

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

***AMYCOLATOPSIS VE NOCARDIA ÜYELERİNİN İZOLASYONU VE POLİFAZİK
KARAKTERİZASYONU***

DOKTORA TEZİ

Mustafa ÇAMAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı

**HAZİRAN 2013
SAMSUN**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AMYCOLATOPSIS VE *NOCARDIA* ÜYELERİNİN İZOLASYONU VE POLİFAZİK
KARAKTERİZASYONU

DOKTORA TEZİ

Mustafa ÇAMAŞ
(08210541)

Tezin Savuma Tarihi : 12.06.2013

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN

Bu Doktora Tez Çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi PYO-FEN 1901.09.003' nolu Proje ile Desteklenmiştir.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Mustafa ÇAMAŞ Tarafından Hazırlanan

AMYCOLATOPSIS VE NOCARDIA ÜYELERİNİN İZOLASYONU ve
POLİFAZİK KARAKTERİZASYONU

başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 12/06/2013 tarihinde yapılan sınav ile
DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

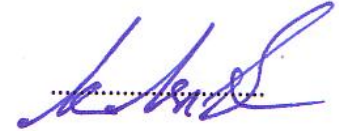
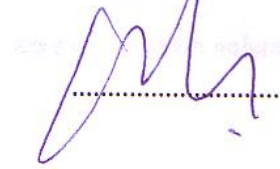
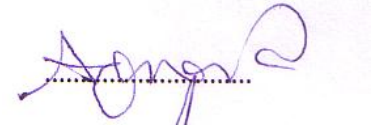
Başkan : **Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ**
Karadeniz Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Cafer EROĞLU**
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Doç. Dr. Kamil İŞİK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



.../.../2013

Prof. Dr. Recep TAPRAMAZ
Enstitü Müdürü

Anneme ve merhum babama,

ÖNSÖZ

Öncelikle bu tezin yapılmasında laboratuvar ortamı sağlayan, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü özelinde bana Fen Bilimleri Enstitüsü'nde doktora yapma fırsatını sunan ve PYO.FEN 1901.09.003 no'lu proje ile her türlü teknik imkan ve maddi desteği sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora çalışmam süresince ders ve laboratuvar aşamalarında her türlü desteğini aldığım ve bu tezin oluşturulmasında bana yön veren Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Nevzat Şahin'e şükranlarımı sunarım.

Yağ asiti analizlerinin belirlenmesinde bizlere desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Kıymet Güven hocamıza, elektron mikroskopisi görüntüleme işlemlerinde bu çalışmaya katkı sağlayan Sayın Doç. Dr. Demet Çetin hocamıza teşekkür ederim.

Deney sürecinde bu çalışmada herhangi bir şekilde emeği geçen mesai arkadaşlarıma ve hocalarıma teşekkür ederim.

Tez süresince bana sabırla katlanan anneme ve aileme sonsuza kadar minnettarım.

Haziran 2013

Mustafa ÇAMAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
KISALTMALAR	xix
ÖZET.....	xxi
SUMMARY.....	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Prokaryotik Sistematiği	5
2.2 Polifazik Taksonomi ve Prokaryotik Tür Tanımı	6
2.3 Moleküler Sistematiği.....	8
2.3.1 16S rRNA geni dizi analizi	8
2.3.2 Dizi verilerinin analizi ve filogeni.....	9
2.3.3 DNA-DNA Hibridizasyonu	10
2.4 Kemotaksonomi	12
2.5 Nümerik Taksonomi.....	13
2.6 Prokaryotik Çeşitlilik.....	15
2.7 Aktinomisetler ve Doğal Ürünler	15
2.8 Ribozomal Olmayan Peptitler ve Poliketitler	18
2.9 <i>Amycolatopsis</i> Cinsi	19
2.9.1 <i>Amycolatopsis</i> cinsinin biyoteknolojik önemi	20
2.10 <i>Nocardia</i> cinsi	22
2.10.1 <i>Nocardia</i> cinsinin biyoteknolojik önemi	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Kitler	25
3.2 Yöntem	25
3.2.1 Toprak örnekleri	25
3.2.2 Toprak pH'sı	26
3.2.3 Toprağın nem ve organik madde içeriği	26
3.2.4 <i>Amycolatopsis</i> ve <i>Nocardia</i> üyelerinin seçici izolasyonu	27
3.2.5 İzolatların seçilmesi, saflaştırılması ve saklanması.....	27
3.2.6 Genomik DNA ekstraksiyonu	28
3.2.7 16S rRNA geni PCR amplifikasyonu	29
3.2.8 16S rRNA PCR ürünlerinin saflaştırılması ve dizi analizi	29
3.2.9 16S rRNA dizi verilerinin analizi.....	30
3.2.10 DNA-DNA homolojisi.....	30
3.2.11 DNA G+C içeriğinin belirlenmesi	31
3.2.12 Diaminopimelik Asit (DAP) izomerlerinin belirlenmesi.....	31
3.2.13 Şeker analizleri	32
3.2.14 Yağ asiti analizi	32

