

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİYESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KAPADOKYA YÖRESİ TOPRAKLARINDAN AKTİNOMİSET
İZOLASYONU VE POLİFAZİK TAKSONOMİSİ**

TALHA GENÇBAY

DOKTORA TEZİ

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**KAPADOKYA YÖRESİ TOPRAKLARINDAN AKTİNOMİSET
İZOLASYONU VE POLİFAZİK TAKSONOMİSİ**

Talha GENÇBAY

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN
2019**

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Talha GENÇBAY tarafından hazırlanan “Kapadokya Yöresi Topraklarından Aktinomiset İzolasyonu ve Polifazik Taksonomisi” adlı tez çalışması 19/04/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Kamil IŞIK
Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı



Üye Prof. Dr. Mehmet Ali CENGİZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
İstatistik Anabilim Dalı



Üye Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



Üye Prof. Dr. Cihan DARCAN
Bilecek Şeyh Edebalı Üniversitesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı



Üye Prof. Dr. Kamil IŞIK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım. / / 2019

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

/ /2019

Talha GENÇBAY

ÖZET

Doktora Tezi

KAPADOKYA YÖRESİ TOPRAKLARINDAN AKTİNOMİSET İZOLASYONU VE POLİFAZİK TAKSONOMİSİ

Talha GENÇBAY

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kamil IŞIK

Bu çalışmada farklı Aktinobakteri üyelerinin polifazik taksonomisi gerçekleştirilip olası yeni Aktinobakterilerin literatüre kazandırılması amaçlanmıştır. Sınıflandırılma çalışmalarının hız kazanması, farklı habitatlardan Aktinomiset çalışılmasının önemini arttırmıştır. Türkiye’den Ürgüp-Göreme yöresinden temin edilen, olası Aktinobakteri suşlarının toprak izolasyonu 8 farklı seçici besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 530 Aktinobakteri suşu izole edilmiş ve bu izolatların 157’sinin 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yapılmıştır. Baz dizi analizleri Chromas Pro 1.7.6 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve filogenetik ağaçlar, neighbour-joining, maximum likelihood ve maximum parsimony algoritmaları ile MEGA 7.0 programında oluşturulmuştur. Muhtemel yeni tür olduğu belirlenen suşların verilerinin Genbank’a (NCBI=National Center for Biotechnology Information, US) depoziti, nümerik analizleri, *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri, detaylı yağ asidi ve menakinon analizleri, tüm hücre analizleri ve spor morfolojisi görüntülemeleri elde edilmiştir. *Amycolatopsis* sp. AG28 (DSM 104280) izolatının tüm polifazik tanımlama çalışmaları tamamlanarak *Amycolatopsis cappadoca* DSM 104280^T olarak ülkemiz topraklarından yeni tür olarak literatüre kazandırılmıştır. 16S rRNA gen bölgesi dizi analizlerine göre yeni tür oldukları belirlenen diğer Aktinobakteri üyelerinin de polifazik çalışmaları ivedilikle tamamlanarak ülkemizden bakteriyal sistematik literatürüne kazandırılacaklardır.

Mayıs 2019, 185 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kapadokya yöresi, Aktinobakteri, Polifazik taksonomi

ABSTRACT

Doctoral Dissertation

ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM CAPPADOCIA REGIONS SOIL AND POLYPHASIC TAXONOMY

Talha GENÇBAY

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Kamil IŞIK

In this study, polyphasic taxonomy of different members of actinomycetes will be performed and possible novel species are aimed to gain literature. Acceleration of classification studies has increased the importance of studying actinobacteria from different regions. Putative Actinomycetes strains were isolated from soil samples collected from different ecological habitats belonging to Turkey, Ürgüp-Göreme, using 8 different selective media. 530 actinobacteria strains were isolated and 157 of these isolates were performed to 16S rRNA gene sequence analysis. Obtained sequence data were aligned in Chromas Pro 1.7.6 programme and phylogenetic relationships of isolates were analysed in MEGA 7.0 and dendrograms were constructed by using neighbour-joining, maximum likelihood and maximum parsimony algorithms. Deposit of the sequence data of the strains to Genbank identified as likely to be new species, numerical analysis, *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* multilocus sequence analyses, whole cell assays, analyses of fatty acids and menaquinones, spore morphology analysis was made. All polyphasic identification studies of *Amycolatopsis* sp. AG28 (DSM 104280) isolate were completed and *Amycolatopsis cappadocia* DSM 104280^T as a new species from the territory of our country has been brought into the literature. According to 16S rRNA gene sequence analysis of identified novel species of other Actinobacteria members will immediately be gained to bacterial systematic literature from our country soil samples by completing polyphasic studies.

May 2019, 185 pages

Key Words: Cappadocia region, Actinomycetes, Polyphasic taxonomy

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince bana olan güven ve desteğini daima hissettiren, akademik eğitim hayatım süresince emeğini üzerimden esirgemeyen, çalışmalarımın yönlendirilmesi ve sonuçlandırılmasında büyük emeği geçen, tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Kamil IŞIK’a sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında fikir ve tecrübeleri ile beni yönlendiren Tez İzleme Komitesi üyelerim Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN ve Prof. Dr. Mehmet Ali CENGİZ’e şükranlarımı sunarım.

Üzerimde emeği olan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Fadime Özdemir KOÇAK’a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince tecrübelerinden istifade ettiğim Dr. Öğr. Üyesi Hilal AY’a; desteklerini her zaman hissettiğim sevgili arkadaşlarım Dr. Burak SÜRMEN, Dr. Salih SARICAOĞLU, Arş. Gör. Hayrettin SAYGIN, Arş. Gör. Cengiz NİGİZ ve Ahmet Rıdvan TOPKARA’ya teşekkür ederim.

Her zaman dualarıyla, maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan aileme, çalışmalarım esnasında bana destek olan canım eşime, güzel kızlarım Sare ve Simay’a teşekkür ederim.

Bu çalışma ARDEB-3001 destek gurubu ve 115Z792 numaralı proje ile Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

Nisan, 2019

Talha GENÇBAY

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT	i
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1. Aktinobakterilerin Sistematigi	3
2.2. Aktinobakterilerin Genel Özellikleri.....	4
2.3. Çalışılan Aktinobakteri Cinslerinin Genel Özellikleri	8
2.3.1. <i>Actinomadura</i> cinsi	8
2.3.2. <i>Amycolatopsis</i> cinsi	10
2.3.3. <i>Kribbella</i> cinsi	11
2.3.4. <i>Mycobacterium</i> cinsi	12
2.3.5. <i>Saccharothrix</i> cinsi.....	13
2.3.6. <i>Nocardia</i> cinsi	14
2.3.7. <i>Nonomuraea</i> cinsi	16
2.3.8. <i>Promicromonospora</i> cinsi	17
2.3.9. <i>Saccharopolyspora</i> cinsi	18
2.3.10. <i>Streptomyces</i> cinsi	20
2.4. Prokaryotik Sistematik	22
2.4.1. Nümerik taksonomi	23
2.4.2. Kemotaksonomi	24
2.4.3. Moleküler sistematik	24
3. METARYAL VE YÖNTEM	29
3.1. Araştırma Alanı ve Örneklerin Toplanması	29
3.1.1. Araştırma alanının yapısal özellikleri	30
3.1.2. Araştırma alanının jeomorfolojik özellikleri.....	30
3.2. Mikroorganizmaların Kullanılacağı Toprak Örnekleri	32
3.3. Mikroorganizmaların Toprak İzolasyonu.....	32
3.4. İzolatların Seçimi, Saflaştırılması ve Stoklanması	35
3.5. Test Suşlarının Genomik DNA İzolasyonu.....	38
3.6. 16S rRNA Gen Bölgesinin Amplifikasyonu ve Saflaştırılması	39
3.7. Moleküler Verilerin Analizi	40
3.8. Multi Gen Dizi Analizi.....	41
3.8.1. <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> , <i>trpB</i> ve <i>atpD</i> gen bölgeleri PZR amplifikasyonu ..	41
3.8.2. <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> ve <i>trpB</i> gen bölgeleri PZR amplifikasyonlarının kontrolü ve saflaştırılması	42
3.8.3. <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> ve <i>trpB</i> gen bölgelerinin dizi analizi.....	42
3.8.4. <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> ve <i>trpB</i> gen bölgelerine dayalı verilerin analizi ve filogenetik dendogramların oluşturulması	43
3.9. Fenotipik Karakterizasyon	44
3.9.1. Kültürel ve morfolojik özellikler.....	44
3.9.2. Nümerik taksonomi	45

3.9.3. Biyokimyasal testler	46
3.9.4. Degredasyon testleri	48
3.9.5. Besinsel testler	50
3.9.6. Tolerans testleri	50
3.9.7. Farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişim morfolojileri	51
3.9.8. Antibakteriyal aktivite testi	51
3.9.9. Tüm-hücre şeker analizi	52
3.9.10. Yağ asiti analizi	53
3.9.11. Polar lipid profilinin belirlenmesi	54
3.9.12. Menakinon profillerinin belirlenmesi	56
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	57
4.1. Toprak Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri	57
4.2. Mikroorganizmaların İzolasyonu	58
4.3. İzolatların Saflaştırılması ve Stoklanması	59
4.4. Test İzolatlarının Seçimi	60
4.5. Moleküler Tiplendirme Uygulamaları ve Analiz	64
4.5.1. Test suşlarının genomik DNA izolasyonu	64
4.5.2. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu, saflaştırılması ve sekans dizileme	64
4.5.3. Moleküler verilerin analizi	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	139
KAYNAKLAR	153
EKLER	179
EK 1 :Besiyeri ortamları ve Çözeltiler	179

SİMGELER ve KISALTMALAR

A	Adenin Bazı
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
bç	Baz Çifti (DNA)
C	Sitozin Bazı
DAP	Diaminopimelik asit
DDH	DNA-DNA Hibridizasyonu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPG	Difosfatidilgliserol
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
ddH₂O	Deiyonize Distile Su
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
EDTA	Etilendiamin-Tetra-Asetik Asit
g	Gram
G	Guanin Bazı
ISP	International <i>Streptomyces</i> Project
KCTC	Kore Tıp Kültür Koleksiyonu
M	Molar
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
nt	Nükleotit
PC	Fosfatidilkolin
PE	Fosfatidiletanolamin
PI	Fosfatidilinozitol
PIM	Fosfatidilinozitol Mannoit
PME	Fosfatidilmetiletanolamin
RNA	Ribonükleik Asit
rRNA	Ribozomal RNA
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
sp.	Tür (tek)
spp.	Türler
subsp.	Alttür
T	Timin Bazı
TE	Tris-EDTA Buffer
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
Tm	Erime Sıcaklığı
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Aktinobakterilerin biyoteknolojik uygulamaları.....	2
Şekil 2.1. <i>Streptomyces</i> cinsine ait farklı spor morfoloji şekilleri.....	21
Şekil 3.1. Ürgüp-Göreme yöresinden alınan toprak örneklerinin koordinatları.....	29
Şekil 3.2. Toprak örneklerinin toplandığı yörelerin (Kahvecidağı Tepe) yüksekten görünümü	30
Şekil 3.3. Ürgüp yöresi toprak örneklerinin bölge zemininden toplanması	31
Şekil 3.4. Toprak örneklerinin havanla dövülmesi.....	33
Şekil 3.5. Ringer çözeltilerini vortexle karıştırma.....	33
Şekil 3.6. Farklı besiyerleri yüzeyine otomatik pipet ile inoküle işlemi	34
Şekil 3.7. Eküvyon çubuklar yardımı ile toprak çözeltilerinin besiyeri yüzeylerine yayılması	34
Şekil 3.8. İzolasyon petrilerinden agar yüzeyine transfer işlemi.....	35
Şekil 3.9. 10-3'lük dilüsyonlarla hazırlanmış izolasyon petrilerine ait görüntü	35
Şekil 3.10. Transferi yapılmış plaklardan saf izolatlar elde edilmesi, ekimlerin gerçekleştirilmesi	36
Şekil 3.11. Test izolatlarının seçiminde renk gruplaması.....	37
Şekil 3.12. -20 °C de stoklanmış toprak izolatları.....	37
Şekil 3.13. Mikroorganizmaların geliştirilmesi ve pellet alımı.....	38
Şekil 3.14. Test suşlarından izole edilen genomik DNA'ların % 0.8'lik agoroz jele yüklenmesi ve kontrolü	38
Şekil 3.15. 16S rRNA dizi verilerinin hizalanması (Chromas Pro)	40
Şekil 3.16. Ezbiocloud Server'da test izolatlarının ve yakın akraba türlerin benzerlikler ve nükleotit farklılıkları.....	41
Şekil 3.17. Multipoint inokülatörün tablasına otomatik pipet ile transfer.....	45
Şekil 3.18. Allontoik asit oluşumu	47
Şekil 3.19. Üre hidrolizi görüntüsü	48
Şekil 3.20. On farklı besiyerine test izolatlarının ve bunlara en yakın tip türlerinin ekimlerinin gerçekleştirilmesi	51

Şekil 3.21. Antimikrobiyal aktivite testi hazırlık aşamaları	51
Şekil 4.1. Seçici izolasyon besiyerlerinin petri görüntüsü (a. Hümik-asit vitamin agar (Hayakawa ve Nonomura, 1987) b. Nisaşta-kazein agar (SC) (Küster ve Williams, 1964)) c. ISP5 agar (Pridham vd, 1957) d. ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966))	59
Şekil 4.2. Agar ortamına aktarılarak saflaştırılma yapılması	59
Şekil 4.3. 16S rRNA gen bölgesi analizleri için seçilmiş 157 izolatın bölgedeki dağılımı.....	60
Şekil 4.4. Farklı lokalitelerden izole edilmiş Aktinobakterilerin 16S rRNA gen bölgesinin PZR amplifikasyonu ürünü örnekleri. M, DNA Markör (Fermentas™; 100kb Gene Ruler)	64
Şekil 4.5. 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi sonuçlarına göre farklılık gösteren test izolatlarının cinslere göre dağılımı	65
Şekil 4.6. <i>Actinomadura</i> cinsine ait izolatın filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> DSM43111 ^T (X97886.1) tip türü kullanılmıştır.	66
Şekil 4.7. <i>Kribbella</i> cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak <i>Microlunatus phosphovorus</i> NM-1 ^T (AP012204) tip türü kullanılmıştır.	68
Şekil 4.8. <i>Mycobacterium</i> cinsine ait izolatın filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37RV ^T (NR044826) tip türü kullanılmıştır.	70
Şekil 4.9. <i>Nocardia</i> cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak <i>Streptomyces somaliensis</i> DSM 40738 ^T (AJ007403) tip türü kullanılmıştır.	72
Şekil 4.10. <i>Nonomuraea</i> cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak <i>Amycolatopsis orientalis</i> DSM 40040 ^T (X76958.1) tip türü kullanılmıştır.	74

- Şekil 4.11. *Promicromonospora* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Myceligenans xiligouense* XLG9A10.2^T (AY354285) tip türü kullanılmıştır. 76
- Şekil 4.12. *Saccharopolyspora* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Amycolatopsis australiensis* DSM 44671^T (FPJG01000006) tip türü kullanılmıştır. 79
- Şekil 4.13. *Amycolatopsis* cinsine ait izolatın filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces avermitilis* DSM 46492^T (AF145223) tip türü kullanılmıştır. 82
- Şekil 4.14. *Saccharothrix* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Umezawaea tangerina* MK27-91F2^T (AB020031) tip türü kullanılmıştır. 84
- Şekil 4.15. *Streptomyces* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Kitasatospora setae* KCTC 9793^T (JF424218.1) tip türü kullanılmıştır. 86
- Şekil 4.16. *Streptomyces* sp. HC44 izolatı ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir. 91
- Şekil 4.17. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatı ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir. 99
- Şekil 4.18. *Streptomyces* sp. GG61 izolatı ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir. 107
- Şekil 4.19. Test organizmalarına ve yakın tip türlerine uygulanan degradasyon testleri görüntüleri 116
- Şekil 4.20. Test organizmalarına ve yakın tip türlerine uygulanan karbon ve azot testlerinin görüntüleri 119

Şekil 4.21. Test organizmalarının ve yakın tip türlerinin %2 ve %4'lük tuz konsantrasyonunda gelişimi	120
Şekil 4.22. Test organizmalarının ve yakın tip türlerinin Allantoin, Nitrat, Üre ve Arbutin testleri hazırlık ve sonuç görüntüleri.....	122
Şekil 4.23. Test Organizmalarının ve yakın tip türlerinin farklı sıcaklık ve pH değerlerindeki gelişim görüntüleri	125
Şekil 4.24. <i>Amycolatopsis</i> sp. AG28 ve <i>Nonomuraea</i> sp. AG16 suşunun en yakın tip türleri ile on farklı besi ortamındaki gelişim görüntüleri	129
Şekil 4.25. Test izolatlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları. A) <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 ^T (1. <i>A. taiwanensis</i> KCTC19116 ^T 2. <i>Amycolatopsis</i> sp. AG28) B) <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 ^T (1. <i>N. endophytica</i> DSM 45385 ^T 2. <i>Nonomuraea</i> sp. AG16)	130
Şekil 4.26. <i>Amycolatopsis</i> sp. AG28, <i>Saccharopolyspora</i> sp. DC11, <i>Streptomyces</i> sp. HC44, <i>Streptomyces</i> sp. GC59 ve <i>Nonomuraea</i> sp. GG64 suşunun şeker profilleri (ST1: galaktoz (%1, w/v), arabinoz (%1, w/v), ksiloz (%1, w/v). ST2: mannoz (%1, w/v), riboz (%1, w/v), glukoz (%1, w/v) ve ramnoz (%1, w/v))	132
Şekil 4.27. <i>Streptomyces</i> sp. HG27, <i>Streptomyces</i> sp. GG61, <i>Actinomadura</i> sp. DG80 ve <i>Promicromonospora</i> sp. HG29 suşlarının şeker profilleri (ST1: galaktoz (%1, w/v), arabinoz (%1, w/v), ksiloz (%1, w/v). ST2: mannoz (%1, w/v), riboz (%1, w/v), glukoz (%1, w/v) ve ramnoz (%1, w/v)	132
Şekil 4.28. <i>Amycolatopsis</i> sp. AG28 (A), <i>Streptomyces</i> sp. AVC15 (B), <i>Streptomyces</i> sp. HG27 (C), <i>Streptomyces</i> sp. HC44 (D) suşunun spor yüzeyine ait taramalı elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü	135
Şekil 4.29. <i>Amycolatopsis</i> sp. AG28 türünün polar lipid profili. (DPG, difosfatidilgliserol; PE, fosfatidiletanolamin; PG, fosfatidilgliserol; PI, fosfatidilinositol; AL, aminolipit; L, lipid; PL, fosfolipit)	136
Şekil 4.30. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 türünün polar lipid profili. (DPG, difosfatidilgliserol; PE, fosfatidiletanoamin; APL, aminophospholipid; PI, fosfatidilinositol; PIM, fosfatidilinositol mannoside; AL, aminolipit; PL, fosfolipit)	137
Şekil 4.31. <i>Saccharopolyspora</i> sp. DC11 türünün polar lipid profili. (DPG, difosfatidilgliserol; APL, aminophospholipid; PG, fosfatidilgliserol; PI, fosfatidilinositol; AL, aminolipit; L, lipid; GL, glikolipit; PL, fosfolipit)	137
Şekil 5.1. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatu ve tip türlerinin <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>recA</i> , <i>rpoB</i> , <i>trpB</i> ve 16S rRNA gen bölgesi birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir.....	144

- Şekil 5.2. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA gen bölgesi birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir..... 147
- Şekil 5.3. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA gen bölgesi birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir..... 148



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Araştırma alanına ait lokaliteler.....	32
Çizelge 3.2.	PZR reaksiyonundaki şartlar.....	39
Çizelge 3.3.	16S rRNA'nın PZR amplifikasyonunda ve dizilemede kullanılan primerler	39
Çizelge 3.4.	Multi gen dizi analizi çalışmalarına ait amplifikasyon ürünlerinin elde edilmesinde kullanılan primerler	41
Çizelge 3.5.	<i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> ve <i>trpB</i> gen bölgeleri PZR reaksiyon şartları	42
Çizelge 3.6.	<i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> ve <i>trpB</i> gen bölgeleri baz dizileme analizinde kullanılan oligonükleotit primerleri	43
Çizelge 3.7.	İzolatların nümerik analizi için uygulanan testler	46
Çizelge 4.1.	Kapadokya Bölgesi'nden alınan toprak örneklerinin fizikokimyasal özelliklerine ait veriler.....	57
Çizelge 4.2.	Toprak örneklerinden seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri	58
Çizelge 4.3.	16S rRNA gen dizi analizleri yapılan aktinobakteri izolatlarının kod numaraları, izole edildikleri besiyerleri ve lokaliteleri.....	61
Çizelge 4.4.	<i>Actinomadura</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	67
Çizelge 4.5.	<i>Kribbella</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri ..	69
Çizelge 4.6.	<i>Mycobacterium</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri	71
Çizelge 4.7.	<i>Nocardia</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri ..	73
Çizelge 4.8.	<i>Nonomuraea</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	75
Çizelge 4.9.	<i>Promicromonospora</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri	77

Çizelge 4.10. <i>Saccharopolyspora</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri	80
Çizelge 4.11. <i>Amycolatopsis</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri	83
Çizelge 4.12. <i>Saccharothrix</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	85
Çizelge 4.13. <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri	87
Çizelge 4.14. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>atpD</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	92
Çizelge 4.15. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>gyrB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	93
Çizelge 4.16. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>recA</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	94
Çizelge 4.17. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>rpoB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	95
Çizelge 4.18. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>trpB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	96
Çizelge 4.19. <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>recA</i> , <i>rpoB</i> ve <i>trpB</i> birleştirilmiş dizileme analizlerine göre <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki distance matrix	97
Çizelge 4.20. <i>Streptomyces</i> sp. AVC15 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>atpD</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	100
Çizelge 4.21. <i>Streptomyces</i> sp. AVC15 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>gyrB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	101
Çizelge 4.22. <i>Streptomyces</i> sp. AVC15 izolatı ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>recA</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	102

Çizelge 4.23. <i>Streptomyces</i> sp. AVC15 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>rpoB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	103
Çizelge 4.24. <i>Streptomyces</i> sp. AVC15 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>trpB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	104
Çizelge 4.25. <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>recA</i> , <i>rpoB</i> ve <i>trpB</i> birleştirilmiş dizileme analizlerine göre <i>Streptomyces</i> sp. AVC15 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki distance matrix	105
Çizelge 4.26. <i>Streptomyces</i> sp. GG61 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>atpD</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	108
Çizelge 4.27. <i>Streptomyces</i> sp. GG61 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>gryB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	109
Çizelge 4.28. <i>Streptomyces</i> sp. GG61 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>recA</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	110
Çizelge 4.29. <i>Streptomyces</i> sp. GG61 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>rpoB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	111
Çizelge 4.30. <i>Streptomyces</i> sp. GG61 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>trpB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	112
Çizelge 4.31. <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>recA</i> , <i>rpoB</i> ve <i>trpB</i> birleştirilmiş dizileme analizlerine göre <i>Streptomyces</i> sp. GG61 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki distance matrix	113
Çizelge 4.32. Test organizmalarına Uygulanan Degredasyon Testlerinin Sonuçları.....	115
Çizelge 4.33. Test organizmalarına Uygulanan Karbon Testleri Sonuçları.....	117
Çizelge 4.34. Test organizmalarına Uygulanan Azot Testleri Sonuçları.....	118
Çizelge 4.35. Test Organizmalarının Farklı Tuz Konsantrasyonunda Gelişimi.	120
Çizelge 4.36. Test Organizmalarının Allantoin Nitrat, Üre ve Arbutin Testleri.....	121
Çizelge 4.37. Test Organizmalarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi.	123
Çizelge 4.38. Test Organizmalarının farklı pH değerlerinde gelişimi.....	124

Çizelge 4.39.	1. <i>Amycolatopsis</i> sp. AG28, 2. <i>A. pigmentata</i> KCTC 19330 ^T , 3. <i>A. taiwanensis</i> KCTC 19116 ^T , 4. <i>A. helveola</i> KCTC 19329 ^T , 5. <i>Nonomuraea</i> sp. AG16, 6. <i>N. spiralis</i> DSM 43555 ^T türlerine ait on farklı besi ortamındaki gelişim özellikleri.....	126
Çizelge 4.40.	1. <i>N. endophytica</i> DSM 45385 ^T , 2. <i>N. salmonea</i> DSM 43678 ^T , 3. <i>S. dendranthema</i> DSM 46699 ^T , 4. <i>Streptomyces</i> sp. HC44, 5. <i>S. vastus</i> DSM 40309 ^T türlerine ait on farklı besi ortamındaki gelişim özellikleri.....	127
Çizelge 4.41.	1. <i>A. jiaehensis</i> DSM 102127 ^T , 2. <i>A. viridis</i> DSM 43175 ^T , 3. <i>Actinomadura</i> sp. DG80, 4. <i>Nonomuraea</i> sp. GG64, 5. <i>S. spongia</i> DSM 103218 ^T , 6. <i>Saccharopolyspora</i> sp. DC11 türlerine ait on farklı besi ortamındaki gelişim özellikleri	128
Çizelge 4.42.	Antibakteriyal aktivite test sonuçları ve ölçülen inhibisyon zon çapları	130
Çizelge 4.43.	1. <i>Amycolatopsis</i> sp. AG28, 2. <i>Streptomyces</i> sp. HC44 izolatları ve 3. <i>Streptomyces vastus</i> DSM 40309 ^T 4. <i>Amycolatopsis helveola</i> KCTC 19329 ^T ; 5. <i>Amycolatopsis taiwanensis</i> KCTC 19116 ^T ; 6. <i>Amycolatopsis pigmentata</i> KCTC 19330 ^T ve tip türlerinin yağ asiti profilleri	134
Çizelge 5.1.	DSMZ (Almanya) ve KCTC (Güney Kore) kültür koleksiyonlarında depolanan suşlara ait numaralar	140

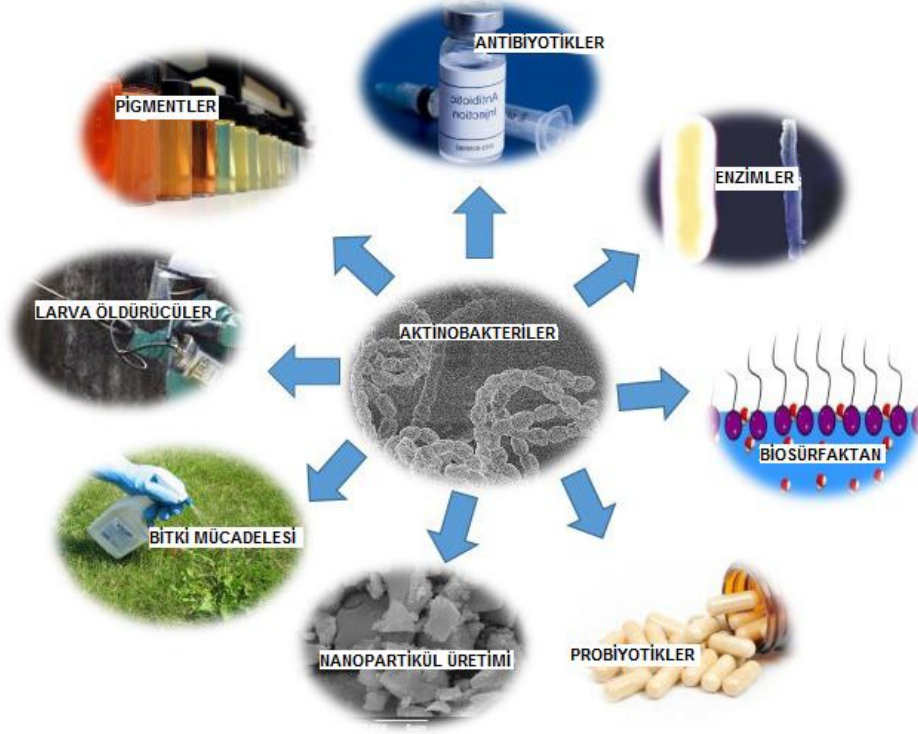
1. GİRİŞ

Canlı organizmaların içinde bulundukları ekosistemin çeşitliliği ve değişkenliği ile ilişkili olan biyoçeşitlilik, dünyanın en büyük hazinelerinden biridir. Farklı tanımları olmakla birlikte, türler arasındaki ve tür içindeki organizmaların çeşitliliği olarak da tanımlanmaktadır. Mikroorganizmaların yaşamını sağlayan ve onları sürekli etkileyen ekolojik koşulların farklılıkları ne kadar fazla ise mikrobiyal tür çeşitliliğide o kadar fazla olmaktadır. Toprak ekosisteminin ökaryotik organizmalara ait çeşitlilikten daha fazla mikrobiyal çeşitlilik barındırdığı da bilinmektedir. Bakterilerin çeşitliliği insan sağlığı ve sürdürülebilir tarım başta olmak üzere birçok farklı alanda önem arz etmektedir. Bakterilerin çeşitliliğini ortaya çıkarmak, canlı hayatının sürdürülebilirliği için oldukça önemlidir (Lee Roes-Hill ve Prins, 2016; Bhatti vd, 2017; Bach vd, 2018).

Aktinobakteri çeşitliliğinin bulundukları ekosistemin parametreleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Yeni metabolitlerin ortaya çıkarılması amacıyla, keşfedilmemiş habitatlardaki Aktinobakteri biyoçeşitliliği önem arz etmektedir. Aktinobakterilerin antibiyotik üretimleri ve bu antibiyotiklerin endüstriyel kullanımları, biyoaktif metabolitleri üreten bu organizmaların keşfinin önünü açmıştır. 1940’larda aktinomisin ve streptomisin antibiyotiklerinin keşfi aktinobakteriyal mikroorganizmalar için önemli bir başlangıç noktası olmuştur. Doğadaki bilinen sekonder metabolitlerin üreticilerine bakılırsa, aktinobakterilerin büyük potansiyeli olduğu görülmektedir. Öteyandan, aktinobakteriler 16.000 çeşit biyoaktif bileşik üretebilmekte iken, bunlardan yaklaşık 14.500 tanesinin de antibiyotik olduğu bilinmektedir. Aktinobakteriler içinde *Streptomyces* cinsi 12.400 biyoaktif bileşik ve 11.000 kadar antibiyotik çeşidiyle hala en yüksek potansiyele sahip gruptur. Aktinobakterilerden elde edilip tıpta kullanılan birçok antibiyotik olmakla birlikte, ticari olarak kullanılan birçok sekonder metabolitin varlığı bilinmektedir (Barka vd, 2016; Cumsille vd, 2017; Luepke vd, 2017).

Farklı biyoteknolojik uygulama alanlarında kullanılmakta olan Aktinobakteriler, toprakta da birçok ekstrasellüler enzim üreterek ölü bitki, hayvan ve fungus materyallerinin tabiattaki döngüsünde etkin rol oynamaktadırlar (Şekil 1.1). Özellikle biyolojik temizleme, besinsel ilişkili polimerlerin ayrışması, ekolojik

döngüdeki önemli yerleri ve sekonder metabolit üretme kapasitelerine bağlı olarak son dönemdeki araştırmaların odağı haline gelmişlerdir. Bazı türlerin daha kompleks ve zor ayrışan bileşikleri parçalayabildikleri yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Anandan vd, 2016; Bhatti vd, 2017).



Şekil 1.1. Aktinobakterilerin biyoteknolojik uygulamaları (Anandan vd, 2016)

Mikrobiyal zenginliğin ortaya çıkması için yapılan çalışmaların ilk adımını, farklı özellikte habitatlardan alınan örneklerin kültüre edilerek moleküler ve taksonomik karakterizasyonunun yapılması oluşturmaktadır (Lee Roes-Hill ve Prins, 2016; Bhatti vd, 2017).

Bu çalışma; ülkemiz mikrobiyal çeşitliliğine katkı sunmak ve yeni doğal ürünlerin araştırılmasına zemin oluşturmak için elde edilecek muhtemel yeni türlerin genotipik, fenotipik ve kemotaksonomik yöntemler kullanılarak cins ve tür düzeyinde tanımlanması çalışmalarını kapsamaktadır. Çalışılacak Kapadokya yöresi itibarıyla de elde edilecek olası yeni aktinobakterilerin literatüre kazandırılması ve aktinobakteri çeşitliliği bakımından bilgi sahibi olunması bu çalışmaya özgün bir değer yüklemektedir. Konu ile ilgili çalışmaların yayımlanması ile birlikte, ülkemiz topraklarından tanımlanmış olan olası yeni türler literatüre ve mikrobiyotaya dahil edilmiş olacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Aktinobakterilerin Sistematığı

Aktinobakteriler, yüksek G+C DNA içeriğine sahip Gram-pozitif bakteriler olmakla birlikte, bakteriler içerisinde yer alan en büyük taksonlardan birini temsil etmektedirler. Aktinobakterilerin filogenetik analizi, esas olarak 16S rRNA dizilerine dayanarak gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA geninin dışında, *atpD*, *dnaK*, *gyrB*, *grpE*, *rpoB*, *relA*, *recA*, *rpoB* ve *secY* gibi bazı alternatif moleküler belirteçler, *Bifidobacterium*, *Frankia*, *Kribbella*, *Mycobacterium*, *Nocardia* ve *Streptomyces* gibi belirli *Actinobacteria* gruplarının filogenetik ağaçlarının oluşturulmasında kullanılmıştır. Bunlara ek olarak tüm genom dizilerine ait verilerin yoğun bir biçimde artışı, genom yapısının ayrıntılı olarak kavranmasını sağlamaktadır (Mohammadipanah, 2017; Nouiou, 2017).

Aktinobakteri filumunun taksonomik konumu, 16S rRNA analizleri gerçekleştirilerek oluşturulmuştur. Son yıllarda yapılan sınıflandırma verilerine göre *Actinobacteria* sınıfı beş alt sınıf, dokuz takım, elli beş aile, iki yüz kırk cins ve üç bin türden oluşmakla birlikte, *Bacteria* domainindeki en dikkate değer filumlardan biri olmaktadır. *Catelliglobospora*, *Desertactinosporea*, *Devriesea*, *Fodinicola*, *Glaciibacter*, *Humibacillus*, *Hamadaea*, *Haloactinosporea*, *Klugiella*, *Marihabitans*, *Pseudosporangium* ve *Sciscionella* gibi cinsler ise filuma son yıllarda yeni katılanlardandır (Ludwig vd, 2012; Lawson, 2018, Saygın vd, 2019).

Actinobacteria sınıfı, *Actinomycetales* takımı içerisinde yer almaktadır (Tang vd, 2011). Bu sınıf içerisinde iki klad yer almakta ve ilk klad *Actinopolysporales*, *Corynebacteriales*, *Glycomycetales*, *Jiangellales*, *Micromonosporales*, *Propionibacteriales* ve *Pseudonocardiales* üyelerini içermekte iken ikinci klad *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales*, *Kineosporiales* ve *Micrococcales* üyelerini içine almaktadır. Buna ek olarak, *Frankiales* bir klad olarak kabul edilmez. *Frankiaceae*, *Acidothermaceae*, *Cryptosporangiaceae*, *Nakamurellaceae*, *Geodermatophilaceae* ve *Sporichthyaceae* familyalarının tamamı bağımsız soylar oluşturmaktadır (Barka vd, 2016; Lawson, 2018).

2.2. Aktinobakterilerin Genel Özellikleri

Aktinobakterilerin sınıflandırılması ve taksonomisinde öncelikli olarak, morfolojik, kimyasal ve fizyolojik karakterler gibi belirli özellikler fenotipik kriterler olarak kullanılmaktadır. Farklı cinsleri ortaya koymak için yeterli kabul edilmeselerde, morfolojik karakterler farklı taksonları gruplamada önemli kriterlerdir. Koloni morfolojisi, spor zinciri, substrat ve hava miselyum rengi ve yayılabilir pigment gibi özellikler ise, cinslerin farklılaşmasında hala önemli faktörler olarak ifade edilmektedir. Ancak bu özellikler filumun sınıflandırılması için yeterli bilgi sağlamamaktadır (Barka vd, 2016). 16S rRNA dizi analizlerinin temel alındığı Aktinobakterilerin sınıflandırılmasında, filogenetik ağaçları inşa etmek ve sınırlılıklarını gidermek için diğer moleküler belirteçlerin kullanımına da yoğunlaşılmıştır. Çok sayıda rRNA operonunda nükleotid varyasyonları ve 16S rRNA genlerinin yatay gen transferi, filogenetik ağaçlardaki taksonlar arasında nispeten güvenilir olmayan akrabalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Sentausa ve Fournier, 2013).

Günümüzde prokaryotların sınıflandırılmasında fenotipik, kemotaksonomik ve genotipik verilere dayanan polifazik taksonomi kullanılmaktadır (Schleifer, 2009). Morfoloji, antijenik özellikler, büyüme aralığı, metabolik üretim, patogeneze ve mikroorganizmanın ekolojisi, taksonomik analiz için uygulanan fenotipik yöntemler olarak ifade edilmektedir. Aktinobakterilerden *Streptomyces* gibi bazı cinslerde fenotipik özellikler yeni türler için her zaman yeterli olmamakta, bununla birlikte moleküler ve kemotaksonomik analizlerde gerçekleştirilerek taksonomik çalışmalar yapılmaktadır (Girard vd, 2013).

Uluslararası *Streptomyces* Projesinde *Streptomyces* türlerinin karakterizasyonu ve kültivasyonu için standart besiyeri kullanılmıştır (Shirling ve Gottlieb, 1966). Bu besiyeri koloni rengi, spor morfolojisi, aerial, substrat miselyumu ve çözünebilir pigment gibi karakterlerin tanımlanmasında kullanılır. Standart koşullarda sıvı besin içeren çalkalama şişelerinde suşlar kültüre edilir ve organizma için uygun olan ISP besiyerine aktarılır. Gelişim, hava miselyumu, spor üretimi ve çözünür pigment gibi özellikler RAL (Reichsausschuß für Lieferbedingungen – Deutsches Institut für Gütesicherung und Kennzeichnung e.V. – Alman Kalite Güvence ve Sertifikasyon Enstitüsü) renk kodları kullanılarak tanımlanmaktadır. Aynı zamanda

aktinobakteriler çeşitli morfolojileri barındırmakta olup, parçalı hif (*Nocardia*), küre (*Micrococcus*), çubuk-küre (*Arthrobacter*) ve yeterince farklılaşmış dallanmış misel yapısı (*Streptomyces*, *Frankia*) gibi farklı morfolojik özellikler gösterebilmektedir. Uzamış filamentli substrat miselyumu bulunduran *Rhodococcus* üyelerinde gerçek miselyum farklılaşması gözlenmemektedir (Barka vd, 2016).

Actinobacteria grubuna ait üyelerin çoğu kemoorganotrofik mikroorganizmalar olmakla birlikte, glikoliz reaksiyonlarını gerçekleştirebilmektedirler (Kieser vd, 2002). Gelişimleri için inorganik ve organik gelişim kaynaklarını kullanmaktadırlar. Karbon kaynağı olarak ise, disakkaritleri ve polisakkaritleri kullanabilirler. Mono ve disakkarit olarak fruktoz, galaktoz, glukoz, maltoz, mannitol, rafinoz, rhamnoz, sükroz ve ksiloz, polisakkarit olarak da nişasta ve selülozu kullanabilmektedirler. Aktinobakterilere ait birçok cins eskulin, tween 80, ksantin, jelatin ve kazein gibi organik bileşik ve makromolekülleri parçalayabilen enzimleri de üretebilmektedirler. Bu nedenle, malt ekstresi, yulaf ezmesi ve maya özütü gibi karmaşık bileşiklerin gelişimlerini artırdığı bilinmektedir (Goodfellow, 2012).

Türlerin sıcaklık değişimlerine karşı tepkisi, suşların farklılaşmalarını ortaya koyabilmek için değerli bir yaklaşımdır. Termofilik ve psikrofilik türler içermesine rağmen, çoğu Aktinobakteri türü için optimum sıcaklık aralığı 25–35°C olarak tanımlanmıştır. Psikrofilik mikroorganizmalar 0°C ile 20°C arasında gelişim gösterirlerken optimum gelişimleri <10°C, psikrotolerans gelişimlerinin optimal olarak 7-15°C aralığında olduğu belirlenmiştir. Psikrofilik ve psikrotolerant Aktinobakteriler kalıcı don, buzul içeren yada buzla kaplı olan deniz ve göllerde bulunmaktadır. *Arthrobacter*, *Brachybacterium*, *Cryobacterium*, *Frigoribacterium*, *Glaciibacter*, *Kocuria* ve *Modestobacter* cinsleri Aktinobakterilerin psikrofilik üyelerini temsil etmektedir. Termofilik Aktinobakterilerde *Streptomyces thermoautotrophicus* gibi termofilik türler olmasına rağmen, zorunlu oksijenli solunum yapanlar ve kemoorganotrofik olanlar da bulunmaktadır (Shivlata ve Tulasi, 2015).

Toprak pH'sının toprak aktinobakteri dağılım ve aktivitesini belirleyen önemli bir faktör olduğu bulunmuştur. Optimum olarak pH 7.0 değerinde varlık göstermektedirler. Alkali pH toleransı, aktinobakteriler için de gözlenmiştir. Örneğin pH 6.5–9.5 aralığında geliştiği tespit edilen *Streptomyces caeruleus* Kanada tuz gölünden izole edilmiştir (Shivlata ve Tulasi, 2015).

Aktinobakterilerin çoğu pH 5-9 arasında ve nötrofilik koşullarda yaşamayı isterler. Ancak asidofilik ve alkalifilik cinslerde tanımlanmıştır. Asidofilik bakteri cinslerinden olan *Aciditerrimonas*, *Acidimicrobium*, *Acidothermus*, *Catenulispora*, *Ferrithrix*, *Ferrimicrobium*, *Streptacidiphilus* ve *Streptomyces* üyelerinin pH 1.8-4 arasındaki değerlerde optimum gelişim gösterdikleri gözlenmiştir (Shivlata ve Tulasi, 2015).

Alkalifilik aktinobakteriler alkalifiller (pH 10-11 aralığında gelişir), alkalifilik ortama uyum sağlayanlar (pH 7-10 aralığında gelişir) ve alkalitolerans (pH 6-11 aralığında gelişir) olarak üç gruba ayrılabilir. Alkalifilik cinsler içerisinde *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Gordonida*, *Jiangella*, *Janibacter*, *Kocuria*, *Marmoricola*, *Nesterenkonia*, *Nocardiopsis*, *Nitriliruptor*, *Streptomyces* ve *Zhihengliuella* cinsleri yer almaktadırlar (Shivlata ve Tulasi, 2015).

Nocardiopsis cinsi 16 halofilik tür ile yüksek oranda halofilik veya halotoleran türleri barındırmaktadır. En yüksek tuz toleransı *Actinopolyspora algeriensis* ve *A. mزابensis*'te gözlemlenmiştir. Bu türlerin % 32 (w/v) 'ye kadar NaCl varlığında büyüme yeteneği olduğu gözlemlenmiştir. Bu cinse ait diğer türlerden olan *Actinopolyspora righensis*, *A. halophila*, *A. saharensis* ve *A. egyptensis* % 15-20 NaCl (w/v) varlığında optimum gelişim gösterirler. *Rubrobacter braccarensis* türünün tuz toleransı için en geniş aralığa (% 15-20 (w/v) sahip olduğu tespit edilmiştir (Hamedi vd, 2015).

Aktinobakteri örnekleri, türleri arasındaki farklılaşma için önemli olan bir özellik olarak çok çeşitli ekstraselüler enzimler üretebilme kapasitesine sahiptirler. β -galactosidase, α -maltosidase, *N*-asetil- β -glikozaminidaz, esteraz, lipaz, β -glikozidaz, üreaz, lösin, arilamidaz, sistein arilamidaz, tripsin, alkalik fosfat, asit fosfat ve α -fruktozidaz Aktinobakteri suşlarının tanımlanması için değerlendirilmiştir.

Lignoselülitik enzimler lignoselülozu parçalamak için Aktinobakteriler tarafından salgılanmaktadır. *Cellulomonas fimi*, *Microbispora bispora* ve *Thermobifida fusca* yaygın olarak lignoselüloz üreten Aktinobakterilere örnek olarak verilebilirler (Saini vd, 2015). Alkalik proteazlar *Cellulosimicrobium cellulans* (Ferracini-Santos ve Sato, 2009) *Nocardiopsis* sp. (Moreira vd, 2003) *Saccharomonospora viridis* (Jani vd, 2012) ve *Streptomyces clavuligerus* (Thumar

ve Singh 2009) gibi bazı Aktinobakteri üyeleri tarafından üretilmektedirler. Çoğu *Streptomyces* türünün kitinaz genlerine sahip olması, kitin hidrolize etmesine olanak sağlamaktadır (Chater vd, 2010).

Toprak mikroflorasının vazgeçilmezleri olan aktinobakteriler, bir gram toprakta bir milyondan fazla bulunabilmektedirler. Çeşitliliklerinin asidik ve anaerobik topraklarda daha az olduğu rapor edilmiştir. Nispeten kuru topraklar, bu mikrobiyatanın baskın cinsi olan *Streptomyces* üyelerine ev sahipliği yapmaktadır. Ayrıca, diğer ortamlardan daha fazla sayıda çöp, humus, gübre, toprak ve hatta kayaların yapısında bulunabilmektedirler (Goodfellow ve Williams 1983; Chater vd, 2010). Topraktaki *Streptomyces* cinsi, artrospor ve klamidospore formundayken uyku durumunda oldukları rapor edilmiştir. Yeni spor oluşumları ise organik substratların hızlı misel kolonizasyonu esnasında keşfedilmiştir (Lloyd 1969; Mayfield vd, 1972).

Her ne kadar topraktaki aktinobakterinin aktiviteleri, besin maddelerinin oranını kontrol etmek için önemli rol oynasa da, sıcaklık, pH, nem ve nem içeriği gibi çeşitli diğer faktörler de bu oranın belirlenmesinde önemli etkilere sahiptir. Toprak türünün farklı iklim bölgeleri kadar, mevsim ve iklim koşullarına bağlı olarak oluştuğu belirtilmiştir. Toprağın bu farklılaşmasına bağlı olarak, sıcaklıkta aktinobakteriyal popülasyonların kompozisyonunu ve büyüklüğünü belirlemede etkili bir faktördür. Önceki çalışmalar göstermiştir ki *Streptomyces* popülasyon büyüklüğü yaz aylarında daha yüksektir (Küster, 1976). *Nocardia* cinsi ise kışın daha büyük bir popülasyona sahiptir (Orchard, 1981). *Streptomyces malachiticus* (Küster, 1970) ve *Nocardia otitidis-caviarium* türlerinin yaşam alanı tropikal ve sub-tropikal topraklarla sınırlı olduğu bildirilmiştir (Schaal ve Bickenbach, 1978). Toprak nem oranı ve havalanması ise toprakta bulunan mikroflorayı önemli ölçüde etkilemektedir. Örneğin Avusturalyadaki yağmur fırtınaları ve kuru rüzgarlar topraktaki aktinobakteriyal popülasyon üzerine önemli etkileri olmuştur. Düşük nem konsantrasyonu topraktaki *Streptomyces* cinsinin radikal büyümesini düşürdüğü rapor edilmiştir (Keast vd, 1984).

Hemen hemen tüm topraklarda önemli miktarda kil ve humik kolloidal malzemeler bulunmaktadır. Kolloidler, mikrobial hücreler ve ekstraselüler ürünler arasında geçişler meydana gelmektedir (Chenu ve Stotzky, 2002). Pestisitler ve herbisitlerin de aktinobakteri popülasyonları üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Zararlı olduğu düşünülen kimyasallardan olumsuz olarak etkilenebildikleri gibi bu

maddeleri gelişimleri için substrat olarak kullanabilmektedirler. Örnek olarak *Nocardia* üyelerinden bazılarının fungusitleri karbon ve azot kaynağı olarak kullandıkları tespit edilmiştir (Bachofer vd, 1973). Toprakta yer alan hidrokarbon katkılarının *Arthrobacter* gelişimine etki ettiği gözlemlenmiştir. Petrol kontamine topraklarda *Nocardiae* ve *Rhodococcus* üyelerine sıklıkla rastlanabilmektedir (Nesterenko vd, 1982; Yadav vd, 2016).

2.3. Çalışılan Aktinobakteri Cinslerinin Genel Özellikleri

2.3.1. *Actinomadura* cinsi

Üstalem : *Bacteria*
Şube : *Actinobacteria*
Sınıf : *Actinobacteria*
Takım : *Streptosporangiales*
Aile : *Thermomonosporaceae*
Cins : *Actinomadura*

Lechevalier ve Lechevalier tarafından 1970’de tanımlanmış olan bu cins güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 86 türü ve iki alttür ihtiva etmektedir (URL-1: <http://www.bacterio.net/actinomadura.html> - Ocak 2019). Cinsin tip türü *Actinomadura madurae* ATCC 19425^T dir. 1970 yılında Lechevalier ve Lechevalier cinsi tanımlamaları sırasında “oksijenli solunum yapan, Gram-pozitif, asit-fast özellik göstermeyen, hareketsiz, hücre duvarı mezo-diamilopimelik asitçe (mezo-A₂pm) zengin ancak, karakteristik hücre duvar şekeri bulundurmayan (hücre duvar tipi III) özellikleri ile tanımlamasından dolayı *Actinomadura* cinsi diğer cinslere ait birçok üyeyi belirli bir zaman periyodunda içerisinde barındırmıştır (Lu vd, 2003). Endospor oluşturma özellikleri olmadığından *Thermomonosporaceae* familyasına geçmiştir (Cross ve Goodfellow, 1973). İçeriğinde bulunan türlerin belirsiz bir taksonomik geçmişe sahip olmasından dolayı *Actinomadura* cinsinin taksonomik olarak yeri kesinleşmemiştir. Zhang ve arkadaşlarının 2001 yıllarında yeni bir çalışma ile *Thermomonospora* cinsi içerisinde yer alan iki türün de *Actinomadura* cinsine, *Actinomadura* cinsi içerisinde yer alan dört türün *Actinocorallina* cinsine transferi teklif edilmiştir. Böylece *Actinomadura aurantiaca*, *A. glomerata*, *A. libanotica*, ve *A. longicatena*; *Actinocorallina* cinsine geçerken, *Thermomonospora*

formosensis ve *T. mesophila*; *Actinomadura formosensis* ve *A. mesophila* olarak *Actinomadura* cinsine geçmiştir (Zhang vd, 2001; Zhi vd, 2009).

Actinomadura cinsine ait üyeler düz, kanca veya spiral şekilli olan düzenli, pürüzsüz, dairesel spor yapısına sahiptirler (Tseng vd, 2009). Optimum 28°C’de gelişim gösteren üyelerinin yanı sıra, bazı türleri 25-40°C’de gelişim gösterirken, bazıları uygun gelişim için daha yüksek sıcaklıklara (50-65°C) ihtiyaç duyar. DNA’nın % G+C içeriği % 66-72 mol’dür (Wink vd, 2003; Wang vd, 2007).

Bu cins üyeleri kitin, ksantin ve xylan gibi maddeleri metabolize edememektedirler. Karbon kaynağı olarak şekerleri kullanmakta, birçoğu kazein, jelatin ve lignosellülozu parçalayabilmektedir. Bunlara ek olarak birçok bakterinin parçalayamadığı keratin maddesini parçalayabilen *A. keratinilytica* Kanada’da sığır gübresinden izole edilmiştir (Kroppenstedt ve Goodfellow, 2006).

Actinomadura cinsi bu özelliklerine ek olarak iyi bir biyoaktif sekonder metabolit üreticisi olarak tanımlanabilmektedir. Toprak izolatlarından bazıları tıpta kullanılan bazı antibiyotiklerin üreticileridir. *A. oligospora*, *A. kijaniata*, *A. macra*, *A. hibisca* antibiyotik üretebilme potansiyeline sahip olan türlerden bazılarıdır (Huang, 1980). Bazı yeni *Actinomadura* suşları toksijenik mantarlara ve patojen mikroorganizmalara karşı, ilginç antifungal aktivitelere sahiptir (Lahoum vd, 2016).

Çoğu *Actinomadura* türleri topraktan izole edilmiştir (Trujillo, 2012). Son zamanlarda literatüre kazandırılan suşlar klinik metaryellardan (Trujillo ve Goodfellow, 1997; Yassin vd, 2010) olduğu kadar çölden (Lahoum vd, 2016) , ormandan (Phongsopitanun vd, 2015), dağdan (Songsumanus vd, 2016), jeotermal olarak ısıtılmış toraktan (Jiao vd, 2015), bal arısından (Promnuan vd, 2011), mangrov sedimentinden (He vd, 2012) ve bitki dokularından (Qin vd, 2009; Rachniyom vd, 2015) da izole edilmiştir.

2.3.2. *Amycolatopsis* cinsi

Üstalem	: <i>Bacteria</i>
Şube	: <i>Actinobacteria</i>
Sınıf	: <i>Actinobacteria</i>
Takım	: <i>Pseudonocardiales</i>
Aile	: <i>Pseudonocardiaceae</i>
Cins	: <i>Amycolatopsis</i>

Amycolatopsis cinsi güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 76 tür ve dört alttür ihtiva etmektedir (URL-1: <http://www.bacterio.net/amycolatopsis.html> - Ocak 2019). Bu cinsin üyeleri, çubuk-benzeri ve karesel elementlere bölünen dallı substrat hifleri oluşturan Gram-pozitif, asit-fast olmayan, hareketsiz, çubuk benzeri ve dallı substrat hifleri oluşturan, hareketli olmayan aktinobakterilerdir. *Amycolatopsis* suşları peptidoglikanda mezo-diaminopimelik asit, arabinoz ve galaktoz, önemli miktarda fosfatidiletanolamin ve fosfatidilgliserol içerir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970, Lechevalier vd, 1977); genellikle baskın izoprenolog olarak tetrahydrogenated menaquinones (MK9 (H4)); doymuş, doymamış ve dallanmış zincirli yağ asitlerinin kompleks karışımlarına sahiptirler, ancak mikotoksidik asitlerden yoksundurlar (Tan ve Goodfellow, 2012; Busarakam vd, 2016).

Cinsin üyeleri doğal yaşam alanlarında yaygın olarak dağılmaktadır. Kore’de bir mağaradaki kurumuş yarasa dışkısından (Lee, 2006), Almanya’da farklı özelliklere ve yapılar sahip kaya yüzeyinden (Carlsohn, 2007), Kuveyt’te tarım yapılan bataklık topraklarından (Al-Musallam, 2003), Tayland’da orman toprağından (Jamjan, 2018) ve yine Tayland’dan pirinç rizosfer toprağından (Thawai, 2018), Türkiye’de Kapadokya yöresi toprağından (Işık vd, 2018) elde edilen yeni türler literature kazandırılmıştır.

Amycolatopsis suşları, en yaygın olarak, hem *Amycolatopsis meditteranei* (Sensi vd, 1959; Margalith ve Beretta, 1960; Lechevalier vd, 1986), hem de *Amycolatopsis rifamycinica* tarafından sentezlenen, klinik olarak önemli ansamisin antibiyotik, rifamisin, zengin bir yeni ikincil metabolit kaynağı olarak bilinirler (Bala vd, 2004). Cinsin üyelerinde biyosentetik gen kümeleri ve filogenetik soyların dağılımı arasında bir ilişki bulunmuştur (Adamek vd, 2018).

Ayrıca tüm genom dizileme çalışmalarında göstermiştir ki, *Amycolatopsis* suşları, antibiyotikler dahil olmak üzere, farklı metabolitleri sentezleyebilecek büyük bir potansiyele sahiptir (Tang vd, 2016; Adamek vd, 2018). Cinsin tip türü *Amycolatopsis orientalis* ATCC 19795^T dir.

2.3.3. *Kribbella* cinsi

Üstalem	: <i>Bacteria</i>
Şube	: <i>Actinobacteria</i>
Sınıf	: <i>Actinobacteria</i>
Takım	: <i>Actinomycetales</i>
Familya	: <i>Nocardiaceae</i>
Cins	: <i>Kribbella</i>

Kribbella cinsinin ilk olarak *Nocardioidaceae* ailesine ait olduğu tespit edilen bu cins güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 27 türü ihtiva etmektedir (URL-1: <http://www.bacterio.net/kribbella.html> - Ocak 2019)(Park vd, 1999). Cins Gram-pozitif, aerobik, asit-fast dirençsiz, hareketsiz, substrat miselyumları son derece dallanmış ve hava miselyumları kısa çubuk veya kokoid elementler şeklindedir (Sun vd, 2017). *Kribbella* türleri baskın yağ asitleri olarak *iso*-C_{14:0}, *iso*-C_{16:0} ve *anteiso*-C_{15:0} içerir; MK-9(H₄) ana menaquinone ve polar lipid olarak fosfatidilkolin içerir (Park vd, 1999). DNA G+C içeriği %66-77 mol arasında değişmektedir (Everest vd, 2013). Cinsin tip türü *Kribbella flavida* IFO 14399^T dir.

Kribbella suşlarının çoğu topraktan olmak üzere, örneğin *K. sandramycini*, *K. flavida* (Park vd, 1999), *K. koreensis* (Sohn vd, 2003), *K. ginsengisoli* (Cui vd, 2010) ve *K. jejuensis* (Song vd, 2004) Kore topraklarından; *K. alba*, *K. yunnanensis* (Li vd, 2006), *K. antibiotica* (Li vd, 2004), ve *K. amoyensis* (Xu vd, 2012) Çin topraklarından; *K. lupini* (Everest vd, 2008) ve *K. swartbergensis*, *K. karoonensis* (Kirby vd, 2006) Güney Afrika'daki topraklardan; *K. soli* (Koçak vd, 2017) Moskova park ormanı toprağından; *K. sindirgiensis* (Koçak vd, 2017) Türkiye-Sındırgı baraj toprağından izole edilmiştir. Buna karşılık, *Kribbella catacumbae* ve *Kribbella sancticallisti* (Urzi vd, 2008) Roma mezarlarında beyazımsı-gri tabakadan; *K. solani* patates yumrularının kabuk lezyonlarından; *K. lupini* *Lupinus angustifolius*'un kökünden literature kazandırılmıştır (Song vd, 2004, Trujillo vd, 2006).

2.3.4. *Mycobacterium* cinsi

Üstalem	: <i>Bacteria</i>
Şube	: <i>Actinobacteria</i>
Sınıf	: <i>Actinobacteria</i>
Takım	: <i>Actinomycetales</i>
Familya	: <i>Mycobacteriaceae</i>
Cins	: <i>Mycobacterium</i>

Mycobacteriaceae ailesi güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 198 türü ve ondört alttür ihtiva eden *Mycobacterium* cinsiyle literatürde yerini almıştır. Cinsin tip türü *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 27294^T dir (URL-1: <http://www.bacterio.net/mycobacterium.html> - Ocak 2019). Farklı doğal ortamlarda yayılış gösteren cinsin üyeleri, dünyanın pek çok yerinde insanların ciddi bakteriyel enfeksiyonlarından sorumlu olan *Mycobacterium tuberculosis* türünü içerir. Diğer *Mycobacterium* türleri çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedirler.

Mycobacteriaceae ailesi üyeleri uzun veya kısa çomaklar halinde, asit-fast dirençli, sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz ve aerobik özellik gösteren mikroorganizmalardır. Sabit hücre duvar yapısı gözlenmediğinden, gram pozitif veya gram negatif olarak sınıflandırılmazlar. Kapsül içermemelerine rağmen hücre duvarlar yapısında fazla miktarda lipid bulundururlar. *M. leprae* gibi bazı örnekler laboratuvar da hiçbir medyada kültür edilemez. Diğer türlerin çoğu şekerleri, basit alkoller ve asitleri hatta kompleks organik moleküllerden olan aromatik veya alifatik hidrokarbonları da kullanmaktadırlar. Tam bir elektron taşıma zincirine sahiptirler (Fukano vd, 2017; Krajewska-Wędzina vd, 2018).

M. bovis türü insan ve kuş tipi tüberküloz etkenlerinden farklı olarak besin ortamında gliserine ihtiyaç duymaz. Katı besin ortamında yayvan veya kuru-kabarık, oval veya kenarları düzensiz koloniler oluşturur. Üreme süresi 28-35 günü bulur. *M. tuberculosis* ise daha kısa zamanda daha fazla çoğalarak, kabarık, kuru, üzeri girintili ve pembe renkte koloniler meydana getirir. *M. avium* 38-41°C'de daha etkin bir şekilde ürer. Bunun aksine insan ve sığır tipi etkenler bu sıcaklık aralığında daha düşük bir üreme meydana getirir. Gliserinli sıvı besiyerlerinde *M. bovis* üst kısımda çoğalır. Kalınca ve buruşuk bir zar oluşturur. Bu zar belirli bir süre sonra dip kısma

çökerek bir tortu meydana getirir. Kuş ve insan tipi etkenlerde de bu etki mevcuttur (Fukano vd, 2017; Krajewska-Wędzina vd, 2018).

2.3.5. *Saccharothrix* cinsi

Üstalem: *Bacteria*

Şube: *Actinobacteria*

Sınıf: *Actinobacteria*

Takım: *Pseudonocardiales*

Familya: *Pseudonocardiaceae*

Cins: *Saccharothrix*

Saccharothrix cinsi (Labeda vd, 1984) *Actinobacteria* sınıfının *Pseudonocardiaceae* (Labeda, 2012) ailesine aittir. Takson şu anda *Actinosynnema*, *Alloactinosynnema*, *Lechevaleria*, *Lentzea* ve *Umezawaea* cinsleri ile yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir ve bu cins güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 27 türü ve dört alttür ihtiva etmektedir. Cinsin tip türü *Saccharothrix australiensis* ATCC 31497^T dir (URL-1: <http://www.bacterio.net/saccharothrix.html> - Ocak 2019) (Ibeyaima vd, 2018). Kemotaksonomik ve morfolojik kriterlerin bir kombinasyonu kullanılarak ayırt edilebilirler (Labeda, 2012; Li vd, 2015). *Saccharothrix* suşları, çubuk benzeri elementlere parça oluşturan substrat ve hava hifleri oluşturmaktadırlar. mezo-diamonopimelik asit (mezo-A2pm), galaktoz ve ramnoz bakımından zengin tüm organizma hidrolizatlarını üretir; doymuş, doymamış ve dallanmış zincirli yağlı asitlerin kompleks karışımları; difosfatidilgliserol, fosfatidiletanolamin, hidroksi-fosfatidiletanolamin, fosfatidilgliserol, fosfatidilinositol ve fosfatidilinositol mannosidlerin büyük oranlarını içerirler. Baskın izoprenologlar olarak dokuz ve on izopren birimleri ile tetrahydrojenli menaquinonları bulundurmaktadırlar (Labeda 2012; Mohammadipanah vd, 2015; Lin vd, 2016). Bu cinsin üyeleri, çöl toprakları dahil olmak üzere, temel olarak topraktan izole edilmiştir ve bakteri ve mantarlara karşı aktif olan yeni bir özel metabolit kaynağı olarak ilgi çekicidirler (Singh vd, 2000; Bouras vd, 2008; Boubetra vd, 2013a; Bouznada vd, 2016).

Güney Cezayir'deki Saharan çölü az keşfedilen bakteri habitatlarından biridir. Buradaki topraklar ekstrem mikrobiyomlar olarak kabul edilmektedirler. Bu ortam, çoğu yaşam formunu ciddi koşullarıyla sınırlamaktadır. Bununla birlikte, *Saccharothrix* cinsi gibi nadir bulunanlar da dahil olmak üzere farklı cinslere ait

birçok yeni aktinobakteriyel takson, bu ekstrem çevreden izole edilmiştir (Bouznada vd, 2017).

Gerçekten de, *Saccharothrix* cinsinin bir çok üyesinin (*Saccharothrix algeriensis* DSM 44581^T'de (Zitouni vd, 2004), *S. hoggarensis* DSM 45457^T'de (Boubetra vd, 2013a), *S. saharensis* DSM 45456^T'de (Boubetra vd, 2013b) ve *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T (Boubetra vd, 2015) literatüre ilave edilmesi, Sahra çölü topraklarından yapılan çalışmalarla gerçekleştirilmiştir. Dahası, bu Sahra suşlarının çoğunun mutaktimiksinler (Zitouni vd, 2004), ditiyolpirrolonlar (Bouras vd, 2008) ve kloramfenikol gibi yeni antibiyotiklerin potansiyel üreticileri olduğu belirlenmiştir (Aouiche vd, 2012).

2.3.6. *Nocardia* cinsi

Üstalemler: *Bacteria*

Şube: *Actinobacteria*

Sınıf: *Actinobacteria*

Takım: *Actinomycetales*

Familiya: *Nocardiaceae*

Cins: *Nocardia*

Trevisan (1889) tarafından önerilen *Nocardia* cinsi *Actinobacteria* sınıfında *Corynebacteriales* takımının *Nocardiaceae* ailesine aittir. Bu cins güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 119 türü ihtiva etmektedir. Cinsin tip türü *Nocardia asteroides* ATCC 19247^T dir (URL-1: <http://www.bacterio.net/nocardia.html> - Ocak 2019). *Nocardiaceae* ailesinin üyelerine karasal ve sucul habitatlardan, deniz organizmaları ve atık su sistemlerine kadar toplanan materyallerde sıklıkla rastlanır (Abdelmohsen vd, 2014)

Nocardia cinsi dallanmış filamentlileri bir arada bulunduran, Gram pozitif sonuç veren, aerobik, hareketsiz, katalaz pozitif ve tipik olarak da büyüme döneminin bazı evrelerinde asit-fast dirençli Aktinobakteri grubu üyeleridir. Koloni görünimleri pürüzsüz granüler yada düzensiz kırık olarak önemli ölçüde farklılık gösterir (Thawai vd, 2017).

Tüm hücre hidrolizatları mezo-diaminopimelik asit içermekle birlikte tanınal şekerleri arabinoz ve galaktozdur. Hücreler majör fosfolipit olarak difosfatidilgiserol,

fosfatidiletanolamin, fosfatidilinositol ve fosfatidilinositol mannositleri yapılarında bulundurulur (Minnikin ve Goodfellow, 1980). *Nocardia* cinsinin üyeleri genellikle doymuş düz zincirler, doymamış ve 10-methyl tipi yağ asitlerini içerir ve genomik DNA'nın G + C içeriği % 65.1 ile % 74.0 arasında değişir (Li vd, 2017).

