484	32/1463	35/1484	46/1468	44/1467	44/1466	49/1467	52/1466	43/1454
<i>S.albiaxialis</i> NRRL B-24327 <sup>T</sup>	96,60	96,60	98,91	97,74	97,71	97,04	---	31/1484	32/1463	29/1484	33/1468	34/1467	34/1466	35/1467	35/1466	34/1454
<i>S.daliensis</i> YIM 31724 <sup>T</sup>	96,67	96,52	98,37	97,33	97,71	97,37	97,91	---	19/1461	16/1485	23/1466	19/1465	19/1464	20/1465	27/1464	37/1454
<i>S.sclerotialis</i> DSM 43032 <sup>T</sup>	96,65	96,37	98,15	97,19	97,60	97,81	97,81	98,70	---	9/1461	16/1463	12/1463	12/1463	19/1463	24/1463	37/1454
<i>S.rimosus</i> subsp. <i>rimosus</i> JCM 4667 <sup>T</sup>	97,07	96,86	98,10	97,74	98,11	97,64	98,05	98,92	99,38	---	15/1466	11/1465	11/1464	14/1465	23/1464	33/1454
<i>S.ramulosus</i> NRRL B-2714 <sup>T</sup>	96,93	96,72	98,02	97,61	97,89	96,87	97,75	98,43	98,91	98,98	---	18/1467	18/1466	23/1467	11/1466	36/1454
<i>S.olivaceiscleroticus</i> DSM 40595 <sup>T</sup>	96,38	96,11	98,02	96,92	97,34	97,00	97,68	98,70	99,18	99,25	98,77	---	0/1466	9/1467	22/1466	40/1454
<i>S.niger</i> NBRC 13362 <sup>T</sup>	96,38	96,10	98,02	96,92	97,34	97,00	97,68	98,70	99,18	99,25	98,77	100,00	---	9/1466	22/1466	40/1454
<i>S.monomycini</i> NBRC 100769 <sup>T</sup>	96,86	96,31	97,82	97,06	97,00	96,66	97,61	98,63	98,70	99,04	98,43	99,39	99,39	---	15/1466	43/1454
<i>S.hygroscopicus</i> subsp. <i>glebosus</i> NBRC 13786 <sup>T</sup>	97,13	96,65	97,75	97,47	97,27	96,45	97,61	98,16	98,36	98,43	99,25	98,50	98,50	98,98	---	41/1454
<i>S.ferrulitis</i> SFOp68 <sup>T</sup>	96,97	96,69	97,87	97,59	97,87	97,04	97,66	97,46	97,46	97,73	97,52	97,25	97,25	97,04	97,18	---

#### 4.1.4 DNA-DNA hibridizasyonu

16S rRNA geni dizi verilerine göre filogenetik pozisyonu belirlenen izolatların yeni tür olup olmadığının kesinleştirilebilmesi için yapılan DNA-DNA hibridizasyon deneylerinde, en yakın akrabaları ile en fazla nükleotit farkı bulunan filogenetik analizler sonucunda 16S rRNA dendogramlarından elde edilen filogenetik pozisyonlara göre en yakın akraba tip türleri ile aralarındaki nükleotit farkı en fazla olan test izolatlarının DNA-DNA hibridizasyonu gerçekleştirildi (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Bazı izolatlarının DNA-DNA hibridizasyon yüzdeleri.

DNA-DNA Hibridizasyonu (%)	<i>Streptomyces</i> sp. SM3501 <sup>T</sup>	Standart Sapma
<i>Streptomyces cacaoi</i> subsp. <i>cacaoi</i> KCTC 9758 <sup>T</sup>	32,8	± 6,3
<i>Streptomyces qinglanensis</i> DSM 42035 <sup>T</sup>	46,2	± 2,7
<i>Streptomyces albus</i> NRRL B-2365 <sup>T</sup>	47,7	± 7,4
<i>Streptomyces</i> sp. SM3513	87,6	± 2,4

DNA-DNA Hibridizasyonu (%)	<i>Streptomyces</i> sp. strain BNT558 <sup>T</sup>	Standart Sapma
<i>Streptomyces albiacialis</i> DSM 41799 <sup>T</sup>	18,4	± 1,2

DNA-DNA Hibridizasyonu (%)	<i>Streptomonospora</i> sp. BN506	Standart Sapma
<i>Streptomonospora halophila</i> DSM 45075 <sup>T</sup>	52,8	± 0,8
<i>Streptomonospora arabica</i> DSM 45083 <sup>T</sup>	62,7	± 0,5

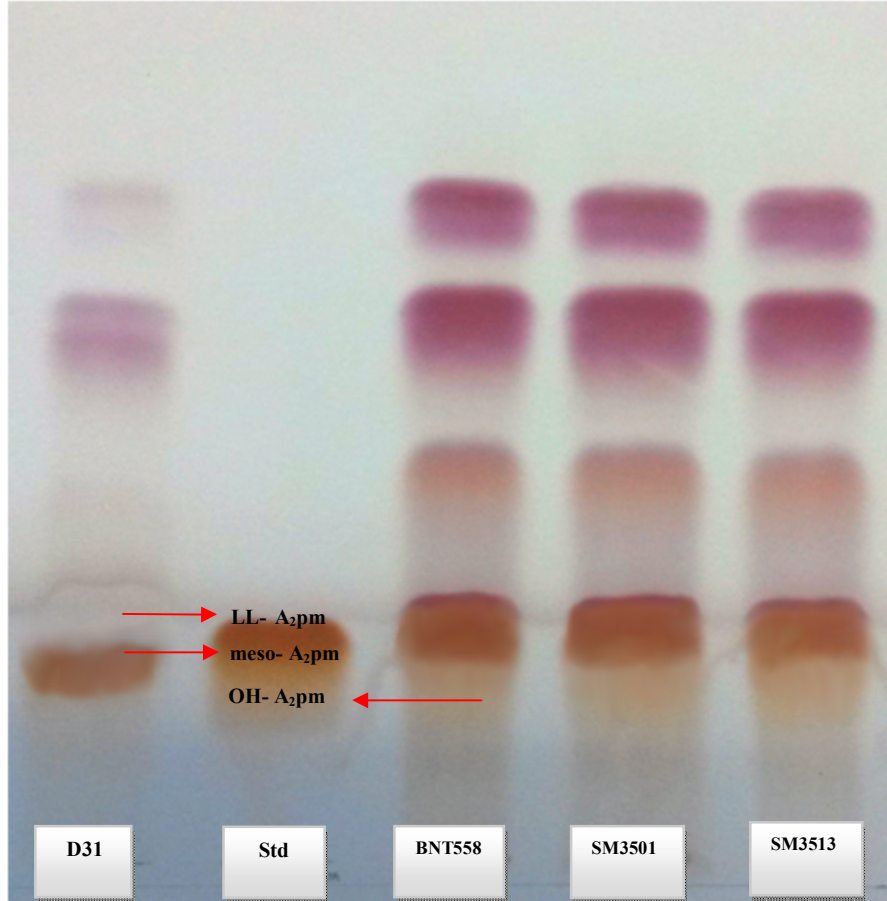
DNA-DNA Hibridizasyonu (%)	<i>Actinopolyspora</i> sp. D31	Standart Sapma
<i>Actinopolyspora alba</i> KCTC 19119 <sup>T</sup>	93,9	± 2,7

#### 4.1.5 Kemotaksonomik karakterizasyon

İzolatlar, ait oldukları cinslerin karakteristik kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kemotaksonomik analizlere tabi tutuldu. Bu analizler, diaminopimelik asit, şeker, yağ asiti profili, polar lipid ve menakinon analizlerini kapsamaktadır (Çizelge 4.12).

#### 4.1.5.1 DAP analizi

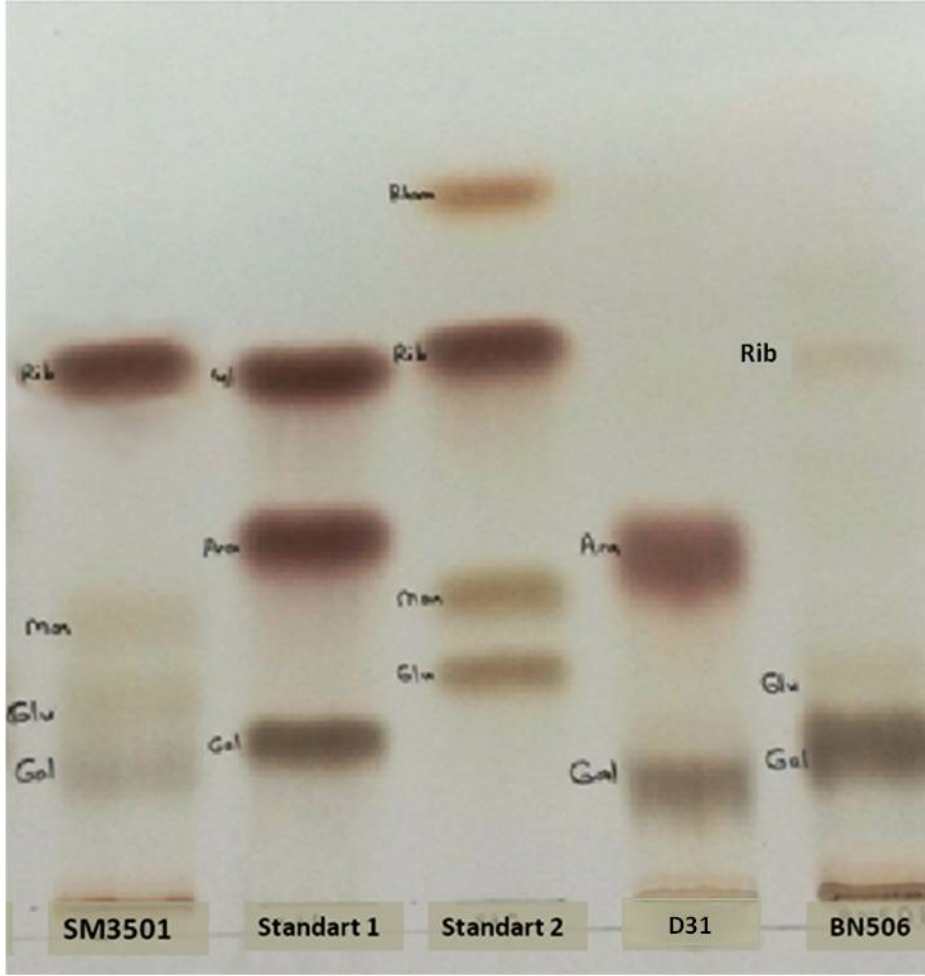
İzolatların kendi cinsine ait hücre duvarı kemotipine uygun olup olmadığının belirlenmesi için yapılan DAP analizinde, tek boyutlu ince tabaka kromatografisinde oluşan bantların pozisyonu standart A<sub>2</sub>pm solüsyonu ile kıyaslandığında ilgili spotlar belirlendi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. İzolatların A<sub>2</sub>pm izomerlerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı. Standart : A<sub>2</sub>pm (Diaminopimelik asit)-Sigma

#### 4.1.5.2 Şeker analizi

Hücre duvarı kemotipi içerisinde ele alınan tüm hücre şeker profili, tek boyutlu ince tabaka kromatografisinde aktinomisetler için belirlenen yedi tane standart şekerle kıyaslanarak belirlendi (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12.** Bazı izolatların şeker profillerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı. Gal; galaktoz; Ara; arabinoz; Xyl; ksiloz; Glu; glukoz; Man, mannoz; Rib, riboz; Rham, ramnoz

#### 4.1.5.3 Yağ asiti analizi

Gaz kromatografisi verilerine göre bazı test izolatları ve en yakın akraba tip türlerinin yağ asiti metil esteri profilleri **Çizelge 4.8-4.10**'da verildi.

**Çizelge 4.8.** BNT52<sup>T</sup> izolatının ve tip türlerinin yağ asiti profilleri. **1**, BNT52<sup>T</sup>; **2**, *Amycolatopsis nigrescens* DSM 44992<sup>T</sup>; **3**, *Amycolatopsis magusensis* DSM 45510<sup>T</sup>; **4**, *A. minnesotensis* DSM 44988<sup>T</sup>; **5**, *Amycolatopsis halophila* DSM 45216<sup>T</sup>.

Yağ Asitleri	1	2	3	4	5
<b>Doymuş yağ asitleri</b>					
C <sub>14:0</sub>	3,1	1,5	1,1	3,8	2,5
C <sub>15:0</sub>	2,5	1,9	3,1	2,1	2,1
C <sub>16:0</sub>	6,1	6,4	2,1	7,6	6,4
C <sub>17:0</sub>	2,9	7,3	4,4	11,8	3,4
C <sub>18:0</sub>	8,2	2,0	1,2	2,3	8,3
<b>Doymamış yağ asitleri</b>					
C <sub>16:1 cis9</sub>	5,4	-	3,9	-	5,8
C <sub>17:1 cis9</sub>	5,6	2,3	8,2	-	5,2
C <sub>18:1 cis9</sub>	4,3	-	-	-	5,5
C <sub>19:1 trans7</sub>	-	-	-	-	0,3
<b>Dallanmış yağ asitleri</b>					
<i>iso</i> C <sub>14:0</sub>	0,6	5,6	13,4	4,5	0,5
<i>iso</i> C <sub>15:0</sub>	3,2	7,4	13,7	8,1	3,1
<i>iso</i> C <sub>16:0</sub>	18,6	29,6	17,5	21,8	19,1
<i>iso</i> C <sub>11:0</sub> 3OH	0,6	-	-	-	0,7
<i>iso</i> C <sub>16:0</sub> 2OH	19,3	-	4,6	-	15,1
<i>iso</i> C <sub>16:1</sub> H	2,4	2,4	2,7	-	2,1
<i>iso</i> C <sub>17:0</sub>	2,0	2,3	0,8	2,6	2,6
<i>iso</i> C <sub>18:0</sub>	1,2	-	-	-	1,5
<i>iso</i> -C <sub>17:0</sub> 10- <i>metil</i>	-	1,3	-	-	-
<i>iso</i> -C <sub>18:0</sub> 10- <i>metil</i>	-	4,4	2,1	-	-
C <sub>16:0</sub> 10- <i>metil</i>	1,5	-	-	-	1,8
C <sub>17:0</sub> 10- <i>metil</i>	0,4	1,3	-	-	0,6
<i>anteiso</i> C <sub>15:0</sub>	1,1	1,7	3,5	3,9	1,0
<i>anteiso</i> C <sub>15:0</sub> 2OH	0,9	3,6	3,3	8,0	0,7
<i>anteiso</i> C <sub>16:0</sub>	0,4	1,0	-	-	0,6
<i>anteiso</i> C <sub>17:0</sub>	6,3	5,7	4,2	4,4	8,0
C <sub>15:0</sub> 2OH	0,4	-	-	-	-
C <sub>15:0</sub> 3OH	-	-	2,5	-	-
C <sub>15:1</sub> B	0,8	-	3,2	-	0,7
C <sub>18:0</sub> 3OH	-	-	-	-	0,3
Summed Feature 4	1,4	12,4	3,9	18,2	-

Summed Feature 4: *iso*-C<sub>15:0</sub> 2OH / C<sub>16:1</sub> *trans*-9 ya da C<sub>16:1</sub> *trans*-9/ *iso*-C<sub>15:0</sub> 2OH olabilir.

**Çizelge 4.9.** BNT558<sup>T</sup>, SM3501<sup>T</sup>, SM3513 izolatları ve tip türlerinin yağ asiti profilleri. **1**, BNT558<sup>T</sup>; **2**, *Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup>; **3**, *Streptomyces ferralitis* DSM 41836<sup>T</sup>; **4**, SM3501<sup>T</sup>; **5**, SM3513; **6**, *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* KCTC 9758<sup>T</sup>; **7**, *Streptomyces qinglanensis* DSM 42035<sup>T</sup>; **8**, *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup>.

Yağ Asitleri	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Doymuş yağ asitleri</b>								
C <sub>12:0</sub>	-	-	0,42	-	-	-	-	-
C <sub>13:0</sub>	-	-	0,43	-	-	-	-	-
C <sub>14:0</sub>	-	-	2,17	-	-	-	0,29	-
C <sub>15:0</sub>	2,15	-	4,41	0,76	0,94	0,56	0,42	-
C <sub>16:0</sub>	2,90	2,94	10,51	1,74	2,96	4,39	3,59	2,90
C <sub>17:0</sub>	-	-	0,81	-	-	-	0,46	-
C <sub>18:0</sub>	-	-	-	-	-	-	0,24	-
<b>Doymamış yağ asitleri</b>								
C <sub>16:1 cis9</sub>	-	-	0,54	-	-	-	-	-
<b>Dallanmış yağ asitleri</b>								
iso-C <sub>12:0</sub>	-	-	-	-	-	-	0,32	-
iso-C <sub>13:0</sub>	-	-	1,11	-	-	-	0,41	-
iso C <sub>14:0</sub>	1,80	3,02	12,34	1,48	1,55	5,62	5,25	4,53
iso C <sub>15:0</sub>	10,01	10,67	12,79	3,28	3,82	4,98	7,59	7,48
iso C <sub>16:0</sub>	13,31	18,53	20,20	17,31	17,81	26,69	33,54	22,26
iso C <sub>16:1 H</sub>	-	-	1,89	0,55	1,86	-	1,34	1,20
iso C <sub>17:0</sub>	2,34	4,70	2,24	1,76	1,91	2,90	8,56	4,12
iso C <sub>18:0</sub>	-	-	-	-	-	-	1,95	-
C <sub>16:0 9-metil</sub>	-	-	0,36	-	-	-	0,37	-
anteiso C <sub>13:0</sub>	-	-	0,42	-	0,47	-	0,82	-
anteiso C <sub>15:0</sub>	46,52	31,15	23,18	37,27	34,10	26,63	17,28	28,21
anteiso C <sub>15:0 2OH</sub>	1,50	-	-	-	-	-	-	-
anteiso C <sub>15:1 A</sub>	-	-	-	-	-	2,33	-	-
anteiso C <sub>17:0</sub>	18,18	16,33	4,36	32,28	29,45	12,66	16,60	16,86
anteiso C <sub>17:1 C</sub>	-	5,02	0,87	1,67	2,21	6,57	0,69	6,56
C <sub>17:0 cyclo</sub>	-	2,61	0,94	0,74	1,68	2,07	0,30	2,92
Summed Feature 7	1,31	1,47	-	-	-	1,52	-	1,17

Summed Feature 7: C<sub>18:1 trans 9/t6/c11</sub> veya C<sub>18:1 cis 11/t9/t6</sub> ya da C<sub>18:1 trans 6/t9/c11</sub>

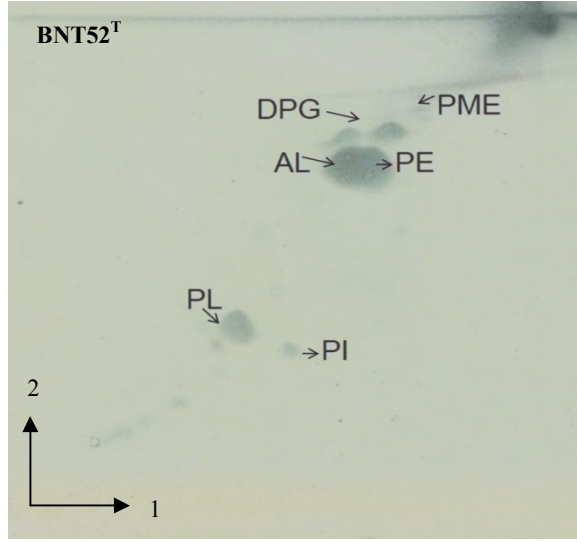
**Çizelge 4.10.D31**, BN506 izolatları ve tip türlerinin yağ asiti profilleri. **1**, D31; **2**, *Actinopolyspora alba* KCTC 19119<sup>T</sup>; **3**, *Actinopolyspora lacussalsi* KCTC 19657<sup>T</sup>; **4**, *Actinopolyspora erythraea* DSM 45583<sup>T</sup>; **5**, BN506; **6**, *Streptomonospora halophila* DSM 45075<sup>T</sup>; **7**, *Streptomonospora arabica* DSM 45083<sup>T</sup>

Yağ Asitleri	1	2	3	4	5	6	7
<b>Doymuş yağ asitleri</b>							
C <sub>16:0</sub>	2,48	-	-	6,30	2,5	1,59	2,22
C <sub>17:0</sub>	-	-	-	-	-	-	1,01
C <sub>18:0</sub>	-	-	-	2,40	5,65	3,71	5,00
<b>Doymamış yağ asitleri</b>							
C <sub>17:1 cis9</sub>	-	-	1,80	2,44	-	-	-
C <sub>18:1 cis9</sub>	-	-	1,87	4,55	-	-	-
<b>Dallanmış yağ asitleri</b>							
iso C <sub>14:0</sub>	-	1,90	1,16	2,11	-	-	-
iso C <sub>15:0</sub>	5,56	13,53	7,72	18,52	-	1,61	1,11
iso C <sub>16:0</sub>	11,30	25,17	21,74	16,75	30,17	35,81	28,96
iso C <sub>11:0 3OH</sub>	-	-	-	2,19	-	-	-
iso C <sub>16:1 G</sub>	-	5,80	-	3,20	-	-	-
iso C <sub>17:0</sub>	5,88	11,68	8,29	4,99	3,81	11,8	8,54
iso C <sub>18:0</sub>	-	-	-	-	3,3	4,51	4,27
iso-C <sub>18:0 10-metil</sub>	9,15	-	-	-	-	-	-
C <sub>16:0 9-metil</sub>	6,07	5,08	5,12	7,07	-	-	-
C <sub>16:0 10-metil</sub>	-	-	-	-	2,55	3,6	2,84
C <sub>17:0 10-metil</sub>	-	1,63	-	-	3,53	6,7	4,46
C <sub>18:0 10-metil</sub>	-	-	-	-	12,3	10,1	15,9
anteiso C <sub>15:0</sub>	6,76	6,23	7,64	9,68	3,65	2,04	1,77
anteiso C <sub>17:0</sub>	41,40	25,46	44,66	17,04	32,5	18,48	23,92
C <sub>15:0 3OH</sub>	11,39	-	-	-	-	-	-
C <sub>16:1 2OH</sub>	-	1,50	-	-	-	-	-
Summed Feature 6	-	-	-	2,76	-	-	-

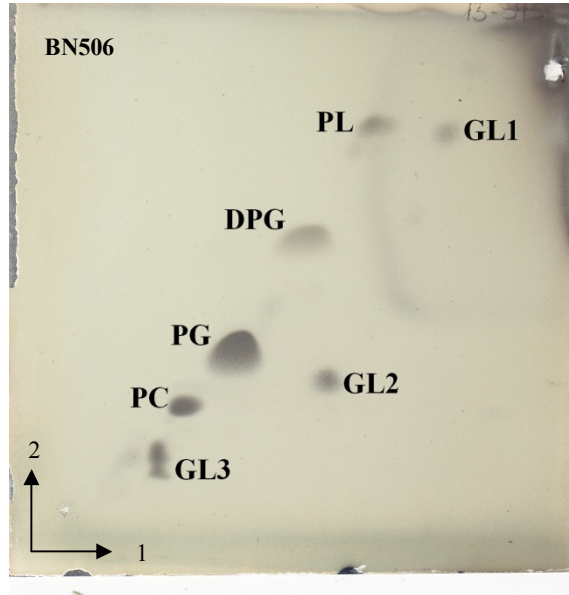
Summed Feature 6: C<sub>18:2 cis 9, 12</sub>/ C<sub>18:0 anteiso</sub> ya da C<sub>18:0 anteiso</sub>/ C<sub>18:2 cis 9, 12</sub>

#### 4.1.5.4 Polar lipitlerin belirlenmesi

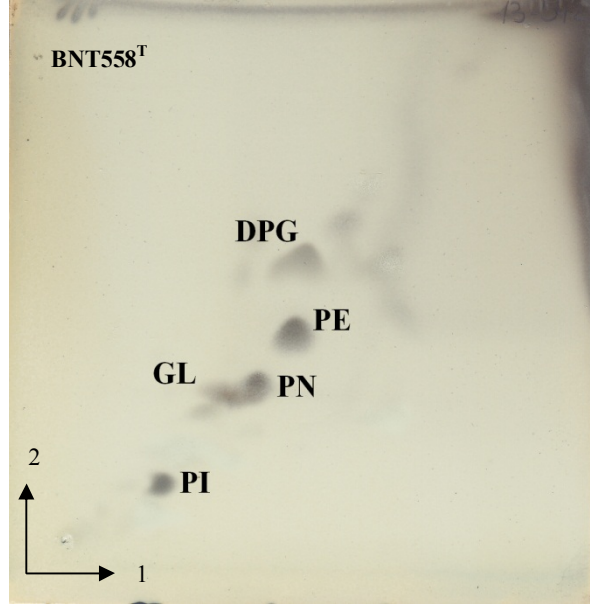
DSMZ firması tarafından gerçekleştirilen bazı izolatların polar lipit profilleri **Şekil 4.13-4.16**'da verildi.



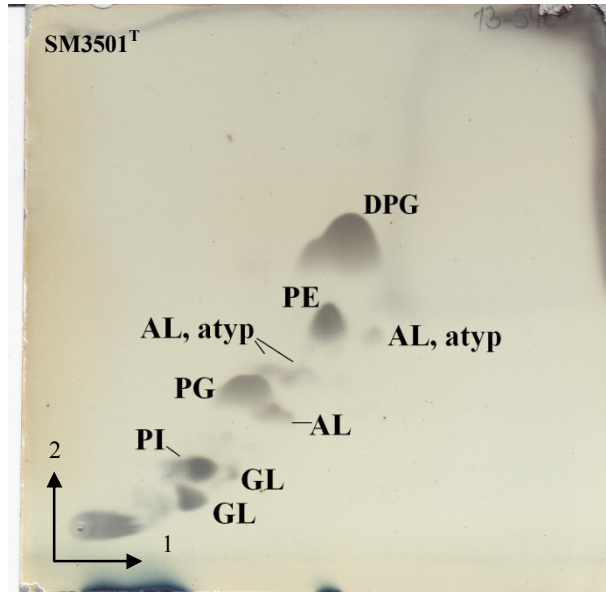
**Şekil 4.13.** *Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup> izolatlarına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipit profili. DPG, difosfatidilgliserol; PME, fosfatidilmetiletanolamin; PE, fosfatidiletanolamin; PI, fosfatidilinositol; PL, fosfolipit; AL, aminolipit



**Şekil 4.14.** *Streptomonospora* sp. BN506 izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipit profili. DPG, difosfatidilgliserol; PG, fosfatidilgliserol; PC, fosfatidilkolin; PL, fosfolipit; GL, glikolipit



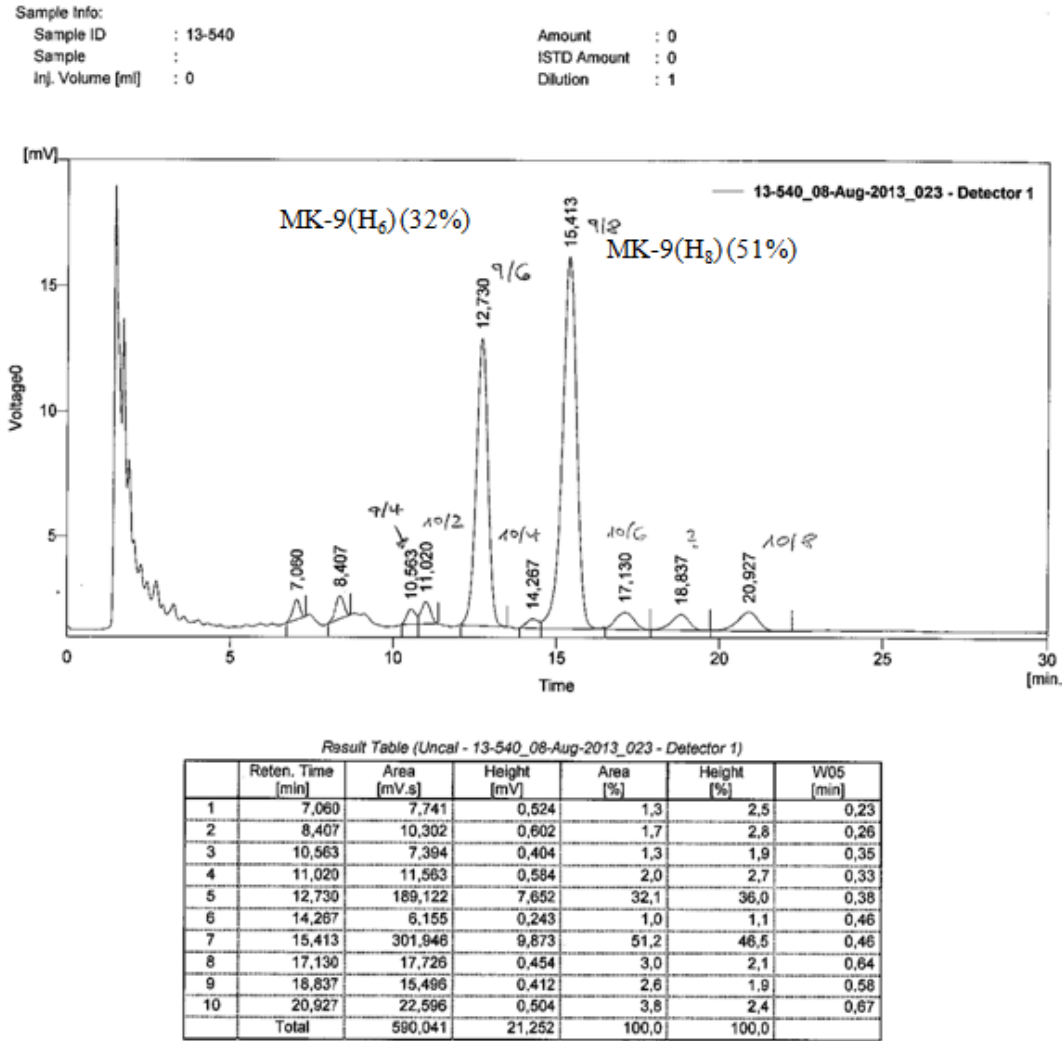
**Şekil 4.15.** *Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatına ait molibdofosforik asit ile spreylenmiş polar lipit profili. DPG, difosfatidilgliserol; PE, fosfatidiletanolamin; PI, fosfatidilinositol; PN, aminofosfolipit; GL, glikolipit



**Şekil 4.16.** *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatına ait molibdofosforik asit ile spreylenmiş polar lipit profili. DPG, difosfatidilgliserol; PG, fosfatidilgliserol; PE, fosfatidiletanolamin; PI, fosfatidilinositol; AL, atipik aminolipit; AL, aminolipit; GL, glikolipit

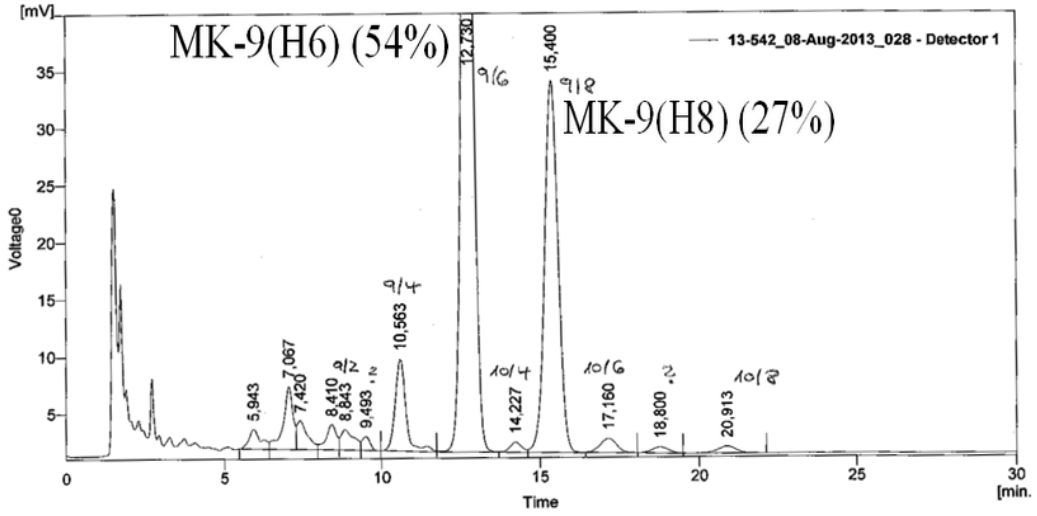
#### 4.1.5.5 Menakinonlarının belirlenmesi

Bazı izolatların menakinonlarının belirlenmesi Almanya'nın Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) firması tarafından gerçekleştirildi. Collins ve diğ. (1977) ve Tamaoka ve diğ. (1983)'e göre belirlendi. Bazı izolatlara ait menakinon profilleri Şekil 4.17-4.19'da verildi (Çizelge 4.11).



Şekil 4.17. *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatının HPLC Menakinon Kromatogramı.

Sample Info:  
 Sample ID : 13-542  
 Sample :  
 Inj. Volume [ml] : 0  
 Amount : 0  
 ISTD Amount : 0  
 Dilution : 1

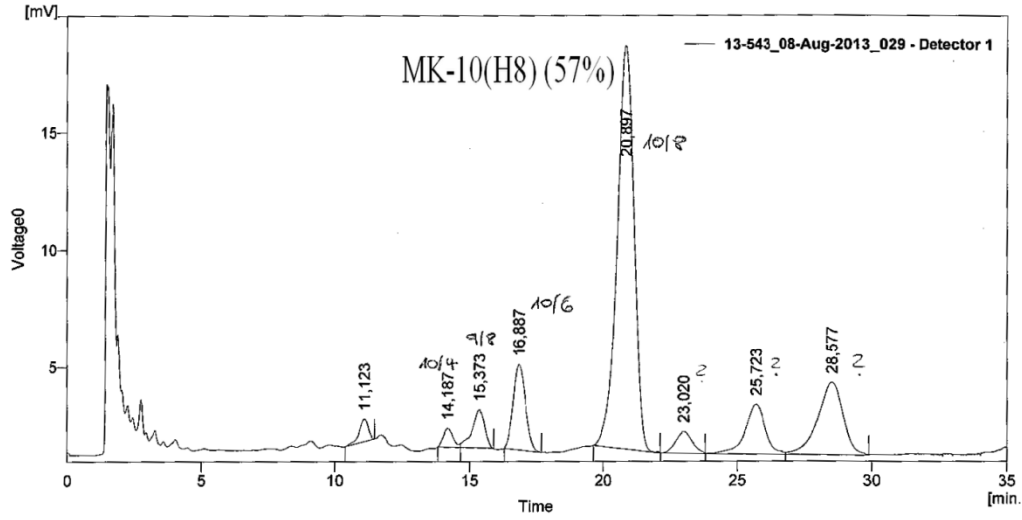


Result Table (Uncal - 13-542\_08-Aug-2013\_028 - Detector 1)

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
1	5,943	31,031	1,158	1,3	1,3	0,32
2	7,067	79,862	3,723	3,4	4,1	0,30
3	7,420	41,128	1,709	1,8	1,9	0,37
4	8,410	34,027	1,505	1,5	1,6	0,37
5	8,843	35,699	1,218	1,5	1,3	0,60
6	9,493	14,958	0,815	0,6	0,9	0,33
7	10,563	123,933	5,425	5,3	5,9	0,32
8	12,730	1268,223	52,226	54,1	55,9	0,38
9	14,227	16,045	0,603	0,7	0,7	0,42
10	15,400	637,281	21,788	27,2	23,7	0,45
11	17,160	31,505	0,841	1,3	0,9	0,57
12	18,800	13,536	0,386	0,6	0,4	0,58
13	20,913	17,823	0,411	0,8	0,4	0,64
	Total	2345,050	91,788	100,0	102,0	

Şekil 4.18. *Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatının HPLC Menakinon Kromatogramı.