3.2.15 Polar lipid profilinin belirlenmesi	34
3.2.16 Menakinon profillerinin belirlenmesi.....	35
3.2.17 Mikolik asit testi.....	35
3.2.18 Fenotipik karakterizasyon.....	35
3.2.19 Kültürel ve morfolojik özelliklerin belirlenmesi	36
3.2.19.1 Farklı besiyerlerdeki büyüme ve gelişim morfolojileri	36
3.2.19.2 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile spor morfolojisi.....	36
3.2.20 Biyokimyasal testler	37
3.2.20.1 Aeskulin hidrolizi	37
3.2.20.2 Arbutin hidrolizi	37
3.2.20.3 Allantoin hidrolizi	37
3.2.20.4 Üre hidrolizi	38
3.2.20.5 Nitrat redüksiyonu	38
3.2.21 Degradasyon testleri.....	39
3.2.22 Temel karbon kaynaklarını kullanabilme	41
3.2.23 Temel azot kaynaklarında gelişme	41
3.2.24 Antibakteriyal aktivite testi.....	42
3.2.25 Fizyolojik testler	42
3.2.25.1 pH toleransı	42
3.2.25.2 Sıcaklığa tolerans	43
3.2.25.3 NaCl toleransı.....	43
3.2.26 API-enzim testleri	43
3.2.27 PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgelerinin PCR amplifikasyonu	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	45
4.1 Bulgular	45
4.1.1 Topraktan bakterilerin izole edilmesi, saflaştırılması ve saklanması	45
4.1.2 16S rRNA geni PCR amplifikasyonu	50
4.1.3 16S rRNA geni dizi analizi ve filogenisi.....	50
4.1.4 DNA-DNA hibridizasyonu ve % G+C kompozisyonu	70
4.1.5 Kültürel ve morfolojik özellikler	71
4.1.5.1 ISP2 agarda büyüme ve gelişim morfolojileri	71
4.1.5.2 Farklı besiyerlerdeki büyüme ve gelişim morfolojileri	71
4.1.5.3 Spor morfolojisi	71
4.1.6 Fenotipik karakterizasyon	83
4.1.7 Kemotaksonomik karakterizasyon.....	91
4.1.7.1 DAP analizi.....	91
4.1.7.2 Şeker profili	92
4.1.7.3 Yağ asiti.....	93
4.1.7.4 Menakinonların belirlenmesi	96
4.1.7.5 Polar lipidlerin belirlenmesi.....	102
4.1.7.6 Mikolik asit testi.....	106
4.1.8 Antibakteriyal aktivite.....	107
4.1.9 PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgelerinin PCR amplifikasyonu.....	107
4.2 Tartışma.....	109
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	121
5.1 Sonuçlar.....	121
5.2 Öneriler.....	122
KAYNAKLAR.....	125
EKLER	141
EK-A	143

EK-B.....	151
EK-C.....	197
EK D.....	213
ÖZGEÇMİŞ	215

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1: 2004-2010 yılları arasında tanımlanan cins ve tür sayıları.	2
Çizelge 2.1: Prokaryotları tanımlamada kullanılan taksonomik araçlar ve bunların ayırım kabiliyeti	13
Çizelge 2.2: Bakteri ve fungus tarafından sentezlenen antibiyotik ve diğer metabolitlerin sayısı	16
Çizelge 2.3: Aktinomisetlerden izole edilmiş antibiyotikler	17
Çizelge 2.4: <i>Amycolatopsis</i> cinsi üyelerince üretilen biyoaktif bileşenler	21
Çizelge 2.5: <i>Nocardia</i> üyelerinin neden olduğu hastalıklar	23
Çizelge 3.1: Toprak örneklerinin fizikokimyasal özellikleri	26
Çizelge 3.2: Toprak örneklerinden seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri	27
Çizelge 3.3: 16S rRNA gen bölgesi amplifikasyon ve sekans primerleri	30
Çizelge 3.4: PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgeleri PCR amplifikasyonu için kullanılan primerler.	44
Çizelge 4.1: Kullanılan toprak örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri.	47
Çizelge 4.2: 16S rRNA sekansı tamamlanan izolatların toprak örneklerine ve izolasyon besiyerlerine göre sayısal olarak dağılımı.	51
Çizelge 4.3: <i>Amycolatopsis</i> ve <i>Nocardia</i> üyesi test izolatlarının toprak örneklerine göre dağılımı.	52
Çizelge 4.4: <i>Amycolatopsis</i> cinsi üyesi izolatların Etaxon Server'a göre en yakın tip türleri ile olan 16S rRNA benzerlikleri	53
Çizelge 4.5: <i>Nocardia</i> cinsi üyesi izolatların Etaxon Server'a göre en yakın tip türleri ile olan 16S rRNA benzerlikleri	54
Çizelge 4.6: KT2025 ^T , A2012 ^T , A2019 ^T ve CR3272 ^T suşlarının DNA-DNA hibridizasyon değerleri ve % G+C kompozisyonları.	70
Çizelge 4.7: Bazı test suşlarının dokuz farklı besiyerindeki kültürel ve morfolojik özellikleri..	82
Çizelge 4.8: Bazı <i>Amycolatopsis</i> izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri.	85
Çizelge 4.9: Bazı <i>Nocardia</i> izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri.	88
Çizelge 4.10: KT2025 ^T suşunun en yakın tip türleri ile yapılan API-ZYM testi sonuçları.....	91
Çizelge 4.11: Bazı <i>Amycolatopsis</i> izolatlarının ve tip türlerinin yağ asiti profilleri..	94
Çizelge 4.12: Bazı <i>Nocardia</i> izolatlarının ve tip türlerinin yağ asiti profilleri.	95
Çizelge 4.13: Antibakteriyal aktivite testi sonuçlarına göre petriden ölçülen zon çapları (mm).....	107
Çizelge 4.14: İzolatların PKS I, PKS II ve NRPS gen bölgeleri PCR amplifikasyon verileri.....	108
Çizelge D.1: <i>Amycolatopsis</i> ve <i>Nocardia</i> cinslerine ait olmayan izolatların 16S rRNA benzerlik yüzdeleri.....	213