Nocardia cinsi zengin biyoaktif metabolitlerin kaynağıdır. Amicoumacin B üreten *N. jinnensis* ve nitrik oksit sentetaz enziminin zengin *N. iowensis* türleri, biyoaktif metabolit üretebilme potansiyeli yüksek olan *Nocardia* türlerine örnek olarak 2009 yılında literatüre kazandırılmışlardır (Sun vd, 2009). *Nocardia* tarafından üretilen çeşitli biyolojik olarak aktif maddelerden brasilicardin A, chrysophanol 8-methyl ether, asphodelin, justicidin B ve ayamycin ise mantarlara, Gram pozitif ve Gram negatiflere karşı antimikrobiyal aktivite gösteren bileşikler, nocardichelin insan hücrelerinde yüksek sitotoksik aktiviteye sahip bileşikler olarak bildirilmişlerdir (Thawai vd, 2017).

Nocardia cinsinin bazı türleri bitki patojeni iken, bazıları fırsatçı insan patojenleridir. *Nocardia* genellikle immün yetmezliğine sebep olan, akciğer, beyin ve cilt dahil olmak üzere çeşitli insan organlarını etkileyen nocardiosis adı verilen bir hastalığa neden olur (Thawai vd, 2017).

Nocardia cinsinin üyeleri orman toprağı ve tuzlu toprak (Moshtaghi vd, 2015) dahil olmak üzere farklı toprak türleriyle, bazılarının ise endofit olarak bitkilerle ilişkili oldukları belirlenmiştir (Ghodhbane-Gtari vd, 2014). Deniz ortamları için çok sayıda *Nocardia* suşu deniz sedimentinden, kırmızı algden (*Laurenica spectabilis*) (El-Gendy vd, 2008), ascidiadan (*Trididemnum orbiculatum*) (Wyche vd, 2012), özellikle deniz süngerlerinden *Hymeniacidon perleve* (Zhang vd, 2006), *Craniella australiensis*, *Halichondria rugosa*, *Reniochalina* sp. ve *Stelletta tenuis* den (Zhang vd, 2008) izole edilmiştir.

Mağaralar çoğu zaman az ışıklı alan, az miktarda organik içerik barındıran ve sıcaklık açısından değişken özellik göstermeyen yaşam ortamlarıdır. *Nocardia* cinsi bu özelleşmiş ortamları ekosistemi olarak görmektedir. *N. altamirensis*, *N. jejuensis* ve *N. speluncae* gibi *Nocardia* türleri mağara ortamlarından izole edilip literatüre kazandırılmışlardır (Seo vd, 2007; Jurado vd, 2008).

Ananas ağacının kökünde patojen organizmalarla antagonistik ilişki içinde olan *Nocardia callitridis* türü izole edilmiştir. Böylece endofitik özelliğe sahip olan yeni bir aktinobakteri türü literature kazandırılmıştır (Lamm vd, 2009).

Nocardia zapadnayensis Moskova park ormanı toprağından izole edilmiştir (Koçak vd, 2016). *N. miyunensis* ve *N. jiangxiensis* asidik topraktan, *N. neocaledoniensis* ise ultrabazik yüksek oranda magnezyum içeren topraktan izole edilerek yeni *Nocardia* türleri olarak literatüre kazandırılmıştır (Saintpierre-Bonaccio vd, 2004; Cui vd, 2005; Yamamura vd, 2005). Şeker kamışı tarlası, petrol kontamine toprak, çam ağacı kökü, sahil kumu ve karstik mağara toprağı gibi çok farklı habitatlardan *Nocardia* suşları izole edilebildiğı gibi dünyanın farklı lokalitelerini temsil eden topraklardan da izolasyonları yapılmıştır (Chun vd, 1998; Işık vd, 1999; Wang vd, 2001; Albuquerque de Barros vd, 2003; Zhang vd, 2003; 2004; Xu vd, 2005; Seo ve Lee, 2006; Kampfer vd, 2007; Rodriguez-Nava vd, 2007; Yamamura vd, 2007; Sun vd, 2009; Kaewkla ve Franco, 2010; Li, 2017).

2.3.7. *Nonomuraea* cinsi

Üstalem	: <i>Bacteria</i>
Şube	: <i>Actinobacteria</i>
Sınıf	: <i>Actinobacteria</i>
Takım	: <i>Streptosporangiales</i>
Aile	: <i>Streptosporangiaceae</i>
Cins	: <i>Nonomuraea</i>

Streptosporangiaceae ailesine ait olan *Nonomuria* cinsi ilk olarak Zhang vd, (1998) tarafından önerilmiş, fakat cins adı daha sonra Chiba vd, (1999) tarafından *Nonomuraea* olarak değiştirilmiştir. Cinsin güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 50 türü ve iki alt türü ihtiva etmektedir (URL-1: <http://www.bacterio.net/nonomuraea.html> - Ocak 2019). *Nonomuraea* cinsinin üyeleri yaygın dallanmış substrat ve hava miselyumu oluşturmaktadırlar (Rachniyom vd, 2015). Hava miselyumları ya düz, spiral veya kancalı zincir şeklinde sporlara ya da katlanmış, düzensiz ve prüzüz tek bir spor halindedir (Quintana vd, 2003; Ka'mpfer vd, 2004; Zhao vd, 2011; Zhang vd, 2014).

Pekçok farklı *Nonomuraea* türü literature dahil edilmekle birlikte, cinsin tip türü *N. pusilla* ATCC 27296^T'dir (Nonomura ve Ohara, 1971; Zhang vd, 1998). *N. guangzhouensis* ve *N. harbinensis* (Wang vd, 2014) ve *N. shaanxiensis* (Zhang vd, 2014), *N. insulae* (Saricaoglu vd, 2018) ve *N. muscovyensis* (Kocak vd, 2014) yakın zamanda açıklanmış olan yeni türler olarak tespit edilmişlerdir.

Nonomuraea cinsinin üyeleri, kıyı tortuları, mağaralar, bitkiler, karasal ve mangrov rizosferik toprağı da dahil olmak üzere çok çeşitli doğal ortamlardan izole edilmişlerdir (Wang vd, 2011, 2013, 2014; Xi vd, 2011; Zhao vd, 2011; Nakaew vd, 2012; Zhang vd, 2014). *N. thailandensis* (Sripreechasak vd, 2013) ve *N. monospora* (Nakaew vd, 2012) yeni türleri Tayland'da topraktan izole edilerek literatüre kazandırılan örneklerdir.

2.3.8. *Promicromonospora* cinsi

Üstalem	: <i>Bacteria</i>
Şube	: <i>Actinobacteria</i>
Sınıf	: <i>Actinobacteria</i>
Takım	: <i>Micrococcales</i>
Aile	: <i>Micrococcaceae</i>
Cins	: <i>Promicromonospora</i>

Promicromonospora cinsi *Promicromonosporaceae* ailesi üyesi olarak, ilk kez Krasil'nikov vd (1961) tarafından tanımlanmıştır. Bu cins güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 17 türü ihtiva etmekte olup, cinsin tip türü *Promicromonospora citrea* ATCC 15908^T dir (URL-1: <http://www.bacterio.net/promicromonospora.html> - Ocak 2019). *Micrococcaceae* familyasının üyeleri peptidoglikan diaminoasidi (L-lizin), fosfolipit kompozisyonu (fosfatidilgliserol, difosfatidilgliserol) gibi kemotaksonomik karakterler bakımından özdeş özellikler göstermektedirler. Çubuk veya dairesel elementlere parçalı substrat miyselyumu *P. citrea* tip türünün karakteristik özelliğidir (Alonso-Vega vd, 2008). *Promicromonospora* cinsi temsilcileri baskın menaquinone olarak MK-9 (H4) içermektedirler. Cins üyelerinin genomik DNA G+C oranı % 70-75 olarak bildirilmiştir. Baskın hücresel yağ asidi olarak iso-C_{15:0} ve anteiso-C_{15:0} bulundurmaktadır (Schumann ve Stackbrand, 2014).

Promicromonosporaceae ailesine ait bu cinsin üyeleri gram pozitifdir. Substrat miselyumu agar içerisine nüfuz olabilmekte, substrat miselyumu gelişmiş ve hareketsiz, küre biçimli, Y-biçimli, V-biçimli veya kıvrımlı çubuksu elemanlar şeklinde parçalanmış özellik göstermektedir. Bazı ortamlarda belirli türler tek sesil, dairesel sporlar gözlemlenir. Agar ortamına yayılabilen pigment üretirler. *P. thailandica* kolonileri soluk yeşilimsi-sarı olmakla birlikte tip suşların kolonileri soluk sarıdan kreme, sarımsı beyazdan beyaza kadar değişen renkleri alabilmektedirler. Birkaç tip suş ksilan ve sellobiyozu parçalayabilir. *Promicromonospora* cinsi bazı agar ortamlarında hava hifleri oluşturabilselerde genellikle hava hifleri oluşturmadıkları gözlemlenmiştir (Schumann ve Stackbrand 2014).

Promicromonospora cinsine ait tip türler çok farklı habitatlarda yayılış göstermektedirler. Başta tıbbi ve tropik bitkiler olmak üzere (Zhao vd, 2011; Qin vd 2012); çinko ve kurşun madenlerinden (Mendez vd, 2008), duvarların küflü bölgelerinden (Martin vd, 2010), rizosferden (Mohammadipanah vd, 2017), çam ağacının sterilize edilmiş kök yüzeyinden (Kaewkla ve Franco, 2017), bahçe toprak örneklerinden (Jin vd, 2018) izole edildikleri rapor edilmiştir.

2.3.9. *Saccharopolyspora* cinsi

Üstalem	: <i>Bacteria</i>
Şube	: <i>Actinobacteria</i>
Sınıf	: <i>Actinobacteria</i>
Takım	: <i>Actinomycetales</i>
Aile	: <i>Pseudonocardiaceae</i>
Cins	: <i>Saccharopolyspora</i>

Saccharopolyspora cinsi *Saccharopolyspora hirsuta* ATCC 27875^T'nin tip tür olarak ilan edilmesiyle, Lacey ve Goodfellow (1975) tarafından literatüre kazandırılmıştır. *Saccharopolyspora* cinsi *Pseudonocardiaceae* ailesinin bir üyesidir ve güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 31 türü ve 3 alt türü ihtiva etmektedir (URL-1: <http://www.bacterio.net/promicromonospora.html> - Ocak 2019)(Embley vd, 1988; Stackebrandt vd, 1997; Zhi vd, 2009). Cinsin üyeleri aerobik, gram pozitif, asit-fast olmayan ve geniş dallı substrat miselyumu oluşturan hücrelerden oluşturmaktadırlar. Hava miselleri hareketsiz, boncuk benzeri zincirler oluşturabilir. Hücre duvarı

bileşimi kemotip IV ve *meso*-diaminopimelik asit, tüm hücre hidrolizatlarında karakteristik şekerler olarak arabinoz ve galaktoz, ayrıca *iso*- ve *anteiso* dallanmış yağ asitleri oluşturmaktadır. Baskın menaquinone tipi MK-9(H₄) ve mikolik asit içermemektedirler (Embley vd, 1987; Goodfellow vd, 1989).

Saccharopolyspora'nın öncelikli habitatlarından biri topraktır (Zhou vd, 1998; Lu vd, 2001; Yuan vd, 2008). Ayrıca, bronş kanseri olan bir hastadan da bir suş (Yassin 2009), samandan iki suş (Goodfellow vd, 1989), bir bataklık bitkisinden endofitik bir tür (Zhang vd, 2013), Çinde yer alan hipersalin bir gölden halofilik türler (Lv vd, 2014), Çin'deki Swallow Mağarası'ndan bir suş (Cheng vd, 2013), Ölü Deniz'den bir suş (Jiang vd, 2016) ve şeker kamışı tarlası toprağından termofilik bir tür (Wu vd, 2016) izole edilmiştir. *Saccharopolyspora* cinsinin üyeleri farklı biyoaktif sekonder metabolitler üretme yeteneğine sahiptir (Sun vd, 2017).

Saccharopolyspora türlerinin, nutrient agar (Lacey 1975), nişasta-kazein-arginin agar (Iwasaki vd, 1979), R8 agar (Amner vd, 1989), kazein hidrolizatlarla desteklenmiş tripton-soya agarı (Lacey 1989), maya ekstresi ve malt ekstresi agarı (Yuan vd, 2008), oatmeal agar (Lu vd, 2001), selüloz-kazein multi-tuzları agar (Tang vd, 2009) ve ketokonazol ve nalidiksik asit takviyesi ile nişasta kazein agar (Duangmal vd, 2010) ortamları kullanılarak izolasyonu yapılmıştır. Bu cinse ait izolasyonları gerçekleştirirken mantar büyümesini önlemek için agar ortamına 50 mg/ml cycloheximide eklenmiştir (Cross vd, 1968). İdeal pH aralığının çoğu suş için 5.0-9.0 olduğu gözlemlenmiştir (Zhang vd, 2009).

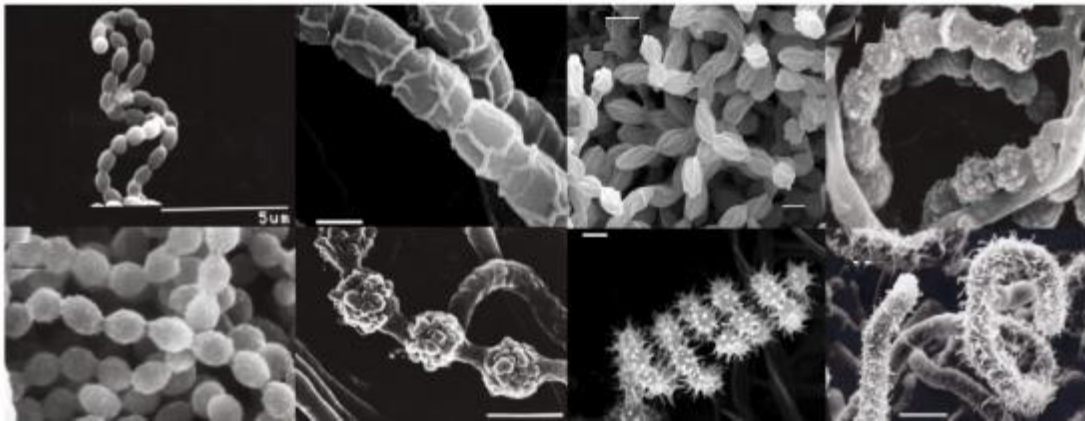
S. erythraea eritromisin A ve eritronolide B üretir (Martin ve Rosenbrook, 1967). Ayrıca tripsin benzeri proteaz (Yoshida vd, 1971), rennin benzeri bir enzim (Sternberg 1976) ve bir N-asetilmuramidaz (Morita vd, 1978) ürettiği rapor edilmiştir. *S. spinosa* türünün makrolid böcek öldürücülerden türetilmiş glikozillenmiş poliketid ürettiği tespit edilmiştir (Hong vd, 2008). *S. aurantica* CL307-24 olarak belirlenmiş haşere öldürücü bileşikler üretmekte (Etienne vd, 1993), *S. hirsuta*'nın ise bir siklik poliketit olan nodusmisin (Whaley vd, 1980) ve aminoglikozit kompleksi olan apramisin (Kamiya vd, 1983) ürettiği tespit edilmiştir.

2.3.10. *Streptomyces* cinsi

Üstalem	: <i>Bacteria</i>
Şube	: <i>Actinobacteria</i>
Sınıf	: <i>Actinobacteria</i>
Takım	: <i>Streptomycetales</i>
Aile	: <i>Streptomycetaceae</i>
Cins	: <i>Streptomyces</i>

1943 yılında Waksman ve Henrici tarafından önerilen *Streptomyces* cinsinin tanımlanmış tür sayısı 848 (buna ilave olarak 38 tane de alt tür) olarak belirlenmiştir. Cinsin tip türü *Streptomyces albus* ATCC 25426^T dir (URL-9: <http://www.bacterio.net/streptomyces.html> Ocak-2019). Ülkemizden *Streptomyces* cinsine ait *Streptomyces seymenliensis* B1041^T tip türü Orta Anadolu bölgesinde tuz gölünden toplanan toprak örneklerinden, *S. burgazadensis* Z1R7^T tip türü Marmara Bölgesi Burgazada toprağından ve *S. sediminis* tip türü MKSP12^T Orta Anadolu 'da bir krater gölünün kıyı tortusundan alınan toprak örneklerinden izole edilerek literatüre kazandırılmıştır (Tatar ve Sahin 2015; Sarıcaoğlu vd, 2014; Ay vd, 2018).

Streptomyces cinsine ait izolatlar spor oluşturmakla birlikte aerobik özellik gösterirler. Toprak ekosisteminde yaygın olan bu cinsin substrat miselleri dallanmalar gösterir ve cins hava misellerine sahiptir. Uzunlukları belirsiz, vejetatif fazda filamentlere sahiptirler. Hava misellerine sporofor adı verilir, bu sporoforlar koloni üzerinde büyür ve olgun sporları oluştururlar. Spor taşıyan kısımların şekilleri ve düzenlerindeki değişkenlikler, *Streptomyces* cinsi üyelerinin sınıflandırılmasında önemli bir yere sahiptir (Şekil 2.1) (Zhou vd, 2017).



Şekil 2.1. *Streptomyces* cinsine ait farklı spor morfoloji şekilleri (Li vd, 2016)

Streptomyces üyeleri çok farklı renklerde pigment üretme yeteneğine sahiptir. Sahip oldukları bu pigmentler hava ve substrat misellerine farklı renkler verirler. Bununla birlikte çözünebilir pigment üreten bu cins, agar ortamının rengini değiştirebilir (Goodfellow ve Simpson, 1987). Hücre duvarlarında LL-diaminopimelik asit (LL-DAP) ve glisin içerirler ancak karakteristik şekerleri bulunmamaktadır. A3 γ tipinde peptidoglikan ihtiva eden hücre duvar kompozisyonuna sahiptir. Bu cinsin üyeleri mikolik asit içermezler. DNA baz dizisinde %71-75 oranında (G+C) bulunur (Anderson ve Wellington, 2001; Schleifer ve Kandler, 1972).

Streptomyces cinsine ait türler farklı sıcaklıklarda optimum gelişme gösterebilmektedirler. 25-35°C sıcaklık ta optimum gelişme gösterenler olduğu gibi +4°C'de gelişebilen psikrofilik (Williams vd, 1989) ve 45-55°C'de gelişebilen termofilik (Goodfellow vd, 1987; Kim vd, 1998) üyeleri de bulunmaktadır. *Streptomyces* cinsine ait üyeler kitin, nişasta, lignosellüloz gibi organik maddeleri ve doğadaki bitki ve hayvan ölülerinde ekstraselüler enzimler üreterek parçalayabilmektedirler (Kämpfer, 2006).

Streptomyces cinsi üyelerde ilaç dirençli biyoaktif moleküller üretebilen mikroorganizmaların keşfi önemlidir (Clardy vd, 2006). Yeni *Streptomyces* türlerinin eldesinde tedavi edici bitkilerin rizosfer toprağında dahil olmak üzere, çalışılacak habitatların sıradışı olması göz önünde bulundurulmalıdır (Tiwari ve Gupta, 2012).

Deniz ortamlarının, biyoaktif bileşikler üreten yeni *Streptomyces*'in keşfinde potansiyel bir kaynak olduğu düşünülmektedir (Christensen ve Martin, 2017). Son yıllarda, deniz ve mangrov ortamlarında 20'den fazla yeni *Streptomyces* türü tespit edilmiştir. Mangrov, milyonlarca hektarlık kıyı alanını kaplar; dünyadaki en dinamik ortamlardan biridir ve karasal, tatlı su ve deniz türlerinin flora ve faunasının habitatıdır (Law vd, 2017). Son zamanlarda, mangrovlardaki mikroorganizma potansiyelinin değerlendirilmesi çok dikkat çekmiştir. Bu daha sonra yeni *Streptomyces* türlerinin keşfini sağlamıştır (Hong vd, 2009; Lee vd, 2014).

Streptomyces cinsinin, antitümör maddelerin araştırılması ve keşfedilmesi için önemli bir biyolojik kaynak olduğu düşünülmektedir. Anthracycline-bazlı ilaçlar, örneğin eritromisin, doksorubisin ve epirubisin, meme kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, serviks kanseri ve baş ve boyun kanseri dahil çeşitli kanser türlerini tedavi

etmek için klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçlar *S. peucetius* ve *S. nogalater* tarafından üretilmektedir (Nobili vd, 2009; Zhang Z.G. vd, 2015; Lu vd, 2017). Polipeptid metabolit daktinomisin, antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip bir antibiyotiktir. Antitümör aktivitesi Juliano ve Stamp (1978) tarafından doğrulanmıştır. Benzer şekilde, bleomisin, bir doğal hibrid peptid-poliketid metaboliti ve bir antitümör ilacı, *S. plicatus*, *S. chrysomallus* ve *S. verticillus* tarafından üretilmektedir (Juliano ve Stamp, 1978; Du vd, 2000; Lee J.H. vd, 2016). Mithramisin, iki deoksisugar zinciri (iki D-olivosun bir disakkariti ve D-olivozdan oluşan bir trisakkariti), bir D-olios ve bir D-mycaroz içeren bir aromatik poliketittir (Bilyk ve Luzhetskyy, 2016; Novakova vd, 2018). Dikkat çekici bir şekilde, bu bakteriler aynı zamanda benzersiz yapısal özelliklere sahip, antitümör aktivitesi sergileyen mitomisin C ve enediye bileşikler (kalicheamicins, neocarzinostatin ve lidamisin dahil) üretirler (Mao vd, 1999; Liu vd, 2005).

Streptomyces cinsinin üyeleri, mikrobiyal kökenli bilinen antibiyotiklerin yarısını üretmekte ve bunun % 75'inin *Streptomyces* cinsi tarafından üretildiği bilinmektedir (Be'rdy 2005; Goodfellow ve Fiedler, 2010). Antibakteriyel, antifungal, anti-inflamatuar ve antitümör aktiviteye sahip farmasötik olarak uygun bileşiklerin kaynağı olan *Streptomyces* cinsi günümüzde önemini korumaya devam etmektedir (Demain, 2014; Barka vd, 2016).

2.4. Prokaryotik Sistematik

Mikrobiyal sistematik mikroorganizmaların sınıflandırılması, tanımlanması ve isimlendirilmesi ile ilgilenir. Sistematik, organizmaların çeşitliliğini ve aralarındaki tüm yaşamsal ilişkileri, filogenetik akrabalıklarını ve olası biyolojik etkileşimlerini çalışmayı ifade eder (Prakash vd, 2007).

Prokaryotik taksonomisi, birbiri ile bağlantılı üç bölümden oluşur:

1. Sınıflandırma; benzerlik ve ilişki temeliyle oluşan organizma gruplarının düzenlenmesidir.

2. Nomenclature (adlandırma), uluslararası kurallara göre taksonomi gruplarının isimlendirilmesidir (International Code of Nomenclature of Bacteria) (Sneath, 1992).

3. Tanımlama ise, taksonomide yer alan önceden tanımlanmış türlerle olası yeni türleri tanımlamanın pratik bir yoludur.

Prokaryotların sınıflandırılmasında, eski geleneksel metotlar ile yeni geliştirilen metodolojilerin karşılaştırılması gerekmektedir. Moleküler ve fenotipik karakterlerin tamamı kullanılarak yapılan karşılaştırma ile bir suşun bilinen bir taksona mı ait olduğu yoksa yeni bir takson mu olduğu belirlenebilmektedir (Goodfellow ve Fiedler, 2010; Tindall vd, 2010).

Bakterilerin sınıflandırılmasında, genetik akrabalıklarının ortaya çıkarılması için kimya, moleküler biyoloji ve bilgisayar bilimindeki gelişmelerle, son zamanlarda dikkat edilmesi gereken değişiklikler kaydedilmiştir. Fenotipik ve genomik verilerin değerlendirilmesiyle oluşturulan polifazik taksonomi; nümerik taksonomi, kemotaksonomi ve moleküler taksonomiden oluşmaktadır (Goodfellow ve O'Donnell, 1993; Goodfellow ve Fiedler, 2010; Tindall vd, 2010).

2.4.1. Nümerik taksonomi

Nümerik taksonomi çalışmalarında, sabit genetik yapıda, çevresel faktörlerden etkilenmeyen ve deneysel ya da gözlemsel belirsizliklere özellikle duyarlı olmayan fenotipik karakterler dikkate alınır. Genel prosedür tüm genomu ifade etmek için biyokimyasal, kültürel, morfolojik, besinsel ve fizyolojik karakterlerin seçimini sağlamaktır. Taksonlar arasındaki farklılıkları ortaya koyabilmek için yeterli verinin temin edilmiş olması önemlidir, en azından 50 ve tercihen 100 ya da 200 ünite karakter çalışılmalıdır (Sneath ve Sokal, 1973; Stackebrandt vd, 1997). Çoğu karakter ünitesi ikili değerlendirilerek; karakterin sahip olduğu özellik 1 ya da + ve yoklukları 0 ya da - olarak kodlanır. Test sonuçları elde edilir edilmez duplike veya triplike çalışılan suşlara ait verilerin analizleri sonucunda güvenilir olmayan testlerin belirlenmesi ve analizlerden önce test setinden çıkarılması gerekir.

Nümerik çalışmalarda hedef, fenotipik verilerin geniş kullanımı ile benzer analiz sonuçlarına ulaşılmış ise suşlar aynı gruplara yerleştirilmektir. Nümerikte tanımlanan gruplar hakkında ulaşılan güncel verilere göre bu gruplar tanımlama sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılabilir (Priest ve Williams, 1993). Aktinobakterilerin sınıflandırılmasında nümerik taksonomik metotların kullanılması önemli gelişmeler sağlamıştır. Nümerik taksonomik araştırmalar, cins gibi kompleks aktinobakteri taksonlarını içeren kümeleri sınırlandırmada kullanılmıştır. Bunlara

örnek olarak *Actinomadura* (Athalye vd, 1985; Trujillo ve Goodfellow, 2003), *Actinomyces* (Schofield ve Schaal, 1981), *Actinoplanes* (Goodfellow vd, 1990), *Corynebacterium* (Goodfellow vd, 1982), *Gordonia* (Goodfellow vd, 1999), *Nocardia* (Goodfellow vd, 1999), *Mycobacterium* (Wayne vd, 1996), *Rhodococcus* (Goodfellow vd, 1998), *Streptomyces* (Williams vd, 1983; Kämpfer vd, 1991; Manfio, 1995), *Streptosporangium* (Whitham vd, 1993) ve *Thermomonospora* (McCarthy ve Cross, 1984) cimsleri verilebilir.

2.4.2. Kemotaksonomi

Kemotaksomi veya kemosisematik, yeni yöntemlerin geliştiği ve analitik aletlerin de uygulandığı, bakteriyal sistematiğe önemli bir etkiye sahiptir. Kemosisematik, yeni bakteri türlerini tanımlamak, gruplamak ve ortaya koymak için hücre kısımlarını ya da tamamı kullanılarak bilgi elde eden bilim dalıdır. Bu bilim dalı; aminoasitler, lipidler, proteinler ve şekerler gibi organik maddelerin dağılımıyla ilgilenmekte ve sınıflandırma ile tanımlama için gerekli bilgilerin ortaya konmasını sağlamaktadır.

Aminoasit ve hücre duvarı şeker analizlerinin taksonomik çalışmalarda kullanılması aktinobakterilerin sınıflandırılmasının geliştirilmesine ve yenilenmesine katkı sağlamıştır. Bununla birlikte aktinobakterilerin tanımlanmasında ve sınıflandırılmasında polar lipid, izoprenoid kinonlar ve yağ asidinden elde edilen kimyasal markörler yaygın olarak kullanılmaktadır. *Actinobacteria* sınıflarından *Actinomycetaceae* familyasında MK-9, MK-10(H₄), MK-9(H₄), MK-8, *Streptomycetaceae* familyasında MK-9(H₆), MK-9(H₈) ve *Promicromonosporaceae* familyasında MK-9(H₄) majör menakinonları bulunduğu tespit edilmiştir. *Streptomyces* cinsinin üyelerinde difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilethanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI) ve fosfatidilinosidolmannositol (PIMs) polar lipidleri yaygın bir şekilde gözlenmiştir (Goodfellow, 1989; Suziki vd, 1993; Lodders ve Kämpfer, 2007; Goodfellow, 2012; Jiang, 2016).

2.4.3. Moleküler sistematiği

16S rRNA gen dizileme

RNA'nın bir alt birimi olan ve yaklaşık olarak uzunluğu 1540 nükleotitten ibaret olan 16S rRNA gen bölgesi, filogenetik ilişkinin belirlenmesinde ve bakteriyal sistematiğe yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek oranda korunaklı bölgeleri

ihativa etmesinden, üzerinde heterojen bölgeler içermesinden ve yeterli veri tabanına sahip olmasından dolayı tür için spesifik olan 16S rRNA gen bölgesi prokaryotik türlerin tanımlanmasında oldukça faydalıdır. 16S rRNA sekans verileri genbanklarda saklanabilmekte ve gerek duyulduğunda bu verilere rahatlıkla ulaşılabilmektedir (Brown-Elliott, 2006; Zhi ve Stackebrandt, 2009; Tindall vd, 2010).

Yapılan karşılaştırmalar sonucu prokaryotik bir organizmanın 16S rRNA dizisinin diğer prokaryotlardan %3'ten fazla farklılığa sahip olması, bize bu organizmanın yeni bir türe ait olduğunu ifade etmektedir. Bunu destekleyen en önemli veri, 16S rRNA dizisinde % 98,5'den az benzerlik göstermiş olup, bu iki bakterinin DNA:DNA homolojisi yapıldığında % 70'den daha yüksek bir değer elde edildiği hiçbir örneğin varolmamasıdır (Konstantinidis ve Tiedje, 2007). Çalışmalarda, 16S baz dizilemenin genomik DNA hibridizasyonuna göre organizmaları tür seviyesinde ayırmada yetersiz olduğu ifade edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi baz dizisi yüksek oranda benzerlik gösteren bazı organizmaların oldukça farklı bir genoma sahip olduğu tespit edilmiştir. Bundan dolayı %97'den fazla dizi benzerliği olan durumlarda genomik hibridizasyon yeni türlerin ortaya çıkarılmasında kullanılan önemli bir taksonomik tekniktir (Coenye vd, 2005; Stackebrandt, 2006; Goodfellow ve Fiedler, 2010). Bunlara ilave olarak güncel çalışmalarda, sadece 16S rRNA gen bölgesinin yeni bir türü ortaya çıkarmak için yeterli olmadığını gösteren literatürler de gözlemlenmiştir (Kirby vd, 2010).

Mikrobiyal filogenetik akrabalıkların ortaya çıkarılmasında, rRNA dizilerinin kullanılması avantajları bulunmasına rağmen; yalnızca rRNA dizilerini temel alan filogenetik ağaçların kullanılması bazı potansiyel problemleri beraberinde getirebilir (Goldenfeld ve Woese, 2007). Öncelikle rRNA dizilerinin bazı karakteristikleri temel alınarak yapılan filogenetik ağaçlarda benzer nükleotidlerin sıklığı, farklı bölgelerdeki tekrar eden kısımların birbirinden bağımsız olmayışları, nesiller arasındaki tekrar oranlarındaki çeşitlilikler, uzak akraba taksonlar arasındaki DNA hizalamalarında bazı anlamsızlıklar sebebiyle türlerin gerçekte olduğundan daha yakınmış gibi görünmelerine neden olabilecektir. Bu durum filogenetik mutasyon oranının düşük olması ve birbiri ile ilişkili olan türlerde ayırt ediciliğinin düşük olması nedeniyle filogenetik markör olarak 16S rRNA dizisinin kullanılmasının dezavantajları olarak görülebilecektir (Woese vd, 1990; Viale vd, 1994; Boto, 2010).

Multilokus dizi analizi (MLST)

Ribozomal RNA genleri, fonksiyonel ve universal olarak yüksek derecede korunmuş yapıya ve daha fazla çeşitlilik ortaya çıkaran bölgelere sahip olduğu için filogenetik çalışmalarda odaklanması gereken alanların başında gelmektedir. Modern mikrobiyal taksonominin ana çatısını oluşturan 16S ve 23S rRNA gen dizilerinin dışında diğer protein kodlayan gen bölgelerinin de çalışılarak elde edilen verilerin analizi tavsiye edilmektedir (Coenye ve LiPuma, 2002). Ad hoc komite yayınlamış olduğu bildiride bakteriyal sistematiğe tür tanımlamalarının yeniden gözden geçirilmesi için housekeeping (kontrol) genlerinin kullanılmasını önermiştir (Stackebrandt vd, 2002).

Multilokus dizi analizi (MLST), bakteriyel türlerin karakterizasyonu için kullanılan moleküler bir teknik olmakla birlikte, mikroorganizmalar arasındaki filogenetik ilişkilerin tespit edilmesinde de önemli rol oynamaktadırlar (Woose, 1987; Maiden 2006). MLST *Actinobacteridae* alt sınıfında *Bifidobacterium*, *Kribbella*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Microbacterium*, *Microbispora* ve *Streptomyces* gibi bazı cinslerin tanımlanması ve sınıflandırılmasında kullanılmıştır. *Actinobacteria* sınıfı içinde *Frankia* suşlarının tanımlanmasında nitrojenaz demir protein geni *nifH*, *Microbacterium* ve *Aureobacterium* cinslerinde *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *ppk* genleri, *Mycobacterium* cinsinde *recA* rekombinaz tamir geni filogenetik analizler için araştırmaları yapılmış olan protein kodlayan genler olarak karşımıza çıkmaktadır (Richert vd, 2005; Richert vd, 2007; Gtari vd, 2007; Adékambi vd, 2011; Mohammadipanah, 2017).

Streptomyces cinsinin endüstriyel açıdan çok değerli olması bu cinsin sistematiğini önemli kılmıştır. *Streptomyces griseus* türü, 53 tane tip türle 16S rRNA gen bölgesi ve *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* korunaklı genleriyle multilokus sekans analizine tabi tutulmuştur. 16S sekans analizi yapılarak sınıflandırması yapılan *Streptomyces* türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* korunaklı gen bölgelerini kullanarak multilokus sekans analizinin gerçekleştirerek yeniden sınıflandırılması yapıldı. Fitopatojenik *Streptomyces* üyeleri de *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* korunaklı gen bölgeleri ile MLSA kullanılarak sınıflandırılmıştır (Guo vd, 2008).

Yakın akraba türleri daha iyi birbirinden ayırt edebilmek amacıyla farklı MLST gen bölgelerine ait çalışmalar yapılmıştır. Bu bölgelerden biri olan *rpoB* gen bölgesi

antibiyotik direnç bölgesi olduğundan, klinik açıdan önemli olan suşların ayrımında önemli olduğu görülmüştür. Devulder vd. (2005) yaptığı çalışmada, 97 *Mycobacterium* suşunun 16S rRNA, *hsp65*, *rpoB* ve *sod* gen bölgelerinin dizi analizleri gerçekleştirmişlerdir (Devulder vd, 2005).

Microbispora cinsine ait sınıflandırmaların birçoğu 16S rRNA'ya dayanmasına rağmen, taksonomik analizler gerçekleştirilerek elde edilen filogenetik ağaçların güvenilir olmadığı tespit edilmiştir. *Microbispora* türlerinin sınıflandırılması için 16S-*gyrB-rpoB* gen dizilerinden yararlanılmıştır. Taksonomik analizlere multilokus sekans analizlerinin önemli bir şekilde katkı sunduğu görülmüştür (Savi vd, 2016).

Nocardia türlerinin multi gen dizi analizine dayalı filogenisi ve tanımlamaları üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda 190 klinik tür, 36 tip tür ve 11 referans suşun 16S rRNA, *secA1*, *hsp65*, *gyrB* and *rpoB* gen bölgeleri analiz edilmiştir. Multi gen dizi analizi sonuçlarına bağlı olarak oluşturulan Neighbour-joining dendogramında bootstrap değerlerinin % 85'ten yüksek olduğu belirtilmiştir. Tüm bunlara ek olarak üç ya da dört gen bölgesinin kombinasyonu ile yapılan filogenetik analizlerin türlerin ayrışmasında oldukça etkili olduğu belirlenmiştir (McTaggart vd, 2010).

Tüm genom analizi

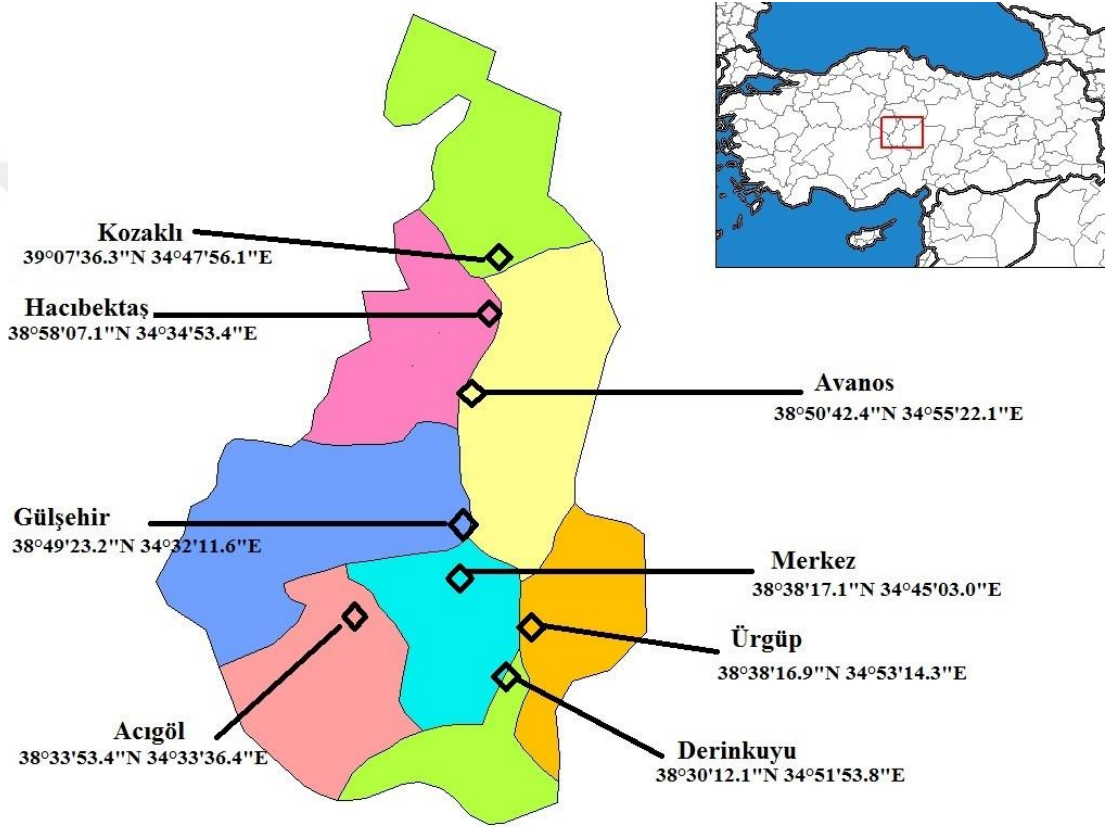
Genom analizi ile ilgili gelişmeler mikrobiyoloji, kanser hastalıkları, ilaç geliştirme ve tanıya yönelik araçların geliştirilmesi ile ilgili yapılan araştırmaları şekillendirmeye başlamıştır. Araştırmacıların daha hızlı, daha verimli ve daha az maliyetli yöntemler geliştirmek için yürüttükleri çalışmalar, yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerini ortaya çıkarmıştır. Bu teknolojiler geniş çaplı biyoinformatik yazılımlarla birleşerek, tüm genom dizileme çalışmalarında etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Metzker, 2010; Pareek vd, 2011; Glaeser ve Kämpfer, 2015)

Yeni nesil dizileme ile birlikte, genomu dizilenen bakteri sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Taksonomistlerin, tüm genom analizleri sonucunda oluşturdukları filogenetik ağaçlar ile daha fazla veri elde edebilmekte, böylece taksonlar arasındaki ilişkiler daha net bir şekilde ortaya konulabilmektedir. Tüm genom analizi, güncel bakteriyal sistematik alanında, artık olmazsa olmaz yapılması gereken çalışmalardan biri olarak yerini almış durumdadır (Pareek vd, 2011; Nouioua vd, 2018).

3. METARYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Alanı ve Örneklerin Toplanması

Kapadokya, Ürgüp-Göreme Yöresi Nevşehir ile birlikte Kırşehir, Niğde, Aksaray ve Kayseri illerine yayılmış farklı toprak tiplerini barındıran bir volkanik yöredir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Ürgüp-Göreme yöresinden alınan toprak örneklerinin koordinatları

60 milyon yıl önce Toroslar yükselmiş ve Kuzeydeki Anadolu Platosu'nun sıkışmasıyla yanardağlar etkin hale gelmiştir. Hasandağı, Erciyes ve ikisinin arasında kalan Göllüdağ, bölgeye lav püskürterek, platoda küllerin oluşturduğu yumuşak bir tuf tabakası meydana getirmiştir. Bu tabakanın yüzeyi kısım kısım sert bazalttan oluşan ince bir lav tabakasıyla örtülerek, bazalt çatlayıp parçalara ayrılmıştır. Yağmurların çatlaklardan içeri sızarak, yumuşak tufu aşındırmaya başlaması, ısınan ve soğuyan hava ile rüzgârların da oluşuma katılmasıyla, sert bazalt kayasından şapkaları bulunan koniler meydana gelmiştir (Yılmaz vd, 2010).

3.1.1. Araştırma alanının yapısal özellikleri

Şehri sınırlandıran yüksek sahaların yamaçlarında gri-beyaz renkli çapraz tabakalı miltaşı, çakıllı kumlu tüffit, kumtaşı, kıltaşı ile kaba kumtaşı ve çakıltaşından oluşan ortalama 200 m kalınlığındaki yüksekli formasyonları bulunmaktadır. Bu yapılar 25 milyon yıl önce meydana gelmiş yaşlı araziler olup çalışma sahasının içerisinde bulunmakta ve yerleşme sınırlarından oluşturmaktadır. Yüksekli formasyonları olarak adlandırılan birimin hemen üstünde Ağıllı Üyesi olarak adlandırılan aglomera, kıltaşı, kumtaşı ve tüfitten oluşan bir yapı bulunmaktadır ki bu yapılar Nevşehir dolaylarında yaklaşık 80 m kalınlığındadır (Arslan vd, 2017).

3.1.2. Araştırma alanının jeomorfolojik özellikleri

Yer şekilleri bakımından çalışma sahası karmaşık bir yapı göstermektedir. Sahanın jeomorfolojik özellikleri ve gelişiminden önce şehir ve çevresinin belirgin topografik görünümünden ve sınırlandırıcı bazı rölyef eşiklerinden bahsetmek gerekir. Nevşehir ve yakın çevresinin genel hatlarıyla orografik uzanışı kuzey-güney doğrultusundadır. Çalışma alanı doğu kısımda güneyden kuzeye doğru, Aşıklı Dağ, Oylu Dağı, Göbeli Tepe ve Kılıçdağ Tepe gibi yükseltilerle sınırlanmıştır. Nevşehir şehrinin kurulu olduğu alanın hemen güneyi ise Nevşehir Kalesi ve kalenin hemen güneyindeki ise Kahvecidağı Tepe gözlenmektedir (Şekil 3.2)(Arslan vd, 2017).



Şekil 3.2. Toprak örneklerinin toplandığı yörelerin (Kahvecidağı Tepe) yüksekten görünümü

Gerileyen kesimlerde bir geçiş zonu şeklinde aşınım yüzeyleri, glasiler (buzul), eksme (sıyırılmış) yüzeylerle yamaçlar şekillenmiştir. Araştırma alanında dönemsel aşınım dolgu birimler yanında pek çok yapısal şekiller bulunmaktadır. Bu şekiller daha çok nehrin güneyindeki alanın büyük bölümünü kaplayan volkanik şekillerdir. 25 milyon yıl önceden itibaren şiddetlenen tektonizma ve volkanizma, bu yörede önce orta (kayaç), sonra asitik, en sonunda da bazik malzemeler çıkarmış; bu malzemeler yapısal unsurları oluşturmuştur. rgp Formasyonu üzerinde genellikle dolgu ve aşınım yüzeyleri oluşmuşken, esas yapısal şekilleri bu formasyonu deforme eden veya kısmen örten daha genç volkanitler meydana getirmişlerdir. Bunlar; volkanik domlar (kayaç), volkan konileri, kl örtü ve konileri, kl halkaları ve lav akıntılarıdır (şekil 3.3)(Arslan vd, 2017).

Alanın bu jeolojik gelişiminde iç-dış etken ve süreçlerin birlikte etkili oldukları gözlenmektedir. Dış etmen ve süreçler genel olarak akarsu, i etmen ve süreçler ise yer hareketleri ve volkanizma olarak belirginleşmektedir (Arslan vd, 2017).



şekil 3.3. rgp yöresi toprak örneklerinin bölge zemininden toplanması

Nevşehir'in üzerine kurulduğu alan ile yakın çevresinin büyük bir bölümü plato yüzeylerinden oluşmaktadır. Arazinin genel yapısının volkanik olması ve geçirdiği jeomorfolojik gelişim süreci itibariyle oluşan platolar volkanik terselme platolarıdır. Ancak Kızılırmak nehrinin aşındırıcı gücü ve sahayı muhtelif yerlerde doğu-batı eksenli kateden faylar nedeniyle bu platolar farklı yükseltilerde uzanış gösterirler (Arslan vd, 2017).

Nevşehir bilindiği üzere İç Anadolu bölgesinde Kapadokya olarak adlandırılan alanın merkezinde bulunmaktadır. Bu alanın jeolojik-jeomorfolojik değişimi ile Nevşehir şehri çevresinin jeolojik-jeomorfolojik değişimi neredeyse eşdeğer bir anlam taşımaktadır (Arslan vd, 2017).

3.2. Mikroorganizmaların Kullanılacağı Toprak Örnekleri

Araştırma alanından (8 farklı lokalite) temin edilen toprak örneklerine kısaltma harfler verilmiştir (Çizelge 3.1). Toprak örnekleri 20-25 gr tartılarak 100 ml’lik behere konulmuş ve iyonizasyon için toprak örneği suya doyuncaya kadar yavaş bir şekilde saf su ilave edilerek karıştırılmıştır. İlave edilen saf su seviyesi örnekler üzerinde çıkınca, su ilavesi kesilmiştir. Örneklerin pH’ları yaklaşık 24 saat sonunda pH metre ile ölçülmüştür (Model 292, Unicam Ltd.). Örneklerin pH değerlerine ait ölçüm sonuçlarında farklılıklar olabileceği hesap edilerek, aynı örnekten alınan 3 ölçümün ortalaması hesaplanarak son değer belirlenmiştir (Reed ve Cummings, 1945). Ek olarak toprak örneklerine ait kalsiyum karbonat (Çağlar, 1958), organik madde (Jackson, 1958) ve nem içerikleri belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırma alanına ait lokaliteler

Sıra	Lokalite	Örnek cinsi	Kısaltma
1.	Merkez (NEVŞEHİR)	Toprak	M
2.	Acıgöl (NEVŞEHİR)	Toprak	A
3.	Avanos (NEVŞEHİR)	Toprak	AV
4.	Derinkuyu (NEVŞEHİR)	Toprak	D
5.	Gülşehir (NEVŞEHİR)	Toprak	G
6.	Hacıbektaş (NEVŞEHİR)	Toprak	H
7.	Kozaklı (NEVŞEHİR)	Toprak	K
8.	Ürgüp (NEVŞEHİR)	Toprak	Ü

3.3. Mikroorganizmaların Toprak İzolasyonu

Dilüsyon Plaka Yöntemi: Toprak örneklerinden 20-25 g alınıp oda ısısında petri kapları içinde 15 gün bekletilmiş ve kuruyan toprak örnekleri ayrı havanlarda dövülerek toz haline getirilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Toprak örneklerinin havanla dövülmesi

İzolasyona hazır hale gelen toprak örneklerinin her birinden 1 g tartılarak daha önce steril hale getirilmiş ve 9 ml Ringer çözeltisi içeren ve cam boncuk bulunan 20 ml'lik topraklara ait kodlarla etiketlenmiş şişelere konulmuş, 10^{-1} 'lik dilüsyonların her biri için 30 dakika boyunca çalkalama işlemi gerçekleştirilmiştir. İzolasyon plakları sıcaklığı 50°C 'e olan su banyosunda 20 dakika bekletilmiş ve bu şekilde kontaminasyon riski azaltılmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Ringer çözeltilerini vortexle karıştırma

10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} 'lük dilüsyonlardan otomatik pipet (P200: Nicheryo, Tokyo, Japan) ile alınan 0.2 ml olan çözeltiler, siklohekzimid ($50\text{ }\mu\text{g/ml}$), rifampisin ($5\text{ }\mu\text{g/ml}$), nistatin ($50\text{ }\mu\text{g/ml}$), novobiyosin ($10\text{ }\mu\text{g/ml}$), neomisin sulphate ($4\text{ }\mu\text{g/ml}$) ve nalidiksik asid ($10\text{ }\mu\text{g/ml}$) gibi antibiyotiklerin ilave edildiği Hümk-asit vitamin agar

(Hayakawa ve Nonomura, 1987), SM1 Stevenson's agar (Tan vd, 2006), SM2 Stevenson's agar (Tan vd, 2006), SM3 Gauze's agar (Tan vd, 2006), ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966), ISP5 agar (Pridham vd, 1957), Nisaşta-kazein agar (SC) (Küster ve Williams, 1964) ve Czapek's dox agar (CD) (Weyland, 1969) gibi farklı besi yerleri yüzeyine inoküle edilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Farklı besiyerleri yüzeyine otomatik pipet ile inoküle işlemleri

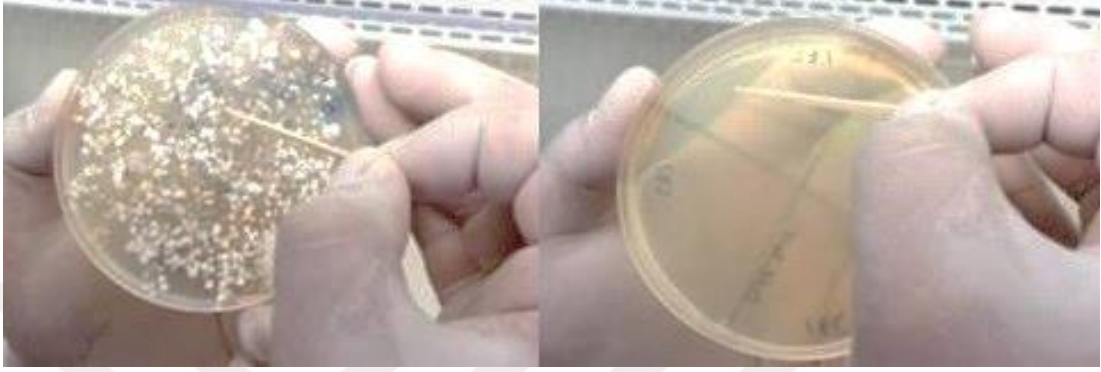
Steril eküvyon çubuklar yardımı ile toprak çözeltileri besiyeri yüzeylerine yayılmışlardır (Şekil 3.7). Her bir dilüsyon için 2 plak hazırlanmıştır. Bu plaklar, ağızları bağlı olmayan poşetlerde 28°C'deki etüvde 10-14 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Çalışma süresince tek kullanımlık steril plastik petriler (60 mm ve 90 mm, disposable petri dishes, Sterillin, UK) kullanılmıştır.



Şekil 3.7. Eküvyon çubuklar yardımı ile toprak çözeltilerinin besiyeri yüzeylerine yayılması

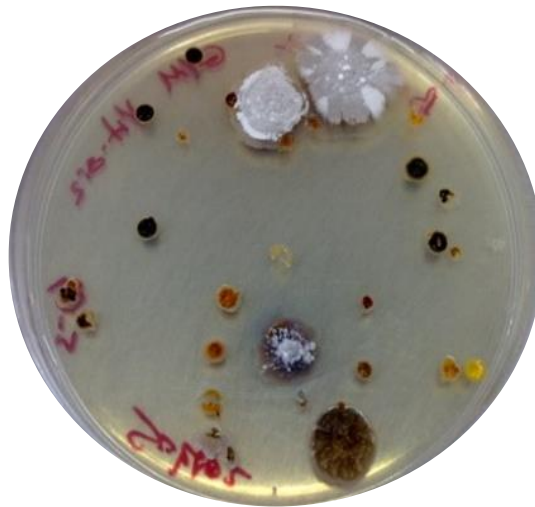
3.4. İzolatların Seçimi, Saflaştırılması ve Stoklanması

Ardışık dilüsyonlarla farklı seçici besiyerlerine aktarılan örnekler 28 °C’de 14-21 gün inkübasyona bırakılmış ve bu izolasyon plaklarından 10^{-1} ’lük dilüsyonlarla hazırlanmış izolasyon petrilerinden aktinobakteri olduğunu düşündüğümüz sporlu, deri benzeri ve yayılmayan koloniler seçilmiştir (Şekil 3.8).



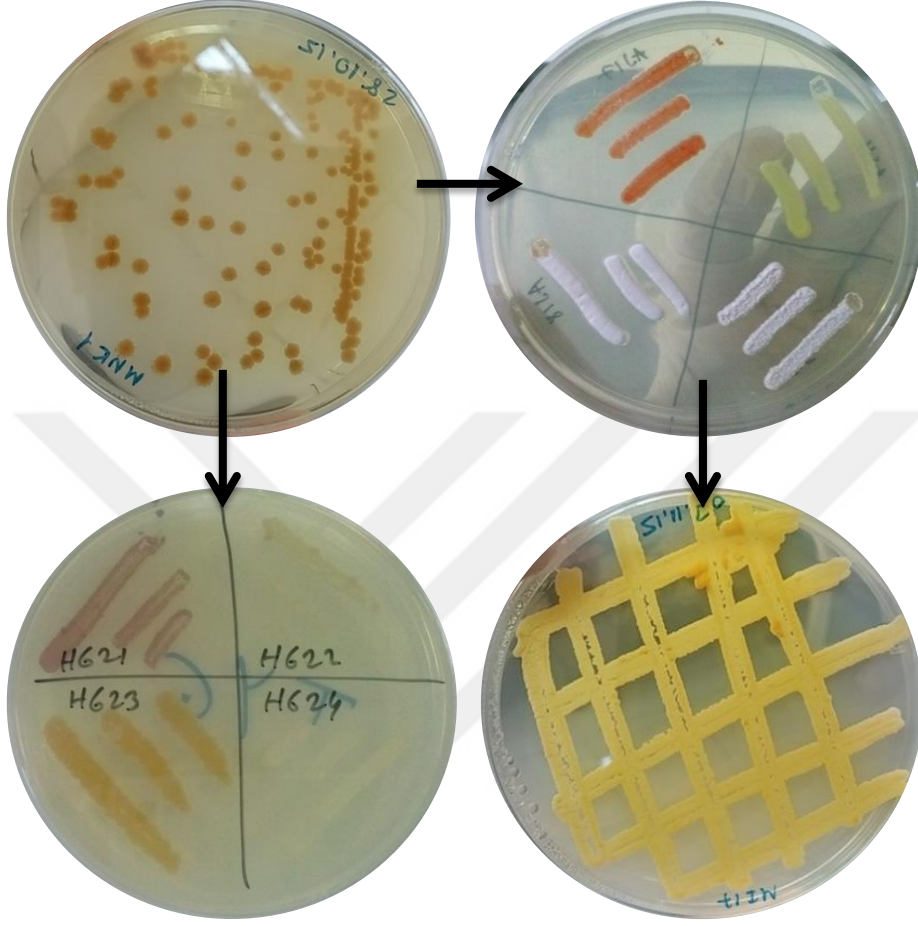
Şekil 3.8. İzolasyon petrilerinden agar yüzeyine transfer işlemi

Koloni seçiminde bölüm araştırma laboratuvarlarımızda bulunan çeşitli uluslararası kültür koleksiyonlarından temin edilen tip kültür ve mevcut referans suşlarla, morfolojik karşılaştırmaları yapılarak belirlenen aktinobakteri ve benzeri koloniler, steril kürdanlar kullanılarak cycloheximide (50 µg/ml) ilaveli tryptone yeast glucose extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930) yüzeyine transfer edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 10^{-3} lük dilüsyonlarla hazırlanmış izolasyon petrilerine ait görüntü

Transferi yapılmış izolatlar 28°C’de 14 günlük inkübasyon sonrasında saflaştırılan izolatların tek koloni ekimleri yapılarak, yoğun ekimleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Transferi yapılmış plaklardan saf izolatlar elde edilmesi, ekimlerin gerçekleştirilmesi

Toprak izolasyonu sonucunda toplamdaki 530 izolat cycloheximide ($50\mu\text{g ml}^{-1}$) ve rifampisin ($0,5\mu\text{g ml}^{-1}$) ilaveli tryptone yeast glukoz extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930), NZ-amin agar veya glukoz- yeast extrat agar (GYEA, Gordon ve Mihm, 1962) üzerine yoğunlaştırılarak ekilmiş ve 28°C’de ve 14 gün boyunca inkübe edilmişlerdir.

İnkübasyon sonunda gelişen test izolatlarından aynı olduğunu düşündüğümüz izolatlar çıkarılmış, 345 organizma %20’lik gliserol bulunduran otoklavlanabilir vidalı kapaklı tüpler (1.5 ml) içerisine kürdan veya steril bir öze yardımı ile transfer edilerek -20°C de stoklanmıştır (Şekil 3.12) (Wellington ve Williams, 1982). ISCC-NBS (Inter-Society Color Council-National Bureau of Standards Color-names

Chards Illustrated with centroid colors) (Kelly, 1964) uluslararası renk katoloğuna g re yapılan karşılaştırmalarla 28 farklı renk grubu oluşturulmuştur (şekil 3.11).



şekil 3.11. Test izolatların seçiminde renk gruplaması



şekil 3.12. -20  C de stoklanmış toprak izolatları

Renk gruplaması yapılan izolatlardan (her gruptan en az bir tane seşilmek kaydıyla) 157 tanesinin substrat ve hava miselyum ile  z n r pigment renkleri g zle ve binok ler mikroskopla (x400; Nikon, Tokyo, Japan) dikkatlice incelenerek katı besiyeri olan tryptone yeast glucose extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930) ortamında aktifleştirilmiş ve tryptone yeast glucose extract broth sıvı ortamında molek ler  alışmalar i in geliştirilmiştir (şekil 3.13).

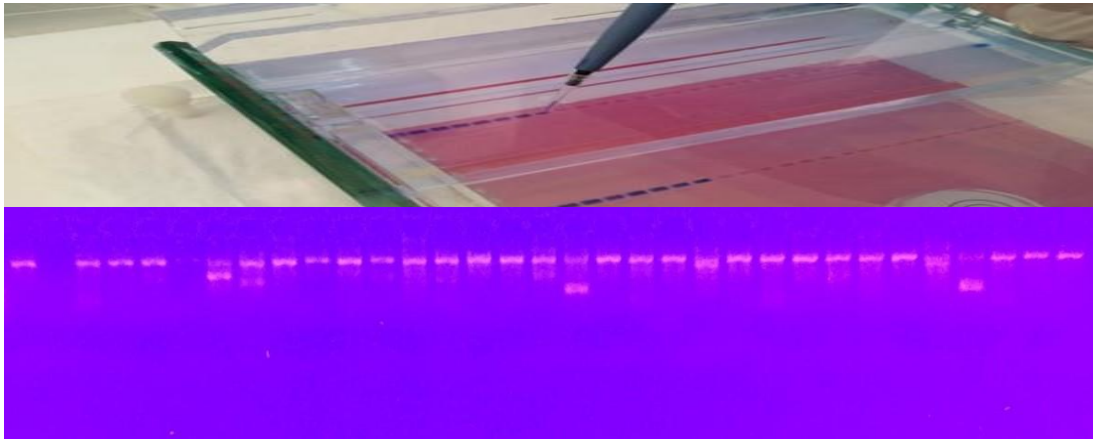


Şekil 3.13. Mikroorganizmaların geliştirilmesi ve pellet alımı

Sıvı besi yeri ortamında gelişen izolatlar 1.5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak sanrifüjlenmiş ve TE (Tris-EDTA) tamponu ile yıkanmıştır. Pelletler DNA izolasyon işlemine kadar -20 °C'de stoklanmıştır.

3.5. Test Suşlarının Genomik DNA İzolasyonu

Test organizmalarının genomik DNA'ları, PureLink® Genomik DNA Mini kiti (Invitrogen, USA) kullanılarak elde edilmiştir. Uygulamada test organizmalarına ait hücre pelletleri 100 µl TE (10mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8) tamponu ile tekrar yıkanmış, lizozim (50 mg/ml⁻¹), proteinaz K (100µg/ml) gibi enzimler ve triton-x 100 (% 2) gibi deterjanlar ile muamele edilerek hücre duvarları yıkılmış, sonra proteinaz K ve RNaz (10 mg/ml⁻¹) uygulamasıyla olası protein ve RNA kontaminasyonları giderilerek elde edilen saf DNA'lar, etidyum bromür (10 mg/ml⁻¹) ilaveli agoroz jelde (% 0.8) kontrol edildikten sonra kullanıma kadar -20 °C de stoklanmıştır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Test suşlarından izole edilen genomik DNA'ların % 0.8'lik agoroz jelle yüklenmesi ve kontrolü

3.6. 16S rRNA Gen Bölgesinin Amplifikasyonu ve Saflaştırılması

Test organizmalarından elde edilen DNA örneklerinden 16S rRNA genini kodlayan DNA bölgesinin amplifikasyonu için iki evrensel primer (27F ve 1525R; Lane, 1991) kullanılarak ve 0.5 ml'lik PZR tüplerinde Termal Cycler (PZR Express, Thermo Hybaid) ile gerçekleştirilmiştir. Denatürasyon, amplifikasyon, bitiş ve soğuma basamaklarından oluşan 35 döngü sonucu 16S rRNA gen bölgesi elde edilmiştir. PZR reaksiyonu için (PZR Express, ThermoHybaid, Middlesex, UK) Çizelge 3.2'deki şartlar uygulanmıştır.

Çizelge 3.2. PZR reaksiyonundaki şartlar

Denatürasyon	Amplifikasyon			Bitiş	Soğuma
	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama		Uzama
95 °C	95 °C	55 °C	72 °C	72 °C	25 °C
2 dk	1dk	2dk	3dk	8 dk	1dk
1 döngü	35 döngü			1 döngü	

16S rRNA bölgesinin amplifikasyonunun gerçekleşip-gerçekleşmediği, %0,8'lik agaroz jelde PZR DNA marker (Fermantas) ile 100 voltta 30 dakika yürütülerek UV transillüminatör ile kontrol edilmiş ve görüntülenen test organizmalarının PZR ürünleri -20 °C de stoklanmıştır.

PZR amplifikasyon ürünlerinin dizileme işlemi hizmet alımı kapsamında Macrogen Inc. (Kore) firmasına yaptırılmıştır.

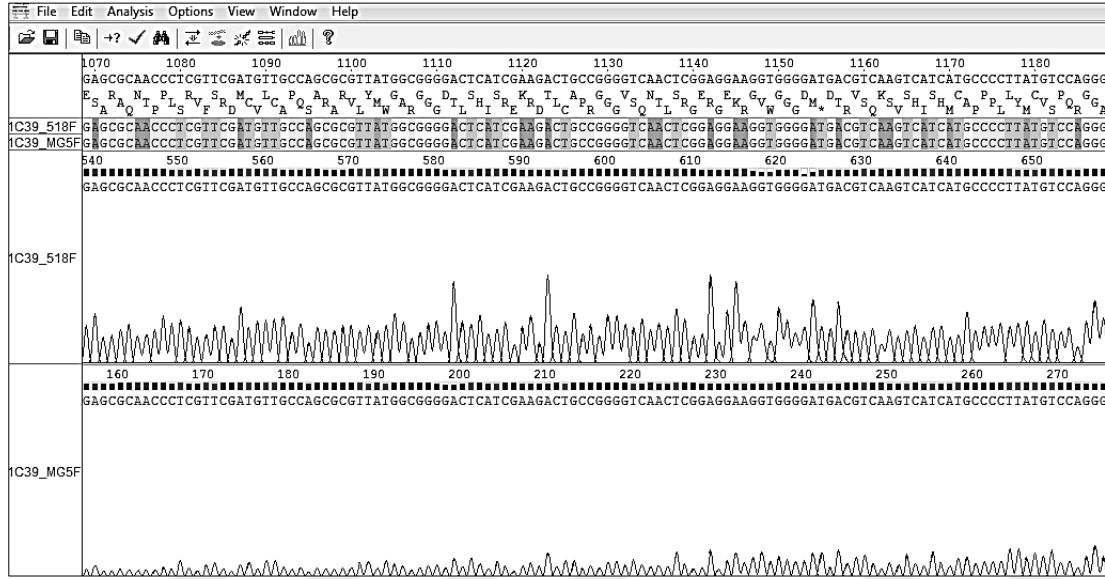
Çizelge 3.3. 16S rRNA'nın PZR amplifikasyonunda ve dizilemede kullanılan primerler

Primer kodu	Baz dizisi (5'-3')	Kullanım Amacı		Referans
		PZR	Dizileme	
27F	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	X		Lane, 1991
518F	CCAGCAGCCGCGGTAAT		X	Chun ve Goodfellow, 1995
800R	TACCAGGGTATCTAATCC		X	Chun ve Goodfellow, 1995
MG5F	AAACTCAAAGGAATTGACGG		X	Chun ve Goodfellow, 1995
1525R	AAGGAGGTGWTCCARCC	X		Lane, 1991

Lane (1991)'e göre; M: A,C; R: A,G; W: A,T

3.7. Moleküler Verilerin Analizi

Elde edilen 16S rRNA dizi verileri ChromasPro Version 1.7.6 (Technelysium Pty Ltd) programı kullanılarak hizalandı (Şekil 3.15). EzTaxon (URL-13: <http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim vd, 2012) sunucusunda bulunan global hizalama algoritmaları kullanılarak, izolatların en yakın akraba organizmalarla olan 16S rRNA dizi benzerliği belirlenmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.15. 16S rRNA dizi verilerinin hizalanması (Chromas Pro)

Filogenetik analizler için MEGA 7.0 programında (Kimura vd, 2016), bir hizalama yöntemi olan CLUSTAL_W seçeneği (Thompson vd, 1994) kullanıldı. Filogenetik ağaçların çizilmesinde Neighbour-Joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanıldı. Neighbour-Joining analizinde evrimsel uzaklık matrisi oluşturmak için Jukes & Cantor (1969) modeli kullanılmıştır. Oluşturulan ağaçların topolojileri veri setlerinin 1000 kez tekrar edildiği bootstrap analizi (Felsenstein, 1985) ile değerlendirildi. Nükleotid farklılıkları ve yüzde benzerlik tabloları MEGA 7.0 (Kimura vd, 2016) ve PHYDIT 3.1 (Chun, 2001) paket programlarından elde edilen veriler ile oluşturulmuştur.