Sample Info:  
Sample ID : 13-543 Amount : 0  
Sample : ISTD Amount : 0  
Inj. Volume [ml] : 0 Dilution : 1



Result Table (Uncal - 13-543\_08-Aug-2013\_029 - Detector 1)

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
1	11,123	15,483	0,644	1,8	3,2	0,36
2	14,187	13,966	0,543	1,6	2,7	0,40
3	15,373	35,657	1,089	4,1	5,4	0,48
4	16,887	77,639	2,433	8,9	12,0	0,50
5	20,897	496,543	11,493	56,7	56,6	0,66
6	23,020	26,226	0,625	3,0	3,1	0,65
7	25,723	76,197	1,412	8,7	7,0	0,78
8	28,577	133,632	2,055	15,3	10,1	0,98
	Total	875,344	20,294	100,0	100,0	

Şekil 4.19. *Streptomonospora* sp. BN506 izolatının HPLC Menakinon Kromatogramı.

Çizelge 4.11. Analizi yapılan bazı test izolatlarının menakinon profilleri

	Menakinonlar
<i>Actinopolyspora</i> sp. D31	MK-9(H <sub>4</sub> ) (% 49), MK-10(H <sub>4</sub> ) (% 28), MK-9(H <sub>6</sub> ) (% 2), MK-10(H <sub>2</sub> ) (% 4), MK-9 (% 5), MK-9(H <sub>2</sub> ) (% 8)
<i>Amycolatopsis cihanbeyliensis</i> BNT52 <sup>T</sup>	MK-9(H <sub>4</sub> ) (% 85), MK-7(H <sub>4</sub> ) (% 5), MK-10(H <sub>2</sub> ) (% 3), MK-10(H <sub>4</sub> ) (% 3) MK-8(H <sub>4</sub> ) (% 3)
<i>Streptomonospora</i> sp. BN506	MK-10(H <sub>8</sub> ) (% 57), MK-10(H <sub>6</sub> ) (% 9), MK-9(H <sub>8</sub> ) (% 4), MK-10(H <sub>4</sub> ) (% 2)
<i>Streptomyces iconiensis</i> BNT558 <sup>T</sup>	MK-9(H <sub>6</sub> ) (% 54), MK-9(H <sub>8</sub> ) (% 27), MK-9(H <sub>4</sub> ) (% 5), MK-9(H <sub>2</sub> ) (% 2), MK-10(H <sub>4</sub> ) (% 1), MK-10(H <sub>6</sub> ) (% 1), MK-10(H <sub>8</sub> ) (% 1)
<i>Streptomyces smyrnaeus</i> SM3501 <sup>T</sup>	MK-9(H <sub>8</sub> ) (% 51), MK-9(H <sub>6</sub> ) (% 32), MK-10(H <sub>8</sub> ) (% 4), MK-10(H <sub>6</sub> ) (% 3), MK-10(H <sub>2</sub> ) (% 2), MK-9(H <sub>4</sub> ) (% 1), MK-10(H <sub>4</sub> ) (% 1)
<i>Streptomyces</i> sp. SM3513	MK-9(H <sub>8</sub> ) (% 46), MK-9(H <sub>6</sub> ) (% 35), MK-10(H <sub>8</sub> ) (% 7), MK-10(H <sub>6</sub> ) (% 5), MK-10(H <sub>4</sub> ) (% 2), MK-9(H <sub>4</sub> ) (% 1)

**Çizelge 4.12.** Analizi yapılan bazı test izolatlarının kemotaksonomik özellikleri

	DAP	Şeker	Majör Yağ Asitleri	Polar Lipitler	Baskın Menakinonlar
<i>Actinopolyspora</i> sp. D31	meso-A <sub>2pm</sub>	arabinoz ve galaktoz	anteiso C <sub>17:0</sub>	PC, DPG, GL, PL	MK-9(H <sub>4</sub> ) (% 49), MK-10(H <sub>4</sub> ) (% 28)
<i>Amycolatopsis cihanbeyliensis</i> BNT52 <sup>T</sup>	meso-A <sub>2pm</sub>	arabinoz ve galaktoz	iso C <sub>16:0</sub> , iso C <sub>16:0</sub> 2OH	DPG, PME, PE, PI, PL, AL	MK-9(H <sub>4</sub> ) (% 85)
<i>Streptomonospora</i> sp. BN506	meso-A <sub>2pm</sub>	riboz, glukoz ve galaktoz	anteiso C <sub>17:0</sub> , iso C <sub>16:0</sub>	DPG, PG, PC, PL, GL	MK-10(H <sub>8</sub> ) (% 57), MK-10(H <sub>6</sub> ) (% 9)
<i>Streptomyces iconiensis</i> BNT558 <sup>T</sup>	LL-A <sub>2pm</sub>	riboz, mannoz, fukoz, az miktarda glukoz ve galaktoz	anteiso C <sub>15:0</sub> , anteiso C <sub>17:0</sub>	DPG, PE, PI, PN, GL	MK-9(H <sub>6</sub> ) (% 54), MK-9(H <sub>8</sub> ) (% 27)
<i>Streptomyces smyrnaeus</i> SM3501 <sup>T</sup>	LL-A <sub>2pm</sub>	riboz, glukoz, galaktoz ve az miktarda mannoz	anteiso C <sub>15:0</sub> , anteiso C <sub>17:0</sub> , iso C <sub>16:0</sub>	DPG, PG, PE, PI, AL (atyp), AL, GL	MK-9(H <sub>8</sub> ) (% 51), MK-9(H <sub>6</sub> ) (% 32)
<i>Streptomyces</i> sp. SM3513	LL-A <sub>2pm</sub>	riboz, glukoz, galaktoz ve az miktarda mannoz	anteiso C <sub>15:0</sub> , anteiso C <sub>17:0</sub> , iso C <sub>16:0</sub>	DPG, PG, PE, PI, AL (atyp), AL, GL	MK-9(H <sub>8</sub> ) (% 46), MK-9(H <sub>6</sub> ) (% 35)

#### 4.1.6 Fenotipik karakterizasyon

##### 4.1.6.1 İzolatların tuz toleranslarının belirlenmesi

Test organizmaları % 0, % 5, % 8, % 10, %15 ve % 20 konsantrasyonlarında gelişme kabiliyetleri üzerine test edildi. Belirlenen tuz konsantrasyonlarında gelişim sonuçları **Çizelge 4.13**'de verilmiştir. Ayrıca izolatların farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişimini gösteren grafik **Şekil 4.20**'de verilmiştir.

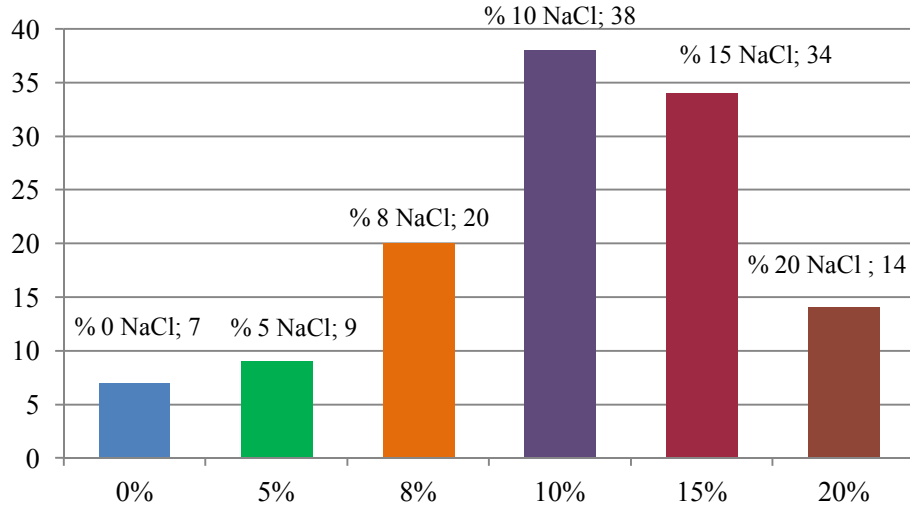
##### 4.1.6.2 Fenotipik özelliklerin belirlenmesi

Test izolatları ve 16S rRNA gen dizi analizine göre en yakını olan tip türleri, 68 farklı fenotipik karakter üzerinden değerlendirmeye tabi tutuldu (**Şekil 4.21**).

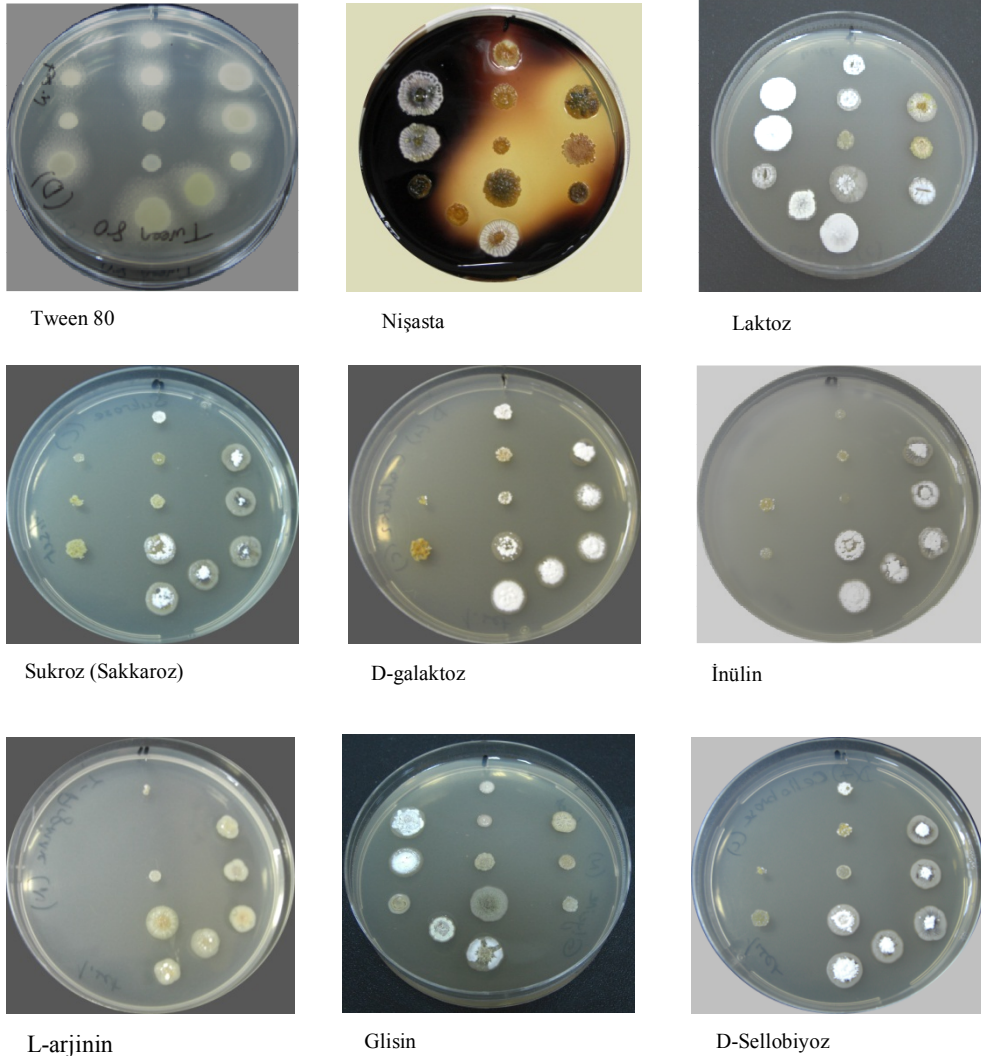
**Çizelge 4.13.** Test organizmalarının % 0, % 5, % 8, % 10, % 15 ve % 20'lik tuz konsantrasyonunda gelişimi

	İzolatlar	% 0	% 5	% 8	% 10	% 15	% 20
1	B17	-	-	+	+	+	+
2	B18	-	-	+	+	+	+
3	BN506	-	+	+	+	+	+
4	BNT50	+	+	+	+	-	-
5	BNT52 <sup>T</sup>	+	+	+	+	-	-
6	BNT5310	+	+	+	+	-	-
7	BNT558 <sup>T</sup>	+	+	+	+	-	-
8	C22	-	-	+	+	+	+
9	C23	-	-	-	+	+	-
10	C243	-	-	+	+	+	+
11	D31	-	-	-	+	+	+
12	D32	-	-	+	+	+	+
13	D37	-	-	-	+	+	+
14	E45	-	-	-	+	+	-
15	G5109	-	-	-	+	+	+
16	HV122	-	-	-	+	+	-
17	HV125	-	-	-	+	+	+
18	MC2101	-	-	+	+	+	+
19	MC2113	-	-	-	+	+	-
20	MC2114	+	+	+	+	+	+
21	MTC01	-	+	+	+	+	+
22	MTC02	-	-	+	+	+	-
23	MTC03	-	-	+	+	+	-
24	MTC08	-	-	-	+	+	-
25	MTC09	-	-	-	+	+	-
26	MTC16	-	-	-	+	+	-
27	SBC06	-	-	-	+	+	-
28	SBC07	-	-	+	+	+	-
29	SBC10	-	-	-	+	+	-
30	SBC18	-	-	+	+	+	-
31	SC1	-	-	-	+	+	-
32	SC124	-	-	-	+	+	-
33	SM3126A	-	-	-	+	+	-
34	SM3126B	-	-	-	+	+	-
35	SM3501 <sup>T</sup>	+	+	+	+	+	-
36	SM3513	+	+	+	+	+	-
37	TS205	-	-	+	+	+	+
38	TS212	-	-	-	+	+	-

+, gelişim iyi  
-, gelişim yok



**Şekil 4.20.** Test izolatlarının farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimini gösteren sütun grafik



**Şekil 4.21.** Bazı izolatlara ait karbon, azot kaynağı ve degradasyon testleri

**Çizelge 4.14.** Bazı izolatların ve tip türlerinin temel karbon ve azot kaynaklarındaki gelişimi, bazı maddeleri degrade edebilme kabiliyetlerini gösteren testler. İzolatlar ve tip türleri; 1, B17; 2, B18; 3, C22; 4, C243; 5, D32; 6, *Actinopolyspora mortivallis* DSM 44261<sup>T</sup>; 7, C23; 8, SC1; 9, E45; 10, *A. erythraea* DSM 45583<sup>T</sup>; 11, D31; 12, *A. alba* KCTC 19119<sup>T</sup>; 13, D37; 14, G5109; 15, *A. xinjiangensis* KCTC 19656<sup>T</sup>; 16, *A. halophila* KCTC 9127<sup>T</sup>; 17, BNT558<sup>T</sup>; 18, *Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup>; 19, *S. ferralitis* DSM 41836<sup>T</sup>; 20, SM3501<sup>T</sup>; 21, SM3513; 22, *S. cacaoi* subsp. *cacaoi* KCTC 9758<sup>T</sup>; 23, *S. qinglanensis* DSM 42035<sup>T</sup>; 24, *S. albus* NRRL B-2365<sup>T</sup>; 25, BNT52<sup>T</sup>; 26, *A. nigrescens* DSM 44992<sup>T</sup>; 27, *A. magusensis* KT2025<sup>T</sup>; 28, *A. sacchari* DSM 44468<sup>T</sup>; 29, *A. halophila* DSM 45216<sup>T</sup>

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
	Temel Karbon Kaynakları (% 1 w/v)																														
1	Adonitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
2	D-arabinoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	
3	L-arabinoz	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	
4	D-sellobiyoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
5	D-fruktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
6	D-sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	
7	D-galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8	D-mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
9	D-mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
10	Dextrin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
11	Dextran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12	Inulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	
13	L-sorboz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
14	Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
15	L-glutamik asit	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
16	Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
17	Sukroz (Sakkaroz)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
18	Ksilitol	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	
19	Ksiloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
20	Süksinik Asit(% 0.1)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	

+;pozitif, -; negatif

**Çizelge 4.14. (Devam).** Bazı izolatların ve tip türlerinin temel karbon ve azot kaynaklarındaki gelişimi, bazı maddeleri degrade edebilme kabiliyetlerini gösteren testler. İzolatlar ve tip türleri; 1, B17; 2, B18; 3, C22; 4, C243; 5, D32; 6, *Actinopolyspora mortivallis* DSM 44261<sup>T</sup>; 7, C23; 8, SC1; 9, E45; 10, *A. erythraea* DSM 45583<sup>T</sup>; 11, D31; 12, *A. alba* KCTC 19119<sup>T</sup>; 13, D37; 14, G5109; 15, *A. xinjiangensis* KCTC 19656<sup>T</sup>; 16, *A. halophila* KCTC 9127<sup>T</sup>; 17, BNT558<sup>T</sup>; 18, *Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup>; 19, *S. ferralitis* DSM 41836<sup>T</sup>; 20, SM3501<sup>T</sup>; 21, SM3513; 22, *S. cacaoi* subsp. *cacaoi* KCTC 9758<sup>T</sup>; 23, *S. qinglanensis* DSM 42035<sup>T</sup>; 24, *S. albus* NRRL B-2365<sup>T</sup>; 25, BNT52<sup>T</sup>; 26, *A. nigrescens* DSM 44992<sup>T</sup>; 27, *A. magusensis* KT2025<sup>T</sup>; 28, *A. sacchari* DSM 44468<sup>T</sup>; 29, *A. halophila* DSM 45216<sup>T</sup>

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
Temel Azot Kaynakları(% 0,1 w/v)																																
1	Alfa-isolösin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
2	Glisin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	L-Alanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4	L-Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	L-Sistein	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	
6	L-Histidin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
7	L-Hidroksiprolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	
8	L-Methionin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	
9	L-Fenilalanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	
10	L-Prolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
11	L-Serin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
12	L-Threonin	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
13	L-Valin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Degradasyon Testleri (w/v)																																
1	Adenin (% 0.5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	Kazein (% 1)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	
3	Nişasta (% 1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Ksantin(% 0.4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	
5	Tween 40 (%1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6	Tween 80 (%1)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+,pozitif, -, negatif

**Çizelge 4.15.** Bazı izolatların ve tip türlerinin biyokimyasal ve fizyolojik testleri. İzolatlar ve tip türleri; 1, B17; 2, B18; 3, C22; 4, C243; 5, D32; 6, *Actinopolyspora. mortivallis* DSM 44261<sup>T</sup>; 7, C23; 8, SC1; 9, E45; 10, *A. erythraea* DSM 45583<sup>T</sup>; 11, D31; 12, *A. alba* KCTC 19119<sup>T</sup>; 13, D37; 14, G5109; 15, *A. xinjiangensis* KCTC 19656<sup>T</sup>; 16, *A. halophila* KCTC 9127<sup>T</sup>; 17, BNT558<sup>T</sup>; 18, *Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup>; 19, *S. ferralitis* DSM 41836<sup>T</sup> 20, SM3501<sup>T</sup>; 21, SM3513; 22, *S. cacaoi* subsp. *cacaoi* KCTC 9758<sup>T</sup>; 23, *S. qinglanensis* DSM 42035<sup>T</sup>; 24, *S. albus* NRRL B-2365<sup>T</sup>; 25, BNT52<sup>T</sup>; 26, *A. nigrescens* DSM 44992<sup>T</sup>; 27, *A. magusensis* KT2025<sup>T</sup>; 28, *A. sacchari* DSM 44468<sup>T</sup>; 29, *A. halophila* DSM 45216<sup>T</sup>

Biyokimyasal Testler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		
1 Arbutin hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+		
2 Allantoin hidrolizi	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-		
3 Nitrat redüksiyonu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-		
4 Üre hidrolizi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-		
pH toleransı																															
1 4	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-		
2 5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	
3 6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4 8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5 10	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-		
6 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
7 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
Sıcaklık																															
1 4 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2 10°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3 28 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4 37 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5 45 °C	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	
6 50°C	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	
7 55°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
NaCl (% w/v)																															
1 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
2 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6 8	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
7 9	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
8 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	
9 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
10 20	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11 30	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+;pozitif, -; negatif

**Çizelge 4.16.** Diğer yirmidört izolattın ve tip türlerinin temel karbon ve azot kaynaklarındaki gelişimi, bazı maddeleri degrade edebilme kabiliyetlerini gösteren testler. İzolatlar ve tip türleri; 1, BNT50; 2, BNT5310; 3, BN506; 4, *Streptomonospora halophila* DSM 45075<sup>T</sup>; 5, *St. arabica* DSM 45083<sup>T</sup>; 6, MC2101; 7, MC2113; 8, MTC01; 9, MTC02; 10, MTC03; 11, MTC08; 12, MTC09; 13, MTC16; 14, SBC06; 15, SBC07; 16, SBC10; 17, SBC18; 18, HV122; 19, HV125; 20, SM3126A; 21, SM3126B; 22, TS205; 23, TS212; 24, SC124; 25, *Saccharomonospora paurometabolica* DSM 44619<sup>T</sup>; 26, MC2114

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
Temel Karbon Kaynakları (% 1 w/v)																										
1 Adonitol	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
2 D-arabinoz	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3 L-arabinoz	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4 D-sellobiyoz	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
5 D-fruktoz	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6 D-sorbitol	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7 D-galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
8 D-mannoz	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9 D-mannitol	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+
10 Dextrin	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
11 Dextran	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+
12 Inulin	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
13 L-sorboz	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
14 Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+
15 L-glutamik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
16 Maltoz	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+
17 Sukroz (Sakkaroz)	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+
18 Ksilitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
19 Ksiloz	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
20 Süksinik Asit(% 0.1)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

+;pozitif, -; negatif

**Çizelge 4.16. (Devam).** Diğer yirmidört izolatu ve tip türlerinin temel karbon ve azot kaynaklarındaki gelişimi, bazı maddeleri degrade edebilme kabiliyetlerini gösteren testler. İzolatlar ve tip türleri; 1, BNT50; 2, BNT5310; 3, BN506; 4, *Streptomonospora halophila* DSM 45075<sup>T</sup>; 5, *St. arabica* DSM 45083<sup>T</sup>; 6, MC2101; 7, MC2113; 8, MTC01; 9, MTC02; 10, MTC03; 11, MTC08; 12, MTC09; 13, MTC16; 14, SBC06; 15, SBC07; 16, SBC10; 17, SBC18; 18, HV122; 19, HV125; 20, SM3126A; 21, SM3126B; 22, TS205; 23, TS212; 24, SC124; 25, *Saccharomonospora paurometabolica* DSM 44619<sup>T</sup>; 26, MC2114

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
Temel Azot Kaynakları(% 0,1 w/v)																											
1	Alfa-isolösin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2	Glisin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	L-Alanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	L-Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	L-Sistein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	L-Histidin	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7	L-Hidroksiprolin	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	L-Methionin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9	L-Fenilalanin	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10	L-Prolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
11	L-Serin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12	L-Treonin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
13	L-Valin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Degradasyon Testleri (w/v)																											
1	Adenin (% 0.5)	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Kazein (% 1)	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Nişasta (% 1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Ksantin(% 0.4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Tween 40 (% 1)	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
6	Tween 80 (% 1)	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

+:pozitif, -: negatif

**Çizelge 4.17.** Diğer yirmidört izolatu ve tip türlerinin biyokimyasal ve fizyolojik testleri. İzolatlar ve tip türleri; 1, BNT50; 2, BNT5310; 3, BN506; 4, *Streptomonospora halophila* DSM 45075<sup>T</sup>; 5, *S. arabica* DSM 45083<sup>T</sup>; 6, MC2101; 7, MC2113; 8, MTC01; 9, MTC02; 10, MTC03; 11, MTC08; 12, MTC09; 13, MTC16; 14, SBC06; 15, SBC07; 16, SBC10; 17, SBC18; 18, HV122; 19, HV125; 20, SM3126A; 21, SM3126B; 22, TS205; 23, TS212; 24, SC124; 25, *Saccharomonospora paurometabolica* DSM 44619<sup>T</sup>; 26, MC2114

Biyokimyasal Testler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1 Arbutin hidrolizi	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-
2 Allantoin hidrolizi	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
3 Nitrat redüksiyonu	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 Üre hidrolizi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH toleransı																										
1 4	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2 5	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+
3 6	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+
4 8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 10	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+
6 11	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
7 12	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Sıcaklık																										
1 4 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 10 °C	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 28 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 37 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 45 °C	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6 50 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 55 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl (% w/v)																										
1 0	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2 1	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3 2	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4 4	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5 5	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6 8	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
7 9	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+
8 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9 15	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 20	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+
11 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+,pozitif, -, negatif

#### **4.1.7 Kültürel ve morfolojik özellikler**

İzolasyon agarlarından saflaştırılan ve kültüre alınan izolatların farklı besiyerlerindeki kültürel ve morfolojik özellikleri belirlendi. Farklı cinslere ait bazı izolatların spor morfolojileri taramalı elektron mikroskopisi ile görüntüledi.

##### **4.1.7.1 ISP 2 ve Modifiye Bennett's agardaki büyüme ve gelişim morfolojileri**

Kültüre alınan ve cins üyesi oldukları kesinleşen izolatların ISP 2 ve Modifiye Bennett's agar yüzeyindeki büyüme gelişim morfolojileri en yakın akraba tip türleri ile birlikte görüntüledi ve kaydedildi (**Şekil 4.22, Şekil 4.23**).

##### **4.1.7.2 Farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişim morfolojileri**

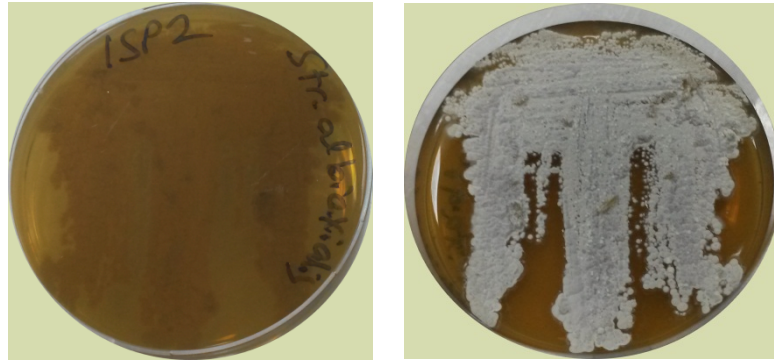
Test organizmalarının ISP 2, ISP 3, ISP 4, ISP 5, ISP 6, ISP 7 ve modifiye Bennett's agardaki büyüme ve gelişim morfolojileri belirlendi (**Şekil 4.24, Çizelge 4.18-4.24**).

##### **4.1.7.3 Spor morfolojisi**

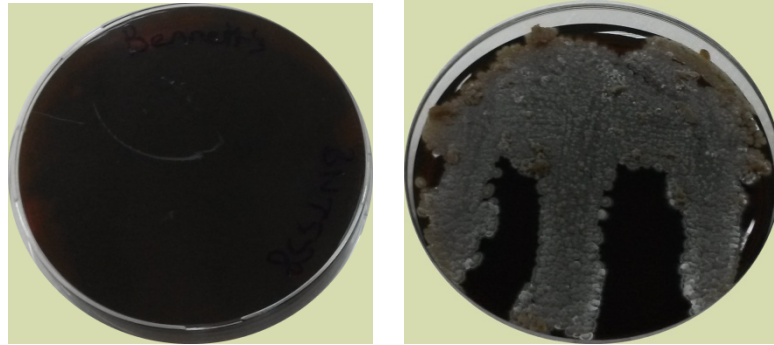
Yakın akraba tip türleri ile 16S rRNA dizi benzerliğine göre yeni tür olma potansiyeli daha fazla olan test izolatlarının aerial miselyum morfolojileri taramalı elektron mikroskobu ile belirlendi (**Şekil 4.25**).



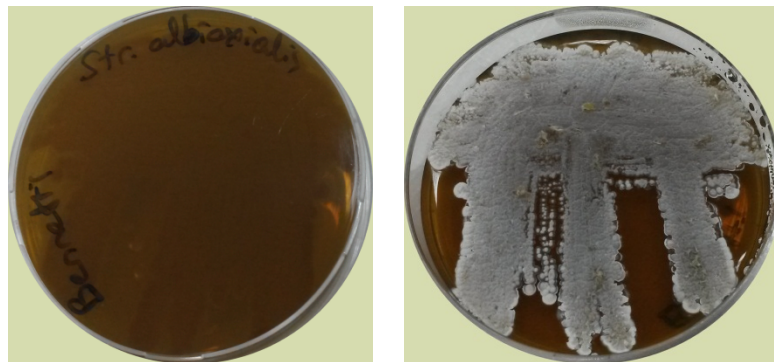
*Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup>-ISP 2



*Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup>-ISP 2

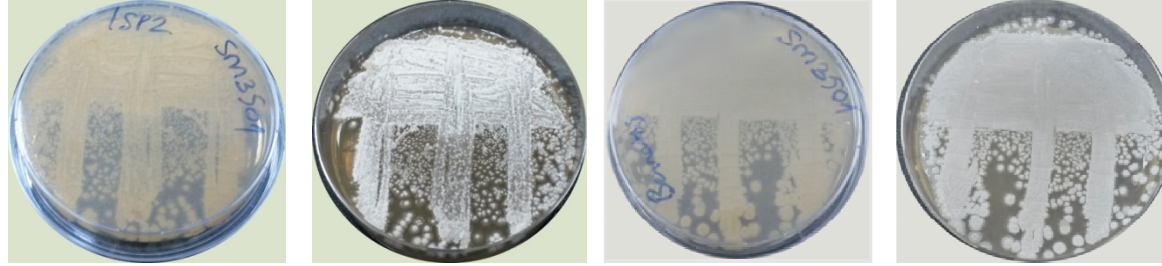


*Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup>-Modifiye Bennett's

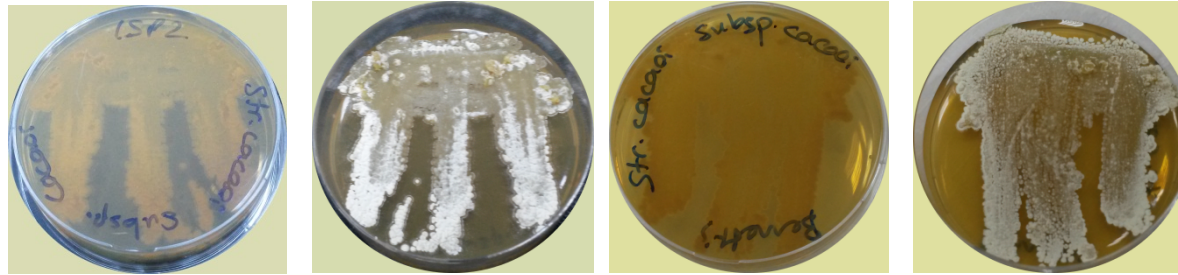


*Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup>-Modifiye Bennett's

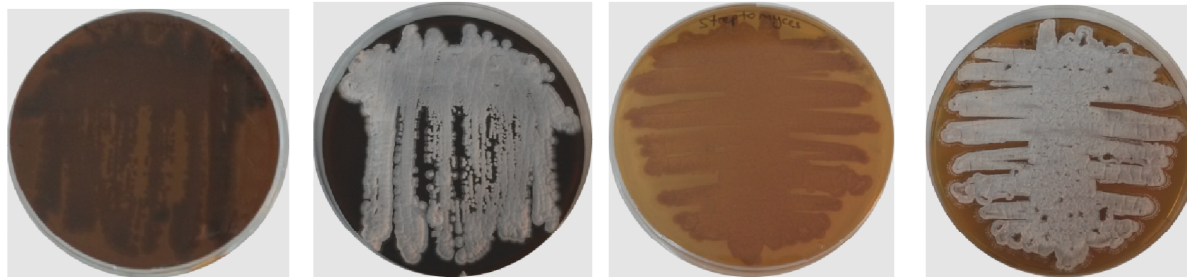
Şekil 4.22. BNT558<sup>T</sup> izolatu ve en yakın tip türünün koloni morfolojileri



*Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup>- ISP 2-Modifiye Bennett's



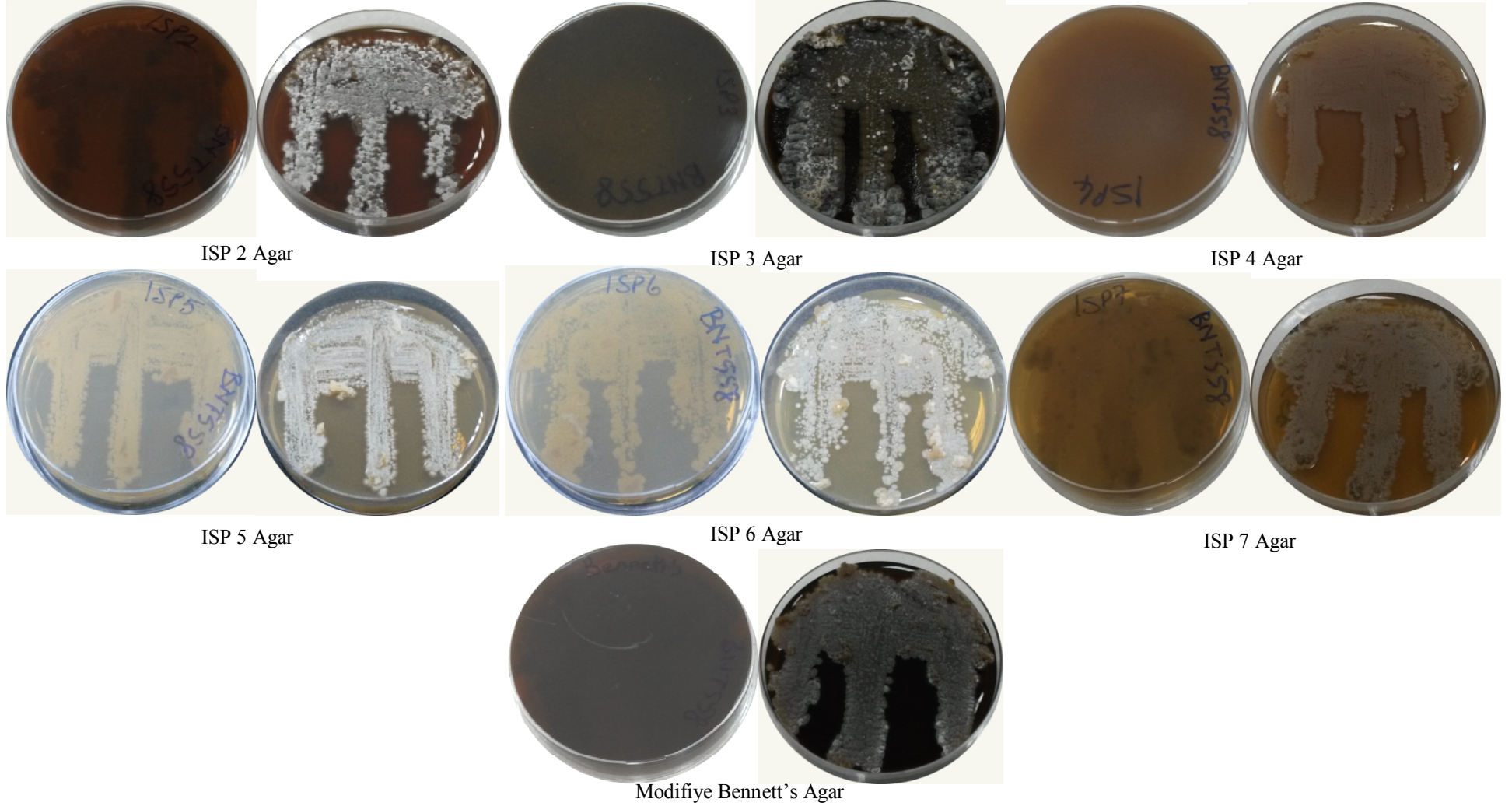
*Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* KCTC 9758<sup>T</sup>- ISP 2-Modifiye Bennett's