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Bakteri sistematiklerinde kullanılan genotipik ve fenotipik karakterler.....	7
Şekil 2.2: DNA-DNA hibridizasyon verilerinin 16S rRNA dizi benzerliği ile olan ilişkisi.....	12
Şekil 4.1: Bakteri izolasyonunda kullanılan toprak örnekleri.....	46
Şekil 4.2: SM1, SM2 ve SM3 seçici izolasyon besiyerlerinde 28 °C’de en az 14 gün gelişen, beyazdan açık kahve tonlarına değişen genelde sert ve kabuğumsu koloniler.....	48
Şekil 4.3: Kültüre alınan cins üyelerinin 28 °C ve 14 gün inkübasyon süresi sonunda ISP2 ve Bennett’s agar yüzeyindeki görüntüleri.....	49
Şekil 4.4: Test organizmalarına ait 16S rRNA geni amplifikasyon ürünleri.....	50
Şekil 4.5: Sekansı yapılan <i>Amycolatopsis</i> suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	55
Şekil 4.6: KT2025 ^T suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	56
Şekil 4.7: AR1438 test organizmasının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	57
Şekil 4.8: K204 ve K237 test organizmalarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	58
Şekil 4.9: K206 suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	59
Şekil 4.10: NJ2060 suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	60
Şekil 4.11: NJ1018 suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	61
Şekil 4.12: Sekansı yapılan <i>Nocardia</i> suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	62
Şekil 4.12A: A grubuna dâhil olan <i>Nocardia</i> üyelerinin 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	63
Şekil 4.12B: B grubuna dâhil olan <i>Nocardia</i> üyelerinin 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	64
Şekil 4.12C: C grubuna dâhil olan <i>Nocardia</i> üyelerinin 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	65
Şekil 4.13: A2012 ^T ve A2019 ^T suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	66
Şekil 4.14: CR3272 ^T suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	67
Şekil 4.15: PK2002, PM2005 ve PM1004 suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	68
Şekil 4.16: SM1481, SM1342 ve SM1318 suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	69
Şekil 4.17: KT2025 ^T suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.....	72

Şekil 4.18: K206 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.	73
Şekil 4.19: AR1438 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.....	74
Şekil 4.20: NJ1018 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.....	75
Şekil 4.21: CR3272 ^T suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri	76
Şekil 4.22: PM1004 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.	77
Şekil 4.23: A2012 ^T ve A2019 ^T suşlarının ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri	78
Şekil 4.24: KT2025 ^T izolatının dokuz farklı besiyerindeki koloni morfolojileri	79
Şekil 4.25: K206 izolatının dokuz farklı besiyerindeki koloni morfolojileri	80
Şekil 4.26: CR3272 ^T izolatının dokuz farklı besiyerindeki koloni morfolojileri	81
Şekil 4.27: Bazı <i>Amycolatopsis</i> ve <i>Nocardia</i> izolatlarının misel yapıları ve spor morfolojilerinin taramalı elektron mikroskop görüntüleri.....	83
Şekil 4.28: DAP testi sonucunda yeni türlerin A ₂ pm izomerlerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı.....	92
Şekil 4.29: <i>Amycolatopsis</i> sp. KT2025 ^T ve <i>Nocardia</i> sp. CR3272 ^T izolatlarının şeker profillerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı.....	93
Şekil 4.30: <i>Amycolatopsis magusensis</i> sp. nov. KT2025 ^T türünün HPLC menakinon kromatogramı.	96
Şekil 4.31: <i>Amycolatopsis pretoriensis</i> NRRL-B 24133 ^T tip türünün HPLC menakinon kromatogramı.	97
Şekil 4.32: <i>Nocardia goodfellowii</i> sp. nov. A2012 ^T türünün HPLC menakinon kromatogramı	98
Şekil 4.33: <i>Nocardia thraciensis</i> sp. nov A2019 ^T türünün HPLC menakinon kromatogramı	99
Şekil 4.34: <i>Nocardia sungurluensis</i> sp. nov. CR3272 ^T türünün HPLC menakinon kromatogramı.....	100
Şekil 4.35: <i>Nocardia alba</i> DSM 44684 ^T tip türünün HPLC menakinon kromatogramı	101
Şekil 4.36: <i>Amycolatopsis magusensis</i> sp. nov. KT2025 ^T türünün polar lipit profili	102
Şekil 4.37: <i>Amycolatopsis</i> sp. K206 izolatının polar lipit profili.	103
Şekil 4.38: <i>Nocardia sungurluensis</i> sp. nov. CR3272 ^T türünün polar lipit profili. .	103
Şekil 4.39: <i>Amycolatopsis</i> sp. NJ2060 izolatının polar lipit profili.	104
Şekil 4.40: <i>Amycolatopsis</i> sp. AR1438 izolatının polar lipit profili.	105
Şekil 4.41: <i>Nocardia</i> sp. PM1004 izolatının polar lipit profili.....	105
Şekil 4.42: Aktinomisetlerde var olduğu bilinen 6 fosfolipitin iki boyutlu TLC kromatogramı	106
Şekil 4.43: Bazı izolatların mikolik asit içeriğinin TLC kromatogramı	106
Şekil 4.44: PKS-NRPS Gen Bölgelerinin PCR ürünleri.	108
Şekil C.1: <i>Amycolatopsis</i> sp. K206 suşunun maximum likelihood dendogramı.....	197
Şekil C.2: <i>Amycolatopsis</i> sp. K206 suşunun maximum parsimony dendogramı. ...	198
Şekil C.3: <i>Amycolatopsis</i> sp. NJ1018 suşunun maximum likelihood dendogramı.	199
Şekil C.4: <i>Amycolatopsis</i> sp. NJ1018 suşunun maximum parsimony dendogramı.	200
Şekil C.5: <i>Amycolatopsis</i> sp. NJ2060 suşunun maximum likelihood dendogramı.	201
Şekil C.6: <i>Amycolatopsis</i> sp. NJ2060 suşunun maximum parsimony dendogramı.	202
Şekil C.7: <i>Amycolatopsis</i> sp. K204 ve K237 suşlarının maximum likelihood dendogramı.	203
Şekil C.8: <i>Amycolatopsis</i> sp. K204 ve K237 suşlarının maximum parsimony dendogramı.	204
Şekil C.9: <i>Amycolatopsis</i> sp. AR1438 suşunun maximum likelihood dendogramı.	205