EzTaxon

How to cite

Hierarchy

Taxonomic Group

Cart

Q&A

EzGenome

EzTaxon

Overview

Identify

CompGen

Results

Assemble

Replace Accession

ERNASeq

EzFungi

Resource Central

App Central

Education Central

My Information

Results of Identify Analysis

Tasks Icon

☐ View his sequence

☐ Perform CompGen Analysis against the genus

☐ View pairwise alignment

☐ Link to J.P. Euzéby's site

☐ Taxonomic group information

Columns for display

☒ Taxonomy

☒ Accession

☒ Pairwise Similarity

☒ Diff/Total nt

☒ Completeness

Hide all

Show all

Functions

CSV file

Excel file

FASTA(22)

Publish

Export file

☐ Identification of >dc11

Edit

Length of sequence :1483bp

View query sequence

Completeness 100%

(1 ~ 1492)

Tasks	Rank	Name	Strain	Authors	Accession	Pairwise Similarity (%)	Diff/Total nt	Completeness (%)
	1	<i>Saccharopolyspora endophytica</i> (Invalid name)	YIM 61095(T)	Qin et al. 2008	EU814512	98.77	18/1463	100
	2	<i>Saccharopolyspora dendranthema</i>	KLBMP 1305(T)	Zhang et al. 2014	JQ819260	98.48	22/1443	99.9
	3	<i>Saccharopolyspora pathumthaniensis</i> (Invalid name)	S562(T)	Simma et al. 2011	H9067865	98.36	24/1464	100
	4	<i>Saccharopolyspora tripterygii</i>	YIM 65359(T)	Li et al. 2009	F3214364	97.88	30/1416	98.1
	5	<i>Saccharopolyspora halophila</i>	YIM 90500(T)	Tang et al. 2009	DQ923129	97.27	40/1465	100
	6	<i>Saccharopolyspora flava</i>	AS4-1520(T)	Lu et al. 2001	AF154328	97.08	42/1439	99.4
	7	<i>Saccharopolyspora hirsuta</i> subsp. <i>kobensis</i>	JCM 9109(T)	Lacey 1989	EU267029	96.97	42/1388	96.3
	8	<i>Saccharopolyspora shandongensis</i>	88(T)	Zhang et al. 2008	EF104116	96.89	44/1415	98.1
	9	<i>Saccharopolyspora jiangpiensis</i>	W12(T)	Zhang et al. 2009	EF147026	96.89	44/1411	98.0

Şekil 3.16. Ezbiocloud Server 'da (Kim vd, 2012) test izolatlarının ve yakın akraba türlerin benzerlik ve nükleotit farklılıkları

3.8. Multi Gen Dizi Analizi

Streptomyces sp. HC44, *Streptomyces* sp. AVC15, *Streptomyces* sp. GG61 test izolatları ve 16S rRNA gen bölgesi dizi analizine göre bu izolatlara en yakın tip türlerine ait beş gen bölgesi dizi verileri genbankasında temin edilerek *rpoB*, *gyrB*, *recA*, *atpD*, *trpB* gen bölgeleri nükleotit dizileme çalışmaları yapılmıştır.

3.8.1. *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgeleri PZR amplifikasyonu

Multi gen bölgelerinin reaksiyon işlemleri 0.2 ml'lik PZR tüplerinde Thermal Block (Bioneer, MyGenie96 Thermal Block, Korea)'da yapıldı. Test organizmalarından izole edilmiş ve varlığı ile saflığı kontrol edilmiş DNA örneklerinin *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgelerini kodlayan DNA bölgesinin amplifikasyonu için Çizelge 3.4'de verilen primerler kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Multi gen dizi analizi çalışmalarına ait amplifikasyon ürünlerinin elde edilmesinde kullanılan primerler (Guo vd, 2008)

Primer Kodu	Baz dizisi (5'-3')	°C	Bç
<i>atpDPF</i>	GTCGGCGACTTCACCAAGGGCAAGGTGTTCAACACC	63	998
<i>atpDPR</i>	GTGAACGTCTTGGCGACGTGGGTGTTCTGGGACAGGAA		
<i>gyrBPF</i>	GAGGTCGTGCTGACCGTGCTGCACGCGGGCGGCAAGTTCGGC	65	1305
<i>gyrBPR</i>	GTTGATGTGCTGGCCGTCGACGTCGGCGTCCGCCAT		
<i>rpoBPF</i>	GAGCGCATGACCACCCAGGACGTCGAGGC	65	994
<i>rpoBPR</i>	CCTCGTAGTTGTGACCCCTCCACGGCATGA		
<i>recAPF</i>	CCGCRCTCGCACAGATTGAACGSCAATTC	60	913
<i>recAPR</i>	GCSAGGTCGGGGTTGTCCTTSAGGAAGTTGCCG		
<i>trpBPF</i>	GCGCGAGGACCTGAACCACACCGGCTCACACAAGATCAACA	66	822
<i>trpBPR</i>	TCGATGGCCGGGATGATGCCCTCGGTGCGCGACAGCAGGC		

PZR amplifikasyonu için kullanılan bir örnek için 50 µl ölçüdeki bir reaksiyon karışımı hazırlandı. Karışıma ait içerik; Master mix (Promega) 25 µl, gen bölgesi için uygun forward primer (20µM) 1 µl, gen bölgesi için uygun reverse primer (20µM) 1 µl, ddH₂O 17 µl, DNA (50-300 ng) 1 µl, DMSO 5 µl dir. 0.5 ml'lik PZR tüplerine 1 µl ilave edildi. Üzerine 17 µl ddH₂O eklendi. Her bir reaksiyon tüpüne 25 µl master mix ve ardından her bir gen bölgesi için uygun forward ve reverse primerlerden 1 µl PZR tüpüne ilave edildi. 5 µl DMSO ilave edildi ve her gen bölgesi için uygun bağlanma sıcaklıklarında PZR reaksiyonu (Bioneer, MyGenie96 Thermal Block, Korea) gerçekleştirildi. PZR reaksiyon şartları Çizelge 3.5'da belirtilmiştir.

Çizelge 3.5. *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgeleri PZR reaksiyon şartları

Denatürasyon	Amplifikasyon			Bitiş	Soğuma
	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	Uzama	
95°C	95°C	60-66 °C	72°C	72°C	25°C
5 dk	30 saniye	30 saniye	90 saniye	10 dk	1 dk
1 döngü		30 döngü		1 döngü	

3.8.2. *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgeleri PZR amplifikasyonlarının kontrolü ve saflaştırılması

Amplifikasyon ürünleri % 1.5'luk agaroz jelde PZR markör (Biolabs, 1kb) ile birlikte 100 voltta 40 dakika yürütülerek UV-transillüminatör (DNR, MiniLumi Bio-Imaging Systems, Israel) üzerinde kontrol edildi. UV-transillüminatörde istenilen büyüklükte bantların oluştuğu gözlemlendi. Her bir gen bölgesinin belirli olan büyüklüğü ile markörün ürün büyüklükleri karşılaştırılarak PZR amplifikasyonu kontrol edildi. PZR amplifikasyon ürünleri elde edildikten sonra, test izolatlarının *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgelerinin saflaştırılması Macrogen Inc. Firmasında (Korea) hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.8.3. *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgelerinin dizi analizi

16S rRNA gen bölgesi analizlerine göre en yakın tip türleriyle on ve üzeri nükleotit farklılığı gösteren, *Streptomyces* sp. HC44, *Streptomyces* sp. AVC15, *Streptomyces* sp. GG61 test izolatlarının *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgelerinin baz dizi analizi Macrogen Inc. Firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgelerinin baz dizilimi, her gen bölgesine ait farklı 2 oligonükleotit primer ile Macrogen firması tarafından ABI 3730XL (otomatik baz dizileme) cihazı ile okunmuştur (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgeleri baz dizileme analizinde kullanılan oligonükleotit primerler, bu primerlerin nükleotit dizileri (Guo vd, 2008)

Primer Kodu	Baz dizisi (5'-3')
<i>gyrBF-1</i>	GAGGTCGTGCTGACCGTGCTGCA
<i>gyrBR-4</i>	CGCTCCTTGTCTCGGCCTC
<i>rpoBF1</i>	TTCATGGACCAGAACAACC
<i>rpoBR1</i>	CGTAGTTGTGACCCTCCC
<i>trpBF</i>	GGCTCACACAAGATCAACAA
<i>trpBR</i>	TCGATGGCCGGGATGATGCC
<i>recAF</i>	ACAGATTGAACGGCAATTCTG
<i>recAR</i>	ACCTTGTTCTTGACCACCTT
<i>atpDF</i>	ACCAAGGGCAAGGTGTTCAA
<i>atpDR</i>	GCCGGGTAGATGCCCTTCTC

3.8.4. *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgelerine dayalı verilerin analizi ve filogenetik dendrogramların oluşturulması

Streptomyces sp. HC44, *Streptomyces* sp. AVC15, *Streptomyces* sp. GG61 test izolatlarının MacroGen Inc. firmasından hizmet alımı ile elde edilen *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* gen bölgelerinin baz dizileri, ayrıca da tip türlerinin <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> adresinden elde edilen *atpD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* ve *trpB* dizileri ile Mega 7.0 (Kimura vd, 2016) programı kullanılarak hizalanmış ve elde edilen diziler filogenetik analizlerde kullanılmıştır.

Streptomyces sp. HC44, *Streptomyces* sp. AVC15, *Streptomyces* sp. GG61 test izolatlarının ve tip türlerinin toplu hizalaması yapıldı ve filogenetik analizleri gerçekleştirildi. Test organizması ve ilgili tip türlerinin dizi analizine bağlı filogenetik dendrogramları Neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanılarak oluşturuldu. Neighbour-joining algoritmasında filogenetik uzaklık matriksi olarak p-distance metodu kullanıldı (Jukes ve Cantor, 1969). Filogenetik analizler için oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri 1000 tekrarlı olarak Mega 7.0'de (Kimura vd, 2016) ve nükleotit farklılığı çizelgeleri PHYDIT 3.1 (Chun, 2001) paket programlarında gerçekleştirilmiştir.

3.9. Fenotipik Karakterizasyon

Gliserol stoklarında (%25 v/v) -20 °C'de depolanmış *Actinomadura* sp. DG80, *A. jiaehensis* DSM 102127^T, *A. viridis* DSM 43175^T, *Amycolatopsis* sp. AG28, *A. pigmentata* TT00-43^T, *A. taiwanensis* KCTC 19116^T, *A. helveola* KCTC 19329^T, *Nonomuraea* sp. AG16, *Nonomuraea* sp. GG64, *N. spiralis* DSM 43555^T, *N. endophytica* DSM 45385^T, *N. salmonea* DSM 43678^T, *Saccharopolyspora* sp. DC11, *S. spongia* DSM 103218^T, *S. dendranthema* DSM 46699^T, *S. vastus* DSM 40309^T ve *Streptomyces* sp. HC44, Glukoz- yeast extract agar (ISP 2; Shirling ve Gottlieb, 1966) üzerine transfer edildi ve 28 °C 'de 14 gün süreyle inkübe edilerek nümerik sınıflandırmada uygulanacak testler için hazır hale getirildi.

Yeni tür olma potansiyeli yüksek olan bazı suşların fenotipik karakterizasyonu farklı besi ortamlarındaki gelişim, temel karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme, belirli bileşikler hidroliz edebilme, sodyum klorür varlığında gelişebilme ve farklı sıcaklık ve pH değerlerine tolerans gibi özellikleri için fenotipik testlere tabi tutulmuştur.

3.9.1. Kültürel ve morfolojik özellikler

Test suşlarından yeni tür olma ihtimali yüksek olan organizmaların tripton-maya özütü, maya özütü-malt özütü, yulaf ezmesi, inorganik tuzlar-nişasta, gliserol-asparajin, pepton-maya özütü-demir ve tirozin agar (sırasıyla ISP 1-7 besi ortamları; Shirling ve Gottlieb, 1966) ile Czapek's (Weyland, 1969), modifiye Bennett's (Jones, 1949) ve triptik soy agar (TSA, Difco) besi ortamlarındaki gelişim özellikleri 28°C sıcaklıkta 14 gün inkübasyondan sonra incelendi. Organizmaların bu ortamlardaki büyüme özellikleri, spor rengi, hava misel rengi ve çözünür pigment özelliklerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi.

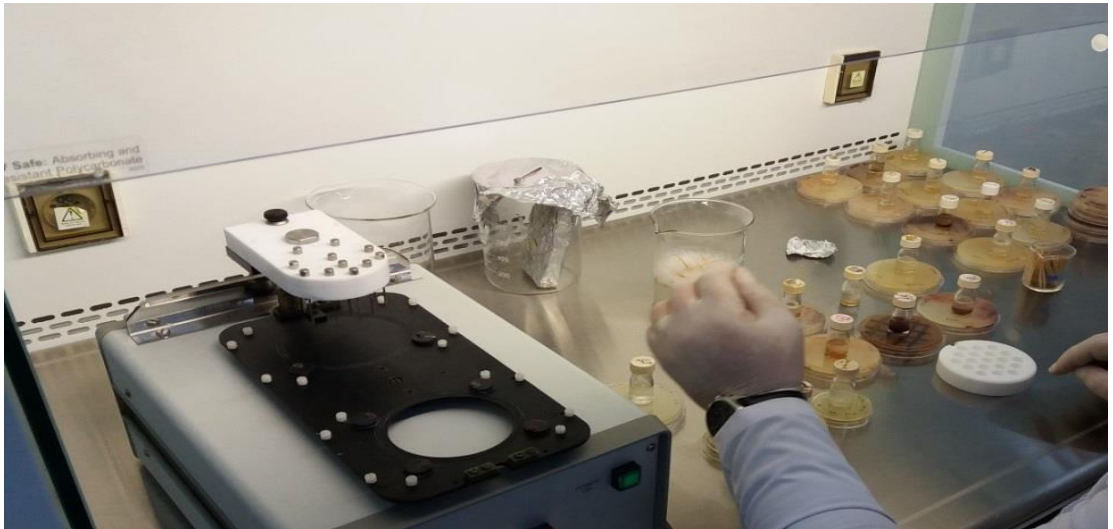
Test suşlarının spor zincir morfolojisi Pridham vd, (1958)'ne göre taramalı elektron mikroskobu (JEOL JSM 6060, JEOL Ltd. Tokyo, Japan) kullanılarak Gazi Üniversitesi araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrasında organizmaların yoğun olarak sporlandığı kısımlardan 5 mm çapında agar bloklar alınarak %2'lik gluteraldehit içerisinde +4°C'de 24 saat bekletilerek fikse edildi. Fiksasyondan sonra her bir agar blok dehidrasyon işlemi için 10 dk süre ile etanol serilerinden (%10 – 100) geçirildi.

Daha sonra örnekler sıvı CO₂ ile Critical Point Dryer (Polaron, CPD 7501) cihazında kurutuldu. Kurumuş agar bloklar Gold Sputter ile altın kaplanarak elektron mikroskopunda spor yüzey morfolojilerinin araştırılması için hazır hale getirildi. Taramalı elektron mikroskobu ile spor yüzey morfolojileri görüntülendi.

3.9.2. Nümerik taksonomi

Test izolatları ile referans kültürler arasındaki farklılıkları en iyi şekilde gösterecek olan morfolojik testler, besinsel testler, biyokimyasal ve fizyolojik testler yapıldı. Nümerik taksonomik çalışmada uygulanan 83 birim karakterler Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Test suşlarının inokülasyonu, kültür ortamına organizma inoküle edebilen Multipoint Inokülatör (Order Code SCAN 400, Mast Group Ltd., Merseyside, UK) kullanılarak yapıldı. İnokülasyon öncesi uygulanacak testler için bazal kültür ortamları hazırlandı. Her bir test suşu için, ağzı kapaklı küçük cam şişelere 1.5 ml Ringer çözeltisi ilave edildi ve 121 °C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Glukoz- yeast extract agar (ISP 2; Shirling ve Gottlieb, 1966) plaklarında gelişen test suşlarının spor ve substrat miselleri, steril öze yardımı ile etiketlenmiş içerisinde ringer bulunan küçük cam şişelere aseptik koşullarda transfer edildi. Daha sonra vorteksle karıştırılarak homojenize edilen bakteri solüsyonları, steril kabin (Pbi, Miniflo International, Milano-Italy) içerisinde multipoint inokülatörün tablasına otomatik pipet ile transfer edilerek ve test plaklarına otomatik inokülasyon gerçekleştirildi (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Multipoint inokülatörün tablasına otomatik pipet ile transfer

Çizelge 3.7. İzolatların nümerik analizi için uygulanan testler

A Biyokimyasal Testler		Karbon kaynakları (%1, w/v)		D Tolerans Testleri	
1	Allantoin hidrolizi	30	Alfa-L-Ramnoz	56	4°C
2	Arbutin hidrolizi	31	D(+) Galaktoz	57	10°C
3	Üreaz üretimi	32	Glikoz	58	20°C
4	Nitrat indirgenmesi	33	D-Mannitol	59	28°C
		34	D(+)Mannoz	60	37°C
B Degradasyon Testleri		35	D(+)Melezitoz	61	45°C
5	Adenin	36	D(+)Raffinoz	62	50°C
6	Guanin	37	D(+)Sellobiyoz	63	55°C
7	Hipoksantin	38	D(-)Sorbitol		
8	Nişasta	39	D(+)Trehaloz		
9	Tween 20	40	Gliserol		pH
10	Tween 40	41	İnulin	64	4
11	Tween 80	42	myo-inositol	65	5
12	Ksantin	43	Ksilitol	66	6
13	Ksilan	44	Sükroz	67	7
		45	Palatinoz	68	8
C Besinsel Testler		46	L(+) Tartarik asit	69	9
Azot kaynakları (%0.1, w/v)		47	Üre	70	10
14	Alfa-iso-lösin	48	D(-)Arabinoz	71	11
15	DL-Fenilalanin	49	D(-)Fruktoz	72	12
16	Glisin	50	D(+)Riboz		
17	L-Alanin	51	D(+) Sellobiyoz		NaCl (% , w/v)
18	L-Arjinin	52	D(+)Melibiyoz	73	%0
19	L-Asparajin	53	Dekstran	74	%1
20	L-Sistein	54	Dekstrin	75	%2
21	L-Histidin	55	Laktoz	76	%3
22	L-Hidroksiprolin			77	%4
23	L-Metiyonin			78	%5
24	L- Fenilalanin			79	%6
25	L-Prolin			80	%7
26	L-Serin			81	%8
27	L-Treonin			82	%9
28	L-Tirozin			83	%10
29	L-Lizin				

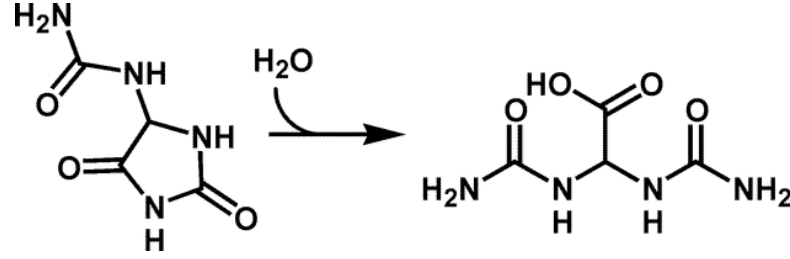
3.9.3. Biyokimyasal testler

Allantoin hidrolizi (Gordon, 1968)

Allantoin hidrolizi testi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan Bazal besiyeri kullanılarak gerçekleştirildi. Besiyeri içeren tüplerin tamamına, 28°C de 7 gün boyunca inkübasyonda kalacak şekilde ekimler gerçekleştirildi.

İnokülatör vasıtasıyla belirlenen aktif enzim üretimi bir alkalın reaksiyonuna neden olur. İndikatör olarak reaksiyon sonucunda sarıdan kırmızıya renk değişikliği ortaya çıkaran fenol red kullanılmıştır.

İnkübasyon sonrasında, negatif kontrol ortamıyla karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrollerden farklı olarak koyu pembe renk oluşumu pozitif (+) sonuç olarak kaydedildi (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Allontoik asit oluşumu

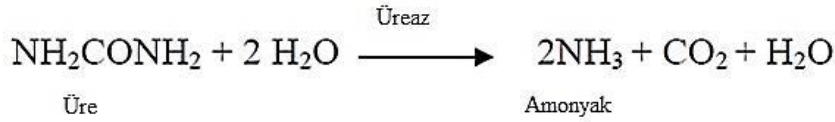
Arbutin hidrolizi (Williams vd, 1983)

Arbutin hidrolizi testi Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak gerçekleştirildi. Test sonuçları 28°C de 7 günlük inkübasyon sonucunda besiyerinin siyah/koyu kahve rengine dönüşmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Hidrolaz enzimi arbutin hidrolizinin katalizlenmesini sağlamaktadır. Hydroxyquinone, besiyerindeki demir iyonları ve siyah-kahverengi melanin benzeri pigmentle kompleks oluşturmaktadır. Arbutin eklenmemiş olan bazal besiyeri içeren negatif kontrol tüplerinde, koyulaşmanın kahverengi-siyah pigment oluşumundan kaynaklanmadığından emin olmak için ekimler gerçekleştirilmiştir.

Üre hidrolizi

Üre hidrolizi, Kutzner ve Korn-Wendisch (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. % 1 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanan üre 100 ml saf su içerisinde ayrı olarak çözüldü ve sterilizasyon işlemi filtrasyon tekniği ile gerçekleştirildi. Üre, otoklavda steril hale getirilmiş bazal ortam içeriğine aseptik şartlarda transfer edilerek karıştırıldı ve besiyeri aseptik koşullarda 5 ml'lik steril tüplere her tüpte 2'şer ml olacak şekilde ilave edildi. Negatif kontrol olarak üre bulundurmeyen tüpler, pozitif kontrol olarak da üre bulunduran tüpler hazırlandı. Steril öze ile ekimleri gerçekleştirilen tüpler, 28 °C'de 7 gün boyunca inkübasyona tabi tutuldu. İnkübasyon sonrasında, mikroorganizma inokülasyonu yapılmış tüpler negatif kontrol ortamıyla karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrollerden farklı olarak sarı/turuncudan parlak pembe/kırmızı renk değişimi gözlenmesi pozitif (+) sonuç olarak değerlendirildi (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. Üre hidrolizi görüntüsü

Nitrat redüksiyonu

Nitrat (0.1%, w/v) redüksiyonu, Goodfellow (1971) tarafından tanımlanmış besiyeri kullanılarak belirlendi. 5 ml'lik tüplere 2'şer ml besiyeri hazırlanarak otoklav da sterilizasyon sağlandı. Steril öze ile ekimleri gerçekleştirilen tüpler, 28 °C'de 2 hafta inkübasyona bırakıldı. Gelişim gerçekleştikten sonra, tüplere eşit oranlarda nitrat redüksiyonu ayıraçlarından (A ve B solüsyonları; Goodfellow, 1971: içeriği Ek-A'da verilmiştir) eklendi. Sülfanilik asit, diazonyum tuzunu oluşturmak için nitrit ile reaksiyona girer, naftilamin varlığında pembe-kırmızı (koyu kırmızı: stabil red azo) renk oluşur. Renk değişikliği bu şekilde gerçekleşen tüpler, nitrat redüksiyonunda pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Renk değişiminin gerçekleşmemesi iki sonuçtan birini ifade etmektedir.

Renk değişimi gerçekleşmeyen tüplere az miktarda çinko tozu ilave edildi. Çinko iyonları (Zn⁺) aynı reaksiyonu nitrat redüktaz enzimi gibi katalizler. Besiyeri içerisinde nitrat var ise, çinko tozu ilavesi onu nitrite dönüştürecek, karakteristik olarak kırmızı renk orataya çıkacaktır. Bu şekilde gözlenen test tüpleri için sonuç negatif olarak kaydedildi. Bununla birlikte, çinko tozunun ilavesiyle gerçekleşen süreçte herhangi bir renk değişikliğinin gözlemlenememesi, nitratın nitrojen gazına indirgenmiş olduğunu ifade ettiği için pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.9.4. Degradasyon testleri

Jelatin (%0.4, w/v), kazein (%1, w/v), DNA (%0.2, w/v), nişasta (%1, w/v), ksantin (%0.4, w/v), hipoksantin (%0.4, w/v), ksilan (%0.4, w/v), L-Tirozin (%0.5, w/v), Tween 40 (%1, v/v) ve Tween 80 (%1, v/v) tinalizasyonla steril edildikten sonra besi ortamına ilave edildi. Test organizmalarının ekimlerinin gerçekleştiği petriler, 28°C sıcaklıkta 14 gün inkübasyondan sonra kontrol edildi. Gelişim bölgesinin altında ve etrafında substrat yokluğu pozitif sonuç olarak kaydedildi. Degradasyon testinde kullanılan hipoksantin, adenin, ksantin ve guanin nükleik asitlerin biyosentezine katılan azotlu pürin bazlarıdır. Elastin ise hayvanların bağ dokusunda

yer alan bir proteindir. Ksilanaz enziminin organizmada varlığı ksilanın degradasyonu ile anlaşılır.

Niştasta, α -1,4 bağılı düz zincirli amiloz ve hem α -1,4 hem de α -1,6 bağılı dallanmış amilopektin olmak üzere iki farklı yapısal şekli olan α -D-glucopyronose alt ünitelerinden meydana gelmiş, bitkilerde bulunan temel polisakkarittir. Niştasta degradasyon testinin amacı niştastayı parçalayabilen estrasellüler α -amilaz enziminin üretimini tespit edebilmektir. α - ve β -amilaz enzimlerinin her ikisi de niştastayı parçalayabilmektedir. Bazal ortam olarak niştasta degradasyon testinde Modified Bennett's agar kullanıldı (Jones, 1949). Niştasta 50 ml saf su içerisinde çözöldükten sonra besiyerine eklendi (10 gr/lt). İnokölasyon sonrası 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. İnübasyon sonunda Lugol' iodin eriyiğı petri yüzeyine ince bir tabaka oluşturacak şekilde dökölerek değerlendirme yapıldı. (Cowen ve Steel, 1965) Niştasta degradasyonu değerlendirilmesinde ortama ilave edilen iodin ortamda niştasta varsa niştastayla birleşip koyu mavi bir renk meydana getirir. Niştasta molekölleri, amilaz enzimleri ile oligosakkarit ve diğer basit şekerlere parçalandığında, ortaya çıkan bu küçük molekölleler iodinle kompleks oluşturamaz.

Bundan dolayı, oligosakkarit ve diğer basit şekerlerin ortamda varlıkları büyüme alanı etrafındaki açık zon tabakasından anlaşılır ve değerlendirme esnasında bu durum pozitif (+) olarak kaydedildi.

Tween 20, 40 ve 80 degradasyonu, Nash ve Krenz (1991) tarafından tanımlanan pepton agar bazal ortamı kullanılarak gerçekleştirildi. Tween'lerin tindalizasyon ile sterilizasyonu gerçekleştirildi sonrasında steril bazal ortama ilave edilerek petrilere dököldü. İnokölasyonlu plaklar, 28 °C'de inkübe edildi ve okumalar inkübasyonun 3. 7. ve 14. gününde yapıldı. Tween sorbitölün polioksialkilen türevinin suda çözönebilir, yüksek molekölle ağılığa sahip yağ asidi esterlerinin homolog serilerindendir ve spesifik esterazların tespit edilmesinde kullanılabilmektedir. Test suşları tarafından üretilen esterazlar Tween'deki esterbağlarını parçalayarak, serbest yağ asitlerinin ortaya çıkmasına sebep olur. Yağ asitleri de ortamda bulunan kalsiyum iyonları ile bir araya gelerek karakteristik beyaz kristaller olarak çökerek çözünmeyen kalsiyum tuzlarını meydana getirir. Çözünemeyen kalsiyum tuzu kristalleri koloniler etrafında opak bir halka oluşturduğunda pozitif (+) sonuç olarak değerlendirildi.

3.9.5. Besinsel testler

ISP 9 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) kullanılarak, test suşlarının enerji ve gelişim için farklı karbon kaynaklarını kullanabilme özellikleri tespit edildi. Her bir karbon bileşimini içeren çözeltiler, bazal ortama tinalizasyon yöntemiyle steril edilerek ilave edildi. Farklı karbon kaynaklarını içeren ISP 9 agar ortamına test suşları eşit olarak 3'er µl hacimde inoküle edildi. Pozitif kontrol olarak %1 oranında glukoz içeren bazal ortam, negatif kontrol olarak karbon kaynağı içermeyen bazal ortam kullanıldı. Test suşlarının gelişimleri 2 haftalık inkübasyondan sonra incelendi. Test ortamındaki gelişim düzeyi negatif kontrole eşit veya daha az oranda olduğunda negatif olarak, pozitif kontrole eşit veya daha fazla olduğunda pozitif olarak ifade edildi.

Test suşlarının farklı azot kaynaklarında gelişimleri, bazal ortam olarak azot kaynağı kullanım ortamı kullanılarak belirlendi (Williams vd, 1983). Farklı azot kaynaklarını barındıran çözeltilerin steril edilmesinde filtrasyon yöntemi uygulandı. Çözeltiler sırasıyla bazal ortama eklendi. Azot kaynağını içeren agar ortamına test suşları 3 µl hacimde inoküle edildi. Bu suşlarının gelişimleri 14 gün inkübasyondan sonra incelendi. Pozitif kontrol belirlenirken L-Asparajin içeren ortam ve negatif kontrol belirlenirken ise azot kaynağı içermeyen bazal ortam kullanıldı. Gelişim düzeyi pozitif kontrole eşit veya pozitif kontrolden fazla olduğunda pozitif, negatif kontrole eşit veya negatif kontrolden düşük olduğunda negatif olarak değerlendirildi.

3.9.6. Tolerans testleri

Farklı sıcaklıklarda test suşlarının (45°C, 37°C, 28°C, 20°C, 10°C, 4°C) gelişebilme özellikleri, ISP 2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) bazal ortamı kullanılarak belirlendi. Test suşları besi ortamına 3 µl olarak inoküle edildikten sonra 2 hafta süreyle inkübasyona bırakıldı.

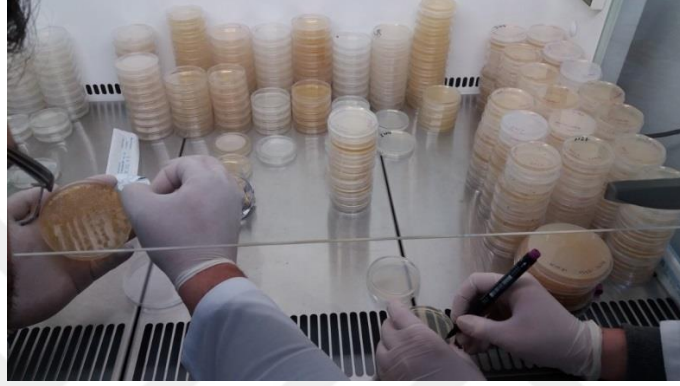
Test suşlarının farklı pH aralıklarındaki gelişim özellikleri ISP 2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) ortamında belirlendi. 0.1 M potasyum dihidrojen fosfat ve 0.1 M dipotasyum hidrojen fosfat kullanılarak, besi ortamlarının pH ayarlaması yapıldı. Test suşlarının besi ortamına 3 µl olarak inoküle işlemi gerçekleştirildikten sonra 2 hafta 28°C inkübasyona tabi tutuldu.

NaCl toleransının ortaya çıkarılması için %1-10 NaCl içeren ISP 2 agar besi ortamları hazırlandı. Besi ortamına 3 µl inoküle edilen suşların gelişimleri 2 haftalık

28°C inkübasyondan sonra, tolerans test suşlarının gelişimleri (+), gelişmeme durumları (-) olarak kaydedildi.

3.9.7. Farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişim morfolojileri

16S rRNA sekans verilerine göre filogenetik pozisyonu belirlenen test suşlarından yeni tür olduğu kesinleşen suşların ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7, Nutrient agar, Bennett's agar, Glucose-yeast extract malt agar ve Czapek's agar besiyerindeki gelişim ve büyüme morfolojileri görüntülendi (Şekil 3.20).



Şekil 3.20. On farklı besiyerine test izolatlarının ve bunlara en yakın tip türlerinin ekimlerinin gerçekleştirilmesi

3.9.8. Antibakteriyal aktivite testi

Test izolatları, Gram (-) bakteriler ve Gram (+) bakterilerden oluşan (1, *Aspergillus niger* ATCC 16404^T; 2, *Candida albicans* ATCC 10231^T; 3, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923^T; 4, *Escherichia coli* ATCC 25922^T; 5, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603^T; 6, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853^T; 7, *Bacillus subtilis* ATCC 6633^T; 8, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212^T) toplam sekiz patojen organizma kullanılarak, yayma (overlay) tekniği ile antimikrobiyal aktivite testine tabi tutuldu (Williams vd, 1983) (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. Antimikrobiyal aktivite testi hazırlık aşamaları

Cam şişelere 2 ml Ringer çözeltisi ilave edildi ve 20 dakika otoklavlanarak steril hale getirildi. ISP ortamında gelişen izolatların spor ve substrat miselleri, etiketlenmiş şişelere steril öze ile aseptik şartlarda eklendi ve vortekste karıştırılarak, homojenize spor ve misel solüsyon karışımı şekline getirildi. Bu aşamadan sonra, solüsyonlardan otomatik pipet (P1000: Nichipet EX, Nichiryo Co.,Ltd, Tokyo 101-0038, Japan) ile 7 µl alınarak, 5'li gruplar halinde nokta ekim yöntemiyle antibiyotik ilavesiz modifiye Bennett's Agar (Jones, 1949) ortamına inoküle edildi. İnokülasyonlu plaklar, 28 °C'de 3 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. 3. günün sonunda gelişen koloniler üst kısmına, steril enjektör ile 3-5 ml'lik kloroform döküldü. Kloroformun buharlaşması için petri plaklarının kapağı, 40 dakika boyunca yarı açık olarak muhafaza edildi. Bu şekilde öldürülen kolonilerin üzerine, 2 gün boyunca gelişen patojen test organizmaların her birinin, % 0,5'lik nutrient agar içerisine yayma plaka yöntemiyle inokülasyonu yapıldı (Şekil 3.21). İnokülasyonlu plaklar 37 °C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Koloniler etrafında oluşan inhibisyon zonları kumpas ile ölçüldü.

3.9.9. Tüm-hücre şeker analizi

Stanek ve Roberts (1974)'in metoduna göre tüm hücre şeker analizleri gerçekleştirildi. 1,5 ml 1N H₂SO₄ kapaklı tüpler içerisindeki 50 mg liyofilize örnek üzerine eklendikten sonra 100°C sıcaklıktaki su banyosunda 3 saat bekletildi. Soğumaya bırakılan örnekler üzerine Ba(OH)₂ ilave edilerek 10 ml hacmindeki beherlere aktarıldı. Örnekler pH 5.0 – 5.5 aralığında olacak şekilde ayarlandı. Karışım 1800 rpm de 5 dk santrifüj edildikten sonra sıvı kısmı hidroliz tüpüne aktarıldı. Aktarılan sıvı tamamen uzaklaşınca kadar buharlaştırıldı. Kalıntı 0,1 ml dH₂O ve 0.25 ml pyridinde çözüldü ve standart karışımları ile birlikte her bir örnek Merck 60-F254 silica gel TLC plakalarına 3'er µl olacak şekilde yüklendi. Kuruma tamamlandıktan sonra n-bütanol: dH₂O: piridin: toluen (10:6:6:1, v/v) yürütücü ortamında yaklaşık 4 saat yürütüldü. Plaka 30 dk iyice kurutulduktan sonra anilin-fitalat ayırıcı ile spreylendi ve 100°C'de 4 dk. bekletildi. Beş karbonlu şekerler kıvılc tonlarında, altı karbonlu şekerler ise kahve ve koyukahve tonlarında gözlemlendi. Test izolatlarının şeker tipleri aktinomisetlerde varlığı bilinen 7 temel şeker standart

olarak kullanıldı. TLC plakasında daha belirgin bir ayrışma sağladığı için, bu şekerlerin iki gruba ayrılarak TLC tabakaya yüklenmesi gerçekleştirildi.

Birinci grupta arabinoz, galaktoz ve ksiloz, ikinci grupta ise riboz, glikoz, mannoz ve ramnoz yer almaktadır. Aynı zamanda aynı şartlarda yüklenen standart şekerler ve izolatlardan elde edilen şeker hidrolizatı yürütme işleminden sonra hizalama ve tonlamaya göre test izolatlarının şeker tipleri belirlenmiştir.

3.9.10. Yağ asiti analizi

Test organizmalarının hücre duvar yağ asiti metil esterlerinin (FAME) izolasyonunu takiben FAME analizleri (Kämpfer ve Kroppenstedt, 1996)'e göre, 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 Actinomycete Library Culture Technique [Microbial Identification System, Microbial ID (MIDI), Inc., Newark, DE, USA] kullanıldı. Bu amaçla, tip türü ve test izolatlarının saf kültürleri Trypticase soy agar (Ek A) (TSA, BBL) üzerinde çizgi ekimi yapılarak geliştirildi ve bir öze dolusu kültür, 20 ml Trypticase Soy Broth (TSB, BBL) besi ortamına aktararak 150 rpm de 72 saat süre ile 28 °C de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası alınan 5 ml 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 methanol ortamındaki yüksek derişimli baz hücreleri parçalayarak yağ asitlerini lipitlerden ayırdı.

Metilasyon: 2 ml metilasyon reagenti [(325 ml 6N 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-bütil 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.

3.9.11. Polar lipid profilinin belirlenmesi

Amycolatopsis sp. AG28'in polar lipid profilinin belirlenmesinde kullanılacak olan liyofilize örnek için, *Amycolatopsis* sp. AG28 suşu gliserol stok ortamdan alınarak Tryptone -Yeast Glikoz Extract agar (TYGA, Bower ve Hucker, 1930) katı besiyeri ortamında aktifleştirildi. Ardından tek koloni ekimi yapılarak, saf olduğu tespit edilen koloniden TYG sıvı besiyeri ortamına ekim yapıldı ve 28°C'de 14 gün inkübasyona bırakıldı. Kontrol ekimleri gerçekleştirildi. Kontaminasyonun olmadığı tespit edilen suş falkon tüplerinde santrifüj edildi. Liyofilizasyon işlemi Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (KİTAM), Biyoteknoloji Birim Laboratuvarındaki Liyofilizatör cihazında (Labconco, Freezone 12Plus, ABD) ve hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi. Liyofilize haldeki suşun polar lipid profillerinin belirlenmesi, Almanya'nın Leibniz

Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Almanya) firmasından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi.

Streptomyces sp. HC44 ve *Saccharopolyspora* sp. DC11 izolatların polar lipid analizleri için, gliserol stok ortamdan alınarak Tryptone-Yeast Glikoz Extract agar (TYGA, Bower ve Hucker, 1930) katı besiyeri ortamında aktifleştirildiler. Ardından tek koloni ekimi yapılarak, saf olduğu tespit edilen koloniden TYG sıvı besiyeri ortamına ekimleri yapıldı ve 28°C’de 14 gün inkübasyona bırakıldı. Kontrol ekimleri gerçekleştirildi. Kontaminasyonun olmadığı tespit edilen suş falkon tüplerinde santrifüj edildi. Liyofilizasyon işlemi Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Bölüm araştırma laboratuvarındaki Liyofilizatör cihazında (Telstar-Technologies, Lyoquest-85, ABD) gerçekleştirildi.

Streptomyces sp. HC44 ve *Saccharopolyspora* sp. DC11 izolatların polar lipid analizleri Minnikin vd. (1984) tarafından önerilen, Kroppenstedt ve Goodfellow (2006) tarafından modifiye edilen metot uygulanarak gerçekleştirildi.

Hazırlanan liyofilize örneklerden herbirinden 100 mg 10 ml’lik bir teflon kaplı vidalı tüp içine hidroliz işlemi için aktarıldı. Tüplerin içerisine NaCl: metanol (1:10) ve petrolyum eterden 2’şer ml eklenerek, ağız kısmı parafilm ile kapatılan tüpler 30 dk boyunca karıştırıcıda döndürüldü. Ardından 5 dk 1800 rpm’de santrifüj işlemine tabi tutulan tüplerin üst bölgesi uzaklaştırılarak hücrelere 1 ml petrolyum eter ilave edildi. Tüpler 30 dk döner çalkalayıcıya koyuldu. 5 dk 1800 rpm’de santrifüj edilerek, tüplerin üst bölgesi tekrar uzaklaştırıldı. 2700 rpm’de 20 saniye vortekslenen tüpler su banyosunda 99 °C sıcaklıkta 5 dk süreyle bekletildi. Ardından 5 dk 37 °C’de soğumaya bırakıldı. İçerisine 2,3 ml CHCl₃:CH₃OH:%0.3 NaCl (90:100:30) çözeltisinden eklenen tüpler 60 dk çalkalayıcıda karıştırıldı. 1800 rpm’de 5 dk santrifüj edildikten sonra, üst bölge başka bir vidalı tüpler içerisine aktararak, üzerine 0.75 ml kloroform:metanol:%0.3 NaCl (50:100:40) solüsyonu ilave edildi. 30 dk çalkalayıcıya cıvıkan tüpler tekrar 1800 rpm’de 5 dk santrifüj edildi ve üst bölgeler birleştirildi. Birleştirilen ekstraktlara 1,3 ml kloroform ve 1,3 ml % 0,3 NaCl ilave edildi ve 2700 rpm’de 20 saniye karıştırıldı. 1800 rpm’de 5 dk santrifüj edilen tüplerin alt bölgeleri evaporatör tüpüne aktarıldı. Evaporatör cihazında 40°C sıcaklıkta 20–30 dk süresince tamamen buharlaştırılan tüplere 0,4 ml CHCl₃:CH₃OH (2:1) ilave edilerek vial tüplere transferleri gerçekleştirildi.

Polar lipid profillerinin tespiti için dört adet kromatografi plakası (10x10 cm) kullanıldı. Alüminyum TLC plakanın köşe kısmından 20 µl örnek saç kurutma makinesi yardımı ile yüklendi ve TLC kurutuldu. Buna ek standart olarak da polar lipidler köşelere kısımlara yüklenebilmektedir. İlk yürütücü olarak 30 ml kloroform:metanol:saf su (65:25:4) karışımı kullanıldı. Tankın iç bölgesine iki taraflı olarak kurutma kağıdı yerleştirildi ve karışım cam pipet ile kurutma kağıtlarına eklendi. Tankın içerisine yerleştirilen, TLC plakalarındaki üst çizgi seviyesine kadar çözücünün ulaşması beklendi. Ardından çeker ocak altında (20-30 dk) plakalar kurutuldu. Bu esnada ikinci yürütücü olarak 30 ml kloroform:asetik asit:metanol:saf su (80:12:15:4) hazırlanarak tanka yerleştirilen yeni kurutma kağıtlarına eklendi. Tankın içerisine yerleştirilen, TLC plakalarındaki üst çizgi seviyesine kadar çözücünün ulaşması beklendi. Ardından çeker ocak altında (20-30 dk) plakalar kurutuldu. Farklı boya maddeleri kullanılarak grupların tespit işlemi gerçekleştirildi.

3.9.12. Menakinon profillerinin belirlenmesi

Menakinon profillerinin belirlenmesi için, *Amycolatopsis* sp. AG28 suşu gliserol stok ortamdan alınarak Tryptone-Yeast Glikoz Extract agar (TYGA, Bower ve Hucker, 1930) katı besiyeri ortamında aktiveleştirildi. Ardından tek koloni ekimi yapılarak, saf olduğu tespit edilen koloniden TYG sıvı besiyeri ortamına ekim yapıldı ve 28°C’de 14 gün inkübasyona bırakıldı. Kontrol ekimleri gerçekleştirildi. Kontaminasyonun olmadığı tespit edilen suş falkon tüplerinde santrifüj edildi. Liyofilizasyon işlemi Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (KİTAM), Biyoteknoloji Birim Laboratuvarındaki Liyofilizatör cihazında (Labconco, Freezone 12Plus, ABD) ve hizmet alımı şeklinde ile gerçekleştirildi.

Test izolatu *Amycolatopsis* sp. AG28’in menakinon profillerinin belirlenmesi, Almanya’nın Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Almanya) firmasından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Toprak örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Kapadokya, Ürgüp-Göreme yöresinde yer alan 8 farklı lokaliteden elde edilen toprakların pH değeri, kireç kapsamı (% CaCO_3), organik madde miktarı (Jackson, 1958), % nem ile tekstür (% Kum, % Silt ve % Kil) analizleri (Jackson, 1979) yapılarak, bazı fizikokimyasal özellikleri belirlenerek Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Toprak örneklerimizde 7,07 ve 8,16 aralığında pH değerleri ölçüldü. Organik madde miktarı ise en yüksek değer olarak % 2,18 ile Ürgüp’ten aldığımız örneğimizde, en düşük değer olarak ise % 0,76 ile Gülşehir’den aldığımız örneğimizde ölçülmüştür. Toprak örneklerimizde % 37,04 ile en yüksek kalsiyum karbonat içeriğine Derinkuyu sahip iken % 2,61 ile Merkez en düşük kalsiyum karbonat içeriğine sahiptir. Nem oranının ise % 1,42 ile % 3,15 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Kapadokya, Ürgüp-Göreme Yöresin’den alınan toprak örneklerinin fizikokimyasal özelliklerine ait veriler

Sıra	Toprak Örneği	pH	% OM	% CaCO_3	% nem	Tekstür
1	Hacıbektaş	7,19	1,19	25,37	3,15	Kumlu killi tın
2	Avanos	7,20	1,67	7,64	2,15	Kumlu killi tın
3	Merkez	7,07	1,72	2,61	1,42	Kum
4	Ürgüp	7,95	2,18	5,63	2,25	Kumlu tın
5	Gülşehir	8,00	0,76	6,61	1,92	Kumlu tın
6	Acıgöl	8,20	1,10	5,03	1,52	Tınlı
7	Derinkuyu	8,16	1,79	37,04	1,79	Tınlı kum
8	Kozaklı	7,25	0,97	3,62	1,92	Tınlı kum

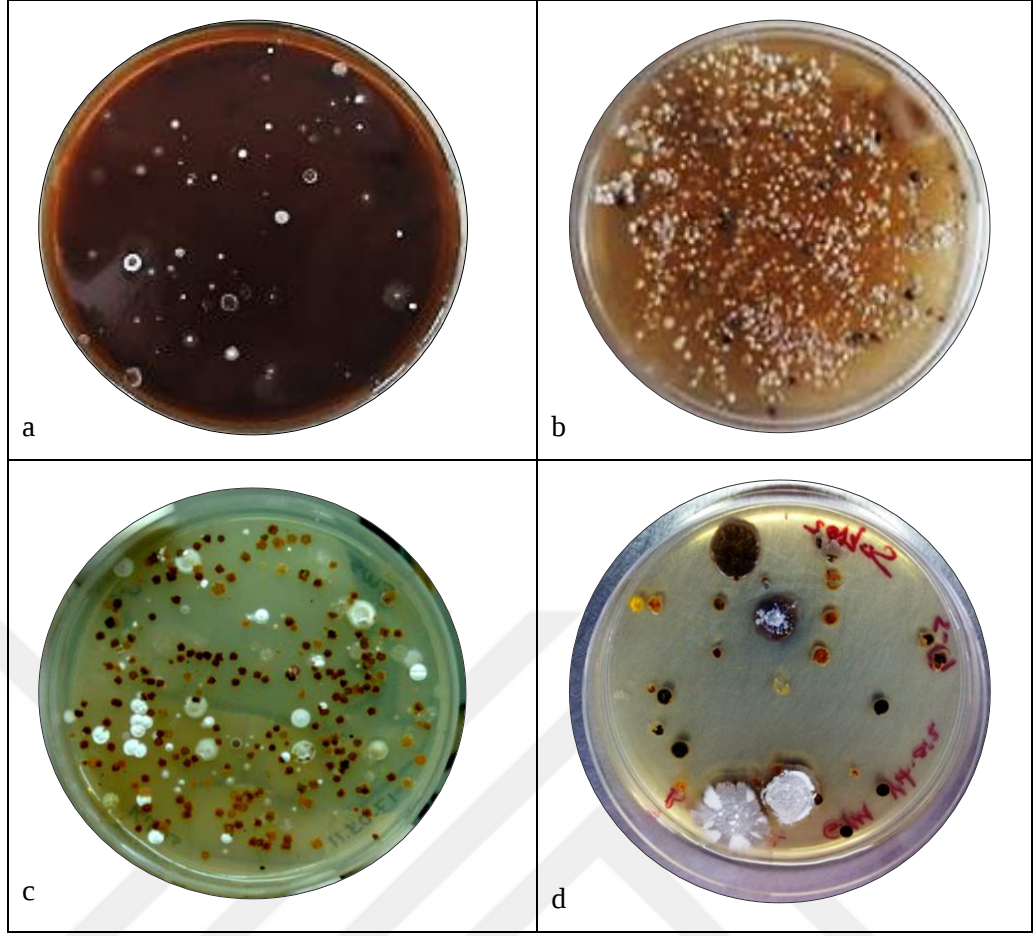
OM: organik madde (<1 ise çok az, 1.1-2.0 ise az, 2.1-3.0 ise orta, 3.1-4.0 ise fazla, >4 ise çok fazla)
% CaCO_3 (0-2 ise kireçsiz, 0-4 ise az kireçli, 4-8 ise orta kireçli, 8-15 ise kireçli, 15-50 ise çok kireçli, >50 ise çok fazla kireçli) (Jackson, 1979)

4.2. Mikroorganizmaların İzolasyonu

Toprak örneklerinin izolasyonunda 8 farklı besiyeri Hümik-asit vitamin agar (Hayakawa ve Nonomura, 1987), SM1 Stevenson's agar (Tan vd, 2006), SM2 Stevenson's agar (Tan vd, 2006), SM3 Gauze's agar (Tan vd, 2006), ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966), ISP5 agar (Pridham vd, 1957), Nisasta-kazein agar (SC) (Küster ve Williams, 1964) ve Czapek's dox agar (CD) (Weyland, 1969) kullanıldı (Çizelge 4.2). Dilüsyon plak yöntemi kullanılarak toprak izolasyonu yapılan toprak örneklerine, yayma plaka yöntemiyle ekimleri gerçekleşen plaklardan, 14 günlük inkübasyon sonrasında elde edilen bazı izolasyon petri görüntüleri Şekil 4.1.'de verilmiştir (Yamamura vd, 2003).

Çizelge 4.2. Toprak örneklerinden mikroorganizmaların seçici izolasyonunda kullanılan besiyerleri (EK 1)

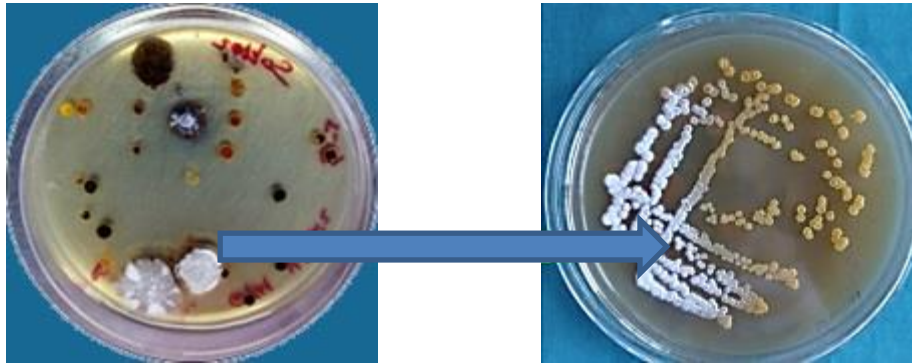
İzolasyon besiyeri	Seçici ajan
ISP5 agar (Pridham vd, 1957) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Rifampisin (5µg/ml)
Czapek's dox agar (Weyland, 1969) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Sikloheksimid (50µg/ml)
Niştasta-kazein agar (Küster ve Williams, 1964) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Nalidiksik asit (10 µg/ml)
ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) Saf su ile hazırlandı	Nistatin (50µg/ml), Rifampisin (5µg/ml)
SM1 Stevenson's agar (Tan vd, 2006) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Neomisin sülfat (50/ml)
SM2 Stevenson's agar (Tan vd, 2006) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Rifampisin (5µg/ml)
SM3 agar - Gauze's agar (Tan vd, 2006) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Nalidiksik asit (10µg/ml)
Humik Asit Vitamin agar (Hayakawa ve Nonomura, 1987) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Rifampisin (5µg/ml)



Şekil 4.1. Seçici izolasyon besiyerlerinin petri görüntüsü (a. Hümik-asit vitamin agar (Hayakawa ve Nonomura, 1987) b. Nisasta-kazein agar (SC) (Küster ve Williams, 1964)) c. ISP5 agar (Pridham vd, 1957) d. ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966))

4.3. İzolatların Saflaştırılması ve Stoklanması

İnkübasyon sonrasında mikroorganizmalar GYM, TYGA (tripton yeast glukoz ekstrakt agar) (Blackall vd, 1989) ortamına aktarılarak saflaştırılma prosedürüne geçilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Agar ortamına aktarılarak saflaştırılma yapılması

Tek koloni için dekontamine haldeki mikroorganizmalar, glukoz-yeast ekstrakt agar (Gordon ve Mihm, 1962) ortamına aktarılmış, gelişen organizmaların yoğun ekimleri, glukoz-yeast ekstrakt agar (Gordon ve Mihm, 1962) ortamına yapılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda her bir izolat % 25'lik gliserol içeren otoklavlanabilir vidalı kapaklı tüpler (1,5 ml) içerisine steril bir öze yada kürdan kullanılarak transfer edilerek -20°C de stoklanmıştır (Wellington ve Williams, 1982).

4.4. Test izolatlarının seçimi

Toprak izolasyonu sonucunda elde edilen izolatlardan 345 tanesinin, makroskobik ve mikroskobik görüntüleri dikkate alınarak renk gruplandırmaları yapılmış, 157 izolat 16S rRNA gen bölgesi analizleri için seçilmiş ve ilgili gen bölgeleri analizlerine göre Aktinobakteri izolatlarının cins, kod, izolasyon besiyeri ve lokaliteleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Filogenetik olarak çalışılan izolatların, 22'si Avanos, 21'i Ürgüp, 5'i Kozaklı, 18'i Derinkuyu, 16'sı Merkez, 20'si Acıgöl, 43'ü Gülşehir ve 27'si Hacıbektaş şeklinde dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. 16S rRNA gen bölgesi analizleri için seçilmiş 157 izolatın bölgedeki dağılımı

Çizelge 4.3. 16S rRNA gen dizi analizleri yapılan aktinobakteri izolatlarının kod numaraları, izole edildikleri besiyerleri ve lokaliteleri

Cins	İzolat kod numarası	İzole edildiği besiyeri	Lokalite
<i>Actinomadura</i> sp.	DG68 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Actinomadura</i> sp.	DG80 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Amycolatopsis</i> sp.	AG28 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Kribbella</i> sp.	MGY2 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Kribbella</i> sp.	GC78 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Promicromonospora</i> sp.	HG25 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Promicromonospora</i> sp.	HG29 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Promicromonospora</i> sp.	HG38 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Mycobacterium</i> sp.	AS13 (Gençbay, T., Işık K.)	SM1	Nevşehir, Acıgöl
<i>Nocardia</i> sp.	HG39 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Nocardia</i> sp.	HGA12 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Nocardia</i> sp.	AG27 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Nonomuraea</i> sp.	GG64 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Nonomuraea</i> sp.	AG16 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Saccharopolyspora</i> sp.	DG79 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Saccharopolyspora</i> sp.	DC11 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Saccharopolyspora</i> sp.	DG70 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Saccharothrix</i> sp.	DN18 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta-kazein Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA8 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HY18 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HG75 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HG15 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HC41 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HG44 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HC40 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HC37 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HG27 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA4 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA10 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HY24 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HY19 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA16 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HG42 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HC44 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HY23 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HY21 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA77 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA7 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA2 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	HGA1 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Hacıbektaş
<i>Streptomyces</i> sp.	GY27 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GY16 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GG62 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC52 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC45 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC35 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC42 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC36 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GY25 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GY24 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GY15 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC37 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC4 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC3 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GI3 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC60 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GG60 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC59 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir

Çizelge 4.3. (devam)

Cins	İzolat Kod	İzole edildiği Besiyeri	Lokalite
<i>Streptomyces</i> sp.	GC58 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC57 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC55 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GC31 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GY23 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GY21 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GG66 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	GG61 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Gülşehir
<i>Streptomyces</i> sp.	AC44 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG66 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG24 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG23 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG15 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG8 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AC63 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AC62 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AC56 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AC53 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AC49 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG67 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG20 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG14 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG14 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	AG72 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Acıgöl
<i>Streptomyces</i> sp.	MI18 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MC10 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MC27 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MG30 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MG37 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MNK17B (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta-kazein Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MNK17K (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MY21 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MY24 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MG16 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MC4 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MG43 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MY23 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MY20 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP5 Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	MC4 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Merkez
<i>Streptomyces</i> sp.	DG1 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DN15 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DG74 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DG73 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DG71 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DNK70 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta-kazein Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DN19 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DN17 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DG78 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DG4 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DG8 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	DC12 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Derinkuyu
<i>Streptomyces</i> sp.	KC14 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Kozaklı
<i>Streptomyces</i> sp.	KZ4 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Kozaklı
<i>Streptomyces</i> sp.	KZ13 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Kozaklı
<i>Streptomyces</i> sp.	KZ5 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Kozaklı
<i>Streptomyces</i> sp.	KZ2 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Kozaklı
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜG19 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜG20 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS21 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Ürgüp

Çizelge 4.3. (devam)

Cins	İzolat Kod	İzole edildiği Besiyeri	Lokalite
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS24 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜG25 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS26 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜN27 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS28 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS30 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜN31 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜN32 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS33 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS34 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜG35 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜG37 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜG38 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS39 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS40 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS41 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS42 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	ÜS43 (Gençbay, T., Işık K.)	Nişasta kazein Agar	Nevşehir, Ürgüp
<i>Streptomyces</i> sp.	AVC15 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVC27 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVC28 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVC29 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVC16 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVC33 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVC34 (Gençbay, T., Işık K.)	Czapek's Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG18 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG19 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG20 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG21 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG22 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG23 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG24 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG25 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG26 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG30 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG31 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVG32 (Gençbay, T., Işık K.)	ISP2 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVY3 (Gençbay, T., Işık K.)	SM1 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVY35 (Gençbay, T., Işık K.)	SM1 Agar	Nevşehir, Avanos
<i>Streptomyces</i> sp.	AVY36 (Gençbay, T., Işık K.)	SM1 Agar	Nevşehir, Avanos

Aktinobakteri izolatları içerisinde 23 izolat Nişasta-kazein agar, 67 izolat ISP2 agar, 45 izolat Czapek's dox agar, 18 izolat ISP5 agar, 4 izolat SM1 agar besiyeri ortamlarından izole edilmişlerdir.

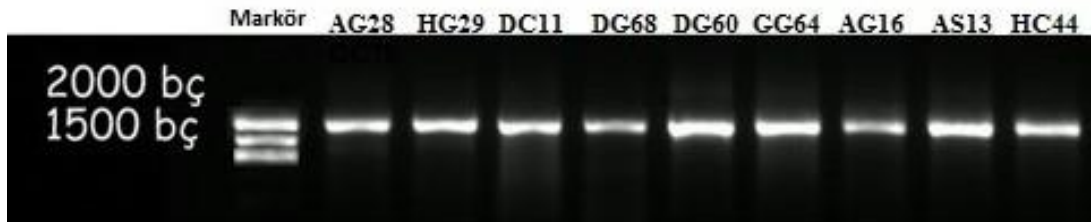
4.5. Moleküler Tiplendirme Uygulamaları ve Analiz

4.5.1. Test suşlarının genomik DNA izolasyonu

İzolasyon çalışmaları esnasında, mevcut referans ve tip kültür suşlarından morfolojik olarak farklılıkları ile dikkat çeken, Aktinobakteri grupları olduğu öngörülen izolatlarımızın, genomik DNA'ları; PureLink® Genomik DNA İzolasyon Kiti (Invitrogen, USA) ile elde edilmiştir.

4.5.2. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu, saflaştırılması ve sekans dizileme

Test organizmalarından saf olarak elde edilen DNA örneklerinin, 16S rRNA genini kodlayan DNA bölgesinin amplifikasyonu, evrensel 27f ve 1525r primerleri (Lane, 1991) kullanılarak Thermal Cycler (PZR Express, ThermoHybaid, Middlesex, UK)'da elde edilmiştir. Amplifiye ürünler DNA markör (Fermentas™; 100kb Gene Ruler) yüklü % 1'lik kontrol agaroz jelde (35 ml 1xTBE tampon, 0.35 gr agaroz) 100 Voltta 30 dakika yürütüldükten sonra görüntüleme sisteminde (GeneGenius, Syngene, Bio Imaging Systems, UK) fotoğraflanarak kaydedilmiştir. Test izolatlarından bazılarına ait 16S rRNA gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin %1'lik kontrol agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 4.4.'de verilmiştir. 1500 baz çifti (bç) uzunluğunda tek bir bant jelde gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4. Farklı lokalitelerden izole edilmiş Aktinobakterilerin 16S rRNA gen bölgesinin PZR amplifikasyonu ürünü örnekleri. M, DNA Markör (Fermentas™; 100kb Gene Ruler)

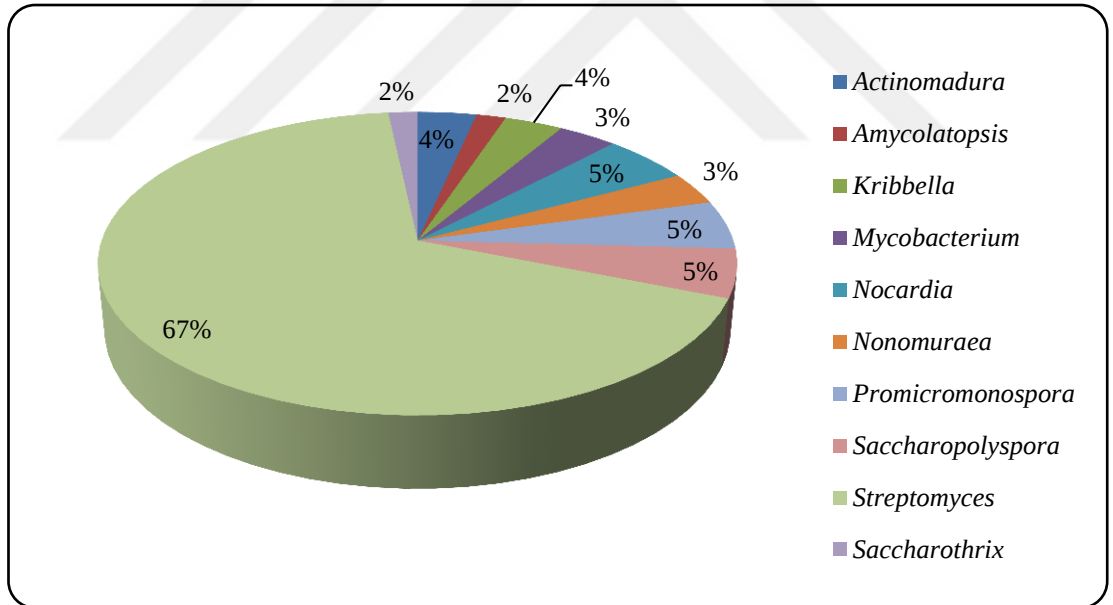
PZR amplifikasyon ürünleri elde edildikten sonra çalışma izolatlarımızın 16S rRNA gen bölgesinin baz dizi analizi MacroGen (Hollanda) firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen bölgesinin baz dizilimi analizleri, farklı 3 oligonükleotit primeri ile yapılmıştır. Ulaşılan dizi verileri, EzBioCloud Server (URL-13: <http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim vd, 2012) kullanılarak, uluslararası veritabanlarındaki en yakın akraba türlerin dizi verileri ile kıyaslanmıştır.

Bu türlerle % benzerlik oranları belirlenmiş ve moleküler verilerin analizine geçilmiştir.