*Streptomyces qinglanensis* DSM 42035<sup>T</sup>-ISP 2

*Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup>-ISP 2

Şekil 4.23. SM3501<sup>T</sup> izolatu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri



Şekil 4.24. BNT558<sup>T</sup> izolatının yedi farklı besiyerindeki morfolojik görüntüsü

**Çizelge 4.18.** B17, B18, BN506, BNT50 ve BNT52<sup>T</sup> izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri

İzolat	Büyüme ve Kültürel Özellikler	Yeast ekstrakt malt agar (ISP 2)	Oatmeal Agar (ISP 3)	İnorganik tuz nişasta agar (ISP 4)	Gliserol asparajın agar (ISP 5)	Pepton-demir Agar (ISP 6)	Tirozin Agar (ISP 7)	Modifiye Bennett's agar
<b>B17</b>	<b>Gelişimi:</b>	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
	<b>Spor rengi:</b>	Açık Sarı- Yeşil	Açık Sarı- Yeşil	Açık Sarı- Yeşil	Beyaz	Beyaz	Açık Sarı- Yeşil	Açık Sarı- Yeşil
	<b>Substrat miselyum rengi:</b>	Yeşil- Sarı	Yeşil- Sarı	Yeşil- Sarı	Yeşil- Sarı	Açık sarı	Yeşil- Sarı	Koyu Sarı
	<b>Çözünür pigment rengi</b>	Yeşil- Sarı	Yeşil- Sarı	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık Sarı
<b>B18</b>	<b>Gelişimi:</b>	+++	+++	+++	++	+	+++	+++
	<b>Spor rengi:</b>	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil	Beyaz	Yok	Beyaz	Açık Sarı- Yeşil	Beyaz
	<b>Substrat miselyum rengi:</b>	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık Yeşil- Kahverengi	Yeşil-Sarı	Açık sarı	Yeşil-Sarı	Koyu Sarı
	<b>Çözünür pigment rengi</b>	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık Sarı	Yeşil-Sarı	Yok	Yeşil-Sarı	Açık Sarı
<b>BN506</b>	<b>Gelişimi:</b>	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	<b>Spor rengi:</b>	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	<b>Substrat miselyum rengi:</b>	Açık sarı	Açık kahverengi	Krem	Krem	Açık sarı	Krem	Krem
	<b>Çözünür pigment rengi</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>BNT50</b>	<b>Gelişimi:</b>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	<b>Spor rengi:</b>	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	<b>Substrat miselyum rengi:</b>	Koyu Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık Sarı	Açık kahve	Açık Sarı	Yeşil-Sarı
	<b>Çözünür pigment rengi</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>BNT52<sup>T</sup></b>	<b>Gelişimi:</b>	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	<b>Spor rengi:</b>	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Açık Gri	Beyaz
	<b>Substrat miselyum rengi:</b>	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık Yeşil- Kahverengi	Yeşil-Sarı
	<b>Çözünür pigment rengi</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Koyu Yeşil- Sarı	Yok

+++; Gelişimi Çok iyi, ++; Gelişimi Orta düzeyde, +; Gelişimi Zayıf

Çizelge 4.19. BNT5310, BNT558<sup>T</sup>, C22, C23, C243 ve D31 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri

İzolat	Büyüme ve Kültürel Özellikler	Yeast ekstrakt malt agar (ISP 2)	Oatmeal Agar (ISP 3)	İnorganik tuz nişasta agar (ISP 4)	Gliserol asparajın agar (ISP 5)	Pepton-demir Agar (ISP 6)	Tirozin Agar (ISP 7)	Modifiye Bennett's agar
BNT5310	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Yok	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık kahve	Yeşil-Sarı	Açık Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
BNT558 <sup>T</sup>	Gelişimi:	+++	+	+	+	+++	+	+++
	Spor rengi:	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Koyu Yeşil-Sarı	Yok	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık sarı	Yeşil-Sarı	Açık Yeşil-Kahverengi
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yeşil-Sarı
C22	Gelişimi:	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
	Spor rengi:	Açık Sarı-Yeşil	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil
	Substrat miselyum rengi:	Açık Yeşil-Sarı	Açık Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık kahve	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yok	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
C23	Gelişimi:	++	+++	++	+	+	++	++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık Yeşil-Sarı	Yok
C243	Gelişimi:	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
	Spor rengi:	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil	Yok	Beyaz	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil
	Substrat miselyum rengi:	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık kahve	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yeşil-Sarı	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yeşil-Sarı
D31	Gelişimi:	Gelişmedi	Gelişmedi	+++	Gelişmedi	Gelişmedi	++	++
	Spor rengi:			Beyaz			Beyaz	Yok
	Substrat miselyum rengi:			Yeşil-Sarı			Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi			Yok			Yok	Yeşil-Sarı

+++; Gelişimi Çok iyi, ++; Gelişimi Orta düzeyde, +; Gelişimi Zayıf

Çizelge 4.20. D32, D37, E45, G5109, HV122, HV125 ve MC2101 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri

İzolat	Büyüme ve Kültürel Özellikler	Yeast ekstrakt malt agar (ISP 2)	Oatmeal Agar (ISP 3)	İnorganik tuz nişasta agar (ISP 4)	Gliserol asparajın agar (ISP 5)	Pepton-demir Agar (ISP 6)	Tirozin Agar (ISP 7)	Modifiye Bennett's agar
D32	Gelişimi:	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
	Spor rengi:	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil	Beyaz	Beyaz	Sarımsı beyaz	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil
	Substrat miselyum rengi:	Açık Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Açık sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yeşil-Sarı	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık Yeşil-Sarı
D37	Gelişimi:	++	++	+++	+	Gelişmedi	+++	+++
	Spor rengi:	Yok	Beyaz	Beyaz	Yok		Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı		Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok		Yok	Yok
E45	Gelişimi:	++	+++	+++	+	+	+++	++
	Spor rengi:	Beyaz	Açık Sarı-Yeşil	Açık Sarı-Yeşil	Yok	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Yeşil-Sarı	Açık Yeşil-Sarı	Açık Sarı	Yeşil-Sarı	Açık sarı	Koyu Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
G5109	Gelişimi:	++	+++	+++	++	Gelişmedi	+++	++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz		Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık kahverengi	Açık kahverengi	Açık sarı	Krem		Açık kahverengi	Açık kahverengi
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok		Yok	Yok
HV122	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Sarı	Krem	Sarı	Krem	Açık sarı	Yeşil sarı	Krem
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Sarı	Yok
HV125	Gelişimi:	+++	+++	++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Açık sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
MC2101	Gelişimi:	+++	++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Yok
	Substrat miselyum rengi:	Sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Yeşil sarı	Krem
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

+++; Gelişimi Çok iyi, ++;Gelişimi Orta düzeyde, +; Gelişimi Zayıf

**Çizelge 4.21.** MC2113, MC2114, MTC01, MTC02, MTC03 ve MTC08 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri

İzolat	Büyüme ve Kültürel Özellikler	Yeast ekstrakt malt agar (ISP 2)	Oatmeal Agar (ISP 3)	İnorganik tuz nişasta agar (ISP 4)	Gliserol asparajin agar (ISP 5)	Pepton-demir Agar (ISP 6)	Tirozin Agar (ISP 7)	Modifiye Bennett's agar
MC2113	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Sarı	Krem	Krem	Krem	Açık kahve	Açık sarı	Krem
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
MC2114	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Yok	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Yeşil-Sarı	Krem	Açık sarı	Krem	Krem
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
MTC01	Gelişimi:	++	++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık kahverengi	Krem	Koyu krem	Krem	Açık sarı	Açık turuncu	Açık turuncu
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık sarı	Yok
MTC02	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık kahverengi	Açık kahverengi	Koyu krem	Krem	Açık sarı	Sarı	Krem
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık sarı	Yok
MTC03	Gelişimi:	+++	++	+++	+++	+	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık kahverengi	Krem	Koyu krem	Krem	Açık sarı	Açık kahverengi	Krem
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık sarı	Yok
MTC08	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık kahverengi	Açık kahverengi	Koyu krem	Krem	Açık sarı	Sarı	Açık kahverengi
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık sarı	Yok

+++; Gelişimi Çok iyi, ++; Gelişimi Orta düzeyde, +; Gelişimi Zayıf

Çizelge 4.22. MTC09, MTC16, SBC06, SBC07, SBC10 ve SBC18 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri

İzolat	Büyüme ve Kültürel Özellikler	Yeast ekstrakt malt agar (ISP 2)	Oatmeal Agar (ISP 3)	İnorganik tuz nişasta agar (ISP 4)	Gliserol asparajin agar (ISP 5)	Pepton-demir Agar (ISP 6)	Tirozin Agar (ISP 7)	Modifiye Bennett's agar
MTC09	Gelişimi:	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Koyu krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Açık turuncu
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
MTC16	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Açık turuncu
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
SBC06	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Sarı	Krem	Krem	Açık sarı	Açık kahve	Açık turuncu	Açık sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
SBC07	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Açık sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık sarı
SBC10	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Açık turuncu
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
SBC18	Gelişimi:	+++	+++	++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Krem
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

+++; Gelişimi Çok iyi, ++; Gelişimi Orta düzeyde, + ;Gelişimi Zayıf

**Çizelge 4.23.** SC1, SC124, SM3126A ve SM3126B izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri

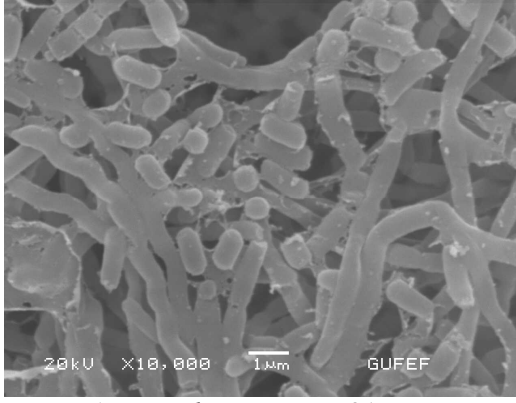
İzolat	Büyüme ve Kültürel Özellikler	Yeast ekstrakt malt agar (ISP 2)	Oatmeal Agar (ISP 3)	İnorganik tuz nişasta agar (ISP 4)	Gliserol asparajin agar (ISP 5)	Pepton-demir Agar (ISP 6)	Tirozin Agar (ISP 7)	Modifiye Bennett's agar
SC1	Gelişimi:	+++		+++	+	Gelişmedi	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Sarı-Beyaz	Sarı-Beyaz	Beyaz		Beyaz	Yok
	Substrat miselyum rengi:	Yeşil-Sarı	Kahverengi-Sarı	Açık-Sarı	Yeşil-Sarı		Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok		Yok	Yok
SC124	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Sarı	Yeşil-Sarı	Yeşil-Sarı	Krem	Açık sarı	Krem	Yeşil sarı
	Çözünür pigment rengi	Sarı	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Sarı
SM3126A	Gelişimi:	++	++	++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık turuncu	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Açık Turuncu
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık sarı	Yok
SM3126B	Gelişimi:	+++	++	+++	+++	++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık sarı	Açık turuncu
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Açık sarı	Yok

+++; Gelişimi Çok iyi, ++; Gelişimi Orta düzeyde, +; Gelişimi Zayıf

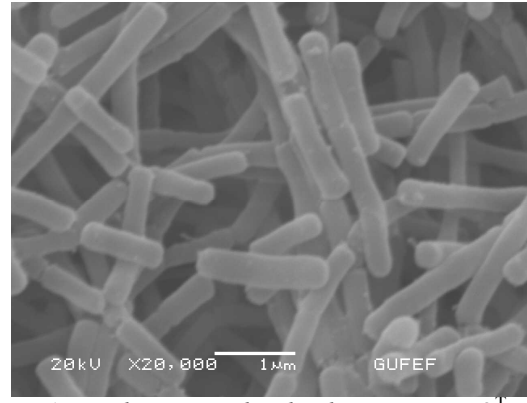
**Çizelge 4.24.** SM3501<sup>T</sup>, SM3513, TS205 ve TS212 izolatlarının farklı besiyerlerinde morfolojik ve kültürel özellikleri

İzolat	Büyüme ve Kültürel Özellikler	Yeast ekstrakt malt agar (ISP 2)	Oatmeal Agar (ISP 3)	İnorganik tuz nişasta agar (ISP 4)	Gliserol asparajın agar (ISP 5)	Pepton-demir Agar (ISP 6)	Tirozin Agar (ISP 7)	Modifiye Bennett's agar
SM3501 <sup>T</sup>	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Pembe beyaz	Beyaz	Beyaz	Gri	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Sarı	Pembe	Koyu krem	Krem	Açık sarı	Açık kahverengi	Açık kahverengi
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
SM3513	Gelişimi:	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Pembe beyaz	Beyaz	Yok	Beyaz	Beyaz	Yok
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Pembe	Koyu krem	Krem	Açık kahve	Koyu krem	Açık kahverengi
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
TS205	Gelişimi:	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık kahverengi	Krem	Açık kahverengi	Krem	Açık sarı	Krem	Açık turuncu
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
TS212	Gelişimi:	+++	++	+++	+++	++	++	+++
	Spor rengi:	Beyaz	Yok	Yok	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz
	Substrat miselyum rengi:	Açık sarı	Krem	Krem	Krem	Açık sarı	Açık turuncu	Açık sarı
	Çözünür pigment rengi	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Sarı	Yok

+++; Gelişimi Çok iyi, ++; Gelişimi Orta düzeyde, +; Gelişimi Zayıf



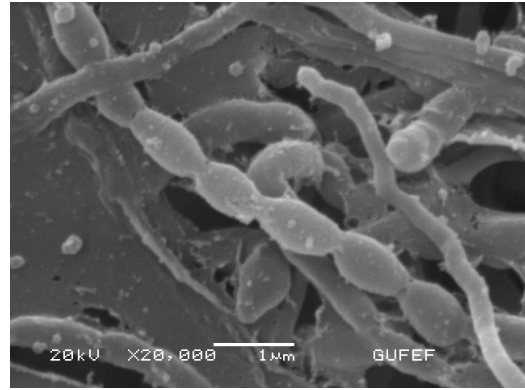
*Actinopolyspora* sp. D31  
Yüzeyi düz çubuk şekilli



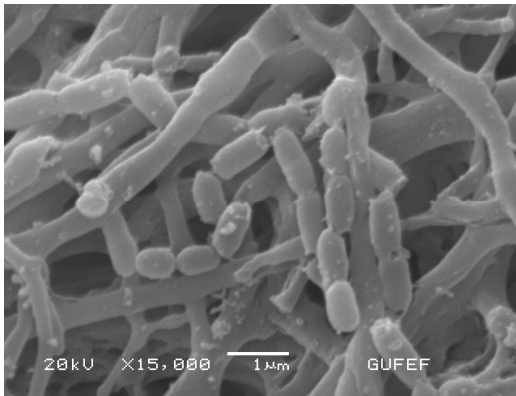
*Amycolatopsis cihanbeyliensis* BNT52<sup>1</sup>  
Yüzeyi düz çubuk şekilli



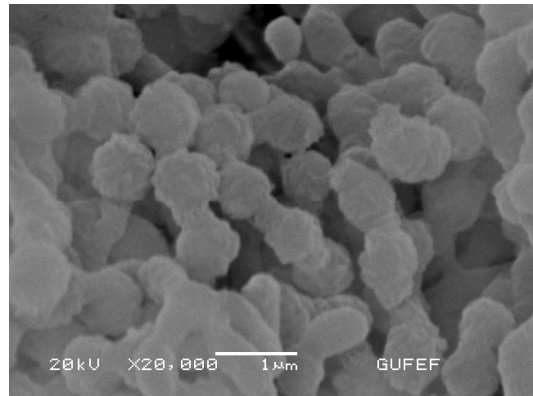
*Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup>  
Yüzeyi düz spiral şekilli



*Streptomyces* sp. SM3513  
Yüzeyi düz oval zincir şekilli



*Streptomonospora* sp. BN506  
Yüzeyi düz çubuk şekilli

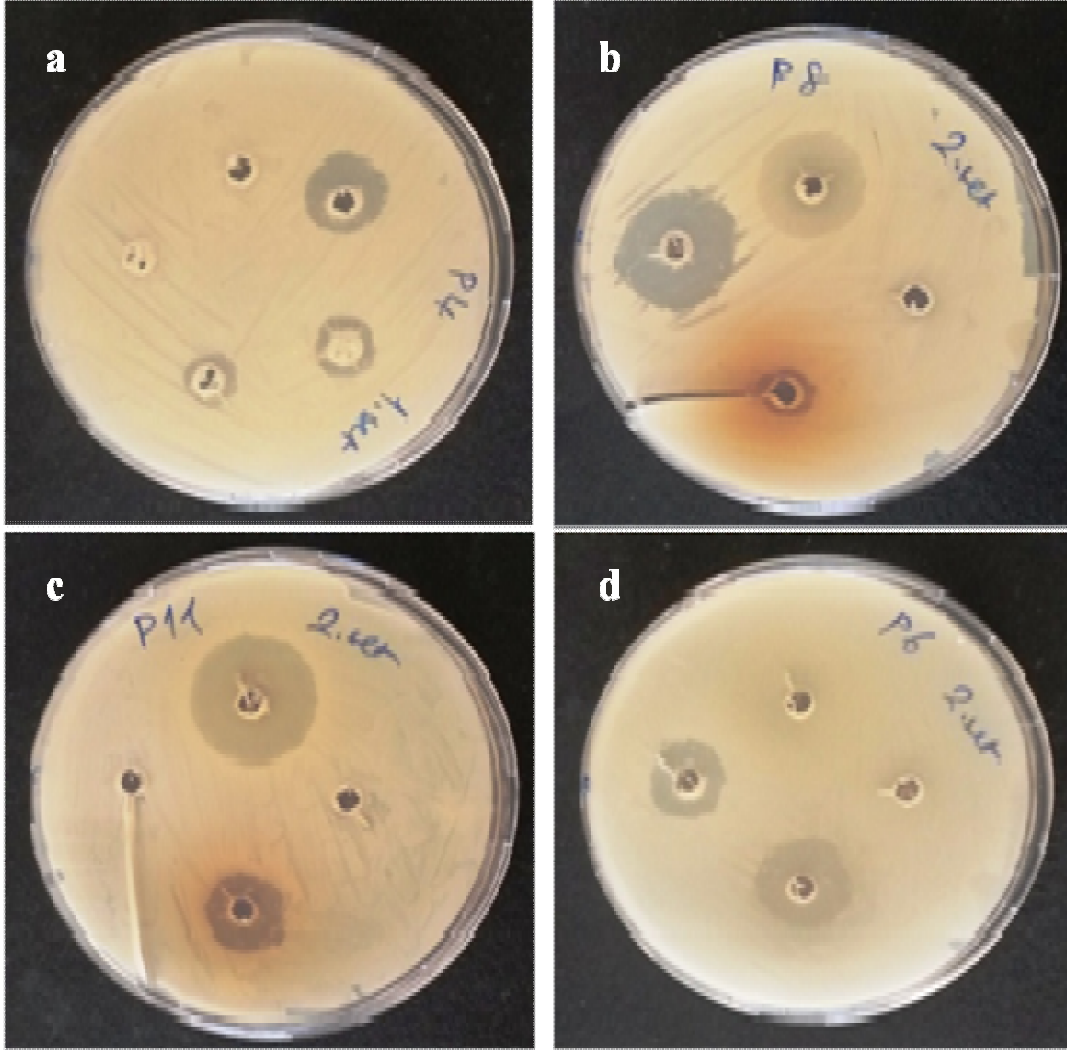


*Streptomyces* sp. BNT558<sup>1</sup>  
Yüzeyi şişilli zincir şekilli

**Şekil 4.25.** Farklı cinslere ait izolatların misel yapıları ve spor morfolojilerinin belirlendiği taramalı elektron mikroskop görüntüleri

#### 4.1.8 Antimikrobiyal aktivite testi

Test izolatlarının, Gram (+), Gram (-) bakteriler ve fungus olmak üzere 14 farklı mikroorganizmaya karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitelerin varlığı Şekil 4.26'da ve ölçülen inhibisyon zon çapları Çizelge 4.25'de verildi.



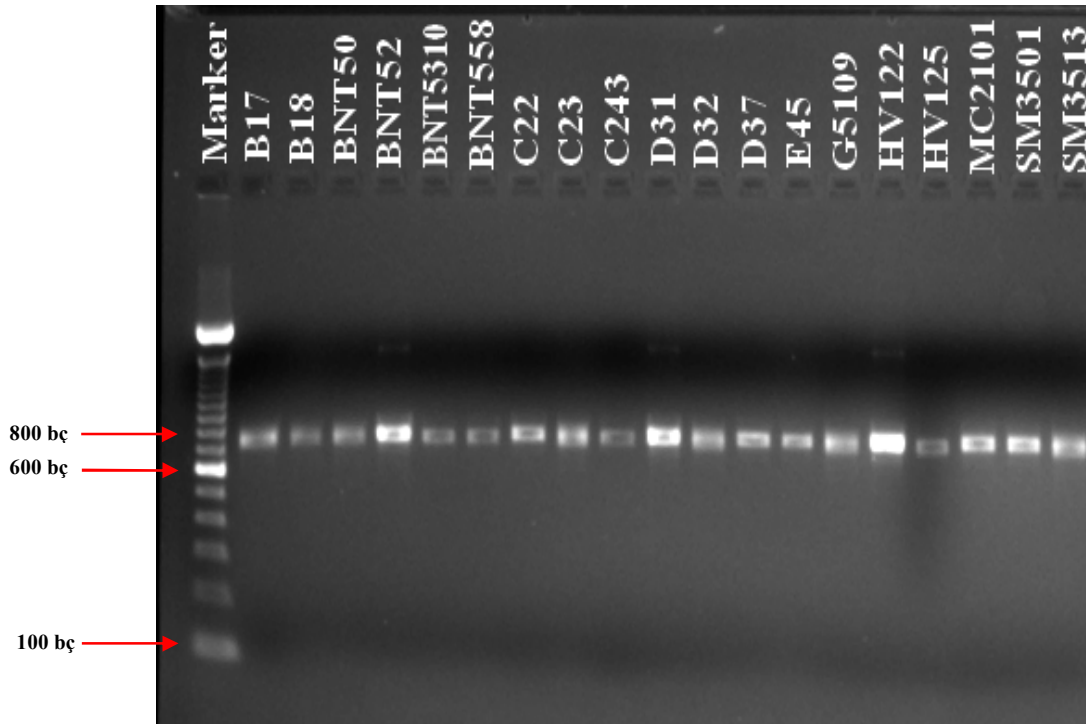
Şekil 4.26. Kuyu agar difüzyon metodu ile gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite testi. (a) *Bacillus cereus* NRRL B-3711 (b) *Candida utilis* NRRL Y-900 (c) *Escherichia coli* MC4100 ve (d) *Bacillus pumilus* NRRL-BD 142.

**Çizelge 4.25.** Test organizmalarının farklı mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm)

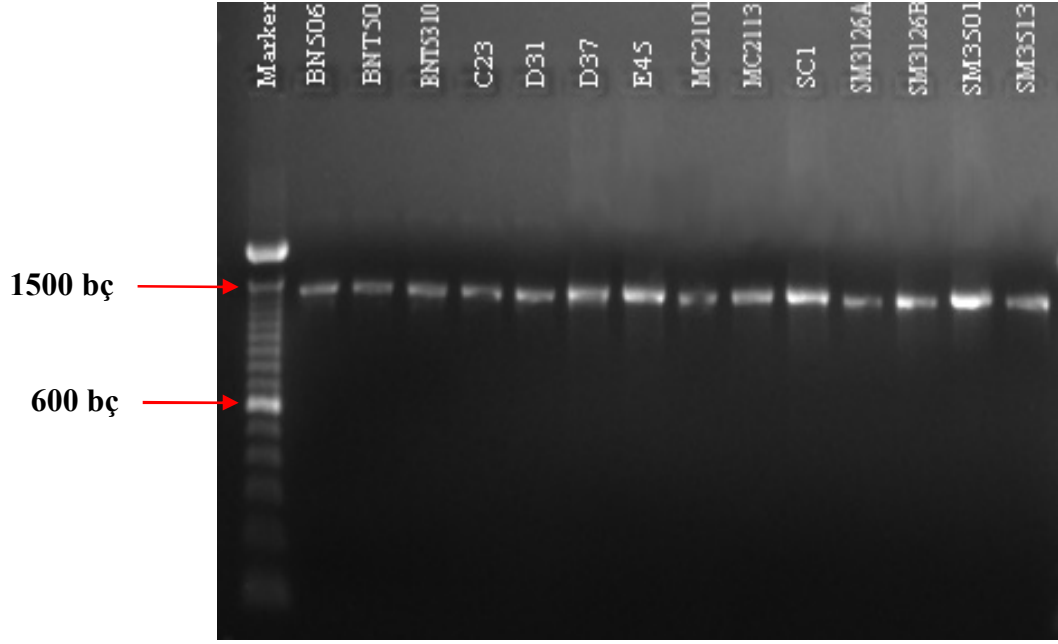
			BN506	BNT50	BNT52 <sup>T</sup>	BNT5310	BNT558 <sup>T</sup>	C23	D31	D37	E45	G5109	MC2101	MC2113	MTC08	MTC16	SBC10	SBC18	SC1	SM3126B	SM3501 <sup>T</sup>	SM3513	
Fungus	1	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	<i>Aspergillus parasiticus</i> NRRL-465	-	-	-	-	13	11	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	14
	3	<i>Candida utilis</i> NRRL Y-900 (Maya)	27	-	-	-	12	21	20	17	11	21	14	18	-	-	-	-	11	-	-	19	20
Gram (-)	4	<i>Citrobacter freundii</i> NRRL B-2643	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	<i>Escherichia coli</i> MC 4100	-	-	11	-	16	-	-	14	13	-	11	12	-	-	-	-	14	-	-	-	-
	6	<i>Enterobacter aerogenes</i> NRRL B-427	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram (+)	8	<i>Bacillus subtilis</i> NRRL B-209	-	-	-	-	11	15	12	19	18	10	12	20	-	-	-	-	14	-	12	10	
	9	<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	-	-	-	-	-	11	-	20	20	-	14	21	-	-	-	-	15	-	12	15	
	10	<i>Bacillus licheniformis</i> NRRL B-1001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11	<i>Bacillus pumilus</i> NRRL-BD 142	15	-	-	-	19	8	12	-	-	11.5	20	18	20	18	21	19	-	18	12	11	
	12	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	12	14	21	15	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	<i>Micrococcus luteus</i> NRRL B-1018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

#### 4.1.9 NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin PZR amplifikasyonu

Test izolatlarında NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin varlığı, PZR amplifikasyonu sonucunda belirlendi. Elde edilen PZR ürünlerine ait jel görüntülerine göre, farklı cins üyesi izolatların NRPS veya PKS gen kümelerinden en az birini içerdiği tespit edildi (Şekil 4.27-4.29). Test izolatlarında NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin varlığı Çizelge 4.26’da bu gen bölgelerinin dağılımını gösteren grafik ise Şekil 4.30’da verildi.



Şekil 4.26. Bazı izolatların NRPS gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin % 1,5’lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker, Invitrogen 100 bç DNA Ladder.



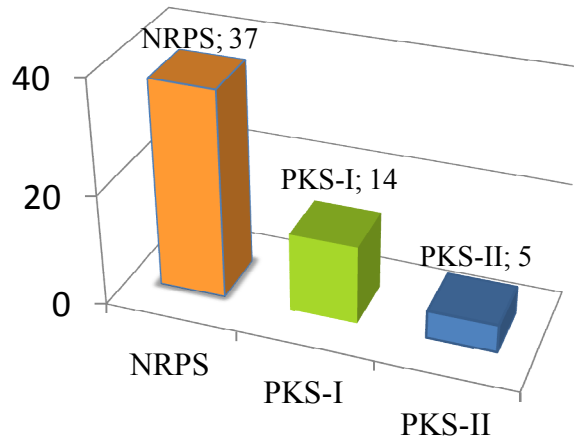
**Şekil 4.27.**Bazı izolatların PKS-I gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker, Invitrogen 100 bç DNA Ladder.



**Şekil 4.28.** Bazı izolatların PKS-II gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker, Biolabs 1 kb DNA Ladder.

**Çizelge 4.26.** Test izolatların NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin PZR amplifikasyon sonuçları

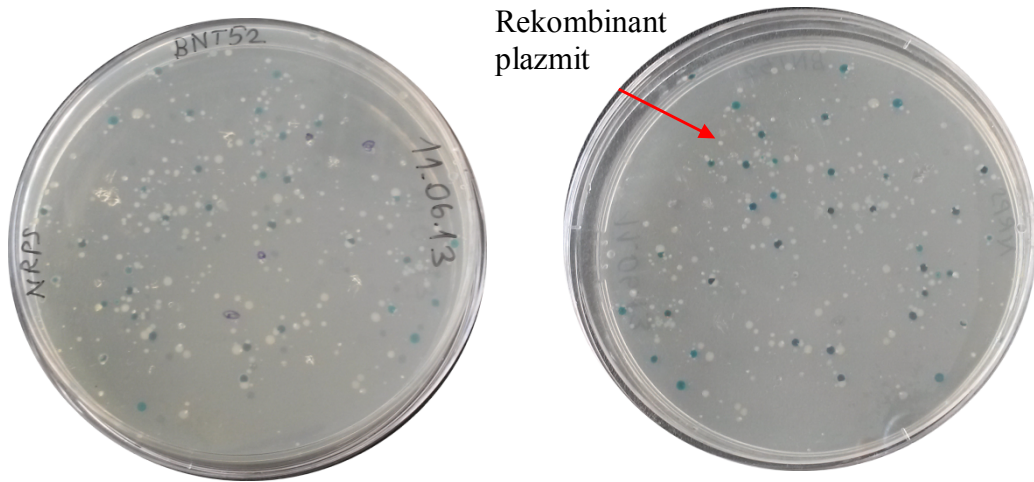
	İzolatlar	NRPS	PKS-I	PKS-II
1	B17	+	-	-
2	B18	+	-	-
3	BN506	-	+	+
4	BNT50	+	+	-
5	<i>Amycolatopsis cihanbeyliensis</i> BNT52 <sup>T</sup>	+	-	-
6	BNT5310	+	+	+
7	<i>Streptomyces iconiensis</i> BNT558 <sup>T</sup>	+	-	+
8	C22	+	-	-
9	C23	+	+	-
10	C243	+	-	-
11	D31	+	+	-
12	D32	+	-	-
13	D37	+	+	-
14	E45	+	+	-
15	G5109	+	-	-
16	HV122	+	-	-
17	HV125	+	-	-
18	MC2101	+	+	-
19	MC2113	+	+	-
20	MC2114	+	-	-
21	MTC01	+	-	-
22	MTC02	+	-	-
23	MTC03	+	-	-
24	MTC08	+	-	-
25	MTC09	+	-	-
26	MTC16	+	-	-
27	SBC06	+	-	-
28	SBC07	+	-	-
29	SBC10	+	-	-
30	SBC18	+	-	-
31	SC1	+	+	+
32	SC124	+	-	-
33	SM3126A	+	+	-
34	SM3126B	+	+	-
35	<i>Streptomyces smyrnaeus</i> SM3501 <sup>T</sup>	+	+	-
36	SM3513	+	+	+
37	TS205	+	-	-
38	TS212	+	-	-



**Şekil 4.30.** Test izolatlarında NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin dağılımını gösteren sütun grafik.

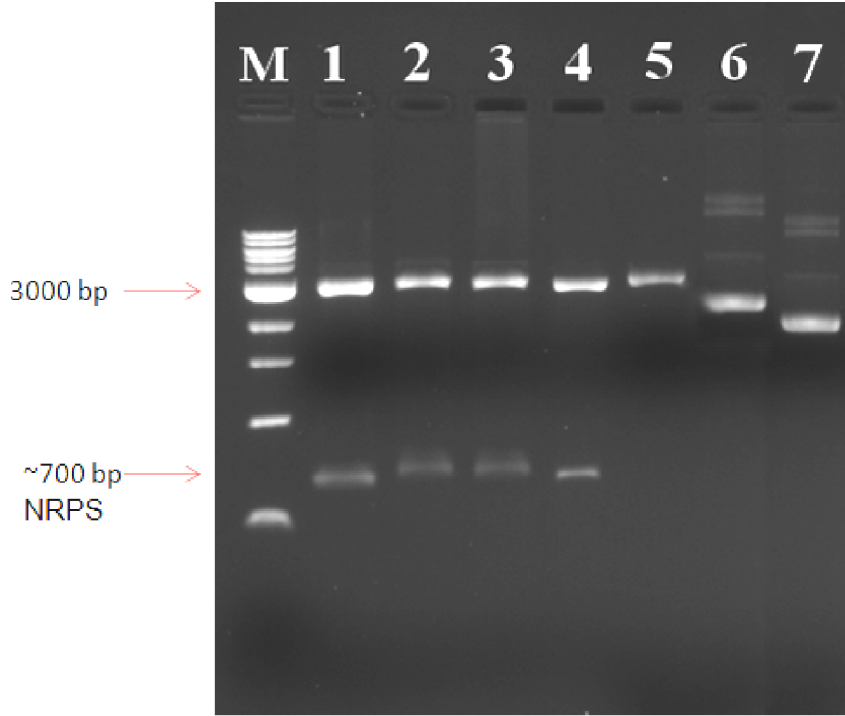
#### 4.1.10 Rekombinant plazmidin seçimi

Petriler 37 °C’de bir gece inkübe edilerek inkübasyon sonrasında rekombinant plazmitler mavi/beyaz koloni morfolojisine göre ayırım yapılarak beyaz kolonilerden seçildi (**Şekil 4.31**). BNT52<sup>T</sup>, SM3501<sup>T</sup>, SM3513 izolatlarına ait NRPS, SM3501<sup>T</sup>, SM3513 izolatlarına ait PKS-I gen bölgesinin incelenmesi için 5’er koloni seçildi.



**Şekil 4.29.** BNT52<sup>T</sup> izolatının NRPS gen bölgesi için mavi/beyaz koloni ayırımını gösteren ampisilinli LB agar petrileri.