Şekil C.10: <i>Amycolatopsis</i> sp. AR1438 suşunun maximum parsimony dendogramı.....	206
Şekil C.11: <i>Amycolatopsis</i> sp. PM1004, PK2002 ve PM2005 suşlarının maximum likelihood dendogramı.....	207
Şekil C.12: <i>Amycolatopsis</i> sp. PM1004, PK2002 ve PM2005 suşlarının maximum parsimony dendogramı.	208
Şekil C.13: <i>Amycolatopsis</i> sp. CR3272 ^T suşunun maximum likelihood dendogramı.....	209
Şekil C.14: <i>Amycolatopsis</i> sp. CR3272 ^T suşunun maximum parsimony dendogramı.....	210
Şekil C.15: <i>Amycolatopsis</i> sp. SM1481, SM1342 ve SM1318 suşlarının maximum likelihood dendogramı.....	211
Şekil C.16: <i>Amycolatopsis</i> sp. SM1481, SM1342 ve SM1318 suşlarının maximum parsimony dendogramı.	212

KISALTMALAR

AFLP	: Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı
ARDRA	: Çoğaltılan rRNA'nın restriksiyon analizi
ASM	: Amerikan mikrobiyoloji topluluğu Altkomitesi
ATCC	: Amerikan kültür koleksiyonu
b	: Baz ifti
DAP	: Diaminopimelik asit
ddH₂O	: Deiyonize distile su
DSMZ	: Almanya kültür koleksiyonu
EDTA	: Etilendiamin-tetra-asetatik asit
G	: G-gücü
ISP	: Uluslararası <i>Streptomyces</i> projesi
NCIB	: Ulusal endüstriyel bakteri koleksiyonu
NRPS	: Ribozomal olmayan peptit sentetaz
OTU's	: Operasyonel taksonomik nite
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PKS	: Poliketit sentaz
PFGE	: Değişken alanlı jel elektroforezi
RAPD	: Rastgele oğaltılmış polimorfik DNA
RFLP	: Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi
RF	: Alıkonma faktörü
RT	: Alıkonma zamanı
S_J	: Jaccard katsayısı
S_{SM}	: Basit eşleşme katsayısı
UPGMA	: Ağırlıklaştırılmamış ift grup metodu

AMYCOLATOPSIS VE NOCARDIA ÜYELERİNİN İZOLASYONU VE POLİFAZİK KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Bu çalışmada, *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsi üyelerinin izolasyonu ve polifazik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Olası *Amycolatopsis* ve *Nocardia* suşları Türkiye'nin farklı bölgeleri ile, Kıbrıs, Nijerya, Mekke ve Medine'den temin edilen toprak örneklerinden dilüsyon plak yöntemi ile SM1, SM2 ve SM3 seçici besiyerlerinden izole edildi. İzolatlar ISP2 ve Bennett's agarda kültüre alındı ve % 20'lik gliserol çözeltilerde -20 °C'de muhafaza edildi. 16S rRNA gen bölgesi PCR amplifikasyonu 27F ve 1525R primerleri ile gerçekleştirilen test organizmalarının tüm 16S rRNA gen dizisi 800R, MG3 ve MG5 primerleri ile belirlendi. Filogenetik ağaçlar, neighbour-joining, maximum likelihood ve maximum parsimony algoritmaları ile MEGA5 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinslerine ait olduğu belirlenen suşların DNA-DNA hibridizasyonları gerçekleştirildi. Yeni tür ve yeni tür olması kuvvetle muhtemel suşların NRPS-PKS antibiyotik gen bölgelerinin varlığı, ilgili primerler ile Thermal Cycler'da çoğaltılarak belirlendi.

Seçici besiyerlerinden toplam 238 organizma izole edildi ve bunların 138'inin 16S rRNA geni PCR amplifikasyonları gerçekleştirildi. Filogenetik verilere göre 19 tane *Amycolatopsis* ve 32 tane *Nocardia* suşu belirlendi. Yakın akraba tip türleri ile nükleotit farkı 9 nükleotitten fazla olan test izolatları, neighbour joining metoduna dayalı filogenetik dendogramlarda filetik bir hat oluşturmakta ve bu durum yüksek bootstrap değeri ile desteklenmektedir. Bu suşlar ayrıca en yakın akrabaları ile oldukça düşük DNA-DNA hibridizasyon değerlerine sahiptir. Ayrıca izolatların kemotaksonomik ve fenotipik karakteristikleri ait oldukları cinsler ile tutarlıdır.

Fenotipik ve genotipik verilere dayanarak, PKS ve NRPS pozitif Kıbrıs izolatu KT2025^T suşu *Amycolatopsis magusensis* sp. nov. DSM 45510^T, Edirne izolatu A2012^T suşu *Nocardia goodfellowii* sp. nov. DSM 45516^T, A2019^T suşu *Nocardia thraciensis* sp. nov. DSM 45516^T ve Çorum izolatu CR3272^T suşu *Nocardia sungurluensis* sp. nov. KCTC 29094^T adları ile önerilmiş ve yayımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Polifazik karakterizasyon, *Amycolatopsis*, *Nocardia*, Kemotaksonomi

ISOLATION AND POLYPHASIC CHARACTERIZATION OF *AMYCOLATOPSIS* AND *NOCARDIA* MEMBERS

SUMMARY

In this study, isolation and polyphasic characterization of members of the genus *Amycolatopsis* and *Nocardia* were carried out.