4.5.3. Moleküler verilerin analizi

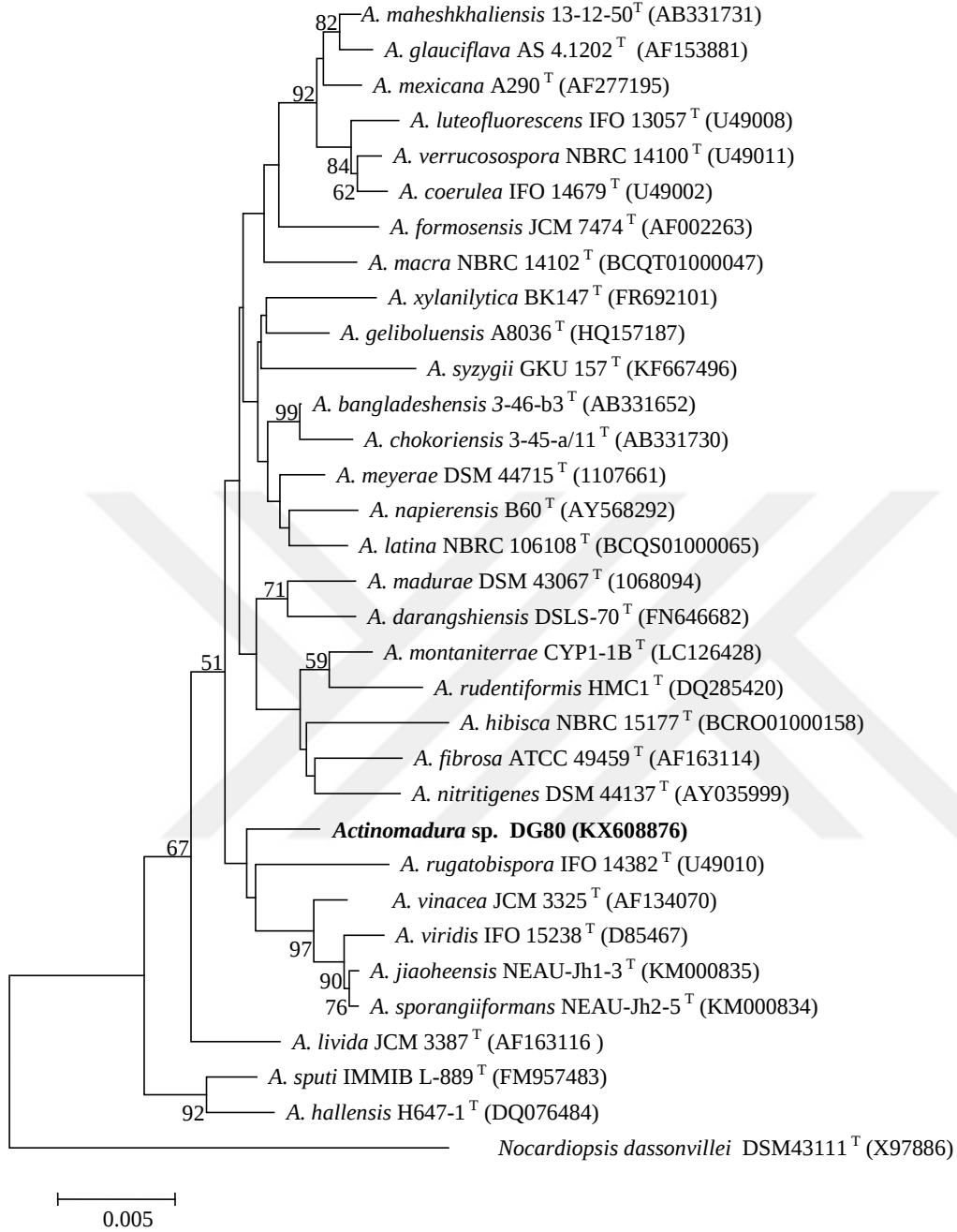
Mega 7.0 (Kimura vd, 2016) paket programında, organizmaların 16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerinden elde edilen baz dizileri yakın tip türleriyle hizalanmış, sonraki aşamalarda kullanılmak üzere fasta ve mega formatında kaydedilmiştir.

Fasta formatında kaydedilen dosyalardan yüzde benzerlik değerleri oluşturulmuş ve Çizelge 4.4 - 4.13'de verilmiştir. 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre izolatların cinslere göre temsili dağılımını gösteren grafik Şekil 4.5'te verilmiştir. Elde edilen dizi verilerine göre test izolatlarının filogenetik pozisyonlarının belirlenmesi için dendogramları, nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri oluşturulmuştur.



Şekil 4.5. 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi sonuçlarına göre farklılık gösteren test izolatlarının cinslere göre dağılımı

Test izolatları ve ilgili cinslerin tip türlerinin filogenetik analizleri Neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) ve Maximum Likelihood (Tamura ve Nei, 1993) algoritmaları uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

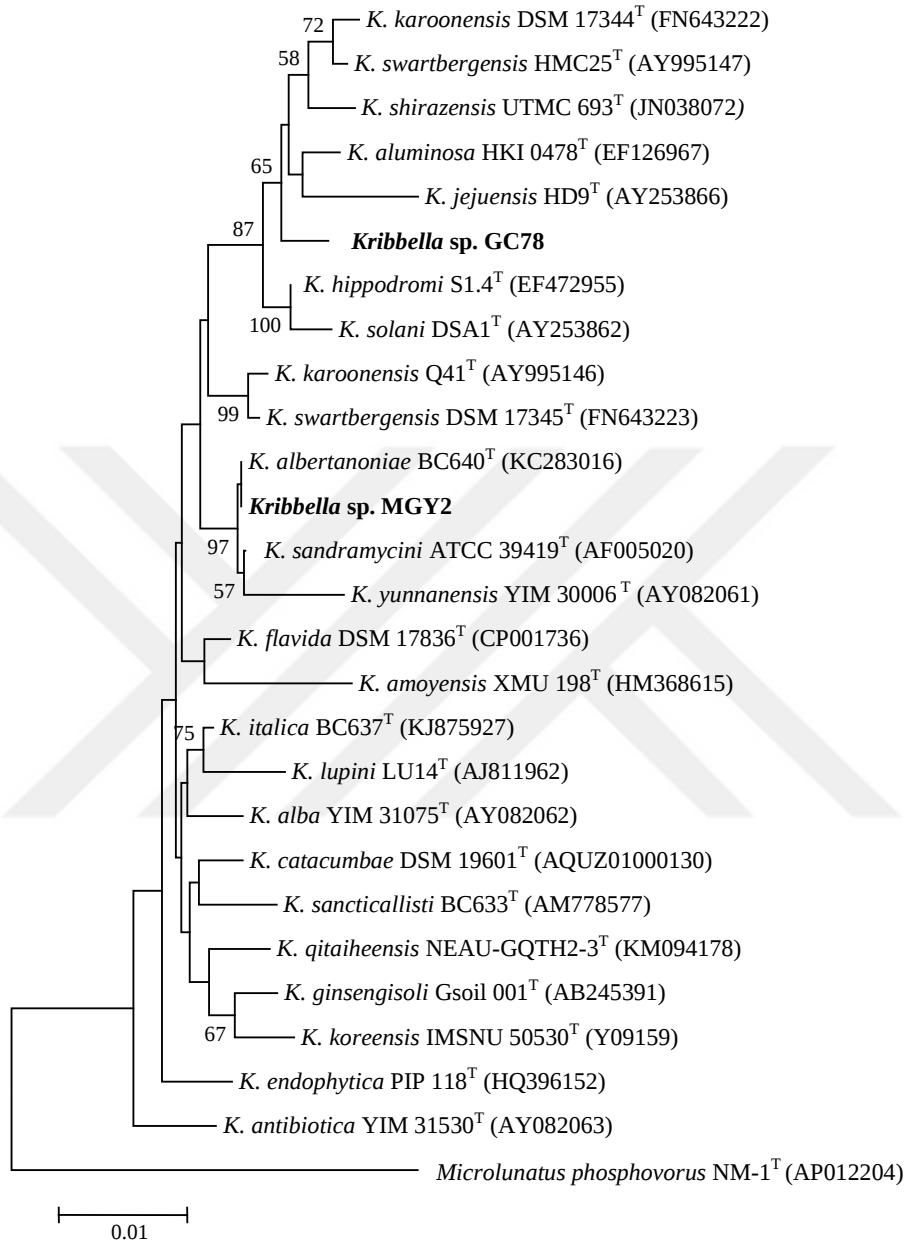


Şekil 4.6. *Actinomadura* cinsine ait izolatın filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Nocardioopsis dassonvillei* DSM43111^T (X97886) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.4. *Actinomadura* cinsine ait izolatın 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbank No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Actinomadura</i> sp. DG80					
1	<i>Actinomadura vinacea</i>	JCM 3325 ^T	AF134070	98.68	19/1440
2	<i>Actinomadura jiaoheensis</i>	JCM 7474 ^T	AF002263	98.54	22/1454
3	<i>Actinomadura sporangiiiformans</i>	3-46-b3 ^T	AB331652	98.54	23/1457
4	<i>Actinomadura formosensis</i>	BK147 ^T	FR692101	98.47	23/1437
5	<i>Actinomadura bangladeshensis</i>	A8036 ^T	HQ157187	98.40	24/1461

800r, MG5f ve 518f primerleriyle okumaları gerçekleştirilen *Actinomadura* sp. DG80 test izolatının 16S rRNA gen dizisi, *Actinomadura* cinsine ait tip türlerin gen dizileriyle hizalanmış ve toplamda 1492 nt'lik dizi elde edilmiştir. Bu işlem sırasında 32 adet *Actinomadura* cinsine ait tip tür kullanılmıştır. Literatürlerle uyumlu olarak *Nocardiopsis dassonvillei* DSM43111^T (X97886) tip türü dış grup olarak kullanılarak *Actinomadura* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen bölgesine ait filogenetik analizleri Mega 7.0 (Kimura vd, 2016) paket programında yapılmıştır. *Actinomadura* cinsine ait DG80 izolatı 19 nükleotit farklılığı ve %98.68 benzerlik oranı ile *A. vinacea* JCM3325^T'e yakınlık gösterirken, *A. jiaoheensis* JCM 7474^T türü ile de %98.54 benzerlik ve 22 nükleotit farklılığı göstermektedir (Şekil 4.6, Çizelge 4.4).

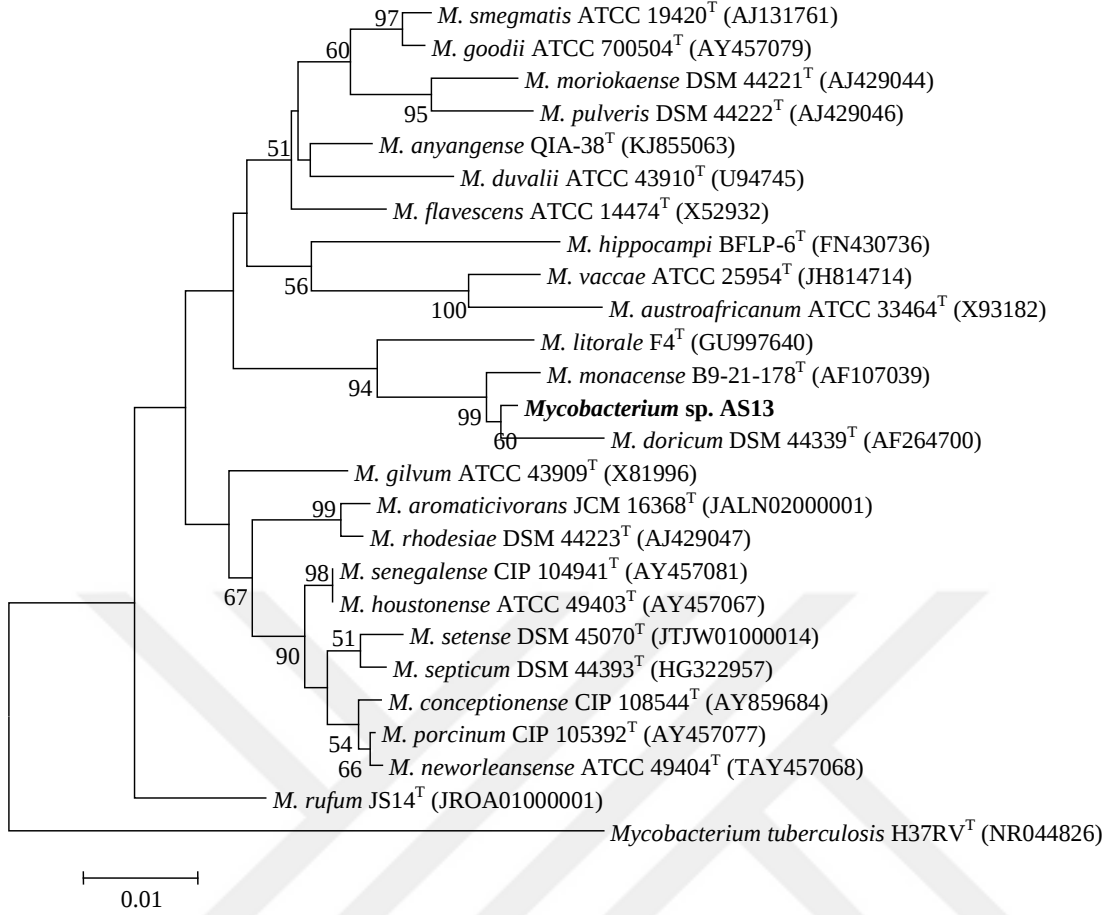


Şekil 4.6. *Kribbella* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Microlunatus phosphovorus* NM-1^T (AP012204) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.5. *Kribbella* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbank No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Kribbella</i> sp. GC78					
1	<i>Kribbella hippodromi</i>	S1.4 ^T	EF472955	99.14	12/1389
2	<i>Kribbella karoonensis</i>	DSM 17344 ^T	FN643222	99.03	13/1334
3	<i>Kribbella swartbergensis</i>	HMC25 ^T	AY995147	99.01	14/1417
4	<i>Kribbella shirazensis</i>	UTMC 693 ^T	JN038072	99.00	14/1402
5	<i>Kribbella aluminosa</i>	HKI 0478 ^T	EF126967	98.93	15/1421
<i>Kribbella</i> sp. MGY2					
1	<i>Kribbella albertanoniae</i>	BC640 ^T	KC283016	100.00	0/1448
2	<i>Kribbella sandramycini</i>	ATCC 39419 ^T	AF005020	99.72	4/1447
3	<i>Kribbella yunnanensis</i>	YIM 30006 ^T	AY082061	99.59	6/1449
4	<i>Kribbella italica</i>	BC637 ^T	KJ875927	99.31	10/1450
5	<i>Kribbella swartbergensis</i>	DSM 17345 ^T	FN643223	99.17	11/1330

Kribbella cinsine ait test izolatları MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulmuştur. Test izolatları, 24 adet *Kribbella* cinsine ait tip türüyle birlikte hizalanmış ve toplamda 1495 nt'lik dizi elde edilmiştir. Dış grup olarak *Microlunatus phosphovorus* NM-1^T (AP012204) tip türü kullanılmıştır. *Kribbella* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen bölgesine ait filogenetik analizleri Mega 7.0 (Kimura vd, 2016) paket programında yapılmıştır. *Kribbella* cinsinde yer alan GC78 izolatı %99.14 benzerlikle *K. hippodromi* S1.4^T ile yakın ilişkili ve 12 farklı nükleotide sahip olduğu, %99.03 benzerlikle *K. karoonensi* DSM17344^T ile yakın ilişkili ve 13 farklı nükleotide sahip olduğu, %99.01 *K. swartbergensis* HMC25^T ile komşu olup ve 14 nükleotit farklılığı bulunduğu tespit edilmiştir. Yine bu cinsin üyesi olduğu belirlenen MGY2 izolatı en yakın tip türü *Kribbella albertanoniae* BC640^T ile %100 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.7, Çizelge 4.5).

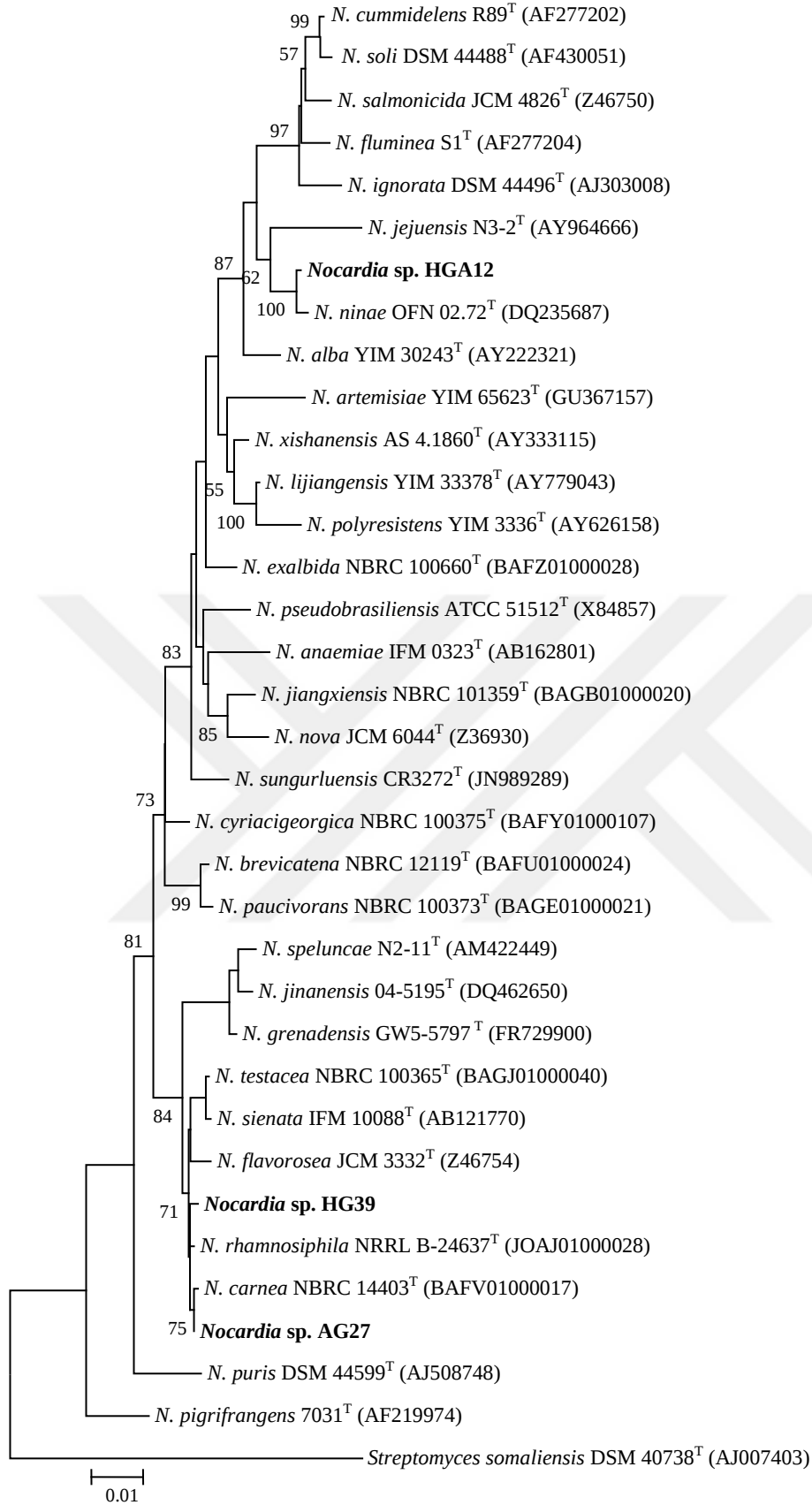


Şekil 4.7. *Mycobacterium* cinsine ait izolatin filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Mycobacterium tuberculosis* H37RV^T (NR044826) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.6. *Mycobacterium* cinsine ait izolatın 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbank No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Mycobacterium</i> sp. AS13					
1	<i>Mycobacterium monacense</i>	B9-21-178 ^T	AF107039	99.66	5/1457
2	<i>Mycobacterium doricum</i>	DSM 44339 ^T	AF264700	99.38	9/1442
3	<i>Mycobacterium litorale</i>	F4 ^T	GU997640	98.61	20/1380
4	<i>Mycobacterium flavescens</i>	ATCC 14474 ^T	X52932	98.18	26/1442
5	<i>Mycobacterium anyangense</i>	ATCC 19420 ^T	AJ131761	98.06	28/1443

Mycobacterium cinsine ait izolatımızın 16S rRNA gen bölgesi ilgili primerlerle (MG5f, 800r ve 518f) elde edilmiştir. Dış grup olarak *M. tuberculosis* H37RV^T (NR044826) tip türü kullanılarak, *Mycobacterium* cinsi üyesi 24 tip tür ile birlikte hizalanmış ve 1506 nt'lik dizi elde edilmiştir. *Mycobacterium* sp. AS13 izolatı %99,66 benzerlikle *M. monacense* B9-21-178^T ile yakın ilişkili olduğu ve 5 nükleotit farklılığı bulunduğu tespit edilmiş, *M. doricum* DSM 44339^T ile %99,38 benzerlik oranı ile komşu olduğu ve 9 nükleotit farklılığı gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.8, Çizelge 4.6).

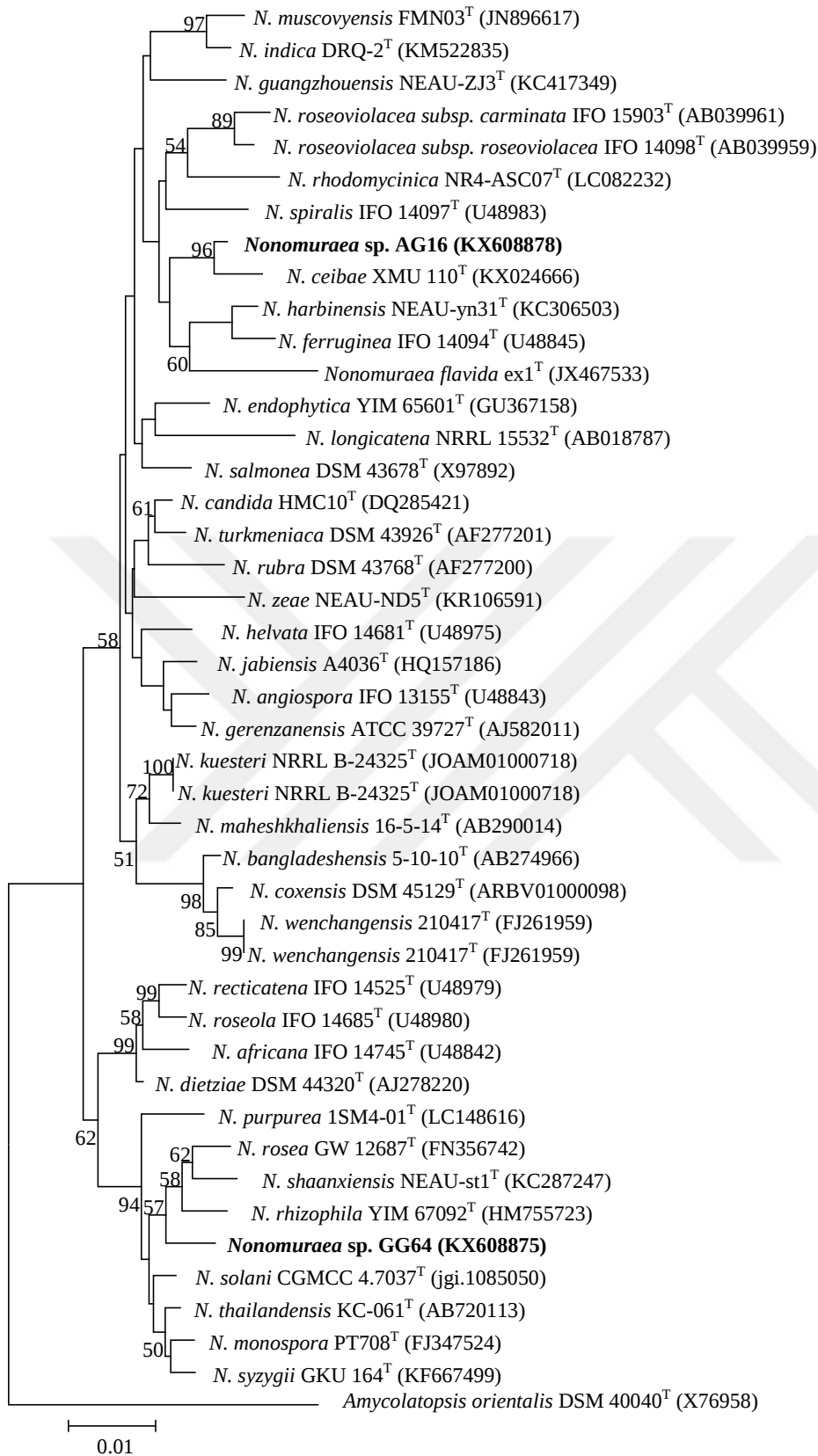


Şekil 4.9. *Nocardia* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces somaliensis* DSM 40738^T (AJ007403) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.7. *Nocardia* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Nocardia</i> sp. HGA12					
1	<i>Nocardia ninae</i>	OFN 02.72 ^T	DQ235687	99.70	4/1321
2	<i>Nocardia alba</i>	YIM 30243 ^T	AY222321	98.68	19/1442
3	<i>Nocardia iowensis</i>	R89 ^T	AF277202	97.90	30/1441
4	<i>Nocardia cummidelens</i>	UI 122540 ^T	DQ925490	97.84	31/1427
5	<i>Nocardia lijangensis</i>	DSM 44488 ^T	AF430051	97.84	31/1454
<i>Nocardia</i> sp. HG39					
1	<i>Nocardia rhamnosiphila</i>	NRRL B-24637 ^T	JOAJ01000028	99.65	5/1445
2	<i>Nocardia flavorosea</i>	NBRC 14403 ^T	BAFV01000017	99.52	7/1445
3	<i>Nocardia carnea</i>	NBRC 100365 ^T	BAGJ01000040	99.51	7/1445
4	<i>Nocardia testacea</i>	JCM 3332 ^T	Z46754	99.44	8/1445
5	<i>Nocardia sienata</i>	IFM 10088 ^T	AB121770	99.30	10/1407
<i>Nocardia</i> sp. AG27					
1	<i>Nocardia carnea</i>	NBRC 14403 ^T	BAFV01000017	99.79	3/1450
2	<i>Nocardia rhamnosiphila</i>	NRRL B-24637 ^T	JOAJ01000028	99.59	6/1450
3	<i>Nocardia flavorosea</i>	JCM 3332 ^T	Z46754	99.58	6/1450
4	<i>Nocardia sienata</i>	NBRC 100365 ^T	BAGJ01000040	99.23	11/1450
5	<i>Nocardia testacea</i>	IFM 10088 ^T	AB121770	99.23	11/1412

Nocardia cinsine ait izolatların MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutularak elde edilen dizileri, 31 *Nocardia* tip türü ile birlikte hizalanmış ve 1486 nt'lik dizi elde edilmiştir. Filogenetik soyağacı analizlerinde dış grup olarak *Streptomyces somaliensis* DSM 40738^T (AJ007403) tip türü kullanılmıştır. İzolatlardan *Nocardia* cinsine ait HGA12 izolatı %99,70 benzerlik oranı ile *N. ninae* OFN 02.72^T ile yakın ilişkili ve 4 nükleotit farklılığı göstermekte, %98,68 benzerlik ile *N. alba* YIM 30243^T ile yakın ilişkili ve 19 nükleotit farklılık göstermektedir. *Nocardia* sp. HG39 izolatı %99,65 ve %99,52 arasında benzerlikle *N. rhamnosiphila* NRRL B-24637^T ve *N. flavorosea* NBRC 14403^T tip türleriyle yakın ilişki göstermekte ve sırasıyla 5 ve 7 nükleotit farklılığı bulunmaktadır. *Nocardia* sp. AG27 izolatı, *N. carnea* NBRC 14403^T ile 16S rRNA gen bölgesi bakımından %99.79 benzerlik ve 3 nükleotit farklılığı göstermektedir. %99,59 benzerlik ve 6 nükleotit farklılıkla *N. rhamnosiphila* NRRL B-24637^T tip türüyle filogenetik soy ağacında yakın konumlanmıştır (Şekil 4.9, Çizelge 4.7).

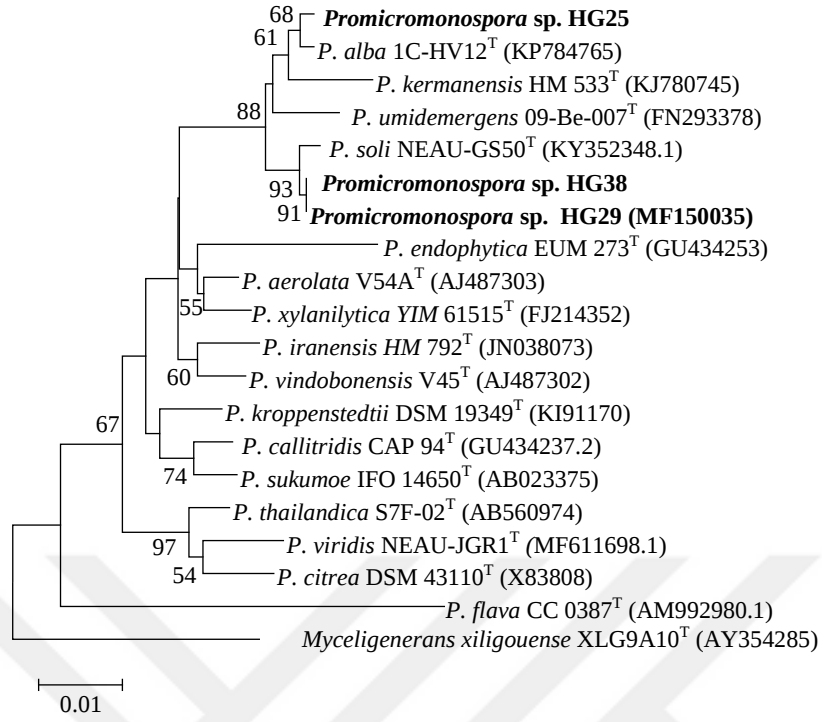


Şekil 4.10. *Nonomuraea* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Amycolatopsis orientalis* DSM 40040^T (X76958) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.8. *Nonomuraea* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Nonomuraea</i> sp. GG64					
1	<i>Nonomuraea rhizophila</i>	YIM 67092 ^T	HM755723	98.91	16/1463
2	<i>Nonomuraea solani</i>	NEAU-Z6 ^T	JQ073731	98.63	20/1461
3	<i>Nonomuraea monospora</i>	PT708 ^T	FJ347524	98.45	22/1415
4	<i>Nonomuraea syzygii</i>	GKU 164 ^T	KF667499	98.32	24/1428
5	<i>Nonomuraea thailandensis</i>	KC-061 ^T	AB720113	98.28	25/1457
<i>Nonomuraea</i> sp. AG16					
1	<i>Nonomuraea ceibae</i>	XMU 110 ^T	KX024666	99.37	9/1437
2	<i>Nonomuraea spiralis</i>	IFO 14097 ^T	U48983	98.37	23/1407
3	<i>Nonomuraea endophytica</i>	YIM 65601 ^T	GU367158	98.23	26/1466
4	<i>Nonomuraea harbinensis</i>	NEAU-yn31 ^T	KC306503	98.09	28/1466
5	<i>Nonomuraea salmonea</i>	DSM 43678 ^T	X97892	98.07	28/1449

Nonomuraea cinsine ait 41 tip türü ile birlikte hizalanan, MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan *Nonomuraea* cinsine ait izolatların dizileriyle, toplamda 1488 nt'lik dizi elde edilmiş ve *Amycolatopsis orientalis* DSM 40040^T (X76958) tip türü dış grup olarak seçilmiştir. *Nonomuraea* sp. GG64 izolatı %98,91 benzerlik ve 16 nükleotit farkla *N. rhizophila* YIM 67092^T tip türünden, %98,63 benzerlik ve 20 nükleotit farkla *N. solani* NEAU-Z6^T tip türünden ayrılarak, farklı bir dala yerleşmiştir. Bu izolat 22 nükleotit farklılığı ve %98,45 benzerlik oranı ile *N. monospora* PT708^T türüne yakınlık gösterdiği tespit edilmiştir. *Nonomuraea* cinsine ait olduğu belirlenen AG16 izolatı %99,37 benzerlik oranı ve 9 nükleotit farklılığı ile *N. ceibae* XMU 110^T türünden, %98,23 benzerlik ve 26 nükleotit farklılığı ile *N. endophytica* YIM 65601^T türünden ayrılıp farklılaşarak filogenetik dendogramda ayrı bir kümede yer almıştır. Yine bu izolat %98,37 benzerlik oranı ile *N. spiralis* DSM 43555^T türü ile yakın ilişkili olup 23 nükleotit farklılığı bulunmakta iken, %98,07 benzerlikle *N. salmonea* DSM 43678^T tip türüne yakınlık göstermekte ve 28 nükleotit farklılığına sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.10, Çizelge 4.8).

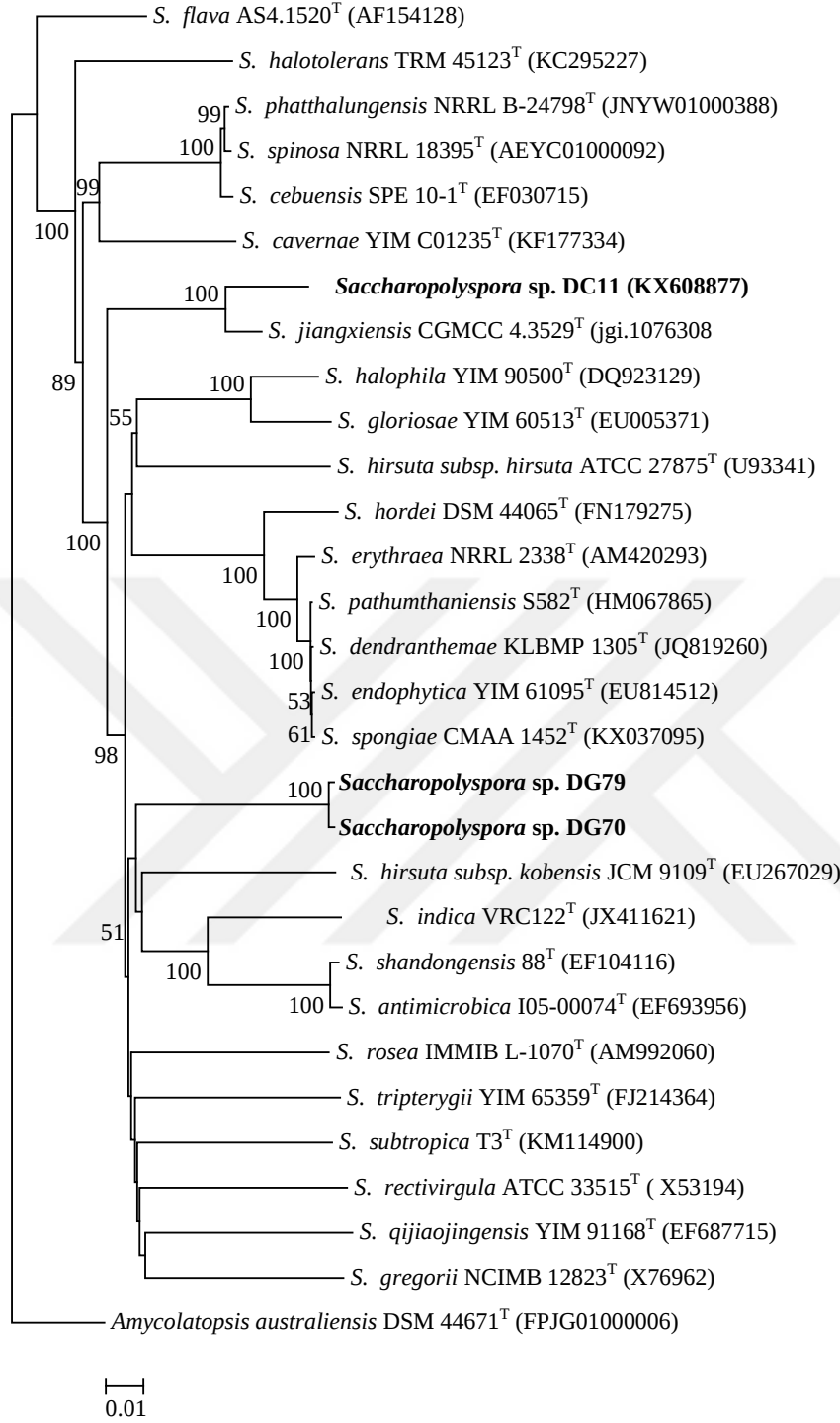


Şekil 4.11. *Promicromonospora* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Myceligenerans xiligouense* XLG9A10^T (AY354285) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.9. *Promicromonospora* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Promicromonospora</i> sp. HG29					
1	<i>Promicromonospora soli</i>	NEAU-GS50 ^T	KY352348	99.86	2/1443
2	<i>Promicromonospora umidemergens</i>	09-Be-007 ^T	FN293378	99.09	12/1325
3	<i>Promicromonospora alba</i>	V54A ^T	AJ487303	98.96	15/1379
4	<i>Promicromonospora aerolata</i>	HM 792 ^T	JN038073	98.84	16/1463
5	<i>Promicromonospora karmanensis</i>	V45 ^T	AJ487302	98.82	17/1337
<i>Promicromonospora</i> sp. HG38					
1	<i>Promicromonospora soli</i>	NEAU-GS50 ^T	KY352348	99.86	2/1443
2	<i>Promicromonospora umidemergens</i>	09-Be-007 ^T	FN293378	99.45	7/1275
3	<i>Promicromonospora alba</i>	V54A ^T	AJ487303	99.13	12/1320
4	<i>Promicromonospora aerolata</i>	HM 792 ^T	JN038073	99.09	12/1399
5	<i>Promicromonospora karmanensis</i>	V45 ^T	AJ487302	98.99	14/1328
<i>Promicromonospora</i> sp. HG25					
1	<i>Promicromonospora alba</i>	V54A ^T	AJ487303	99.86	2/1444
2	<i>Promicromonospora karmanensis</i>	V45 ^T	AJ487302	99.45	8/1444
3	<i>Promicromonospora umidemergens</i>	09-Be-007 ^T	FN293378	99.17	11/1327
4	<i>Promicromonospora vindobonensis</i>	V45 ^T	AJ487302	98.88	15/1381
5	<i>Promicromonospora soli</i>	NEAU-GS50 ^T	KY352348.1	98.85	17/1482

MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan, *Promicromonospora* cinsine ait izolatların dizileriyle, 16 adet *Promicromonospora* cinsine ait tip türle birlikte hizalanmış ve toplamda 1494 nt'lik dizi elde edilmiştir. Dış grup olarak *Myceligenans xiligouense* XLG9A10^T (AY354285) tip türü kullanılmıştır. Mega 7.0 (Kimura vd, 2016) paket programında *Promicromonospora* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen bölgesine ait filogenetik analizleri yapılmıştır. *Promicromonospora* cinsine ait HG29 izolatu %99.86 benzerlik 2 nükleotit farklılığı ile *P. soli* NEAU-GS50^T ile benzerdir. Yine bu izolat %99.09 benzerlikle *P. umidemergens* 09-Be-007^T ile yakın ilişkili olduğu ve 12 farklı nükleotide sahip olduğu, %98.96 *P. alba* V54A^T ile yakın ilişkili ve 15 farklı nükleotide sahip olduğu, %98.84 *P.aerolata* HM 792^T ile komşu olduğu ve 16 nükleotit farklılığı bulunduğu belirlenmiştir. *Promicromonospora* cinsine ait HG38 izolatu % 99.86 benzerlik 2 nükleotit farklılığı ile *P. soli* NEAU-GS50^T ile benzerdir. *P. alba* V54A^T tip türüyle aynı kümede olduğu ve 12 nükleotit farklılığına sahip olduğu gözlenmiştir. *Promicromonospora* cinsine ait HG25 izolatu %99.86 benzerlik oranı ve 2 nükleotid farklılığı ile *P. alba* V54A^T ile benzerdir. Yine bu izolat %99.45 benzerlikle *P. karmanensis* V45^T ile yakın ilişkili olduğu ve 8 nükleotit farklılığına sahip olduğu, *P. umidemergens* 09-Be-007^T ile %99.17 benzerlik ve 11 nükleotit farklılığına sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11, Çizelge 4.9).

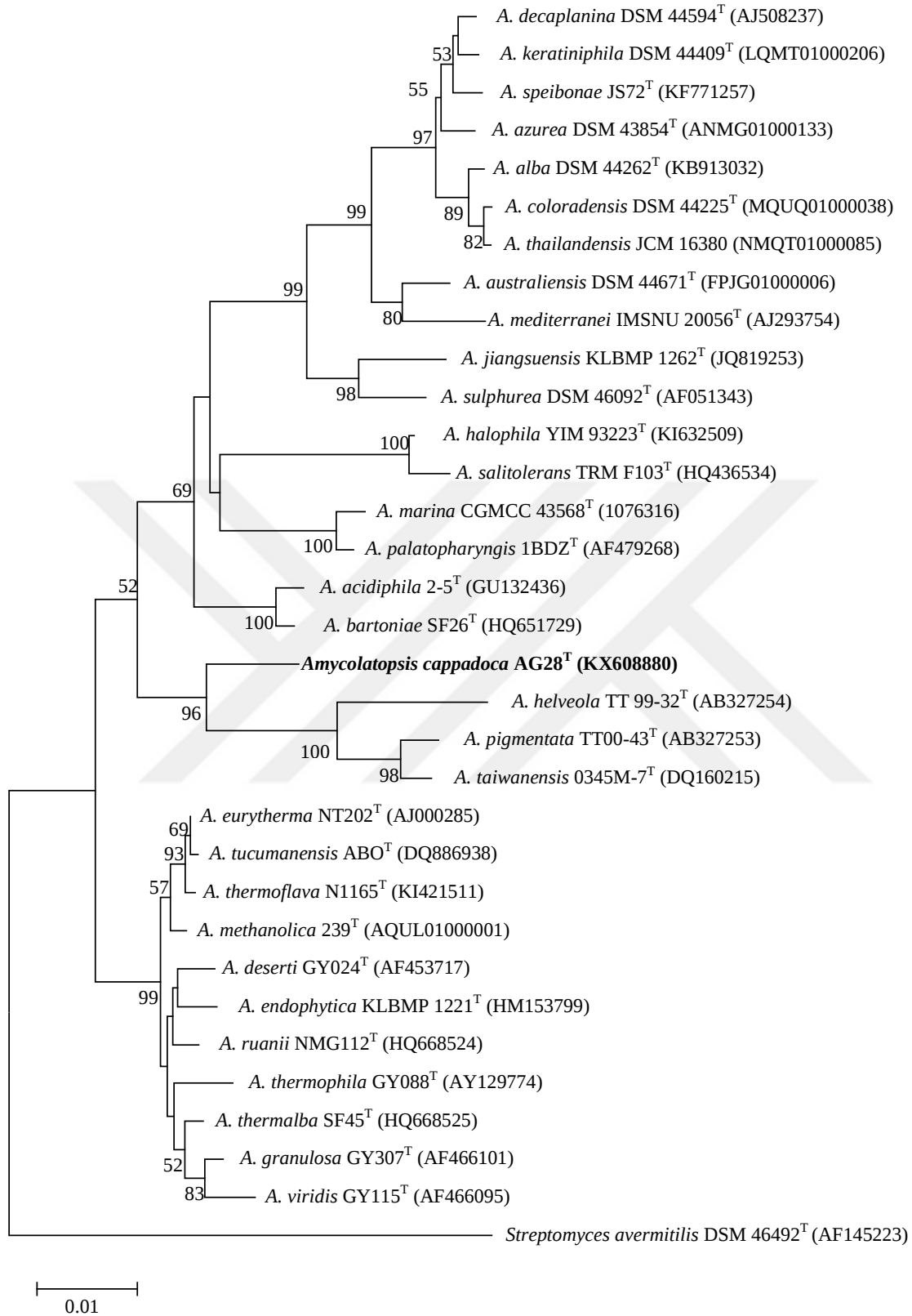


Şekil 4.12. *Saccharopolyspora* cinsine ait izolatların filogenetik dendrogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Amycolatopsis australiensis* DSM 44671^T (FPJG01000006) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.10. *Saccharopolyspora* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Saccharopolyspora</i> sp. DC11					
1	<i>Saccharopolyspora endophytica</i>	YIM 61095 ^T	EU814512	98.77	18/1463
2	<i>Saccharopolyspora spongiae</i>	CMAA 1452 ^T	KX037095	98.75	18/1463
3	<i>Saccharopolyspora dendranthema</i>	KLBMP 1305 ^T	JQ819260	98.47	22/1443
4	<i>Saccharopolyspora pathumthaniensis</i>	S582 ^T	HM067865	98.41	23/1464
5	<i>Saccharopolyspora tripterygii</i>	YIM 65359 ^T	FJ214364	97.88	30/1416
<i>Saccharopolyspora</i> sp. DG79					
1	<i>Saccharopolyspora endophytica</i>	YIM 61095 ^T	EU814512	98.76	18/1448
2	<i>Saccharopolyspora dendranthema</i>	KLBMP 1305 ^T	JQ819260	98.46	22/1430
3	<i>Saccharopolyspora pathumthaniensis</i>	S582 ^T	HM067865	98.39	23/1448
4	<i>Saccharopolyspora tripterygii</i>	YIM 65359 ^T	FJ214364	97.88	30/1416
5	<i>Saccharopolyspora flava</i>	AS4.1520 ^T	AF154128	97.62	34/1426
<i>Saccharopolyspora</i> sp. DG70					
1	<i>Saccharopolyspora endophytica</i>	YIM 61095 ^T	EU814512	98.65	18/1409
2	<i>Saccharopolyspora dendranthema</i>	KLBMP 1305 ^T	JQ819260	98.37	23/1409
3	<i>Saccharopolyspora pathumthaniensis</i>	S582 ^T	HM067865	98.30	24/1409
4	<i>Saccharopolyspora tripterygii</i>	YIM 65359 ^T	FJ214364	97.77	31/1391
5	<i>Saccharopolyspora flava</i>	AS4.1520 ^T	AF154128	97.59	34/1411

MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan *Saccharopolyspora* cinsine ait izolatların dizileriyle, 26 adet *Saccharopolyspora* cinsine ait tip tür hizalanarak, toplamda 1492 nt'lik dizi elde edilmiştir. Dış grup olarak *Amycolatopsis orientalis* DSM 44671^T (FPJG01000006) tip türü kullanılmıştır. *Saccharopolyspora* sp. DC11 izolatı %98,77 benzerlik ile *S. endophytica* YIM 61095^T türü ile yakınlık göstermekte ve 18 nükleotit farklılığı bulunmaktadır. *S. spongiae* CMAA 1452^T tip türü ile %98,75 benzerlik oranı ve 18 nükleotit farklılığı göstermektedir. *Saccharopolyspora* sp. DG79 izolatı 16S gen bölgesi bakımından %98,76 benzerlik oranı ile *S. endophytica* YIM 61095^T türü ile yakın ilişki göstermekle birlikte 18 nükleotit farklılığı bulunmaktadır. Yine bu izolat *S. dendranthema* KLBMP 1305^T türü ile %98,46 benzerlik oranına ve 22 nükleotit farka sahip olduğu görülmüştür. *Saccharopolyspora* sp. DG70 %99,44 benzerlikle *S. endophytica* YIM 61095^T tip türüyle filogenetik soy ağacında küme oluşturmuştur. DG70, DG79 ve DC11 izolatları *S. tripterygii* YIM 65359^T tip türü ile aynı kümede yer alıp %97,77 - %97,88 arasında benzerlik göstermiştir (Şekil 4.12, Çizelge 4.10).



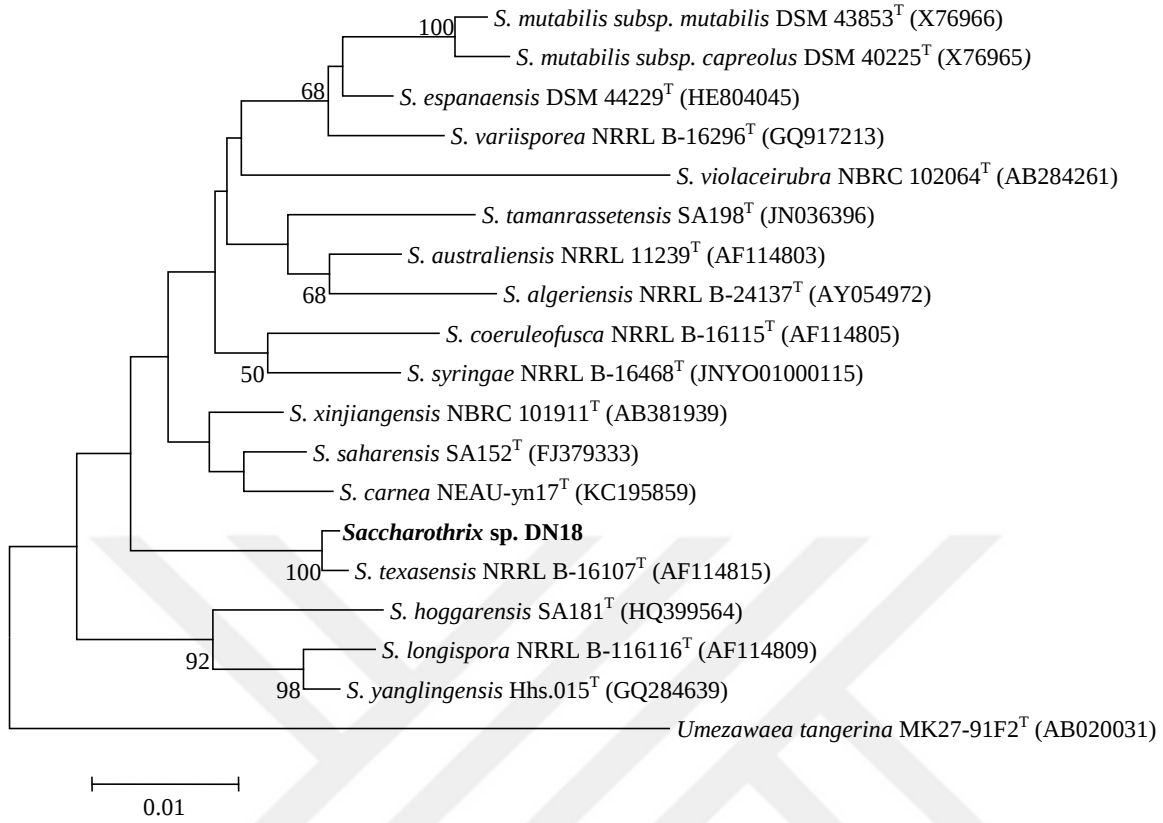
Şekil 4.13. *Amycolatopsis* cinsine ait izolatin filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces avermitilis* DSM 46492^T (AF145223) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.11. *Amycolatopsis* cinsine ait izolatın 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Amycolatopsis</i> sp. AG28					
1	<i>Amycolatopsis deserti</i>	GY024 ^T	AF453717	97.10	40/1377
2	<i>Amycolatopsis taiwanensis</i>	0345M-7 ^T	DQ160215	96.94	44/1461
3	<i>Amycolatopsis pigmentata</i>	TT00-43 ^T	AB327253	96.88	45/1456
4	<i>Amycolatopsis ruanii</i>	NMG112 ^T	HQ668524	96.81	46/1461
5	<i>Amycolatopsis thermalba</i>	SF45 ^T	HQ668525	96.69	46/1392

MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan *Amycolatopsis* cinsine ait izolatın dizisiyle, 31 adet *Amycolatopsis* cinsine ait tip türü ile birlikte hizalanmış ve dış grup olarak *Streptomyces avermitilis* DSM 46492^T (AF145223) tip türü kullanılmıştır ve toplamda 1481 nt'lik dizi elde edilmiştir. *Amycolatopsis* sp. AG28 izolatının 16S rRNA gen bölgesi bakımından %97.10 benzerlik oranı ile *A. deserti* GY024^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu, 40 nükleotit farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından %96.94 benzerlik oranı ile *A. taiwanensis* 0345M-7^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu ve 44 nükleotit farklılık gösterdiği belirlenmiştir. İzolat *A. pigmentata* TT00-43^T türü ile %96.88 benzerlik oranına ve 45 nükleotit farklılığına, *A. ruani* NMG112^T türü ile %96.81 benzerlik oranına ve 46 nükleotit farklılığına sahip olduğu tespit edilmiştir. Filogenetik soy ağacında bu tip türleriyle yakın konumda yer almıştır (Şekil 4.13, Çizelge 4.11).

İzolatın tamamlanan polifazik taksonomi çalışmaları sonucu *Amycolatopsis cappadoca* AG28^T (DSM 104280^T ve KCTC 39884^T) olarak literatüre kazandırılmıştır.

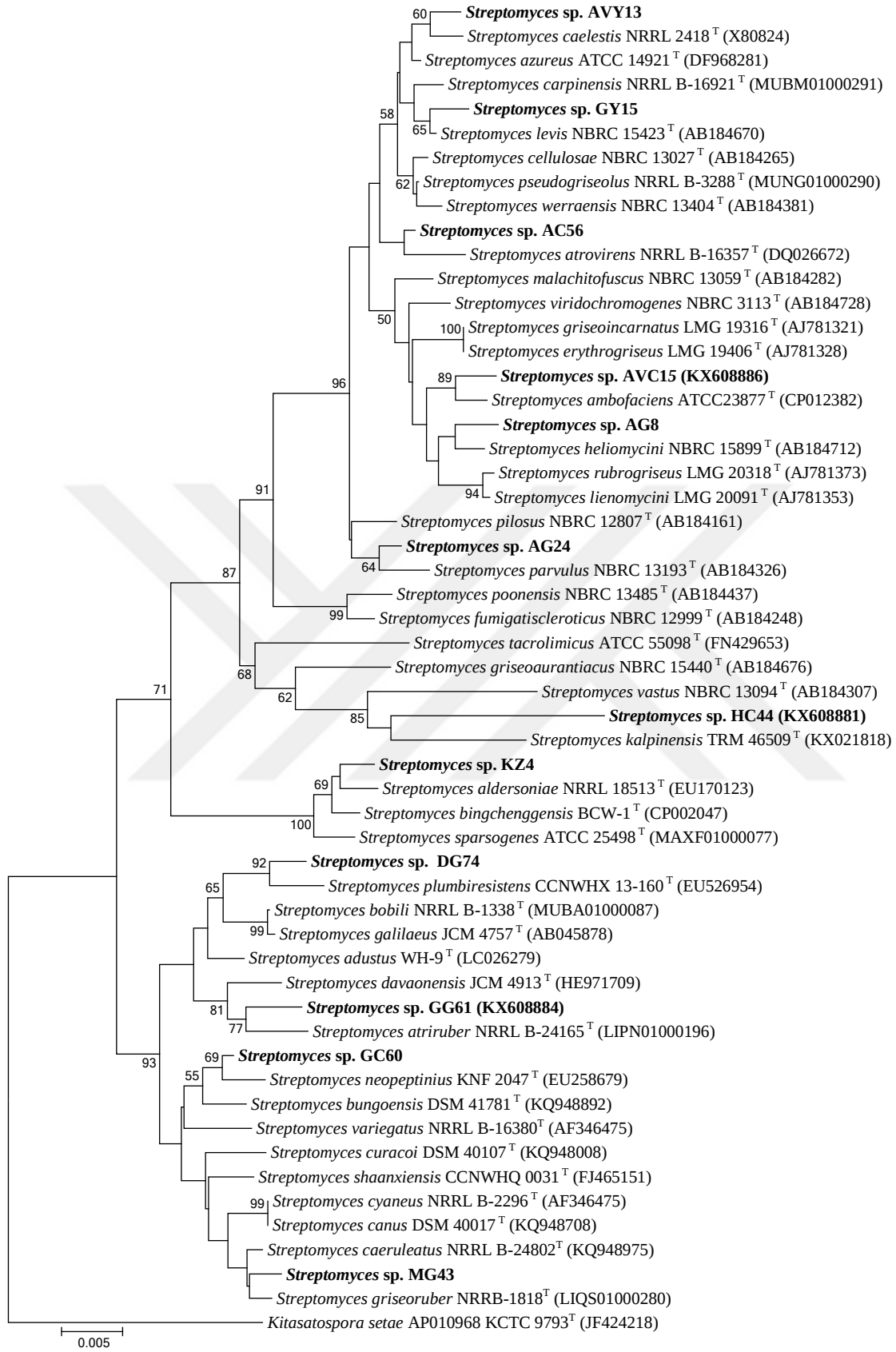


Şekil 4.14. *Saccharothrix* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, %50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Umezawaea tangerina* MK27-91F2^T (AB020031) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.12. *Saccharothrix* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Saccharothrix</i> sp. DN18					
1	<i>Saccharothrix texasensis</i>	NRRL B-16107 ^T	AF114815	99.59	6/1455
2	<i>Saccharothrix espanaensis</i>	DSM 44229 ^T	HE804045	98.76	18/1457
3	<i>Saccharothrix saharensis</i>	SA152 ^T	FJ379333	98.70	19/1457
4	<i>Saccharothrix hoggarensis</i>	SA181 ^T	HQ399564	98.63	20/1457
5	<i>Saccharothrix xinjiangensis</i>	NBRC 101911 ^T	AB381939	98.49	22/1453

Saccharothrix cinsine ait izolatımız ilgili primerlerle (MG5f, 800r ve 518f) okutularak 16S rRNA gen dizisi elde edilmiştir. Dış grup olarak *Umezawaea tangerina* MK27-91F2^T (AB020031) tip türü kullanılmıştır. *Saccharothrix* cinsi üyesi 17 tip tür ile birlikte hizalanmış ve 1506 nt'lik dizi elde edilmiştir. *Saccharothrix* sp. DN18 izolatının 16S rRNA gen bölgesi bakımından %99.59 benzerlik oranı ile *S. texasensis* NRRL B-16107^T tip türü ile yakın ilişkili olup, 6 nükleotit farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. İzolat *S. saharensis* SA152^T türü ile %98.70 benzerlik oranına ve 19 nükleotit farklılığına sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda filogenetik soy ağacında ilgili tip türleriyle yakın konumda yer almakta olduğu görülmüştür (Şekil 4.14, Çizelge 4.12).



Şekil 4.15. *Streptomyces* cinsine ait izolatların filogenetik dendogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Kitasatospora setae* KCTC 9793^T (JF424218) tip türü kullanılmıştır.

Çizelge 4.13. *Streptomyces* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
<i>Streptomyces</i> sp. HC44				
<i>Streptomyces vastus</i>	NBRC 13094 ^T	AB184307	97.24	40/1447
<i>Streptomyces kalpinensis</i>	TRM 46509 ^T	KX021818	97.03	43/1447
<i>Streptomyces poonensis</i>	NBRC 13485 ^T	AB184437	96.68	48/1446
<i>Streptomyces fumigatiscleroticus</i>	NBRC 12247 ^T	AB184248	96.68	48/1446
<i>Streptomyces violaceus</i>	NRRL B-2867 ^T	KL569104	96.54	50/1447
<i>Streptomyces</i> sp. GG61				
<i>Streptomyces atriruber</i>	NRRL B-24165 ^T	EU812169	98.83	17/1452
<i>Streptomyces bobili</i>	JCM 4624 ^T	AB045876	98.55	21/1451
<i>Streptomyces galilaeus</i>	JCM 4757 ^T	AB045878	98.48	22/1452
<i>Streptomyces pseudovenezuelae</i>	NBRC 12904 ^T	AB184233	98.35	24/1452
<i>Streptomyces avermitilis</i>	MA-4680 ^T	BA000030	98.35	24/1452
<i>Streptomyces</i> sp. AVC15				
<i>Streptomyces ambofaciens</i>	ATCC 23877 ^T	M27245	99.29	10/1423
<i>Streptomyces heliomycini</i>	NBRC 15899 ^T	AB184712	99.08	13/1407
<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	NBRC 3113 ^T	AB184728	99.07	13/1405
<i>Streptomyces griseoincarnatus</i>	LMG 19316 ^T	AJ781321	98.94	15/1409
<i>Streptomyces erythrogriseus</i>	LMG 19406 ^T	AJ781328	98.93	15/1408
<i>Streptomyces</i> sp. DG74				
<i>Streptomyces plumbiresistens</i>	CNWHX13160 ^T	EU526954	99.29	10/1416
<i>Streptomyces bobili</i>	NRRL B-1338 ^T	MUBA01000087	99.02	14/1435
<i>Streptomyces galilaeus</i>	JCM 4757 ^T	AB045878	98.95	15/1435
<i>Streptomyces resistomycificus</i>	NRRLISP-5133 ^T	JOBA01000220	98.88	16/1435
<i>Streptomyces phaeoluteigriseus</i>	DSM 41896 ^T	MPOH01000466	98.88	16/1435
<i>Streptomyces</i> sp. GY15				
<i>Streptomyces levis</i>	NBRC 15423 ^T	AB184670MUBM010	99.33	10/1432
<i>Streptomyces carpinensis</i>	NRRL B-16921 ^T	00291	99.02	14/1443
<i>Streptomyces werraensis</i>	NBRC 13404 ^T	AB184381	98.96	15/1445
<i>Streptomyces viridiviolaceus</i>	NBRC 13359 ^T	AB184350	98.96	15/1443
<i>Streptomyces asenjonii</i>	KNN 35.1b ^T	LT621750	98.91	15/1382
<i>Streptomyces</i> sp. AG8				
<i>Streptomyces heliomycini</i>	NBRC 15899 ^T	AB184712	99.37	9/1448
<i>Streptomyces rubrogriseus</i>	LMG 20318 ^T	AJ781373	99.30	10/1448
<i>Streptomyces lienomycini</i>	LMG 20091 ^T	AJ781353	99.23	11/1438
<i>Streptomyces coelestis</i>	DSM 40421 ^T	AF503496	99.17	12/1449
<i>Streptomyces anthocyanicus</i>	NBRC 14892 ^T	AB184631	99.17	12/1448

Çizelge 4.13. devamı

No İzolat	Kültür Koleksiyon No	Genbankası No	% benzerlik	Nt. Farkı
Streptomyces sp. GC60				
<i>Streptomyces neopeptini</i>	KNF 2047 ^T	EU258679	99.35	9/1398
<i>Streptomyces cyaneus</i>	NRRL B-2296 ^T	AF346475	99.17	12/1448
<i>Streptomyces bungoensis</i>	DSM 41781 ^T	KQ948892	99.10	13/1448
<i>Streptomyces variegatus</i>	NRRL B-16380 ^T	JYJH01000110	98.96	15/1448
<i>Streptomyces flavovariabilis</i>	NRRL B-16367 ^T	JNXD01000071	98.96	15/1448
Streptomyces sp. AC56				
<i>Streptomyces atrovirens</i>	NRRL B-16357 ^T	DQ026672	99.37	9/1442
<i>Streptomyces griseoflavus</i>	LMG 19344 ^T	AJ781322	99.30	10/1442
<i>Streptomyces azureus</i>	ATCC 14921 ^T	DF968281	99.30	10/1442
<i>Streptomyces djakartensis</i>	NBRC 15409 ^T	AB184657	99.30	10/1435
<i>Streptomyces cellulosae</i>	NBRC 13027 ^T	AB184265	99.23	11/1442
Streptomyces sp. AG24				
<i>Streptomyces parvulus</i>	NBRC 13193 ^T	AB184326	99.37	9/1438
<i>Streptomyces malachitofuscus</i>	NBRC 13059 ^T	AB184282	99.23	11/1440
<i>Streptomyces pilosus</i>	NBRC 12807 ^T	AB184161	99.16	12/1438
<i>Streptomyces flavoviridis</i>	NBRC 12772 ^T	AB184842	99.16	12/1438
<i>Streptomyces luteogriseus</i>	NBRC 13402 ^T	AB184379	99.15	12/1425
Streptomyces sp. MG43				
<i>Streptomyces caeruleatus</i>	NRRL B-24802 ^T	KQ948975	99.37	9/1438
<i>Streptomyces canus</i>	DSM 40017 ^T	KQ948708	99.23	11/1438
<i>Streptomyces shaanxiensis</i>	CCNWHQ 0031 ^T	FJ465151	99.22	11/1420
<i>Streptomyces griseoruber</i>	NRRL B-1818 ^T	LIQS01000280	98.88	16/1438
<i>Streptomyces cyaneus</i>	NRRL B-2296 ^T	AF346475	98.74	18/1438
Streptomyces sp. KZ4				
<i>Streptomyces bingchenggensis</i>	BCW-1 ^T	CP002047	99.39	8/1450
<i>Streptomyces aldersoniae</i>	NRRL 18513 ^T	EU170123	99.29	10/1420
<i>Streptomyces sparsogenes</i>	ATCC 25498 ^T	MAXF01000077	99.17	12/1447
<i>Streptomyces cuspidosporus</i>	NBRC 12378 ^T	AB184090	99.01	14/1426
<i>Streptomyces palmae</i>	CMU-AB204 ^T	LC073309	98.62	20/1450
Streptomyces sp. AVY13				
<i>Streptomyces levis</i>	NBRC 15423 ^T	AB184670	99.50	7/1432
<i>Streptomyces caelestis</i>	NRRL 2418 ^T	X80824	99.31	10/1448
<i>Streptomyces azureus</i>	ATCC 14921 ^T	DF968281	99.24	11/1449
<i>Streptomyces carpinensis</i>	NBRC 14214 ^T	AB184574	99.24	11/1446
<i>Streptomyces capillispirealis</i>	NBRC 14222 ^T	AB184577	99.24	11/1442

Streptomyces cinsine ait, ön değerlendirme analizlerimize ve literatürdeki yayımlanmış örnekler dikkate alınarak, 11 izolatımızın dizileri *Streptomyces* cinsine ait 66 tip türü ile birlikte hizalanmış ve toplamda 1490 nt'lik dizi elde edilmiştir. *Kitasatospora setae* KCTC 9793^T (JF424218) tip türü dış grup olarak kullanılmıştır. *Streptomyces* cinsine ait bir suş olan HC44 izolatı, en yakın tip türleri olan *S. vastus* ile %97.24 (40 nükleotit farklılığı), *S. kalpinensis* TRM 46509^T ile %97.03 (43 nükleotit farklılığı), *S. poonensis* NBRC 13485^T ile %96.68 (48 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermektedir. *Streptomyces* sp. GG61 izolatı %98.83 benzerlik ile *S. atriruber* NRRL B-24165^T türü ile yakın ilişki göstermekte ve 17 nükleotit farklılığına sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatın *S. bobili* JCM 4624^T türü ile %98.55 benzerlik gösterdiği ve 21 nükleotit farklılığına sahip olduğu belirlenmiştir. *Streptomyces* sp. AVC15 ise *S. ambofaciens* ATCC 23877^T tip türü ile %99.29 (10 nt farklılık) ve *S. heliomycini* NBRC 15899^T tip türü ile %99.08 benzerlik (13 nt farklılık) göstermektedir. DG74 izolatı *S. plumbiresistens* CNWHX13160^T ile 10 nükleotit farklılığına ve %99.29 benzerliğine sahiptir. *Streptomyces* sp. GY15 izolatı *S. levis* NBRC 15423^T ile %99.33 benzerlik ve 10 nt farklılık, *S. carpinensis* NRRL B-16921^T ile %99.02 benzerlik ve 14 nt farklılık göstererek filogenetik soy ağacında aynı kümede yer almıştır. Soy ağacında verilen diğer *Streptomyces* izolatlarımızından AG8, GC60, AC56, AG24, MG43, KZ4 ve AVY13 soy ağacında konumlandıkları ilgili en yakın tip türleriyle (*S. heliomycini* NBRC 15899^T, *Streptomyces* *neopeptinius* KNF 2047^T, *Streptomyces* *atrovirens* NRRL B-16357^T, *Streptomyces* *caeruleatus* NRRL B-24802^T, *Streptomyces* *bingchengensis* BCW-1^T, *Streptomyces* *levis* NBRC 15423^T) %99,3 ile 99,5 benzerlik ve sırasıyla 9 ile 7 nükleotit farklılıkları gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 4.15, Çizelge 4.13).