#### 4.1.11 Bazı rekombinant plazmitlerin *EcoRI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi



**Şekil 4.30.** Bazı rekombinant plazmitlerin *EcoRI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi. **1**, SM3501-1 (NRPS); **2**, SM3513-1 (NRPS); **3**, BNT52-1 (NRPS); **4**, BNT52-2 (NRPS); **5**, pGEM-T Easy vektörü; **6**, NRPS genini taşıyan rekombinant plazmit; **7**, NRPS genini içermeyen pGEM-T Easy vektörü (Mavi koloni). Marker, Biolabs 1 kb DNA Ladder

**Çizelge 4.27.** BNT52<sup>T</sup>, SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarına ait NRPS gen bölgesinin Blastx sonuçlarına göre benzerlikleri

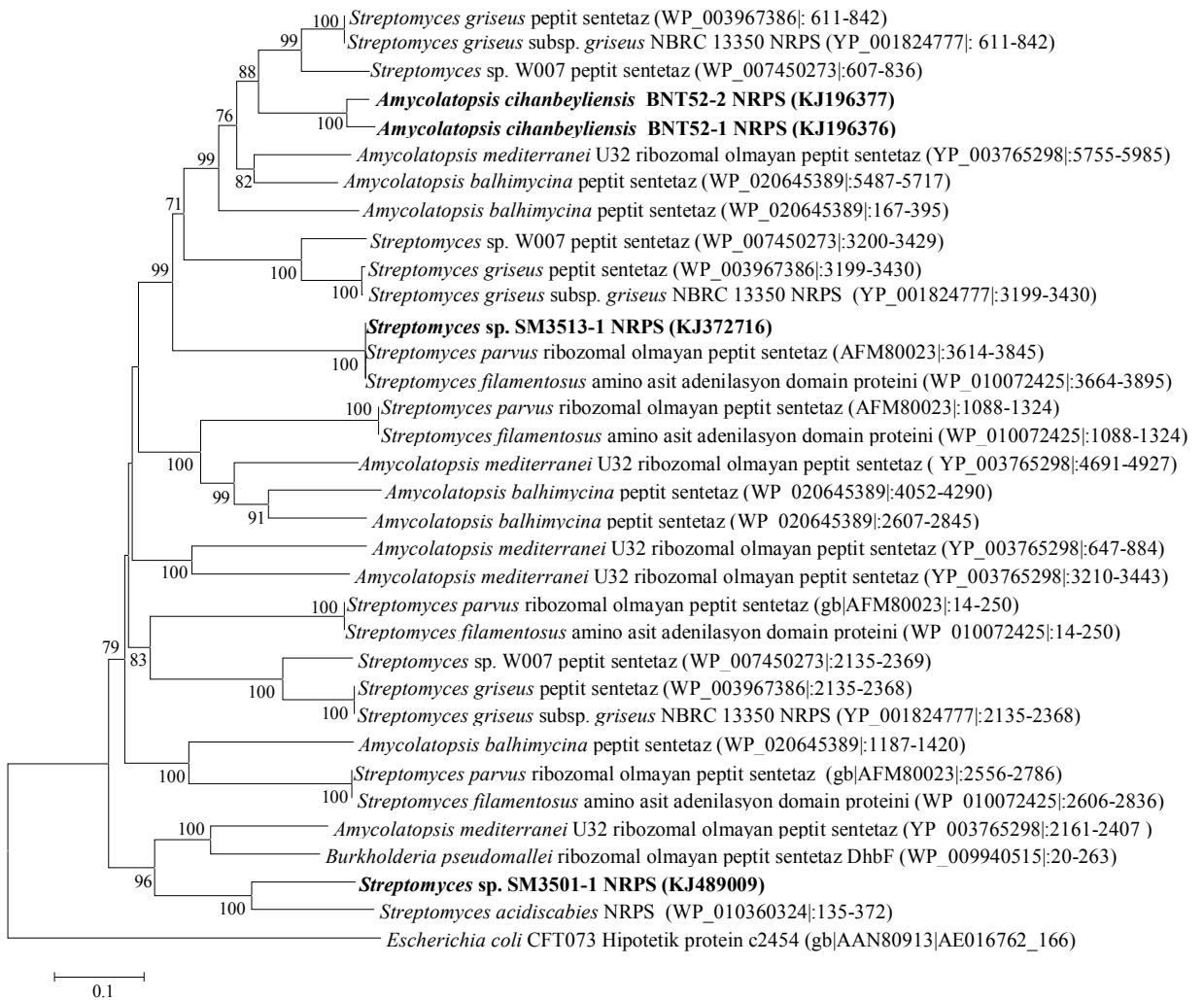
	İzolatlar	Organizma/Genbank no	% Benzerlik	Klon Sayısı
1	BNT52-1 (227 aa)	Adenilasyon Domain Proteini [ <i>Streptomyces griseus</i> XylebKG-1] gb EGE42852.1	% 75	2
2	BNT52-2 (227 aa)	Ribozomal olmayan peptid sentetaz [ <i>Amycolatopsis mediterranei</i> U32]  YP_003765298.1	% 73	3
3	SM3501-1 (234 aa)	Ribozomal olmayan peptid sentetaz [ <i>Streptomyces acidiscabies</i> ]  WP_010360324.1	% 64	5
4	SM3513-1 (231 aa)	Ribozomal olmayan peptid sentetaz [ <i>Streptomyces parvus</i> ] gb AFM80023.1	% 99	5

*Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup> izolatının NRPS genlerinin 2 farklı, *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının NRPS genlerinin 1'er farklı adenilasyon domaini içerdiği tespit edildi.

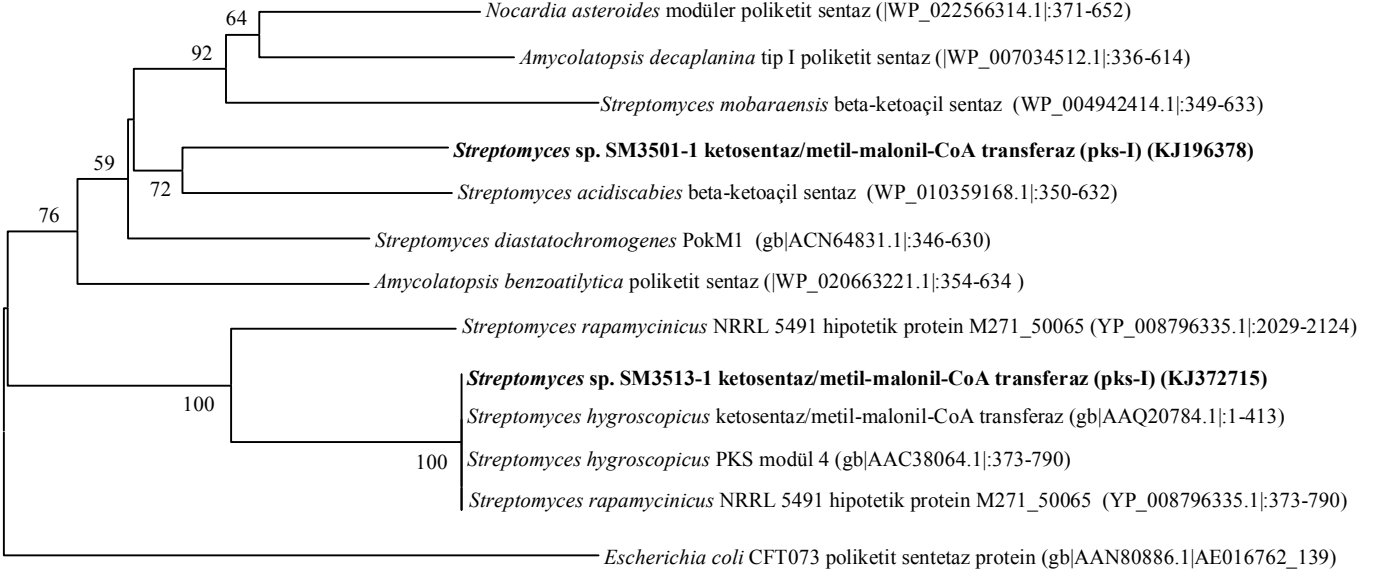
**Çizelge 4.28.** SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarına ait PKS-I gen bölgesinin Blastx sonuçlarına göre benzerlikleri

	İzolatlar	Organizma/Genbank no	% Benzerlik	Klon Sayısı
1	SM3501-1 (461 aa)	Beta-ketoaçil sentaz [ <i>Streptomyces acidiscabies</i> ]  WP_010359168	% 45	5
2	SM3513-1 (418 aa)	Ketosentaz/metil-malonil-CoA transferaz (pks-I) [ <i>Streptomyces hygrosopicus</i> ]  gb AAQ20784.1	% 100	5

Analiz edilen klon sayısına göre SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının PKS-I genlerinin 1'er farklı ketosentaz domaini içerdiği tespit edildi.



**Şekil 4.31.** BNT52<sup>T</sup>, SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının NRPS gen bölgesine ait Adenilasyon domainlerinin amino asit dizisine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



**Şekil 4.32.** SM3501<sup>T</sup>, SM3513 izolatlarının PKS-I gen bölgesine ait Metil/Malonil CoA Transferaz domainlerinin amino asit dizisine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbour joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.

## 4.2 Tartışma

Halofillerin bulunduğu çoğu habitat deniz suyunun buharlaşması ile meydana gelen thalassohalin ortamlardır. Neredeyse nötre yakın hafif alkali pH'ya sahip olan bu ortamlar deniz suyunun iyonik kompozisyonunu yansıtmaktadır (Yanhe ve diğ., 2010).

Son yapılan çalışmalar Gram pozitif mikroorganizmaların tuzlu topraklarda yoğun olarak bulunduğunu göstermiştir. Ventosa ve diğ. (1983) Alicante (İspanya) kıyısındaki tuzlu topraktan bir grup Gram pozitif halofilik kok izole etmiştir. Ilımlı halofillerin tümü % 2-5 ve % 25-30 arasında toplam tuzda ve optimum olarak % 10-15 tuz oranı içeren besiyerlerinde gelişmiştir. Tresner ve diğ., (1968) ve Gottlieb (1973) tuzlu ortamlarda aktinomisetlerin varlığını ve yüksek tuz konsantrasyonuna olan toleranslarını ilk olarak belirlemişlerdir.

Tuz Gölü ve Çamaltı Tuzlası'nda bulunan mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonları ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar bulunmaktadır. Yalçın (2000) Tuz Gölü'nden izole ettiği 12 adet aerobik halotolerant ve halofilik izolat ile çalışmış ve izolatlarından bazılarını *Bacillus circulans* ve *Bacillus licheniformis* olarak tanımlamıştır.

Kallı (2000) yaptığı çalışmada Tuz Gölünden izole ettiği 18 adet aşırı halofilik bakterinin çeşitli biyokimyasal ve antibiyotiklere duyarlılık testlerini gerçekleştirmiş ve bu izolatların *Halobacterium* cinsine ait olabileceklerini ifade etmiştir.

Birbir ve Sesal (2003) yaptıkları çalışmada Tuz Gölü'nden izole ettikleri 82 izolattan 32 tanesinin optimum gelişim gösterdikleri tuz, pH ve sıcaklık derecelerini belirleyip bu izolatların çeşitli biyokimyasal testlerini yapmışlardır.

Mutlu (2006) çalışmasında Tuz Gölünün 5 farklı noktasından Ağustos 2003-Ekim 2005 tarihleri arasında örnekleme yapmış, farklı besiyerleri kullanılarak 122 adet aerobik halofilik bakterinin izolasyonunu gerçekleştirmiş, bazı biyokimyasal ve antibiyotiklere karşı hassasiyetlerini belirlemiştir. Bazı izolatların toplam hücre protein profilleri SDS-PAGE ile çıkarılmış ve bu sonuçlara göre oluşturulan benzerlik dendogramları, referans halofillerle ve kendi aralarındaki ilişkinin ortaya konmasını sağlamıştır.

Güven ve diğ., (2010) Çamaltı Tuzlasında tuzluluk derecesi farklı 6 havuzdan alınan su örneklerinden izolasyon gerçekleştirmiş, rastgele seçilen 12 izolatın farklı

karbon kaynaklarını kullanım durumu, indol, oksidaz, katalaz, jelatinaz, selüloz, proteaz, ksilanaz üretimi, Tween 80, amilaz, DNaz aktivitesi gibi fenotipik özelliklerini incelemişler, izolatların büyük olasılıkla Bacteria veya Arkea domainine ait farklı cins ve türlerin temsilcileri olabileceğini ifade etmişlerdir.

Kushner'e (1985) göre % 1-3 arasında NaCl konsantrasyonunda gelişenler az halofiller, % 3-15 arası NaCl konsantrasyonunda gelişenler orta derecede halofiller, % 15'den daha fazla NaCl konsantrasyonunda gelişenler aşırı halofiller olarak gruplandırılmıştır. Bu kritere göre az, orta derecede (ılımlı) ve aşırı halofilik olan aktinomisetleri belirlemek için farklı tuz konsantrasyonuna sahip izolasyon ortamları kullanılmaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalarda halofilik aktinomisetlerin elde edilmesinde izolasyon besiyerleri olarak farklı tuz konsantrasyonlarına sahip Humik asit vitamin, Nişasta kazein, GW3, Marin agar kullanılmıştır (Meklat ve diğ., 2013; Li ve diğ., 2003b; Guan ve diğ., 2010; Chen ve diğ., 2010). Medium B, C, D, E besiyerleri halofilik arkelerin elde edilmesinde izolasyon ortamı olarak tercih edilmiştir (Oren ve Litchfield, 1999). Farklı çalışmalarda da nadir aktinomisetlerin elde edilmesinde izolasyon ortamı olarak Humik asit vitamin, Modifiye Bennett's, Soy-bean meal agar kullanılmıştır (Seong ve diğ., 2001; Bredholdt ve diğ., 2007). Ayrıca SM3 izolasyon ortamı *Amycolatopsis* cinsi izolatların izolasyonunda özellikle tercih edilmiştir (Tan ve diğ., 2006).

Bu çalışmada farklı aktinomiset gruplarının izolasyonu için % 5 ile % 20,6 arasında değişen oranlarda NaCl ilaveli Humik asit vitamin, Nişasta kazein, SM3, GW3, Modifiye Bennett's, Marin, Soy-bean meal agar ve Medium B, C, D, E besiyerleri kullanılmıştır. İzolasyon besiyerlerinde gelişen farklı cinslere ait toplam 50 aktinomiset izolatı, izole edildikleri kültür ortamlarında saflaştırılıp, numaralandırılmış ve stoklanmıştır (**Çizelge 4.1**).

Farklı tuz konsantrasyonlarında (% 0, % 5, % 10, % 15 ve % 20) gelişme kabiliyetleri belirlenen izolatlardan *Amycolatopsis cihanbeyliensis* olarak isimlendirilen BNT52<sup>T</sup>, *Streptomyces iconiensis* olarak isimlendirilen BNT558<sup>T</sup>, *Streptomyces smyrnaeus* olarak isimlendirilen SM3501<sup>T</sup>, *Nocardiosis* sp BNT50 ve BNT5310, *Prauserella* sp. MC2114 ve *Streptomyce* sp SM3513, diğer izolatların aksine tuzsuz ortamda da büyüme gösterdikleri tespit edilmiştir (**Çizelge 4.13**).

Genomik DNA izolasyonu yapılarak 16S rRNA gen bölgesi dizi analizleri gerçekleştirilen 50 izolattan 38 tanesinin *Actinobacteria* sınıfının, diğer 12 izolatın ise *Bacilli* sınıfının üyesi olduğu belirlenmiştir (**Çizelge 4.2, Çizelge 4.3**).

16S rRNA gen bölgesi dizi verilerinin filogenetik analizleri sonucunda, *Actinopolyspora* cinsi üyesi 11, *Amycolatopsis*, *Prauserella* ve *Streptomonospora* cinsi üyesi 1'er, *Nocardiopsis* cinsi üyesi 2, *Saccharomonospora* cinsi üyesi 19, *Streptomyces* cinsi üyesi ise 3 izolat elde edilmiştir (**Çizelge 4.2, Şekil 4.3**).

Geleneksel mikrobiyolojik metotlara dayanarak mikroorganizmaların sınıflandırılması (morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal) mikroorganizmaların taksonomik pozisyonlarının net bir şekilde belirlenmesini sağlayamamaktadır. Bu nedenle, günümüzde polifazik taksonomi olarak adlandırılan, moleküler teknikler aracılığıyla elde edilen bilgilerle morfolojik ve biyokimyasal verilerin bir arada değerlendirildiği ileri bir yaklaşım kullanılmaya başlanmıştır (Prakash ve diğ., 2007).

Moleküler bakteri sistematigi çalışmalarında, prokaryotik tür tanımına göre, bir izolatın yeni bir tür olması için en yüksek benzerlik gösterdiği tanımlanmış türden % 3 ve üzeri bir oranda 16S rRNA dizi farklılığına sahip olması yeterlidir. Şayet, benzerlik % 3 den daha düşük düzeyde ise % 70'in altında bir DNA-DNA hibridizasyon değerine sahip olması gerekmektedir (Van damme ve diğ., 1996).

16S rRNA dizi analizi tamamlanan test izolatlarının filogenetik analizlerine göre en yakın akrabaları ile en fazla nükleotit farkı gösteren izolatlara öncelik verilerek moleküler, kemotaksonomik ve fenotipik analizlerin tamamlanması ve literatüre kazandırılması amaçlanmıştır.

16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi analizlerine dayalı filogenetik dendograma göre *Actinopolyspora* cinsi üyesi 11 izolatın dört farklı gruba ayrıldığı görülmektedir. Bunlardan beş üyeli bir grup olan ve kendi aralarında % 100 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği gösteren B17, B18, C22, C243 ve D32 *Actinopolyspora* izolatları % 99,86 16S rRNA gen bölgesi benzerliği (1422/2 nt farklılığı) ile *Actinopolyspora dayingensis* TRM 4064<sup>T</sup> ile, ikinci dört üyeli bir grup olan *Actinopolyspora* sp. C23, D37, E45 ve SC1 izolatları ise *Actinopolyspora erythraea* YIM 90600<sup>T</sup> ile birlikte kümelenmişlerdir. *Actinopolyspora* sp. G5109 izolatı % 99,22 (1411/11 nt) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği gösterdiği *Actinopolyspora xinjiangensis* TRM 4013<sup>T</sup> ile *Actinopolyspora* sp. D31 izolatı ise *Actinopolyspora alba* YIM 90480<sup>T</sup>, *Actinopolyspora lacussalsi* TRM 40139<sup>T</sup> ve

*Actinopolyspora righensis* H23<sup>T</sup> ile birlikte kümelenmişlerdir (**Şekil 4.4; Çizelge 4.4**).

Filogenetik akrabaları ile 16S rRNA gen bölgesi nükleotit farklılığı en yüksek izolat olan ve Medium D (% 20,6 NaCl) seçici besiyerinden izole edilen *Actinopolyspora* sp. D31 izolatı, en yakın akrabaları *A. alba* YIM 90480<sup>T</sup> ile % 98,72 (1485/19 nt), *A. lacussalsi* TRM 40139<sup>T</sup> ile % 98,43 (1400/22 nt), *A. xinjiangensis* TRM 40136<sup>T</sup> ile % 98,37 (1410/23 nt), *A. righensis* H23<sup>T</sup> ile % 98,32 (1365/23 nt), *A. erythraea* YIM 90600<sup>T</sup> ile % 97,75 (1465/33 nt), *A. mzabensis* H55<sup>T</sup> ile % 97,45 (1488/38 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır.

D31 izolatı filogenetik dendogramda *Actinopolyspora lacussalsi* TRM 40139<sup>T</sup>, *Actinopolyspora righensis* H23<sup>T</sup> ve *Actinopolyspora alba* KCTC 19119<sup>T</sup> ile birlikte ayrı bir küme oluşturmakta ve bu üç tip türü ile % 3'ten daha düşük değerde 16S rRNA gen bölgesi nükleotit farklılığı gösterdiğinden, taksonomik durumunun belirlenmesi için gerçekleştirilen DNA-DNA homoloji testi sonucunda % 93,9 gibi yüksek oranda DNA-DNA hibridizasyon özdeşliğine sahip olduğu *Actinopolyspora alba*'nın genotipik olarak bir üyesi olduğu belirlenmiştir (**Çizelge 4.7**).

Tür tanımında “*altın standartlar*” olarak kabul edilen 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi ve DNA-DNA hibridizasyonu verilerine göre *Actinopolyspora alba* olarak tanımlanan D31 izolatı, kemotaksonomik ve fenotipik özellikler bakımından da *Actinopolyspora alba* tip türünün karakteristik özellikleri ile büyük bir uyumluluk içinde olduğu belirlenmiştir. Türün özelliklerinde olduğu gibi D31 izolatının hücre duvarında *mezo*-diaminopimelik asit ve karakteristik olarak arabinoz ve galaktoz şekeri de içermektedir (Tang ve diğ., 2011). Benzer şekilde majör yağ asiti *anteiso* C<sub>17:0</sub>, baskın menakinonu MK-9 (H<sub>4</sub>) dür. *Actinopolyspora* sp. D31 izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipit profili fosfatidilkolin (PC), difosfatidilgliserol (DPG), dört glikolipit (GL) ve üç fosfolipitten (PL) oluşmaktadır (**Çizelge 4.12**). *Actinopolyspora alba* YIM 90480<sup>T</sup> türüne ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipit profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilkolin (PC), bilinmeyen fosfolipit (PL), bilinmeyen fosfoglikolipid (PGL), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilinositolmannositten (PIM) oluşmaktadır (Tang ve diğ., 2011). *Actinopolyspora* sp. D31 izolatı düz yüzeye sahip çubuk şekilli sporlar ihtiva etmektedir (**Şekil 4.25**). *Actinopolyspora alba* YIM 90480<sup>T</sup> türünün sporları düz yüzeyli oval ya da çubuk şekillidir (Tang ve diğ., 2011). *Actinopolyspora* sp. D31 izolatı karbon kaynağı olarak dekstrin, sukroz, ksilitolü kullanırken

*Actinopolyspora alba* KCTC 19119<sup>T</sup> türü ise sadece D-mannoz, D-mannitol, Laktoz, Maltozu kullanabilir. *Actinopolyspora* sp. D31 izolatu 45 °C sıcaklıkta gelişim gösteremezken en yakın tip akrabası olan *Actinopolyspora alba* KCTC 19119<sup>T</sup> türü 45 °C sıcaklıkta gelişebilmektedir (**Çizelge 4.14-4.15**).

*Actinopolyspora* cinsi üyesi izolatlar ve en yakın tip türlerinin çoğu karbon kaynağı olarak adonitol, D-arabinoz, D-sellobiyoz, D-fruktoz, D-galaktoz, D-mannoz, dekstrin, inülin, laktoz, maltoz, sukroz, ksilozu kullanırken D-sorbitol, D-mannitol, dekstran, L-sorboz, L-glutamik asit ve süksinik asiti çoğunlukla kullanamazlar. İzolatların çoğu arbutini, allantoini hidroliz ve nitratı redükte edebilirken çoğu üreyi hidroliz edemezler. Cins üyelerinin tümü azot kaynaklarından L-arjinini kullanırken alfa iso-lösin, L-alanin, L-hidroksiprolin, L-metiyonin, L-fenilalanin, L-prolin, L-serin, L-valini kullanamazlar. Degredasyon testlerinde ise çoğunun nişasta, Tween 40 ve Tween 80'i degrade edebildiği saptanmıştır. Fizyolojik testlere göre cins üyelerinin tümü pH 8'de, 28-37 °C sıcaklıkta ve % 10-15 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlendi (**Çizelge 4.14-4.15**).

Cihanbeyli tuzlasından alınan toprak örneğinden, modifiye Bennett's agarda (% 5 NaCl) izole edilen *Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup> izolatu, en yakın akrabaları *Amycolatopsis nigrescens* CSC17-Ta-90<sup>T</sup> ile % 96,65 (1405/47 nt), *Amycolatopsis magusensis* KT2025<sup>T</sup> ile % 96,64 (1458/49 nt), *Amycolatopsis sulphurea* DSM 46092<sup>T</sup> ile % 96,61(1444/49 nt), *Amycolatopsis dongchuanensis* YIM 75904<sup>T</sup> ile % 96,49 (1455/51 nt), *Amycolatopsis ultiminotia* RP-AC36<sup>T</sup> ile % 96,43 (1401/50 nt), *Amycolatopsis sacchari* K24<sup>T</sup> ile % 96,41 (1448/52 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır. En yakın filogenetik akrabasından % 3'ten daha yüksek düzeyde 16S rRNA gen bölgesi nükleotit farklılığı göstermesi ile yeni bir *Amycolatopsis* türü olduğu kesinleşen BNT52<sup>T</sup> izolatu'nun fenotipik ve kemotaksonomik karakterizasyonu, ilgili akraba tip türleri ile birlikte karşılaştırmalı olarak tamamlanmış ve *Amycolatopsis cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> olarak isimlendirilip literatüre kazandırılmıştır (Tatar ve diğ., 2013).

*Amycolatopsis cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> izolatu'nun hücre duvarında mezo-diaminopimelik asit bulunmakta olup karakteristik olarak arabinoz ve galaktoz içermektedir. *Amycolatopsis nigrescens* CSC17-Ta-90<sup>T</sup> hücre duvarında mezo-diaminopimelik asit ve karakteristik şeker olarak arabinoz, galaktoz, az miktarda glukoz, mannoz, ramnoz ve riboz bulunmaktadır (Groth ve diğ., 2007). En yakın

ikinci tip türü olan *Amycolatopsis magusensis* KT2025<sup>T</sup> türü hücre duvarında mezo-diaminopimelik asit bulundurmakta olup karakteristik olarak arabinoz ve galaktoz şekerlerine de sahiptir (Çamaş ve diğ., 2013).

BNT52<sup>T</sup> izolatının majör yağ asitleri sırasıyla % 19,3 ve % 18,6 ile *iso* C<sub>16:0</sub> 2OH ve *iso* C<sub>16:0</sub> olduğu belirlenmiştir. En yakın tip türleri *Amycolatopsis nigrescens* DSM 44992<sup>T</sup>, *Amycolatopsis magusensis* KT2025<sup>T</sup> türlerinin majör yağ asitleri sırasıyla, % 29,6, % 17,5 *iso* C<sub>16:0</sub> olarak belirlenmiştir (**Çizelge 4.8**). *A. cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> izolatının baskın menakinonu MK-9(H<sub>4</sub>) (% 85) tipindedir (**Çizelge 4.12**). En yakın akrabaları *Amycolatopsis nigrescens* CSC17-Ta-90<sup>T</sup> ve *Amycolatopsis magusensis* KT2025<sup>T</sup> türlerinin baskın menakinonu sırasıyla MK-11(H<sub>4</sub>) (63 %) ve MK-9(H<sub>4</sub>) (63 %) tipindedir (Groth ve diğ., 2007; Çamaş ve diğ., 2013).

*A. cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipit profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilmetiletanolamin (PME), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI), fosfolipit (PL), aminolipit (AL) olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.13**). *Amycolatopsis nigrescens* CSC17-Ta-90<sup>T</sup> türünün polar lipit profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidiletanolamin (PE), hidroksifosfatidiletanolamin (OH-PE), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserin (PS), glikolipitten (GL) oluşmaktadır (Groth ve diğ., 2007). *Amycolatopsis magusensis* KT2025<sup>T</sup> türünün polar lipit profili fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilinositol (PI), hidroksifosfatidiletanolaminden (OH-PE) oluşmaktadır (Çamaş ve diğ., 2013). BNT52<sup>T</sup> izolatı yüzeyi düz çubuk şekilli sporlara sahiptir (**Şekil 4.25**). *Amycolatopsis nigrescens* CSC17-Ta-90<sup>T</sup> ve *Amycolatopsis magusensis* KT2025<sup>T</sup> türleri de çubuk şekilli sporlara sahiptir (Groth ve diğ., 2007; Çamaş ve diğ., 2013).

*Amycolatopsis* cinsi üyesi *A. cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> izolatı ve tip türlerinin hepsi D-sellobiyoz, D-fruktoz, D-galaktoz, D-mannoz, D-mannitol, ksilitol, ksilozu kullanırken dekstranı kullanamazlar. Cins üyelerinin çoğu üreyi hidroliz edebilirler ve azot kaynaklarından glisin, L-alanin, L-arjinin, L-histidin, L-prolin, L-serini kullanırlar. Ayrıca *A. cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> izolatı ve tip türleri Tween 40'ı degrade edebilir. Fizyolojik testlere göre cins üyelerinin tümü pH 6-8'de, 28-37 °C sıcaklıkta ve % 1-5 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlendi (**Çizelge 4.14-4.15**).

Kendi aralarında % 95,79 (1473/62 nt) 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği gösteren *Nocardiopsis* cinsi üyesi BNT50 ve BNT5310, en yakın akraba türleri olan *Nocardiopsis halophila* KCTC 9825<sup>T</sup> ve *Nocardiopsis dassonvillei* subsp. *dassonvillei* DSM 43111<sup>T</sup> ile sırasıyla % 99,46 (1474/8 nt) ve % 99,80 (1478/3 nt) 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği göstermektedir.

*Nocardiopsis* cinsi üyesi BNT50 ve BNT5310 izolatlarının her ikisi de L-arabinoz, D-sellobiyoz, D-galaktoz, D-mannitol, laktoz, maltoz, sukrozu karbon kaynağı olarak kullanırken adonitol, D-fruktoz, D-sorbitol, D-mannoz, L-sorboz, L-glutamik asit, ksilitol, ksiloz, süksinik asiti kullanamazlar. İzolatların her ikisi de arbutini, allantoini hidroliz ve nitratı redükte edebilirken çoğu üreyi hidroliz edemezler. Cins üyelerinin tümü azot kaynaklarından L-arjinini kullanırken, alfa iso-lösin, glisin, L-alanin, L-sistein, L-hidroksiprolin, L-metiyonin, L-fenilalanin, L-prolin, L-serin, L-treonin, L-valini kullanamazlar. Degredasyon testlerinde ise kazein ve nişastayı degrade edebildikleri gözlenmiştir Fizyolojik testlere göre cins üyelerinin tümü pH 5-11'de, 28-37 °C sıcaklıkta ve % 0-10 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlendi (Çizelge 4.16-4.17).

*Prauserella* cinsi MC2114 izolatının en yakın tip türü olan *Prauserella aidingensis* YIM 90636<sup>T</sup> ile arasında % 99,52'lik (1451/7 nt) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliğine rastlanmıştır.

*Prauserella* cinsi üyesi MC2114 izolatı test için kullanılan tüm karbon ve azot kaynaklarını kullanmaktadır. Allantoini hidroliz ve nitratı redükte edebilirken arbutin ve üre hidrolizi negatiftir. Nişasta ve Tween 40'ı degrade eden MC2114 izolatı 4-12 pH da, 28-45 °C sıcaklıkta ve % 0-20 tuz konsantrasyonunda gelişim göstermektedir (Çizelge 4.16-4.17).

*Saccharomonospora* cinsi üyesi 19 izolatın *Saccharomonospora paurometabolica* YIM 90007<sup>T</sup> tip türü ile arasında % 99,39-99,86 (2-9 nt) arasında değişiklik gösteren 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliğine rastlanmıştır.

*Saccharomonospora* cinsi üyesi izolatlar ve en yakın tip türü çoğunlukla D-galaktoz ve laktozu kullanabilirken D-fruktoz, D-mannoz, L-sorboz, L-glutamik asit, ksilitol, süksinik asiti kullanamazlar. İzolatların çoğu arbutini hidroliz ve nitratı redükte edebilirken çoğu allantoini ve üreyi hidroliz edemezler. Cins üyelerinin tümü azot kaynaklarından L-arjinini kullanırken, alfa iso-lösin, glisin, L-alanin, L-sistein, L-histidin, L-hidroksiprolin, L-metiyonin, L-fenilalanin, L-prolin, L-serin, L-valini kullanamazlar. Degredasyon testlerinde ise çoğu nişasta, Tween 40'ı degrade

edebilir. Fizyolojik testlere göre cins üyelerinin tümü pH 8'de, 28-37 °C sıcaklıkta ve % 10-15 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlendi (**Çizelge 4.16-4.17**).

Tuz gölü toprak örneğinden ve modifiye Bennett's agardan (% 15 NaCl) izole edilen *Streptomonospora* sp. BN506 izolatu, en yakın akrabaları *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> ile % 98,14 (1451/27 nt farklılık) ve *Streptomonospora arabica* S186<sup>T</sup> ile % 97,89 (1376/29 nt farklılık) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır.

*Streptomonospora* sp. BN506 izolatu **Şekil 4.9**'da dendogramda sırasıyla aralarında % 98,14 (1451/27 nt) ve % 97,89 (1376/29 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunan *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> ve *Streptomonospora arabica* DSM S186<sup>T</sup> ile kümelenmiş olup *Streptomonospora arabica* DSM 45083<sup>T</sup> ve *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> ile DNA-DNA hibridizasyonu yapılmıştır. BN506 izolatının *Streptomonospora arabica* DSM 45083<sup>T</sup> ile % 62,7 ve *Streptomonospora halophila* DSM 45075<sup>T</sup> ile de % 52,8'lik bir DNA-DNA hibridizasyon değeri elde edilmiştir (**Çizelge 4.7**). *Streptomonospora* sp. BN506 izolatu, cinsin karakteristik özelliklerine uygun olarak hücre duvarında mezo-diaminopimelik asit içermekte olup tüm hücre hidrolizatlarında galaktoz, glukoz ve riboz şekerleri yer almaktadır (Cai ve diğ., 2008; Zhang ve diğ., 2013b). Majör yağ asitleri sırasıyla *anteiso* C<sub>17:0</sub> ve *iso* C<sub>16:0</sub>, baskın menakinon tipi MK-10(H<sub>8</sub>) (% 57) olarak belirlenmiştir (**Çizelge 4.12**). *Streptomonospora* sp. BN506 izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipid profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilkolin (PC), fosfolipit (PL), üç adet glikolipitten(GL) oluşmaktadır (**Şekil 4.14**). *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> türünün polar lipid profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilkolin (PC), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilinositolmannositten (PIM) ve bir fosfolipitten oluşurken, *Streptomonospora arabica* S186<sup>T</sup> ise difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilkolin (PC), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilinositolmannositten (PIM), fosfatidilmetiletanolamin (PME), iki glikolipit ve iki fosfolipit içermektedir (Cai ve diğ., 2008; Zhang ve diğ., 2013b). *Streptomonospora* sp. BN506 izolatu ise düz yüzeyi bulunan çubuk şeklinde sporlara sahiptir (**Şekil 4.25**). *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> türünün spor morfolojisinde ise aerial ve substrat miselyumları iyi gelişmiş olup fragment oluşturmazlar, düzden kıvrımlıya kadar değışiklik gösteren spor zincirlerine sahiptir. Aerial miselyumlar üstünde tekli sporlar oval-silindirik şeklinde olup

*Streptomonospora arabica* S186<sup>T</sup> türünde ise fragmentli dallanmış bir substrat meydana gelmiş olup, aerial miselyumlar kırışık yüzeyli çubuk şekilli sporlar oluşturmaktadır (Cai ve diğ., 2008; Zhang ve diğ., 2013b).

*Streptomonospora* cinsi üyesi BN506 izolatu ve tip türlerinin hepsi D-arabinoz, L-arabinoz, D-sellobiyoz, D-fruktoz, D-galaktoz, D-mannoz, D-mannitol, dekstrin, inülin, laktoz, maltoz, sukroz, ksilozu kullanma kabiliyetleri gözlenirken, D-sorbitol, dekstran, L-glutamik asit ksilitolu kullanamazlar. *Streptomonospora* cinsi üyesi BN506 izolatu ve en yakın tip türleri arbutini hidroliz edebilirken çoğu allantoin, üre hidrolizinde ve nitrat indirgemede negatiftir. Cins üyelerinin tümü azot kaynaklarından L-arjinini kullanırken, alfa iso-lösin, glisin, L-alanin, L-sistein, L-metiyonin, L-prolin, L-serin, L-treonin, L-valini kullanamazlar. Degredasyon testlerinde ise hepsi nişastayı degrade edebilmiştir. Fizyolojik testlere göre cins üyelerinin tümü pH 4-8'de, 28-37 °C sıcaklıkta ve % 4-20 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlenmiştir (**Çizelge 4.16-4.17**).