Putative *Amycolatopsis* and *Nocardia* strains were isolated from soil samples collected from different ecological region belonging to Turkey, Cyprus, Nigeria and Saudi Arabia, using a dilution plate procedure on SM1, SM2 and SM3 selective media. Isolates were subcultured on ISP2 and Bennett's agar medium, purified and maintained in 20 % glycerol stock solutions at -20°C . PCR-mediated amplification of the 16S rRNA gene region of test organisms were performed with primers of 27F /1525R. Almost complete 16S rRNA gene sequence of the isolates were determined using automatic sequencer with 800R, MG3 and MG5 primers. Phylogenetic trees based on 16S rRNA gene were constructed with the neighbour-joining, maximum likelihood and maximum parsimony algorithms by using MEGA5 software. DNA-DNA hybridizations of strains assigned to genus *Amycolatopsis* and *Nocardia* were carried out. Phenotypic and chemotaxonomic characters of either novel or most probably novel strains were determined. NRPS-PKS antibiotic gene regions were amplified through primers using Thermal Cycler.

Two hundred and thirty eight strains were isolated from selective media and carried out 16S rRNA gene PCR amplification of a hundred and thirty eight test strains. According to the phylogenetic data, nineteen *Amycolatopsis* isolates and thirty two *Nocardia* isolates were determined. Novel or most probably novel strains have showed phyletic line in phylogenetic dendograms based on the neighbour joining method supported high bootstrap values. Test strains which include greater nucleotide (more than 9 nt) difference from most related type species have lower DNA-DNA hibridization values. The chemotaxonomic and phenotypic characteristics of isolates were consistent with its assignment to the genus *Amycolatopsis* and *Nocardia*.

On the basis of phenotypic and genotypic data, strain KT2025^T from Cyprus for which the name *Amycolatopsis magusensis* sp. nov. DSM 45510^T, strain A2012^T from Edirne with the name *Nocardia goodfellowii* sp. nov. DSM 45516^T, strain A2019^T with the name *Nocardia thraciensis* sp. nov. DSM 45517^T, from Edirne and strain CR3272^T from Corum with the name *Nocardia sungurluensis* sp. nov., KCTC 29094^T were proposed and published.

Key Words: Polyphasic taxonomy, *Amycolatopsis*, *Nocardia*, Chemotaxonomy

1. GİRİŞ

Yeryüzünün toplam biyokütlesinin % 50'den fazlasını oluşturduğu tahmin edilen prokaryotlar, atmosferin en üst tabakalarından deniz tabanının derinliklerine kadar çok geniş bir coğrafyada dağılım göstermektedirler (Whitman ve diğ., 1998, Roussel ve diğ., 2008, Santelli ve diğ., 2008). Farklı ekolojik alanlarda sınırlı besin kaynakları ile varlığını sürdürerek pek çok biyokimyasal reaksiyonu gerçekleştirebilen, tıbbi ve ticari yeni biyoaktif bileşenlerin doğal üreticileri olan mikroorganizmaların % 90'ından fazlası hala keşfedilmeyi beklemektedir.

Mikroorganizmalar arasındaki filogenetik akrabalıkları belirleme çalışmaları ilk defa ferrodoksinler ve sitokromlar gibi protein dizilerinin karşılaştırılması ile gerçekleştirilmiştir (Fitch ve Yasunobu, 1975; Schwartz ve Dayhof, 1978). Bundan sonraki dönemde özellikle rRNA moleküllerinin dizi analizleri ile canlılar günümüzde Archaea, Bacteria ve Eucarya olmak üzere üç farklı domaine ayrılmışlardır (Woese, 1987). Bütün prokaryotlar Archaea ve Bacteria domaini içerisinde yer almaktadır.

Mikrobiyal taksonomi, mikroorganizmaların sistemli bir şekilde organizasyonunu amaçlayan çalışmalar bütünüdür (Trüper, 1992). Binominal isimlendirme sisteminde tür, biyolojik sınıflandırmalarda temel birim olarak kabul edilmektedir. Prokaryotik bir tür, genotipik, fenotipik veya kemotaksonomik özelliklerin bir arada değerlendirildiği polifazik yaklaşım kullanılarak karakterize edilmektedir. Uygulamada ise türün, % 70 DNA-DNA homolojisi, % 97 ve üzerinde 16S rRNA dizi benzerliği gösteren suş olduğu kabul edilmektedir (Stackebrandt ve diğ., 2002).

Biyosferdeki populasyonlarının $4-6 \times 10^{30}$ olduğu tahmin edilen mikroorganizmaların polifazik taksonomik yöntemlere göre tanımlanması üzerine araştırmalar hızla devam etmektedir. 2004-2010 yılları arasında geçerli bir şekilde yayımlanmış cins sayısındaki artışın % 51, tanımlanmış tür sayısındaki artışın ise % 48 olduğu bildirilmiştir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1: 2004-2010 yılları arasında tanımlanan cins ve tür sayıları (URL-1).