4.5. *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* Sekans Verilerinin Analizi ve Filogenetik Dendrogram Oluşturulması

Streptomyces cinsine ait izolatların ve tip türlerinin toplu hizalaması yapılmış ve filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Test organizmaları ve ilgili cinslerin tip türlerinin dizi analizine bağlı filogenetik dendrogramları Neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanılarak oluşturulmuştur. Neighbour-joining algoritmasında filogenetik uzaklık matriksi olarak p-distance metodu uygulanmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Filogenetik analizler için oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri 1000 tekrarlı olarak Mega 7.0'de (Kimura vd, 2016) ve nükleotit farklılığı çizelgeleri Phytit 3.1 (Chun, 2001) paket programlarında gerçekleştirilmiştir. *Streptomyces* cinsine ait test organizmalarının filogenetik dendrogramında *Kitasatospora setae* KCTC 9793^T dış grup olarak kullanılmıştır. *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* dizileme analizleri sonucu Neighbour-joining matriksiyle oluşturulan filogenetik ağaçlar Şekil 4.16, 4.17 ve 4.18'de, *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* dizileme benzerlikleri ve nükleotit farklılıkları Çizelge 4.14 - 4.18, 20-24, 26-30'da, *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizlerine göre oluşturulan filogenetik uzaklık matrixleri Çizelge 4.19, 4.25 ve 4.31'de verilmiştir.

Streptomyces sp. HC44 izolatı *atpD* gen bölgesi bakımından incelendiğinde, %97.18 dizi benzerlik oranı 14 nükleotit farklılığı ile *S. vastus* NRRL B-12232^T tip türü ile yakın ilişkili olup, %97.78 dizi benzerlik oranı 11 nükleotit farklılığı ile *S. cinereus* NRRL B-2909^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.16)

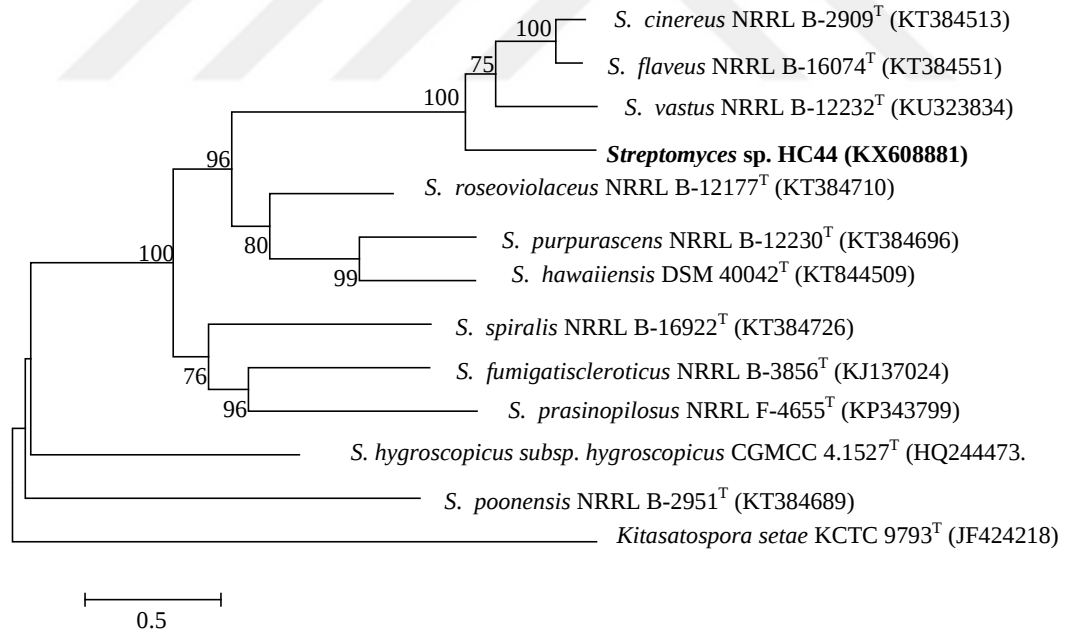
gyrB gen bölgesi bakımından *Streptomyces* sp. HC44 izolatı %98.53 dizi benzerlik oranı 6 nükleotit farklılığı ile *S. vastus* NRRL B-12232^T tip türü ile yakın ilişkili olup, %98.04 dizi benzerlik oranı 8 nükleotit farklılığı ile *S. cinereus* NRRL B-2909^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

recA gen bölgesi bakımından *Streptomyces* sp. HC44 izolatı %97.62 dizi benzerlik oranı 12 nükleotit farklılığı ile *S. hygroscopicus subsp. hygroscopicus* CGMCC 4.1527^T türü ile yakın ilişkili olup, %97.82 dizi benzerlik oranı 11 nükleotit farklılığı ile *S. prasinopilous* NRRL F-4655^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.18).

rpoB gen bölgesi bakımından *Streptomyces* sp. HC44 izolatu %95.93 dizi benzerlik oranı 22 nükleotit farklılığı ile *S. poonensis* NRRL B-2951^T türü ile yakın ilişkili olup, %95.56 dizi benzerlik oranı 24 nükleotit farklılığı ile *S. prasinopilosus* NRRL F-4655^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir.

trpB gen bölgesi bakımından *Streptomyces* sp. HC44 izolatu %95.80 dizi benzerlik oranı 24 nükleotit farklılığı ile *S. flaveus* NRRL B-16074^T türü ile yakın ilişkili olup, %95.62 dizi benzerlik oranı 25 nükleotit farklılığı ile *S. spiralis* NRRL B-16922^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.19).

atpD, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* sekans analizlerine bağlı filogenetik uzaklık matrisi *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve 12 tip türü arasındaki Mega 7.0 programı (Kimura vd, 2016) kullanılarak oluşturulmuştur. Uzaklık matrisi sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. *Streptomyces* sp. HC44 izolatu yakın ilişkili olduğu *S. vastus* NRRL B-12232^T tip türü ile 0.043 filogenetik uzaklık değerlerine, *S. flaveus* NRRL B-16074^T tip türü ile 0,030 filogenetik uzaklık değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.16. *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5’dir.

Çizelge 4.14. *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *atpD* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	---	14/496	61/496	35/496	59/496	46/496	48/495	53/496	11/496	38/495	9/496	61/496
2	97.18	---	59/496	35/496	58/496	52/496	42/495	53/496	9/496	38/495	6/496	57/496
3	87.70	88.10	---	50/496	36/496	22/496	49/495	25/496	53/496	50/495	56/496	10/496
4	92.94	92.94	89.92	---	51/496	45/496	48/495	50/496	34/496	4/495	32/496	52/496
5	88.10	88.31	92.74	89.72	---	41/496	59/495	37/496	55/496	51/495	58/496	42/496
6	90.73	89.52	95.56	90.93	91.73	---	50/495	19/496	47/496	46/495	47/496	23/496
7	90.30	91.52	90.10	90.30	88.08	89.90	---	49/495	41/495	49/495	42/495	50/495
8	89.31	89.31	94.96	89.92	92.54	96.17	90.10	---	50/496	51/495	52/496	23/496
9	97.78	98.19	89.31	93.15	88.91	90.52	91.72	89.92	---	35/495	6/496	53/496
10	92.32	92.32	89.90	99.19	89.70	90.71	90.10	89.70	92.93	---	35/495	52/495
11	98.19	98.79	88.71	93.55	88.31	90.52	91.52	89.52	98.79	92.93	---	56/496
12	87.70	88.51	97.98	89.52	91.53	95.36	89.90	95.36	89.31	89.49	88.71	---

1. *Streptomyces* sp. HC44, 2. *S. vastus* NRRL B-12232^T, 3. *S. fumigatiscleroticus* NRRL B-3856^T, 4. *S. purpurascens* NRRL B-12230^T, 5. *S. poonensis* NRRL B-2951^T, 6. *S. roseoviolaceus* NRRL B-12177^T, 7. *S. hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* CGMCC 4.1527^T, 8. *S. spiralis* NRRL B-16922^T, 9. *S. cinereus* NRRL B-2909^T, 10. *S. hawaiiensis* DSM 40042^T, 11. *S. flaveus* NRRL B-16074^T, 12. *S. prasinopilosus* NRRL F-4655^T

Çizelge 4.15. *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki gryB gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	---	6/408	48/408	27/408	68/378	21/408	76/376	44/408	8/408	20/408	8/408	40/408
2	98.53	---	49/408	28/408	68/378	22/408	78/376	44/408	6/408	21/408	6/408	41/408
3	88.24	87.99	---	52/408	56/378	47/408	65/376	44/408	48/408	49/408	48/408	36/408
4	93.38	93.14	87.25	---	69/378	14/408	74/376	47/408	29/408	19/408	28/408	47/408
5	82.01	82.01	85.19	81.75	---	63/378	61/376	63/378	68/378	66/378	68/378	61/378
6	94.85	94.61	88.48	96.57	83.33	---	73/376	42/408	21/408	16/408	20/408	39/408
7	79.79	79.26	82.71	80.32	83.78	80.59	---	64/376	78/376	73/376	78/376	82/376
8	89.22	89.22	89.22	88.48	83.33	89.71	82.98	---	43/408	39/408	43/408	51/408
9	98.04	98.53	88.24	92.89	82.01	94.85	79.26	89.46	---	22/408	4/408	40/408
10	95.10	94.85	87.99	95.34	82.54	96.08	80.59	90.44	94.61	---	21/408	37/408
11	98.04	98.53	88.24	93.14	82.01	95.10	79.26	89.46	99.02	94.85	---	40/408
12	90.20	89.95	91.18	88.48	83.86	90.44	78.19	87.50	90.20	90.93	90.20	---

1. *Streptomyces* sp. HC44, 2. *S. vastus* NRRL B-12232^T, 3. *S. fumigatiscleroticus* NRRL B-3856^T, 4. *S. purpurascens* NRRL B-12230^T, 5. *S. poonensis* NRRL B-2951^T, 6. *S. roseoviolaceus* NRRL B-12177^T, 7. *S. hygrosopicus* subsp. *hygrosopicus* CGMCC 4.1527^T, 8. *S. spiralis* NRRL B-16922^T, 9. *S. cinereus* NRRL B-2909^T, 10. *S. hawaiiensis* DSM 40042^T, 11. *S. flaveus* NRRL B-16074^T, 12. *S. prasinopilosus* NRRL F-4655^T

Çizelge 4.16. *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *recA* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	---	26/504	34/504	36/504	50/504	25/504	12/504	56/504	38/504	35/504	34/504	11/504
2	94.84	---	20/504	24/504	46/504	24/504	28/504	53/504	26/504	30/504	30/504	27/504
3	93.25	96.03	---	27/504	54/504	29/504	34/504	58/504	25/504	31/504	33/504	33/504
4	92.86	95.24	94.64	---	57/504	29/504	35/504	57/504	14/504	34/504	43/504	34/504
5	90.08	90.87	89.29	88.69	---	42/504	50/504	51/504	54/504	54/504	56/504	49/504
6	95.04	95.24	94.25	94.25	91.67	---	24/504	50/504	31/504	31/504	36/504	23/504
7	97.62	94.44	93.25	93.06	90.08	95.24	---	59/504	38/504	35/504	37/504	1/504
8	88.89	89.48	88.49	88.69	89.88	90.08	88.29	---	59/504	58/504	53/504	58/504
9	92.46	94.84	95.04	97.22	89.29	93.85	92.46	88.29	---	34/504	43/504	37/504
10	93.06	94.05	93.85	93.25	89.29	93.85	93.06	88.49	93.25	---	38/504	34/504
11	93.25	94.05	93.45	91.47	88.89	92.86	92.66	89.48	91.47	92.46	---	36/504
12	97.82	94.64	93.45	93.25	90.28	95.44	99.80	88.49	92.66	93.25	92.86	---

1. *Streptomyces* sp. HC44, 2. *S. vastus* NRRL B-12232^T, 3. *S. fumigatiscleroticus* NRRL B-3856^T, 4. *S. purpurascens* NRRL B-12230^T, 5. *S. poonensis* NRRL B-2951^T, 6. *S. roseoviolaceus* NRRL B-12177^T, 7. *S. hygrosopicus* subsp. *hygrosopicus* CGMCC 4.1527^T, 8. *S. spiralis* NRRL B-16922^T, 9. *S. cinereus* NRRL B-2909^T, 10. *S. hawaiiensis* DSM 40042^T, 11. *S. flaveus* NRRL B-16074^T, 12. *S. prasinopilosus* NRRL F-4655^T

Çizelge 4.17. *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *rpoB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	---	27/540	56/540	58/540	24/540	74/540	68/540	56/540	58/540	55/540	58/540	22/540
2	95.00	---	56/540	53/540	7/540	73/540	69/540	59/540	55/540	54/540	55/540	7/540
3	89.63	89.63	---	28/540	54/540	58/540	65/540	19/540	28/540	27/540	28/540	54/540
4	89.26	90.19	94.81	---	51/540	67/540	69/540	29/540	25/540	13/540	6/540	51/540
5	95.56	98.70	90.00	90.56	---	69/540	70/540	57/540	53/540	50/540	53/540	2/540
6	86.30	86.48	89.26	87.59	87.22	---	61/540	63/540	63/540	65/540	67/540	69/540
7	87.41	87.22	87.96	87.22	87.04	88.70	---	68/540	69/540	70/540	69/540	70/540
8	89.63	89.07	96.48	94.63	89.44	88.33	87.41	---	24/540	30/540	31/540	57/540
9	89.26	89.81	94.81	95.37	90.19	88.33	87.22	95.56	---	30/540	29/540	53/540
10	89.81	90.00	95.00	97.59	90.74	87.96	87.04	94.44	94.44	---	9/540	50/540
11	89.26	89.81	94.81	98.89	90.19	87.59	87.22	94.26	94.63	98.33	---	53/540
12	95.93	98.70	90.00	90.56	99.63	87.22	87.04	89.44	90.19	90.74	90.19	---

1. *Streptomyces* sp. HC44, 2. *S. vastus* NRRL B-12232^T, 3. *S. fumigatiscleroticus* NRRL B-3856^T, 4. *S. purpurascens* NRRL B-12230^T, 5. *S. poonensis* NRRL B-2951^T, 6. *S. roseoviolaceus* NRRL B-12177^T, 7. *S. hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* CGMCC 4.1527^T, 8. *S. spiralis* NRRL B-16922^T, 9. *S. cinereus* NRRL B-2909^T, 10. *S. hawaiiensis* DSM 40042^T, 11. *S. flaveus* NRRL B-16074^T, 12. *S. prasinopilosus* NRRL F-4655^T

Çizelge 4.18 *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *trpB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	---	32/571	57/571	42/571	66/571	40/571	90/567	25/571	47/571	51/571	24/571	50/561
2	94.40	---	63/571	52/571	74/571	51/571	93/567	21/571	58/571	61/571	18/571	57/561
3	90.02	88.97	---	44/571	49/571	40/571	72/567	65/571	38/571	40/571	62/571	40/561
4	92.64	90.89	92.29	---	66/571	6/571	88/567	47/571	38/571	50/571	47/571	35/561
5	88.44	87.04	91.42	88.44	---	63/571	78/567	73/571	57/571	60/571	72/571	56/561
6	92.99	91.07	92.99	98.95	88.97	---	82/567	45/571	32/571	48/571	45/571	33/561
7	84.13	83.60	87.30	84.48	86.24	85.54	---	91/567	79/567	79/567	92/567	84/561
8	95.62	96.32	88.62	91.77	87.22	92.12	83.95	---	52/571	63/571	8/571	54/561
9	91.77	89.84	93.35	93.35	90.02	94.40	86.07	90.89	---	43/571	50/571	39/561
10	91.07	89.32	92.99	91.24	89.49	91.59	86.07	88.97	92.47	---	60/571	46/561
11	95.80	96.85	89.14	91.77	87.39	92.12	83.77	98.60	91.24	89.49	---	52/561
12	91.09	89.84	92.87	93.76	90.02	94.12	85.03	90.37	93.05	91.80	90.73	---

96

1. *Streptomyces* sp. HC44, 2. *S. vastus* NRRL B-12232^T, 3. *S. fumigatiscleroticus* NRRL B-3856^T, 4. *S. purpurascens* NRRL B-12230^T, 5. *S. poonensis* NRRL B-2951^T, 6. *S. roseoviolaceus* NRRL B-12177^T, 7. *S. hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* CGMCC 4.1527^T, 8. *S. spiralis* NRRL B-16922^T, 9. *S. cinereus* NRRL B-2909^T, 10. *S. hawaiiensis* DSM 40042^T, 11. *S. flaveus* NRRL B-16074^T, 12. *S. prasinopilosus* NRRL F-4655^T

Çizelge 4.19. *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizlerine göre *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki uzaklık matriks değeri

	<i>Streptomyces</i> sp. HC44	<i>S. vastus</i>	<i>S. fumigatiscleroticus</i>	<i>S. purpurascens</i>	<i>S. poonensis</i>	<i>S. roseoviolaceus</i>	<i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i>	<i>S. spiralis</i>	<i>S. cinereus</i>	<i>S. hawaiiensis</i>	<i>S. flaveus</i>	<i>S. prasinopilosus</i>
1 <i>Streptomyces</i> sp. HC44												
2 <i>S. vastus</i>	0,043											
3 <i>S. fumigatiscleroticus</i>	0,109	0,105										
4 <i>S. purpurascens</i>	0,084	0,081	0,083									
5 <i>S. poonensis</i>	0,140	0,141	0,110	0,137								
6 <i>S. roseoviolaceus</i>	0,081	0,086	0,068	0,041	0,121							
7 <i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i>	0,151	0,149	0,137	0,150	0,137	0,144						
8 <i>S. spiralis</i>	0,100	0,104	0,065	0,083	0,120	0,065	0,141					
9 <i>S. cinereus</i>	0,033	0,029	0,109	0,082	0,140	0,080	0,151	0,101				
10 <i>S. hawaiiensis</i>	0,086	0,083	0,079	0,035	0,128	0,057	0,149	0,081	0,084			
11 <i>S. flaveus</i>	0,030	0,026	0,108	0,081	0,140	0,079	0,152	0,101	0,009	0,082		
12 <i>S. prasinopilosus</i>	0,105	0,105	0,060	0,092	0,124	0,074	0,148	0,076	0,106	0,089	0,105	-

1. *Streptomyces* sp. HC44, 2. *S. vastus* NRRL B-12232^T, 3. *S. fumigatiscleroticus* NRRL B-3856^T, 4. *S. purpurascens* NRRL B-12230^T, 5. *S. poonensis* NRRL B-2951^T, 6. *S. roseoviolaceus* NRRL B-12177^T, 7. *S. hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* CGMCC 4.1527^T, 8. *S. spiralis* NRRL B-16922^T, 9. *S. cinereus* NRRL B-2909^T, 10. *S. hawaiiensis* DSM 40042^T, 11. *S. flaveus* NRRL B-16074^T, 12. *S. prasinopilosus* NRRL F-4655^T

Streptomyces sp. AVC15 izolatu *atpD* gen bölgesi bakımından incelendiğinde, %99.19 dizi benzerlik oranı 4 nükleotit farklılığı ile *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T türü ile yakın ilişkili olup, % 98.99 dizi benzerlik oranı 5 nükleotit farklılığı ile *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.20).

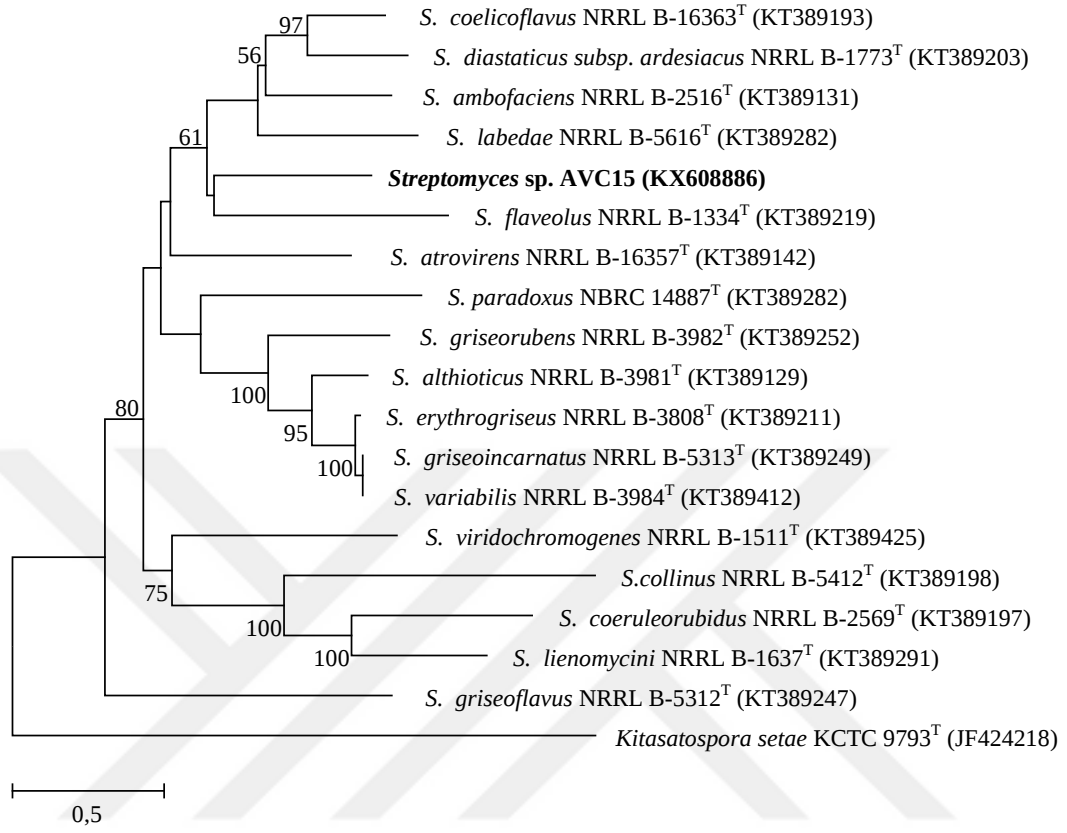
gyrB gen bölgesi bakımından AVC15 izolatu %97.55 dizi benzerlik oranı 10 nükleotit farklılığı ile *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T tip türü ile yakın ilişkili olup, %96.81 dizi benzerlik oranı 13 nükleotit farklılığı ile *S. diastaticus* NRRL B-1773^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.21).

recA gen bölgesi bakımından AVC15 izolatu %95.44 dizi benzerlik oranı 23 nükleotit farklılığı ile *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T türü ile yakın ilişkili olup, %95.44 dizi benzerlik oranı 23 nükleotit farklılığı ile *S. labedae* NRRL B-5616^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.22).

rpoB gen bölgesi bakımından AVC15 izolatu %97.96 dizi benzerlik oranı 11 nükleotit farklılığı ile *S. flaveolus* NRRL B-1334^T türü ile yakın ilişkili olup, %95.74 dizi benzerlik oranı 23 nükleotit farklılığı ile *S. griseoflavus* NRRL B-5312^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

trpB gen bölgesi bakımından AVC15 izolatu %96.32 dizi benzerlik oranı 21 nükleotit farklılığı ile *S. flaveolus* NRRL B-1334^T tip türü ile yakın ilişkili olup, %95.97 dizi benzerlik oranı 23 nükleotit farklılığı ile *S. labedae* NRRL B-5616^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.24).

atpD, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* sekans analizlerine bağlı filogenetik uzaklık matriksi *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve 18 tip türü arasındaki Mega 7.0 paket programı (Kimura vd, 2016) kullanılarak oluşturulmuştur. Uzaklık matriksi sonuçları Çizelge 4.25'te verilmiştir. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu yakın ilişkili olduğu *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T tip türü ile 0.042 filogenetik uzaklık değerlerine, *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T tip türü ile 0,044 filogenetik uzaklık değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.17. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5' dir.

Çizelge 4.20. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *atpD* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	---	15/496	4/496	5/496	5/496	5/496	13/496	6/496	13/496	13/496	46/496	53/496	12/496	12/496	15/496	6/496	15/496	45/496
2	96.98	---	17/496	16/496	16/496	16/496	22/496	17/496	22/496	6/496	51/496	64/496	5/496	5/496	24/496	15/496	2/496	52/496
3	99.19	96.57	---	1/496	1/496	1/496	13/496	2/496	11/496	15/496	48/496	53/496	14/496	12/496	11/496	4/496	17/496	47/496
4	98.99	96.77	99.80	---	0/496	0/496	12/496	1/496	10/496	14/496	49/496	54/496	13/496	13/496	12/496	3/496	16/496	48/496
5	98.99	96.77	99.80	100.00	---	0/496	12/496	1/496	10/496	14/496	49/496	54/496	13/496	13/496	12/496	3/496	16/496	48/496
6	98.99	96.77	99.80	100.00	100.00	---	12/496	1/496	10/496	14/496	49/496	54/496	13/496	13/496	12/496	3/496	16/496	48/496
7	97.38	95.56	97.38	97.58	97.58	97.58	---	13/496	18/496	18/496	44/496	50/496	19/496	19/496	16/496	15/496	20/496	45/496
8	98.79	96.57	99.60	99.80	99.80	99.80	97.38	---	11/496	15/496	50/496	54/496	14/496	14/496	13/496	2/496	17/496	49/496
9	97.38	95.56	97.78	97.98	97.98	97.98	96.37	97.78	---	20/496	51/496	55/496	21/496	23/496	8/496	9/496	20/496	52/496
10	97.38	98.79	96.98	97.18	97.18	97.18	96.37	96.98	95.97	---	47/496	62/496	1/496	5/496	22/496	15/496	4/496	48/496
11	90.73	89.72	90.32	90.12	90.12	90.12	91.13	89.92	89.72	90.52	---	28/496	48/496	46/496	45/496	52/496	49/496	6/496
12	89.31	87.10	89.31	89.11	89.11	89.11	89.92	89.11	88.91	87.50	94.35	---	63/496	59/496	53/496	56/496	62/496	28/496
13	97.58	98.99	97.18	97.38	97.38	97.38	96.17	97.18	95.77	99.80	90.32	87.30	---	4/496	23/496	14/496	5/496	49/496
14	97.58	98.99	97.58	97.38	97.38	97.38	96.17	97.18	95.36	98.99	90.73	88.10	99.19	---	21/496	16/496	5/496	47/496
15	96.98	95.16	97.78	97.58	97.58	97.58	96.77	97.38	98.39	95.56	90.93	89.31	95.36	95.77	---	15/496	22/496	48/496
16	98.79	96.98	99.19	99.40	99.40	99.40	96.98	99.60	98.19	96.98	89.52	88.71	97.18	96.77	96.98	---	15/496	51/496
17	96.98	99.60	96.57	96.77	96.77	96.77	95.97	96.57	95.97	99.19	90.12	87.50	98.99	98.99	95.56	96.98	---	50/496
18	90.93	89.52	90.52	90.32	90.32	90.32	90.93	90.12	89.52	90.32	98.79	94.35	90.12	90.52	90.32	89.72	89.92	---

1. *Streptomyces* sp. AVC15, 2. *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T, 3. *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T, 4. *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T, 5. *S. labedae* NRRL B-5616^T, 6. *S. variabilis* NRRL B-3984^T, 7. *S. viridochromogenes* NRRL B-1511^T, 8. *S. althioticus* NRRL B-3981^T, 9. *S. atrovirens* NRRL B-16357^T, 10. *S. coelicoflavus* NRRL B-16363^T, 11. *S. coeruleorubidus* NRRL B-2569^T, 12. *S. collinus* NRRL B-5412^T, 13. *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T, 14. *S. flaveolus* NRRL B-1334^T, 15. *S. griseoflavus* NRRL B-5312^T, 16. *S. griseorubens* NRRL B-3982^T, 17. *S. paradoxus* NBRC 14887^T, 18. *S. lienomycin* NRRL B-1637^T

Çizelge 4.21. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *gryB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	---	10/408	31/408	32/408	46/408	32/408	50/408	30/408	26/408	18/408	43/408	43/408	13/408	61/408	60/405	44/408	22/408	40/408
2	97.55	---	28/408	29/408	49/408	29/408	47/408	29/408	29/408	12/408	42/408	40/408	11/408	58/408	61/405	47/408	17/408	37/408
3	92.40	93.14	---	1/408	58/408	1/408	47/408	7/408	29/408	28/408	51/408	49/408	36/408	65/408	66/405	52/408	35/408	41/408
4	92.16	92.89	99.75	---	59/408	0/408	48/408	8/408	30/408	29/408	52/408	50/408	37/408	66/408	67/405	53/408	36/408	42/408
5	88.73	87.99	85.78	85.54	---	59/408	45/408	58/408	51/408	51/408	45/408	31/408	51/408	76/408	57/405	44/408	52/408	42/408
6	92.16	92.89	99.75	100.00	85.54	---	48/408	8/408	30/408	29/408	52/408	50/408	37/408	66/408	67/405	53/408	36/408	42/408
7	87.75	88.48	88.48	88.24	88.97	88.24	---	48/408	49/408	55/408	37/408	43/408	51/408	63/408	52/405	37/408	55/408	37/408
8	92.65	92.89	98.28	98.04	85.78	98.04	88.24	---	28/408	31/408	53/408	53/408	37/408	68/408	70/405	54/408	36/408	46/408
9	93.63	92.89	92.89	92.65	87.50	92.65	87.99	93.14	---	33/408	41/408	49/408	33/408	67/408	69/405	45/408	32/408	40/408
10	95.59	97.06	93.14	92.89	87.50	92.89	86.52	92.40	91.91	---	47/408	46/408	13/408	65/408	58/405	49/408	12/408	41/408
11	89.46	89.71	87.50	87.25	88.97	87.25	90.93	87.01	89.95	88.48	---	44/408	46/408	74/408	63/405	48/408	46/408	38/408
12	89.46	90.20	87.99	87.75	92.40	87.75	89.46	87.01	87.99	88.73	89.22	---	46/408	67/408	62/405	44/408	47/408	18/408
13	96.81	97.30	91.18	90.93	87.50	90.93	87.50	90.93	91.91	96.81	88.73	88.73	---	62/408	61/405	49/408	18/408	41/408
14	85.05	85.78	84.07	83.82	81.37	83.82	84.56	83.33	83.58	84.07	81.86	83.58	84.80	---	59/411	64/408	68/408	61/408
15	85.19	84.94	83.70	83.46	85.93	83.46	87.16	82.72	82.96	85.68	84.44	84.69	84.94	85.64	---	61/405	63/405	53/405
16	89.22	88.48	87.25	87.01	89.22	87.01	90.93	86.76	88.97	87.99	88.24	89.22	87.99	84.31	84.94	---	54/408	38/408
17	94.61	95.83	91.42	91.18	87.25	91.18	86.52	91.18	92.16	97.06	88.73	88.48	95.59	83.33	84.44	86.76	---	42/408
18	90.20	90.93	89.95	89.71	89.71	89.71	90.93	88.73	90.20	89.95	90.69	95.59	89.95	85.05	86.91	90.69	89.71	---

1. *Streptomyces* sp. AVC15, 2. *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T, 3. *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T, 4. *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T, 5. *S. labedae* NRRL B-5616^T, 6. *S. variabilis* NRRL B-3984^T, 7. *S. viridochromogenes* NRRL B-1511^T, 8. *S. althioticus* NRRL B-3981^T, 9. *S. atrovirens* NRRL B-16357^T, 10. *S. coelicoflavus* NRRL B-16363^T, 11. *S. coeruleorubidus* NRRL B-2569^T, 12. *S. collinus* NRRL B-5412^T, 13. *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T, 14. *S. flaveolus* NRRL B-1334^T, 15. *S. griseoflavus* NRRL B-5312^T, 16. *S. griseorubens* NRRL B-3982^T, 17. *S. paradoxus* NBRC 14887^T, 18. *S. lienomycin* NRRL B-1637^T

Çizelge 4.22. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *recA* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	---	24/504	24/504	23/504	34/504	23/504	31/504	24/504	23/504	28/504	38/504	28/504	28/504	25/504	56/504	24/504	28/504	33/504
2	95.24	---	24/504	23/504	25/504	23/504	22/504	23/504	22/504	23/504	32/504	22/504	23/504	18/504	51/504	23/504	25/504	25/504
3	95.24	95.24	---	1/504	28/504	1/504	19/504	4/504	14/504	22/504	21/504	22/504	23/504	22/504	42/504	4/504	24/504	21/504
4	95.44	95.44	99.80	---	27/504	0/504	18/504	3/504	13/504	21/504	20/504	21/504	22/504	21/504	43/504	3/504	23/504	20/504
5	93.25	95.04	94.44	94.64	---	27/504	23/504	28/504	21/504	22/504	32/504	28/504	24/504	25/504	58/504	28/504	28/504	27/504
6	95.44	95.44	99.80	100.00	94.64	---	18/504	3/504	13/504	21/504	20/504	21/504	22/504	21/504	43/504	3/504	23/504	20/504
7	93.85	95.63	96.23	96.43	95.44	96.43	---	19/504	16/504	22/504	26/504	20/504	23/504	22/504	46/504	19/504	28/504	22/504
8	95.24	95.44	99.21	99.40	94.44	99.40	96.23	---	14/504	23/504	19/504	20/504	23/504	22/504	46/504	0/504	25/504	21/504
9	95.44	95.63	97.22	97.42	95.83	97.42	96.83	97.22	---	12/504	22/504	20/504	17/504	16/504	51/504	14/504	20/504	19/504
10	94.44	95.44	95.63	95.83	95.63	95.83	95.63	95.44	97.62	---	26/504	20/504	12/504	14/504	53/504	23/504	15/504	19/504
11	92.46	93.65	95.83	96.03	93.65	96.03	94.84	96.23	95.63	94.84	---	19/504	30/504	26/504	51/504	19/504	33/504	12/504
12	94.44	95.63	95.63	95.83	94.44	95.83	96.03	96.03	96.03	96.03	96.23	---	24/504	23/504	50/504	20/504	28/504	11/504
13	94.44	95.44	95.44	95.63	95.24	95.63	95.44	95.44	96.63	97.62	94.05	95.24	---	11/504	56/504	23/504	13/504	24/504
14	95.04	96.43	95.63	95.83	95.04	95.83	95.63	95.63	96.83	97.22	94.84	95.44	97.82	---	49/504	22/504	18/504	23/504
15	88.89	89.88	91.67	91.47	88.49	91.47	90.87	90.87	89.88	89.48	89.88	90.08	88.89	90.28	---	46/504	58/504	49/504
16	95.24	95.44	99.21	99.40	94.44	99.40	96.23	100.00	97.22	95.44	96.23	96.03	95.44	95.63	90.87	---	25/504	21/504
17	94.44	95.04	95.24	95.44	94.44	95.44	94.44	95.04	96.03	97.02	93.45	94.44	97.42	96.43	88.49	95.04	---	27/504
18	93.45	95.04	95.83	96.03	94.64	96.03	95.63	95.83	96.23	96.23	97.62	97.82	95.24	95.44	90.28	95.83	94.64	---

1. *Streptomyces* sp. AVC15, 2. *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T, 3. *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T, 4. *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T, 5. *S. labedae* NRRL B-5616^T, 6. *S. variabilis* NRRL B-3984^T, 7. *S. viridochromogenes* NRRL B-1511^T, 8. *S. althioticus* NRRL B-3981^T, 9. *S. atrovirens* NRRL B-16357^T, 10. *S. coelicoflavus* NRRL B-16363^T, 11. *S. coeruleorubidus* NRRL B-2569^T, 12. *S. collinus* NRRL B-5412^T, 13. *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T, 14. *S. flaveolus* NRRL B-1334^T, 15. *S. griseoflavus* NRRL B-5312^T, 16. *S. griseorubens* NRRL B-3982^T, 17. *S. paradoxus* NBRC 14887^T, 18. *S. lienomycin* NRRL B-1637^T

Çizelge 4.23. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *rpoB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	---	29/540	31/540	32/540	41/540	32/540	40/540	33/540	27/540	24/540	42/540	54/540	32/540	11/540	23/540	32/540	24/540	43/540
2	94.63	---	31/540	32/540	38/540	32/540	29/540	33/540	25/540	10/540	49/540	59/540	19/540	28/540	25/540	32/540	15/540	48/540
3	94.26	94.26	---	1/540	37/540	1/540	37/540	6/540	21/540	29/540	43/540	58/540	29/540	29/540	14/540	5/540	29/540	42/540
4	94.07	94.07	99.81	---	38/540	0/540	38/540	7/540	22/540	30/540	44/540	59/540	30/540	30/540	15/540	6/540	30/540	43/540
5	92.41	92.96	93.15	92.96	---	38/540	35/540	39/540	38/540	40/540	33/540	58/540	43/540	41/540	40/540	38/540	37/540	36/540
6	94.07	94.07	99.81	100.00	92.96	---	38/540	7/540	22/540	30/540	44/540	59/540	30/540	30/540	15/540	6/540	30/540	43/540
7	92.59	94.63	93.15	92.96	93.52	92.96	---	37/540	23/540	31/540	41/540	49/540	32/540	37/540	34/540	36/540	32/540	41/540
8	93.89	93.89	98.89	98.70	92.78	98.70	93.15	---	25/540	29/540	45/540	60/540	27/540	31/540	16/540	1/540	29/540	44/540
9	95.00	95.37	96.11	95.93	92.96	95.93	95.74	95.37	---	28/540	41/540	52/540	28/540	24/540	17/540	24/540	28/540	41/540
10	95.56	98.15	94.63	94.44	92.59	94.44	94.26	94.63	94.81	---	47/540	60/540	15/540	25/540	23/540	28/540	9/540	47/540
11	92.22	90.93	92.04	91.85	93.89	91.85	92.41	91.67	92.41	91.30	---	57/540	47/540	38/540	43/540	44/540	48/540	16/540
12	90.00	89.07	89.26	89.07	89.26	89.07	90.93	88.89	90.37	88.89	89.44	---	60/540	55/540	57/540	59/540	57/540	62/540
13	94.07	96.48	94.63	94.44	92.04	94.44	94.07	95.00	94.81	97.22	91.30	88.89	---	29/540	27/540	28/540	18/540	47/540
14	97.96	94.81	94.63	94.44	92.41	94.44	93.15	94.26	95.56	95.37	92.96	89.81	94.63	---	22/540	30/540	25/540	38/540
15	95.74	95.37	97.41	97.22	92.59	97.22	93.70	97.04	96.85	95.74	92.04	89.44	95.00	95.93	---	15/540	23/540	43/540
16	94.07	94.07	99.07	98.89	92.96	98.89	93.33	99.81	95.56	94.81	91.85	89.07	94.81	94.44	97.22	---	28/540	43/540
17	95.56	97.22	94.63	94.44	93.15	94.44	94.07	94.63	94.81	98.33	91.11	89.44	96.67	95.37	95.74	94.81	---	48/540
18	92.04	91.11	92.22	92.04	93.33	92.04	92.41	91.85	92.41	91.30	97.04	88.52	91.30	92.96	92.04	92.04	91.11	---

1. *Streptomyces* sp. AVC15, 2. *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T, 3. *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T, 4. *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T, 5. *S. labedae* NRRL B-5616^T, 6. *S. variabilis* NRRL B-3984^T, 7. *S. viridochromogenes* NRRL B-1511^T, 8. *S. althioticus* NRRL B-3981^T, 9. *S. atrovirens* NRRL B-16357^T, 10. *S. coelicoflavus* NRRL B-16363^T, 11. *S. coeruleorubidus* NRRL B-2569^T, 12. *S. collinus* NRRL B-5412^T, 13. *S. diastaticus* subsp. *ardesiacus* NRRL B-1773^T, 14. *S. flaveolus* NRRL B-1334^T, 15. *S. griseoflavus* NRRL B-5312^T, 16. *S. griseorubens* NRRL B-3982^T, 17. *S. paradoxus* NBRC 14887^T, 18. *S. lienomycin* NRRL B-1637^T

Çizelge 4.24. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *trpB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	---	27/571	38/571	38/571	39/571	38/571	34/571	32/571	25/571	24/571	32/571	33/571	25/571	21/571	29/571	37/571	23/571	30/571
2	95.27	---	37/571	37/571	38/571	37/571	43/571	35/571	34/571	29/571	38/571	39/571	28/571	20/571	32/571	39/571	30/571	41/571
3	93.35	93.52	---	0/571	1/571	0/571	50/571	15/571	39/571	43/571	39/571	48/571	45/571	39/571	31/571	21/571	41/571	42/571
4	93.35	93.52	100.00	---	1/571	0/571	50/571	15/571	39/571	43/571	39/571	48/571	45/571	39/571	31/571	21/571	41/571	42/571
5	93.17	93.35	99.82	99.82	---	1/571	51/571	16/571	40/571	44/571	40/571	49/571	46/571	40/571	32/571	22/571	42/571	43/571
6	93.35	93.52	100.00	100.00	99.82	---	50/571	15/571	39/571	43/571	39/571	48/571	45/571	39/571	31/571	21/571	41/571	42/571
7	94.05	92.47	91.24	91.24	91.07	91.24	---	47/571	33/571	44/571	38/571	40/571	47/571	39/571	32/571	45/571	46/571	39/571
8	94.40	93.87	97.37	97.37	97.20	97.37	91.77	---	35/571	41/571	37/571	44/571	43/571	35/571	31/571	10/571	39/571	42/571
9	95.62	94.05	93.17	93.17	92.99	93.17	94.22	93.87	---	31/571	31/571	36/571	34/571	24/571	18/571	42/571	30/571	33/571
10	95.80	94.92	92.47	92.47	92.29	92.47	92.29	92.82	94.57	---	31/571	40/571	17/571	17/571	29/571	43/571	13/571	36/571
11	94.40	93.35	93.17	93.17	92.99	93.17	93.35	93.52	94.57	94.57	---	40/571	35/571	30/571	27/571	40/571	34/571	38/571
12	94.22	93.17	91.59	91.59	91.42	91.59	92.99	92.29	93.70	92.99	92.99	---	43/571	36/571	33/571	46/571	41/571	22/571
13	95.62	95.10	92.12	92.12	91.94	92.12	91.77	92.47	94.05	97.02	93.87	92.47	---	20/571	34/571	45/571	18/571	39/571
14	96.32	96.50	93.17	93.17	92.99	93.17	93.17	93.87	95.80	97.02	94.75	93.70	96.50	---	26/571	37/571	18/571	33/571
15	94.92	94.40	94.57	94.57	94.40	94.57	94.40	94.57	96.85	94.92	95.27	94.22	94.05	95.45	---	33/571	34/571	33/571
16	93.52	93.17	96.32	96.32	96.15	96.32	92.12	98.25	92.64	92.47	92.99	91.94	92.12	93.52	94.22	---	40/571	44/571
17	95.97	94.75	92.82	92.82	92.64	92.82	91.94	93.17	94.75	97.72	94.05	92.82	96.85	96.85	94.05	92.99	---	38/571
18	94.75	92.82	92.64	92.64	92.47	92.64	93.17	92.64	94.22	93.70	93.35	96.15	93.17	94.22	94.22	92.29	93.35	---

1. *Streptomyces* sp. AVC15, 2. *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T, 3. *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T, 4. *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T, 5. *S. labedae* NRRL B-5616^T, 6. *S. variabilis* NRRL B-3984^T, 7. *S. viridochromogenes* NRRL B-1511^T, 8. *S. althioticus* NRRL B-3981^T, 9. *S. atrovirens* NRRL B-16357^T, 10. *S. coelicoflavus* NRRL B-16363^T, 11. *S. coeruleorubidus* NRRL B-2569^T, 12. *S. collinus* NRRL B-5412^T, 13. *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T, 14. *S. flaveolus* NRRL B-1334^T, 15. *S. griseoflavus* NRRL B-5312^T, 16. *S. griseorubens* NRRL B-3982^T, 17. *S. paradoxus* NBRC 14887^T, 18. *S. lienomycin* NRRL B-1637^T

Çizelge 4.25. *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizlerine göre *Streptomyces* sp. AVC15 izolatı ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki distance matriks

		Streptomyces sp. AVC15	S. ambofaciens	S. erythrogriseus	S. griseoincarnatus	S. labedae	S. variabilis	S. viridochromogenes	S. althioticus	S. atrovirens	S. coelicoflavus	S. coeruleorubidus	S. collinus	S. diastaticus subsp. ardesiacus	S. flaveolus	S. griseoflavus	S. griseorubens	S. paradoxus	S. lienomycini
1	Streptomyces sp. AVC15																		
2	S. ambofaciens	0,042																	
3	S. erythrogriseus	0,051	0,054																
4	S. griseoincarnatus	0,052	0,054	0,002															
5	S. labedae	0,066	0,066	0,050	0,050														
6	S. variabilis	0,052	0,054	0,002	0,000	0,050													
7	S. viridochromogenes	0,067	0,065	0,066	0,066	0,066	0,066												
8	S. althioticus	0,050	0,054	0,013	0,013	0,056	0,013	0,065											
9	S. atrovirens	0,045	0,052	0,045	0,045	0,064	0,045	0,055	0,045										
10	S. coelicoflavus	0,042	0,032	0,054	0,054	0,068	0,054	0,067	0,055	0,049									
11	S. coeruleorubidus	0,080	0,084	0,080	0,081	0,079	0,081	0,074	0,081	0,074	0,079								
12	S. collinus	0,084	0,089	0,091	0,092	0,087	0,092	0,080	0,092	0,084	0,091	0,075							
13	S. diastaticus subsp. ardesiacus	0,044	0,034	0,058	0,058	0,070	0,058	0,068	0,057	0,053	0,023	0,082	0,094						
14	S. flaveolus	0,052	0,052	0,067	0,068	0,077	0,068	0,072	0,068	0,062	0,051	0,085	0,095	0,051					
15	S. griseoflavus	0,075	0,079	0,067	0,069	0,079	0,069	0,073	0,072	0,067	0,076	0,093	0,102	0,082	0,071				
16	S. griseorubens	0,057	0,062	0,034	0,034	0,054	0,034	0,060	0,027	0,053	0,063	0,081	0,089	0,063	0,068	0,070			
17	S. paradoxus	0,051	0,039	0,042	0,042	0,053	0,042	0,074	0,049	0,056	0,033	0,086	0,096	0,040	0,063	0,081	0,057		
18	S. lienomycini	0,073	0,076	0,076	0,077	0,077	0,077	0,076	0,079	0,072	0,067	0,042	0,064	0,071	0,074	0,091	0,077	0,083	-

1. *Streptomyces* sp. AVC15, 2. *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T, 3. *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T, 4. *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T, 5. *S. labedae* NRRL B-5616^T, 6. *S. variabilis* NRRL B-3984^T, 7. *S. viridochromogenes* NRRL B-1511^T, 8. *S. althioticus* NRRL B-3981^T, 9. *S. atrovirens* NRRL B-16357^T, 10. *S. coelicoflavus* NRRL B-16363^T, 11. *S. coeruleorubidus* NRRL B-2569^T, 12. *S. collinus* NRRL B-5412^T, 13. *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T, 14. *S. flaveolus* NRRL B-1334^T, 15. *S. griseoflavus* NRRL B-5312^T, 16. *S. griseorubens* NRRL B-3982^T, 17. *S. paradoxus* NBRC 14887^T, 18. *S. lienomycin* NRRL B-1637^T

Streptomyces sp. GG61 izolatu *atpD* gen bölgesi bakımından incelendiğinde, % 99.19 dizi benzerlik oranı 9 nükleotit farklılığı ile *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T tip türü ile yakın ilişkili olup, %98.99 dizi benzerlik oranı 10 nükleotit farklılığı ile *S. chartreusis* NRRL ISP-5085^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.26).

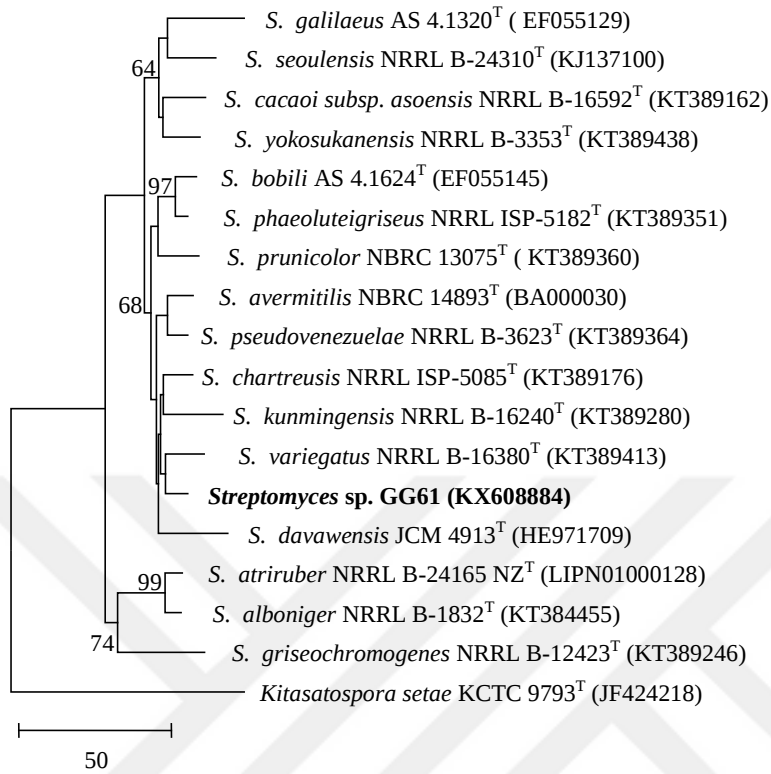
gryB gen bölgesi bakımından GG61 izolatu %89.13 dizi benzerlik oranı 45 nükleotit farklılığı ile *S. alboniger* NRRL B-1832^T tip türü ile yakın ilişkili olup, %88.48 dizi benzerlik oranı 47 nükleotit farklılığı ile *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür (Çizelge 4.27).

recA gen bölgesi bakımından GG61 izolatu %94.44 dizi benzerlik oranı 28 nükleotit farklılığı ile *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T türü ile yakın ilişkili olup, %94.25 dizi benzerlik oranı 29 nükleotit farklılığı ile *S. davawensis* JCM 4913^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür (Çizelge 4.28).

rpoB gen bölgesi bakımından GG61 izolatu % 92.49 dizi benzerlik oranı 34 nükleotit farklılığı *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T türü ile yakın ilişkili olup, %92.05 dizi benzerlik oranı 36 nükleotit farklılığı ile *S. variegatus* NRRL B-16380^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür (Çizelge 4.29).

trpB gen bölgesi bakımından GG61 izolatu %94.22 dizi benzerlik oranı 33 nükleotit farklılığı ile *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T tip türü ile yakın ilişkili olup, %93.87 dizi benzerlik oranı 35 nükleotit farklılığı ile *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür (Çizelge 4.30).

atpD, *gryB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* sekans analizlerine bağlı filogenetik uzaklık matriksi *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve 17 tip türü arasındaki Mega 7.0 programı (Kimura vd, 2016) kullanılarak oluşturulmuştur. Uzaklık matriks sonuçları Çizelge 4.31’de verilmiştir. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu yakın ilişkili olduğu *S. variegatus* NRRL B-16380^T tip türü ile 0.071 filogenetik uzaklık değerlerine, *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T tip türü ile 0,074 filogenetik uzaklık değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.18. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir.

Çizelge 4.26. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *atpD* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	---	21/496	12/496	27/496	9/496	20/496	15/496	18/496	48/496	38/496	10/496	29/496	13/496	43/496	42/496	13/496	15/496
2	95.77	---	24/496	18/496	20/496	19/496	18/496	33/496	56/496	27/496	21/496	12/496	20/496	53/496	51/496	22/496	21/496
3	97.58	95.16	---	29/496	13/496	17/496	17/496	23/496	50/496	34/496	15/496	27/496	14/496	42/496	41/496	17/496	16/496
4	94.56	96.37	94.15	---	32/496	26/496	24/496	34/496	56/496	24/496	29/496	22/496	34/496	52/496	54/496	33/496	21/496
5	98.19	95.97	97.38	93.55	---	15/496	14/496	23/496	49/496	36/496	9/496	26/496	7/496	44/496	41/496	14/496	18/496
6	95.97	96.17	96.57	94.76	96.98	---	14/496	28/496	54/496	33/496	19/496	24/496	19/496	47/496	44/496	23/496	15/496
7	96.98	96.37	96.57	95.16	97.18	97.18	---	27/496	54/496	32/496	14/496	22/496	13/496	48/496	45/496	16/496	5/496
8	96.37	93.35	95.36	93.15	95.36	94.35	94.56	---	63/496	44/496	19/496	38/496	25/496	48/496	49/496	22/496	25/496
9	90.32	88.71	89.92	88.71	90.12	89.11	89.11	87.30	---	54/496	50/496	56/496	51/496	40/496	40/496	50/496	57/496
10	92.34	94.56	93.15	95.16	92.74	93.35	93.55	91.13	89.11	---	39/496	28/496	36/496	45/496	48/496	34/496	31/496
11	97.98	95.77	96.98	94.15	98.19	96.17	97.18	96.17	89.92	92.14	---	21/496	13/496	44/496	41/496	13/496	16/496
12	94.15	97.58	94.56	95.56	94.76	95.16	95.56	92.34	88.71	94.35	95.77	---	26/496	53/496	51/496	26/496	25/496
13	97.38	95.97	97.18	93.15	98.59	96.17	97.38	94.96	89.72	92.74	97.38	94.76	---	44/496	41/496	10/496	17/496
14	91.33	89.31	91.53	89.52	91.13	90.52	90.32	90.32	91.94	90.93	91.13	89.31	91.13	---	4/496	45/496	47/496
15	91.53	89.72	91.73	89.11	91.73	91.13	90.93	90.12	91.94	90.32	91.73	89.72	91.73	99.19	---	43/496	46/496
16	97.38	95.56	96.57	93.35	97.18	95.36	96.77	95.56	89.92	93.15	97.38	94.76	97.98	90.93	91.33	---	19/496
17	96.98	95.77	96.77	95.77	96.37	96.98	98.99	94.96	88.51	93.75	96.77	94.96	96.57	90.52	90.73	96.17	---

1. *Streptomyces* sp. GG61, 2. *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T, 3. *S. variegatus* NRRL B-16380^T, 4. *S. seoulensis* NRRL B-24310^T, 5. *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T, 6. *S. prunicolor* NBRC 13075^T, 7. *S. phaeoluteigriseus* NRRL ISP-5182^T, 8. *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T, 9. *S. griseochromogenes* NRRL B-12423^T, 10. *S. galilaeus* AS 4.1320^T, 11. *S. chartreusis* NRRL ISP-5085^T, 12. *S. cacaoi_subsp._asoensis* NRRL B-16592^T, 13. *S. avermitilis* NBRC 14893^T, 14. *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T, 15. *S. alboniger* NRRL B-1832^T, 16. *S. davawensis* JCM 4913^T, 17. *S. bobili* AS 4.1624^T

Çizelge 4.27. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki gryB gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	---	55/408	57/414	62/408	54/408	61/408	57/408	47/408	60/408	60/414	50/408	51/414	56/408	50/414	45/414	207/413	59/408
2	86.52	---	69/408	38/408	38/408	45/408	53/408	59/402	40/408	78/408	49/408	64/408	40/408	63/408	56/408	205/407	48/408
3	86.23	83.09	---	68/408	67/408	67/408	69/408	53/408	68/408	82/414	61/408	66/414	71/408	66/414	63/414	196/413	71/408
4	84.80	90.69	83.33	---	53/408	50/408	46/408	67/402	47/408	80/408	45/408	73/408	50/408	65/408	62/408	202/407	50/408
5	86.76	90.69	83.58	87.01	---	44/408	47/408	63/402	47/408	76/408	47/408	62/408	37/408	59/408	60/408	206/407	48/408
6	85.05	88.97	83.58	87.75	89.22	---	48/408	64/402	41/408	74/408	38/408	64/408	33/408	62/408	58/408	207/407	45/408
7	86.03	87.01	83.09	88.73	88.48	88.24	---	58/402	41/408	77/408	37/408	70/408	36/408	60/408	58/408	210/407	13/408
8	88.48	85.32	87.01	83.33	84.33	84.08	85.57	---	61/402	67/408	58/402	66/408	66/402	59/408	54/408	201/407	59/402
9	85.29	90.20	83.33	88.48	88.48	89.95	89.95	84.83	---	85/408	33/408	63/408	34/408	53/408	51/408	209/407	38/408
10	85.51	80.88	80.19	80.39	81.37	81.86	81.13	83.58	79.17	---	69/408	76/414	75/408	74/414	71/414	198/413	71/408
11	87.75	87.99	85.05	88.97	88.48	90.69	90.93	85.57	91.91	83.09	---	66/408	37/408	50/408	47/408	201/407	38/408
12	87.68	84.31	84.06	82.11	84.80	84.31	82.84	83.82	84.56	81.64	83.82	---	64/408	74/414	72/414	210/413	68/408
13	86.27	90.20	82.60	87.75	90.93	91.91	91.18	83.58	91.67	81.62	90.93	84.31	---	52/408	53/408	215/407	34/408
14	87.92	84.56	84.06	84.07	85.54	84.80	85.29	85.54	87.01	82.13	87.75	82.13	87.25	---	18/414	202/413	61/408
15	89.13	86.27	84.78	84.80	85.29	85.78	85.78	86.76	87.50	82.85	88.48	82.61	87.01	95.65	---	205/413	59/408
16	49.88	49.63	52.54	50.37	49.39	49.14	48.40	50.61	48.65	52.06	50.61	49.15	47.17	51.09	50.36	---	211/407
17	85.54	88.24	82.60	87.75	88.24	88.97	96.81	85.32	90.69	82.60	90.69	83.33	91.67	85.05	85.54	48.16	---

1. *Streptomyces* sp. GG61, 2. *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T, 3. *S. variegatus* NRRL B-16380^T, 4. *S. seoulensis* NRRL B-24310^T, 5. *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T, 6. *S. prunicolor* NBRC 13075^T, 7. *S. phaeoluteigriseus* NRRL ISP-5182^T, 8. *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T, 9. *S. griseochromogenes* NRRL B-12423^T, 10. *S. galilaeus* AS 4.1320^T, 11. *S. chartreusis* NRRL ISP-5085^T, 12. *S. cacaoi_subsp._asoensis* NRRL B-16592^T, 13. *S. avermitilis* NBRC 14893^T, 14. *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T, 15. *S. alboniger* NRRL B-1832^T, 16. *S. davawensis* JCM 4913^T, 17. *S. bobili* AS 4.1624^T

Çizelge 4.28. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *recA* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	---	39/504	37/504	34/504	37/504	40/504	41/504	41/504	38/504	40/504	33/504	30/504	32/504	28/504	31/504	29/504	40/504
2	92.26	---	46/504	27/504	33/504	33/504	27/504	55/504	18/504	42/504	25/504	32/504	40/504	45/504	44/504	29/504	32/504
3	92.66	90.87	---	41/504	38/504	50/504	42/504	38/504	42/504	40/504	41/504	42/504	30/504	27/504	34/504	43/504	45/504
4	93.25	94.64	91.87	---	31/504	36/504	35/504	47/504	25/504	40/504	25/504	32/504	37/504	42/504	44/504	30/504	36/504
5	92.66	93.45	92.46	93.85	---	29/504	30/504	33/504	30/504	44/504	21/504	41/504	32/504	38/504	40/504	31/504	34/504
6	92.06	93.45	90.08	92.86	94.25	---	35/504	52/504	33/504	46/504	27/504	41/504	39/504	43/504	45/504	35/504	42/504
7	91.87	94.64	91.67	93.06	94.05	93.06	---	50/504	31/504	46/504	25/504	39/504	37/504	46/504	46/504	27/504	10/504
8	91.87	89.09	92.46	90.67	93.45	89.68	90.08	---	51/504	51/504	43/504	43/504	37/504	36/504	35/504	42/504	55/504
9	92.46	96.43	91.67	95.04	94.05	93.45	93.85	89.88	---	41/504	23/504	38/504	33/504	46/504	47/504	28/504	35/504
10	92.06	91.67	92.06	92.06	91.27	90.87	90.87	89.88	91.87	---	41/504	35/504	35/504	36/504	37/504	34/504	51/504
11	93.45	95.04	91.87	95.04	95.83	94.64	95.04	91.47	95.44	91.87	---	35/504	30/504	42/504	41/504	21/504	27/504
12	94.05	93.65	91.67	93.65	91.87	91.87	92.26	91.47	92.46	93.06	93.06	---	33/504	35/504	32/504	32/504	42/504
13	93.65	92.06	94.05	92.66	93.65	92.26	92.66	92.66	93.45	93.06	94.05	93.45	---	32/504	32/504	29/504	45/504
14	94.44	91.07	94.64	91.67	92.46	91.47	90.87	92.86	90.87	92.86	91.67	93.06	93.65	---	16/504	40/504	50/504
15	93.85	91.27	93.25	91.27	92.06	91.07	90.87	93.06	90.67	92.66	91.87	93.65	93.65	96.83	---	39/504	51/504
16	94.25	94.25	91.47	94.05	93.85	93.06	94.64	91.67	94.44	93.25	95.83	93.65	94.25	92.06	92.26	---	33/504
17	92.06	93.65	91.07	92.86	93.25	91.67	98.02	89.09	93.06	89.88	94.64	91.67	91.07	90.08	89.88	93.45	---

1. *Streptomyces* sp. GG61, 2. *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T, 3. *S. variegatus* NRRL B-16380^T, 4. *S. seoulensis* NRRL B-24310^T, 5. *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T, 6. *S. prunicolor* NBRC 13075^T, 7. *S. phaeoluteigriseus* NRRL ISP-5182^T, 8. *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T, 9. *S. griseochromogenes* NRRL B-12423^T, 10. *S. galilaeus* AS 4.1320^T, 11. *S. chartreusis* NRRL ISP-5085^T, 12. *S. cacaoi_subsp._asoensis* NRRL B-16592^T, 13. *S. avermitilis* NBRC 14893^T, 14. *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T, 15. *S. alboniger* NRRL B-1832^T, 16. *S. davawensis* JCM 4913^T, 17. *S. bobili* AS 4.1624^T

Çizelge 4.29 *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *rpoB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	---	34/453	36/453	45/453	46/453	47/453	44/453	37/453	36/453	43/453	38/453	41/453	37/453	41/453	36/453	233/441	45/453
2	92.49	---	43/540	44/540	42/540	48/540	45/540	49/540	13/543	56/540	41/540	38/540	45/540	56/540	49/540	279/528	47/540
3	92.05	92.04	---	49/540	54/540	68/540	62/540	54/540	44/540	59/540	47/540	46/540	53/540	30/540	24/540	275/528	65/540
4	90.07	91.85	90.93	---	25/540	47/540	42/540	46/540	37/540	48/540	33/540	44/540	40/540	51/540	49/540	271/528	42/540
5	89.85	92.22	90.00	95.37	---	46/540	34/540	41/540	35/540	50/540	25/540	45/540	32/540	56/540	50/540	273/528	33/540
6	89.62	91.11	87.41	91.30	91.48	---	37/540	46/540	45/540	49/540	59/540	59/540	20/540	60/540	59/540	273/528	39/540
7	90.29	91.67	88.52	92.22	93.70	93.15	---	38/540	41/540	53/540	50/540	53/540	30/540	64/540	58/540	271/528	10/540
8	91.83	90.93	90.00	91.48	92.41	91.48	92.96	---	48/540	39/540	53/540	61/540	34/540	58/540	51/540	275/528	28/540
9	92.05	97.61	91.85	93.15	93.52	91.67	92.41	91.11	---	53/540	36/540	37/540	40/540	55/540	48/540	279/528	44/540
10	90.51	89.63	89.07	91.11	90.74	90.93	90.19	92.78	90.19	---	55/540	53/540	44/540	56/540	54/540	271/528	52/540
11	91.61	92.41	91.30	93.89	95.37	89.07	90.74	90.19	93.33	89.81	---	45/540	45/540	51/540	45/540	277/528	53/540
12	90.95	92.96	91.48	91.85	91.67	89.07	90.19	88.70	93.15	90.19	91.67	---	52/540	54/540	49/540	281/528	59/540
13	91.83	91.67	90.19	92.59	94.07	96.30	94.44	93.70	92.59	91.85	91.67	90.37	---	56/540	48/540	272/528	32/540
14	90.95	89.63	94.44	90.56	89.63	88.89	88.15	89.26	89.81	89.63	90.56	90.00	89.63	---	10/540	276/528	66/540
15	92.05	90.93	95.56	90.93	90.74	89.07	89.26	90.56	91.11	90.00	91.67	90.93	91.11	98.15	---	274/528	59/540
16	47.17	47.16	47.92	48.67	48.30	48.30	48.67	47.92	47.16	48.67	47.54	46.78	48.48	47.73	48.11	---	273/528
17	90.07	91.30	87.96	92.22	93.89	92.78	98.15	94.81	91.85	90.37	90.19	89.07	94.07	87.78	89.07	48.30	---

1. *Streptomyces* sp. GG61, 2. *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T, 3. *S. variegatus* NRRL B-16380^T, 4. *S. seoulensis* NRRL B-24310^T, 5. *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T, 6. *S. prunicolor* NBRC 13075^T, 7. *S. phaeoluteigriseus* NRRL ISP-5182^T, 8. *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T, 9. *S. griseochromogenes* NRRL B-12423^T, 10. *S. galilaeus* AS 4.1320^T, 11. *S. chartreusis* NRRL ISP-5085^T, 12. *S. cacaoi_subsp._asoensis* NRRL B-16592^T, 13. *S. avermitilis* NBRC 14893^T, 14. *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T, 15. *S. alboniger* NRRL B-1832^T, 16. *S. davawensis* JCM 4913^T, 17. *S. bobili* AS 4.1624^T