Tuz gölü yakınından alınan bir toprak örneğinden ve Modifiye Bennett's agardan (% 5 NaCl) izole edilen *Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatu, en yakın akrabaları *Streptomyces albiacialis* NRRL B-24327<sup>T</sup> ile % 98,91 (1471/16 nt), *Streptomyces daliensis* YIM 31724<sup>T</sup> ile % 98,37 (1471/24 nt), *Streptomyces sclerotialis* DSM 43032<sup>T</sup> ile % 98,15 (1461/27 nt), *Streptomyces rimosus* subsp. *rimosus* ATCC 10970<sup>T</sup> ile % 98,10 (1471/28 nt), *Streptomyces ramulosus* NRRL B-2714<sup>T</sup> ile % 98,02 (1466/29 nt), *Streptomyces olivaceiscleroticus* DSM 40595<sup>T</sup> ile % 98,02 (1465/29 nt) ve *Streptomyces niger* NBRC 13362<sup>T</sup> ile % 98,02 (1464/29 nt) 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır.

*Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatu **Şekil 4.10**'daki dendogramda aralarında % 98,91 16S rRNA dizi benzerliği bulunan *Streptomyces albiacialis* NRRL B-24327<sup>T</sup> ile birlikte ayrı bir küme oluşturmuştur. BNT558<sup>T</sup> izolatının *Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup> ile % 18,4 gibi çok düşük bir DNA-DNA hibridizasyon değeri elde edilmiştir (**Çizelge 4.7**).

*Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatının hücre duvarında LL-diaminopimelik asit bulunmakta olup tüm hücre hidrolizatlarında riboz, mannoz, fukoz ile az miktarda glukoz ve galaktoz bulunmaktadır (**Çizelge 4.12**). *Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatu ve en yakın akraba tip türleri *Streptomyces albiacialis* DSM 41799<sup>T</sup> ve *Streptomyces ferralitis* DSM 41836<sup>T</sup> ile yapılan yağ asiti analizlerinde majör yağ asiti sırasıyla % 46,52, % 31,15 ve % 23,18 *anteiso* C<sub>15:0</sub> olarak tespit edilmiştir. **Şekil 4.18**'deki

HPLC kromatogramlarına göre BNT558<sup>T</sup> izolatlarının baskın menakinon tipi MK-9(H<sub>6</sub>) (% 54) olarak belirlenmiştir. BNT558<sup>T</sup> izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipit profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI), aminofosfolipit (PN), glikolipitlerden (GL) oluşmaktadır (**Şekil 4.15**). *Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatı zincir şekilde siğıilli yüzeyi olan sporlara sahiptir.

Çamaltı tuzlası birinci havuzu sedimentinden ve SM3 (% 15 NaCl) seçici besiyerinden izole edilen *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatı, en yakın akrabaları *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748<sup>T</sup> ile % 98,43 (1464/23 nt), *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> ile % 98,37 (1472/24 nt), *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> % 97,76 (1472/33 nt), *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* NRRL 2387<sup>T</sup> % 97,54 (1463/36 nt) ve *Streptomyces sporocinerus* NBRC 100766<sup>T</sup> % 97,54 (1463/ 36 nt) 16S rRNA dizi benzerliğı bulunmaktadır. Çamaltı tuzlası birinci havuzdan alınan sediment örneğinden ve SM3 (% 15 NaCl) seçici besiyerinden izole edilen *Streptomyces* sp. SM3513 izolatı, en yakın akrabaları *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748<sup>T</sup> ile % 98,64 (1466/20 nt), *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> ile % 98,03 (1470/29 nt) 16S rRNA dizi benzerliğı bulunmaktadır.

SM3501<sup>T</sup> izolatı **Şekil 4.10**'da dendogramda sırasıyla aralarında % 98,43 (1464/23 nt), % 98,37 (1472/24 nt) ve % 97,76 (1472/33 nt) 16S rRNA dizi benzerliğı bulunan *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748<sup>T</sup>, *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> ve *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> ile dendogramda birlikte yer almaktadır. SM3501<sup>T</sup> izolatının bu tanımlanmış türler ile DNA-DNA homoloji sonuçları sırasıyla % 32,8, % 46,2, % 47,7 olarak elde edilmiştir (**Çizelge 4.7**). Filogenetik dendogramda birlikte kümelenen SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatları arasında % 98,99 (1478/15 nt) 16S rRNA dizi benzerliğı bulunmakta ve % 87,6 DNA-DNA hibridizasyonu göstermelerinden dolayı aynı türün üyeleri olarak değerlendirilmektedir.

*Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup>, *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının hücre duvarında LL-diaminopimelik asit bulunmakta olup *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup>, *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının hücre duvarında glukoz, galaktoz, riboz ve az miktarda mannoz görölmektedir. *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup>, *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının en yakın tip türleri olan *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748<sup>T</sup> ve *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> hücre duvarında LL-

diaminopimelik asit bulundururken *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> ise hem LL-diaminopimelik asit hem de mezo-diaminopimelik asite sahiptir (Lanoot ve diğ., 2002; Hu ve diğ., 2012; Labeda ve diğ., 2014). *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup>, SM3513 izolatlarının majör yağ asitleri ise sırasıyla % 37,27 ve % 34,10 anteiso C<sub>15:0</sub> olarak tespit edilmiştir (**Çizelge 4.12**). *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* KCTC 9758<sup>T</sup> türü % 26,69 iso C<sub>16:0</sub> ve % 26,63 anteiso C<sub>15:0</sub> majör yağ asitlerine sahipken, *Streptomyces qinglanensis* DSM 42035<sup>T</sup> türü % 33,54 iso C<sub>16:0</sub> ve % 17,28 anteiso C<sub>15:0</sub> ve *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> ise sırasıyla % 28,21 anteiso C<sub>15:0</sub> ve % 22,26 iso C<sub>16:0</sub> majör yağ asitlerine sahiptir (**Çizelge 4.9**). **Şekil 4.17**'deki HPLC kromatogramlarına göre SM3501<sup>T</sup> izolatlarının baskın menakinon tipi sırasıyla MK-9(H<sub>8</sub>) (% 51) olarak belirlenmiştir. Ayrıca SM3513 izolatının baskın menakinonu da MK-9(H<sub>8</sub>) (% 46) tipindedir (**Çizelge 4.12**). *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> ve *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının yakın akrabaları olan *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> ve *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> türlerinin her ikisi de MK-9(H<sub>6</sub>) ve MK-9(H<sub>8</sub>) baskın menakinonlarına sahiptir (Hu ve diğ., 2012). SM3501<sup>T</sup> izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipid profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI), atipik aminolipit (AL, atyp) aminolipit (AL), iki glikolipit (GL) olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.16**). Ayrıca SM3513 izolatına ait molibdofosforik asit ile spreyleneş polar lipid profili difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI), atipik aminolipit (AL, atyp), aminolipit (AL), iki glikolipit (GL) olarak belirlenmiştir (**Çizelge 4.12**). *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> ve *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının yakın akrabası olan *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> türünün polar lipid profili fosfatidiletanolamin (PE), aminolipit (AL), fosfolipit (PL) iken, *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> türünün fosfatidiletanolamin (PE), difosfatidilgliserol (DPG), aminolipit (AL), fosfolipitten (PL) oluşmaktadır (Hu ve diğ., 2012). *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatu yüzeyi düz spiral şekilli sporlara sahipken, *Streptomyces* sp. SM3513 izolatu düz yüzeyi bulunan oval zincir şekilli sporlara sahiptir (**Şekil 4.25**). *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> ve *Streptomyces* sp. SM3513 izolatlarının en yakın akraba türleri olan *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748<sup>T</sup> yüzeyi düz spiral şekilli sporlara sahip, *Streptomyces qinglanensis* 172205<sup>T</sup> yüzeyi düz eliptik ya da kısa çubuk şekilli ve *Streptomyces albus* NRRL B-2365<sup>T</sup> ise düz yüzeyli oval

şekilli bir spor morfolojisine sahiptir (Lanoot ve diğ., 2002; Hu ve diğ., 2012; Pridham ve Lyons, 1961).

*Streptomyces* cinsi üyesi izolatlar ve en yakın tip türlerinin hepsi karbon kaynağı olarak D-fruktoz, D-galaktoz, D-mannoz, D-mannitol, dekstrin, laktoz, maltoz, ksilozu kullanabilirken dekstran, L-sorboz ve L-glutamik asiti kullanamamaktadır. *Streptomyces* cinsi üyesi izolatlar ve en yakın akraba türleri arbutini hidroliz edebilirken çoğu üreyi hidroliz ve nitrata redükte edemezler. Cins üyelerinin hepsi L-alanin, L-arjinin azot kaynaklarını, çoğu alfa izölösün, glisin, L-prolin, L-serin, L-treonin, L-valin azot kaynaklarını kullandığı belirlendi. Degredasyon testlerinde ise çoğunun adenin, nişasta, Tween 40 ve Tween 80'i degrade edebildiği gözlenmiştir. Fizyolojik testlere göre cins üyelerinin tümü pH 6-10'da, 28-45 °C sıcaklıkta ve % 0-5 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlendi (**Çizelge 4.14-4.15**).

Tüm izolatların kültürel ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla ISP 2, ISP 3, ISP 4, ISP 5, ISP 6, ISP 7 ve Modifiye Bennett's agar yüzeyine inoküle edilmiştir (**Çizelge 4.18-4.24**). Tüm izolatlar Modifiye Bennett's agarda iyi gelişim gösterirken, izolatların çoğu ISP 6 besiyerinde pek iyi gelişim gösterememiştir.

Bakteriler tarafından sentezlenen antimikrobiyal maddelerin tarama çalışmalarında klasik yaklaşımlar yerine günümüzde alternatif moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Klasik yöntemde, fermentörde kültüre edilen organizma antimikrobiyal aktivite bakımından test edilir. Alternatif metotta ise biyoaktif bileşiklerin sentezini kontrol eden biyosentetik genlerin taraması yapılmaktadır. Modüler PKS-I, PKS-II ve nonribozomal peptid sentetaz (NRPS) gen kümeleri, aktinomisetlerde çok sayıda yapısal olarak birbirinden farklı sekonder metabolitlerin sentezinden sorumlu gen kümeleridir. PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgeleri için özel dizayn edilmiş primerlerle biyosentetik enzimlerin hızlı ve doğru bir şekilde belirlenmesi sağlanacaktır.

Antimikrobiyal aktivite testi sonucunda 20 izolatın en az bir mikroorganizmaya karşı aktivite gösterdiği saptanmıştır (**Çizelge 4.25**). Test izolatların 37 tanesinin NRPS gen bölgesine sahip olduğu ancak bu izolatlardan sadece 20'sinde antimikrobiyal aktivitenin varlığı tespit edilerek her ikisi arasında doğrudan bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır (**Çizelge 4.26**).

Gonzalez ve diğ. (2005), likenlerden izole ettikleri 337 aktinomiset izolatının PKS-I, PKS-II ve NRPS genlerinin varlığını dejenere PZR primerleriyle

araştırmışlardır. İzolatlarının; % 62,6'sında PKS-I, % 64,7'sinde PKS-II ve % 58,5'inde NRPS biyosentetik genlerinin varlığını tespit etmişler. Buna rağmen, izolatların % 27'si antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermiştir.

Yapılan çalışmada 38 izolatın 37'sinde NRPS gen bölgesi, 14'ünde PKS-I gen bölgesi ve sadece 5 izolatta PKS-II gen bölgesi bulunmaktadır. İzolatların 3 tanesinde ise üç gen bölgesi bir arada bulunmaktadır (**Şekil 4.30, Çizelge 4.26**).

BNT52<sup>T</sup>, SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının NRPS, SM3501<sup>T</sup>, SM3513 izolatlarının PKS-I gen bölgeleri klonlanarak sekans analizi gerçekleştirildi. Analiz edilen klonlara göre *Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup> izolatının NRPS genlerinin 2 farklı, *Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının NRPS genlerinin 1'er farklı adenilasyon domaini içerdiği belirlenirken, SM3501<sup>T</sup> ve SM3513 izolatlarının PKS-I genlerinin 1'er farklı ketosentaz domaini içerdiği tespit edildi (**Çizelge 4.27-4.28**).

BLASTx programı kullanılarak elde edilen sonuçlara göre NRPS gen bölgesi içeren BNT52<sup>T</sup> izolatında iki farklı grup Adenilasyon domaini tespit edilmiştir. Buna göre birinci grup olan BNT52-1 Adenilasyon domaini *Streptomyces griseus* XylebKG-1<sup>T</sup> türünün adenilasyon domain proteinine % 75 benzerlik gösterirken, ikinci grup BNT52-2 Adenilasyon domaini *Amycolatopsis mediterranei* U32<sup>T</sup> türüne ait olan ribozomal olmayan peptid sentetaza % 72 benzerlik göstermektedir. SM3501<sup>T</sup> izolatındaki adenilasyon domaini *Streptomyces acidiscabies* türüne ait ribozomal olmayan peptid sentetaza % 64 benzerlik gösterirken, SM3513 izolatının adenilasyon domaini ise *Streptomyces parvus*'a ait ribozomal olmayan peptid sentetaza % 99'lük benzerlik göstermiştir.

PKS-I gen bölgesine sahip olan SM3501<sup>T</sup> izolatının ketosentaz domaini *Streptomyces diastatochromogenes* türüne ait PokM1 proteinine % 43 benzerlik göstermekte olup alınan sonuç bu dizinin yeni bir proteini kodlayan gene ait olabileceğini düşündürmektedir. SM3513 izolatına ait ketosentaz domaini *Streptomyces hygroscopicus*'un Ketosentaz/metil-malonil-CoA transferazına % 100 benzerlik göstermiştir.

Biyosentetik gen kümelerine ait domainlerde % 70'in altında olan BLASTx homolojilerinde, araştırılan amino asit dizisinin yeni bir gene ait olduğu bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (Zhang ve diğ., 2009, Komaki ve diğ., 2009).



## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Türkiye’de Tuz Gölünün (Şereflikoçhisar/Ankara) farklı bölgelerinden alınan toprak ve sediment örnekleri ile Çamaltı Tuzlası (İzmir) ve Şirvan (Siirt) tuzlu toprağından alınan örneklerden % 5 ile % 20,6 arasında değişen oranlarda NaCl ilaveli Humik asit vitamin, Nişasta kazein, SM3, GW3, Modifiye Bennett’s, Marin, Soy-bean meal agar ve Medium B, C, D, E besiyerleri kullanılarak farklı aktinomiset gruplarının izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen toplam 38 izolat kültürü yapıp, saflaştırıldıktan sonra da stoklandı. 38 izolatın 16S rRNA gen bölgesi dizi analiz sonuçlarına göre 11’i *Actinopolyspora* cinsi üyesi, 1 tanesi *Amycolatopsis*, 2’si *Nocardiopsis* cinsi üyesi, 1’i *Prauserella* ve 19’u *Saccharomonospora* cinsi üyesi, 1’i *Streptomonospora* cinsi üyesi, 3 tane izolatında *Streptomyces* cinsi üyesi olduğu tespit edilmiştir.

Polifazik karakterizasyon yaklaşımına göre 16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerine ek olarak tür bazında tanımlama yapmak için DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarının yapılması, fenotipik ve kemotaksonomik analizlerin gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

### 5.1 Sonuçlar

Yapılan çalışmalar sonucunda en yakın filogenetik akrabası ile 47 nükleotit farklılığa (% 96,65) sahip olan BNT52<sup>T</sup> izolatının tüm genotipik, kemotaksonomik ve fenotipik analizleri tamamlanmış ve *Amycolatopsis cihanbeyliensis* ismiyle yayımlanarak literatüre kazandırılmıştır.

D31 izolatı ile en yakın tip türü olan *Actinopolyspora alba* YIM 90480<sup>T</sup> arasında % 98,72 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır. Yapılan DNA-DNA hibridizasyon sonuçlarına göre % 93,9’luk bir değer ortaya çıkmış ve D31 izolatının yeni tür olmadığına karar verilmiştir.

Kendi aralarında % 100 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği gösteren B17, B18, C22, C243 ve D32 *Actinopolyspora* izolatları *Actinopolyspora dayingensis* TRM 4064<sup>T</sup> ile % 99,86 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği

göstermiştir. Dendogramda ise birlikte kümelenmişlerdir. *Actinopolyspora* cinsi üyesi olan diğer 5 izolatlar ile en yakın filogenetik akraba türler arasında 1-14 nt farklılık bulunmaktadır.

Kendi aralarında % 95,79 (1473/62 nt) 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği gösteren *Nocardiopsis* cinsi üyesi BNT50 ve BNT5310 izolatları en yakın akraba türleri olan *Nocardiopsis halophila* KCTC 9825<sup>T</sup> ve *Nocardiopsis dassonvillei* subsp. *dassonvillei* DSM 43111<sup>T</sup> ile aralarında sırasıyla % 99,46 ve % 99,80'lik 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği sergilemektedir.

*Prauserella* sp. MC2114 izolatının en yakın tip türü *Prauserella aidingensis* YIM 90636<sup>T</sup> ile arasında % 99,52'lik bir 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği (1451/7 nt farklılık) bulunmaktadır.

16S rRNA gen bölgesi dizi analizine göre *Saccharomonospora* cinsi üyesi 19 izolatın *Saccharomonospora paurometabolica* YIM 90007<sup>T</sup> tip türü ile aralarında 2-9 nt farklılık tespit edilmiştir.

BN506 izolatı dendogramda sırasıyla aralarında % 98,14 ve % 97,89 16S rRNA dizi benzerliği bulunan *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> ve *Streptomonospora arabica* DSM 45083<sup>T</sup> ile kümelenmiş olup *Streptomonospora arabica* S186<sup>T</sup> ile % 62,7 ve *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> ile de % 52,8'lik bir DNA-DNA hibridizasyon değeri ile bu izolatın tür statüsünde yeni bir takson olduğu belirlenmiştir. *Streptomonospora* sp. BN506 izolatının fenotipik ve kemotaksonomik karakterizasyonu çalışmaları devam etmekte olup yakın bir gelecekte literatüre kazandırılacaktır.

En yakın filogenetik akrabası ile 16 nükleotit farklılığa (% 98,91) sahip olan BNT558<sup>T</sup> izolatı, 23 nükleotit farklılığa (% 98,43) sahip olan SM3501<sup>T</sup> izolatının tüm genotipik, kemotaksonomik ve fenotipik analizleri tamamlanmış olup BNT558<sup>T</sup> izolatı *Streptomyces iconiensis* ve SM3501<sup>T</sup> izolatı da *Streptomyces smyrnaeus* olarak isimlendirilmiş ve *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology* dergisinde literatüre kazandırılmıştır (Tatar ve diğ., 2014).

## 5.2 Öneriler

BN506 izolatı en yakın filogenetik akrabasına 16S rRNA dizi benzerliği bulunan *Streptomonospora halophila* YIM 91355<sup>T</sup> ve *Streptomonospora arabica* DSM 45083<sup>T</sup> ile kümelenmiş olup DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları sonucu izolatın

yeni tür olduğu belirlenmiştir. *Streptomonospora* sp. BN506 izolatının fenotipik ve kemotaksonomik karakterizasyon çalışmaları tamamlanmış olup en kısa zamanda literatüre kazandırılacaktır.

NRPS gen bölgesine sahip olan SM3501<sup>T</sup> izolatındaki adenilasyon domaini *Streptomyces acidiscabies* türünün ribozomal olmayan peptid sentetazına % 64 benzerlik gösterirken PKS-I gen bölgesine sahip olan SM3501<sup>T</sup> izolatının ketosentaz domaini *Streptomyces diastatochromogenes* türüne ait PokM1 proteinine % 45 benzerlik göstermektedir. Bundan sonraki klonlama çalışmalarında yeni tür olan izolatların sahip olduğu farklı NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin tespiti için daha fazla sayıda klon alınarak, dizi analizleri gerçekleştirilecektir. Böylece bu izolatlardaki NRPS, PKS-I ve PKS-II gen bölgelerinin çeşitliliği belirlenmiş olacaktır. Bu gen bölgelerinin aydınlatılması yeni sekonder metabolitlerin keşfi için önemli bir basamak oluşturmaktadır.



## KAYNAKLAR

- Al-Tai A. M., and J.-S. Ruan. 1994. *Nocardiopsis halophila* sp. nov., a new halophilic actinomycete isolated from soil. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 44, 474-478.
- Al-Zarban S. S., Al-Musallam A. A., Abbas I.H., Fasasi Y.A., 2002a. Note worthy salt-loving actinomycetes from Kuwait. *Kuwait J Sci Eng*, 29(1), 99-109
- Al-Zarban S. S., Al-Musallam A. A., Abbas I., Stackebrandt E., Kroppenstedt R. M., 2002b. *Saccharomonospora halophila* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait. *Int J Syst Evol Microbiol*, 52, 555-558.
- Ayuso-Sacido A., and Genilloud O., 2005. New PCR Primers for the Screening of NRPS and PKS-I Systems in Actinomycetes: Detection and Distribution of These Biosynthetic Gene Sequences in Major Taxonomic Groups. *Microbial Ecology*, 49, 10-24, Springer.
- Batanouny K.H., 1979. The desert vegetation in Egypt. *Cairo Univ African Studies Rev*, Special Publ 1:9-37.
- Becker B., Lechevalier M.P., and Lechevalier H.A., 1965. Chemical composition of cell-wall preparations from strain of various form-genera of aerobic actinomycetes. *Applied Microbiol*, 13, 236-243.
- Belitsky B.R., Brill J., Bremer E., Sonenshein A.L., 2001. Multiple genes for the last step of proline biosynthesis in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol*, 183, 4389-4392.
- Bertani G., 1951. Studies on lysogeny. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 62(3), 293-300.
- Beyer S., Kunze B., Silakowski B., Müller R., 1999. Metabolic diversity in myxobacteria: identification of the myxalamid and the stigmatellin biosynthetic gene cluster of *Stigmatella aurantiaca* Sga15 and a combined polyketide-(poly)peptide gene cluster from the epothilone producing strain *Sorangium cellulosum* So ce90. *Biochim Biophys Acta*, 1445, 185-195.
- Bingle L.E., Lazarus C.M., 1999. Ketosynthase domain probes identify two subclasses of fungal polyketide synthase genes. *Fungal Genet Biol*, 26, 209-223.
- Birbir M. ve Sesal C. 2003. *Extremely Halophilic Bacterial Communities in Şereflikoçhisar Salt Lake*, *Turk J. Biol.* 27, 7-22.
- Blunt J.W., Copp B.R., Hu W., Munro M.H.G., Northcote P.T., Prinsep M.R., 2007. Marine natural products. *Nat Prod Rep*, 24, 31-86.
- Blunt J.W., Copp B.R., Hu W., Munro M.H.G., Northcote P.T., Prinsep M.R., 2008. Marine natural products. *Nat Prod Rep*, 25,35-94.
- Bouchotroch S., Quesada E., del Moral A., Llamas I., and Bejar V., 2001. *Halomonas maura* sp. nov., a novel moderately halophilic, exopolysaccharide-producing bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 51, 1625-1632.

- Bredholdt H., Galatenko O. A., Engelhardt K., Fjærvik E., Terekhova L. P., Zotchev S. B., 2007. Rare actinomycete bacteria from the shallow water sediments of the trodheim fjord, norway: Isolation, diversity and biological activity. *Environ. Microbiol*, 9, 2756-2764. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01387.x>.
- Brosius J., Palmer M.L., Kennedy P.J., and Noller H.F., 1978. Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75, 4801-4805.
- Cai M., Zhi X.-Y., Tang S.-K., Zhang Y.-Q., Xu L.-H. & Li W.-J., 2008. *Streptomonospora halophila* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a hypersaline soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 1556-1560.
- Camas M., Sahin N., Sazak A., Spröer C., Klenk H. P., 2013. *Amycolatopsis magusensis* sp. nov., isolated from Northern Cyprus soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, 63, 1254-1260.
- Cashion P., Holder-Franklin M. A., McCully J. and Franklin M., 1977. A rapid method for the base ratio determination of bacterial DNA. *Anal Biochem*, 81, 461-466.
- Chen H., ve Jiang J.G., 2009. Osmotic responses of *Dunaliella* to the changes of salinity. *J Cell Physiol.*, 219, 251-258.
- Chen Q., Liu Z., Peng Q., Huang K., He J., Zhang L., Li W. & Chen Y. (2010). [Diversity of halophilic and halotolerant bacteria isolated from non-saline soil collected from Xiaoxi National Natural Reserve, Hunan Province]. *Wei Sheng Wu Xue Bao* 50, 1452-1459 (in Chinese).
- Cheng Y.Q., Tang G.L., Shen B., 2002. Identification and localization of the gene cluster encoding biosynthesis of the antitumor macrolactam leinamycin in *Streptomyces atroolivaceus* S-140. *J. Bacteriol*, 184, 7013-7024.
- Choi D. H., Kim H. M., Noh J.-H., Cho B. C., 2007. *Nocardioides marinus* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57, 775-779.
- Christiansen G., Dittmann E., Ordorika L.V., Rippka R., Herdman M., Börner T., 2001. Nonribosomal peptide synthase genes occur in most cyanobacterial genera as evidenced by their distribution in axenic strains of the PCC. *Arch Microbiol*. 176, 452-458.
- Chun J., 1995. *Computer Assisted Classification and Identification of Actinomycetes*. PhD thesis. Department of Microbiology, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK.
- Chun J., Bae K. S., Moon E. Y., Jung S. O., Lee H. K., and Kim S. J., 2000. *Nocardiopsis kunsanensis* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete isolated from a saltern. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 50, 1909-1913.
- Collins M.D., Pirouz T., Goodfellow M., Minnikin D.E., 1977. Distribution of menaquinones in actinomycetes and corynebacteria. *J Gen Microbiol*, 100, 221-230.
- Collins M.D., Ross H.N.M., Tindall B.J., and Grant W.D., 1981. Distribution of isoprenoid quinones in halophilic bacteria. *J. Appl. Bacteriol*, 50, 559-565.

- Cowan S.T., and Steel K.J., 1974. *Manual for Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press, London.
- Cui X.L., Mao P.H., Zeng M., Li W.J, Zhang L.P., Xu L.H., Jiang C.L., 2001. *Streptimonospora salina* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Nocardiopsaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 51, 357-363.
- Cuadros-Orellana S., Derb M. P., Durranta L. R., 2006. Isolation and characterization of halophilic archaea able to grow in aromatic compounds *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57, 151-154.
- De Ley J., Cattoir H., Reynaerts A., 1970. The quantitative measurement of DNA hybridization from renaturation rates. *Eur J Biochem*, 12, 133-142.
- De Lima Procopio R.E., da Silva I.R., Martins M.K., de Azevedo J.L., de Araujo J.M., 2012. Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz J Infect Dis*, 16(5), 466-71.
- Ding L., Hirose T., Yokota A., 2007. *Amycolatopsis echigonensis* sp. nov. and *Amycolatopsis niigatensis* sp. nov., novel actinomycetes isolated from filtration substrate. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57, 1747-1751.
- Evtushenko L. I., Taran V. V., Akimov V. N., Kroppenstedt R. M., Tiedje J. M., and Stackebrandt E., 2000. *Nocardiopsis tropica* sp. nov., nov. rev., *Nocardiopsis trehalosi* sp. nov., nom. rev. and *Nocardiopsis dassonvillei* subsp. *albirubida* subsp. nov., comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 50, 73-81.
- Felsenstein J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J Mol Evol*, 17, 368-376.
- Felsenstein J., 1985. Confidence limits on phylogeny: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783-791.
- Galinski E. A., 1986. Osmoadaptation in bacteria. *Adv Microb Physiol*, 37, 273-328.
- Garcia M.T., Ventosa A., Mellado E., 2005. Catabolic versatility of aromatic compound-degrading halophilic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 54, 97-109.
- Gochnauer M. B., Leppard G. G., Komaratat P., Kates M., Novitsky T., Kushner D. J., 1975. Isolation and characterization of *Actinopolyspora halophila*, gen. et sp. nov., an extremely halophilic actinomycete. *Can J Microbiol*, 21, 1500-1511.
- Gokhale R.,S., and Tuteja D., 2001. Biochemistry of polyketide synthases. *Biotechnology*, 10, 341-372.
- Gonzalez I., Ayuso-Sacido A., Anderson A., Genilloud O., 2005. Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. *FEMS Microbiology Ecology*, 54, 401-415.
- Goodfellow M., 1971. Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *J Gen Microbiol*, 69, 33-80.
- Gottlieb D., 1973. General considerations and implications of the actinomycetes. In: Sakes G, Skinner FA (eds) *Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance*. Academic Press, New York, pp 1-10.
- Graf R., Anzali S., Büniger J., Pflücker F., and Driller H., 2008. The multifunctional role of ectoine as a natural cell protectant. *Clinics Dermatol*, 26, 326-333.

- Greiner-Mai E., Korn-Wendisch F., Kutzner H. J., 1988. Taxonomic revision of the genus *Saccharomonospora* and description of *Saccharomonospora glauca* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 38, 398-405.
- Groth I., Tan G. Y. A., Gonzales J. M., Laiz L., Carlsohn M. R., Schütze B., Wink J., Goodfellow M., 2007. *Amycolatopsis nigrescens* sp. nov., an actinomycete isolated from a Roman catacomb. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57, 513-519.
- Grund E., and Kroppenstedt R. M., 1990. Chemotaxonomy and numerical taxonomy of the genus *Nocardiopsis* Meyer 1976. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 40, 5-11.
- Guan T.W., Liu Y., Zhao K., Xia Z.F., Zhang X.P., and Zhang L.L., 2010. *Actinopolyspora xinjiangensis* sp. nov., a novel extremely halophilic actinomycete isolated from a salt lake in Xinjiang, China. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 98, 447-453.
- Guan T.W., Zhao H.P., Che Z.M., Zhang X.P., Zhang L.L., 2013. *Actinopolyspora dayingensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a hypersaline lake. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 104(5), 787-92.
- Guan T.W., Wei B., Zhang Y., Xia Z.F., Che Z.M., Chen X.G., Zhang L.L., 2013. *Actinopolyspora lacussalsi* sp. nov., an extremely halophilic actinomycete isolated from a salt lake. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63(8), 3009-13.
- Gunde-Cimerman N., Zalar P., de Hoog S., Plemenitaš A., 2000. Hypersaline waters in salterns – natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiol Ecol*, 32, 235-240.
- Gunde-Cimerman N., and Zalar P., 2014. Fungi in Solar Salterns, *Food Technol. Biotechnol.* 52 (2) 170–179.
- Güven K., Demirci A., Mutlu M. B., Korcan S. E., 2010. Phenotypic Characterization of Halophilic Bacteria Isolated From Çamaltı Saltern in Turkey. *BiyoTehnoloji Elektronik Dergisi*, 1(2) 11-21.
- Hamed J., Mohammadipanah F., Ventosa A., 2013. Systematic and biotechnological aspects of halophilic and halotolerant actinomycetes. *Extremophiles*, 17, 1-13.10.1007/s00792-012-0493-5.
- Hasegawa S., Meguro A., Shimizu M., Nishimura T., Kunoh H., 2006. Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. *Actinomycetologia*, 20, 72-81.
- Hawkey P.H., McCormick A., and Simpson R.A., 1986. Selective and differential medium for the primary isolation of members of the proteae. *J. Clin. Microbiol.* 23, 600-603.
- Hayakawa M., Nonomura H., 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *J Ferment Technol*, 65, 501-509.
- Hertweck C., 2009. The Biosynthetic Logic of Polyketide Diversity. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, 48, 4688-4716.
- Hozzein W. N.. and Goodfellow M., 2008. *Nocardiopsis arabia* sp. nov., a halotolerant actinomycete isolated from a sand-dune soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, 58, 2520-2524.
- Hu R., 1987. *Saccharomonospora azurea* sp. nov., a new species from soil. *Int J Syst Bacteriol*, 37, 60-61.

- Hu R., Lin C., and Wei G., 1988. *Saccharomonospora cyanea* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 38, 444-446.
- Hu H, Lin H, Xie Q, Li L, Xie X, Hong K., 2012. *Streptomyces qinglanensis* sp. nov., isolated from mangrove sediment. *Int J Syst Evol Microbiol* 62(3):596–600
- Huang S.X., Zhao L. X., Tang S. K., Jiang C.L., Duan Y., Shen B., 2009. Erythronolides H and I, new erythromycin congeners from a new halophilic actinomycete *Actinopolyspora* sp. YIM 90600. *Org Lett* 11(6), 1353-1356.
- Horwood P.F., Burgess G.W., Oakey H.J., 2004. Evidence for nonribosomal peptide synthetase production of cereulide (the emetic toxin) in *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol Lett*, 236, 319-324.
- Ihara K., Watanabe S., Tamura T., 1997. *Haloarcula argentinensis* sp. nov. and *Haloarcula mukohataei* sp. nov., two new extremely halophilic archaea collected in Argentina. *Int J Syst Bacteriol*, 47, 73-77.
- Imhoff J.F., Rodriguez-Valera F., 1984. Betaine is the main compatible solute of halophilic eubacteria. *J Bacteriol*, 160, 478-479.
- Jin X., Xu L. H., Mao P. H., Hseu T. H., and Jiang C. L., 1998. Description of *Saccharomonospora xinjiangensis* sp. nov. based on chemical and molecular classification. *Int J Syst Bacteriol*, 48, 1095-1099.
- Jones K. L., 1949. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelia is a fluctuating characteristic. *Journal of Bacteriology*, 57, 141-145.
- Jukes T. H., and Cantor C. R., 1969. Evolution of protein molecules. In *Mammalian Protein Metabolism*, pp. 21-132. Edited by H. N. Munro. *Academic Press*, New York.
- Kallı N. 2000. Tuz Gölü'nden İzole Edilen Aşırı Halofilik Bakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyonlarının Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kaurichev I. S., 1980. *Practicas de Edafologia*. Moscow: Mir Publishers.
- Kämpfer P., 2006. The Family *Streptomycetaceae*, Part I: Taxonomy, *Prokaryotes*, 3,538-604.
- Kılıç A.M., 2003. "Tuz Gölü'nde Ortaya Çıkan Kirlenme Ve Kimyasal Açından Göl Suyunun İncelenmesi". V. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, Bildiriler Kitabı.
- Kılıç A.M., Uyanık E., 2001. "Tuz Gölü'nde Oluşan Kirlenmenin Göl Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması", Tuz Gölü'nde Oluşan Kirlenmenin Göl Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması, 4.Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu Bildiriler Kitabı, İzmir, S135-145.
- Kim S. B., Goodfellow M., 1999. Reclassification of *Amycolatopsis rugosa* Lechevalier *et al.* 1986 as *Prauserella rugosa* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 49, 507-512.
- Kim O.S., Cho Y.J., Lee K., Yoon S.H., Kim M., Na H., Park S.C., Jeon Y.S., Lee J.H., Yi H., Won S., Chun J., 2012. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 62, 716-721.