	Yıl		
	2004	2007	2010
Domain	2	2	2
Filum	26	27	27
Sınıf	50	44	75
Takım	94	97	123
Aile	244	260	279
Cins	1253	1553	1886
Tür	6747	8253	9994

Günümüzde antibiyotik kullanımındaki artıştan dolayı, bazı patojenler bu bileşiklere karşı direnç kazanmaktadır. Patojenlerin bu direncinden dolayı eski tedavi yöntemlerinin yerine acilen yeni metabolitlerin keşfine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sorun yalnızca dirençli patojenlere karşı yeni antibiyotiklerin bulunması değil, aynı zamanda yeni enfeksiyonlarla mücadele ile paralel bir problemdir. Antibiyotik direncinin yanı sıra antifungal antibiyotik keşfinin yetersiz olmasından ötürü, fungusların protein biyosentezini inhibe edici özellikleri giderek artmaktadır. (Takahashi ve Omura, 2003).

Belirli habitatlardan ve standart izolasyon prosedürlerinin tekrar tekrar kullanılmasından dolayı farklı metabolitleri sentezleme yeteneğine sahip yeni türlerin izolasyonunun yapılamaması yeni bileşiklerin keşfini sınırlayan en önemli sorundur (Tan ve diğ., 2006).

Aktinomisetler yüksek GC içeriğine sahip misel ve spor oluşturmasından ötürü fungus benzeri bakteriler olarak bilinen Gram pozitif bakterilerdir. Bu mikroorganizmalar tarım, ziraat ve diğer endüstri alanlarında kullanılan bileşiklerin doğal üreticisidirler. Bu yüzden farmakolojik araştırmalar ve keşif programlarında uygun biyolojik materyali seçmek için Aktinomisetlerin taksonomisi ile onların biyoaktif bileşik üretme yetenekleri arasındaki ilişkiyi anlamak oldukça önemlidir (Kumar ve diğ., 2007).

Amycolatopsis ve *Nocardia*, Aktinomisetler içerisinde *Streptomyces* cinsinden sonra önemli sekonder metabolit üretme potansiyeline sahip cinslerdir. *Amycolatopsis* cinsi üyeleri vankomisin, rifampisin gibi glikopeptit antibiyotiklerin yanı sıra nogabecin, MI710-detimisin, murasein diğer sekonder metabolitlerin doğal üreticileri olmaları bakımından oldukça önemlidir. *Nocardia* cinsi üyelerinden izole edilen metabolitler insanlarda ve hayvanlarda akciğer, merkezi sinir ve lenf sistemi ajanları olarak iyi bilinmekle birlikte doğal habitatlardan izole edilen üyelerin

nokardisin, tubelaktomisin A ve brasilikardin A gibi ticari önemi olan biyobileşenleri de üretmektedirler (Aoki ve diğ.,1976; Komaki ve diğ.,1999; Igarashi ve diğ., 2000).

Bu çalışmanın amaçları;

- Farklı özelliklere sahip toprak örneklerinden *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsi üyelerinin biyoçeşitliliğine katkı sağlanması,
- İzolatların genotipik, fenotipik ve kemotaksonomik yöntemler kullanılarak cins ve tür düzeyinde tanımlanması,
- Farmakolojik tarama programları için kaynak mikroorganizmaların oluşturulması,
- İzolatların PKS I, PKS II ve NRPS antibiyotik gen bölgeleri bakımından potansiyellerinin belirlenmesi,
- İzole edilecek suşların antibakteriyal aktivitelerinin belirlenerek, antibakteriyal aktivite ile antibiyotik gen bölgelerinin varlığı arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığının ortaya çıkarılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Prokaryotik Sistematik

Prokaryotik sistematik, Archaea ve Bacteria'nın sınıflandırılması, isimlendirilmesi ve tanımlanmasını içeren temel bir disiplindir. Sistematiğin ilk aşaması olan sınıflandırma, organizmaların benzerlik ve farklılıklarına göre taksonomik gruplara ayrılması işlemidir. Sınıflandırma, isimlendirmenin doğru bir şekilde yapılabilmesi ve tanımlamanın güvenilir olması için oldukça önemlidir (Goodfellow ve O'Donnell, 1993).

Genotipik ve fenotipik özelliklere dayalı sınıflandırmaya fenetik sınıflandırma denir. Bu tip bir sınıflandırma prokaryotların ölçülebilen özelliklerini (biyokimyasal morfolojik, fizyolojik, genetik) içermektedir. Fenetik sınıflandırma, herhangi bir ataya veya evrimsel yola dayanmadan organizmalar arasında şu anda var olan ilişkilere dayanır. Bunun aksine filogenetik sınıflandırma, evrimsel olarak çıkarsanan ve zamanla değişiklik gösteren ilişkileri ifade eder (Goodfellow ve O'Donnell, 1993).

Sistematikteki ikinci aşama olan isimlendirme, International Code of Nomenclature of Bacteria'da (Lapage ve diğ., 1975, 1992) belirlenen kurallara göre taksonomik hiyerarşiye (tür, cins, familya v.b.) uygun şekilde organizmalara uluslararası isimlerin tanımlanması işlemidir. Lapage ve araştırma grubu 1975'de prokaryotların isimlendirilmesi için "Bacteriological Code" adı altında iki önemli çalışma gerçekleştirmiştir. İlk olarak isimler için belirleyici bir doküman ve başlangıç tarihi oluşturmak için 1 Ocak 1980'de (Skerman ve diğ., 1980); Approved Lists of Bacterial Names önerildi ve bu tarihten önce yayımlanan isimler bu listeden çıkarılmış, ikinci düzenlemede ise yeni taksa isimleri sadece International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM)'de yayımlanmıştır. Günümüzde uluslararası birkaç dergide de organizma isimleri yayımlanmaktadır ancak bu isimler IJSEM dergisinde yayımlanan doğrulama listesinde (Validation List) belirtilmelidir. İsimlerin doğru bir şekilde kullanılması araştırmacılar ve bilim çevreleri arasında bilginin paylaşılması ve işlenebilmesi açısından önemlidir.