Çizelge 4.30. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *trpB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	---	51/571	39/571	44/571	35/571	43/571	46/571	33/571	50/571	49/571	37/571	44/571	56/571	48/571	56/571	36/571	43/571
2	91.07	---	51/571	41/571	50/571	56/571	49/571	48/571	45/571	50/571	44/571	52/571	52/571	40/571	53/571	50/571	48/571
3	93.17	91.07	---	47/571	46/571	46/571	42/571	35/571	53/571	47/571	40/571	51/571	50/571	39/571	39/571	39/571	42/571
4	92.29	92.82	91.77	---	46/571	49/571	39/571	38/571	46/571	41/571	31/571	41/571	50/571	40/571	48/571	31/571	35/571
5	93.87	91.24	91.94	91.94	---	46/571	38/571	39/571	47/571	45/571	39/571	51/571	51/571	46/571	59/571	32/571	34/571
6	92.47	90.19	91.94	91.42	91.94	---	48/571	35/571	54/571	56/571	32/571	42/571	55/571	50/571	50/571	31/571	47/571
7	91.94	91.42	92.64	93.17	93.35	91.59	---	39/571	47/571	45/571	37/571	45/571	53/571	50/571	56/571	34/571	13/571
8	94.22	91.59	93.87	93.35	93.17	93.87	93.17	---	46/571	46/571	31/571	44/571	50/571	45/571	48/571	30/571	33/571
9	91.24	92.12	90.72	91.94	91.77	90.54	91.77	91.94	---	51/571	42/571	60/571	55/571	48/571	63/571	45/571	46/571
10	91.42	91.24	91.77	92.82	92.12	90.19	92.12	91.94	91.07	---	39/571	45/571	46/571	39/571	55/571	47/571	44/571
11	93.52	92.29	92.99	94.57	93.17	94.40	93.52	94.57	92.64	93.17	---	39/571	48/571	40/571	45/571	24/571	38/571
12	92.29	90.89	91.07	92.82	91.07	92.64	92.12	92.29	89.49	92.12	93.17	---	50/571	50/571	55/571	43/571	46/571
13	90.19	90.89	91.24	91.24	91.07	90.37	90.72	91.24	90.37	91.94	91.59	91.24	---	45/571	56/571	52/571	48/571
14	91.59	92.99	93.17	92.99	91.94	91.24	91.24	92.12	91.59	93.17	92.99	91.24	92.12	---	31/571	40/571	47/571
15	90.19	90.72	93.17	91.59	89.67	91.24	90.19	91.59	88.97	90.37	92.12	90.37	90.19	94.57	---	42/571	51/571
16	93.70	91.24	93.17	94.57	94.40	94.57	94.05	94.75	92.12	91.77	95.80	92.47	90.89	92.99	92.64	---	32/571
17	92.47	91.59	92.64	93.87	94.05	91.77	97.72	94.22	91.94	92.29	93.35	91.94	91.59	91.77	91.07	94.40	---

1. *Streptomyces* sp. GG61, 2. *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T, 3. *S. variegatus* NRRL B-16380^T, 4. *S. seoulensis* NRRL B-24310^T, 5. *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T, 6. *S. prunicolor* NBRC 13075^T, 7. *S. phaeoluteigriseus* NRRL ISP-5182^T, 8. *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T, 9. *S. griseochromogenes* NRRL B-12423^T, 10. *S. galilaeus* AS 4.1320^T, 11. *S. chartreusis* NRRL ISP-5085^T, 12. *S. cacaoi_subsp._asoensis* NRRL B-16592^T, 13. *S. avermitilis* NBRC 14893^T, 14. *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T, 15. *S. alboniger* NRRL B-1832^T, 16. *S. davawensis* JCM 4913^T, 17. *S. bobili* AS 4.1624^T

Çizelge 4.31. *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizlerine göre *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki distance matriks

	<i>Streptomyces</i> sp. GG61	<i>S. yokosukanensis</i>	<i>S. variegatus</i>	<i>S. seoulensis</i>	<i>S. pseudovenezuelae</i>	<i>S. prunicolor</i>	<i>S. phaeoluteigriseus</i>	<i>S. kunmingensis</i>	<i>S. griseochromogenes</i>	<i>S. galilaeus</i>	<i>S. chartreusis</i>	<i>S. cacaoi subsp. asoensis</i>	<i>S. avermitilis</i>	<i>S. atriruber</i>	<i>S. alboniger</i>	<i>S. davawensis</i>	<i>S. bobili</i>
1. <i>Streptomyces</i> sp. GG61																	
2. <i>S. yokosukanensis</i>	0,083																
3. <i>S. variegatus</i>	0,071	0,097															
4. <i>S. seoulensis</i>	0,081	0,063	0,091														
5. <i>S. pseudovenezuelae</i>	0,074	0,078	0,085	0,087													
6. <i>S. prunicolor</i>	0,085	0,084	0,091	0,091	0,071												
7. <i>S. phaeoluteigriseus</i>	0,083	0,083	0,088	0,082	0,066	0,072											
8. <i>S. kunmingensis</i>	0,071	0,101	0,078	0,095	0,078	0,090	0,084										
9. <i>S. griseochromogenes</i>	0,095	0,086	0,094	0,088	0,084	0,090	0,086	0,109									
10. <i>S. galilaeus</i>	0,092	0,099	0,099	0,092	0,091	0,108	0,101	0,105	0,109								
11. <i>S. chartreusis</i>	0,071	0,076	0,081	0,070	0,065	0,068	0,066	0,085	0,074	0,096							
12. <i>S. cacaoi subsp. asoensis</i>	0,076	0,067	0,090	0,076	0,090	0,089	0,090	0,097	0,105	0,086	0,082						
13. <i>S. avermitilis</i>	0,081	0,081	0,085	0,089	0,062	0,076	0,073	0,089	0,085	0,092	0,069	0,087					
14. <i>S. atriruber</i>	0,164	0,178	0,169	0,178	0,175	0,179	0,180	0,172	0,176	0,177	0,173	0,180	0,167				
15. <i>S. alboniger strain</i>	0,087	0,106	0,090	0,109	0,096	0,095	0,090	0,084	0,101	0,107	0,096	0,103	0,091	0,124			
16. <i>S. davawensis</i>	0,127	0,139	0,136	0,136	0,122	0,122	0,125	0,131	0,146	0,140	0,123	0,139	0,133	0,225	0,142		
17. <i>S. bobili</i>	0,085	0,084	0,092	0,083	0,079	0,086	0,039	0,094	0,094	0,108	0,074	0,094	0,081	0,180	0,108	0,140	-

1. *Streptomyces* sp. GG61, 2. *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T, 3. *S. variegatus* NRRL B-16380^T, 4. *S. seoulensis* NRRL B-24310^T, 5. *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T, 6. *S. prunicolor* NBRC 13075^T, 7. *S. phaeoluteigriseus* NRRL ISP-5182^T, 8. *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T, 9. *S. griseochromogenes* NRRL B-12423^T, 10. *S. galilaeus* AS 4.1320^T, 11. *S. chartreusis* NRRL ISP-5085^T, 12. *S. cacaoi subsp. asoensis* NRRL B-16592^T, 13. *S. avermitilis* NBRC 14893^T, 14. *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T, 15. *S. alboniger* NRRL B-1832^T, 16. *S. davawensis* JCM 4913^T, 17. *S. bobili* AS 4.1624^T

4.6 Nümerik Taksonomi

4.6.1 Degredasyon testleri

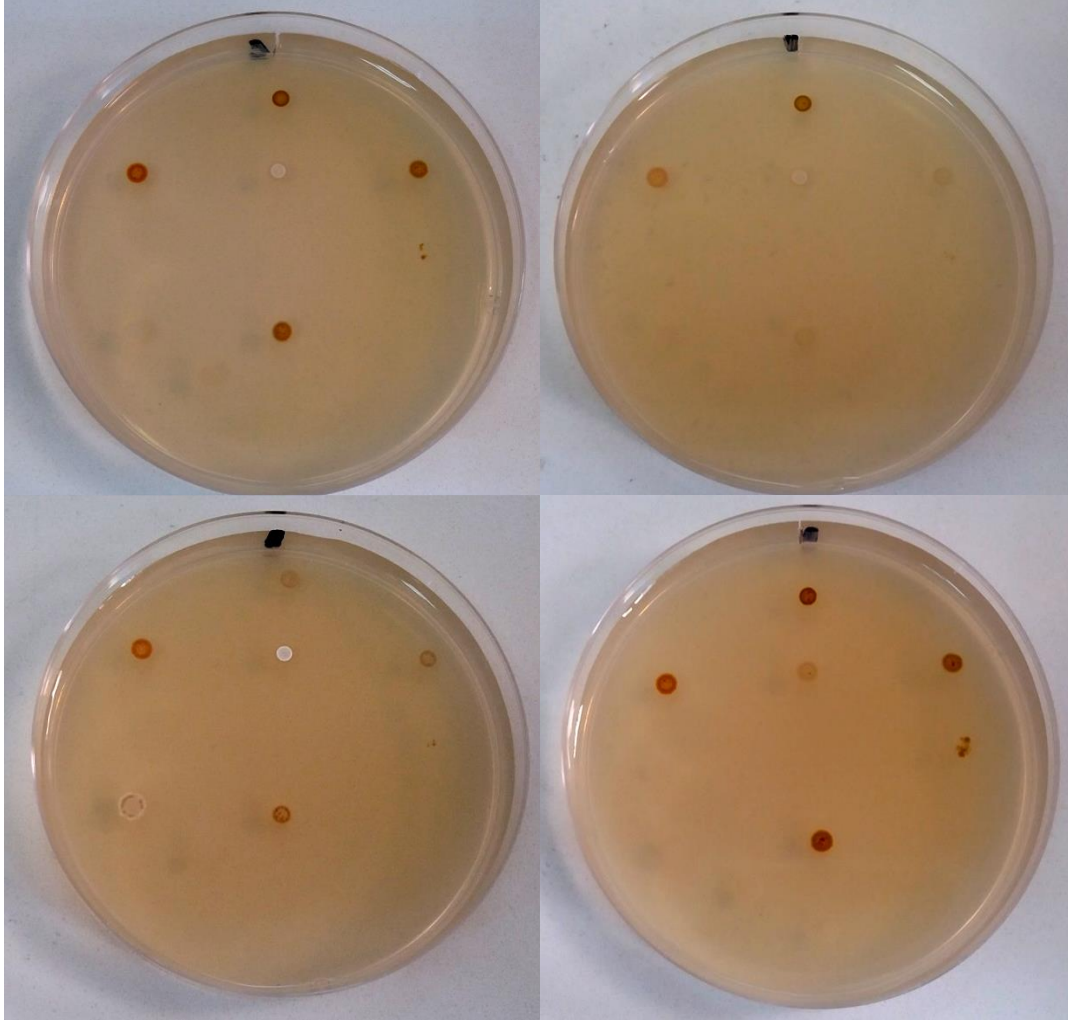
17 test izolatu (olası yeni tür olan 6 toprak izolatu ve toprak izolatları ile yakın akraba olan 11 tip türü) 83 birim karakter bakımından test edilmiştir. Bazı birim karakterler, yalnız bir organizma için pozitif (+) sonuç vermişken bazı karakterler yalnız bir organizma için negatif (-) sonuç vermiştir. Muhtemel yeni tür olan *Amycolatopsis* sp. AG28 izolatının en yakın tip türlerinden *A. pigmentata* KCTC 19330^T ve *A. taiwanensis* KCTC 19116^T gibi adenini degrede edemediği ancak *A. helveola* KCTC 19329^T tip türünün adenin olan ortamda pozitif (+) sonuç verdiği gözlenmiştir. *Nonomuraea* sp. AG16 izolatu ve en yakın tip türlerinin adenin degradasyonunu gerçekleştiremediği gözlenmiştir. Guanin, *Amycolatopsis* sp. AG28, *A. pigmentata* KCTC 19330^T ve *A. taiwanensis* KCTC 19116^T örnekleri tarafından degrede edilmişken, *A. helveola* KCTC 19329^T tip türünün bu maddeyi degrede edemediği belirlenmiştir. Hipoksantin, *Amycolatopsis* test örneklerinden yalnızca *A. pigmentata* KCTC 19330^T tip türü tarafından degrede edilmiş iken, *Nonomura* izolatlarından *Nanomura* sp. AG16 izolatu harici diğer tip türleri tarafından degradasyonu pozitif (+) sonuçlanmıştır. Nişasta degradasyonu *Amycolatopsis* sp. AG28 izolatu ve tip türleri için gerçekleşmemiştir, ancak *Nonomuraea* sp. AG16 izolatında pozitif (+) sonuç vermiştir. Tween 20, 40 ve 80 tüm *Amycolatopsis* izolatları tarafından pozitif (+) sonuç vermiş, ancak *Nonomura* izolatlarında farklılıklar göstermiştir. *Amycolatopsis* sp. AG28, *Nonomuraea* sp. AG16 izolatları ve *N. spiralis* DSM 43555^T, *N. endophytica* DSM 45385^T tip türleri ksantin ve ksilan degradasyonunda pozitif (+) sonuç verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.32 ve Şekil 4.19).

Çizelge 4.32. Test organizmalarına ve yakın tip türlerine uygulanan degradasyon testlerinin sonuçları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Adenin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Guanin	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
Hipoksantin	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
Nişasta	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Tween 20	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
Tween 40	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+
Tween 80	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Ksantin	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-
Ksilan	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+

+ Degradasyon gerçekleşti, - Degradasyon gerçekleşmedi

1. *Actinomadura* sp. DG80, 2. *A. jiaehensis* DSM 102127^T, 3. *A. viridis* DSM 43175^T, 4. *Amycolatopsis* sp. AG28, 5. *A. pigmentata* KCTC 19330^T, 6. *A. taiwanensis* KCTC 19116^T, 7. *A. helveola* KCTC 19329^T, 8. *Nonomuraea* sp. AG16, 9. *Nonomuraea* sp. GG64, 10. *N. spiralis* DSM 43555^T, 11. *N. endophytica* DSM 45385^T, 12. *N. salmonea* DSM 43678^T, 13. *Saccharopolyspora* sp. DC11, 14. *S. spongia* DSM 103218^T, 15. *S. dendranthema* DSM 46699^T, 16. *Streptomyces* sp. HC44, 17. *S. vastus* DSM 40309^T



Şekil 4.19. Test organizmalarına ve yakın tip türlerine uygulanan degradasyon testleri görüntüleri

4.6.2 Karbon testleri

Karbon kaynaklarından suksinik asit (%1, w/v) bütün izolatlar için negatif (-) sonuç veren bir test iken yine karbon kaynaklarından dextrin (%1, w/v) ise bütün izolatlar için pozitif (+) sonuç veren testlerden biri olarak belirlenmiştir. *Amycolatopsis* sp. AG28, en yakın tip türü *A. taiwanensis* KCTC 19116^T ile D(+) Sellobiyoz, D(+) Melezitoz, D(+) Melibiyoz, Laktoz ve Sükroz'u karbon kaynağı olarak kullanma özellikleri bakımından farklılaşmışlar ancak diğer 21 karbon kaynağını kullanma bakımından aynı sonucu vermişlerdir. *Nonomuraea* sp. AG16, en yakın tip türü olan *N. spiralis* DSM 43555^T ile D(+) Riboz ve Laktozu kullanma özellikleri bakımından farklılaşmışlar, diğer 24 özellik bakımından her ikisinde pozitif (+) sonuç vermişlerdir. *Actinomadura* sp. DG80 tüm karbon testlerinde negatif (-) sonuç vermişken, en yakın tip türlerinin D(+) Sellobiyoz, Mannitol, Nişasta ve Sükroz testlerinde pozitif (+) sonuç verdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.33 ve Şekil 4.20).

Çizelge 4.33. Test organizmalarına ve yakın tip türlerine uygulanan karbon testleri sonuçları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
D(-)Arabinoz	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
D(-)Fruktoz	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+
D(-)Sorbitol	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
D(+)Riboz	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+
D(+)Sellobiyoz	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
D(-)Galaktoz	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
D(-)Mannoz	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-
D(-)Melezitoz	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
D(-)Melibiyoz	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Dekstran	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Dekstrin	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
Glikoz	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Inulin	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
L(-)Sorboz	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
L(+)Arabinoz	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
L(+)Ramnoz	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+
Laktoz	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
L-Glutamin	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
Maltoz	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-
Mannitol	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
myo-inositol	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
Nişasta	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
Suksinik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Sukroz	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
Ksilitol	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
Ksiloz	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-

+ gelişim var, - gelişim yok

1. *Actinomadura* sp. DG80, 2. *A. jiaehensis* DSM 102127^T, 3. *A. viridis* DSM 43175^T, 4. *Amycolatopsis* sp. AG28, 5. *A. pigmentata* KCTC 19330^T, 6. *A. taiwanensis* KCTC 19116^T, 7. *A. helveola* KCTC 19329^T, 8. *Nonomuraea* sp. AG16, 9. *Nonomuraea* sp. GG64, 10. *N. spiralis* DSM 43555^T, 11. *N. endophytica* DSM 45385^T, 12. *N. salmonea* DSM 43678^T, 13. *Saccharopolyspora* sp. DC11, 14. *S. spongia* DSM 103218^T, 15. *S. dendranthema* DSM 46699^T, 16. *Streptomyces* sp. HC44, 17. *S. vastus* DSM 40309^T

4.6.2 Azot Testleri

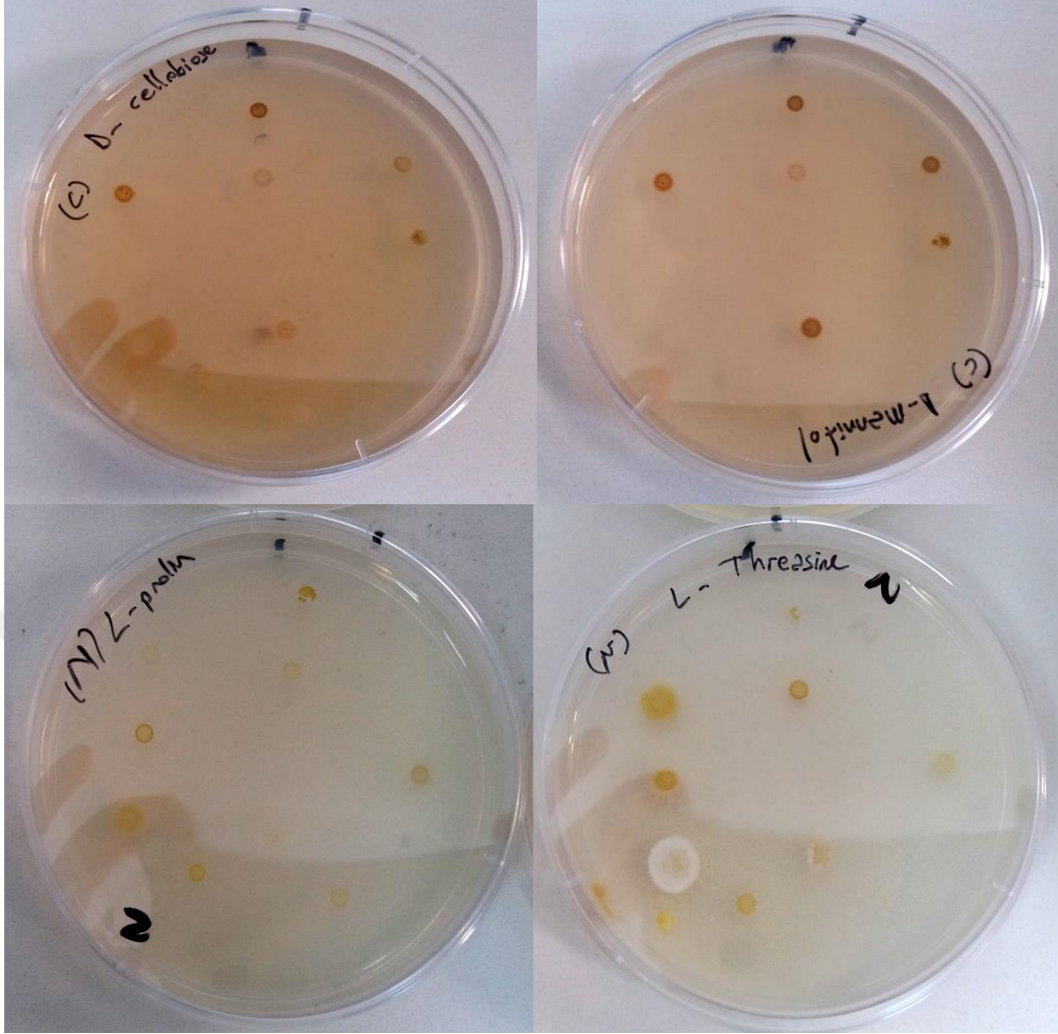
Amycolatopsis sp. AG28, en yakın tip türü olan *A. taiwanensis* KCTC 19116^T ile tüm azot kaynaklarını kullanabilme bakımından benzer özellik göstermektedir. Ayrıca *Amycolatopsis* sp. AG28, *A. helveola* KCTC 19329^T ile de tüm azot kaynaklarını kullanma özellikleri bakımından pozitif (+) sonuç vermiştir. *Amycolatopsis* sp. AG28, *A. pigmentata* KCTC 19330^T tip türünden L-Arjinin, L-Histidin ve L-lizin kullanabilme bakımından farklılık göstermiştir. *Saccharopolyspora* sp. DC11 izolatu, L-Hidroksiprolin ve L-Fenilalanin özellikleri bakımından farklılaşmış iken diğer özellikler bakımından benzer pozitif (+) özellik göstermişlerdir. *Actinomadura* sp. DG80 tüm azot testlerinde pozitif (+) sonuç vermişken, en yakın tip türlerinden *A. jiaehensis* DSM 102127^T ve *A. viridis* DSM 43175^T'in L-Fenilalanin testinde negatif (-) sonuç verdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.34 ve Şekil 4.20).

Çizelge 4.34. Test organizmalarına ve yakın tip türlerine uygulanan azot testleri sonuçları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Alfa-iso-lösin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DL-Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
L-Alanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
L-Arjinin	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Asparajin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Sistein	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Histidin	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
L-Metiyonin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Fenilalanin	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
L-Prolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Treonin	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Tirozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Lizin	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+gelişim var, -gelişim yok

1. *Actinomadura* sp. DG80, 2. *A. jiaehensis* DSM 102127^T, 3. *A. viridis* DSM 43175^T, 4. *Amycolatopsis* sp. AG28, 5. *A. pigmentata* KCTC 19330^T, 6. *A. taiwanensis* KCTC 19116^T, 7. *A. helveola* KCTC 19329^T, 8. *Nonomuraea* sp. AG16, 9. *Nonomuraea* sp. GG64, 10. *N. spiralis* DSM 43555^T, 11. *N. endophytica* DSM 45385^T, 12. *N. salmonea* DSM 43678^T, 13. *Saccharopolyspora* sp. DC11, 14. *S. spongia* DSM 103218^T, 15. *S. dendranthema* DSM 46699^T, 16. *Streptomyces* sp. HC44, 17. *S. vastus* DSM 40309^T



Şekil 4.20. Test organizmalarına ve yakın tip türlerine uygulanan karbon ve azot testlerinin görüntüleri

4.6.3 Tuz tolerans testleri

Test organizmaları %0 - %10 NaCl içeren glukoz-yeast extract agar ortamına steril öze yardımıyla çizgi ekim metodu ile inoküle edildi ve 28 °C’de 10 gün inkübasyona bırakıldı. %0 ve %1’ lik NaCl içeren ortamda tüm izolatların gelişme gösterdiği gözlemlendi. *Amycolatopsis* sp. AG28, yakın tip türü olan *A. pigmentata* KCTC 19330^T ile geliştikleri tuz yoğunlukları benzer ilişki göstermiştir. Ancak *A. taiwanensis* KCTC 19116^T ve *A. helveola* KCTC 19329^T ile %4, %5, %6 tuz yoğunlukları bakımından farklılaşma belirlenmiştir. *Actinomadura* sp. DG80 izolatı *A. jiaehensis* DSM 102127^T ile benzer özellik göstermişken, *A. viridis* DSM 43175^T ile %1, %2 ve %3’lük tuz toleransı bakımından farklılaşmıştır. *Saccharopolyspora* sp. DC11 ve en yakın tip türlerinin tüm tuz konsantrasyonlarında gelişim gösterdiği

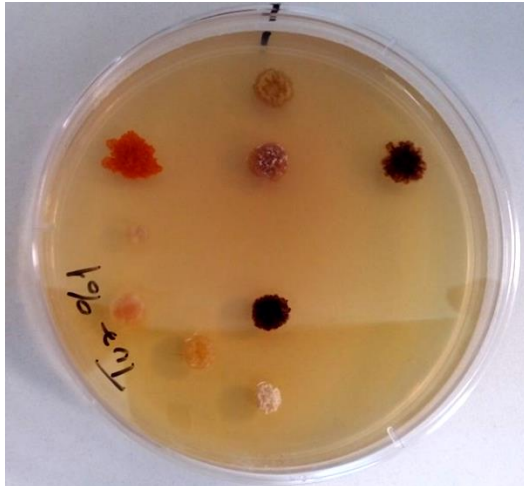
belirlenmiştir. İnkübasyon sonrası, belirlenen tuz konsantrasyonlarında gelişim sonuçları Çizelge 4.35’de, örneklere ait görüntüler ise Şekil 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.35. Test organizmalarının ve yakın tip türlerinin farklı tuz konsantrasyonunda gelişimi

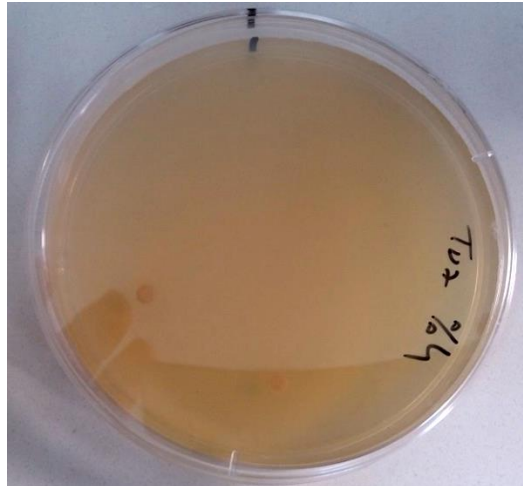
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
%0 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%1 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%2 NaCl	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+
%3 NaCl	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+
%4 NaCl	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+
%5 NaCl	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+
%6 NaCl	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
%7 NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
%8 NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
%9 NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
%10 NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-

+gelişim var, -gelişim yok

1. *Actinomadura* sp. DG80, 2. *A. jiaehensis* DSM 102127^T, 3. *A. viridis* DSM 43175^T, 4. *Amicolatopsis* sp. AG28, 5. *A. pigmentata* KCTC 19330^T, 6. *A. taiwanensis* KCTC 19116^T, 7. *A. helveola* KCTC 19329^T, 8. *Nonomuraea* sp. AG16, 9. *Nonomuraea* sp. GG64, 10. *N. spiralis* DSM 43555^T, 11. *N. endophytica* DSM 45385^T, 12. *N. salmonea* DSM 43678^T, 13. *Saccharopolyspora* sp. DC11, 14. *S. spongia* DSM 103218^T, 15. *S. dendranthema* DSM 46699^T, 16. *Streptomyces* sp. HC44, 17. *S. vastus* DSM 40309^T



%1’ lik NaCl



%4’ lük NaCl

Şekil 4.21. Test organizmalarının ve yakın tip türlerinin %2 ve %4’lük tuz konsantrasyonunda gelişimi

4.6.4 Biyokimyasal Testler

Amycolatopsis sp. AG28, allantoin arbutin ve üre testleri bakımından benzer özellik göstermiştir. Aynı organizma nitrat redüksiyonu sonucunda pozitif (+) sonuç vermiş olmasına rağmen en yakın tip türleri olan *A. pigmentata* KCTC 19330^T, *A. taiwanensis* KCTC19116^T ve *A. helveola* KCTC 19329^T nitrat redüksiyonu gözlenmemiştir. *Nonomuraea* sp. AG16, *N. spiralis* DSM 43555^T ve *N. endophytica* DSM 45385^T ile allantoin, arbutin ve nitrat testlerinde aynı sonucu vermiş iken, üre testinde farklılaşma gözlenmiştir. Buna ek olarak *N. salmonea* DSM 43678^T'da arbutin testinde de farklılaşma gözlenmiştir. *Streptomyces* sp. HC44 izolatımızın *S. vastus* DSM 40309^T ile benzer bir şekilde allantoin, nitrat ve arbutinde negatif, üre de ise pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir. *Actinomadura* sp. DG80 izolatımız *A. viridis* DSM 43175^T ile tüm testlerde benzer özellik göstermişken, *A. jiaehensis* DSM 102127^T tip türünün yalnızca arbutin testinde negatif (-) sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Biyokimyasal testlerdeki gelişim sonuçları Çizelge 4.36'da, test edilen örneklerin görüntüleri ise Şekil 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.36. Test Organizmalarının ve yakın tip türlerinin Allantoin, Nitrat, Üre ve Arbutin testleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Arbutin	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+
Üre	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Nitrat	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-

+ : pozitif sonuç, - : negatif sonuç

1. *Actinomadura* sp. DG80, 2. *A. jiaehensis* DSMZ102127^T, 3. *A. viridis* DSMZ43175^T, 4. *Amycolatopsis* sp. AG28, 5. *A. pigmentata* KCTC19330^T, 6. *A. taiwanensis* KCTC19116^T, 7. *A. helveola* KCTC19329^T, 8. *Nonomuraea* sp. AG16, 9. *Nonomuraea* sp. GG64, 10. *N. spiralis* DSM 43555^T, 11. *N. endophytica* DSM45385^T, 12. *N. salmonea* DSM43678^T, 13. *Saccharopolyspora* sp. DC11, 14. *S. spongia* DSM103218^T, 15. *S. dendranthema* DSMZ46699^T, 16. *Streptomyces* sp. HC44, 17. *S. vastus* DSM40309^T



Şekil 4.22. Test organizmalarının ve yakın tip türlerinin Allantoin, Nitrat, Üre ve Arbutin testleri hazırlık ve sonuç görüntüleri

4.6.5 Farklı sıcaklıklarda gelişme

4°C ve 55°C sıcaklık değerlerinde test edilen hiçbir organizmanın gelişme gösteremediği görülmüştür. *Amycolatopsis* sp. AG28, 20°C, 28°C ve 37°C’ de gelişme göstermiştir. En yakın tip türü olan *A. taiwanensis* KCTC 19116^T ise 20°C’de gelişme göstermezken, 45°C’de gelişme göstermiştir. *A. pigmentata* KCTC 19330^T ve *A. helveola* KCTC 19329^T tip türlerinde ise *Amycolatopsis* sp. AG28 izolatıyla sıcaklık toleransları bakımından farklılaşma olduğu belirlenmiştir. *Nonomuraea* sp. AG16, *N. spiralis* DSM 43555^T ve *N. endophytica* DSM 45385^T tip türleriyle 45°C ve 50°C’deki gelişimleri bakımından farklılaşmıştır. Yine *Nonomuraea* sp. AG16 izolatı, *N. salmonea* DSM 43678^T ile 10°C, 20°C ve 45°C’deki gelişimleri bakımından farklılık göstermektedir. *Saccharopolyspora* sp. DC11 izolatımız 20°C altında ve 45°C üzerinde gelişemediği gözlenmişken, en yakın tip türlerinden olan *S. spongia* DSM 103218^T ile benzer özellik göstermiştir. *Actinomadura* sp. DG80 izolatımız ve yakın tip türleri *A. jiaehensis* DSM 102127^T ve *A. viridis* DSM 43175^T, in benzer sıcaklıklarda gelişim gösterdiği gözlenmiştir. Ancak *A. jiaehensis* DSM 102127^T tip türünün 45°C’de de gelişebildiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.37 ve Şekil 4.23).

Çizelge 4.37. Test organizmalarının ve yakın tip türlerinin farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
4°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10°C	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
20°C	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
28°C	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
45°C	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50°C	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
55°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+gelişim var, -gelişim yok

1. *Actinomadura* sp. DG80, 2. *A. jiaehensis* DSMZ102127^T, 3. *A. viridis* DSMZ43175^T, 4. *Amycolatopsis* sp. AG28, 5. *A. pigmentata* KCTC19330^T, 6. *A. taiwanensis* KCTC19116^T, 7. *A. helveola* KCTC19329^T, 8. *Nonomuraea* sp. AG16, 9. *Nonomuraea* sp. GG64, 10. *N. spiralis* DSM 43555^T, 11. *N. endophytica* DSM 45385^T, 12. *N. salmoena* DSM43678^T, 13. *Saccharopolyspora* sp. DC11, 14. *S. spongia* DSM103218^T, 15. *S. dendranthema* DSMZ46699^T, 16. *Streptomyces* sp. HC44, 17. *S. vastus* DSM40309^T

4.6.6 Farklı pH aralıklarında gelişme

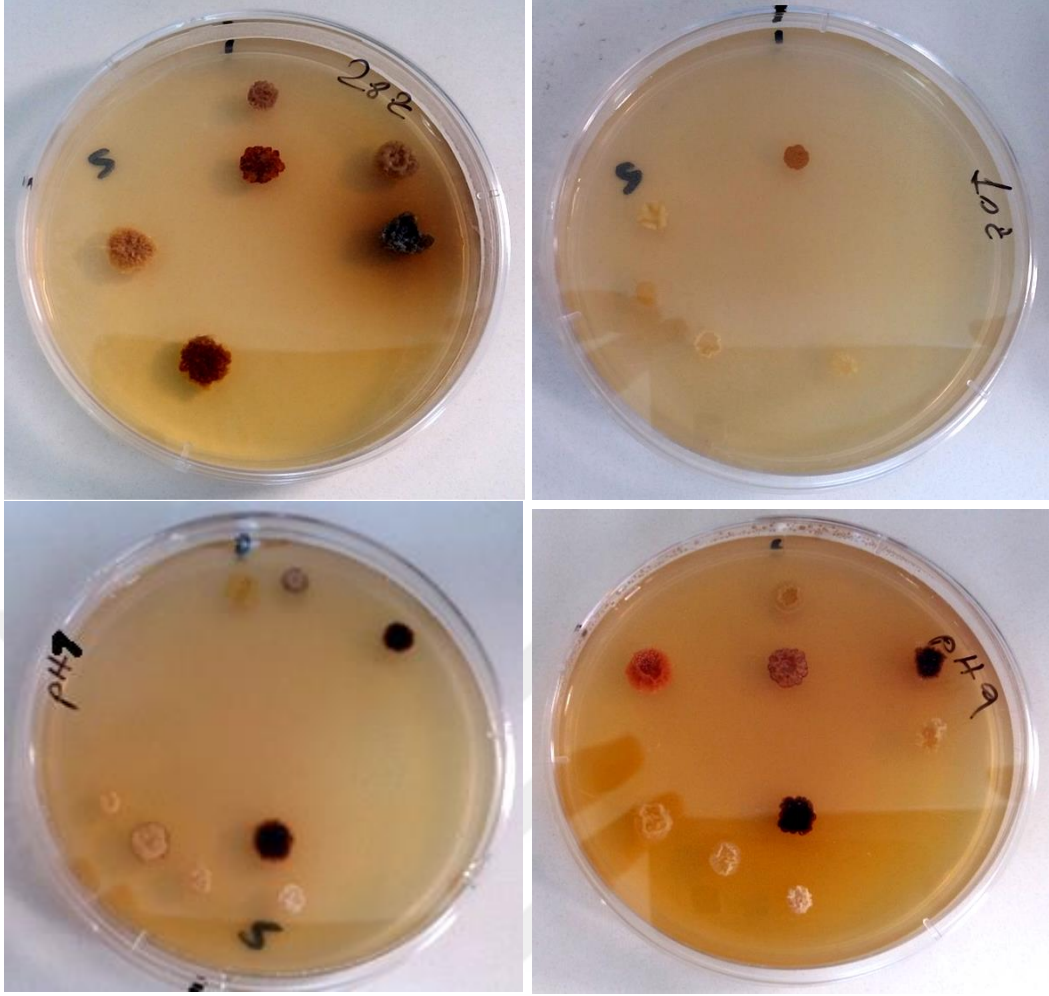
pH 2 ve pH 12 aralığı çalışılan izolatların hiçbiri pH 11 ve pH 12 değerlerinde gelişme gösterememiştir. *Amycolatopsis* sp. AG28, *A. pigmentata* KCTC 19330^T ve *A. taiwanensis* KCTC 19116^T benzer bir şekilde pH 7 ile pH 10 değerleri arasında gelişme göstermiştir. Ancak *A. pigmentata* KCTC 19330^T ve *A. helveola* KCTC 19329^T'nin pH 5, pH 8, pH 9 ve pH 10 düzeylerindeki gelişimleri farklılaşma göstermiştir. *Nonomuraea* sp. AG16 en yakın üç tip türüyle pH 6 ve pH 8'de benzer gelişme gösterirken pH 8'de yalnızca *N. salmoena* DSM 43678^T gelişme göstermemiş, pH 9 da ise yalnızca *N. spiralis* DSM 43555^T gelişme göstermemiştir. *Saccharopolyspora* sp. DC11 izolatımızın ve en yakın tip türlerinin pH 5- pH 11 aralığında gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. *Actinomadura* sp. DG80 izolatu ve *A. jiaehensis* DSM 102127^T benzer sonuçlar vermiş iken, *A. viridis* DSM 43175^T tip türünün yalnızca pH 8'de gelişim gösterdiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.38 ve Şekil 4.23).

Çizelge 4.38. Test Organizmalarının ve yakın tip türlerinin farklı pH değerlerinde gelişimi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
pH 2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
pH 3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
pH 4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
pH 5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
pH 6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
pH 7	+	+	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	+
pH 8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 9	+	+	–	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	+
pH 10	+	+	–	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	+
pH 11	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	+
pH 12	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

+gelişim var, -gelişim yok

1. *Actinomadura* sp. DG80, 2. *A. jiaehensis* DSMZ102127^T, 3. *A. viridis* DSMZ43175^T, 4. *Amycolatopsis* sp. AG28, 5. *A. pigmentata* KCTC19330^T, 6. *A. taiwanensis* KCTC19116^T, 7. *A. helveola* KCTC19329^T, 8. *Nonomuraea* sp. AG16, 9. *Nonomuraea* sp. GG64, 10. *N. spiralis* DSM 43555^T, 11. *N. endophytica* DSM 45385^T, 12. *N. salmonea* DSM43678^T, 13. *Saccharopolyspora* sp. DC11, 14. *S. spongia* DSM103218^T, 15. *S. dendranthema* DSMZ46699^T, 16. *Streptomyces* sp. HC44, 17. *S. vastus* DSM40309^T



Şekil 4.23. Test Organizmalarının ve yakın tip türlerinin farklı sıcaklık ve pH değerlerindeki gelişim görüntüleri

4.6.7 İzolatların farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişimleri

Test organizmalarının ve yakın tip türlerinin kültürel ve morfolojik özellikleri incelenmek amacıyla on farklı besiyerine ekimleri gerçekleştirilerek, büyüme ve gelişmeleri sağlanmıştır. Farklı besiyerlerinde izolatların gelişimi, spor rengi, substrat miselyum ve çözünür pigment rengi özellikleri belirlendi (Çizelge 4.39-4.41). *Actinomadura* sp. DG80, *Amycolatopsis* sp. AG28, *Nonomuraea* sp. AG16 test izolatlarının ve *Saccharopolyspora dendranthema* DSM 46699^T tip türünün on farklı besiyeri ortamındaki gelişim görüntüleri Şekil 4.24'te verilmiştir.

Çizelge 4.39. 1. *Amycolatopsis* sp. AG28, 2. *A. pigmentata* KCTC 19330^T, 3. *A. taiwanensis* KCTC 19116^T, 4. *A. helveola* KCTC 19329^T, 5. *Nonomuraea* sp. AG16, 6. *N. spiralis* DSM 43555^T türlerine ait on farklı besi ortamındaki gelişim özellikleri

	ISP2	ISP3	ISP4	ISP5	ISP6	ISP7	Bennett's Agar	Czapek's Agar	Tryptic Soy Agar	Nütrient Agar
1	G:++ R:krem A:beyaz S:-	G:+ R:beyaz A:krem S:-	G:+ R:krem A:beyaz S:-	G:++ R:beyaz A:beyaz S:-	G: + R:yesil A:yeşil S:-	G:++ R:kahverengi A:krem S:-	G:+ R:A.yeşil A:yeşil S:-	G:- R:- A:- S:-	G:+ R:krem A:beyaz S:-	G:+ R:beyaz A:krem S:-
2	G:++ R:krem A: S:beyaz	G:+ R:krem R:krem S:beyaz	G:+ R:beyaz A:krem S:-	G:+ R:krem A: S:-	G:+ R: A:krem S:-	G:++ R:A.kahverengi A:krem S:beyaz	G:+ R:krem A:beyaz S:-	G:+ R: A:krem S:-	G:- R:- A:- S:-	G:+ R:krem R:krem S:beyaz
3	G:++ R:beyaz A:gri S:-	G:++ R: A:gri S:gri	G:++ R:beyaz A:beyaz S:beyaz	G:+ R:beyaz A:gri S:-	G:++ R:beyaz A:krem S:-	G:++ R:beyaz A:A. Kahverengi S:gri	G:++ R:beyaz A:A. Kahverengi S:beyaz	G:+ R:krem A:gri S:-	G:+ R:beyaz A:- S:-	G:++ R: A:gri S:
4	G:++ R:beyaz A:A. Kahverengi S: beyaz	G:++ R:fildişi A:A. Kahverengi S:-	G: ++ R:krem A:gri S:-	G:+ R:beyaz A:krem S: beyaz	G:++ R:krem A: S:-	G:+ R:fildişi A:A. Kahverengi S:-	G:+ R:krem A:krem S:-	G:+ R:beyaz A:- S:-	G:+ R:fildişi A:- S:-	G:++ R:fildişi A:A. Kahverengi S:
5	G:++ R:krem A: S:beyaz	G:++ R:beyaz A: S:beyaz	G:+ R:beyaz A: S:	G:++ R:beyaz A: S:	G:++ R: A:gri S:	G:+ R:krem A:A.turuncu S:beyaz	G:+ R:yesil A: S:	G: R:krem A:gri S:	G:++ R:yesil A:gri S:	G:++ R:beyaz A: S:beyaz
6	G:+ R:krem A:gri S:beyaz	G:++ R:beyaz A:beyaz S:	G:++ R:beyaz A:A. Kahverengi S:	G:++ R: A:A. Kahverengi S:beyaz	G:+ R:fildişi A:turuncu S:beyaz	G:- R:- A:- S:-	G:+ R:beyaz A:krem S:-	G:++ R: A:turuncu S:	G:+ R:A.yesil A:gri S:gri	G:++ R:beyaz A:beyaz S:gri

(G: gelişim, R: substrat miselyumu rengi, A: hava miselyumu rengi, S: çözünebilir pigment)

Çizelge 4.40. 1. *N. endophytica* DSM 45385^T, 2. *N. salmonea* DSM 43678^T, 3. *S. dendranthema* DSM 46699^T, 4. *Streptomyces* sp. HC44, 5. *S. vastus* DSM 40309^T türlerine ait on farklı besi ortamındaki gelişim özellikleri

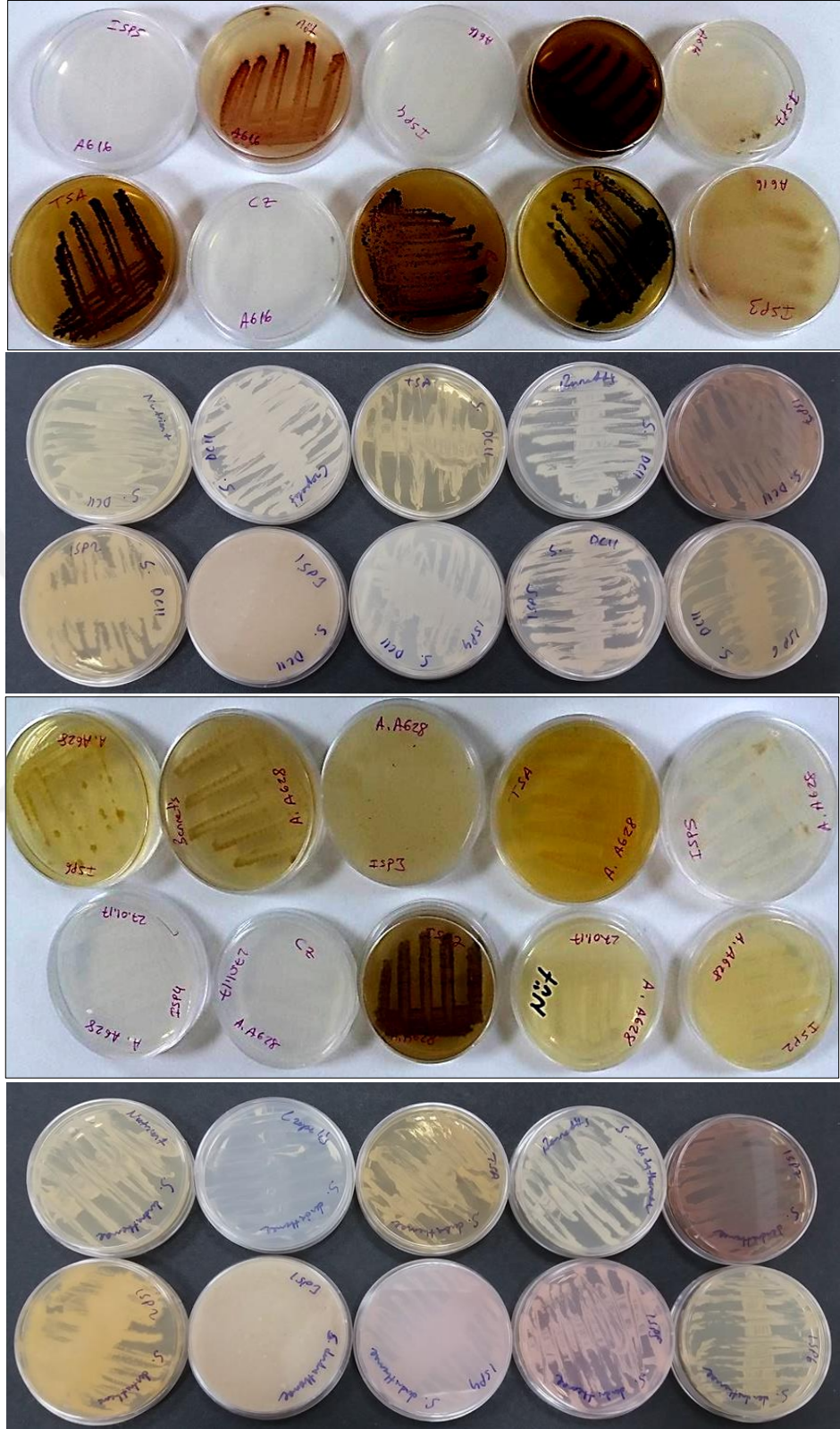
	ISP2	ISP3	ISP4	ISP5	ISP6	ISP7	Bennett's Agar	Czapek's Agar	Tryptic Soy Agar	Nütrient Agar
1	G:++ R:beyaz A:A. Kahverengi S:	G:++ R:fildişi A:gri S:beyaz	G:++ R:beyaz A:turuncu S:gri	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:beyaz R:krem S:beyaz	G:++ R:krem A:A. Kahverengi S:beyaz	G:++ R:beyaz A:turuncu S:	G:++ R:krem A:turuncu S:beyaz	G:++ R:fildişi A:gri S:	G:++ R:fildişi A:gri S:beyaz
2	G:++ R:krem A:turuncu S:	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:beyaz A:turuncu S:beyaz	G:++ R:krem A: S:	G:++ R:krem A:turuncu S:	G:++ R:krem A:A.turuncu S:	G:++ R:beyaz A: S:beyaz	G:++ R:beyaz A: S:	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:beyaz A:turuncu S:beyaz
3	G:+++ R:sarı turuncu A:- S:-	G:+++ R:çakıl gri A:- S:-	G:+++ R:soluk kahve A:- S:açık fildişi	G:+++ R:bej kırmızı A:- S:-	G:+++ R:ipek gri R:- S:-	G:+++ R:findık kahve A:- S:platin gri	G:+++ R:ipek gri A:- S:-	G:+++ R:yeşil kahve A:- S:-	G:+++ R:ipek gri A:- S:-	G:+++ R:yeşil kahve A:- S:-
4	G:++ R:kil kahve A: S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:kil kahve A: S:	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:kil kahve A:A.turuncu S:	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-
5	G:++ R:kil kahve A: S:	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:kil kahve A: S:	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:kil kahve A:A.turuncu S:	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-

(G: gelişim, R: substrat miselyumu rengi, A: hava miselyumu rengi, S: çözünebilir pigment)

Çizelge 4.41. 1. *A. jiaehensis* DSM 102127^T, 2. *A. viridis* DSM 43175^T, 3. *Actinomadura* sp. DG80, 4. *Nonomuraea* sp. GG64, 5. *S. spongia* DSM 103218^T, 6. *Saccharopolyspora* sp. DC11 türlerine ait on farklı besi ortamındaki gelişim özellikleri

	ISP2	ISP3	ISP4	ISP5	ISP6	ISP7	Bennett's Agar	Czapek's Agar	Tryptic Soy Agar	Nütrient Agar
1	G:+++ R:kahve-yeşil A:- S:-	G:+ R:çakıl gri A:- S:-	G:+++ R:krem A:- S:-	G:+++ R: krem A:- S: ipek gri	G: +++ R:findık kahve A:- S: ipek gri	G:+++ R: kahve-yeşil A:- S: ipek gri	G:+++ R:kahve-yeşil A:- S:-	G:+++ R:kahve-yeşil A:- S:-	G:+++ R:krem A:- S:-	G:+++ R:ipek gri A:- S:-
2	G:+++ R:hardal kahverengi A: S:-	G:- R:- A:- S:-	G:++ R:kahve-yeşil A: beyaz S:-	G:+++ R:gümüş gri A: beyaz S:açık fildişi	G:+++ R:hardal kahve rengi A: beyaz S:-	G:+++ R: kahve-yeşil A: beyaz S:açık fildişi	G:+++ R:kil kahve A:beyaz S:-	G:+++ R: kahve-yeşil A: beyaz S:-	G:+++ R:açık gri A:- S:-	G:+++ R: kahve-yeşil R: beyaz S:-
3	G:+++ R: ipek gri A:- S:-	G:+ R: ipek gri A:- S:-	G:+ R: krem A:- S:-	G:+++ R: krem A:- S:-	G:+++ R: ipek gri A:- S:-	G:+++ R: krem A:- S:-	G:+++ R: ipek gri A:- S:-	G:+++ R: ipek gri A:- S:-	G:+++ R: krem A:- S:-	G:+++ R: ipek gri A:- S:-
4	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:+++ R:kahve-yeşil A:- S:-	G:+ R:kahve-yeşil A:- S:-	G:- R:- A:- S:-	G:+ R: kahve-yeşil A:- S:-
5	G:+++ R: ipek gri A:- S:beyaz	G:+++ R: ipek gri A:- S:beyaz	G:+++ R:gri-beyaz A:- S:	G:+++ R:truncu-kahve A:- S:	G:+++ R:yeşil-kahve A:- S:	G:+++ R:kil-kahve A:- S:beyaz	G:+++ R:çakıl gri A:- S:	G:+++ R:zeytin yeşil A:- S:	G:+++ R: ipek gri A:- S:	G:+++ R: ipek gri A:- S:beyaz
6	G:+++ R:yeşil kahve A:- S:-	G:+++ R:çakıl gri A:beyaz S:-	G:+++ R: krem A: beyaz S:-	G:+++ R: krem A: beyaz S:-	G:+++ R: ipek gri A:- S:-	G:+++ R: ipek gri A: beyaz S:zeytin kahve	G:+++ R:çakıl gri A:- S:-	G:+++ R: ipek gri A:- S:-	G:+++ R:çakıl gri A:- S:-	G:+++ R: ipek gri A:- S:-

(G: gelişim, R: substrat miselyumu rengi, A: hava miselyumu rengi, S: çözünebilir pigment)



Şekil 4.24. *Nonomuraea* sp. AG16, *Saccharopolyspora* sp. DC11, *Amycolatopsis* sp. AG28 test organizmalarının ve *S. dendranthemae* DSM 46699^T tip türünün on farklı besiyeri ortamındaki gelişim görüntüleri

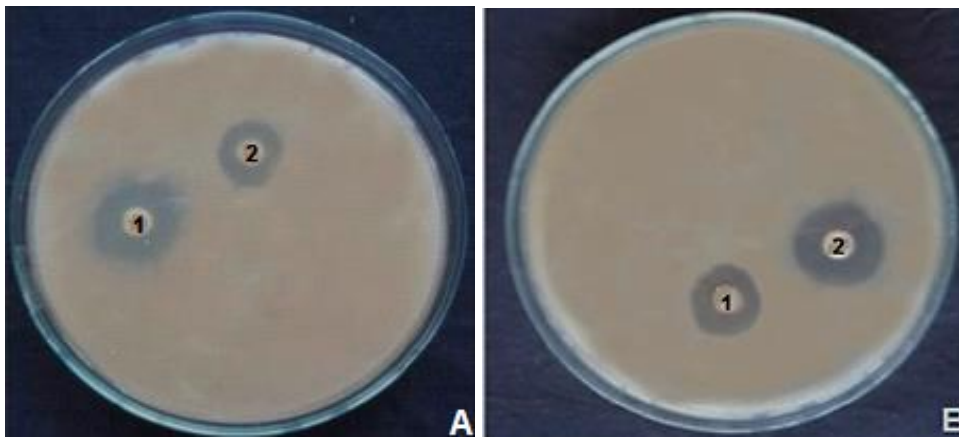
4.6.8. Antibakteriyal aktivite

Antibakteriyal aktivite testi sonucunda *Amycolatopsis*, *Actinomadura*, *Nonomuraea*, *Sacharopolyspora*, *Streptomyces* cinsine ait izolatlar ve yakın tip türlerinin Gram (+), Gram (-) ve fungal patojenlere karşı gösterdiği antibakteriyal aktiviteleri ve ölçülen inhibisyon zon çapları Çizelge 4.42’te verilmiştir (Şekil 4.25)

Çizelge 4.42. Antibakteriyal aktivite test sonuçları ve ölçülen inhibisyon zon çapları (mm)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Actinomadura</i> sp. DG80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. jiaehensis</i> DSMZ102127 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. viridis</i> DSMZ43175 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amycolatopsis</i> sp. AG28	-	12	-	-	-	17	11	-	-
<i>A. pigmentata</i> KCTC19330 ^T	-	14	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. taiwanensis</i> KCTC19116 ^T	-	-	-	-	-	-	19	-	-
<i>A. helveola</i> KCTC19329 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nonomuraea</i> sp. AG16	-	-	20	-	-	-	-	17	-
<i>Nonomuraea</i> sp. GG64	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. spiralis</i> DSM 43555 ^T	-	-	-	-	25	-	-	-	-
<i>N. endophytica</i> DSM 45385 ^T	-	-	-	-	-	-	-	13	-
<i>N. salmonea</i> DSM43678 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharopolyspora</i> sp. DC11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. spongia</i> DSM103218 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. dendranthema</i> DSMZ46699 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptomyces</i> sp. HC44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. vastus</i> DSM40309 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1. *Aspergillus niger* ATCC 16404^T; 2. *Candida albicans* ATCC 10231^T; 3. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923^T; 4. *Escherichia coli* ATCC 25922^T; 5. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603^T; 6. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853^T; 7. *Bacillus subtilis* ATCC 6633^T; 8. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212^T



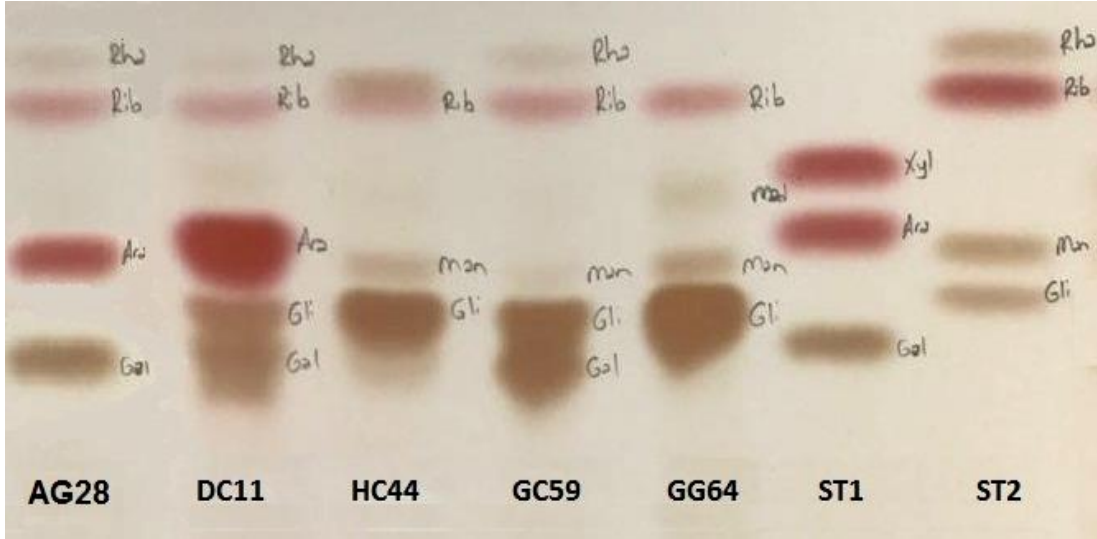
Şekil 4.25. Test izolatlarının antimikrobiyal kativite sonuçları. A) *Bacillus subtilis* ATCC 6633^T (1. *A. taiwanensis* KCTC19116^T 2. *Amycolatopsis* sp. AG28) B) *Enterococcus faecalis* ATCC 29212^T (1. *N. endophytica* DSM 45385^T 2. *Nonomuraea* sp. AG16)

Amycolatopsis sp. AG28 izolatının *Candida albicans* ATCC 10231^T (12 mm), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853^T (17mm) ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633^T (11 mm) patojenleri üzerinde antimikrobiyal aktivitesi gözlemlendi. Benzer şekilde *A. pigmentata* KCTC 19330^T tip türünün *Candida albicans* ATCC 10231^T patojeni üzerinde antimikrobiyal aktivitesi gözlemlendi. *A. taiwanensis* KCTC19116^T tip türünün *Bacillus subtilis* ATCC 6633^T patojeni üzerinde antimikrobiyal aktivitesi gözlemlendi. *Nonomuraea* sp. AG16 izolatının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923^T ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212^T patojenleri üzerinde sırasıyla 20 ve 17 mm'lik zon çapı ile antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirlendi. *N. spiralis* DSM 43555^T tip türünün *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603^T patojeni üzerinde 25 mm'lik zon çapı ile antimikrobiyal aktivitesi gözlemlendi. Ayrıca *N. endophytica* DSM 45385^T tip türünün *Enterococcus faecalis* ATCC 29212^T patojeni üzerinde 13 mm'lik zon çapı ile antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirlenmiştir.

4.7. Şeker analizi

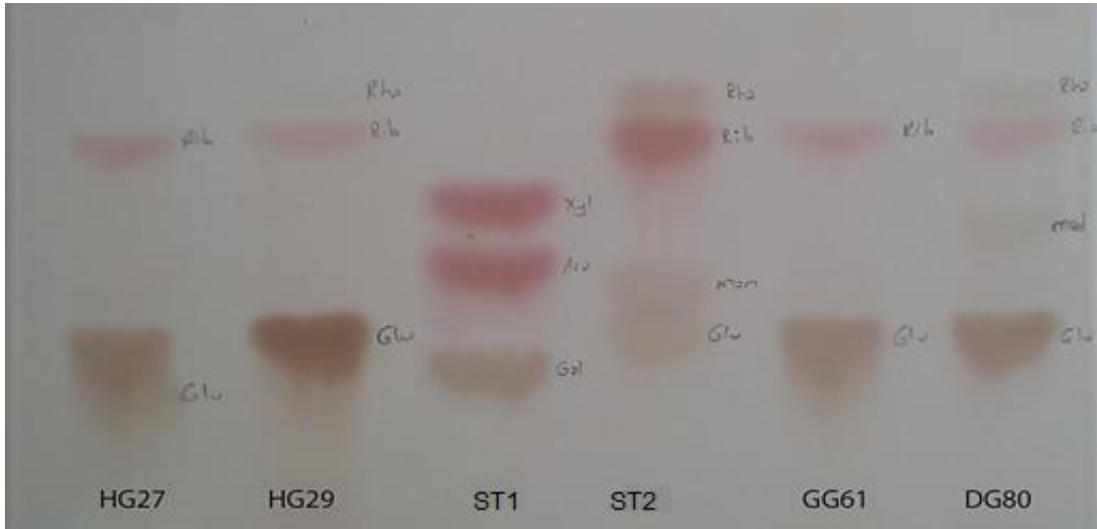
Yeni tür olma ihtimali yüksek olan *Actinomadura* sp. DG80, *Amycolatopsis* sp. AG28, *Nonomuraea* sp. GG64, *Saccharopolyspora* sp. DC11, *Streptomyces* sp. HC44, *Streptomyces* sp. GC59, *Streptomyces* sp. HG27, *Streptomyces* sp. GG61 ve *Promicromonospora* sp. HG29 izolatların tüm-hücre şeker hidrolizatları tek boyutlu ince tabaka kromatografisi ile analiz edildi. Standart olarak glukoz (%1, w/v), galaktoz (%1, w/v), arabinoz (%1, w/v), mannoz (%1, w/v), ksiloz (%1, w/v), riboz (%1, w/v) ve ramnoz (%1, w/v) şekerlerini içeren çözelti kullanıldı. İzolatların şeker profili, tüm-hücre şeker hidrolizatlarının kromatografi plakası üzerindeki hareketlerinin ve renk profillerinin standart şekerler ile karşılaştırılmasıyla belirlendi.

Amycolatopsis cinsine ait AG28 suşunun tüm-hücre şeker hidrolizatları ramnoz, riboz, arabinoz ve galaktoz olduğu belirlenmiştir. *Saccharopolyspora* sp. DC11 suşunun tüm-hücre şeker hidrolizatları glikoz, arabinoz, galaktoz, riboz ve ramnoz, *Streptomyces* sp. HC44 suşunun glikoz, mannoz ve riboz, *Streptomyces* sp. GC59 suşunun ise glikoz, mannoz, galaktoz, riboz ve ramnoz, GG64 suşunun glikoz, mannoz, maduroz ve riboz olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. *Amycolatopsis* sp. AG28, *Saccharopolyspora* sp. DC11, *Streptomyces* sp. HC44, *Streptomyces* sp. GC59 ve *Nonomuraea* sp. GG64 suşunun şeker profilleri (ST1: galaktoz (%1, w/v), arabinoz (%1, w/v), ksiloz (%1, w/v). ST2: mannoz (%1, w/v), riboz (%1, w/v), glukoz (%1, w/v) ve ramnoz (%1, w/v))

Streptomyces cinsine ait HG27 suşunun tüm-hücre şeker hidrolizatları riboz ve glikoz ve aynı cinse ait GG61 suşunda aynı şeker hidrolizatlarını içerdiği belirlenmiştir. *Promicromonospora* cinsine ait HG29 suşunun tüm-hücre şeker hidrolizatları rhamnoz, riboz ve glikoz şekerlerini içermektedir. *Actinomadura* cinsine ait DG80 suşunun tüm-hücre şeker hidrolizatları ramnoz, riboz, maduroz ve glikozdur (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. *Streptomyces* sp. HG27, *Streptomyces* sp. GG61, *Actinomadura* sp. DG80 ve *Promicromonospora* sp. HG29 suşlarının şeker profilleri (ST1: galaktoz (%1, w/v), arabinoz (%1, w/v), ksiloz (%1, w/v). ST2: mannoz (%1, w/v), riboz (%1, w/v), glukoz (%1, w/v) ve ramnoz (%1, w/v))

4.8. Yağ asidi

Amycolatopsis sp. AG28 ve *Streptomyces* sp. HC44 suşlarının yağ asidi analizi, test suşları en yakın tip türleri (*Amycolatopsis helveola* KCTC19329^T, 5. *Amycolatopsis taiwanensis* KCTC19116^T, *Amycolatopsis pigmentata* KCTC19330^T, *Streptomyces vastus* DSM40309^T) ile aynı kültür koşullarında geliştirildikten sonra gerçekleştirildi. Gaz kromatografisi verilerine göre test suşları ve en yakın akraba tip türlerinin yağ asiti metil esteri profilleri çizelge 4.43'te verilmiştir.

Amycolatopsis sp. AG28 suşu %10.2 iso C_{15:0}, %32.2 iso C_{16:0}, %10.6 iso C_{16:0}2OH yağ asitlerini içermektedirken, *Amycolatopsis helveola* KCTC19329^T tip türünün %14.9 iso C_{15:0}, %21.0 iso C_{16:0} yağ asitlerini içerdiği, *Amycolatopsis taiwanensis* KCTC 19116^T tip türünün %12.5 iso C_{15:0}, %29.8 iso C_{16:0} yağ asitlerini içerdiği, *Amycolatopsis pigmentata* KCTC 19330^T tip türünün %17.6 iso C_{15:0}, %15.3 iso C_{16:0} yağ asitlerini içerdiği gözlemlenmiştir.