- Kleinstaub S., Riis V., Fetzer I., Harms H., Müller S., 2006. Population dynamics within a microbial consortium during growth on diesel fuel in saline environments. *Appl Environ Microbiol*, 72, 3531-3542.
- Koday S., 1999. "Tuz Gölü Tuzlaları", *Marmara Coğrafya Dergisi*, 2, 128-149.
- Komaki H., Izumikawa M., Ueda J., Nakashima T., Khan S. T., Takagi M., 2009. Discovery of pimaricin analog JBIR-13, from *Streptomyces bicolor* NBRC 12746 as predicted by sequence analysis of type I polyketide synthase gene. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 83, 127-133.
- Korn-Wendisch F., and Kutzner H.J., 1992. The family *Streptomycetaceae*. In *The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*, pp. 921-995. Edited by Balows, A.; Trüper, H. G.; Dworkin, M.; Harder, W. & Schleifer, K.-H., 2nd ed., vol. 1. Springer-Verlag, New York.
- Kroken S., Glass N. L., Taylor J. W., Yoder O. C., and Turgeon B. G., 2003. Phylogenomic analysis of type I polyketide synthase genes in pathogenic and saprobic ascomycetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 15670-15675.
- Kroppenstedt R. M., 1987. Chemische Untersuchungen an Actinomycetales und verwandten Taxa, Korrelation von Chemosystematik und Phylogenie [Habilitationsschrift]. Technische Hochschule Darmstadt. Darmstadt, Germany.
- Kuhlmann A.U., Bremer E., 2002. Osmotically regulated synthesis of the compatible solute ectoine in *Bacillus pasteurii* and related *Bacillus* spp. *Appl Environ Microbiol.* 68, 772-783.
- Kushner D. J., 1985. The *Halobacteriaceae*. C. R. Woese and R. S. Wolfe. The bacteria. A treatise on structure and function. Vol. VIII. Archaeobacteria. *Academic Press*, Orlando, FL. 171-214.
- Kutzner H. J., 1981. The family *Streptomycetaceae*. In: *The Prokaryotes: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*, vol. 2, pp. 2028-2090. Edited by M. P. Starr, H. Stolp, H. G. Trüper, A. Balows, & H. G. Schlegel. Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Kuznetsov V. D., Zajtseva T. A., Vakulenko L.V., Flippova S.N., 1992. *Streptomyces albiacialis* sp. nov.-a new oil hydrocarbon degrading species of thermo- and halotolerant streptomyces. *Mikrobiologiya*, 61(1), 84-91.
- Küster E., and Williams S.T., 1964. Selection of media for isolation of streptomyces. *Nature*, 202, 928-929.
- Labeda D.P., Doroghazi J.R., Ju K.-S., Metcalf W.W. 2014. Taxonomic evaluation of *Streptomyces albus* and related species using multilocus sequence analysis and proposals to emend the description of *Streptomyces albus* and describe *Streptomyces pathocidini* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 64(3):894-900.
- Lane D.J., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Stackebrandt, E., and Goodfellow, M., eds., John Wiley and Sons, New York, NY, pp. 115-175.
- Lanoot B., M. Vancanneyt I. Cleenwerck L. Wang W. Li Z. Liu and J. Swings. 2002. The search for synonyms among streptomyces by using SDS-PAGE of whole-cell proteins. Emendation of the species *Streptomyces aurantiacus*, *Streptomyces*

- cacaoi* subsp. *cacaoi*, *Streptomyces caeruleus*, and *Streptomyces violaceus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:823–829.
- Lanyi J.K., 1974. Salt dependent properties of proteins from extremely halophilic bacteria. *Bacteriol Rev*, 38, 272-290.
- Lechevalier M. P., and Lechevalier H. A., 1970. Composition of whole-cell hydrolysates as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *In*: H. Prauser (Ed.) *The Actinomycetales*. VEB-Fischer. Jena, Germany. 311-316.
- Lechevalier M.P., Prauser H., Labeda D.P., and Ruan J.S., 1986. Two new genera of nocardioform actinomycetes – *Amycolata* gen. nov. and *Amycolatopsis* gen. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36, 29-37.
- Li M. G., Li W. J., Xu P., Cui X. L., Xu L. H., Jiang C. L., 2003a. *Nocardiopsis xinjiangensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a saline soil sample in China. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53, 317-321.
- Li W. J., Xu P., Tang S. K., Xu L. H., Kroppenstedt R. M., Stackebrandt E., and Jiang C. L., 2003b. *Prauserella halophila* sp. nov. and *Prauserella alba* sp. nov., moderately halophilic actinomycetes from saline soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53, 1545-1549.
- Li W. J., Tang S. K., Stackebrandt E., Kroppenstedt R. M., Schumann P., Xu L. H., and Jiang C. L., 2003c. *Saccharomonospora paurometabolica* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete isolated from soil in China. *Int J Syst Evol Microbiol* 53, 1591-1594.
- Li W.J., Xu P., Zhang L.P., Tang S.K., Cui X.L., Mao P.H., Xu L.H., Schumann P., Stackebrandt E. and Jiang C.L., 2003d. *Streptomonospora alba* sp. nov., a novel halophilic actinomycete, and emended description of the genus *Streptomonospora* Cui et al. 2001. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 1421-1425.
- Li W. J., Park D. J., Tang S. K., Wang D., Li J. C., Lee J. C., Xu L. H., Kim C. J., Jiang C. L., 2004. *Nocardiopsis salina* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from saline soil in China. *Int J Syst Evol Microbiol*, 54, 1805-1809.
- Li W. J., Kroppenstedt R. M., Wang D., Tang S. K., Lee J. C., Park D. J., Kim C. J., Xu L. H., Jiang C. L., 2006. Five novel species of the genus *Nocardiopsis* isolated from hypersaline soils and emended description of *Nocardiopsis salina* Li et al. 2004. *Int J Syst Evol Microbiol*, 56, 1089-1096.
- Li Y., Tang S.K., Chen Y.G., Wu J.Y., Zhi X.Y., Zhang Y.Q., Li W.J., 2009. *Prauserella salsuginis* sp. nov., *Prauserella flava* sp. nov., *Prauserella aidingensis* sp. nov. and *Prauserella sediminis* sp. nov., isolated from a salt lake. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59(12), 2923-8.
- Liu Z., Li Y., Zheng L. Q., Huang Y. J., Li W. J., 2010. *Saccharomonospora marina* sp. nov., isolated from an ocean sediment of the East China Sea. *Int J Syst Evol Microbiol*, 60, 1854-1857.
- Ludwig W., and Klenk H.-P., 2001. Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. *In* *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn, pp. 49±65. Edited by D. R. Boone, R. W. Castenholz & G. M. Garrity. New York: Springer.
- Madigan M.T., Martinko J.M., 2006. *Brock Biology of Microorganisms*. 11th edition. Upper Saddle River: Pearson/Prentice Hall .

- Mascellani N., Liu X., Rossi S., Marchesini J., Valentini D., Arcelli D., Taccioli C., Citterich M. H., Liu C.-G., Evangelisti R., Russo G., Santos J. M., Croce C. M., Volinia S., 2007. Compatible solutes from hyperthermophiles improve the quality of DNA microarrays. *BMC Biotechnol*, 7, 82.
- Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.P., Sabaou N., 2012. *Actinopolyspora algeriensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. *Extremophiles*, 16, 771-776.
- Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H. P., Sabaou N., 2013. *Actinopolyspora saharensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil of Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 103, 771-776.
- Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.P., Sabaou N., 2013. *Actinopolyspora mzabensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil of Algeria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 63, 3787-3792.
- Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.P., Sabaou N., 2013. *Actinopolyspora righensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Saharan soil in Algeria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 104(3), 301-7.
- Metsä-Ketelä M., Salo V., Halo L., Hautala A., Hakala J., Mäntsälä P., and Ylihonko K., 1999. An efficient approach for screening minimal PKS genes from *Streptomyces*. *FEMS Microbiol, Lett.* 180, 1-6.
- Meyer J., 1976. *Nocardiopsis* a new genus of the order actinomycetales. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 26, 487-493.
- Mikkat S., Galinski E.A., Berg G., Minkwitz A., Schoor A., 2000. Salt adaptation in pseudomonads: characterization of glucosylglycerolsynthesizing isolates from brackish coastal waters and the rhizosphere. *System Appl Microbiol*, 23(1), 31-40.
- Minnikin D. E., Alshamaony L., ve Goodfellow M., 1975. Differentiation of *Mycobacterium*, *Nocardia*, and related taxa by thin-layer chromatographic analysis of whole-organism methanolsates. *J. Gen. Microbiol*, 88, 200-204.
- Minnikin D. E., O'Donnell A. G., Goodfellow M., Alderson G., Athalye M., Schaal K., Parlett J. H., 1984. An integrated procedure for the extraction of bacterial isoprenoid quinones and polar lipids. *J Microbiol Methods*, 2, 233-241.
- Mordarska H., Mordarski M., and Goodfellow M., 1972. Chemotaxonomic characteristics and classification of some nocardioform bacteria. *J. Gen. Microbiol*, 73, 77-86.
- Mutlu M. B., 2006. Tuz Gölü Bakterilerinin Karakterizasyonu Ve Mevsimsel Dağılımı. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Nash P., and Krent M. M., 1991. Culture media. In *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Edition, pp: 1268, 1270, Edited by A. Balows, W. J. Hausser, K. L. Herrmann, H. D. Isenberg & H. J. Shadomy. *American Society for Microbiology*, Washington DC.

- Nakayama H., Yoshida K., Ono H., Murooka Y., Shinmyo A., 2000. Ectoine, the compatible solute of *Halomonas elongata*, confers hyperosmotic tolerance in cultured tobacco cells. *Plant Physiol*, 122, 1239-1247.
- Naumova I.B., Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Streshinskaya G.M., Kozlova Y.I., Potekhina N.V., Evtushenko L.I., Stackebrandt E., 2001. Cell wall teichoic acids: structural diversity, species specificity in the genus *Nocardiopsis*, and chemotaxonomic perspective *FEMS Microbiol. Rev*, 25 (3), 269-284.
- Nett M., Ikeda H., and Moore B. S., 2009. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes. *Nat Prod Rep*, 26, 1362-84.
- Nicholson T.P., Dawson M., Lazarus C.M., Simpson T.J., Cox R.J., 2001. Design and utility of oligonucleotide gene probes for fungal polyketide synthases. *Chem Biol*, 8, 157-178.
- Nicholson C. A., Fathepure B. Z., 2004. Biodegradation of Benzene by Halophilic and Halotolerant Bacteria under Aerobic Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (2), 1222-1225.
- Nonomura H., and Ohara Y., 1971. Distribution of actinomycetes in soil. X. New genus and species of monosporic actinomycetes in soil. *J Ferment Technol*, 49, 895-903.
- Ollivier B., Caumette P., Garcia J.-L., Mali R.A., 1994. Anaerobic bacteria from hypersaline environments. *Microbiol. Rev*, 58, 27-38.
- Oren A., 1986. Intracellular salt concentrations of the anaerobic halophilic eubacteria *Haloanaerobium praevalens* and *Halobacteroides halobius*. *Can J Microbiol*, 32, 4-9.
- Oren A., 1999. Life at high salt concentrations, In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H. and Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes, A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*. 3rd. ed. Springer-Verlag, New York (electronic publication).
- Oren A., and Litchfield C. D., 1999. A procedure for the enrichment and isolation of Halobacterium, *FEMS Microbiology Letters*, 173, 353-358.
- Oren A., 2002a. *Halophilic Microorganisms and their Environments*. Dordrecht: Kluwer Scientific Publishers;
- Oren A., 2002b. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 28, 56-63.
- Oren A., 2005. A hundred years of *Dunaliella* research – 1905–2005. *Saline Systems*, 1, 2.
- Oren A., 2006a. Life at high salt concentrations. In *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology and Biochemistry Volume 2*. Edited by: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E. New York: Springer; 263-282.
- Oren A., 2006b. The order *Haloanaerobiales*. In *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria Volume 4*. 3rd edition. Edited by: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E. New York: Springer; 804-817.
- Oren A., 2008. Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Systems*, 4, 2.

- Oren A., Ventosa A., 1996. A proposal for the transfer of *Halorubrobacterium distributum* and *Halorubrobacterium coriense* to the genus *Halorubrum* as *Halorubrum distributum* comb. nov. and *Halorubrum coriense* comb. nov., respectively. *Int J Syst Bacteriol*, 46, 1180.
- Osbourn A., 2010. Trends in Genetics. Vol. 26 No.10. 449-457.
- URL-1: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WP\\_007023417.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WP_007023417.1)(Ziyaret tarihi: 10 Temmuz 2014).
- URL-2: [http://www.internethaber.com/news\\_detail.php?id=95954](http://www.internethaber.com/news_detail.php?id=95954) (Ziyaret tarihi: 10 Ocak 2014).
- URL-3:<http://www.subilgi.com/haberdetaygoster.asp?id=4535&b=tuz-golu-petrol-araniyor> &y = (Ziyaret tarihi: 10 Ocak 2014).
- URL-4: <http://www.milliyet.com.tr/camalti-tuzlasi-icin-dev-rekabet/eg/haberdetay/08.12.2009/1170948/default.htm> (Ziyaret tarihi: 10 Ocak 2014).
- URL-5: <http://www.turkiyetuz.com/deniz/deniz.asp> (Ziyaret tarihi: 10 Ocak 2014).
- URL-6: <http://www.bacterio.net/amycolatopsis.html> (Ziyaret tarihi: 12 Ocak 2014).
- URL-7: <http://www.bacterio.net/nocardiosis.html> (Ziyaret tarihi: 12 Ocak 2014).
- URL-8: <http://www.bacterio.net/prausserella.html> (Ziyaret tarihi: 12 Ocak 2014).
- URL-9:<http://www.bacterio.net/streptomonospora.html> (Ziyaret tarihi: 12 Ocak 2014).
- URL-10:<http://www.bacterio.net/streptomyces.html> (Ziyaret tarihi: 12 Ocak 2014).
- URL-11: <http://www.scripps.edu/shen/research2.html> (Ziyaret tarihi: 12 Ocak 2014).
- URL-12: [http://www.rasmusfrandsen.dk/polyketide\\_synthases.htm](http://www.rasmusfrandsen.dk/polyketide_synthases.htm) (16 Ocak 2014).
- URL-13: <http://eztaxon-e.ezbiocloud.net> (Ziyaret tarihi: 10 Haziran 2014).
- URL-14: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> (Ziyaret tarihi: 10 Haziran 2014).
- Pan E., Jamison M., Yousufuddin M., MacMillan J.B., 2012. Ammosamide D, an oxidatively ring opened ammosamide analog from a marine-derived *Streptomyces variabilis*. *Org Lett*, 14(9), 2390-2393.
- Pitcher D. G., Saunders N. A., and Owen R. J., 1989. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate, *Lett. Appl. Microbiol*, 8, 151-156.
- Pocard J.A., Smith L.T., Smith G.M., Le Rudulier D., 1994. A prominent role for glucosylglycerol in the adaptation of *Pseudomonas mendocina* SKB70 to osmotic stress. *J Bacteriol*, 176, 6877-6884.
- Prakash O., Verma M., Sharma P., Kumar M., Kumari K., Singh A., Kumari H., Jit S., Gupta S. K., and other authors., 2007. Polyphasic approach of bacterial classification – an overview of recent advances. *Indian J Microbiol*, 47, 98-108.
- Pridham T. G., and Gottlieb D., 1948. The utilization of carbon compounds by some *Actinomycetales* as an aid for species determination. *J. Bacteriol.*, 56, 107-114.
- Pridham T. G., Hesseltine C. W., Benedict R. G., 1958. A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups; placement of strains in morphological sections. *Appl Microbiol*, 6, 52-79.

- Pridham T.G & Lyons J, R., 1961. *Streptomyces albus* (Rossi Doria) Waksman et Henrici: taxonomic study of strains labelled *Streptomyces albus*. *J. Bacteriol.* 81: 431-441
- Quesada E., Ventosa A., Rodriguez-Valera F., Ramos-Cormenzana A., 1982. Types and properties of some bacteria isolated from hypersaline soils. *J Appl Bacteriol.* 53, 155-161.
- Ray L., Suar M., Pattnaik A.K., Raina V., 2013. *Streptomyces chilikensis* sp. nov., a halophilic streptomycete isolated from brackish water sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63(8), 2757-64.
- Roberts M.F., 2005. Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. *Saline Syst*, 1,5.
- Roberts M.F., 2006. Characterization of organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. In: Rainey FA, Oren A, editor. *Methods in Microbiology, Extremophiles*, Vol. 35. Amsterdam: Elsevier-Academic Press; pp. 615-647.
- Rodriguez-Valera F., 1988. Characteristics and microbial ecology of hypersaline environments. In *Halophilic Bacteria*, vol. 1, pp. 3-30. Edited by F. Rodriguez-Valera. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Saitou N., and Nei M., 1987. The neighbour-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees. *Molecular and Biological Evolution*, 4, 406-425.
- Saum S. H., Müller V., 2007. Salinity-dependent switching of osmolyte strategies in a moderately halophilic bacterium: glutamate induces proline biosynthesis in *Halobacillus halophilus*. *J Bacteriol*, 189, 6968-6975.
- Sausser M., Lu P., Sangari R., Kennedy S., Polishook J., Bills G., An Z., 2002. Estimating polyketide metabolic potential among nonsporulating fungal endophytes of *Vaccinium macrocarpon*. *Mycol Res*, 106, 460-470.
- Schäfer J., Martin K., and Kämpfer P., 2010. *Prauserella muralis* sp. nov., from the indoor environment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 287-290.
- Schnoor M., Voß P., Cullen P., Böcking T., Galla H. J., Galinski E. A., Lorkowski S., 2004. Characterization of the synthetic compatible solute homoectoine as a potent PCR enhancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 322, 867-872.
- Schwarzer D., Finking R., Marahiel M.A., 2003. Nonribosomal peptides: from genes to products. *Nat. Prod. Rep.*, 20, 275-287.
- Seong C. N., Choi J. H., Baikm K.-S., 2001. An improved selective isolation of rare actinomycetes from forest soil. *J. Microbiol.* 39, 17-23.
- Shirling E. B., and Gottlieb D., 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16, 313-340.
- Stackebrandt E., Rainey F. A., and Ward-Rainey N. L., 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 479-491.
- Staneck J.L., and Roberts G.D., 1974. Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Applied Microbiology*, 28, 122-131.

- Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G.M., Grimont P.A.D., and 9 others., 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *Int J Syst Evol Microbiol*, 52,1043-1047.
- Syed D. G., Tang S. K., Cai M., Zhi X. Y., Agasar D., Lee J. C., Kim C. J., Jiang C. L., Xu L. H., Li W. J., 2008. *Saccharomonospora saliphila* sp. nov., a halophilic actinomycete from an Indian soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, 58, 570-573.
- Takashina T., Hamamoto T., Otozai K., Grant W.D., Horikoshi K., 1990. *Haloarcula japonica* sp.nov., a new triangular halophilic archaeobacterium. *Syst Appl Microbiol*, 13, 177-181.
- Tamaoka J., Katayama-Fujimura Y., Kuraishi H., 1983. Analysis of bacterial menaquinone mixtures by high performance liquid chromatography. *J Appl Bacteriol*, 54, 31-36.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Bio Evol*, 28, 2731-2739.
- Tan G.Y.A., Ward A.C., Goodfellow M., 2006. Exploration of *Amycolatopsis* diversity in soil using genus-specific primers and novel selective media. *Syst. Appl. Microbiol.*, 29, 557-569.
- Tang S.K., Wang Y., Guan T.W., Lee J.C., Kim C.J., Li W.J., 2010. *Amycolatopsis halophila* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a salt lake. *Int J Syst Evol Microbiol*, 60, 1073-1078.
- Tang S.K., Wang Y., Klenk H.P., Shi R., Lou K., Zhang Y.J., Chen C., Ruan J.S., Li W.J., 2011. *Actinopolyspora alba* sp. nov. and *Actinopolyspora erythraea* sp. nov., isolated from a salt field, and reclassification of *Actinopolyspora iraqiensis* Ruan *et al.* 1994 as a heterotypic synonym of *Saccharomonospora halophila*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61, 1693-1698.
- Tatar D., Sazak A., Guven K., Sahin N., 2013. *Amycolatopsis cihanbeyliensis* sp. nov., a halotolerant actinomycete isolated from a salt mine. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 3739-3743.
- Tatar D., Guven K., Spröer C., Klenk H-P and Sahin N., 2014. *Streptomyces iconiensis* sp. nov. and *Streptomyces smyrnaeus* sp. nov., two halotolerant actinomycetes isolated from Tuz (Salt) Lake and Camalti Saltern in Turkey. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Published ahead of print June 18, DOI: 10.1099/ijs.0.062216-0.
- Tıraş M., 2007. Çamaltı tuzlası. *Doğu Coğrafya Dergisi*, 12 (18), Temmuz, 291-300. ss.
- Tian S.-Z., Pu X., Luo G., et al., 2013. Isolation and characterization of new *p*-terphenyls with antifungal, antibacterial, and antioxidant activities from halophilic actinomycete *Nocardiopsis gilva* YIM 90087. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(12), 3006-3012.
- Topal Sarıkaya A., 2008. DNA'nın İzolasyonu ve Analizi, In: *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. Edited by G. Temizkan, N., Arda, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

- Tresner H.D., Hayes J.S., Backus E.J., 1968. Differential tolerance of streptomycetes to sodium chloride as a taxonomic tool. *Appl Microbiol*, 16, 1134-1136.
- Vandamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Kersters K., and Swings J., 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev*, 60, 407-438.
- Vasavada S.H., Thumar J.T., Singh S.P., 2006. Secretion of a potent antibiotic by salt-tolerant and alkaliphilic actinomycete *Streptomyces sannanensis* strain RJT-1. *Curr Sci*, 91,1393-1397.
- Ventosa A., Ramos-Cormenzana A., Kocur M., 1983. Moderately halophilic gram-positive cocci from hypersaline environments. *Syst Appl Microbiol*, 4, 564-570.
- Ventosa A., Nieto J.J., Oren A., 1998. Biology of aerobic moderately halophilic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 62, 504-544.
- Ventosa A., Gutierrez M.C., Kamekura M., Dyall-Smith M.L., 1999. Proposal to transfer *Halococcus turkmenicus*, *Halobacterium trapanicum* JCM 9743 and strain GSL-11 to *Haloterrigena turkmenica* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 49, 131-136.
- Ventosa A., Mellado E., Sanchez-Porro C., Marquez M.C., 2008. Halophilic and halotolerant microorganism from soils. In: Dion, P, Nautiyal, C.S (eds) *Microbiology of extreme soils. Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg, pp. 87-115.
- Veyisoglu A., Sazak A., Cetin D., Guven K., Sahin N., 2013. *Saccharomonospora amisosensis* sp. nov., isolated from deep marine sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 63 (10), 3782-6.
- Von Dohren H., Dieckmann R., Pavela-Vrancic M., 1999. The nonribosomal code. *Chemistry and Biology*; 6, 273-9.
- Waksman S. A., 1927. *Principles of soil microbiology*, Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.
- Watanabe A. and Ebizuka Y., 2004. Unprecedented Mechanism for Chain Length Determination in Fungal Aromatic Polyketide Synthases, *Chemistry and Biology*, 11, 1101-1106A.
- Weber T., Marahiel M.A., 2001. Exploring the domain structure of modular nonribosomal peptide synthetases. *Structure*; 9, 3-9.
- Weissman K. J., and Leadlay P. F., 2005. Combinatorial biosynthesis of reduced polyketides. *Nature Reviews Microbiol*, 3, 925-936.
- Williams S. T., Goodfellow M., Alderson G., Wellington E. M. H., Sneath P. H. A., and Sackin M. J., 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Journal of General Microbiology*, 129, 1743-1813.
- Wu Z., Xie L., Xia G., Zhang J., Nie Y., Hu J., Wang S., Zhang R., 2005. A new tetrodotoxin-producing actinomycete, *Nocardiopsis dassonvillei*, isolated from the ovaries of pufferfish *Fugu rubripes*. *Toxicon*, 45, 851-859.
- Xin Y., Huang J., Deng M., Zhang W., 2008. Culture-independent nested PCR method reveals high diversity of actinobacteria associated with the marine sponges *Hymeniacion perleve* and *Sponge* sp. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94, 533-542.

- Yalçın F., 2000. Characterization of Bacterial Isolates from Salt Lake, Yüksek Lisans Tezi, The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara.
- Yanhe M.A., Galinski E.A., Grant W.D., Oren A., Ventosa A., 2010. Halophiles 2010: Life in Saline Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, No. 21, 6971-6981.
- Yassin A. F., Schaal K. P., Brzezinka H., Goodfellow M., Pulverer G., 1991. Menaquinone patterns of *Amycolatopsis* species. *Zentralbl Bakteriologie* 274, 465-470.
- Yassin A.F., Haggenei B., Budzikiewicz H., Schaal K.P., 1993a. Fatty-acid and polar-lipid-composition of the genus *Amycolatopsis* – application of fast-atom-bombardment mass-spectrometry to structure-analysis of underivatized phospholipids. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43, 414-420.
- Yassin A. F., Galinski E. A., Wohlfahrth A., Jahnke K.-D., Schaal K. P., and Trüper H. G., 1993b. A new actinomycete species, *Nocardiopsis lucentensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 43, 266-271.
- Yassin A. F., Rainey F. A., Burghardt J., Gierth D., Ungerechts J., Lux I., Seifert P., Bal C., and Schaal K. P., 1997. Description of *Nocardiopsis synnemataformans* sp. nov. elevation of *Nocardiopsis alba* subsp. *prasina* to *Nocardiopsis prasina* comb. nov., and designation of *Nocardiopsis antarctica* and *Nocardiopsis alborubida* as later subjective synonyms of *Nocardiopsis dassonvillei*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 983-988.
- Yoshida M., Matsubara K., Kudo T., Horikoshi K., 1991. *Actinopolyspora mortivallis* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete. *Int J Syst Bacteriol.* 41, 15-20.
- Zahrán M.A., 1989. Principles of plant ecology and flora of Egypt. Dar El-Nashr for Egyptian Universities, El-Wafa Library, Cairo.
- Zamanian S., Shahidi Bonjar G.H., Saadoun I., 2005. First report of antibacterial properties of a new strain of *Streptomyces plicatus* (strain 101) against *Erwinia carotovora* from Iran. *Biotechnology*, 4, 114-120.
- Zhang Z., Wang Y., Ruan J., 1998. Reclassification of *Thermomonospora* and *Microtetraspora*. *Int J Syst Bacteriol*, 48, 411-422.
- Zhang W., Li Z., Miao X., Zhang F., 2009. The Screening of Antimicrobial Bacteria with Diverse Novel Nonribosomal Peptide Synthetase (NRPS) Genes from South China Sea Sponges. *Mar Biotechnol*, 11, 346-355.
- Zhang D.F., Chen W., He J., Zhang X.M., Xiong Z.J., Sahu M.K., Sivakumar K., Li W.J., 2013a. *Saccharomonospora oceani* sp. nov. isolated from marine sediments in Little Andaman, India. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103(6), 1377-84.
- Zhang D.F., Pan H.Q., He J., Zhang X.M., Zhang Y.G., Klenk H.P., Hu J.C., Li W.J., 2013b. Description of *Streptomonospora sediminis* sp. nov. and *Streptomonospora nanhaiensis* sp. nov., and reclassification of *Nocardiopsis arabia* Hozzein & Goodfellow 2008 as *Streptomonospora arabica* comb. nov. and emended description of the genus *Streptomonospora*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63(12), 4447-55.

- Zhao L. X., Huang S. X., Tang S. K., Jiang C. L., Duan Y., Beutler J. A., Henrich C. J., McMahon J.B., Schmid T., Bles J.S., Colburn N.H., Rajski S.R., Shen B., 2011. Actinopolysporins A-C and tubercidin as a Pcd4 stabilizer from the halophilic actinomycete *Actinopolyspora erythraea* YIM 90600. *J Nat Prod*, 74, 1990-1995.
- Zhi X. Y., Li W. J., Stackebrandt E., 2009. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class *Actinobacteria*, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol*, 59, 589-608.
- Zhou Z., Lai J.R., Walsh C.T., 2007. Directed evolution of aryl carrier proteins in the enterobactin synthetase. *Proc Natl Acad Sci, USA* 104, 11621-11626.
- ZoBell C. E., 1941. *J. Mar. Res.*, 4, 42.
- Zocher R., Keller U., 1997. Thiol template peptide synthesis systems in bacteria and fungi. *Advances in Microbial Physiology*; 38, 85-31.
- Zvyagintseva I.S., Tarasov A.L., 1987. Extreme halophilic bacteria from saline soils. *Microbiologiya*, 56, 839-844.



## **EKLER**

**EK A:** Seçici izolasyon Besiyerleri, Kültür Ortamları ve Çözeltiler

**EK B:** Test İzolatlarının 16S rRNA Nükleotit Dizileri



## EK A

### SEÇİCİ İZOLASYON BESİYERLERİ

#### Humik Asit Vitamin Agar (Hayakawa ve Nonomura, 1987)-% 15 NaCl

Humik asit	1 g
NaCl	150 g
KCl	1,7 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5 g
CaCO <sub>3</sub>	0,02 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01 g
B vitaminleri (tiamin, riboflavin, niasin, pridoksin, kalsiyum D-pantotenat, inositol, <i>p</i> -aminobenzoik asit)	0,5 mg
Biotin	0,25 mg
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7,2

#### GW3 Medium (Guan ve diğ., 2010)- %15 NaCl

Nişasta	5,0 g
Kazein hidrolizat asit	0,5 g
KNO <sub>3</sub>	0,5 g
CaCO <sub>3</sub>	0,1 g
NaCl	150 g
KCl	20 g
MgCl <sub>2</sub>	2 g
Agar	18 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0–7,5

**Difco™ Marin Agar 2216 (ZoBell, 1941)-% 15 NaCl**

Pepton	5,0 g
Yeast ekstrakt	1,0 g
Demir sitrat	0,1 g
Sodyum klorür	150 g
Magnezyum klorür	8,8 g
Sodyum sülfat	3,24 g
Kalsiyum klorür	1,8 g
Potasyum klorür	0,55 g
Sodyum bikarbonat	0,16 g
Potasyum bromit	0,08 g
Stronyum klorür	34,0 mg
Borik asit	22,0 mg
Sodyum silikat	4,0 mg
Sodyum florür	2,4 mg
Amonyum nitrat	1,6 mg
Disodyum fosfat	8,0 mg
Agar	15,0 g
Distile su	1000 ml
pH	7,6

**Nişasta-Kazein Agar (Küster ve Williams, 1964)- % 15 NaCl**

Nişasta (Soluble Starch)	10 g
Kazein (Casein)	0,3 g
KNO <sub>3</sub>	2 g
NaCl	150 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,05 g
CaCO <sub>3</sub>	0,02 g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,01 g
% 20'lik K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 ml
Agar (Difco)	12 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0-7,2

% 20'lik  $K_2HPO_4$ , nişasta ve agar hariç diğer ortam içerikleri 900 ml saf su içerisinde çözüldü. 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile pH 7,0-7,2'ye ayarlandı. Karışım ısıtılırken agar eklendi. Ölçülü miktardaki nişasta 100 ml soğuk saf su içerisinde ayrı olarak çözüldü ve hazırlanmış sıcak besiyerine karıştırarak ilave edildi. Hazırlanan besiyeri 500 ml'lik otoklav şişelerine 400 ml'ler halinde konularak 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlandı. % 20'lik  $K_2HPO_4$  solüsyonu, besiyerlerinden ayrı olarak başka bir şişede otoklavlanarak sterilizasyonu sağlandı. Otoklav sonrası 45-50°C'ye kadar su banyosunda soğutulan besiyerlerine aseptik koşullarda % 20'lik  $K_2HPO_4$ 'tan 10 ml /L olacak şekilde ilave edildi.

#### **Medyum B (Oren ve Litchfield, 1999)- % 20 NaCl**

NaCl	200 g
KCl	1 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	20 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,02 g
Tri-Na-Sitrat	3 g
Kasamino asit	7,5 g
Yeast Ekstrakt	0,5 g
Distile Su	1000 ml

pH 7'ye ayarlanarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

#### **Medyum C (Oren ve Litchfield, 1999)- % 17,5 NaCl**

NaCl	175 g
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	20 g
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,1 g
Yeast Ekstrakt	5 g
Distile Su	1000 ml

pH 7,4'e ayarlanarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

**Medyum D (Oren ve Litchfield, 1999)- % 20,6 NaCl**

NaCl	206 g
KCl	0,37 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	36 g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,5 g
MnCl <sub>2</sub>	0,013 g
Yeast Ekstrakt	5 g
Distile Su	1000 ml

pH 7,4'e ayarlanarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

**Medyum E (Oren ve Litchfield, 1999)- % 12,5 NaCl**

NaCl	125 g
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	160 g
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,1 g
Yeast Ekstrakt	1 g
Kasamino asit	1 g
Nişasta	2 g
Distile Su	1000 ml

pH 7'ye ayarlanarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

**SM3 Agar-Gauze's Agar (Tan ve diğ., 2006)- % 15 NaCl**

Glukoz	10 g
Pepton	5 g
Tripton	3 g
NaCl	150 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7,2

Tüm ortam içerikleri 900 ml distile su içerisinde çözüldü. Daha sonra son hacim 1000 ml'ye tamamlandı. 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile pH 7,0-7,2'ye ayarlandı. Karışım ısıtılırken agar eklendi. Hazırlanan besiyeri 500 ml'lik otoklavlanabilir şişelere 400 ml'ler halinde konularak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlandı.

**Soy-bean Meal Agar (Bredholdt ve diğ., 2007)-% 15 NaCl**

NaCl	150 g
Soy-bean meal	3 g
KNO <sub>3</sub>	0,2 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g
MgSO <sub>4</sub>	0,4 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0-7,5

**Modifiye Bennet's Agar (Jones, 1949) - % 5-10-15 NaCl**

NaCl	50-100-150 g
Yeast Ekstrakt	1 g
Lab-lemco	0,8 g
Bacto-casitone	2 g
Gliserol	10 ml
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7,2-7,3

## KÜLTÜR ORTAMLARI

### Gliserol-asparajin Agar (ISP 5; Shirling ve Gottlieb, 1966) -% 10 NaCl

L-asparajin	1 g
Gliserol	10 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
NaCl	100 g
Trace salts solution	1 ml
Agar	20 g
Distile su	1000 ml
pH	7,2

Agar hariç diğer ortam içerikleri distile su içerisinde çözüldü. pH'sı 7,2'e ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklavlanabilir şişelere dökülerek 121°C'de 15 dakika otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullarda petrilere döküldü.

### İnorganik Tuz-Nişasta Agar (ISP4; Shirling ve Gottlieb, 1966) -% 10 NaCl

Çözünür Nişasta (Soluble Starch)	10 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	1 g
NaCl	100 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 g
CaCO <sub>3</sub>	3 g
Trace Salts Solution (Shirling ve Gottlieb, 1966)	1 ml
Agar (Difco)	20 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0-7,4

### Pepton-Yeast Ekstrakt Demir Agar (ISP6; Shirling ve Gottlieb, 1966) -% 10 NaCl

Pepton-Demir Agar	36 g
Yeast Ekstrakt	1 g
NaCl	100 g
Distile su	1000 ml

Uygun oranlarda hazırlanan besiyeri karışımı ısıtılarak eritildi ve 500 ml'lik otoklavlanabilir şişelere 400 ml'ler halinde transfer edilerek 121°C'de 15 dk. otoklavlandı. Otoklav sonrası su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutulan besiyeri aseptik koşullarda petrilere döküldü.

**Oatmeal Agar (ISP3; Shirling ve Gottlieb, 1966)-% 10 NaCl**

Oatmeal	20 g
NaCl	100 g
Agar	18 g
Trace salts solution (Shirling ve Gottlieb,1966)	1 ml
Distile su	1000 ml
pH	7,2

Oatmeal (Ticari organik ürün), 1000 ml saf su içerisinde 20 dakika kaynatılarak çözüldü ve süzgeç vasıtasıyla süzüldü. Daha sonra, oda ısısında soğumaya bırakıldı ve soğuduktan sonra eksilen su miktarı tamamlanarak içerisine NaCl ilave edildi. pH'sı 7,2'ye ayarlandıktan sonra agar ilave edilerek kaynatıldı. Hazırlanan besiyeri 500 ml'lik şişelerde 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Otoklavdan sonra su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutulan besiyerlerine aseptik koşullarda Trace Salt Solution'dan 1 ml /L olacak şekilde ilave edildi ve besiyeri petrilere döküldü.