Tanımlama, bilinmeyen bir organizmanın ana karakteristiklerinin ve belirleyici bilgilerinin veritabanlarından karşılaştırılarak pozisyonunun belirlenmesidir. Bu aşamada bilinen grupların dışında olduğu tespit edilen organizmalar belirlenmeli ve yeni bir taksa olarak sınıflandırılmalıdır. Prokaryotik taksonomideki son yaklaşımlar tanımlamada kullanılacak verilerin genotipik, fenotipik, kemotaksonomik, moleküler sistematik ve nümerik yaklaşımlarla değerlendirilmesi gerektiğini bildirmektedir. Yüksek kalitede bilginin elde edileceği bu yaklaşımların bütünü için Colwell (1970), “polifazik taksonomi” terimini önermiştir.

2.2 Polifazik Taksonomi ve Prokaryotik Tür Tanımı

Polifazik taksonomi araştırmacılara, kararlı bir nomenklatür, güvenilir bir tanımlama ve sağlam bir veri seti sunmaktadır (Vandamme ve diğ., 1996; Goodfellow ve diğ., 1997; Gillis ve diğ., 2005; Schleifer, 2009). Polifazik taksonomik çalışmalarda kullanılan bazı veri setleri **Şekil 2.1**'de özetlenmektedir.

Günümüzde polifazik taksonomi yaygın olarak uygulanmasına rağmen mikroorganizmaların genotipik ve fenotipik bilgilerini ortaya çıkaran çok az tanımlayıcı metot seti belirlenebilmiştir. Bu gibi çalışmalar günümüzde çalışma gruplarının özel ilgi alanlarını, laboratuvar donanımlarını ve uyguladıkları prosedürlerini de yansıtmaktadır. Polifazik taksonomi cinsten domaine kadar tüm seviyelerde taksonların doğru düzenlenmesi için gereklidir. Kemotaksonomik ve diğer fenotipik markörler genellikle filogenetik akrabalıkları destekleyen ve doğrulayan veriler sunar. Aslında, bugüne kadar moleküler ve fenotipik verilerin değerlendirilmesi ile tanımlanan neredeyse tüm cinslerde veriler arasında mükemmel bir eşleşme bulunmaktadır (Vandamme ve diğ., 1996; Huang ve diğ., 2001).

Tür, “belirli derecede fenotipik uyum gösteren, % 70 ve yukarısında DNA homoloji değeri veren, 5 °C veya daha az ΔT_m gösteren ve tüm 16S rRNA gen sekansı özdeşliği ile karakterize edilen organizma grubu” olarak tanımlanır (Vandamme ve diğ., 1996; Coenye ve diğ., 2005).

Genotipik Karakterler

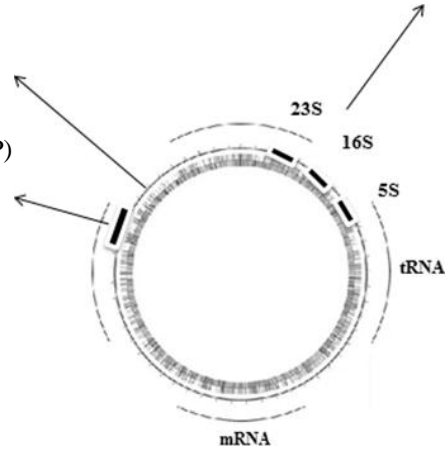
DNA

Genom

- Baz kompozisyonu (% mol G+C)
- Restriksiyon modelleri (RFLP, PFGE)
- Genom büyüklüğü
- DNA-DNA hibridizasyonu
- Tüm genom analizi

DNA Segmentleri

- PCR Tabanlı DNA parmakizi (Ribotipleme, ARDRA, RAPD, AFLP)
- DNA probları
- Gen dizi analizi
- Multigen dizi analizi



RNA

- Baz dizisi
- Düşük molekül ağırlıklı RNA profilleri

Protein

- Hücre ve hücre zarı proteinlerinin elektroforetik modelleri (1D-2D)
- Enzim modelleri (Mütilokus enzim elektroforezi)
- MALDI-TOF

Fenotipik Karakterler

Kemotaksonomik Karakterler

- Yağ asitleri
- Mikolik asitler
- Polar lipidler
- Kinonlar
- Poliaminler
- Hücre duvarı bileşenleri
- Ekzopolisakkaritler

Diğer karakteristikler

- Morfoloji
- Fizyoloji
- Enzim testleri
- Seroloji

Şekil 2.1: Bakteri sistematiklerinde kullanılan genotipik ve fenotipik karakterler (Van damme ve diğ., 1996'dan değiştirilerek).

2.3 Moleküler Sistematik

Archaea ve Bacteria'nın 3.5 milyar yıl önce ortak bir atadan ayrılma ile meydana geldiği bilgisi ve kayıtları son yıllarda prokaryotik sistemattikte ortaya çıkan en önemli gelişmelerdendir (Zuckerlandl ve Pauling, 1965; Woese, 1987). Dizi bilgisi kùltivasyon koşullarından bağımsız veriler olduğu için, moleküler teknikler kullanılarak yapılan sistematik çalışmaların, kemotaksonomik ve nùmerik taksonomik yaklaşımlara nazaran önemli avantajları vardır. Genetik bilginin DNA ve protein dizilerinde kodlanması, bu yaklaşımın prokaryotlar arasındaki doğal ilişkilere yansması ve teknolojik ilerlemelerin bir sonucu olarak moleküler temelli metotlar son yıllarda prokaryotların tanımlanmasında etkili bir yöntem haline gelmiştir (Lerat ve diğ., 2005; Gevers ve diğ., 2006; Koonin, 2009; Jensen, 2010).