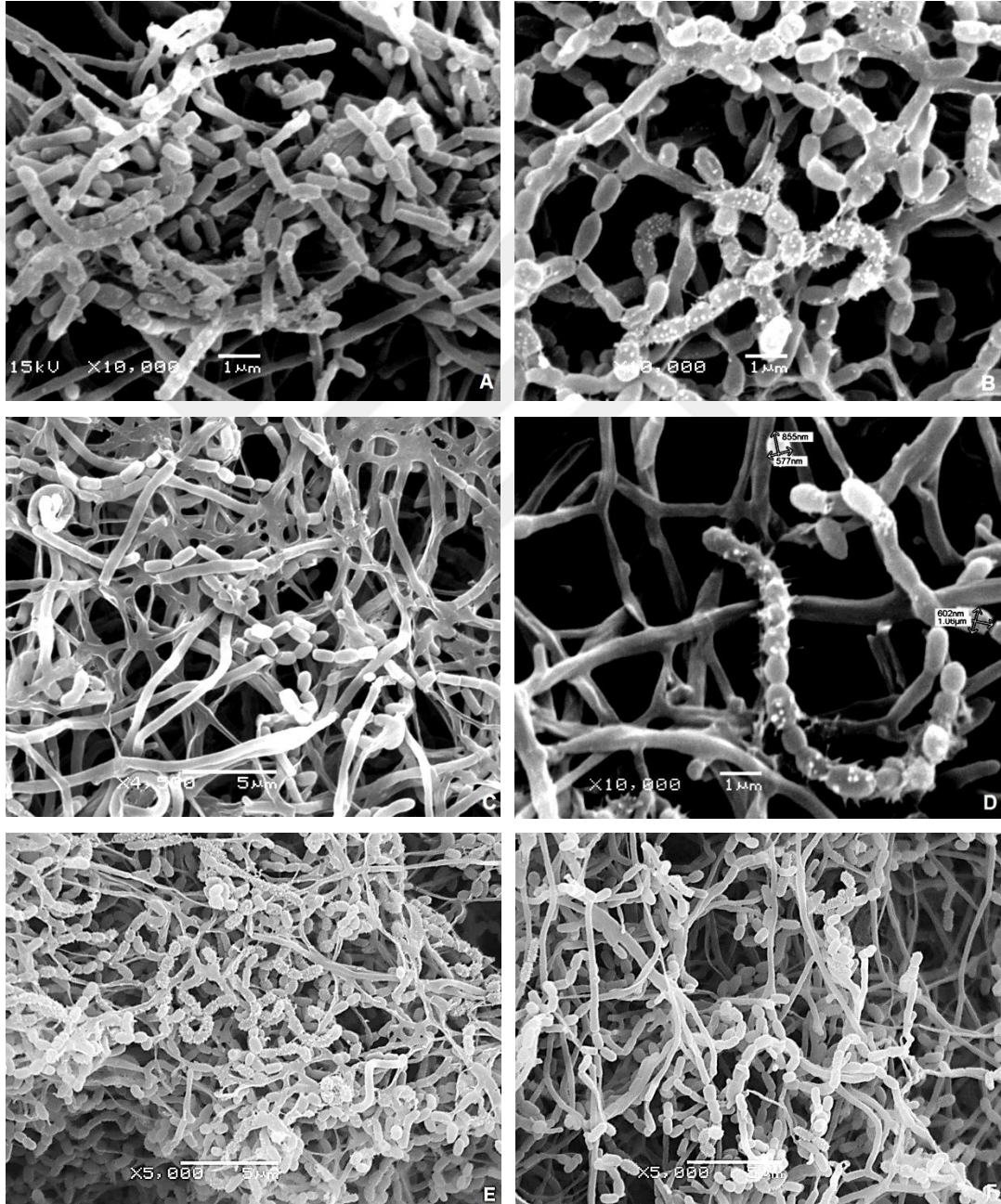
Streptomyces sp. HC44 suşu %23.7 iso C_{16:0}, %18.2 iso C_{16:0}2OH yağ asitlerini içermektedirken; *Streptomyces vastus* DSM 40309^T tip türünün %27.5 iso C_{16:0}, %18.9 iso C_{16:0}2OH yağ asitlerini içerdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.43. 1. *Amycolatopsis* sp. AG28 ve 2. *Streptomyces* sp. HC44 izolatlarının; 3. *Streptomyces vastus* DSM 40309^T 4. *Amycolatopsis helveola* KCTC19329^T; 5. *Amycolatopsis taiwanensis* KCTC 19116^T; 6. *Amycolatopsis pigmentata* KCTC 19330^T ve tip türlerinin yağ asiti profilleri.

Yağ asitleri	1	2	3	4	5	6
Doymuş						
C _{13:0}	1.0	0.8	-	-	-	-
C _{14:0}	0.3	4.9	2.0	0.3	1.0	1.0
C _{15:0}	4.0	8.3	4.7	1.4	1.4	2.6
C _{16:0}	3.4	9.8	6.7	3.0	-	9.0
C _{17:0}	9.1	3.7	4.5	3.3	1.0	1.0
Doymamış						
C _{15:0} 3OH	-	-	1.7	1.2	-	-
C _{15:1} B	-	-	0.9	-	-	-
C _{16:1} cis 9	-	3.2	4.7	2.3	1.0	2.7
C _{17:1} cis 9	0.6	2.3	7.7	3.2	-	1.0
Dallanmış						
iso C _{14:0}	8.8	2.6	0.6	1.3	7.8	2.1
iso C _{15:0}	10.2	4.9	7.3	14.9	12.5	17.6
iso C _{16:0}	32.2	23.7	27.5	21.0	29.8	15.3
iso C _{17:0}	2.2	2.7	3.5	0.3	5.45	-
iso C _{18:0}	0.3	-	-	8.2	-	-
iso C _{16:0} 2OH	10.6	18.2	18.9	3.4	-	-
iso C _{17:0} 2OH	-	3.3	5.2	1.8	-	-
iso C _{16:1} G	0.7	1.3	-	-	-	-
iso C _{16:1} G	0.7	-	-	-	-	-
C _{16:0} 9?-methyl	-	-	1.5	1.2	2.8	2.1
C _{16:0} 10-methyl	0.8	-	-	-	-	-
C _{17:0} 10-methyl	0.5	-	0.4	-	-	-
iso C _{16:0} 10-methyl	1.3	-	-	-	-	-
iso C _{17:0} 10-methyl	5.3	-	1.1	-	-	-
anteiso C _{15:0}	0.7	0.9	0.3	3.0	16.9	24.0
anteiso C _{16:0}	-	-	0.6	0.3	-	-
anteiso C _{17:0}	1.0	2.2	2.4	2.8	8.0	3.0
anteiso C _{15:0} 2OH	0.4	1.9	-	-	-	-
anteiso C _{17:0} 2OH	-	1.4	1.0	4.9	-	-
Summed Feature 4	4.7	3.1	-	1.2	-	-
Unknown 16.048	0.4	-	0.7	-	-	-
Unknown 14.966	1.15	2.1	1.2	1.0	-	-

4.8 Spor morfolojisi

Taramalı elektron mikroskobu (JEOL JSM 6060, JEOL Ltd. Tokyo, Japan) ile spor yüzeyinin belirlenmesi işlemi, yeni tür olma ihtimali olan test organizmaları için gerçekleştirildi (Şekil 4.28). Görüntüleme sonunda *Amycolatopsis*, *Streptomyces*, *Promicromonospora*, *Saccharopolyspora* ve *Actinomadura* üyeleri dallanmış misellerin arasında düz yüzeyli çubuk, spiral ya da dikensi yüzeyler görülmektedir.

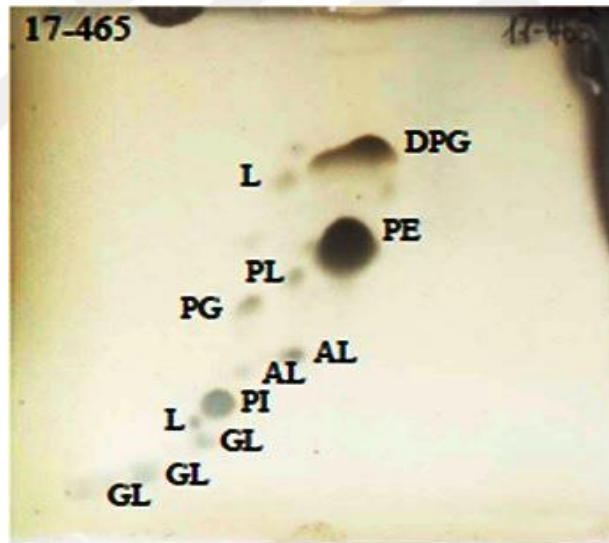


Şekil 4.28. *Amycolatopsis* sp. AG28 (A), *Streptomyces* sp. AVC15 (B), *Streptomyces* sp. HG27 (C), *Streptomyces* sp. HC44 (D), *Streptomyces* sp. GG61(E), *Streptomyces* sp. AVC16 (F) suşunun spor yüzeyine ait taramalı elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü

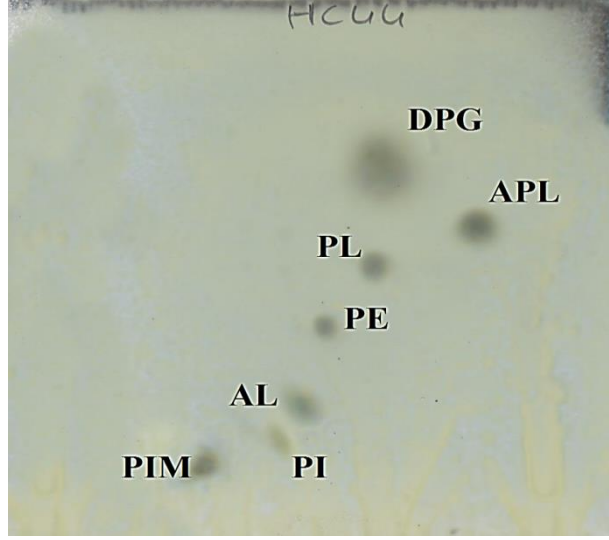
4.9 Polar lipidlerin belirlenmesi

Amycolatopsis sp. AG28 suşunun Almanya Mikroorganizma ve Hücre Kültürleri Koleksiyonunda (DSMZ-Almanya) molibdofosforik asitle boyanmış tüm lipid profilleri Şekil 4.29'da görülmektedir. (Amino grupları ninhidrin ile glikolipitler α -naftol ile ve fosfat grupları molibden blue ile ayrıca boyanmış ancak TLC kromatogramları kültür koleksiyonunun çalışma kuralları gereği tarafımıza sunulmamıştır). Bölüm araştırma laboratuvarlarımızda gerçekleştirilen *Streptomyces* sp. HC44 ve *Saccharopolyspora* sp. DC11 suşlarının polar lipid profilleri Şekil 4.30. ve 4.31.'de verilmiştir.

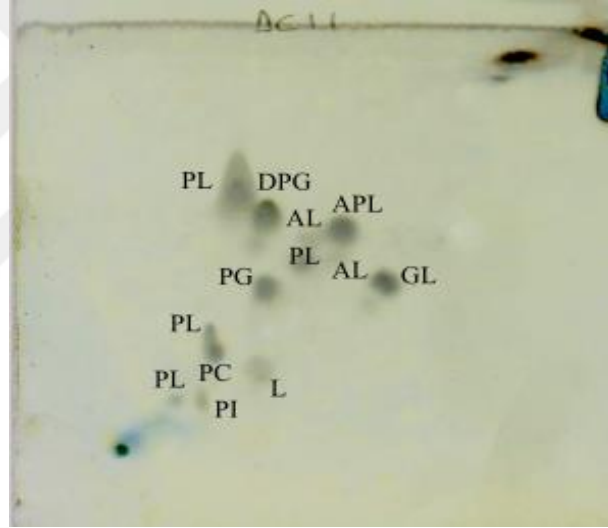
Polar lipid profili bakımından en yakın tip türleriyle kıyasladığımızda *Amycolatopsis* sp. AG28 suşunun difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilgliserol (PG) ve fosfatidilinositol (PI) içediği, *A. taiwanensis* KCTC 19116^T ve *A. pigmentata* KCTC 19330^T tip türlerinin ise yalnızca fosfatidiletanolamin (PE) içerdği belirlenmiştir.



Şekil 4.29. *Amycolatopsis* sp. AG28 türünün polar lipid profili. (DPG, difosfatidilgliserol; PE, fosfatidiletanolamin; PG, fosfatidilgliserol; PI, fosfatidilinositol; AL, aminolipit; L, lipit; GL, glikolipit; PL, fosfolipit)



Şekil 4.30. *Streptomyces* sp. HC44 türünün polar lipid profili. (DPG, difosfatidilgliserol; PE, fosfatidiletanoamin; APL, aminophospholipid; PI, fosfatidilinositol; PIM, fosfatidilinositol mannoside; AL, aminolipit; PL, fosfolipit)



Şekil 4.31. *Saccharopolyspora* sp. DC11 türünün polar lipid profili. (DPG, difosfatidilgliserol; APL, aminophospholipid; PG, fosfatidilgliserol; PI, fosfatidilinositol; AL, aminolipit; L, lipid; GL, glükolipit; PL, fosfolipit)

4.10 Menakinon analizi

16S rRNA gen bölgesi dizi verilerine göre yeni tür olarak literature kazandırılan *Amycolatopsis* sp. AG28 suşunun menakinon profili, Almanya Mikroorganizma ve Hücre Kültürleri Koleksiyonunda (DSMZ-Almanya) hizmet alımı yoluyla belirlenmiştir. *Amycolatopsis* sp. AG28 suşu baskın menakinon olarak MK-8(H₂), MK-9(H₂) ve MK-9(H₆) bileşiklerini içermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Aktinobakterilerin birçok biyoaktif bileşiği ürettiği bilinmektedir. Günümüze kadar keşfedilen metabolitler Aktinobakterilerin potansiyelinin sadece küçük bir kısmını kapsamakta olduğu literatürde de desteklenmektedir (Matsumoto ve Takahashi, 2017). Yeni biyoaktif metabolit üretebilme kapasitesine sahip yeni aktinobakteri suşlarının izolasyonu amacıyla, ekstrem fizikokimyasal özelliklere sahip habitatlar ile daha önce izolasyon çalışmaları yapılmamış habitatların araştırılması önem kazanmaktadır (Jose and Jebakumar, 2014). Bu tez çalışmasında, örneklem alanı olarak seçilen Kapadokya, Ürgüp-Göreme Yöresi Aktinobakteri çeşitliliği ilk kez çalışılmıştır. Yöreden alınan toprak örneklerinden yapılan çalışmalar sonucunda *Actinomadura*, *Amycolatopsis*, *Kribbella*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Nonomuraea*, *Promicromonospora*, *Saccharopolyspora*, *Saccharothrix* ve *Streptomyces* cinslerinin üyeleri izole edilmiş ve yapılacak olan ilave çalışmalarla mevcut stoklarımıza, birçok yeni aktinobakteri üyesinin kazandırılması kuvvetle muhtemel olduğu görülmüştür.

Kapadokya Ürgüp-Göreme yöresi; ülkemizin diğer bölgeleri gibi farklı jeolojik dönemlerin özelliklerini barındırmaktadır. Kapadokya yöresi toprakları volkanik tüflerden meydana gelmekte ve toprakların yapısı geçirgen bir nitelik taşımaktadır (Yılmaz vd, 2010; Arslan vd, 2017). Hem geçirgen toprak yapısına sahip olması hemde bu konuda bölgeye yönelik yeterli çalışmanın az olması, bölgedeki organik madde döngüsünde rol oynadıkları bilinen Aktinobakteri grubu organizmaların hangi çeşitlilikte bulunduğu tespit edilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Dolayısıyla, elde edilecek muhtemel yeni türlerin literatüre kazandırılması, farmakolojik ve mikrobiyolojik tarama programları için kaynak mikroorganizmaların oluşturulmasını sağlanacaktır.

Mikrobiyal ön çalışmalarında, izolasyon petrilerinde morfolojik karakterlerine göre bakıldığında basil, mantar ve aktinobakter grupları içerisinde sınıflandırılacak birçok izolat gözlenmiştir. Aktinobakteri kolonileri morfolojik karakterlerine göre incelendiğinde elde edilen bulgular, aktinobakteri kolonilerinin, mantar (*Aspergillus*, *Fusarium* ve *Absidia* vb.) ve basil (*Paenibacillus*, *Bacillus* vb.) kolonilerine göre daha fazla çeşitliliğe sahip olduğunu işaret etmiştir. Bu bilgiler ışığında araştırma konumuz olan aktinobakterilerin biyoçeşitliliğini belirleme ve

moleküler tanımlanmalarına yoğunlaşmıştır. Araştırma sonuçlarına göre Acıgöl toprağından *Amycolatopsis* sp. AG28, *Nonomuraea* sp. AG16, Derinkuyu toprağından *Actinomadura* sp. DG80 ve *Saccharopolyspora* sp. DC11, Hacibektaş toprağından *Promicromonospora* sp. HG29, *Streptomyces* sp. HC44 ve *Streptomyces* sp. HG27, Gülşehir toprağından *Nonomuraea* sp. GG64 ve *Streptomyces* sp. GG61, Avanos toprağından *Streptomyces* sp. AVC15 nolu izolatlar 16S rRNA gen bölgesi % benzerlik ve nükleotit farklılığı sonuçlarına göre kuvvetle muhtemel yeni türler arasında olup bunlardan *Amycolatopsis cappadoca* AG28^T (DSM 104280^T - KCTC39884^T) literatüre kazandırılmıştır.

Ad-Hoc komitesi tarafından, prokaryotik türlerin tanımlanmasıyla ilgili bir standardın oluşturulması amacıyla, araştırmacılara çeşitli tavsiyelerde bulunulmuş ve prokaryotik sistematığın gelişmesine katkı sağlanmıştır. Bu kararlardan biri prokaryotik tür tanımının %70 ve üzeri DNA:DNA hibridizasyonu, %97'nin üzerinde 16S rRNA gen dizisi benzerliğine ve önemli derecede fenotipik tutarlılığın olması gerektiği şeklindedir (Stackebrandt ve Gobel, 1994). Ancak güncel literatürler incelendiğinde farklı veriler için %98,7-99'luk bir eşik değerin de önerilmiş olduğu görülmektedir (Stackebrandt ve Ebers, 2006, Chun vd, 2018). Bununla birlikte yeni tanımlanan bakteri türlerinin en az iki kültür koleksiyonuna depozit edilmesi de karara bağlanmıştır (Stackebrandt vd, 2002). Çalışmamızda yeni tür olma ihtimali olan izolatların iki kültür koleksiyonuna depozit edilme işlemleri gerçekleştirilmiştir (Çizelge 5.1)

Çizelge 5.1. DSMZ (Almanya) ve KCTC (Güney Kore) kültür koleksiyonlarında depolanan suşlara ait numaralar

	CİNS	Suş numarası	Genbank numarası	DSMZ numarası	KCTC numarası
1	<i>Amycolatopsis cappadoca</i>	AG28	KX608880	DSM 104280	KCTC 39884
2	<i>Streptomyces</i> sp.	HC44	KX608881	DSM 106874	KCTC 39872
3	<i>Sachoropolyspora</i> sp.	DC11	KX608877	DSM 104316	KCTC 39880
4	<i>Nonomuraea</i> sp.	GG64	KX608875	DSM 105787	KCTC 49006
5	<i>Nonomuraea</i> sp.	AG16	KX608878	DSM 104311	KCTC 39876
6	<i>Streptomyces</i> sp.	GG61	KX608884	DSM 104314	KCTC 39874
7	<i>Streptomyces</i> sp.	HG27	KX608883	DSM 104312	KCTC 39873
8	<i>Streptomyces</i> sp.	AVC15	KX608886	DSM 104313	KCTC 39871
9	<i>Actinomadura</i> sp.	DG80	KX608876	DSM 105901	KCTC 49005
10	<i>Promicromonospora</i> sp.	HG29	MF150035	DSM 104131	KCTC 39881

Toprak izolasyonu sonucunda elde edilen toplam 530 izolat içerisinde, benzer olan izolatların elenmesi sonucu stoklanan 345 test izolatının renk gruplandırmaları yapılmış, renk gruplamalarına göre 157 izolat 16S rRNA gen bölgesi analizleri için seçilmiş ve filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bu izolatlardan 10 tanesinin en yakın tip türü ile benzerlik oranının %96.9 - 99.2 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatlardan ilk olarak, benzerlik oranı %98'in altında olan Acıgöl bölgesi toprağından izole edilen *Amycolatopsis* sp. AG28^T suşunun kemotaksonomik olarak polar lipid, menakinon, yağ asidi, şeker profilleri belirlenmiş; elektron mikroskopisi görüntüleri alınmış ve en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu yapılmıştır. DSMZ (Almanya) ve KCTC (Güney Kore) kültür koleksiyonlarında depolanan bu suş ülkemiz mikrobiyotasından *Amycolatopsis cappadoca* DSM 104280^T yeni tür olarak literatüre kazandırılmıştır. *Amycolatopsis cappadoca* DSM 104280^T türünün izole edildiği toprak fizikokimyasal olarak bazik bir pH'ya (pH 8.2), az nitelikli bir organik madde oranına, orta kireçli ve tınlı bir toprak tekstürüne sahiptir. Bu suş ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) ortamından izole edilmekle birlikte yine bu ortamdan izole edilen suşlardan 19 tanesinin 16S rRNA gen dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. *Amycolatopsis cappadoca* DSM 104280^T suşunun 16S rRNA gen bölgesi bakımından % 97.10 benzerlik oranı ile *A. deserti* GY024^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu ve 40 nükleotit farklılığına sahip olduğu tespit edilmiştir. İlgili tip suş *A. helveola* KCTC 19329^T, *A. pigmentata* KCTC 19330^T ve *A. taiwanensis* KCTC 19116^T ile küme oluşturarak diğer tip türlerinden ayrı gruplanmıştır. Bu suşun guanin, ksantin, ksilen ve tween 20, 40, 80 maddelerini deşrede edebildiği, D(-) sellobioz, D(-) melibioz, dekstrin, laktoz, mannitol, nişasta ve şükroz maddelerini karbon kaynağı olarak kullandığı, test dahilindeki bütün azot kaynaklarında pozitif sonuç verdiği, %6 NaCl'e kadar tuz ortamında gelişebildiği, biyokimyasal testlerden allantoin ve arbutin de (+) pozitif sonuç verdiği, 20-37°C aralığında gelişim gösterdiği, pH 6, pH 7, pH 8 ve pH 9 değerlerinde gelişim gösterdiği gözlenmiştir. Antibakteriyal aktivite testinde *Candida albicans* ATCC 10231^T, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853^T ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633^T patojenlerine karşı (+) pozitif sonuç vermiştir. *Amycolatopsis cappadoca* DSM 104280^T türünün şeker profili, tüm-hücre şeker hidrolizatlarının kromatografi plakası üzerindeki hareketlerinin ve renk profillerinin standart şekerler ile karşılaştırılmasıyla ramnoz,

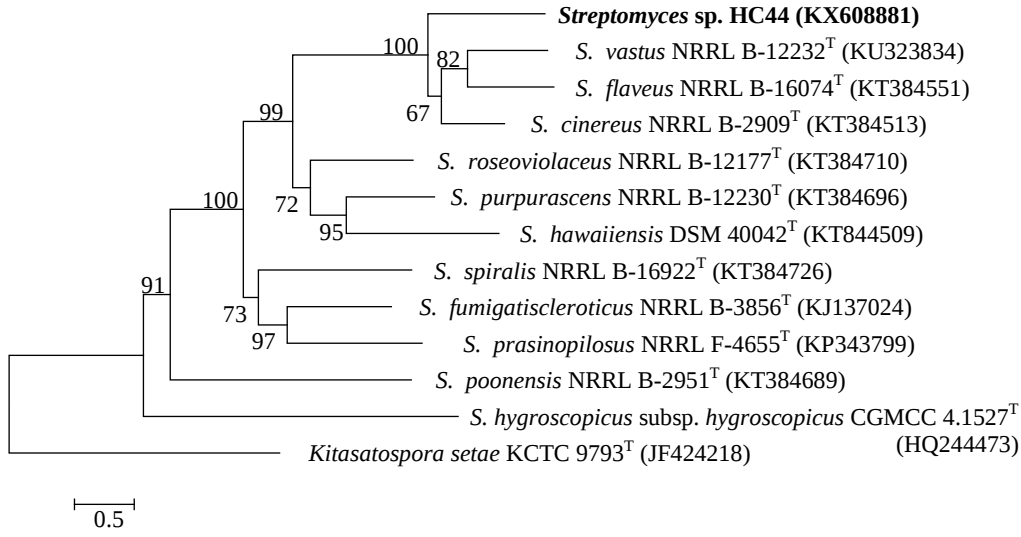
riboz, arabinoz ve galaktoz varlığı tespit edilmiştir. Karşılaştırmalı olarak yakın tip türleriyle yağ asiti profillerinde %5'in üzerindeki majör yağ asidi çeşitliliği olarak C_{17:0}, iso C_{14:0}, iso C_{15:0}, iso C_{16:0}, iso C_{16:0}2OH ve iso C_{17:0} 10-*metyl* esterleri belirlenmiştir (Çizelge 4.43). Taramalı elektron mikroskobu çalışmalarında, oatmeal agarda 21 günlük ve 30°C gelişimden sonra hava miselyumlarının çubuk şekilli oldukları gözlenmiştir (Şekil 4.27). Polar lipid profili olarak, difosfatidilgliserol (DPG); fosfatidiletanolamin (PE); fosfatidilgliserol (PG); fosfatidilinositol (PI); aminolipit (AL); lipid (L); glikolipit (GL); fosfolipit (PL) tespit edilmiştir. Bu tür baskın menakinon olarak MK-8(H₂), MK-9(H₂) ve MK-9(H₆) bileşiklerini içermektedir. Aynı zamanda *Amycolatopsis cappadoca* DSM 104280^T tip türünün DNA G+C oranı da %68.1 olarak belirlenmiştir.

Yine 16S rRNA gen dizi analizlerine göre benzerlik oranı %98'in altında olan *Streptomyces* sp. HC44 (DSM 106874) suşunun kemotaksonomik olarak yağ asidi, şeker profilleri belirlenmiş; elektron mikroskobisi görüntüleri alınmış ve en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu yapılmıştır. DSMZ (Almanya) ve KCTC (Güney Kore) kültür koleksiyonlarında depolanan bu suşun polar lipid (Çizelge 5.1), menakinon çalışmaları da ivedikle tamamlanarak, ülkemizden literatüre kazandırılacaktır. Hacıbektaş bölgesinden Czapek's dox agar (Weyland, 1969) ortamından izole edilen *Streptomyces* sp. HC44 (DSM 106874) suşunun izole edildiği toprak nötr pH aralığına olmakla birlikte organik madde bakımından az nitelikli, çok kireçli ve kumlu killi tın tekstür yapısına sahiptir. Bu izolatla birlikte Hacıbektaş bölgesi toprağından 26 test suşunun daha 16S rRNA gen dizi analizleri gerçekleştirilmiştir.

Streptomyces sp. HC44 izolatu, en yakın tip türleri olan *Streptomyces vastus* NBRC 13094^T ile %97.24 (40 nükleotit farklılığı), *Streptomyces kalpinensis* TRM 46509^T ile %97.03 (43 nükleotit farklılığı), *Streptomyces poonensis* NBRC 13485^T ile %96.68 (48 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermektedir. Aynı şekilde HC44 suşu, *S. griseoauranticus* LMG 19316^T, *S. kalpinensis* TRM 46509^T ve *S. vastus* NBRC 13094^T ile küme oluşturarak diğer tip türlerinden farklı bir grup oluşturmuştur. İlgili suşun yakın ilişkili olduğu cinse ait tip türler ile multilokus (*atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB*) gen dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. HC44 izolatu en yakın tip türü olan *S. vastus* NBRC 13094^T ile *atpD* gen bölgesi bakımından incelendiğinde, %97.18 dizi benzerlik oranına, *gryB*

gen bölgesi bakımından %98.53 dizi benzerlik oranına, *S. hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* CGMCC 4.1527^T ile *recA* gen bölgesi bakımından %97.62 dizi benzerlik oranına, *S. poonensis* NRRL B-2951^T ile *rpoB* gen bölgesi bakımından %95.93 dizi benzerlik oranına, *S. flaveus* NRRL B-16074^T ile *trpB* gen bölgesi bakımından %95.80 dizi benzerlik oranına sahiptir. Bu da 16S rRNA gen dizi benzerliğiyle en yakın benzerlik oranına sahip gen bölgesinin *recA* gen bölgesi olduğu gözlemlenmiştir. *trpB* gen bölgesi bakımından en yakın tip türüyle olan nükleotid farklılığının en fazla (%95.80) olduğu tespit edilmiştir. HC44 izolatu için beş gen bölgesi analizleri 16S rRNA gen dizi analizleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. HC44 suşunun nişasta ve ksantin'i parçalayabildiği gözlenmiştir. Antibakteriyal aktivite testinde tüm patojenlere karşı negatif (-) sonuç vermiştir. Bu test bakımından en yakın tip türleriyle benzer sonuca ulaşılmıştır. *Streptomyces* sp. HC44 suşunun glikoz, mannoz ve riboz şekerlerini içermektedir. Karşılaştırmalı olarak yakın tip türleriyle yağ asiti profillerinde %5'in üzerindeki majör yağ asidi çeşitliliği olarak *Streptomyces* sp. HC44 suşunu %23.7 iso C_{16:0}, %18.2 iso C_{16:0}2OH yağ asitlerini içermekteyken; *Streptomyces vastus* DSM 40309^T tip türünün %27.5 iso C_{16:0}, %18.9 iso C_{16:0}2OH yağ asitlerini içerdiği gözlenmiştir. Polar lipid profili olarak, DPG, difosfatidilgliserol; PE, fosfatidiletanoamin; APL, aminophospholipid; PI, fosfatidilinositol; PIM, fosfatidilinositol mannoside; AL, aminolipit; PL, fosfolipit içerdiği tespit edilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu çalışmalarında, oatmeal agarda 21 günlük ve 30°C gelişimden sonra hava miselyumlarının çubuk ve dikenimsi şekilli oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.27).

Streptomyces sp. HC44 izolatının altıgen bölgesine (*atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* ve 16S rRNA) ait nükleotit dizilerinin birleştirilmesiyle oluşturulan filogenetik dendogramda *S. cinereus* NRRL B-2909^T ve *S. flaveus* NRRL B-16074^T tip türlerinin beş gen bölgesi dendogramından farklı olarak birlikte kümelendiği belirlenmiştir. Bu izolatın aynı şekilde *S. roseoviolaceus* NRRL B-12177^T, *S. purpurascens* NRRL B-12230^T ve *S. hawaiiensis* DSM 40042^T tip türleriyle yakın konumlandığı, *S. cinereus* NRRL B-2909^T, *S. flaveus* NRRL B-16074^T ve *S. vastus* NRRL B-12232^T tip türleriyle birlikte küme oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. *Streptomyces* sp. HC44 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA gen bölgesi birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir.

Karasal aktinomisetlerden, geçmişten günümüze oldukça fazla biyoaktif bileşik elde edilmiştir. Aktinomisetlerden elde edilen biyoaktif bileşiklerin %70-80'i *Streptomyces* cinsi tarafından üretilmekte olsada, farklı aktinobakteri gruplarında büyük bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. *Saccharopolyspora erythrae* NRRL 2338^T tip türünün antibakteriyal aktivite gösterdiği ve erythromycin bileşiğini ürettiği, *Streptomyces flavoviridis* ATCC 21892^T tip türünün antitümöral aktivite oluşturan zorbamycin bileşiğini ürettiği araştırmalar sonucu tespit edilmiştir. Ticari olarak önemli sekonder metabolitler için bu organizmaların izolasyonu ve sekonder metabolitler bakımından araştırılmasına devam edilmektedir (Pacey vd, 1998; Wang vd, 2007; Solanki vd, 2008).

Tez çalışmam sürecinde potansiyel olarak yeni tür olan *Saccharopolyspora* sp. DC11 suşu Derinkuyu toprağından izole edilmiştir. İzolasyon toprağıının fizikokimyasal özelliklerinde organik madde miktarı az, çok fazla kireçli, pH 8 in üzerinde ve tınlı kum tekstür yapısına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu izolatla birlikte Derinkuyu toprağından 17 suşun daha 16S rRNA gen dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Derinkuyu toprağından Czapek's dox agar (Weyland, 1969) ortamından izole edilen DC11 izolatu, %98.77 benzerlik ile *S. endophytica* YIM 61095^T türü ile yakınlık göstermekte ve 18 nükleotit farklılığı bulunmaktadır. Bu suş guanin ve ksilen'i degrede edememiş, D(-) melezitose ve dekstran'ı kullanamamış,

tüm azot kaynaklarında pozitif (+) sonuç vermiş, %0-10 NaCl bulunan ortamda gelişme göstermiş, allantoin, arbutin ve ürede pozitif (+) sonuç vermiş, 10°C-38°C aralığında gelişim göstermiştir. Antibakteriyal aktivite testinde tüm patojenlere karşı negatif (-) sonuç vererek, bu test bakımından en yakın tip türleriyle aynı sonuca ulaşılmıştır. *Saccharopolyspora* sp. DC11 suşunun tüm-hücre şeker hidrolizatlarının glikoz, arabinoz, galaktoz, riboz ve ramnoz olduğu belirlenmiştir. Polar lipid profili olarak, DPG, difosfatidilgliserol; APL, aminophospholipid; PG, fosfatidilgliserol; PI, fosfatidilinositol; AL, aminolipit; L, lipid; GL, glikolipit; PL, fosfolipit içerdiği tespit edilmiştir.

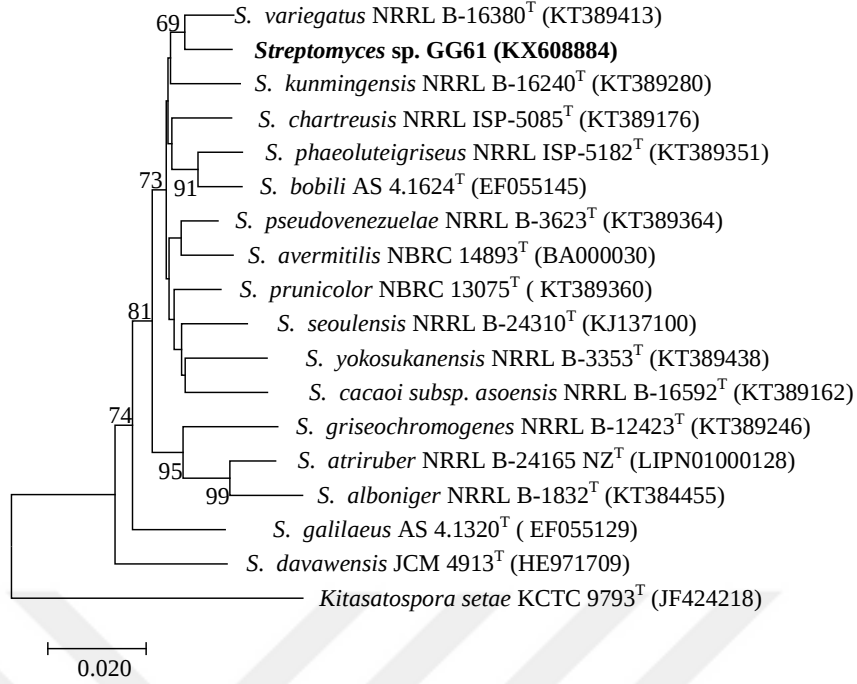
Nonomuraea sp. GG64 suşu Gülşehir toprağından ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) ortamından izole edilmiştir. Bu toprak bazik bir yapıya sahip olmakla birlikte çok az organik madde ve orta düzeyde kireç içeriğine, kumlu tın toprak tekstür yapısına sahiptir. *Nonomuraea* sp. GG64 izolatu 16S rRNA gen dizi analizlerine göre % 98.91 benzerlik ve 16 nükleotit farkla *N. rhizophila* YIM 67092^T tip türünden, % 98.63 benzerlikle *N. solani* NEAU-Z6^T tip türünden ayrılarak, farklı bir dala yerleşmiştir. GG64 suşu degradasyon ve karbon testlerinin hepsinden negatif (-) sonuç vermiş, ancak azot kaynaklarının da hepsini kullanarak bu testlerden pozitif sonuç vermiştir. %0 - %5 NaCl ortamında gelişim gösterebilmişken daha yüksek değerlerde gelişim olmamıştır. Biyokimyasal testlerde sadece üre'de pozitif (+) sonuç vermiştir. Farklı sıcaklıklarda gelişimlerine bakıldığında 10-50°C aralığında gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Antibakteriyal aktivite testinde tüm patojenlere karşı negatif (-) sonuç vermiştir. GG64 suşu glikoz, mannoz, maduroz ve riboz şeker hidrolizatlarını içermektedir.

Tez çalışmamdaki bir diğer *Nonomuraea* cinsi üyesi olan *Nonomuraea* sp. AG16 suşu Acıgöl toprağından izole edilmiştir. AG16 izolatu 16S rRNA gen dizi analizlerine göre % 99.37 benzerlik oranı ile *N. ceibae* XMU 110^T türünden, % 98.23 benzerlik ve 26 nükleotit farklılığı ile *N. endophytica* YIM 65601^T türünden ayrılıp farklılaşarak filogenetik dendogramda ayrı bir grup oluşturmuştur. AG16 suşu ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) ortamından izole edilmiştir. Degradasyon testlerinde guanin, nişasta, tween 20, ksantin, ksilen maddelerini parçalayabildiği, süksinik asit haricindeki bütün karbon kaynaklarını kullanabildiği, tüm azot testlerinde pozitif (+) sonuç verdiği, % 0-1 ve % 3 lük tuz ortamında gelişim gösterdiği, allantoin, arbutin, üre ve nitrat testlerinin tümünde pozitif (+) sonuç

verdiği, 10°C-50°C aralığında gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite bakımından *Staphylococcus aureus* ATCC 25923^T (20mm) ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212^T (17mm) patojenlerine karşı pozitif (+) sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Streptomyces cinsi örneklerimizden olan *Streptomyces* sp. GG61 suşu Gülşehir toprağından ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) ortamından izole edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından incelendiğinde *Streptomyces* sp. GG61 izolatu, % 98.83 benzerlik ile *Streptomyces atriruber* NRRL B-24165^T türü ile yakın ilişkili olduğu ve 17 nükleotit farklılığına sahip olduğu belirlenmiştir. Multilokus gen bölgesi analizleri en yakın tip türleriyle incelendiğinde, GG61 izolatu *atpD* gen bölgesi bakımından % 99.19 dizi benzerlik oranı *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T tip türüyle, *gyrB* gen bölgesi bakımından % 89.13 dizi benzerlik oranı *S. alboniger* NRRL B-1832^T tip türüyle, *recA* gen bölgesi bakımından % 94.44 dizi benzerlik oranı *S. atriruber* NRRL B-24165 NZ^T türüyle, *rpoB* gen bölgesi bakımından GG61 izolatu % 92.49 dizi benzerlik oranı *S. yokosukanensis* NRRL B-3353^T türüyle ve *trpB* gen bölgesi bakımından % 94.22 dizi benzerlik oranı *S. kunmingensis* NRRL B-16240^T tip türü ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. *Streptomyces* cinsine ait GG61 suşunun tüm hücre şeker hidrolizatları riboz ve glikoz olduğu tespit edilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu çalışmalarında, oatmeal agarda 28 günlük ve 30°C gelişimden sonra hava miselyumlarının çubuk şekilli oldukları gözlenmiştir (Şekil 4.27).

Streptomyces sp. GG61 izolatının altıgen bölgesine (*atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA) ait nükleotit dizilerinin birleştirilmesiyle oluşturulan filogenetik dendogramda *S. variegatus* NRRL B-16380^T ve *S. davawensis* JCM 4913^T tip türlerinin beş gen bölgesi dendogramından farklı olarak *Streptomyces* sp. GG61 izolatına yakın konumlandıkları belirlenmiştir. Bu izolatın beş gen bölgesi dendogramıyla benzer şekilde *S. variegatus* NRRL B-16380^T tip türüyle küme oluşturduğu tespit edilmiştir. *S. prunicolor* NBRC 13075^T ve *S. avermitilis* NBRC 14893^T tip türlerinin beş gen bölgesine ait filogenetik dendogramdan farklı olarak *Streptomyces* sp. GG61 izolatının bulunduğu kümeye dahil oldukları tespit edilmiştir (Şekil 5.2).

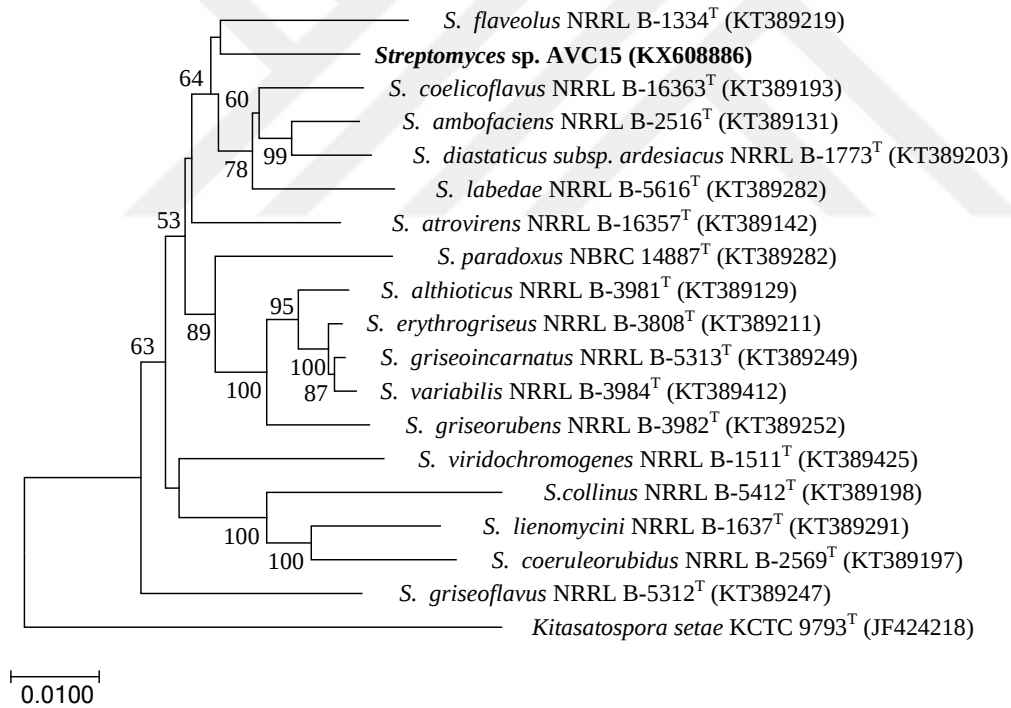


Şekil 5.2. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA gen bölgesi birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir.

Streptomyces sp. AVC15 suşu ise Avanos toprağından Czapek's dox agar (Weyland, 1969) ortamından izole edilmiştir. Bu bölgenin toprağı az nitelikli organik madde içeriğıne sahip, orta seviyede kireç düzeyine ve kumlu killi tın tekstürüne sahiptir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından incelendiğinde *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu, % 99.29 benzerlik ile *Streptomyces ambofaciens* NRRL B-2516^T türü ile yakın ilişkili olduğu ve 10 nükleotit farklılığına sahip olduğu belirlenmiştir. Multilokus gen bölgesi analizleri en yakın tip türleriyle incelendiğinde, AVC15 izolatu *atpD* gen bölgesi bakımından, % 99.19 dizi benzerlik oranı ile *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T türü ile ve % 98.99 dizi benzerlik oranı ile *S. griseoincarnatus* NRRL B-5313^T tip türü ile, *gyrB* gen bölgesi bakımından % 97.55 dizi benzerlik oranı ile *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T tip türü ile, % 96.81 dizi benzerlik oranı ile *S. diastaticus* subsp. *ardesiacus* NRRL B-1773^T tip türü ile, *recA* gen bölgesi bakımından % 95.44 dizi benzerlik oranı ile *S. griseoincarnatus* türü ve % 95.44 dizi benzerlik oranı ile *S. erythrogriseus* NRRL B-3808^T tip türü ile, *rpoB* gen bölgesi bakımından % 97.96 dizi benzerlik oranı ile *S. flaveolus* türü ile ve % 95.74 dizi benzerlik oranı ile *S. griseoflavus* tip türü ile ve *trpB* gen bölgesi bakımından % 96.32 dizi benzerlik oranı ile *S. flaveolus* NRRL B-1334^T tip türü ve

% 95.97 dizi benzerlik oranı ile *S. labedae* NRRL B-5616^T tip türü ile yakın ilişkili olarak filogenetik dendogramda konumlandığı görülmüştür. Aynı zamanda *Streptomyces* cinsine ait AVC15 suşunun taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde hava miselyumlarının çubuk şekilli oldukları gözlemlenmiştir (Şekil 4.27).

Streptomyces sp. AVC15 izolatının altıgen bölgesine (*atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA) ait nükleotit dizilerinin birleştirilmesiyle oluşturulan filogenetik dendogramda *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T ve *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T tip türlerinin beş gen bölgesi dendogramından farklı olarak birlikte kümелendiği belirlenmiştir. Bu izolatın aynı şekilde *S. flaveolus* NRRL B-1334^T, *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T ve *S. diastaticus subsp. ardesiacus* NRRL B-1773^T tip türleriyle yakın konumlandığı, *S. flaveolus* NRRL B-1334^T tip türüyle birlikte küme oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. *Streptomyces* sp. AVC15 izolatı ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA gen bölgesi birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi %0,5'dir

Actinomadura cinsi üyeleri organik madde döngüsünde rol oynadıkları toprakta bol miktarda bulunmaktadır. Kanada'da sığır gübresinden pek çok bakterinin

parçalayamadığı bir polimer olan keratini parçalayabilen bir *Actinomadura* türü (*A. keratinilytica*) izole edilmiştir (Trujillo ve Goodfellow, 2003; Puhl vd, 2009).

Tez kapsamında çalışılan *Actinomadura* cinsine ait olan *Actinomadura* sp. DG80 suşu Derinkuyu toprağından ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) ortamından izole edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi analizlerine göre DG80 izolatu *A. vinacea* JCM 3325^T türüne % 98.68 benzerlik ve 19 nükleotit farklılığı göstermektedir. Nümerik analizlerine bakıldığında bu suşun starch, tween 20, 40 ve 80'i degrede edebildiğı, karbon kaynaklarının tamamında negatif (-) özellik gösterirken, azot kaynaklarında pozitif (+) özellik gösterdiği, %3 NaCl ortamına kadar tuzu tolere edebildiğı, biyokimyasal testlerde allantoinle ürede pozitif (+) sonuç verdiği, 10-37°C sıcaklık aralığında gelişebildiğı tespit edilmiştir. Antibakteriyal aktivite testinde tüm patojenlere karşı negatif (-) sonuç vermiştir. Bu test bakımından en yakın tip türleriyle benzer sonuçlar verdiği belirlenmiştir. *Actinomadura* sp. DG80 suşunun tüm hücre şeker hidrolizatları ramnoz, riboz, maduroz ve glikoz olduğu tespit edilmiştir.

Multilokus dizi analizlerini doğrulamak amaçlı olarak Rong ve Huang'un *Streptomyces griseus* ve *S. higroscopicus* ile yakın klad üyesi tip türleriyle yaptığı bir çalışmada, 16S rRNA gen kümesine ait türlerin DNA:DNA hibridizasyon ve multi gen dizi analizi sonuçları karşılaştırılmıştır. Multi gen dizi analizi çalışmalarını *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* gen bölgelerini kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Multi gen sekans analizine bağlı filogenetik uzaklığı 0.007'den yüksek değerlere sahip türler arasında DNA:DNA hibridizasyon değerinin % 70'in altında çıktığı sonucuna ulaşmışlardır (Rong ve Huang, 2010; Rong ve Huang, 2012).

Literatür verilerine bakıldığında, *Streptomyces* sp. AVC15 izolatu yakın ilişkili olduğu *S. ambofaciens* NRRL B-2516^T tip türü ile 0.042 filogenetik uzaklık değerlerine, *S. diastaticus* subsp. *ardesiacus* NRRL B-1773^T tip türü ile 0,044 filogenetik uzaklık değerlerine sahip olması bu izolatımızın muhtemel yeni bir tür olabileceğini göstermektedir. *Streptomyces* sp. GG61 izolatu yakın ilişkili olduğu *S. variegatus* NRRL B-16380^T tip türü ile 0.071 filogenetik uzaklık değerlerine, *S. pseudovenezuelae* NRRL B-3623^T tip türü ile 0,074 filogenetik uzaklık değerlerine sahip olması bu izolatımızın da muhtemel yeni bir tür olabileceğini literatürle uyumlu olarak göstermektedir.

Araştırma ve geliştirme programları daha az çalışılmış olan habitatlardan yeni aktinobakteri suşlarının izolasyonuna odaklanmıştır (Ghosh vd, 2013). Bu doğrultuda araştırma alanımızdaki Kapadokya Ürgüp-Göreme yöresinde yer alan topraklardan alınan örneklerde yapılan çalışmalar sonucunda potansiyel olarak yeni türlere ulaşılmış olup, bunlara yönelik yapılacak olan sonlandırıcı mikrobiyal polifazik çalışmalarla (DNA-DNA homoloji ve kemotaksonomik belirteçleri-yağ asidi profilleri, polar lipidleri ve menakinon çeşitlilikleri) ülkemizden mikrobiyolojik tür zenginliğin literatüre kazandırılması ve sahip oldukları primer ve sekonder metabolit zenginliklerinin de tanımlanabilmesi içinde diğer araştırma çalışmalarına temel taşları olacaklardır.

Amycolatopsis sp. AG28 (DSM 104280) izolatının tüm polifazik tanımlama çalışmaları tamamlanarak *Amycolatopsis cappadoca* DSM 104280^T olarak ülkemiz topraklarından yeni tür olarak literatüre kazandırılmıştır. İlgili türün tüm genom analizlerinin gerçekleştirilmesi, sahip olabileceği muhtemel farklı gen kümelerinin belirlenmesi öncelikli ve ivedi önerimizdir.

Aynı zamanda *Streptomyces* sp. HC44 izolatının menakinon analizleri ve muhtemel yeni türler olduğunu düşündüğümüz diğer suşlarımızla ilgili fenotipik ve kemotaksonomik karakterizasyon çalışmaları öncelikli olarak tamamlanarak, ülkemizden yeni aktinobakteriler olarak literatüre kazandırılmalıdır.

Ayrıca *Streptomyces* sp. AVC15 ve *Streptomyces* sp. GG61 izolatlarına ait *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* gen bölgeleri kullanılarak gerçekleştirilen multi gen dizi analizi çalışmalarına ek olarak ayırtedici nümerik testler ve kemotaksonomik analizlerde gerçekleştirilerek literatüre en kısa sürede kazandırılması sağlanacaktır.

Tez kapsamında yapılanlara ek olarak *Saccharopolyspora* sp. DC11, *Nonomuraea* sp. GG64, *Nonomuraea* sp. AG16 ve *Actinomadura* sp. DG80 suşlarının DNA-DNA homolojisi, yağ asidi profilleri, polar lipidleri ve menakinon analizleri tamamlanarak literatüre kazandırılmaları hızlı destek projeleriyle öncelikli yapılacaktır.

Aynı zamanda çalışılan suşlarımıza ait tüm genom analizlerinin gerçekleştirilmesi, sekonder metabolit potansiyellerinin ortaya çıkarılmaları, güncel sistematik yaklaşımın gerekleri arasında olduğu görülmektedir. Tüm genom çalışma sonuçlarının farklı endüstriyel alanlarda kullanılabilecek metabolitler, bitki

gelişimini teşvik eden bileşikler ve ekolojik döngülerdeki katkıların ortaya çıkarılması ile ilgili çalışmalara ışık tutacağı, ayrıca yeni proje birlikteliklerine imkan sağlayacağı da öngörülerimiz ve önerilerimiz arasındadır.



KAYNAKLAR

- Abdelmohsen, U. R., Yang, C., Horn, H., Hajjar, D., Ravasi, T. and Hentschel, U. 2014. Actinomycetes from Red Sea sponges: sources for chemical and phylogenetic diversity. *Marine drugs*, 12: 5, 2771-2789.
- Adamek, M., Alanjary, M., Sales-Ortells, H., Goodfellow, M., Bull, A. T., Winkler, A., Wibberg D., Kalinowski J. and Ziemert, N. 2018. Comparative genomics reveals phylogenetic distribution patterns of secondary metabolites in *Amycolatopsis* species. *BMC genomics*, 19: 1, 426.
- Adékambi, T., Butler, R. W., Hanrahan, F., Delcher, A. L., Drancourt, M. and Shinnick, T. M. 2011. Core gene set as the basis of multilocus sequence analysis of the subclass Actinobacteridae. *PLoS One*, 6: 3, e14792.
- Albuquerque de Barros, E.V., Manfio, G.P., Ribiero Maitan, V., Mendes Bataus, L.A., Kim, S.B., Maldonado, L.A. and Goodfellow, M. 2003. *Nocardia cerradoensis* sp. nov., a novel isolate from Cerrado soil in Brazil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 29-33.
- Alonso-Vega, P., Santamaría, R. I., Martinez-Molina, E. and Trujillo, M. E. 2008. *Promicromonospora kroppenstedtii* sp. nov., isolated from sandy soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58: 6, 1476-1481.
- Al-Musallam, A. A., Al-Zarban, S. S., Fasasi, Y. A., Kroppenstedt, R. M. and Stackebrandt, E. 2003. *Amycolatopsis keratiniphila* sp. nov., a novel keratinolytic soil actinomycete from Kuwait. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 3, 871-874.
- Amner, W., Edwards, C. and McCarthy, A. J. 1989. Improved medium for recovery and enumeration of the farmer's lung organism, *Saccharomonospora viridis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 10, 2669-2674.
- Anandan, R., Dharumadurai, D. and Manogaran, G. P. 2016. An introduction to actinobacteria. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. (pp. 1-37). India: InTech.
- Anderson, A. S. and Wellington, E. M. 2001. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 3, 797-814.
- Aouiche, A., Sabaou, N., Meklat, A., Zitouni, A., Bijani, C., Mathieu, F. and Lebrihi, A. 2012. *Saccharothrix* sp. PAL54, a new chloramphenicol-producing strain isolated from a Saharan soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28: 3, 943-951.
- Arslan, H., Şikoğlu, E. ve Karadoğan, S. 2017. Nevşehir yakın çevresinin jeolojik-jeomorfolojik özellikleri ve kentleşmeye etkileri. International Symposium on Geomorphology, 2-14 October 2017, Elazığ, Türkiye.
- Athalye, M., Goodfellow, M., Lacey, J. and White, R. P. 1985. Numerical classification of *Actinomadura* and *Nocardia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 35: 1, 86-98.

- Ay, H., Nouioui, I., del Carmen Montero-Calasanz, M., Klenk, H. P., Isik, K., Cetin, D. and Sahin, N. 2018. *Streptomyces sediminis* sp. nov. isolated from crater lake sediment. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111: 4, 493-500.
- Bach, E. M., Williams, R. J., Hargreaves, S. K., Yang, F. and Hofmockel, K. S. 2018. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats. *Soil Biology and Biochemistry*, 118, 217-226.
- Bachofer, R., Oltmanns, O. and Lingens, F. 1973. Isolation and characterization of a Nocardia-like soil-bacterium, growing on carboxanilide fungicides. *Archives of Microbiology*, 90: 2, 141-149.
- Bala, S., Khanna, R., Dadhwal, M., Prabakaran, S. R., Shivaji, S., Cullum, J. and Lal, R. 2004. Reclassification of *Amycolatopsis mediterranei* DSM 46095 as *Amycolatopsis rifamycinica* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 4, 1145-1149.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., Clément, C., Ouhdouch, Y. and Van Wezel, G. P. 2016. Taxonomy, physiology and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80: 1, 1-43.
- Berdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *The Journal of antibiotics*, 58: 1, 1.
- Bhatti, A. A., Haq, S. and Bhat, R. A. 2017. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial pathogenesis*, 111, 458-467.
- Bilyk, O. and Luzhetskyy, A. 2016. Metabolic engineering of natural product biosynthesis in actinobacteria. *Current opinion in biotechnology*, 42, 98-107.
- Blackall, L., Parlett, J.H., Hayward, A.C., Minnikin, D.E., Greenfield, P.F. and Harbers, A.E. 1989. “*Nocardiapinensis* sp. nov., an actinomycete found in activated sludge foams in Australia”. *Journal of General Microbiology*, 135, 1547-1558
- Boto, L. 2009. Horizontal gene transfer in evolution: facts and challenges. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277: 1683, 819-827.
- Boubetra, D., Sabaou, N., Zitouni, A., Bijani, C., Lebrihi, A. and Mathieu, F. 2013a. Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiological research*, 168: 4, 223-230.
- Boubetra, D., Zitouni, A., Bouras, N., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Sprör C., Klenk H. P. and Sabaou, N. 2013b. *Saccharothrix hoggarensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63: 2, 549-553.
- Boubetra, D., Zitouni, A., Bouras, N., Schumann, P., Sprör, C., Klenk, H. P. and Sabaou, N. 2015. *Saccharothrix tamanrassetensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65: 4, 1316-1320.
- Bouras, N., Merrouche, R., Lamari, L., Mathieu, F., Sabaou, N. and Lebrihi, A. 2008. Precursor-directed biosynthesis of new dithiolopyrrolone analogs by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Process Biochemistry*, 43: 11, 1244-1252.

- Bouznada, K., Bouras, N., Mokrane, S., Chaouch, F. C., Zitouni, A., Pötter, G., Spröer C., Klenk H. P. and Sabaou, N. 2017. *Saccharothrix ghardaiensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110: 3, 399-405.
- Bower, C. S. and Hucker, G. J. 1930. Tech. Bull. Geneva: New York State Agricultural Experiment Station, 228.
- Brown-Elliott, B. A., Brown, J. M., Conville, P. S. and Wallace, R. J. 2006. Clinical and Laboratory features of the *Nocardia* spp. Based on current molecular taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 259-282.
- Busarakam, K., Bull, A. T., Trujillo, M. E., Riesco, R., Sangal, V., van Wezel, G. P. and Goodfellow, M. 2016. *Modestobacter caceresii* sp. nov., novel actinobacteria with an insight into their adaptive mechanisms for survival in extreme hyper-arid Atacama Desert soils. *Systematic and Applied Microbiology*, 39: 4, 243-251.
- Busse, H. J., Denner, E. B. and Lubitz, W. 1996. Classification and identification of bacteria: current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. *Journal of biotechnology*, 47: 1, 3-38.
- Chater, K. F., Biró, S., Lee, K. J., Palmer, T. and Schrempf, H. 2010. The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *FEMS microbiology reviews*, 34: 2, 171-198.
- Chen, Y., Sheng, J., Jiang, T., Stevens, J., Feng, X. and Wei, N. 2016. Transcriptional profiling reveals molecular basis and novel genetic targets for improved resistance to multiple fermentation inhibitors in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology for biofuels*, 9: 1, 9.
- Cheng, J., Zhang, Y. G., Chen, W., Li, L., Zhang, D. F., Wang, H. F., Lu, X. H., Duan, Y. Q. and Li, W. J. 2013. *Saccharopolyspora cavernae* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the Swallow Cave in Yunnan, south-west China. *Antonie van Leeuwenhoek*, 104: 5, 837-843.
- Chenu, C. and Stotzky, G. 2002. *Interactions between microorganisms and soil particles: an overview* (pp. 3-40). John Wiley and Sons, USA.
- Carlsohn, M. R., Groth, I., Tan, G. Y. A., Schütze, B., Saluz, H. P., Munder, T., Yang, J., Wink, J. and Goodfellow, M. 2007. *Amycolatopsis saalfeldensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a medieval alum slate mine. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57: 7, 1640-1646.
- Chiba, S., Suzuki, M. and Ando, K. 1999. Taxonomic re-evaluation of 'Nocardiopsis' sp K-252T (= NRRL 15532T): a proposal to transfer this strain to the genus *Nonomuraea* as *Nonomuraea longicatena* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49: 4, 1623-1630.
- Christensen, A. and Martin, G. D. 2017. Identification and bioactive potential of marine microorganisms from selected Florida coastal areas. *MicrobiologyOpen*, 6: 4, e00448.
- Chun, J., and Goodfellow, M. 1995. A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45: 2, 240-245.

- Chun, J., Liu, Z., Ruan, J.S. and Yan, X.C. 1998. The new species of *Nocardia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48, 901-905.
- Chun, J. (2001). PHYDIT. Molecular sequence editor for phylogeny. Version 3.1.
- Clardy, J., Fischbach, M. A. and Walsh, C. T. 2006. New antibiotics from bacterial natural products. *Nature biotechnology*, 24: 12, 1541.
- Cross, T., Maciver, A. and Lacey, J. 1968 Thermophilic actinomycetes in mouldy hay: *Micropolyspora faeni* sp. nov. *Journal of General Microbiology*, 50, 351-359.
- Cross, T. and Goodfellow, M. 1973, January. Taxonomy and classification of the actinomycetes. In *Society for Applied Bacteriology symposium series* (Vol. 2, p. 11).
- Coenye, T., Gevers, D., Van de Peer, Y., Vandamme, P. and Swings, J. 2005. Towards a prokaryotic genomic taxonomy. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 147-167.
- Coenye T. and LiPuma J. J. 2002. Use of the *gyrB* gene for the identification of *Pandoraea* species, *FEMS Microbiology Letters*, 208, 15-19.
- Collins, M. D., Goodfellow, M. and Minnikin, D. E. 1980. Fatty acid, isoprenoid quinone and polar lipid composition in the classification of *Curtobacterium* and related taxa. *Microbiology*, 118: 1, 29-37.
- Cowan, S. T. and Steel, K. J. 1965. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press.
- Cui, Q., Wang, L., Huang, Y., Liu, Z. and Goodfellow, M. 2005. *Nocardia jiangxiensis* sp. nov. and *Nocardia miyunensis* sp. nov., isolated from acidic soils. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55: 5, 1921-1925.
- Cui, Y. S., Lee, J. S., Lee, S. T. and Im, W. T. 2010. *Kribbella ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 2, 364-368.
- Çağlar, K. Ö. 1958. Toprak ilmi. *Ankara Üniversitesi Yayınları*, 10.
- Demain, A. L. 2014. Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 41: 2, 185-201.
- Devulder, G., De Montclos, M. P. and Flandrois, J. P. 2005. A multigene approach to phylogenetic analysis using the genus *Mycobacterium* as a model. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 1, 293-302.
- Du, W., Brown, J. R., Sylvester, D. R., Huang, J., Chalker, A. F., So, C. Y., Holmes, D. J., Payne, D. J. and Wallis, N. G. 2000. Two active forms of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase in gram-positive bacteria. *Journal of bacteriology*, 182: 15, 4146-4152.
- Duangmal, K., Mingma, R., Thamchaipenet, A., Matsumoto, A. and Takahashi, Y. 2010. *Saccharopolyspora phatthalungensis* sp. nov., isolated from rhizosphere

- soil of *Hevea brasiliensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 8, 1904-1908.
- El-Gendy, M. M., Hawas, U. W. and Jaspars, M. 2008. Novel bioactive metabolites from a marine derived bacterium *Nocardia* sp. ALAA 2000. *The Journal of antibiotics*, 61: 6, 379.
- Embley, T. M., Wait, R., Dobson, G. and Goodfellow, M. 1987. Fatty acid composition in the classification of *Saccharopolyspora hirsuta*. *FEMS microbiology letters*, 41: 2, 131-135.
- Embley, M. T., Smida, J. and Stackebrandt, E. 1988. The phylogeny of mycolate-less wall chemotype IV Actinomycetes and description of *Pseudonocardiaceae* fam. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 11: 1, 44-52.
- Etienne, G., Fabre, B., Armau, E., Legendre, F., Ardourel, M. and Tiraby, G. 1993. A new antibiotic complex from *Saccharopolyspora aurantiaca* sp. nov. *The Journal of antibiotics*, 46: 5, 770-776.
- Everest, G. J. and Meyers, P. R. 2008. *Kribbella hippodromi* sp. nov., isolated from soil from a racecourse in South Africa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58: 2, 443-446.
- Everest, G. J., Curtis, S. M., De Leo, F., Urzi, C. and Meyers, P. R. 2013. *Kribbella albertanoniae* sp. nov., isolated from a Roman catacomb, and emended description of the genus *Kribbella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63: 10, 3591-3596.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 783-791.
- Ferracini-Santos, L. and Sato, H. H. 2009. Production of alkaline protease from *Cellulosimicrobium cellulans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40: 1, 54-60.
- Fukano, H., Wada, S., Kurata, O., Katayama, K., Fujiwara, N. and Hoshino, Y. 2017. *Mycobacterium stephanolepidis* sp. nov., a rapidly growing species related to *Mycobacterium chelonae*, isolated from marine teleost fish, *Stephanolepis cirrhifer*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67: 8, 2811-2817.
- Ghodhbane-Gtari, F., Nouioui, I., Salem, K., Ktari, A., del Carmen Montero-Calasanz, M., Tisa, L. S., Klenk H. P. and Gtari, M. 2014. *Nocardia casuarinae* sp. nov., an actinobacterial endophyte isolated from root nodules of *Casuarina glauca*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105: 6, 1099-1106.
- Ghosh, M., and Rao, S. 2013. "Isolation, screening and characterization of psychrotolerant actinomycetes from deep marine water-a sustainable source for pharmaceutical and industrial application". *Journal of Coastal Life Medicine*, 1: 2, 135-144.
- Girard, G., Traag, B. A., Sangal, V., Mascini, N., Hoskisson, P. A., Goodfellow, M. and van Wezel, G. P. 2013. A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes. *Open biology*, 3: 10, 130073.
- Glaeser, S. P. and Kämpfer, P. 2015. Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. *Systematic and applied microbiology*, 38: 4, 237-245.

- Goldenfeld, N. and Woese, C. 2007. Biology's next revolution. *Nature*, 445: 7126, 369.
- Goodfellow, M. 1971. Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *Journal of General Microbiology*, 69: 33-80.
- Goodfellow, M., Weaver, C. R. and Minnikin, D. E. 1982. Numerical classification of some rhodococci, corynebacteria and related organisms. *Microbiology*, 128: 4, 731-745.
- Goodfellow, M. and Williams, S. T. 1983. Ecology of actinomycetes. *Annual Reviews in Microbiology*, 37: 1, 189-216.
- Goodfellow, M. and Simpson, K. E. 1987. Ecology of streptomycetes. *Frontiers Applied Microbiology*, 2, 97-125.
- Goodfellow, M., Lonsdale, C., James, A. L. and Macnamara, O. C. 1987. Rapid biochemical tests for the characterisation of *Streptomyces*. *FEMS Microbiology Letters*, 43, 39-44.
- Goodfellow, M. 1989. Search and discovery of industrially significant actinomycetes. *Microbial products: new approaches*.
- Goodfellow, M., Stanton, L. J., Simpson, K. E. and Minnikin, D. E. 1990. Numerical and chemical classification of Actinoplanes and some related actinomycetes. *Microbiology*, 136: 1, 19-36.
- Goodfellow, M. and O'Donnell, A. G. 1993. *Handbook of new bacterial systematics*. Academic Press.
- Goodfellow, M., Alderson, G. and Chun, J. 1998. Rhodococcal systematics: problems and developments. *Antonie van Leeuwenhoek*, 74: 13, 3-20.
- Goodfellow, M. 1999. Actinomycete systematics: an unfinished synthesis. *Nova Acta Leopoldina*, 80: 47-82.
- Goodfellow, M. and Fiedler, H. P. 2010. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 98: 2, 119-142.
- Goodfellow, M. 2012. Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (pp. 33-2028). Springer, New York.
- Gordon, R. E. and Mihm, J. M. 1962. The type species of the genus *Nocardia*. *Microbiology*, 27, 1-10.
- Gordon, R. E. 1968. The taxonomy of soil bacteria. In *The Ecology of Soil Bacteria*, Edited by Gray, T.R.G. and Parkinson D., Liverpool University Press: Liverpool, 293-321
- Gtari, M., Brusetti, L., Hassen, A., Mora, D., Daffonchio, D. and Boudabous, A. 2007. Genetic diversity among *Elaeagnus* compatible *Frankia* strains and sympatric-related nitrogen-fixing actinobacteria revealed by *nifH* sequence analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 372-377.
- Guo, Y., Zheng, W., Rong, X. and Huang, Y. 2008. A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S rRNA gene clade: use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58: 1, 149-159.