**Tirozin agar (ISP 7; Shirling ve Gottlieb, 1966) -% 10 NaCl**

Gliserol	15 g
L-Tirosin (Difco)	0,50 g
L-Asparajin (Difco)	1,00 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,50 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,50 g
NaCl	100 g
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,01 g
Distile su	1000 ml
Trace salts solution	1,0 ml
Agar	20,0 g
pH	7,2 – 7,4

**Yeast Ekstrakt-Malt Ekstrakt Agar (ISP 2; Shirling ve Gottlieb, 1966) -% 10 NaCl**

Yeast Ekstrakt (Difco)	4 g
Malt Ekstrakt (Difco)	10 g
Glukoz	4 g
NaCl	100 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml
pH	7,3

Agar hariç diğer ortam içerikleri distile su içerisinde çözüldü. pH'sı 7,3'e ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklavlanabilir şişelere dökülerek 121°C'de 15 dk otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullarda petrilere döküldü.

#### **Karbon Kaynağı Kullanım Ortamı (ISP 9; Shirling ve Gottlieb, 1966)**

	ISP 9-% 10 NaCl	ISP 9
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,64 g	2,64 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,38 g	2,38 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,65 g	5,65 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	1 g	1 g
NaCl	100 g	-
Trace Salts Solution ( Pridham ve Gottlieb, 1948)	1 ml	1 ml
Distile su	1000 ml	1000 ml
Agar	15 g	15 g
pH:	6,8-7,0	6,8-7,0

Agar ve Trace Salts Solüsyonu hariç diğer ortam içerikleri 1000 ml distile su içerisinde çözüldü. pH'sı 6,8-7'ye ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklavlanabilir şişelere dökülerek 121°C'de 15 dk otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve soğutulan besiyerine, tinalizasyonla sterilizasyonu sağlanmış her bir karbon kaynağı ayrı olacak şekilde ilave edildi. Daha sonra besiyerine 1 ml/L konsantrasyonunda Trace Salts Solüsyonundan ilave edildi ve besiyeri aseptik olarak petrilere döküldü.

#### **Azot Kaynağı Kullanım Ortamı (Williams ve diğ., 1983 )**

	Azot Kaynağı Kullanım Ortamı-% 10 NaCl	Azot Kaynağı Kullanım Ortamı
Glukoz	10 g	10 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,5 g	0,5 g
NaCl	100 g	0,5 g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,01 g	0,01 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g	1 g
Distile su	1000 ml	1000 ml
Agar	10 g	10 g
pH:	7,4	7,4

Agar hariç diğ er ortam içerikleri 1000 ml distile su içerisinde çözüldü. pH'sı 7,4'e ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklavlanabilir şişelere dökülerek 121°C'de 15 dk otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve soğutulan besiyerine tindalizasyonla sterilizasyonu sağlanmış her bir azot kaynağı ayrı olacak şekilde aseptik olarak ilave edildi ve aseptik olarak petrilere döküldü.

#### **Triptikaz Soy Broth Agar-TSBA (Hawkey ve diğ.,1986)**

Triptikaz soy broth	30 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Uygun oranlarda hazırlanan besiyeri karışımı ısıtılmalı manyetik karıştırıcı üzerinde agar eriyinceye kadar karıştırıldıktan sonra 121 °C'de 15 dk otoklav edildi.

#### **Luria Bertani Agar-LBA (Bertani, 1951)**

Tripton	10 g
Yeast Ekstrakt	5 g
NaCl	10 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Agar hariç diğ er ortam içerikleri distile su içerisinde çözüldü. pH'sı 7'ye ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklavlanabilir şişelere dökülerek 121°C'de 15 dakika otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullarda petrilere döküldü.

## **ÇÖZELTİLER**

#### **0,5 M EDTA, pH 8**

EDTA(Merck)	186,1 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

800 ml ddH<sub>2</sub>O içerisine 186,1 g EDTA ve ~ 20 g NaOH pelleti ilave edilerek manyetik karıştırıcı üzerinde berraklaşıncaya kadar çözüldü. Son hacim ddH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlandı. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121 °C'de 15 dk otoklavda steril edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

### 1 M Tris, pH 8

Tris (Merck)	121,1 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

800 ml ddH<sub>2</sub>O içerisine 121,1 g tris ilave edildi ve manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözülerek oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. pH 8'de 1 M Tris elde etmek için solüsyon içerisine 42 ml %38'lik HCl ilave edildi. Son hacim ddH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlandı. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121 °C'de 15 dk otoklavda steril edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

### TE tamponu, pH 8

0,5M EDTA, pH 8 (Merck)	2 ml
1M Tris, pH 8	10 ml
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

Tampon 1000 ml'ye tamamlanmadan önce pH kontrolü yapıldı. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121 °C'de 15 dk otoklavlandı ve oda sıcaklığında saklandı.

### Lizozim (50 mg/ml)

Lizozim (Sigma)	500 mg
TE tamponu (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8)	10 ml

500 mg lizozim 10 ml TE tampon içerisinde çözülerek hazırlandı. 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -20 °C'de kullanım zamanına kadar saklandı.

### Proteinaz K (2 mg/ml)

Proteinaz K (AppliChem)	2 mg
TE tamponu	10 ml

2 mg proteinaz K 10 ml TE tamponu içerisinde çözüldü. 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -20 °C'de kullanım zamanına kadar saklandı.

### 7,5 M Amonyum asetat

Amonyum asetat (AppliChem)	57,81 g
ddH <sub>2</sub> O	100 ml

57,81 g amonyum asetat 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konularak üzerine yaklaşık 40 ml ddH<sub>2</sub>O ilave edildi. Son hacim ddH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözüldü. Solüsyon 121 °C'de 15 dk otoklav edilerek +4 °C'de saklandı.

### %10'luk Sarkosil

N-laurilsarkozin (Sigma)	1 g
ddH <sub>2</sub> O	10 ml

1 g N-laurilsarkozin 8 ml ddH<sub>2</sub>O içeren 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konularak manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözüldü ve son hacim ddH<sub>2</sub>O ile 10 ml'ye tamamlandı. Solüsyon otoklavlanarak steril edildi ve şişenin etrafı alüminyum folyo kapatılarak oda sıcaklığında saklandı.

### Guanidin tiyosiyanat solüsyonu (5 M guanidin tiyosiyanat, 100 mM EDTA, % 0,5 sarkosil)

Guanidin tiyosiyanat (AppliChem)	60 g
ddH <sub>2</sub> O (otoklav edilmiş)	20 ml
0,5 M EDTA, pH 8	20 ml

60 g guanidin tiyosiyanat steril 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konuldu ve üzerine steril 20 ml ddH<sub>2</sub>O ve 0,5 M EDTA (pH 8) ilave edildi. Solüsyon manyetik karıştırıcıda 65 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözüldü ve oda sıcaklığında soğuduktan sonra, N-laurilsarkozinden (% 10 v/v- otoklav edilmiş) 5 ml eklenir. Son hacim steril ddH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanarak 0,45 µm çapındaki membran filtreden geçirildi. Şişenin etrafı alüminyum folyo ile kapatılarak oda sıcaklığında saklandı.

### Kloroform-izoamil alkol (24:1 v/v)

Kloroform (Merck)	24 ml
Izoamil alkol (Merck)	1 ml

Steril 100 ml'lik ağız kapaklı cam şişe içerisinde steril cam pipetler kullanılarak solüsyon hazırlandı. Şişenin etrafı alüminyum folyo ile kapatılarak +4 °C'de saklandı.

#### **RNAaz (10 mg/ml)**

RNAaz (AppliChem)	10 mg
TE tamponu	10 ml

10 mg RNA az 10 ml TE tamponu içerisinde çözüldü. 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -20 °C'de saklandı.

#### **8M LiCl<sub>2</sub>**

LiCl <sub>2</sub> (Merck)	33,912 g
ddH <sub>2</sub> O	100 ml

33,912 g LiCl<sub>2</sub> tartılarak bir beher içerisine konuldu ve üzerine 60 ml ddH<sub>2</sub>O ilave edildi. Manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşınca kadar çözüldü ve son hacim 100 ml'ye tamamlanarak 100 ml'lik ağız kapaklı cam şişeye konuldu. Solüsyon 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak oda sıcaklığında saklandı.

#### **TBE Tamponu (Tris-Borik asit-EDTA; 10X, pH 8)**

Tris	121,10 g
Borik asit (Merck)	61,83 g
EDTA (susuz)	5,84 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

Solüsyon içerikleri tartıldı ve 1000 ml'lik beher içerisine kondu. İçerisine 500 ml ddH<sub>2</sub>O ilave edilerek solüsyon manyetik karıştırıcı üzerinde berraklaşınca kadar tutuldu. Son hacim 1000 ml'ye tamamlandı. pH 8'e ayarlanarak +4 °C'de saklandı.

#### **1XTBE, pH**

10XTBE tamponu	50 ml
ddH <sub>2</sub> O	450 ml

Ağız kapaklı 400 ml'lik cam şişe içine konularak oda sıcaklığında tutuldu.

### **Brom fenol mavisi (Yükleme Tamponu)**

Brom fenol mavisi (AppliChem)	40 mg
Gliserol	5 ml
0,5 M EDTA	1,5 ml
ddH <sub>2</sub> O	3,5 ml

Toplam hacim 10 ml hazırlandıktan sonra eppendorf tüplere 500 µl şeklinde dağıtıldı ve +4 °C’de saklandı.

### **Pridham ve Gottlieb’s Trace Salts Solution ( Pridham ve Gottlieb, 1948)**

Bu çözelti, karbon kaynağı kullanım testi ortamlarının hazırlanmasında kullanıldı.

CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0,64 g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,11 g
MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0,79 g
ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,15 g
Distile su	100 ml

Ortam içerikleri 100 ml distile su içerisinde çözüldükten sonra 121°C’de 15 dk otoklavlanarak steril edildi. Otoklav sonrası +4°C’de saklandı.

### **Trace Salts Solution (Shirling ve Gottlieb, 1966)**

Bu çözelti, İnorganik Tuz-Nişasta Agar (ISP 4) ve Oatmeal Agar (ISP 3) ortamlarının hazırlanmasında kullanıldı.

FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0,1 g
ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
Distile su	100 ml

Ortam içerikleri 100 ml Distile su içerisinde çözüldükten sonra 121 °C’de 15 dk otoklav edilerek steril edildi. Otoklav sonrası +4 °C’de saklandı.

**SOC sıvı ortamı (100 ml)**

Tripton	2,0 g
Yeast Ekstrakt	0,5 g
1 M NaCl	1 ml
1 M KCl	0,25 ml
2 M Magnezyum stok (filtre ile steril edilmiş)	1 ml
2 M glukoz (filtre ile steril edilmiş)	1 ml
Distile su	100 ml
pH:	7,0

Tripton, Yeast Ekstrakt, NaCl ve KCl, 97 ml distile suya ilave edilerek karıştırıldı. pH: 7'ye ayarlandıktan sonra 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak steril edildi. Otoklav sonrası oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulduktan sonra filtre ile steril edilmiş Magnezyum stok ve glukoz ilave edildi. Distile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

**2 M Magnezyum Stok Solüsyonu (100 ml)**

MgCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	20,33 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	24,65 g

Ortam içerikleri 100 ml distile su içerisinde çözüldükten sonra filtre ile steril edildi.

**50 mg/ml Konsantrasyonunda Sikloheksimid Stok Solüsyonu:**

Sikloheksimid (50 mg/ml) fungusların besiyeri içerisinde üremesini engellemek için katılmıştır.

Öncelikle 100 ml'lik otoklava dayanıklı boş bir şişe 121 °C'de 15 dk otoklavlanarak steril edildi. Daha sonra ayrı olarak 100 ml distile su içerisinde 5 g sikloheksimid çözüldü. Sikloheksimid çözeltisi steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş boş şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. Şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafinlenip +4 °C'de saklandı.

## EK B

### *Actinopolyspora* sp. B17 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi GenBank: KF996490.1

TTTATACTGCTCAGGACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAACGCTCGCACCCCGTGTGCTTT  
CCCCTTCGGGGGGTGGTGGGGTGTGGGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGT  
GGGGATAACCCTGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGCTCGCATCTCTCGCATGGGGGGTGTGGGAAAGTTT  
TCTCCTGTGAGGGGGGGTCCGGCCTGGGAGGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCGGTGAGGGCGTACC  
AAGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACG  
GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTGCGCAATGGGCGGAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGGAGGACGGCCT  
TCGGGTTGTAACCCCTTCGGCCCTGACGAATGTGACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCC  
AGCAGCCCGGTAATACGTAGGGCGGAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGT  
CGCGTCGGTCTGTGAAATGTGCGGCTTAACCGGGCACGTGCGGCCGATACGGGCAGACTCGAGGGCGGTAGGGG  
CAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGCTG  
GGCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCTGTAA  
ACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACCGGGTGATGGTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGG  
GAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATT  
CGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGATCGCTCCAGAGATGGGGTTTTCTTCGGGG  
CTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGTCGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCA  
ACCCTTGTCCCGTGTGGCCAGCGGTGCGGCCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGCG  
GGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTCATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGG  
CGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCGGAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGA  
AGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGATACACACCGCCCG  
TCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCCATGGTCCAACCCGGTTGGGGGGCGTGGTCAAGGTGGGAC  
TGCCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

### *Actinopolyspora* sp. B18 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi GenBank: KF996491.1

TTATACTGCTCAGGACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAACGCTCGCACCCCGTGTGCTTTT  
CCCTTCGGGGGGTGGTGGGGTGTGGGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGT  
GGGATAACCCTGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGCTCGCATCTCTCGCATGGGGGGTGTGGGAAAGTTTCT  
CTCCTGTGAGGGGGGGTCCGGCCTGGGAGGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCGGTGAGGGCGTACCA  
AGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGG  
GAGGCAGCAGTGGGGAATTTGCGCAATGGGCGGAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGGAGGACGGCCTT  
CGGGTTGTAACCCCTTCGGCCCTGACGAATGTGACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCA  
GCAGCCCGGTAATACGTAGGGCGGAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGT  
GCGTCGGTCTGTGAAATGTGCGGCTTAACCGGGCACGTGCGGCCGATACGGGCAGACTCGAGGGCGGTAGGGG  
AAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGCTGG  
GCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCTGTAAA  
CGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACCGGGTGATGGTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGG  
AGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATC  
GATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGATCGCTCCAGAGATGGGGTTTTCTTCGGGG  
TGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAA  
CCCTTGTCCCGTGTGGCCAGCGGTGCGGCCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGCGG  
GGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTCATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGC  
GAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCGGAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAA  
GTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGATACACACCGCCCGT  
CACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCCATGGTCCAACCCGGTTGGGGGGCGTGGTCAAGGTGGGACT  
GGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. C22 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** KF803293.1

TTTTTATACTGCTCAGGACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAACGCTCGCACCCCGTGTGCT  
TTCCCTTTTCGGGGGGTGGTGGGGTGTGGGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGC  
GTGGGGATAACCCTGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGCTCGCATCTCTCGCATGGGGGGTGTGGGAAAGGT  
TCTCTCCTGTGAGGGGGGTTCCGGCCTGGGAGGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCGGTGGGGCGTA  
CCAAGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTA  
CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGCGAATGGGCGGAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGGAGGACGGC  
CTTCGGGTGTAAACCCCTTTCGGCCCTGACGAATGTGACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTG  
CCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCGAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTT  
GTCGCGTGGTGTGGAAATGTGCGGCTAACCGGGCACGTGCGGCCGATACGGGCAGACTCGAGGGCGGTAGG  
GGCAAGCGGAATCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGC  
TGGGCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCATGCTGT  
AAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACCGGTGATGGTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCGCCTG  
GGGAGTACGGCCGAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAGCGGGGAGCATGTGGATTAA  
TTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTACATACACCGGATCGCTCCAGAGATGGGGTTTCTTTCGG  
GGTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTC  
CAACCTTGTCCCGTGTGCCAGCGGTGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGG  
CGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTCATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGT  
GGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCGGAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCGCT  
GAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCC  
CGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCCCATGGTCCAACCCGGTTGGGGGGCGTGGTGAAGGTGGG  
ACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. C23 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** KF959825.1

AACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAGCGATGGCGCCGGTTTTTCGGATCGGTGTGCAGAGCGGCGG  
ACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGTGGGGATAACCCTGGGAAACTGGGGCTAATACCGGATG  
GCCCTGCCTATTTCGCATGGATGGGTGGGAAAGGTTTCATCTTCGTAAGGGGGTGTTCGGCTTGGGAGGGGCTC  
GCGGCCATCAGCTTGTGGTGCGGTGGGGGCTACCAAGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGTGCG  
GCCACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGCGAATGGGCGGAA  
CCGTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGGAGGACGGCCTTTCGGTTGTAAACCTTTCGGCCCTGACGAATGTGA  
GGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCGAGCGTTGTCC  
GGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTC  
GTGCGGCTGATACGGGCGACTCGAGGGCGGTAGGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGA  
TATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTCTGGGCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGTAG  
CGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCATGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACCATTCCTGGTGT  
CGTGCCTAGCTAACGCATTAAGCGCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACG  
GGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGTTTACATAC  
ACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGT  
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCTTGTCTGTGTTGCCAGCGGTTTCGGCCGGGACTC  
GCGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTGATGTCCAGGGC  
TTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCTCTCAAAGCCGGTCT  
CAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCTGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAGTGTGCG  
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCTCATGGTC  
CAACCACACTTGGTGTGGGGGGCGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGG

***Actinopolyspora* sp. C243 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF996492.1**

TATACTGCTCAGGACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAACGCTCGCACCCCGTGTGCTTTCC  
CCTTTCGGGGGGTGGTGGGGTGTGGGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGTGG  
GGATAACCTGGGAAACCGGGCTAATACCGGATGGCTCGCATCTCTCGCATGGGGGGTGTGGGAAAGGTTCTC  
TCCTGTGAGGGGGGGTCCGGCCTGGGAGGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCAGTGGGGCGTACCAA  
GGCGATGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGTGTGCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGG  
AGGCAGCAGTGGGAATTTGCGCAATGGCGGAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGGAGGACGGCCTTC  
GGGTTGTAACCCCTTTCCGGCCTGACGAATGTGACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAG  
CAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGGAGCGTTGTCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGTGCG  
CGTCCGTCGTGGAAATGTGCGGCTTAACCGGGCACGTGCGGCCGATACGGGCAGACTCGAGGGCGGTAGGGGCA  
AGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGTGCGG  
CCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCATGCTGTAAC  
GTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACCGGGTGTGGTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGG  
GTACGGCCGAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGCGGAGCATGTGGATTAATTCCG  
ATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTACATACACCGGATCGCTCCAGAGATGGGTTTCCCTTTCGGGGCT  
GGTGTACAGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAAAGCGCAAC  
CCTTGTCCCGTGTGCCAGCGGTGCGGCCGGGGCTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGCGGG  
GACGACGTCAGTCATCATGCCCTCATGTCCAGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCG  
AGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCGGAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAG  
TCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTC  
ACGTCATGAAAGTCGGTAACCCCTAAGCCCATGGTCCAACCCGGTGGGGGGCGTGGTGAAGGTGGGACTG  
GCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. D31 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KC959220.1**

TGGCTCAGGACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAGCGATGGCGCCGGTTTTCCGATCGGTGT  
GCAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGTGGGGATAACCTGGGAAACTGGGGC  
TAATACCGGATGTCCCTACTGTCTCGCATGGGATGGTGGGGAAAGGTGCATCTCTGTGAGGGGGTGTCCGGCT  
TGGGAGGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCAGTGGGGGTACCAAGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTG  
AGAGGGTGTGCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTGCG  
CAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGGAGGACGGCCTTCCGGTTGTAACCTCTTTCGGCCC  
TGACGAATGTGACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCG  
CGAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGGTGCGTGGAAATGTCTGGC  
TAACTGGGCACGTGCGGCTGATACGGGCAGACTCGAGGGCGGTAGGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT  
GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGTGCGGCGTTCTGACGCTGAGGAGCGA  
AAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCATGCTGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACC  
GTTACGGTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACTCA  
AAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTG  
GGTTTGACATACACCGGACGGCCGTGGAGACATGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGTACAGTGGTGCATGGCTGTC  
GTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAAAGCGCAACCCCTTGTCTGTGTTGCCAGCAGTTC  
GGCTGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGCGGGGACGACGCAAGTCAATCATGCCCT  
TATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCCTGAGGTGGAGCGAATCCCG  
GAAAGCTGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCTGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATC  
AGCAGTGTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACCCCT  
AAGCTCATGGTCCAACCACACCTGGTGTGGGGGGCGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTA  
ACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. D32 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank: KJ001785.1**

TTTTATACTGCTCAGGACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAACGCTCGCACCCCGTGTGCTT  
TCCCCTTTCGGGGGGTGGTGGGGTGTGGGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCG  
TGGGGATAACCCTGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGCTCGCATCTCTCGCATGGGGGGTGTGGGAAAGTT  
CTCTCTGTGAGGGGGGGTTCGGCCTGGGAGGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCGGTGAGGGCGTAC  
CAAGGCGATGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGTGTGCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTTAC  
GGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTTCGCAATGGGCGGAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGAGGACGGCC  
TTCGGGTTGTAAACCCCTTTCGGCCCTGACGAATGTGACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGC  
CAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGGAGCGTTTTCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGT  
TCGCGTCGGTCTGGAATGTGCGGCTTAACCGGGCAGTGCGGCCGATACGGGCAGACTCGAGGGCGGTAGGG  
GCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGT  
GGGCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCTGTA  
AACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACCGGGTGTGGTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGG  
GGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGGGAGCATGTGGATTAAT  
TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTACATACACCGGATCGCTCCAGAGATGGGGTTTCTTTTCGGG  
GCTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCCTAACGAGCGC  
AACCTTGTCCCGTGTGCCAGCGGTGCGGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGC  
GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTCATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTG  
GCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCGAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTG  
AAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC  
GTCACGTATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCCATGGTCCAACCCGGTTGGGGGGCGTGGTCAAGGTGGGA  
CTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. D37 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank: KJ001786.1**

GACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAGCGATGGCGCCGGTTTTTCGGATCGGTGTGCAGAGCG  
GCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGTGGGGATAACCCTGGGAAACTGGGGCTAATACCG  
GATGGCCCTGCCTATTCGCATGGATGGGTGGGGAAAGTTTTCATCTTCGTAAGGGGGTGTTCGGCTTGGGAGGG  
GCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCGGTGTAGGGGCTACCAAGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTG  
ATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTTCGCAATGGGC  
GGAAGCCTGACGCAGCGACCGGTGTGGGGGAGGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTTTCGGCCCTGACGAAT  
GTGACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCGAGCGTT  
GTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGTCCGGTCTGTTGGAAATGTCTGGCTTAACCTGG  
GCACGTGCGGCTGATACGGGCAGACTCGAGGGCGGTAGGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCG  
CAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGTGGGCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGG  
GTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCTGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACCATTTCTGG  
TGTCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATT  
GACGGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTTCG  
ATACACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTTCCTTGTGGTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTC  
GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCTTGTCTGTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGG  
ACTCGCGGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTGATGTCCA  
GGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCTCTCAAAGCCG  
GTCTCAGTTCGGATCGGGTCTGCAACTCGACCCTGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAGTGC  
TGCGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCTCAT  
GGTCCAACCACACTTGGTGTGGGGGGCGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. E45 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** KF996493.1

ACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAGCGATGGCGCCGTTTTTCGGATCGGTGTGCAGAGCGG  
CGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGTGGGGATAACCCTGGGAACTGGGGCTAATACCGG  
ATGGCCCTGCCTATTCGCATGGATGGGTGGGGAAAGTTTCATCTTCGTAAGGGGTGTTCCGGCTTGGGAGGGG  
CTCGCGGCCCATCAGCTTGTGGTGCAGTGGGGCGTACCAAGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGA  
TCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGCGAATGGGCG  
GAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGAGGACGGCCTTCGGTTGTAAACCTCTTTCGGCCCTGACGAATG  
TGACGGTAGGGGCTAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCGAGCGTTG  
TCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGTTTTGTGCGTCGGTCGTGGAAATGTCTGGCTTAACTGGG  
CACGTGCGGCTGATACGGGCGACTCGAGGGCGGTAGGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC  
AGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGTGGGCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGG  
TAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACCATTCTTGGT  
GTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTG  
ACGGGGGCGCCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTTGACA  
TACACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCG  
TGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGA  
CTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGCGGGGACGACGTCAGTCAATCATGCCCTGATGTCCAG  
GGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCCTGAGGTGGAGCGAATCTCTCAAAGCCGG  
TCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCTGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAGTGCT  
GCGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCTCATG  
GTCCAACCACACTTGGTGTGGGGGGCGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. G5109 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** KC959221.1

GGATCATGCTCAGGACGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAGCGATGGCGCCGTTTTTCGGATC  
GGTGTGCAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGTGGGGATAACCCTGGGAACT  
GGGGCTAATACCGGATGGCCCTTCTGCTCGCATGAGTGGGTGGGGAAAGGGGCACCTTCGTGAGGGGGTGTTC  
CGGCTTGGGAGGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGCAGTGGGGCGTACCAAGGCGATGACGGGTAGCCG  
GCCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATT  
TTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGGAGGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTC  
GGCCCTGACGAATGTGACGGTAGGGGCTAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTA  
GGGCGCGAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGTCGGTCTGGAATGT  
CTGGCTTAACTGGGCACGTGCGGCCGATACGGGCGACTCGAGGGCGGTAGGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGT  
GCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGTGGGCCGTTCTGACGCTGAGG  
AGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGG  
GGACCCTTACGGTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAA  
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCGCCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTT  
ACCTGGGTTTTGACATACACCGGATCGCCTCGGAGATGGGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGTACAGGTGGTGCATG  
GCTGTCGTGAGTCTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAG  
CGGTTCCGGCCGGGACTCGCGGAAACTGCCGGGGTCAACTCCGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGTCAATCAT  
GCCCCGTGATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCCTGAGGTGGAACGA  
ATCTCTCAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCCACCCTGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCG  
CAGATCAGCAGTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAA  
CACCTAAGCTCATGGTCCAACCACACTGGTGTGGGGGGCGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAA  
ATCCTAACAAGGTA

***Actinopolyspora* sp. SC1 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** KJ001787.1

CGAACGCTGACGGCGCGCTTACACATGCAAGTCGAGCGATGGCGCCGTTTTTCGGATCGGTGTGCAGAGCGGC  
GGACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGGGCGTGGGGATAAACCTGGGAAACTGGGGCTAATACCGGA  
TGGCCCTGCCTATTTCGCATGGATGGGTGGGGAAAGTTTCATCTTCGTAAGGGGGTGTCCGGCTTGGGAGGGGC  
TCGCGGCCCATCAGCTTGTGGTGCAGTGGGGCGTACCAAGGCGATGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGAT  
CGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGCGAATGGGCGG  
AAGCTGACGCAGCGACGCCGTGTGGGGAGGACGGCCTTCGGTTGTAAACCTCTTTCGGCCCTGACGAATGT  
GACGGTAGGGGCTAAAGAAGCGCCGGCTAACACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCGAGCGTTGT  
CCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGCTCGGTCTGGAAATGTCTGGCTTAACGGGC  
ACGTGCGGCTGATACGGGCGAGACTCGAGGGCGGTAGGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCA  
GATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTTGTGGGCCGTTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGT  
AGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCTGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACCATTCTTGGTG  
TCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGA  
CGGGGGCCCGCACAAAGCGGGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTACCTGGGTTTGACAT  
ACACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTCCCTTGTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGTCGT  
GTCGTGAGATGTTGGTTAAGTCCCCTAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGAC  
TCGCGGGAGACTGCCGGGCTCAACTCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGTCATCATGCCCTGATGTCCAGG  
GCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCCTGAGGTGGAGCGAATCTCTCAAAGCCGGT  
CTCAGTTCGGATCGGGGCTGCAACTCGACCCTGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAGTGCCTG  
CGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCTAAGCTCATGG  
TCCAACCACACTTGGTGTGGGGGGCGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Amycolatopsis cihanbeyliensis* BNT52<sup>T</sup> izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** JN989302.1

TCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGTCTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCCTTTTCGGGGTGGATTAGTGGC  
GAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAATCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCGGGAAACTGGGTCTAATACCGGA  
TAGGACTTCTGCCGCATGGTGGGGGGTGGAAAACCTTCGGTGGTATGGGATGAACCCGCGCCTATCAGCTTGT  
TGGTGGGGTGTAGGCCCTACCAAGGCGTGCAGGGTAGCCGGCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAG  
ACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGC  
CGCGTAGAGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCCGCCAGGACGAAGGGTGACTGACGGTACCTGGAG  
AAGAAGCACC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGG  
CGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGCTCGGCCGTGAAAACCTGGAGGCTTAACCTTCAGCTTGGGTCGATA  
CGGGCAGACTTGAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAA  
CACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTA  
GATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCT  
AACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC  
AGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTACCTGGGTTTGACATGCGCCAGACAGCCT  
CAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGTTGGTGTGCAAGTGGTGCATGGCTGTCGTGAGTGTGTCGTGAGATGTTG  
GGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCTTATCCTGTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGGACTCGCGGGAGACTG  
CCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGC  
TACAATGGCTGGTACAGAGGGTGGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATC  
GCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTT  
CCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACC CGAAGCCCATGGCCCAACCCTTTGG  
GGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Nocardiopsis* sp. BNT50 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803284.1**

CTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGC  
GAACGGGTGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCCTGACACCGGGATAAGCCGTGAAACGCGGTCTAATACCGGA  
TACGACGCGCCCCGCATGGGGTGCGCGTGAAAGGTTCACTCCGGTCGGGGATGGGCTCGCGGCTATCAGCT  
TGTTGGTGGGGTGAAGGCTACCAAGGCGATTACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT  
GAGACACGGCCAGACTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGA  
CGCCGCGTGGGGATGACGGCCTTCGGTTGTAAACCTCTTTTACCCTCACGCAGGCCCGGGTTCTCCCGGG  
GTTGACGGTAGGTGGGAATAAGGACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTCCGAGCGT  
TGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTGCGTCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTTAACCC  
CGGTTTTGCAGTGGATACGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGC  
GCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTG  
GGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGCTTTCCACG  
GTTCCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAAT  
TGACGGGGGCCCCGACAAGCGCGGAGCATGTTGCTTAATTGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGTTTGA  
CATCACCGGTAATCCATCAGAGATGGTGGGTCCTTCGGGGATCGGTGACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCT  
CGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTTCCATGTTGCCAGCACGTGATGGTGG  
GGACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTC  
TTGGGCTGCAAACATGCTACAATGGCCGGTACAGTGGGCGTGCAGTCCCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTAAAAG  
CCGGTCTCAGTTCGGATCGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGGTGGAGTCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAAC  
TGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGCAACACCCGAACTT  
TGCGGCCAACCCCTTGCGGGAGGGAGTGAGTGAAGGTGGGGCTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Nocardiopsis* sp. BNT5310 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803285.1**

TGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCG  
GCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCCTGACTCTGGGATAAGCCGTGAAACGCGGTCTAATACCG  
GATACGACCCGCCACCTCATGGTGGAGGGTGGAAAGTTTTTCGGTCAGGGATGGGCTCGCGGCTATCAGCTTG  
TTGGTGGGGTAAACGCTACCAAGGCGATTACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGA  
GACACGGCCAGACTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACG  
CCGCGTGGGGATGACGGCCTTCGGTTGTAAACCTCTTTTACCACCAACGCAGGCTTCCAGTTCTCTGGGGT  
TGACGGTAGGTGGGAATAAGGACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTG  
TCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTACGTCGCTGTGAAAGACCGGGGCTTAACCTCCG  
GTTCTGCAGTGGATACGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC  
AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGG  
GAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCCACGGT  
TTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTG  
ACGGGGGCCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTTGCTTAATTGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGTTTGACA  
TCACCCGTGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATTTAGTTGGCGGGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTC  
GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTTCCATGTTGCCAGCACGTAATGGTGGG  
GACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTC  
TGGGCTGCAAACATGCTACAATGGCCGGTACAATGGGCGTGCAGTACCGTAAGGTGGAGCGAATCCCTAAAAGC  
CGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGGTGGAGTCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAAC  
GCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGCAACACCCGAACTT  
GCGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGTGAGTGAAGGTGGGGCTGGCGATTGGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Prauserella* sp. MC2114 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** KF803289.1

TCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGTACGCTGAAGCGGTGCTTGACACCGTGGATGA  
GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAATCTGCCTTGACTCTGGGATAAGCCCGGAACTGGGTCTAATA  
CCGGATAGGACATTCTCGCATGGGGGTGGTGGAAAGCTCCGGCGGTATGAGTTGAGCCCGCGCCTATCAG  
CTTGTTGGTGGGTGATGGCCTACCAAGGCGGTGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGA  
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGC  
GACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCCGCCAGGGACGAAGGGTGATACTGACGGTA  
CCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAAT  
TATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTGCGCTGCGCGTGGAAACCTACAGCTTAACTGTGGGCGTGCG  
GTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATC  
AGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAA  
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGTGTGTCCACGTACTCCGT  
GCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGG  
GCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACC  
GGATCACCTCAGAGATGGGGTTTTCTTCGGACTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCGTCAGCTCGTGTCTG  
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGCGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGGACTCGTG  
GGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAGGKGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCCAGGGCTTC  
ACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCTGGTCTCAG  
TTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTG  
AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCAAA  
CTCTTCGGAGGGGGAGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. HV122 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**

**GenBank:** KF803286.1

TATCAGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGG  
TGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGACTCTGGGATAAGCCTTGGAAACGGGGTCTA  
ATACCGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGCCTAT  
CAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTG  
GGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGC  
AGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCCGCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACG  
GTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGAGCTTGTCCGG  
AATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGCTGCGCGTGAAAACCTGCGGCTTAAACGTTGGGCGT  
GCGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGAT  
ATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGC  
GAACAGGATTAGATACCCGGTAGTCCACGCGGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACGCTGTCC  
CGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACG  
GGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGC  
ACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCGTCAGCTCGT  
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACT  
CGTGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCCAGGG  
CTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTC  
TCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGC  
GGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCACGGC  
CCAACGTTCCGGGGGGAGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. HV125 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803287.1**

TTTTAAATCAGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTG  
GTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGG  
GTCTAATACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGG  
CCTATCAGCTTGTGGTGGGGTATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCA  
CACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCT  
GATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAG  
TGACGGTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTG  
TCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTG  
GGCGTGCGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCG  
CAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGG  
GGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAG  
TGCTCCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAA  
TTGACGGGGGGCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTG  
ACATGCACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTGCTCAGC  
TCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGGAGCGCAACCCCTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCG  
GGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGTCACCTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGT  
CCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAG  
CCGGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAA  
CGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCC  
CACGGCCCAACCGTTTCGCGGGGGGAGTGGTCAAGGT