- Hamed, J., Mohammadipanah, F. and Panahi, H. K. S. (2015). Biotechnological exploitation of Actinobacterial members. In *Halophiles* (pp. 57-143). Springer, Cham.
- Hayakawa, M. and Nonomura, H. 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, 65: 5, 501-509.
- He, J., Xu, Y., Sahu, M. K., Tian, X. P., Nie, G. X., Xie, Q., Zhang S., Sivakumar K. and Li, W. J. 2012. *Actinomadura sediminis* sp. nov., a marine actinomycete isolated from mangrove sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62: 5, 1110-1116.
- Hong, L., Zhao, Z., Melançon, C. E., Zhang, H. and Liu, H. W. 2008. In vitro characterization of the enzymes involved in TDP-D-forosamine biosynthesis in the spinosyn pathway of *Saccharopolyspora spinosa*. *Journal of the American Chemical Society*, 130: 14, 4954-4967.
- Hong, K., Gao, A. H., Xie, Q. Y., Gao, H. G., Zhuang, L., Lin, H. P. Yu, H. P., Li, J., Yao, X. S., Goodfellow, M. and Ruan, J. S. 2009. Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China. *Marine drugs*, 7: 1, 24-44.
- Huang, L. H. 1980. *Actinomadura macra* sp. nov., the Producer of Antibiotics CP-47, 433 and CP-47, 434. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30: 3, 565-568.
- Ibeyaima, A., Singh, A. K., Lal, R., Gupta, S., Goodfellow, M. and Sarethy, I. P. 2018. *Saccharothrix tharensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from the Thar Desert, India. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1-7.
- Işık, K., Chun, J., Hah, Y.C. and Goodfellow, M., 1999. *Nocardia uniformis* nom. rev. *International journal of systematic bacteriology*, 49, 1227-1230.
- Işık, K., Gençbay, T., Topkara, A. R., Sarıcaoğlu, S., Saygın, H., Ay, H., Çetin, D., Güven, K. and Şahin, N. 2018. *Amycolatopsis cappadoca* sp. nov., isolated from soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111: 7, 1175-1182.
- Iwasaki, A., Itoh, H. and Mori, T. 1979. A new broad-spectrum aminoglycoside antibiotic complex, sporaricin. *The Journal of antibiotics*, 32: 3, 180-186.
- Jackson, M. L. 1958. Organic matter determination for soils. *Soil chemical analysis*.
- Jackson, R. D., Reginato, R. J., Pinter, P. J. and Idso, S. B. 1979. Plant canopy information extraction from composite scene reflectance of row crops. *Applied Optics*, 18: 3775-3782.
- Jamjan, W., Suriyachadkun, C., Tanasupawat, S., Sakai, K., Tashiro, Y., Okugawa, Y. and Tongpim, S. 2018. *Amycolatopsis silviterrae* sp. nov., isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Jani, S. A., Chudasama, C. J., Patel, D. B., Bhatt, P. S. and Patel, H. N. 2012. Optimization of extracellular protease production from alkali thermo tolerant actinomycetes: *Saccharomonospora viridis* SJ-21. *Bull Environ Pharmacol Life Sci*, 1: 6, 84-92.

- Jiang, Y., Wei, X., Chen, X., Jiang, Y., Xue, Q., Lai, H. and Jiang, C. 2016. *Saccharopolyspora griseoalba* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the Dead Sea. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109: 12, 1635-1641.
- Jiao, J. Y., Liu, L., Zhou, E. M., Wei, D. Q., Ming, H., Xian, W. D., Yuan C.G., Zhong J.M. and Li, W. J. 2015. *Actinomadura amylolytica* sp. nov. and *Actinomadura cellulolytica* sp. nov., isolated from geothermally heated soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 108: 1, 75-83.
- Jin, L., Zhao, J., Jiang, S., Zhao, Y., Han, X., Guo, X., Wang, X. and Xiang, W. 2018. *Promicromonospora viridis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1-8.
- Jones, K.L., 1949. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelia is a fluctuating characteristic. *Journal of Bacteriology*, 57: 2, 141-145.
- Jose, P. A. and Jebakumar, S. R. D. 2014. Unexplored hypersaline habitats are sources of novel actinomycetes. *Frontiers in Microbiology*, 5, 242.
- Jukes, T. H. and Cantor, C. R. 1969. Evolution of protein molecules. *Mammalian protein metabolism*, 3: 21, 132.
- Juliano, R. L. and Stamp, D. 1978. Pharmacokinetics of liposome-encapsulated anti-tumor drugs: studies with vinblastine, actinomycin D, cytosine arabinoside, and daunomycin. *Biochemical pharmacology*, 27: 1, 21-27.
- Jurado, V., Boiron, P., Kroppenstedt, R.M., Laurent, F., Couble, A., Laiz, L., Klenk, H.P., Gonz  les, J.M., Saiz-Jimenez, C., Mouni  e, D., Bergeron, E. and Rodr  guez-Nava, V. 2008. *Nocardia altamirensis* sp. nov., isolated from Altamira cave, Cantabria, Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, 2210-2214.
- Kaewkla, O. and Franco, C.M. 2010. *Nocardia callitridis* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from a surface-sterilized root of an Australian native pine tree. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 1532-1536.
- Kageyama, A., Yazawa, K., Kudo, T., Taniguchi, H., Nishimura K. and Mikami, Y. 2004. First Isolates of *Nocardia abscessus* from Humans and Soil in Japan. *Japanese Journal of Medical Mycology*, 45, 17-21.
- Kaiser, K., Eusterhues, K., Rumpel, C., Guggenberger, G. and K  gel-Knabner, I. 2002. Stabilization of organic matter by soil minerals investigations of density and particle-size fractions from two acid forest soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165: 4, 451-459.
- Kamiya, K., Deushi, T., Iwasaki, A., Watanabe, I., Itoh, H. and Mori, T. 1983. A new aminoglycoside antibiotic, KA-5685. *The Journal of antibiotics*, 36: 6, 738-741.
- K  mpfer, P., Kroppenstedt, R. M. and Dott, W. 1991. A numerical classification of the genera *Streptomyces* and *Streptoverticillium* using miniaturized physiological tests. *Microbiology*, 137: 8, 1831-1891.
- K  mpfer P. and Kroppenstedt R. M. 1996. "Numerical analysis of fatty acid patterns of coryneform bacteria and related taxa". *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 989-1005.

- Kämpfer, P., Buczolits, S., Jackel, U., Grun-Wollny, I. and Busse, H. J. 2004. *Nocardia tenerifensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 381-383.
- Kämpfer, P. 2006. The family *Streptomycetaceae*- Part 1: taxonomy. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H and Stackebrandt E (eds) *The Prokaryotes*, vol. 3. pp. 538-604. New York: Springer
- Kämpfer, P., Huber, B., Buczolits, S., Thummes, K., Grun-Wollny, I. and Busse, H.-J. 2007. *Nocardia acidivorans* sp. nov., isolated from soil of the island of Stromboli. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 1183-1187.
- Keast, D., Rowe, P., Bowra, B., Sanfelieu, L., Stapley, E. O. and Woodruff, H. B. 1984. Studies on the ecology of West Australian actinomycetes: Factors which influence the diversity and types of actinomycetes in Australian soils. *Microbial ecology*, 10: 2, 123-136.
- Kim, S.B., Falconer, C., Williams, E. and Goodfellow, M. 1998. *Streptomyces thermocarboxydvorans* sp. nov. and *Streptomyces thermocarxydus* sp. nov., two moderately thermophilic carboxydotrophic species from soil. *International Journal of systematic Bacteriology*, 49, 1845-1851.
- Kim, S. B., Lonsdale, J., Seong, C.-N. and Goodfellow, M. 2003. *Streptacidiphilus* gen. nov., acidophilic actinomycetes with wall chemotype I and emendation of the family *Streptomycetaceae* (Waksman and Henrici (1943) AL) emend. Rainey et al. 1997. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 83: 2, 107-116.
- Kim, O.S., Cho, Y.-J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim, M., Na, H., Park, S.C., Jeon, Y.S., Lee, J.H. and Yi, H. 2012. "Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 716-721.
- Kirby, B. M., Le Roes, M. and Meyers, P. R. 2006. *Kribbella karoonsensis* sp. nov. and *Kribbella swartbergensis* sp. nov., isolated from soil from the Western Cape, South Africa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 5, 1097-1101.
- Kirby B.M. and Meyers P.R. 2010. *Micromonospora tulbaghia* sp. nov., isolated from the leaves of wild garlic, *Tulbaghia violacea*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 1328-1333.
- Kirby B. M., Everest G. J. and Meyers P. R., 2010. Phylogenetic analysis of the genus *Kribbella* based on the *gyrB* gene: proposal of a *gyrB*-sequence threshold for species delineation in the genus *Kribbella*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 97, 131-142.
- Konstantinidis K. T. and Tiedje J. M. 2007. Prokaryotic taxonomy and phylogeny in the genomic era: advancements and challenges ahead, *Current Opinion in Microbiology*, 10, 504- 509
- 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 A. Balows, H.G.

- Trüper, M. Dworkin, W. Harder. and K-H. Schleifer, 2nd edition, volume 1. Springer-Verlag, New York.
- Krajewska-Wędzina, M., Kosińska, M., Augustynowicz-Kopeć, E., Weiner, M. and Szulowski, K. 2018. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from cattle in Masovian Voivodeship in 2008-2012. *Medycyna Weterynaryjna*, 74: 2, 133-138.
- Krasil'nikov, N. A., Kalakutskii, L. V. and Kirillova, N. F. 1961. new genus of *Actinomycetales*, *Promicromonospora* gen. nov.
- Kroppenstedt, R. M. and Goodfellow, M. 2006. The family *Thermomonosporaceae*: *Actinocorallia*, *Actinomadura*, *Spirillospora* and *Thermomonospora*. In *The prokaryotes* (pp. 682-724). Springer, New York, NY.
- Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33: 7, 1870-1874.
- Küster, E. 1970. Note on the taxonomy and ecology of *Streptomyces malachiticus* and related species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 20: 1, 25-29.
- Küster, E. 1976. Chromogenicity of actinomycetes. *Actinomycetes: the boundary microorganisms*, 43-45.
- Küster, E. and Williams, S. T. 1964. "Selection of media for isolation of streptomycetes". *Nature*, 202, 928-929.
- Labeda, D. P., Testa, R. T., Lechevalier, M. P. and Lechevalier, H. A. 1984. *Saccharothrix*: a new genus of the Actinomycetales related to *Nocardiosis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34: 4, 426-431.
- Labeda, D. P. 2012. Family I Pseudonocardiaceae Embley, Smida and Stackebrandt 1989.205 VP emend. Labeda, Goodfellow, Chun, Zhi and Li 2010a. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology New York Springer*, 1302-1445.
- Lacey, J. and Goodfellow, M. 1975. A novel actinomycete from sugar-cane bagasse: *Saccharopolyspora hirsuta* gen. et sp. nov. *Microbiology*, 88: 1, 75-85.
- Lacey, J. 1989. Genus *Saccharopolyspora* Lacey and Goodfellow 1975, 77AL. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 4, 2382-2386.
- Lahoum, A., Aouiche, A., Bouras, N., Verheecke, C., Klenk, H. P., Sabaou, N. and Mathieu, F. 2016. Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomadura* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms. *Journal de mycologie medicale*, 26: 3, 193-200.
- Lane, D. J. 1991. 16S/23S rRNA Sequencing. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. Editör: Stackebrandt, E. and Goodfellow, M. New York: John Wiley and Sons.
- Lamm, A. S., Khare, A., Conville, P., Lau, P. C., Bergeron, H. and Rosazza, J. P. 2009. *Nocardia iowensis* sp. nov., an organism rich in biocatalytically important enzymes and nitric oxide synthase. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 10, 2408-2414.

- Law, J. W. F., Ser, H. L., Duangjai, A., Saokaew, S., Bukhari, S. I., Khan, T. M., Mutalib, S. A., Chan, K. G., Goh, B. H. and Lee, L. H. 2017. *Streptomyces colonosanans* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from Malaysia mangrove soil exhibiting antioxidative activity and cytotoxic potential against human colon cancer cell lines. *Frontiers in microbiology*, 8, 877.
- Lawson, P. A. 2018. The Phylum Actinobacteria. In *The Bifidobacteria and Related Organisms* (pp. 1-8).
- Lechevalier, M. P. and Lechevalier, H. 1970. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 20: 4, 435-443.
- Lechevalier, M. P., De Bievre, C. and Lechevalier, H. 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5: 4, 249-260.
- 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 and Evolutionary Microbiology*, 36: 1, 29-37.
- Le Roes-Hill, M., and Prins, A. (2016). Biotechnological potential of oxidative enzymes from Actinobacteria. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. InTech.
- Lee, S. D. 2006. *Amycolatopsis jejuensis* sp. nov. and *Amycolatopsis halotolerans* sp. nov., novel actinomycetes isolated from a natural cave. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 3, 549-553.
- Lee, L. H., Zainal, N., Azman, A. S., Eng, S. K., Goh, B. H., Yin, W. F., Mutalib, S. A. and Chan, K. G. 2014. Diversity and antimicrobial activities of actinobacteria isolated from tropical mangrove sediments in Malaysia. *The Scientific World Journal*, 5: 1-14.
- Lee, J., Romero, R., Kim, S. M., Chaemsaitong, P., Park, C. W., Park, J. S., Jun, J. K. and Yoon, B. H. 2016. A new anti-microbial combination prolongs the latency period, reduces acute histologic chorioamnionitis as well as funisitis, and improves neonatal outcomes in preterm PROM. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 29: 5, 707-720.
- Li, W. J., Jiang, Y., Kroppenstedt, R. M., Xu, L. H. and Jiang, C. L. 2004. *Nocardia alba* sp. nov., a novel actinomycete strain isolated from soil in China. *Systematic and applied microbiology*, 27: 3, 308-312.
- Li, W. J., Wang, D., Zhang, Y. Q., Xu, L. H. and Jiang, C. L. 2006. *Kribbella yunnanensis* sp. nov., *Kribbella alba* sp. nov., two novel species of genus *Kribbella* isolated from soils in Yunnan, China. *Systematic and applied microbiology*, 29: 1, 29-35.
- Li, Y. Q., Liu, L., Cheng, C., Shi, X. H., Lu, C. Y., Dong, Z. Y., Salam N., An D.D. and Li, W. J. 2015. *Saccharothrix lopnurensis* sp. nov., a filamentous actinomycete isolated from sediment of Lop Nur. *Antonie van Leeuwenhoek*, 108: 4, 975-981.

- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y. and Jiang, C. 2016. Morphological identification of actinobacteria. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. InTech.
- Li, S., Ming, H., Duan, Y. Y., Huang, J. R., Zhao, Z. L., Zhang, L. Y., Ji, W. L., Meng, X. L., Li, W. J. and Nie, G. X. 2017. *Nocardia tengchongensis* sp. nov., isolated from a soil sample. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110: 9, 1149-1155.
- Lin, Y. B., Guo, Y. Q., Di, X. H., Fan, M. C., Dong, D. H. and Wei, G. H. 2016. *Saccharothrix stipae* sp. nov., an actinomycete isolated from the rhizosphere of *Stipa grandis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66: 2, 1017-1021.
- Liu, C. and Shao, Z. 2005. *Alcanivorax dieselolei* sp. nov., a novel alkane-degrading bacterium isolated from sea water and deep-sea sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 3, 1181-1186.
- Lloyd, A. B. 1969. Behaviour of *Streptomyces* in soil. *Microbiology*, 56: 2, 165-170.
- Lodders, N. and Kämpfer, P. 2007. *Streptomycetaceae*: Phylogeny, Ecology and Pathogenicity. *Encyclopedia of Life Science*.
- Lu, Z., Liu, Z., Wang, L., Zhang, Y., Qi, W. and Goodfellow, M. 2001. *Saccharopolyspora flava* sp. nov. and *Saccharopolyspora thermophila* sp. nov., novel actinomycetes from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 2, 319-325.
- Lu, Z., Wang, L., Zhang, Y., Shi, Y., Liu, Z., Quintana, E. T. and Goodfellow, M. 2003. *Actinomadura catellatispora* sp. nov. and *Actinomadura glauciflava* sp. nov., from a sewage ditch and soil in southern China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 1, 137-142.
- Lu, C., Zhao, Y., Jia, W. Q., Zhang, H., Qi, H., Xiang, W. S., Wang, J. D. and Wang, X. J. 2017. A new anthracycline-type metabolite from *Streptomyces* sp. NEAU-L3. *The Journal of antibiotics*, 70: 10, 1026.
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E. and Kämpfer, P. 2012. "Road map of the phylum Actinobacteria," in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edn.*, eds M. Goodfellow, P. Kämpfer, H.-J. Busse, M.E. Trujillo, K.-I. Suzuki, W. Ludwig, and W. B. Whitman (New York, NY: Springer), 1-28.
- Luepke, K. H., Suda, K. J., Boucher, H., Russo, R. L., Bonney, M. W., Hunt, T. D. and Mohr III, J. F. 2017. Past, present, and future of antibacterial economics: increasing bacterial resistance, limited antibiotic pipeline, and societal implications. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 37: 1, 71-84.
- Lv, L. L., Zhang, Y. F., Xia, Z. F., Zhang, J. J. and Zhang, L. L. 2014. *Saccharopolyspora halotolerans* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a hypersaline lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64: 10, 3532-3537.
- Maiden, M. C. 2006. Multilocus sequence typing of bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 60, 561-588.

- Manfio, G. P. 1995. Towards minimal standards for the description of *Streptomyces* species. *Biotechnologia*, 8, 228-237.
- Margalith, P. and Beretta, G. 1960. Rifomycin. XI. taxonomic study on *Streptomyces mediterranei* nov. sp. *Mycopathologia et mycologia applicata*, 13: 4, 321-330.
- Mao, Y., Varoglu, M. and Sherman, D. H. 1999. Molecular characterization and analysis of the biosynthetic gene cluster for the antitumor antibiotic mitomycin C from *Streptomyces lavendulae* NRRL 2564. *Chemistry & biology*, 6: 4, 251-263.
- Mao, J., Wang, J., Dai, H. Q., Zhang, Z. D., Tang, Q. Y., Ren, B., Yang N., Goodfellow, M., Zhang L.X. and Liu, Z. H. 2011. *Yuhushiella deserti* gen. nov., sp. nov., a new member of the suborder *Pseudonocardineae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 3, 621-630.
- Margalith, P. and Beretta, G. 1960. Rifomycin. XI. taxonomic study on *Streptomyces mediterranei* nov. sp. *Mycopathologia et mycologia applicata*, 13: 4, 321-330.
- Martin, J. R. and Rosenbrook, W. 1967. Studies on the biosynthesis of the erythromycins. II. Isolation and structure of a biosynthetic intermediate, 6-deoxyerythronolide B. *Biochemistry*, 6: 2, 435-440.
- Martin, K., Schäfer, J. and Kämpfer, P. 2010. *Promicromonospora umidemergens* sp. nov., isolated from moisture from indoor wall material. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 3, 537-541.
- Matsumoto, A. and Takahashi, Y. 2017. Endophytic actinomycetes: promising source of novel bioactive compounds. *The Journal of Antibiotics*, 70: 5, 514.
- Mayfield, C. I., Williams, S. T., Ruddick, S. M. and Hatfield, H. L. 1972. Studies on the ecology of actinomycetes in soil IV. Observations on the form and growth of *streptomycetes* in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 4: 1, 79-91.
- McCarthy, A. J. and Cross, T. 1984. A taxonomic study of *Thermomonospora* and other monosporic actinomycetes. *Microbiology*, 130: 1, 5-25.
- McTaggart, L. R., Richardson, S. E., Witkowska, M. and Zhang, S. X. 2010. Phylogeny and identification of *Nocardia* species on the basis of multilocus sequence analysis. *Journal of clinical microbiology*, 48: 12, 4525-4533.
- Mendez, M. O., Neilson, J. W. and Maier, R. M. 2008. Characterization of a bacterial community in an abandoned semiarid lead-zinc mine tailing site. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 12, 3899-3907.
- Metzker, M. L. 2010. Sequencing Technologies-the next generation. *Nature reviews genetics*, 11: 1, 31.
- Minnikin, D. E., O'donnell, A. G., Goodfellow, M., Alderson, G., Athalye, M., Schaal, A. and Parlett, J. H. 1984. An integrated procedure for the extraction of bacterial isoprenoid quinones and polar lipids. *Journal of Microbiological Methods*, 2: 5, 233-241.
- Mohammadipanah, F., Hamed, J., Schumann, P., Spröer, C., del Carmen Montero-Calasanz, M. and Klenk, H. P. 2015. *Saccharothrix ecbatanensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65: 12, 4544-4549.

- Mohammadipanah, F. and Dehghani, M. 2017. Classification and Taxonomy of Actinobacteria. In *Biology and Biotechnology of Actinobacteria* (pp. 51-77). Springer, Cham.
- Moreira, K. A., Albuquerque, B. F., Teixeira, M. F. S., Porto, A. L. F. and Lima Filho, J. L. 2002. Application of protease from *Nocardiopsis* sp. as a laundry detergent additive. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18: 4, 309.
- Moreira, K. A., Porto, T. S., Teixeira, M. F. S., Porto, A. L. F. and Lima Filho, J. L. 2003. New alkaline protease from *Nocardiopsis* sp.: partial purification and characterization. *Process Biochemistry*, 39: 1, 67-72.
- Morita, T. N. and Woodburn, M. J. 1978. Homogeneous enzyme immune assay for staphylococcal enterotoxin B. *Infection and immunity*, 21: 2, 666.
- Nakaew, N., Sungthong, R., Yokota, A. and Lumyong, S. 2012. *Nonomuraea monospora* sp. nov., an actinomycete isolated from cave soil in Thailand, and emended description of the genus *Nonomuraea*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62: 12, 3007-3012.
- Nash, P. and Krenz, M. M. 1991. Culture media, p. 1226-1288. In A. Balows, W. J. Hausler, Jr., K. L. Hermann, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Nesterenko, O. A., Nogina, T. M., Kasumova, S. A., Kvasnikov, E. I. and Batrakov, S. G. 1982. *Rhodococcus luteus* nom. nov. and *Rhodococcus maris* nom. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 32: 1, 1-14.
- Nobili, S., Lippi, D., Witort, E., Donnini, M., Bausi, L., Mini, E. and Capaccioli, S. 2009. Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharmacological research*, 59: 6, 365-378.
- Nonomura, H. and Ohara, Y. 1971. Distribution of actinomycetes in soil. XI. Some new species of. *Journal of Fermentation Technology*, 49, 904-912.
- Nouioui, I., Ghodhbane-Gtari, F., Rohde, M., Klenk, H. P. and Gtari, M. 2017. *Frankia coriariae* sp. nov., an infective and effective microsymbiont isolated from *Coriaria japonica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67: 5, 1266-1270.
- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J., Woyke, T., Kyrpides, N., Pukall, R., Klenk, H.P. and Göker, M. 2018. Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria. *Frontiers in microbiology*, 9, 2007.
- Nováková, M., Heneberg, P., Heylen, D. J., Medvecký, M., Muñoz-Leal, S., Šmajš, D. and Literák, I. 2018. Isolated populations of *Ixodes lividus* ticks in the Czech Republic and Belgium host genetically homogeneous *Rickettsia vini*. *Ticks and tick-borne diseases*, 9: 3, 479-484.
- Orchard, V.A. 1981. The ecology of *Nocardia* and related taxa. *Zentralbl Bakteriell Supp.*, 11:167-180.

- Ozdemir-Kocak, F., Isik, K., Veyisoglu, A., Tatar, D. and Sahin, N. 2014. *Nonomuraea muscovyensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64: 7, 2467-2472.
- Ozdemir-Kocak, F., Saygin, H., Saricaoglu, S., Cetin, D., Pötter, G., Spröer, C., Guven, K., Isik, K., Klenk, H. P. and Sahin, N. 2016. *Nocardia zapadnayensis* sp. nov., isolated from soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109: 1, 95-103.
- Pacey, M. S., Dirlam, J. P., Geldart, R. W., Leadlay, P. F., McArthur, H. A., McCormick, E. L., Monday, R. A., O'Connell, T. N., Staunton, J. and Winchester, T. J. 1998. Novel Erythromycins from a Recombinant *Saccharopolyspora erythraea* Strain NRRL 2338 pIG1. *The Journal of antibiotics*, 51: 11, 1029-1034.
- Pareek, C. S., Smoczynski, R. and Tretyn, A. 2011. Sequencing technologies and genome sequencing. *Journal of applied genetics*, 52: 4, 413-435.
- Park, Y.H., Yoon, J.H., Shin, Y.K., Suzuki, K., Kudo, T., Seino, A., Kim, H.J., Lee, J. S. and Lee, S.T. 1999. Classification of '*Nocardioides fulvus*' IFO 14399 and *Nocardioides* sp. ATCC 39419 in *Kribbella* gen. nov., as *Kribbella flavida* sp. nov. and *Kribbella sandramycini* sp. nov. *International journal of systematic bacteriology*, 49, 743-752.
- Phongsopitanun, W., Tanasupawat, S., Suwanborirux, K., Ohkuma, M. and Kudo, T. 2015. *Actinomadura rayongensis* sp. nov., isolated from peat swamp forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65: 3, 890-895.
- Prakash, O., Verma, M., Sharma, P., Kumar, M., Kumari, K., Singh, A., Kumari, H. Jit, S., Gupta, S. K., Khanna, M. and Lal, R. 2007. Polyphasic approach of bacterial classification an overview of recent advances. *Indian journal of microbiology*, 47: 2, 98-108.
- Pridham, T. G., Anderson, P., Foley, C., Lindenfesler, L. A., Hesseltine, C. W. and Benedict, R. G. 1957. "Selection of Media for Maintenance and Taxonomic Study of *Streptomyces*". *Antibiot. Ann.*, 1, 947-953.
- Pridham, T. G., Hesseltine, C. W. and Benedict, R. G. 1958. A guide for the classification of *Streptomyces* according to selected groups. Placement of strains in morphological sections. *Applied microbiology*, 6: 1, 52.
- Priest, F. G. and Williams, S. T. 1993. Computer-assisted identification. *Handbook of new bacterial systematics*, 361-381.
- Promnuan, Y., Kudo, T., Ohkuma, M. and Chantawannakul, P. 2011. *Actinomadura apis* sp. nov., isolated from a honey bee (*Apis mellifera*) hive, and the reclassification of *Actinomadura crenea* subsp. *rifamycini* Gauze et al. 1987 as *Actinomadura rifamycini* (Gauze et al. 1987) sp. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 9, 2271-2277.
- Qin, S., Zhao, G. Z., Li, J., Zhu, W. Y., Xu, L. H. and Li, W. J. 2009. *Actinomadura flavalba* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from leaves of *Maytenus austroyunnanensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 10, 2453-2457.
- Qin, S., Jiang, J.-H., Klenk, H.-P., Zhu, W.-Y., Zhao, G.-Z., Zhao, L.-X., Tang, S. K., Xu, L. H. and Li, W.-J. 2012. *Promicromonospora xylanilytica* sp. nov., an

- endophytic actinomycete isolated from surface-sterilized leaves of the medicinal plant *Maytenus austroyunnanensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62: 1, 84-89.
- Quintana, E., Maldonado, L. and Goodfellow, M. 2003. *Nonomuraea terrinata* sp. nov., a novel soil actinomycete. *Antonie van Leeuwenhoek*, 84: 1, 1-6.
- Rachniyom, H., Matsumoto, A., Indananda, C., Duangmal, K., Takahashi, Y. and Thamchaipenet, A. 2015. *Nonomuraea syzygii* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the roots of a jambolan plum tree (*Syzygium cumini* L. Skeels). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65: 4, 1234-1240.
- Rachniyom, H., Matsumoto, A., Indananda, C., Duangmal, K., Takahashi, Y. and Thamchaipenet, A. 2015. *Actinomadura syzygii* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the roots of a jambolan plum tree (*Syzygium cumini* L. Skeels). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65: 6, 1946-1949.
- Rapp, M. 1974. "Indikatorzusätze zur Keimdifferenzierung auf Würze-und Malzextrakt-Agar". *Milchwiss*, 29, 341-344.
- Reed, J. F. and Cummings, R. W. 1945. "Soil-reaction-glass electrode and colorimetric methods for determining pH values of soil". *Soil Sciences*, 59, 97-104.
- Richert, K., Brambilla, E. and Stackebrandt, E. 2005. Development of PZR primers specific for the amplification and direct sequencing of *gyrB* genes from microbacteria, order Actinomycetales. *Journal of Microbiological Methods*, 60, 115-123.
- Richert, K., Brambilla, E. and Stackebrandt, E. 2007. The phylogenetic significance of peptidoglycan types: molecular analysis of the genera *Microbacterium* and *Aureobacterium* based upon sequence comparison of *gyrB*, *rpoB*, *recA* and *ppk* and 16S rRNA genes. *Systematic and Applied Microbiology*, 30, 102-108.
- Riesenfeld, C. S., Schloss, P. D. and Handelsman, J. 2004. Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annual Review of Genetics*, 38, 525-552.
- Rong X., Huang Y., 2010. Taxonomic evaluation of the *Streptomyces griseus* clade using multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, with proposal to combine 29 species and three subspecies as 11 genomic species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 696–703.
- Rong X. Y., Huang Y. 2012. Taxonomic evaluation of the *Streptomyces hygroscopicus* clade using multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, validating the MLSA scheme for systematics of the whole genus. *Systematic and Applied Microbiology*, 35, 7–18.
- Rodriguez-Nava, V., Couble, A., Molinard, C., Sandoval, H., Boiron, P. and Laurent, F. 2004. *Nocardia mexicana* sp. nov., a new pathogen isolated from human mycetomas. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 4530-4535.
- Saini, A., Aggarwal, N. K., Sharma, A. and Yadav, A. 2015. Actinomycetes: a source of lignocellulolytic enzymes. *Enzyme research*, 2015.

- Saintpierre-Bonaccio, D., Maldonado, L. A., Amir, H., Pineau, R. and Goodfellow, M. 2004. *Nocardia neocaledoniensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a New-Caledonian brown hypermagnesian ultramafic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 2, 599-603.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. "The neighbour-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees", *Molecular and Biological Evolution*, 4, 406- 425.
- Saricaoglu, S., Isik, K., Veyisoglu, A., Saygin, H., Cetin, D., Guven, K., Spröer, C., Klenk, H. P. and Sahin, N. 2014. *Streptomyces burgazadensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64: 12, 4043-4048.
- Saricaoglu, S., Nouioui, I., Ay, H., Saygin, H., Bektas, K. I., Guven, K., Çetin, D., Klenk, H. P., Isik, K. and Sahin, N. 2018. *Nonomuraea insulae* sp. nov., isolated from forest soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1-9.
- Savi, D. C., Aluizio, R., Galli-Terasawa, L., Kava, V. and Glienke, C. 2016. 16S-*gyrB-rpoB* multilocus sequence analysis for species identification in the genus *Microbispora*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109: 6, 801-815.
- Saygin, H., Ay, H., Guven, K., Cetin, D. and Sahin, N. 2019. *Desertiactinospora gelatinilytica* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Streptosporangiaceae* isolated from the Karakum Desert. *Antonie van Leeuwenhoek*, 112: 3, 409-423.
- Schaal, K. P. and Bickenbach, H. 1978. Soil occurrence of pathogenic nocardiae. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene*.
- Schleifer, K. H. and Kandler, O. 1972. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriological reviews*, 36: 4, 407.
- Schleifer, K. H. 2009. Classification of Bacteria and Archaea: past, present and future. *Systematic and applied microbiology*, 32: 8, 533-542.
- Schofield, G. M. and Schaal, K. P. 1981. A numerical taxonomic study of members of the *Actinomycetaceae* and related taxa. *Microbiology*, 127: 2, 237-259.
- Schumann, P. and Stackebrandt, E. 2014. The Family *Promicromonosporaceae* *The Prokaryotes* (pp. 701-724): Springer.
- Sembiring, L. 2000. *Selective isolation and characterisation of streptomycetes associated with the rhizosphere of the tropical legume, Paraserianthes falcataria (L) Nielsen* (Doctoral dissertation, University of Newcastle upon Tyne).
- Sensi, P., Margalith, P. and Timbal, M. T. 1959. Rifomycin, a new antibiotic; preliminary report. *Il Farmaco; edizione scientifica*, 14: 2, 146.
- Sentausa, E., and Fournier, P. E. 2013. Advantages and limitations of genomics in prokaryotic taxonomy. *Clinical Microbiology and Infection*, 19: 9, 790-795.
- Seo, J.P. and Lee, S.D. 2006. *Nocardia harenae* sp. nov., an actinomycete isolated from beach sand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 2203-2207.

- Seo, J. P., Yun, Y. W. and Lee, S. D. 2007. *Nocardia speluncae* sp. nov., isolated from a cave. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 2932-2935.
- Shirling, E. T. and Gottlieb, D. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic bacteriology*, 16: 3, 313-340.
- Shivlata, L. and Tulasi, S. 2015. Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. *Frontiers in microbiology*, 6, 1014.
- Singh, M. P., Petersen, P. J., Weiss, W. J., Kong, F. and Greenstein, M. 2000. Saccharomicins, novel heptadecaglycoside antibiotics produced by *Saccharothrix espanaensis*: antibacterial and mechanistic activities. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44: 8, 2154-2159.
- Sivakumar, K. 2008. Actinomycetes. In Centre of Advanced Study in Marine Biology Annamalai University.
- Sneath, P. H. and Sokal, R. R. 1973. *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification*.
- Sneath, P. H. A. 1992. *International code of nomenclature of bacteria (1990 revision)*. American Society for Microbiology.
- Sohn, K., Hong, S. G., Bae, K. S. and Chun, J. 2003. Transfer of *Hongia koreensis* Lee et al. 2000 to the genus *Kribbella* Park et al. 1999 as *Kribbella koreensis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 4, 1005-1007.
- Solanki, R., Khanna, M. and Lal, R., 2008. Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Indian Journal of Microbiology*, 48:410-431.
- Song, J., Kim, B. Y., Hong, S. B., Cho, H. S., Sohn, K., Chun, J. and Suh, J. W. 2004. *Kribbella solani* sp. nov. and *Kribbella jejuensis* sp. nov., isolated from potato tuber and soil in Jeju, Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 4, 1345-1348.
- Songsumanus, A., Kudo, T., Ohkuma, M., Phongsopitanun, W. and Tanasupawat, S. 2016. *Actinomadura montaniterrae* sp. nov., isolated from mountain soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66: 9, 3310-3316.
- Sripreechasak, P., Tanasupawat, S., Suwanborirux, K., Inahashi, Y., Matsumoto, A., Shiomi, K. and Takahashi, Y. 2013. *Nonomuraea thailandensis* sp. nov. isolated from Thai soil. *The Journal of antibiotics*, 66: 2, 79.
- Stackebrandt, E., Rainey, F. A. and Ward-Rainey, N. L. 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47: 2, 479-491.
- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G. M., Grimont, P. A. D., Kämpfer, P., Maiden, M. C. J., Nesme, X., Rosselló-Mora, R. and Swings, J. 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 1043-1047.
- Stackebrandt, E. and Ebers, J. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards, *Microbiol Today*, 33, 152-155.

- Staneck, J. L. and Roberts, G. D. 1974. Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Applied Microbiology*, 28, 122-131.
- Sternberg, M. 1976. Purification of industrial enzymes with polyacrylic acids. *Process Biochemistry*.
- Sun, W., Zhang, Y. Q., Huang, Y., Zhang, Y. Q., Yang, Z. Y. and Liu, Z. H. 2009. *Nocardia jinanensis* sp. nov., an amicoumacin B-producing actinomycete. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 417-420.
- Sun, J. Q., Xu, L., Guo, Y., Li, W. L., Shao, Z. Q., Yang, Y. L. and Wu, X. L. 2017. *Kribbella deserti* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of *Ammopiptanthus mongolicus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67: 3, 692-696.
- Sun, M., Ou, J., Li, W. and Lu, C. 2017. Quinoline and naphthalene derivatives from *Saccharopolyspora* sp. YIM M13568. *The Journal of antibiotics*, 70: 3, 320.
- Suzuki, K. and Komagata, K. 1983. *Pimelobacter* gen. nov., a new genus of coryneform bacteria with LL-diaminopimelic acid in the cell wall. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 29, 59-71.
- Tan, G. Y., Ward, A. C. and Goodfellow, M. 2006. Exploration of *Amycolatopsis* diversity in soil using genus-specific primers and novel selective media. *Syst Appl Microbiol*, 29(7), 557-569. doi:10.1016/j.syapm.2006.01.007
- Tan, G. Y. A. and Goodfellow, M. 2012. Genus IV. *Amycolatopsis* (Lechevalier, Prauser, Labeda and Ruan 1986) Lee 2009, 1403VI. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 5, 1334-1358.
- Tang, S. K., Wang, Y., Cai, M., Zhi, X. Y., Lou, K., Xu, L. H., Jiang, C. L. and Li, W. J. 2009. *Saccharopolyspora halophila* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a saline lake in China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 3, 555-558.
- Tang, S. K., Zhi, X. Y., Wang, Y., Shi, R., Lou, K., Xu, L. H. and Li, W. J. 2011. *Haloactinopolyspora alba* gen. nov., sp. nov., a halophilic filamentous actinomycete isolated from a salt lake, with proposal of *Jiangellaceae* fam. nov. and *Jiangellineae* subord. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 1, 194-200.
- Tang, B., Xie, F., Zhao, W., Wang, J., Dai, S., Zheng, H., Xiaoming D., Cen X., Liu H., Yu Y., Zhou H., Zhou H., Zhang L., Goodfellow M. and Zhao G.P. 2016. A systematic study of the whole genome sequence of *Amycolatopsis methanolica* strain 239T provides an insight into its physiological and taxonomic properties which correlate with its position in the genus. *Synthetic and systems biotechnology*, 1: 3, 169-186.
- Tamura, K. and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular biology and evolution*, 10: 3, 512-526.
- Tatar, D. and Sahin, N. 2015. *Streptomyces seymenliensis* sp. nov., isolated from soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107: 2, 411-418.

- Thawai, C., Rungjindamai, N., Klanbut, K. and Tanasupawat, S. 2017. *Nocardia xestospongiae* sp. nov., isolated from a marine sponge in the Andaman Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67: 5, 1451-1456.
- Thawai, C. 2018. *Amycolatopsis rhizosphaerae* sp. nov., isolated from rice rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22: 22, 4673-4680.
- Thumar, J. T. and Singh, S. P. 2009. Organic solvent tolerance of an alkaline protease from salt-tolerant alkaliphilic *Streptomyces clavuligerus* strain Mit-1. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 36: 2, 211.
- Tindall, J., Rosselló-Móra, R., Busse, H.J., Ludwig, W. and Kämpfer, P. 2010. Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 249-266.
- Tiwari, K. and Gupta, R. K. 2012. Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. *Critical reviews in biotechnology*, 32: 2, 108-132.
- Tseng, M., Yang, S. F., Hoang, K. C., Liao, H. C., Yuan, G. F., and Liao, C. C. 2009. *Actinomadura miaoliensis* sp. nov., a thermotolerant polyester-degrading actinomycete. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 3, 517-520.
- Trevisan, V. B. 1889. *I Generi e le Specie delle Batteriacee*. L. Zanaboni e Gabuzzi.
- Trujillo, M. E. and Goodfellow, M. 1997. Polyphasic taxonomic study of clinically significant actinomadurae including the description of *Actinomadura latina* sp. nov. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 285: 2, 212-233.
- Trujillo, M. E. and Goodfellow, M. 2003. Numerical phenetic classification of clinically significant aerobic sporoactinomycetes and related organisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 84: 1, 39-68.
- Trujillo, M. E., Kroppenstedt, R. M., Schumann, P. and Martínez-Molina, E. 2006. *Kribbella lupini* sp. nov., isolated from the roots of *Lupinus angustifolius*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 2, 407-411.
- Trujillo, M. 2012. Genus III. *Actinomadura* Lechevalier and Lechevalier 1970, 400AL emend. Kroppenstedt, Stackebrandt and Goodfellow 1990, 156. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology The Actinobacteria*, 5, 1940-1959.
- URL-1: <http://www.bacterio.net/actinomadura.html> Ocak-2019
- URL-2 <http://www.bacterio.net/actinopolymorpha.html> Ocak-2019
- URL-3 <http://www.bacterio.net/micromonospora.html> Ocak-2019
- URL-4 <http://www.bacterio.net/nocardia.html> Ocak-2019

- URL-5: <http://www.bacterio.net/nonomuraea.html> Ocak-2019
- URL-6: <http://www.bacterio.net/plantactinospora.html> Ocak-2019
- URL-7: <http://www.bacterio.net/rhodococcus.html> Ocak-2019
- URL-8: <http://www.bacterio.net/saccharopolyspora.html> Ocak-2019
- URL-9: <http://www.bacterio.net/streptomyces.html> Ocak-2019
- URL-10: <http://www.bacterio.net/verrucosispora.html> Ocak-2019
- URL-13: <http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>
- Urzi, C., De Leo, F., and Schumann, P. 2008. *Kribbella catacumbae* sp. nov. and *Kribbella sancticallisti* sp. nov., isolated from whitish-grey patinas in the catacombs of St Callistus in Rome, Italy. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58: 9, 2090-2097.
- Xi, L., Zhang, L., Ruan, J. and Huang, Y. 2011. *Nonomuraea maritima* sp. nov., isolated from coastal sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 11, 2740-2744.
- Xu, P., Li, W-J., Tang, S-K., Jiang, Y., Chen, H-H., Xu, L-H. and Jiang, C-L. 2005. *Nocardia polyresistens* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 1465-1470.
- Xu, Z., Xu, Q., Zheng, Z. and Huang, Y. 2012. *Kribbella amoyensis* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of a pharmaceutical plant, *Typhonium giganteum* Engl. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62: 5, 1081-1085.
- Viale, A. M., Arakaki, A. K., Soncini, F. C. and Ferreyra, R. G. 1994. Evolutionary relationships among eubacterial groups as inferred from GroEL (chaperonin) sequence comparisons. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44: 3, 527-533.
- Vicker, M. G., Schill, W. and Drescher, K. 1984. Chemoattraction and chemotaxis in *Dictyostelium discoideum*: myxamoeba cannot read spatial gradients of cyclic adenosine monophosphate. *The Journal of cell biology*, 98: 6, 2204-2214.
- Walsh, D. A., Baptiste, E., Kamekura, M. and Doolittle, W. F. 2004. Evolution of the RNA polymerase B' subunit gene (*rpoB'*) in *Halobacteriales*: a complementary molecular marker to the SSU rRNA gene. *Molecular biology and evolution*, 21: 12, 2340-2351.
- Wang, L., Zhang, Y., Lu, Z., Shi, Y., Liu, Z., Maldonado, L. and Goodfellow, M. 2001. *Nocardia beijingensis* sp. nov., a novel isolate from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 1783-1788.
- Wang, L., Yun, B. S., George, N. P., Wendt-Pienkowski, E., Galm, U., Oh, T. J., Coughlin, J. M., Zhang, G., Tao, M. and Shen, B. 2007. Glycopeptide antitumor antibiotic zorbamycin from *Streptomyces flavoviridis* ATCC 21892: strain improvement and structure elucidation. *Journal of natural products*, 70: 3, 402-406.
- Wang, Y. X., Zhi, X. Y., Chen, H. H., Zhang, Y. Q., Tang, S. K., Jiang, C. L., Xu, L. H. and Li, W. J. 2007. *Actinomadura alba* sp. nov., isolated from soil in

- Yunnan, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57: 8, 1735-1739.
- Wang, F., Xu, X. X., Qu, Z., Wang, C., Lin, H. P., Xie, Q. Y., Ruan, J. S., Sun, M. and Hong, K. 2011. *Nonomuraea wenchangensis* sp. nov., isolated from mangrove rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 6, 1304-1308.
- Wang, X., Zhao, J., Liu, C., Wang, J., Shen, Y., Jia, F., Wang, L., Zhang, J., Yu, C. and Xiang, W. 2013. *Nonomuraea solani* sp. nov., an actinomycete isolated from eggplant root (*Solanum melongena* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63: 7, 2418-2423.
- Wang, W., Qiu, Z., Tan, H. and Cao, L. 2014. Siderophore production by actinobacteria. *Biometals*, 27: 4, 623-631.
- Waksman, S. A. and Henrici, A. T. 1943. The nomenclature and classification of the actinomycetes. *Journal of bacteriology*, 46: 4, 337.
- Waskman, S. A. 1950. The actinomycetes. Ann. Cryptogamici et Phytopathologici. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., 9, 196.
- Wayne, L. G. and Hayes, L. G. 1996. An in vitro model for sequential study of shift down of *Mycobacterium tuberculosis* through two stages of nonreplicating persistence. *Infection and immunity*, 64: 6, 2062-2069.
- Weyland, H. 1969. Actinomycetes in North Sea and Atlantic ocean sediments. *Nature*, 223: 5208, 858-858.
- Whaley, H. A., Chidester, C. G., Mizesak, S. A. and Wnuk, R. J. 1980. Nodusmicin: The structure of a new antibiotic. *Tetrahedron Letters*, 21: 38, 3659-3662.
- Whitham, T. S., Athalye, M., Minnikin, D. E. and Goodfellow, M. 1993. Numerical and chemical classification of *Streptoporangium* and some related actinomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 64: 34, 387-429.
- Williams, S.T. and Wellington, E.M.H. 1982. Actinomycetes. In: A.L. Page (Editor), *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, 2nd edn. American Society of Agronomy Inc., Madison, Wisconsin, 969-987.
- 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.
- Williams, S.T., Goodfellow, M. and Alderson, G. 1989. Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339AL. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, vol. 4, pp. 2453±2492. Edited by S. T. Williams, M. E. Sharpe and J. G. Holt. Baltimore: Williams & Willkins.
- Wink, J., Kroppenstedt, R. M., Seibert, G. and Stackebrandt, E. 2003. *Actinomadura namibiensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 3, 721-724.
- Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiological reviews*, 51(2), 221.
- Wu, H., Liu, B. and Pan, S. 2016. *Saccharopolyspora subtropica* sp. nov., a thermophilic actinomycete isolated from soil of a sugar cane field. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66: 5, 1990-1995.

- Wyche, T. P., Hou, Y., Vazquez-Rivera, E., Braun, D. and Bugni, T. S. 2012. Peptidolipins B-F, Antibacterial Lipopeptides from an Ascidian-Derived *Nocardia* sp. *Journal of natural products*, 75: 4, 735-740.
- Yadav, A. K., Manna, S., Pandiyan, K., Singh, A., Kumar, M., Chakdar, Kashyap H. P. L. and Srivastava, A. K. 2016. Isolation and characterization of biosurfactant producing *Bacillus* sp. from diesel fuel-contaminated site. *Microbiology*, 85: 1, 56-62.
- Yamamura, H., Hayakawa, M. and Limura, Y. 2003. "Application of Sucrose-Gradient Centrifugation for Selective Isolation of *Nocardia* sp. from Soil". *Journal of Applied Microbiology*, 95, 677-685.
- Yamamura, H., Hayakawa, M., Nakagawa, Y., Tamura, T., Kohno, T., Komatsu, F. and Iimura, Y. 2005. *Nocardia takedensis* sp. nov., isolated from moat sediment and scumming activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 1, 433-436.
- Yamamura, H., Tamura, T., Sakiyama, Y. and Harayama, S. 2007. *Nocardia amamiensis* sp. nov., isolated from a sugar-cane field in Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 1599-1602.
- Yassin, A. F. 2009. *Saccharopolyspora rosea* sp. nov., isolated from a patient with bronchial carcinoma. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 5, 1148-1152.
- Yassin, A. F., Spröer, C., Siering, C. and Klenk, H. P. 2010. *Actinomadura sputi* sp. nov., isolated from the sputum of a patient with pulmonary infection. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 1, 149-153.
- Yılmaz, H.M., Yakar, M., Mutluoğlu, Ö., Yurt, K., Karataş, K. ve Yılmaztürk, F. 2010. "İklimsel Faktörlerin Kapadokya Bölgesindeki Toprak Aşınmasına Etkisi". *Harita Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2,1, 13-19.
- Yoshida, N., Sasaki, A. and Inoue, H. 1971. An anionic trypsin-like enzyme from *Streptomyces eythreus*. *FEBS letters*, 15: 2, 129-132.
- Yuan, L. J., Zhang, Y. Q., Guan, Y., Wei, Y. Z., Li, Q. P., Yu, L. Y., Li, W. J. and Zhang, Y. Q. 2008. *Saccharopolyspora antimicrobica* sp. nov., an actinomycete from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58: 5, 1180-1185.
- Zhang, Z., Wang, Y. and Ruan, J. 1998. Reclassification of *Thermomonospora* and *Microtetraspora*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48: 2, 411-422.
- Zhang, Z., Kudo, T., Nakajima, Y. and Wang, Y. 2001. Clarification of the relationship between the members of the family *Thermomonosporaceae* on the basis of 16S rDNA, 16S-23S rRNA internal transcribed spacer and 23S rDNA sequences and chemotaxonomic analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 2, 373-383.
- Zhang, J., Liu, Z. and Goodfellow, M. 2003. *Nocardia caishijiensis* sp. nov., a novel soil actinomycete. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 999-1004.

- Zhang, J., Liu, Z. and Goodfellow, M. 2004. *Nocardia xishanensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 2301-2305.
- Zhang, H., Lee, Y. K., Zhang, W. and Lee, H. K. 2006. Culturable actinobacteria from the marine sponge *Hymeniacidon perleве*: isolation and phylogenetic diversity by 16S rRNA gene-RFLP analysis. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 90: 2, 159-169.
- Zhang, H., Zhang, W., Jin, Y., Jin, M. and Yu, X. 2008. A comparative study on the phylogenetic diversity of culturable actinobacteria isolated from five marine sponge species. *Antonie van leeuwenhoek*, 93: 3, 241-248.
- Zhang, J., Wu, D. and Liu, Z. 2009. *Saccharopolyspora jiangxiensis* sp. nov., isolated from grass-field soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 5, 1076-1081.
- Zhang, Y. J., Zhang, W. D., Qin, S., Bian, G. K., Xing, K., Li, Y. F., Cao, C. L. and Jiang, J. H. 2013. *Saccharopolyspora dendranthemae* sp. nov. a halotolerant endophytic actinomycete isolated from a coastal salt marsh plant in Jiangsu, China. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103: 6, 1369-1376.
- Zhang, X., Zhang, Y., Zhao, J., Liu, C., Wang, S., Yang, L., He, H. Xiang, W. and Wang, X. 2014. *Nomuraea fuscirosea* sp. nov., an actinomycete isolated from the rhizosphere soil of *Rehmannia* (*Rehmannia glutinosa* Libosch). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64: 4, 1102-1107.
- Zhang, Z., Yu, X., Wang, Z., Wu, P. and Huang, J. 2015. Anthracyclines potentiate anti-tumor immunity: A new opportunity for chemioimmunotherapy. *Cancer letters*, 369: 2, 331-335.
- Zhao, G.-Z., Li, J., Zhu, W.-Y., Klenk, H.-P., Xu, L.-H. and Li, W.-J. 2011. *Nocardia artemisiae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from a surface-sterilized stem of *Artemisia annua* L. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 12, 2933-2937.
- Zhi, X. Y., Li, W. J. and 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. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 3, 589-608.
- Zhou, Z. H., Liu, Z. H., Qian, Y. D., Kim, S. B. and Goodfellow, M. 1998. *Saccharopolyspora spinosporotrichia* sp. nov., a novel actinomycete from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48: 1, 53-58.
- Zhou, Y., Sun, Y. B., He, H. W., Feng, J. T., Zhang, X. and Han, L. R. 2017. Optimization of medium compositions to improve a novel glycoprotein production by *Streptomyces kanasensis* ZX01. *AMB Express*, 7: 1, 6.
- Zitouni, A., Boudjella, H., Mathieu, F., Sabaou, N. and Lebrihi, A. 2004a. Mutactimycin PR, a New Anthracycline Antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103. *The Journal of antibiotics*, 57: 6, 367-372.

Zitouni, A., Lamari, L., Boudjella, H., Badji, B., Sabaou, N., Gaouar, A., Mathieu F., Lebrihi A. and Labeda, D. P. 2004b. *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 4, 1377-1381.



EKLER

EK 1: Besiyeri ortamları ve Çözeltiler

Humik Asit – Vitamin Agar (Hayakawa ve Nonomura, 1987)

Humik asit*	1 g
Vitamin çözeltisi**	1 ml
CaCO ₃	0.02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
KCl	1.7 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05 g
Na ₂ HPO ₄	0.5 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2 ± 0.2

*Humik asit 10 ml 0.2 N NaOH içerisinde çözülerek hazırlandı.

**Vitamin Stok Çözeltisi

Aşağıdaki vitaminler 100 ml distile su içerisinde çözüldükten sonra 0.1 M HCl ile çözeltinin pH (3.0±0.2) ayarı yapıldı ve sterilizasyonu için filtre kullanıldı.

p-aminobenzoik asit	1 mg
Biyotin	1 mg
İnozitol	1 mg
Nikotinamid	1 mg
Pantotenik asit (B5)	1 mg
Piridoksin (B6)	1 mg
Riboflavin Na-kolin (B2)	1 mg
Tiyamin (B1)	1 mg
Siyanokobalamin (B12)	0.05 mg
Folik asit	0.05 mg
Antibiyotikler	
Nistatin	50 µg/ml
Rifampisin	5 µg/ml

Nişasta Kazein – Vitamin Agar (Küster ve Williams, 1964)

Kazein	0.3 g
KNO ₃	2 g
NaCl	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05 g
CaCO ₃	0.02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Çözünebilir nişasta	10 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.0 ± 0.2
Antibiyotikler	
Nistatin	50 µg/ml
Rifampisin	5 µg/ml
Nalidiksik asit	10 µg/ml

Czapek – Dox Agar (Weyland, 1969)

Sükroz	30 g
NaNO ₃	3 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar	13 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Antibiyotikler

Nistatin	50 µg/ml
Rifampisin	5 µg/ml

Rafinoz – Histidin Agar (Vicker ve diğ. 1984)

Rafinoz	10 g
L-histidin	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Antibiyotikler

Nistatin	50 µg/ml
Rifampisin	5 µg/ml

SM1 Agar (Tan ve diğ. 2006)

Bazal ortam*	100 ml
Steril agar (%15, w/v)	900 ml
*Bazal ortam	
Maya nitrojen baz (Difco)	67 g
Kazamino asit (Difco)	100 mg
Distile su	1000 ml

Bazal ortam filtre ile steril edildikten sonra steril K₂HPO₄ (%10, w/v) ve aşağıdaki maddeler eklendi.

D(-)-Sorbitol	%1, w/v
---------------	---------

Antibiyotikler

Sikloheksimid	50 µg/ml
Neomisin sülfat	4 µg/ml
Nistatin	50 µg/ml

SM2 Agar (Tan ve diğ. 2006)

Bazal ortam*	100 ml
Steril agar (%15, w/v)	900 ml
*Bazal ortam	
Maya nitrojen baz (Difco)	67 g
Kazamino asit (Difco)	100 mg
Distile su	1000 ml

Bazal ortam filtre ile (0.2 µm) steril edildikten sonra steril K₂HPO₄ (%10, w/v) ve aşağıdaki maddeler eklendi.

D(+) Melezitoz	%1, w/v
Antibiyotikler	
Sikloheksimid	50 µg/ml
Neomisin sülfat	4 µg/ml
Nistatin	50 µg/ml

SM3 Agar (Tan ve diğ. 2006)

Glukoz	10 g
Pepton	5 g
Tripton	3 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2
Antibiyotikler	
Sikloheksimid	50 µg/ml
Nalidiksik asit	10 µg/ml
Novobiyosin	10 µg/ml
Nistatin	50 µg/ml

N-Z-Amin Agar (DSMZ Medium-554)

Glukoz	10 g
Çözünebilir nişasta	20 g
Maya özütü	5 g
N-Z-Amin	5 g
CaCO ₃	1 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Glukoz – Maya Özütü – Malt Özütü (ISP2; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Glukoz	4 g
Maya Özütü	4 g
Malt Özütü	10 g
CaCO ₃	2 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2 ± 0.2
Antibiyotikler	
Nistatin	50 µg/ml
Rifampisin	5 µg/ml

Tripton – Maya Özütü – Glukoz Agar (DSMZ Medium-680)

Tripton	3 g
Maya özütü	5 g
Glukoz	5 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml
pH	7

Gliserol – Asparajin Agar (ISP5; Shirling ve Gottlieb, 1966)

L-asparajin	1 g
Gliserol	10 g
KH ₂ PO ₄	1 g
İz element çözeltisi	1 ml
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	6.8 ± 0.2

İnorganik Tuz Nişasta Agar (ISP4; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Distile su	500 ml
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
NaCl	1 g
CaCO ₃	2 g
Çözünebilir nişasta çözeltisi	500 ml
Agar	15 g
pH	7.2 ± 0.2

Çözünebilir nişasta çözeltisinin hazırlanması: 10 g çözünebilir nişasta 500 ml distile su içerisine eklenerek topaklanmayı engellemek için iyice karıştırıldı.

Modifiye Bennett's Agar (Jones, 1949)

Maya özütü	1 g
Lab-LEMCO	0.8 g
Bacto-Kaziton	2 g
Gliserol	10 g
Agar	15 g
pH	7.2 ± 0.2

Yulaf Agar (ISP3; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Yulaf ezmesi karışımı	1000 ml
İz element tuz çözeltisi	1 ml
Agar	15 g
pH	7.2 ± 0.2

Yulaf ezmesi karışımı: 20 g yulaf ezmesi 1000 ml distile su içerisine eklendikten sonra 30 dk kaynatıldı. Karışım süzgeçten geçirildikten sonra distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

İz element tuz çözeltisi

FeSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g
MnCl ₄ .4H ₂ O	0.1 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g
Distile su	100 ml

Çözelti selüloz-asetat membran filtresi (0.45 µm) ile steril edildikten sonra 40C'de depolandı.

Pepton – Maya Özütü – Demir Agar (ISP6; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Bacto – pepton demir agar	36 g
Bacto – Maya özütü	1 g
Distile su	1000 ml
pH	7.0 ± 0.2

Tripton – Maya Özütü Agar (ISP1; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Bacto – tripton	5 g
Bacto – maya özütü	3 ml
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.0 ± 0.2

Tirozin Agar (ISP7; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Gliserol	15 g
L – Tirozin	0.5 g
L – Asparajin	1 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
NaCl	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Distile su	1000 ml
İz element çözeltisi	1 ml
Agar	20 g
pH	7.2 – 7.4

Eskulin / Arbutin degradasyonu (Kutzner 1976)

Bazal ortam	
Maya özütü	3 g
Ferrik amonyum sülfat	0.5 g
Agar	7.5 g
pH	7.2

Bazal ortam 121°C’de 20 dakika otoklav sterilizasyonuna tabi tutuldu. Tindalizasyon ile steril edilen eskulin/arbutin son konsantrasyonu %0.1 (w/v) olacak şekilde bazal ortama eklendi.

Allantoin degradasyonu (Gordon ve diğ. 1974)

Bazal ortam	
KH ₂ PO ₄	9.1 g
Na ₂ HPO ₄	9.5 g
Maya özütü	0.1 g
Fenol red	0.01 g
Distile su	1000 ml
pH	6.8

Bazal ortam 121°C’de 20 dakika oroklav sterilizasyonuna tabi tutuldu. Tindalizasyonla steril edilen allantoin son konsantrasyonu %0.33 (w/v) olacak şekilde bazal ortama eklendi.

Azot Kaynağı Kullanım Ortamı (Williams ve diğ. 1983)

Bazal ortam	
Glukoz	10 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
NaCl	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar	12 g
pH	7.4

Azot kaynakları 10 ml distile suda çözündükten sonra filtre ile (0.45 µm) steril edildi ve bazal ortama eklendi.

Nitrat Redüksiyon Ortamı (Gordon ve Mihm, 1962)

KNO ₃	1 g
Lab LEMCO	2.4 g
Distile su	1000 ml
pH	7.0

Sierra Ortamı (Tween degradasyonu için) (Sierra, 1957)

Bazal ortam	
Bacto-pepton	10 g
NaCl	5 g
CaCl ₂ .H ₂ O	0.1 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.4

Üre Degradasyonu

Bazal ortam	
KH ₂ PO ₄	9.1 g
Na ₂ HPO ₄	9.5 g
Maya özütü	0.1 g
Fenol kırmızısı	0.01 g
Distile su	1000 ml
pH	6.8

Karbon Kaynağı Kullanım Ortamı (ISP9; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Bazal mineral tuz agar	
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.64 g
KH ₂ PO ₄	2.38 g
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	5.65
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
Pridham & Gottlieb* iz element çözeltisi	1 ml
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	6.8 – 7.0

***Pridham & Gottlieb iz element çözeltisi**

CuSO ₄ .5H ₂ O	0.64 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.11 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.79 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.15 g
Distile su	100 ml

Karbohidrat çözeltileri tinalizasyon yöntemiyle steril edildikten sonra steril bazal tuz agar ortamına eklendi.

Asidik Civa Klorür (Jelatin degradasyonu için)

Civa klorür	12 g
Distile su	80 ml
Konsantre hidroklorik asit	16 ml

EDTA Tampon Çözeltisi (0.5 M, pH 8.0)

Disodyum etilendiamintetraasetik asit (EDTA)	18.612 g
Distile su	80 ml

Çözelti NaOH pelleti ile pH=8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra distile su ile son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Lugol Çözeltisi (nişasta degradasyonu için)

İyodin	5 g
Potasyum iyodit	10 g
Distile su	100 ml

İyodin ve potasyum iyodit 10 ml distile su içerisinde çözündükten sonra son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Ayıraç 1/5 oranında seyreltildikten sonra kullanıldı.

Nitrat Redüksiyon Ayıraçları**Ayıraç A:**

Sülfanilik asit	0.8 g
Asetik asit (5N)	100 ml

Ayıraç B:

α -Naftilamin	0.8 g
Asetik asit (5N)	100 ml

Tris – Borat – EDTA Tampon Çözeltisi (TBE; 10X stok çözelti, pH 8.0)

Trizma baz	108 g
Borik asit	55 g
EDTA	7.44
NaOH	1 g
Distile su (son hacim)	1000 ml

Otoklavda (121°C, 20 dk) steril edildikten sonra oda sıcaklığında 1/10 oranında seyreltilerek (1X TBE) kullanıldı.

Tris – EDTA Tampon Çözeltisi, pH 8.0 (TE; 10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)

0.5 M EDTA, pH 8.0	2 ml
1 M Tris – HCl, pH 8.0	10 ml
ddH ₂ O (son hacim)	1000 ml

Otoklavda (121°C 20 dakika) steril edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Talha GENÇBAY
Doğum Yeri : SAMSUN
Doğum Tarihi : 1984
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Samsun Anadolu Lisesi (2002)
Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji
Öğretmenliği (2008)
Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2012)

Çalıştığı Kurum ve Yıl

Canik Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi-Biyoloji Öğretmeni SAMSUN (2010-)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

1. Işık, K., **Gencbay, T.**, Topkara, A. R., Sarıcaoğlu, S., Saygın, H., Ay, H., Çetin, D., Güven, K. and Şahin, N. 2018. *Amycolatopsis cappadoca* sp. nov., isolated from soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111: 7, 1175-1182.
2. **Gencbay T.**, Işık K., Sarıcaoğlu S., Topkara A. R., 2017. Phylogenetic Analysis of *Nonomuraea* sp. GG64 Isolated from the Acıgöl soil. Nevşehir. 6. Uluslararası Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, 22-25 Aralık, 2017, Afyonkarahisar.
3. **Gencbay T.**, Işık K., Sarıcaoğlu S., Topkara A. R., 2018. Molecular and Numerical Taxonomy of A Novel *Saccharopolyspora* sp. DC11, Isolated from Derinkuyu, Nevşehir. 2. Uluslararası UNIDOKAP Karadeniz Sempozyumu, 28-30 Kasım, 2018, Samsun
4. Işık K., **Gencbay T.**, Sarıcaoğlu S., Topkara A. R., 2018. Phylogenetic Analysis of *Nonomuraea* sp. AG16 Isolated from the Acıgöl soil, Nevşehir. 2. Uluslararası UNIDOKAP Karadeniz Sempozyumu, 28-30 Kasım, 2018, Samsun
5. Işık K., **Gencbay T.**, Sarıcaoğlu S., Topkara A. R., 2018. Molecular characterization of A Novel *Actinomadura* sp. DG80, Isolated from Derinkuyu Soil, Nevşehir. 2. Uluslararası UNIDOKAP Karadeniz Sempozyumu, 28-30 Kasım, 2018, Samsun

TEZ DIŐI TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

1. Özdemir-Koçak, F., **Gençbay, T.**, Topkara, A. R., Çil, E, Işık, K. API-ZYM and numerical analysis of 16S rRNA gene identified *Micromonospora* isolates from the Black Sea region, Biological Diversity and Conservation, 10, 2, 8 / 2017, *BioDiCon*. 597-0816 [Uluslararası]
2. Işık, K., **Gençbay, T.**, Özdemir-Koçak, F., Çil, E. Molecular identification of different actinomycetes isolated from East Black Sea region plateau soil by 16S rRNA gene sequencing, *Afr J Microbiol Res.* , 8, 9, 8 / 2014 [Uluslararası]
3. Özdemir-Koçak, F., **Gençbay, T.**, Işık, K. Selective Isolation and Molecular Identification of Different *Actinomycetes* from Various Habitats, *J Pure and Appl. Microbiol.*, 8, 5, 5 / 2014 [Uluslararası]