***Saccharomonospora* sp. MC2101 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KC959222.1**

AGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATGAGTGGCG  
AACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTAATACCGGAT  
AGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCTTGT  
GGTGGGGTATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGA  
CACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCC  
GCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACGGTACCGGGA  
GAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTATTGG  
GCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTGCGGTGGAT  
ACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCCAGATATCAGGAGG  
AACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGAT  
TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACGTTGCCGTGCCGTA  
GCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGC  
ACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACCGGATCG  
CCTCAGAGATGGGGTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATG  
TTGGGTTAAGTCCCAGGAGCGCAACCCCTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACTCGTGGGAGA  
CTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACA  
TGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGG  
ATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATAC  
GTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGGCCCAACCGTT  
CGCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. MC2113 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803288.1**

AGAGTTTGAATATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTT  
CGGTGGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGGAA  
ACGGGGTCTAATACGGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCC  
CGCGGCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGTGACC  
GGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGCGGA  
AGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCGCCGGGACGAAGCGT  
AACAGTGACGGTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAG  
CGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTCCGTCTGCCGTGAAACCTGCGGCTTAACC  
GTGGGCGTGCAGTGGATACGGGCATCACTTGTAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAAT  
GCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGTGAGGAGCGAAAGCG  
TGGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTC  
ACGTGTCCCGTGCCTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGCTAAAACCTCAAAGG  
AATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCT  
TGACATGCACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCTGTC  
GCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGC  
CGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTAT  
GTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAA  
AGCCGGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGC  
AACGTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAG  
CCCACGGCCCAACCGTTCGCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. MTC01 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803296.1**

TCGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATGA  
GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGGAAACGGGGTCTAATA  
CCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCTATCAG  
CTTGTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGA  
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGC  
GACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCGCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACGGTA  
CCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAAT  
TATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTGCG  
GTGGATACGGGCATCACTTGTAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATC  
AGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAA  
CAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTCCCGT  
GCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGG  
GCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACC  
GGATCGCCTCAGAGATGGGGTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTG  
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGACTCGT  
GGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTT  
CACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCA  
GTTCCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGT  
GAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGGCCCA  
ACCGTTCGCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. MTC02 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803297.1**

TTGGAACAGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGG  
TGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGG  
TCTAATACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGGGC  
CTATCAGCTTGTGGTGGGGTATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCAC  
ACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTG  
ATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTGCCCCGGGACGAAGCGTAACAGT  
GACGGTACCGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTGT  
CCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGG  
GCGTGGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGC  
AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGG  
GAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGT  
GTCCCCTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATT  
GACGGGGGCCCGACAAGCGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGAC  
ATGCACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTAGCTC  
GTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGAACGAGCGCAACCCCTTGCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGG  
GACTCGTGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCC  
AGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCC  
GGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACG  
CTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCA  
CGGCCAACCGTTGCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. MTC03 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803298.1**

TTTATCTGTGACGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGG  
TGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTA  
ATACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGGGCCTAT  
CAGCTTGTGGTGGGGTATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTG  
GGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGC  
AGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTGCCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACG  
GTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTGTCCGG  
AATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGT  
GCGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGAT  
ATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGC  
GAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTCC  
CGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACG  
GGGGCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGC  
ACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTAGCTCGTGT  
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGAACGAGCGCAACCCCTTGCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACT  
CGTGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGG  
CTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGT  
TCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGC  
GGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGGC  
CCAACCGTTGCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. MTC08 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803299.1**

CGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATGAG  
TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTAATAC  
CGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGCCTATCAGC  
TTGTTGGTGGGGTGTGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGCCACACTGGGAC  
TGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCG  
ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACGGTAC  
CGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCGGAATT  
ATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTCCGG  
TGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCA  
GGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAC  
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTCCCCTG  
CCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGG  
CCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACCG  
GATCGCCTCAGAGATGGGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGCTG  
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACTCGTG  
GGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTC  
ACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAG  
TTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTG  
AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGGCCCAA  
CCGTTCCGGGGGGAGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. MTC09 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803300.1**

GATCAGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGG  
ATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCT  
AATACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGCCTA  
TCAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGCCACACT  
GGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATG  
CAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGAC  
GGTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCG  
GAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCG  
TGGGTTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGA  
TATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAG  
CGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTG  
CCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGAC  
GGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATG  
CACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTG  
TCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGAC  
TCGTGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGG  
GCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGT  
CTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTG  
CGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGG  
CCCAACCGTTCCGGGGGGAGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. MTC16 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803301.1**

ACGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATGA  
GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGGAACGGGGTCTAATA  
CCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCCTATCAG  
CTTGTTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGA  
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGC  
GACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACGGTA  
CCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAAT  
TATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTGCG  
GTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATC  
AGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAA  
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTCCCCT  
GCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGG  
GCCCCACAAGCGGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACC  
GGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGCT  
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACTCGT  
GGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTT  
CACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCA  
GTTCCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGT  
GAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCACGGCCCA  
ACCGTTCCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. SBC06 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803302.1**

CCCCGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGAT  
GAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGGAACGGGGTCTAA  
TACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCCTATC  
AGCTTGTTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGG  
GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCA  
GCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTCACAGTGACGG  
TACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGA  
ATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTG  
CGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATA  
TCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCG  
AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTCCC  
GTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGG  
GGGCCCCACAAGCGGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCA  
CCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTG  
GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACTC  
GTGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGC  
TTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCT  
CAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCG  
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCACGGCC  
CAACCGTTCCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. SBC07 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803303.1**

AGAGTTTTGAATATGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTC  
GGTGGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGGAAA  
CGGGGTCTAATACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCC  
GCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCG  
GCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAA  
GCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGACGAAGCGTA  
ACAGTGACGGTACCGGGAGAAGAAGCACC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGC  
GTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTCACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAA  
CGTGGGCGTGCGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAA  
TGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGC  
GTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTT  
CACGTGTCCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAG  
GAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGC  
TTGACATGCACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTC  
AGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATG  
CCGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTA  
TGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTA  
AAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAG  
CAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAA  
GCCACGGCCCAACCGTTCCGCGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGT  
A

***Saccharomonospora* sp. SBC10 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803304.1**

TGAGTTTCTCCCCGAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGT  
GGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGGAAACGG  
GGTCTAATACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGC  
GCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCC  
ACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCC  
TGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGACGAAGCGTAACA  
GTGACGGTACCGGGAGAAGAAGCACC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTT  
GTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTCACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAAACGT  
GGGCGTGCGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGC  
GCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTG  
GGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTTAC  
GTGTCCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAA  
TTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTG  
ACATGCACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGC  
TCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCG  
GGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGT  
CCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAG  
CCGGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAA  
CGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCC  
CACGGCCCAACCGTTCCGCGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGA

***Saccharomonospora* sp. SBC18 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803305.1**

AAACAGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTAATACCGGATAGGACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACGTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTGCAGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGTAGGTGTGGGACGCTGTTACGCTGTCCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGCCCCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCAGAACGAGCGCAACCCCTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGGCCAACCGTTTCGCGGGGGAGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. SC124 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803290.1**

TTTACCCGCTCAGGACGAACGGCGGCGGCTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTAATACCGGATAGGACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGAACGGTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTGCAGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGTAGGTGTGGGACGCTGTTACGCTGTCCCCTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGCCCCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACCGGATCGCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCAGAACGAGCGCAACCCCTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGGGCCCAACCGTTTCGCGGGGGAGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. SM3126A izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803291.1**

GACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATGAGTGGCGAA  
CGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTAATACCGGATAG  
GACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGGCCCTATCAGCTTGTGG  
TGGGGTGATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACA  
CGGCCAGACTCCTACGGGAGGACGAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGC  
GTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACGGTACCGGGAGA  
AGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGC  
GTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTGCAGTGGATA  
GGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAA  
CACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTA  
GATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACGTGTCCCGTGCCGTAGC  
TAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCAC  
AAGCGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACCGGATCGCC  
TCAGAGATGGGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTT  
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGACTCGTGGGAGACT  
GCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATG  
CTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGAT  
CGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTGCCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGT  
TCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACGTGATAAGTTCGGTAAACCCGAAGCCACGGCCCAACCGTTTCG  
CGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. SM3126B izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803292.1**

TGGAAGTGTCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGT  
GATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGT  
TAATACCGGATAGGACACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGGCCCT  
ATCAGCTTGTGGTGGGGTATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACAC  
TGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGACGAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGAT  
GCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCGGGACGAAGCGTAACAGTGA  
CGGTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCC  
GGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGTACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGC  
GTGCGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAG  
ATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGA  
GCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACGTGT  
CCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGA  
CGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTGACAT  
GCACCGGATCGCTCAGAGATGGGGTTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGT  
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGA  
CTCGTGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAG  
GGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGG  
TCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTGCCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCT  
GCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACGTGATAAGTTCGGTAAACCCGAAGCCACG  
GCCCAACCGTTTCGCGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. TS205 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803294.1**

TTCGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATG  
AGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTAAT  
ACCGGATAGGACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCCTATCA  
GCTTGTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGG  
ACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAG  
CGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCCGCCGGGACGAAGCGTAACAGTGACGGT  
ACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTGCCGAA  
TTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGCACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGTGC  
GGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATAT  
CAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGA  
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTCCCG  
TGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGG  
GGCCCCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCAC  
CGGATTGCCCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTAGCTCGTGTCCG  
TGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACTCG  
TGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCT  
TCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTC  
AGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGG  
TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGTAACACCCGAAGCCACGGCC  
AACCGTTCGCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Saccharomonospora* sp. TS212 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF803295.1**

TTCTCTAGTAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGCTTCGGTGGTGGAA  
TGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTCTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCTA  
ATACCGGATAGGACTGTCTCGCATGGGGTGGTGTGGAAAGCTTCGGCGGTACGGGATGAGCCCGCGGCCTAT  
CAGCTTGTGGTGGGGTGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTG  
GGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGC  
AGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCCGCCGGGACGAAGCGTCACAGTGACG  
GTACCGGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTGCCG  
AATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTGTGCACGTCTGCCGTGAAAACCTGCGGCTTAACCGTGGGCGT  
GCGGTGGATACGGGCATCACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGAT  
ATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGC  
GAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGACGCTGTTACAGTGTCC  
CGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACG  
GGGGCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGC  
ACCGGATCGCTCAGAGATGGGGTTTCCCTTGTGGCTGGTGCACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTAGCTCGTGT  
CGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCCCATGTTGCCAGCGGGTTATGCCGGGGACT  
CGTGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGG  
CTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGTGGCGAGACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGT  
TCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGC  
GGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGTAACACCCGAAGCCACGGC  
CCAACCGTTCGCGGGGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Streptomonospora* sp. BN506 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KC959224.1**

AGAGTTTGGATCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGCCCTTCGG  
GGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCCTGACTTCGGGTAAGCCGGGAAACCCG  
GTCTAATACCGGATACGACGTCGTGCCGCATGGCGGGGCGTGGAAAAGTTTCGGTCAGGGAGGGGCTCGCGGCCT  
ATCAGCTTGTGGTGGGGTATGGCCTACCAAGGCGATTACAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGG  
ACGGAGACACGGCCAGACTCCTGCGGGAGGACAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGGAAGCCTGACGCAG  
CGACGCGGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTTACCCTGACGCAGGCCCCGGTTTCTGCC  
GGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAAGGACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAG  
CGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGTGGCGTGTGCGCTGCTGTGCAAGTCCGGGGCTTAA  
CTCCGGTTTTGCACTGGATACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA  
TGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAAGC  
GTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCTGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCC  
ACGGTTTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGG  
AATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTTGCTTAATTGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGTT  
TGACATCGCCGGTAATCCCGCAGAGATGCGGGGTCTTTTGGGATCGGTGACAGGTGGTGCATGGCTGTGCTCA  
GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTGTTCATGTTGCCAGCACGTGGTGG  
TGGGGACTCATGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGT  
CTTGGGCTGCAACATGCTACAATGGCCGGTACAGTGGGCGTGCATGCGGTGAGGCGGAGCGAATCCCTAAAA  
GCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGGTGGAGTCGCTAGTAATGCGGATCAGCAA  
TGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGCAACACCCGAACT  
TGCGGCCTAACCTTCGGGGAGGGAGTGAAGGTGGGGCTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Streptomyces* sp. BNT558<sup>T</sup> izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KC959223.1**

GCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCCTTCGGGGTGGATTAGTGG  
CGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGG  
ATACGACATTCTCCCGCATGGGAAGGGTGTGGAAAAGTCCGGCGGTGACAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCTT  
GTTGGTGGGGTATGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTG  
AGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGACAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAAGCCTGATGCAGCGAC  
GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTTACGAGGGAAGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGC  
AGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTATTG  
GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTGCA  
TACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGG  
AACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGAT  
TAGATACCTGGTAGTCCACGCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTGGGCGACATTCCACGTCGTCCGTGCCGCA  
GCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGC  
ACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACGCCGAAAC  
GTCTGGAGACAGGCGCCCCCTTTGGGTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATG  
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTGTGTTGCCAGCGTGCCCTTCGGGGTACGGGGACTCA  
CGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCT  
GCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGTGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTC  
AGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGATTGCTGCGG  
TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCC  
AACCCCTTGTGGGGAGGGAATCGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KF006349.1**

CCGTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCTCTTTCGGGAGGGGATTAG  
TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATAC  
CGGATATGACCACCGGCCGCATGGTCTGGTGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGGCCATCAG  
CTTGTTGGTGGGGTGATGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGA  
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGC  
GACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGCAAGTGACGGTACC  
TGCAGAAGAAGCACC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTA  
TTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTGCGTTCGGATGTGAAAGCCGGGGCTTAACCCGGGTCTGCATT  
CGATACGGGCAGGCTGGAGTTCGGCAGGGGAGATTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGG  
AGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAG  
GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCACTAGGTGTGGGCGGCATTCCACGTCGTCCGTGCC  
GCAGCTAACGCATTAAGTGCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCC  
CGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGA  
AACCCTAGAGATGGTGCSCCCTTTGGGTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTACGCTCGTGTCTGTGAG  
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCAACTCTTCGGAGGTTGGGGACTC  
ACGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGC  
TGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGTGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCT  
CAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCG  
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCC  
CAACCCCTTGTGGGGAGGGAATCGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT  
ACCGGAAGGTGCGG

***Streptomyces* sp. SM3513 izolatının 16S rRNA geni nükleotit dizisi**  
**GenBank: KJ579706.1**

GTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCAATTTCCGCCGGGGATTAGTG  
GCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCG  
GATATGACCACCGGCCGCATGGTCTGGTGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGGCCATCAGCT  
TGTTGGTGGGGTGATGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT  
GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGA  
CGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGCCAGTGACGGTACCTG  
CAGAAGAAGCACC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTATT  
GGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGCATGTGCGTTCGGATGTGAAAGCCGGGGCTTAACCCGGGTCTGCATTCTG  
ATACGGGCAGGCTGGAGTTCGGCAGGGGAGATTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAG  
GAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGA  
TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGCACTAGGTGTGGGCGGCATTCCACGTCGTCCGTGCCGC  
AGCTAACGCATTAAGTGCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCG  
CACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAA  
TCACTAGAGAGTGAACCCCTTTGGGTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTACGCTCGTGTCTGTGAGAT  
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTCTCTGTGTTGCCAGCAACTCTTCGGAGGTGATGGGGACTC  
ACGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGC  
TGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGTGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCT  
CAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCG  
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCC  
CAACCCCTTGTGGGGAGGGAATCGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACC

***Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup>-1 izolatının kısmi NRPS geni**

**GenBank:** KJ196376.1

GCCTACGTGATGTACACGTCGGGCTCCTCGGGGCGCCCAAGGGCGTGGTCGTGCCGCACGCGGGGCTGG  
CGAGCTTCGCGGCCGCCGAGATCGAACAGTTCGCCGTCACCGCCGACAGCAGGGTGCTGCGGTTCTCCTC  
ACCGAGCTTCGACGCCTCGGTGCTGGAGCTGTGCATGGCGCTGCTCTCGGGCGCCGCGGTGCTGGTGCCG  
GGGCCGGAGGTGCTCGCCGGCGAGGTGCTCGCCGGGGTACTCGCCGACCGCGCGGTGACCCATGCACTGA  
TCCCCGCCGCGGCGCTGGCCAGCATGCCCGCCGAGCCCCTGCCCGCCTTCGACGGCCTGATCGTCGGTGG  
GGACGCTGCTCGGCCGAGCTGGTACGGCGGTGGGCGCCGGGAAGCGGATGGTCAACGCCTACGGTCCG  
ACCGAGTCGACGGTCGCCGCCACGATCAGCGAGCCGCTGCTGCCGGGCGGCGGCTCCCGATCGGAAGGC  
CGGTGCGGGACACCCGAGTTCGTGCTGGACGGTGCCTGCTGTGAGGTTCCGGTCGGCATGCCGGGCGA  
GCTGTACGTGTCCGGGCGAGGACTGGCGCGGGTACCTGAAGCGGACGTCGCTGACCGCCGAGCGGTTCC  
GTGGCGACCCGTTCCGGCGCCCGGGGAGCGGATGTACCGCACCGGCGAC

***Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup>-1 izolatına ait kısmi Adenilasyon Domaini**

**Protein GenBank:** AHW98307.1

AYVMYTSGSSGAPKGVVPHAGLASFAAAEIEQFAVTADSRVLRFSPPSFDASVLELCMALLSGAAVVVP  
GPEVLAGEVLAVGLADRAVTHALIPPAALASMPAEPLPAFDGLIVGGDACSAELVRRWAPGRRMVNAYGP  
TESTVAATISEPLLPGGVPIGRPVRDRVFLVDGASCEVPVGMPEGELYVSGAGLARGYLKRTSLTAERF  
VAHPFGAPGERMYRTGD

***Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup>-2 izolatının kısmi NRPS geni (BNT52-2 nolu klon)**

**GenBank:** KJ196377.1

GCCTACGTGATGTACACGTCGGGCTCCACGGGCGTCCCAAGGGCGTGGTCGTGACCCACGCCGGGCTGG  
CCTCCTTCGCGGCCGCCGAAAGCCGACCACCTCCCGGTACCGCCGACAGCAGGGTGCTGCGGTTCTCCTC  
ACCGAGCTTCGACGCCTCGGTGCTGGAGCTGTGCATGGCGCTGCTCTCGGGCGCCGCGGTGCTGGTGCCG  
GGGCCGGAGGTGCTCGCCGGCGAGGTGCTCGCCGGGGTACTCGCCGACCGCGCGGTGACCCATGCACTGA  
TCCCCGCCGCGGCGCTGGCCAGCATGCCCGCCGAGCCCCTGCCCGCCTTCGACGGCCTGATCGTCGGTGG  
GGACGCTGCTCGGCCGAGCTGGTACGGCGGTGGGCGCCGGGAAGCGGATGGTCAACGCCTACGGTCCG  
ACCGAGTCGACGGTCGCCGCCACGTGGAGCGAGCCGCTGCTGCCGGGCGGCGGCTCCCGCATCGGGCGTC  
CGATGCGGAACACCCGAGTTCGTGCTGGACGGTGCCTGCTGTGAGGTTCCGGTCGGCATGCCGGGCGA  
GCTGTACGTGTCCGGGCGAGGACTGGCGCGGGTACCTGAAGCGGACGTCGCTGACCGCCGAGCGGTTCC  
GTGGCGACCCGTTCCGGCGCCCGGGGAGCGGATGTACCGCACCGGCGAC

***Amycolatopsis* sp. BNT52-2<sup>T</sup> izolatına ait kısmi Adenilasyon Domaini**

**Protein GenBank:** AHW98308.1

AYVMYTSGSTGRPKGVVTHAGLASFAAAEADHLPVTADSRVLRFSPPSFDASVLELCMALLSGAAVVVP  
GPEVLAGEVLAVGLADRAVTHALIPPAALASMPAEPLPAFDGLIVGGDACSAELVRRWAPGRRMVNAYGP  
TESTVAATWSEPLPGAASRIGRPMRNRVFLVDGASCEVPVGMPEGELYVSGAGLARGYLKRTSLTAERF  
VAHPFGAPGERMYRTGD

***Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatının kısmi NRPS geni**  
**GenBank: KJ489009.1**

GCGTACGTGATCTACACCTCCGGGTCCACCGGCAGGCCAAGGGCTGTGTCGTACGCACGCCAACGTCG  
TGGCGCTGCTGGAAGCGGCCCTGCCGCTCTTCGGGTTCCGGGCCGCGTGAGCGGTGGACGCTCTTCCACTC  
GCTGAGCTTCGACTTCTCCGTGTGGGAGATGTGGGTGCGTTCGTACCGGCGGGACGCTCGTCGTCGTG  
CCGGACGAGGTGCCGACCCGGTGCCGCCGGCTCACCGATCCGGACGTGTGCGAAGGGATCACTGCATGCG  
ACCAGGTGCCGCTTCGGCACTGGCCGCGGTGGACGAAACACAGGCCTCCGGGAGCACCCCTCGTGGTCGC  
GGGAGAGGCATGTCCGGCGAGCCTGGTGGAAACGCTGGTCCGAGAATCACCGGATGGGGAACGCGTACGGA  
CCGACCGAGGCCACGGTGTGCGTCACGTACAAGGAGCTGGACGACGCCGCGCTCGCCGGGTCGCCGATCG  
GGCGGGCGTTGCCGCATCTGTGCGGTGCGGGTGTGGACGCGGATCGGCGGCCCGTGGCGGTGGGTTCCGT  
CGGAGAGATGTGGGTACGGGGTGGGGCTGGCGCGGGTTACCCGAGGCGACCGGGAAGGACCGCCGAA  
CGCTTTGTGGCCACTCCGTGTCGACTACCGACCGGGATCTGGCGCACGGGCAGACGGGCGGGGAGCT  
GG

***Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatına ait kısmi Adenilasyon Domaini**  
**Protein GenBank: AHY84686.1**

AYVIYTSGSTGRPKGCVVTHANVVALLEAALPLFGFGRERWTLFHSLSFDFSVWEMWGAFTVGGTLVWV  
PDEVPTRCRRLTDPDVSEGITACDQVPPSALAAVDEQASGSTLVVAGEACPASLVERWSENHRMGNAYG  
PTEATVCVYKELDDAALAGSPIGRALPHLSVRVLDADRRPVAVGSGEMWVTGVGLARGYPRRPGRTAE  
RFVATPSCTTGPGIWRTGRRAGSW

***Streptomyces* sp. SM3513 izolatının kısmi NRPS geni (SM3513-1 nolu klon)**  
**GenBank: KJ372716.1**

CCCGGCTACCTGATCTTCACCTCCGGATCCACCGGCCGCCAACGGCGTGGTCGTGACCCACACCGGC  
ACCGCAAACCTGGCCGCCCGCAGATCGAACGGTTCGGGTGGGAGAAGGGGACCGGATGCTCCAGTTCCG  
CGTCCCGAGCTTCGACGCGGCCTTCTCCGAGGTCTGCACGGCGTGCTCCCGGGCGCGAACTGGTCCT  
CGCCGACAAGGACGAACTGACCCCGGCCGCCGCTGGCCGAGCTGCTCATCCGGCACCGGATACCCAC  
GTGACCCTGCCGCCCGCAGCCCTGCCGCTGCTCCCCCGGAGGCGCTCGCTCCGTCACCACCCTGGTCA  
CCGCGGGCGACGCCCTGCCGCGCGGTCCGCCGCTGGGGACCGGGCCGCCGGTTCGTAACGCGTACGG  
GCCGACCGAGGCCACCGTGTGCGCCACCATGAGCGAGCCGCTGACCGGCGACGACGAGCCGACGATCGGC  
GGCCCCCTGGGCGGGGCCCGCTCCACGTCTCGACGACCGGCTGCGCCCCGTGCCCCCGGTGTACCG  
GCGAGCTGTACATCGGCGGGCCGGGCTGGCCCGCGGCTACGCCGGCCGCCGGGACCGACCGCGGGCGG  
GTTCTGTTGGCCGATCCGTACGGCCCGCCGGGGGACGCGCTGTACCGCACGGGAGACCTGGTGCGCCA

***Streptomyces* sp. SM3513 izolatına ait kısmi Adenilasyon Domaini (SM3513-1 nolu klon)**  
**Protein GenBank: AHW98309.1**

PAYLIFTSGSTGRPNGVVVHTGTANLAARQIERFRVGEGRMLQFASPSFDAAFSEVCTALLPGAELVL  
ADKDELTPGRPLAELLIRHRITHVTLPPAALPLLPPEALASVTTLVTAGDALPRAVRRWGPGRRLVNAVY  
PTEATVCATMSEPLTGDEPTIGGPLGGARVHVLDDRLRPVPPGVTGELYIGGPGLARGYAGRPPTAAR  
FVADPYGPPGGRLYRTGDLVR

***Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatının ketosentaz/metil-malonil-CoA transferaz (pks I) geni (SM3501-1 nolu klon)  
GenBank: KJ196378.1**

GATTTCAAGTCGAACATCGGGCACCTGGAGGCGGGAGCGGGCGTCGCCGGGATCATCAAGACGGTGCTCG  
CGCTCCAGCATGAGCTGATCCCCGCCTCGCGGTGTCCACCGCCCCGACCCGCGCATCCCGTGGGGGGA  
GAACGGCCTGCGCCTCGCCACAGCGAACACCCCATGGCCCGCGGACCCCGGCCGCGCCGGGCCGGGGTG  
GCCAGCTACGGATACGGCGGGACAATCGCTCACACCGTCTGGAGGAAGCCCCGCGACCCGACCCGGGACC  
CCGTGCGAGCCGCCCTCCAGCCGCGGGGACAACCGCCACGGCGAGTTCCCGTTGCTTATCAGCGGGCGG  
CACCGCCGCGGGGATGCGCGGTACGCAGAGGAGCTCGCCGTGCACCTGGCGCAGCATCCGGGGGCGGAC  
GTTACCGCGCTGGGCGCGCCCTCTCCTGCAGGCGCAGCCATCTCAGCGAGCGGGCGGCCGTGCTGGTGC  
CTGACGCAGCGGAAGCCGTACCGGCGCTACAGGATCTGGCGAGGGAGGAAGAGCCCCAAAGCCGTCACC  
GGAAGGGTGCCGAGGGCGCAGGCGCCCGGAATCCGGTGTGGGTCTTCTCCGCATGGCTCCAATGGGCG  
GGATGGGCAGGGACCTGCTGGAGGAGGAGCGCCCTTCTTGCACGATCGAGGAGCTGGAGCCGGTCTATC  
GCAAGGAGGCTGGATATTCGCTGCTCTCGCTGCTCGCCGACGGTGTCCCGACGACACCGTTTCGCATCCA  
GGCGGCTCTCTATTGCGTGCAGACTGGGCTGCATGCTGTATGGCGCAGTTTGGGGGGGTGCAACCCTGCG  
GCCGTATCGGGCACTCGGTCCGGGATCGCCGCATCTGTGGCGGCCGGTGTCTCGATGCCCTGGACGTG  
CACGGCTTGGGGTGCCGGGCTCCCGCCTGCTGAAGCAGTCGTGGCCGGGCGCGATGGCATTGTGAGCTT  
GCGTTCAAGAGTGGCTCGGTCTGAAGGGCAGCGGACTCTAACGGCGTGGCGGCTCGAAAACCTCAGG  
TCATCTCGGACGACGCCCTGTTCCCTGTCCGGATTGCGGAAACAACACTCAGTGGGGCGCGATCCATGTCC  
TCCAACCCCATGAACTTTGCCCCCTTCCGAGTCCCACTTACCCCGCCATTGCGTTAAACCCTTGACCCG  
TAAAGCGGGGTGGGGTTGGCCACCGAAATTGATCGCCCCGTGCCTTGAGCCACCGGGAGTTGTTTTGCAA  
TTGGATGGTTGTTGATTCCACCCACCGACAAAGGGGGGGTTTTGCTCCTCCCCCCCCCGTTTTTTTA  
GCGCCGCGGGGGGGGGGGCGGAAAGGACCGCCCCAGGCAAACGGCCAAAGTTTT

***Streptomyces* sp. SM3501<sup>T</sup> izolatına ait kısmi ketosentaz/metil-malonil-CoA transferaz (SM3501-1 nolu klon)  
Protein GenBank: AHX22878.1**

DFKSNIGHLEAGAGVAGIIKTVLALQHELIPASRLSTAPDPRIPWGENGLRLATANTPWPAGPRRRRAGV  
ASYGYGGTIAHTVLEEAPRPHRDPVAAAPPAAADNRHGEFLLISGGTAAGMRAYAEELAVHLAQHPGAD  
VTALGAALSCRRSHLSERAAVLVADAAEAVPALQDLAREEPPKPSPEGCRGRRRPRIRCGSSPAWLQWA  
GWAGTCWRRSALLATIEELEPVYRKEAGYSLLSLLADGVPDDTVRIQAALYCVQTGLHAVWRSLLGGCNPA  
AVIGHSVRDRRICGGRCPRCPGRARLGVPGSRLLKQSSAGRDIIVSLRSKSGSRLKGSLLTAWRLENLR  
SSRTTPCSPVRIAETTQWGAHVLPHELCPSPPTYPRHCVKPLTRKAGWGPPKLIAPCLEPPGVVLQ  
LDGCCIPPTDKGGVLLLPPrFFSAAGGGRERTAPGKRPF

***Streptomyces* sp. SM3513 izolatının ketosentaz/metil-malonil-CoA transferaz (pks I) geni (SM3513-1 nolu klon)  
GenBank: KJ372715.1**

AAGTCGAACATCGGGCAGCCCAAGCCGCGGCCGGAGTGGCCGGCATCATCAAACCGTCATGGCCATGC  
GCCACGGCATCATGCCCAGGACCCTGCACATCGACGAGCCGACCCCCGAAGTCGACTGGACCACCGGCAC  
CGTGGAATCCTCACGGAATCCCGTGACTGGCCACCACCGACCAGCACCCCCGACGCGCGGCCGTCTCG  
TCCTTCGGGGTACGCGGCACCAACGCCACGTATCCTCGAACAGGCCCCACCACACAGAACCCACG  
CCTCGGAGCACCCCGGCAGGACCGGTGCCCTGGATACTCTCCGCGCACACCGAACCCGCCCTCCGGGA  
GCTGGCGCGCGGTTGGTGACGCGGCACGAGGAATCCGTAACGGACGTGGCCTACTCGTGCTGCACGGT  
CGCGCGCGCTGCCCTGCCGGCGGTATGATCGGCTCGACACGGGAGGACTTCGCCGCCGAACCTGAAG  
CGTTGACGTGCGGGTCCGGTCCGGCGTCAAGGTGGTCTTCGTCTTCCCCGGCCAGGGTTCGAGTGGAT  
CGGTATGGCCCGCGGGCTGTGGGAGAGCTCCGCCGTCTTCCGCGACAGCGTGCTGCGCACCGACCGCGCA  
CTGGCCGAGTTCGTGGACTGGTCCGCCGCGGCCGTACTGGCCGGCGAGCCGGGACGCCGGACCTGGACC  
GGGTGGACGTGGTCCAGCCGGTGCTGTTACGGTGATGGTGGCGCTGGCCAACGTGTGGCGGTCTACGG  
CGTGGAGCCCGCGGCCGTGGTGGGGCACTCACAGGGCGAGATCGCCGCCGCGCACGTGGCGGGCGGGCTG  
TCGTTACGGGACGCGGCCCGGGTGGTCCGCGCTGCGCAGCAGGGCGCTGACCGCGCTGGCCGGTGAGGGCG  
GCATGGTCCCGTCCAGCGGTGGTGGCATACTGGAGAACCTGCTGCGCCAGTGGGAGGGCCGGCTGTC  
GGTCCGGTGGTGAACGGGCCGAGGCAGTGGTGGTGTCCGGTCCAGTCCGCGCTGGAGGAACTGCTG  
GCCACCGAGGACCGCGCCCGGCGAGTCCGGTGGACTACGCGTCCCACTCGGCACAGGTGGAGCGGATCG  
AGGAGAAGCTGACCAGAACGCTGACCGACGTCCAGCCGATGACGTCCGCGGTGCCGCTGTCTCCACCGT  
GGTCCGGGACTGGATCGACACCGCGTCGATGGACACCGGCTATTGGTACCGGAACCTGCCG

***Streptomyces* sp. SM3513 izolatına ait kısmi ketosentaz/metil-malonil-CoA transferaz (SM3513-1 nolu klon)  
Protein GenBank: AHW98310.1**

KSNIGHAQAAAGVAGIIKTVMAMRHGIMPRTLHIDEPTPEVDWTTGTVELL TESRDWPTTDQHPRAAVS  
SFGVSGTNAHVILEQAPTTPEPHASEAPPAGVPWILSAHTEPALRELARRLVTRHEESVTDVAYSLLHG  
RAALPCRAVMIGSTREDFAAELEALTCGSGRASKVVFVFPQGSQWIGMGRGLWESSAVFRDSVLRDRA  
LAEFVDWSAAAVLAGEPGTPDLDRVDVQPVLFTVMVALANWRSYGVPEAAVVGHSQGEIAAAHVAGGL  
SLRDAARVVALRSRAL TALAGEGGMVAVQRSVAYVENLLRQWEGRLSVAVVGPEAVVVGQVAAL EELL  
ATEDRARRVAVDYASHSAQVERIEEKLTRTLTDVQPMTSRVPLFSTVVRDWIDTASMDTGYWYRNLR



## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Demet TATAR

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Aydın /1982

**Adres:** Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 55139 Kurupelit SAMSUN

**E-Posta:** demetatar@gmail.com

**Lisans:** Erciyes Üniversitesi Yozgat Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

**Yüksek Lisans:** Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

## TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR

- **Tatar, D.,** Sazak, A., Guven, K., Sahin, N. *Amycolatopsis cihanbeyliensis* sp. nov., a halotolerant actinomycete isolated from a salt mine. ***International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology***. Volume: 63 Pages: 3739-3743 (2013).
- **Tatar, D.,** Guven, K., Spröer, C., Klenk, H-P and Sahin, N. *Streptomyces iconiensis* sp. nov. and *Streptomyces smyrnaeus* sp. nov., two halotolerant actinomycetes isolated from Tuz (Salt) Lake and Camalti Saltern in Turkey. ***International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology***. Published ahead of print June 18, 2014, **DOI:** 10.1099/ij.s.0.062216-0.

## TEZDEN TÜRETİLEN SUNUMLAR

- **Tatar D,** Güven K., Sazak A., Şahin N. Tuz Gölü ve Tuz Havzalarından İzole Edilen Halofilik Aktinomisetlerin Moleküler Karakterizasyonu. **21. Ulusal Biyoloji Kongresi, Kongre Özet Kitabı, p. 313-314, 3-7 Eylül, İzmir, 2012 (Sözlü Bildiri).**
- **Tatar, D.,** Güven, K., Sazak, A., Şahin, N. Polyphasic taxonomic characterization of a novel *Amycolatopsis* sp. BNT52<sup>T</sup>, isolated from the Salt lake (Tuz Gölü) in Turkey, and determination of NRPS gene region. Poster presentation, ***the First International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, Congress abstract book, p. 94, 23-24 Kasım, İstanbul, 2012 (Poster).***
- **Tatar D.,** Veyisoglu A., Saygin H., Sahin N. Determination of biosynthetic gene and antimicrobial activities of halophilic actinomycetes isolated from different saline environments in Turkey. **8<sup>th</sup> Balkan Congress of Microbiology-Microbiologia Balkanica, p. 35, 2-5 Ekim, Veliko Tarnovo/ Bulgaria, 2013 (Poster).**