2.3.1 16S rRNA geni dizi analizi

16S rRNA genlerinden elde edilen dizi verileri, spesifik taksaların tanımlanması için primer ve oligonùkleotit problemlerin dizayn edilmesinde (Shen ve Young, 2005; Zhi ve diğ., 2006) kùltüre alınabilen (Woese, 1987; Rosselló-Mora ve Amann, 2001; Ludwig ve Klenk, 2005) ve kùltüre alınamayan (Stach ve diğ., 2003a,b; Kumar ve diğ., 2007) prokaryotların sınıflandırılmasında geniş ölçüde kullanılmaktadır.

Aktinomisetlerde taksonomik ilişkileri açıklamak için bazı araştırmacılar 16S rRNA molekülünün değışken bölgelerinin sekanslanması üzerine çalışmalar yapmıştır. Stackebrandt ve diğ. (1991), 16S rRNA'nın birkaç değışken bölgesi (α , β ve γ bölgeleri) ile 23S rRNA'nın heliks 54 bölgesinin bazı *Streptomyces* üyelerinin tanımlanmasında yeterli varyasyonu gösterdiğini belirlemişlerdir. Bununla birlikte, 16S rRNA'nın α ve β değışken bölgelerinin γ değışken bölgesine oranla daha düşük varyasyon göstermesi, cins düzeyinde Aktinomisetlerin filogenetik sınıflandırılması için uygun olduğunu göstermektedir.

16S rRNA gen dizi verileri, DNA Data Japan Bank (DDBJ; Tateno ve diğ., 1998), Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarları Veritabanı (EMBL; Kanz ve diğ., 2005), GenBank Veritabanı (NCBI; Benson ve diğ., 2009) ve Ribosomal Veritabanı Projesi (RDP; Maidak ve diğ., 1997) tarafından tutulmakta ve karşılaştırılmalı taksonomik çalışmalar için kolaylıkla ulaşılabilir. Günümüzde, rRNA dizileri hızlı şekilde depolanabilir ve rRNA dizi verilerine ribozomal veritabanı projesi II (Maidak ve diğ., 1997) ile erişilebilmektedir. Tür içindeki tüm suşların aynı 16S

rRNA gen dizisine sahip olmamasından kaynaklanan tür içi çeşitlilik problemi, her tür için birden fazla dizinin depolanmasını zorunlu kılmaktadır (Clayton ve diğ., 1995). 16S rRNA dizi analizlerinin yakın akraba suşlar arasındaki ayırt ediciliğinin düşük seviyede olmamasına rağmen, bu verilerin prokaryotların taksonomik pozisyonları hakkında doğru bilgiye ulaşmada en etkin yol olduğu kabul edilmektedir. (Goodfellow ve Fiedler, 2010).

2.3.2 Dizi verilerinin analizi ve filogeni

rRNA gen dizilerinin hizalanması filogenetik akrabalıkları belirlemede çok önemlidir. Özellikle homoloji düşükse insersiyon ve delesyonların (örn, indel sekanslar) varlığı hizalamanın doğruluğunu azaltır. İndel dizilerin yerini belirlemek için sekonder yapısal bilgilerin kullanılması zorunludur (Castresana, 2000; Harayama ve Kasai, 2006).

Çok sayıda ağaç yapma metodu, hizalanmış tek bir nükleotit dizisinden atayı çıkarsamak için kullanılabilir. Mesafe (Fitch ve Margoliash, 1967; Saitou ve Nei, 1987) Maximum-parsimony (Fitch, 1971) ve Maximum-likelihood methodları (Felsenstein, 1981) olmak üzere üç ana yaklaşım vardır. Mesafe hesaplamak için en sık kullanılan metot, Jukes ve Cantor (1969) tarafından önerilen bir parametre modelidir. Bu modelde tüm nükleotit pozisyonlarında bağımsız değişimin olduğu kabul edilir ve böylece diğer üç bazın birbirine dönüşmesinde eşit ihtimal vardır. Bu model, baz kompozisyonunun çok fazla değişime uğramadığı önermesine dayanır.

Uzaklık matrisinde veriden ağaç oluşturma, neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) ve weighted least-squares metotlarını (Fitch ve Margoliash, 1967) içeren bazı mevcut ağaç yapma metotlarının kullanımı ile gerçekleştirilir. Aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıklandırılmamış eş karşılaştırma yöntemi (UPGMA-Unweighted pair group method using arithmetic means) gibi kümeleme analizleri filogeninin oluşturulması için en basit yaklaşımlardır. Bu yöntemler, başlangıç bir “clade” (eşkök) yaratmak için en yakın ilişkili iki dizi kullanarak bir ağaç oluşturulur. Bu eşkök ve en yakın diğer rölatif arasındaki ortalama uzaklık hesaplanır ve üç-sınıflı ağaç oluşturulur. Bu üç sınıf arasındaki ortalama uzaklık belirlenir ve süreç tüm diziler eklenene kadar tekrar edilir. Bu yöntem kullanılarak zaman boyunca ağaç geriye dönük olarak oluşturulur. Kümeleme analizleri dal uzunluklarının toplanabilir ve kökten eşit uzaklıkta olduğu ultrametrik uzaklıklara dayalıdır, sonuç tüm birimler ve soylar içinde oran homojenliği gizli varsayımdır. Bu yaklaşım köklü filogeni ile

sonuçlanır. Neighbour-joining metodu teorik olarak kümelenme analizlerine benzer fakat verinin ultrametrik ve tüm hatlarını eşit olarak birbirinden uzaklaştığı varsayımına dayanmaz. Küme analizinin tersine, neighbour-joining metodu taksa ya da taksa kümesinden ziyade ağaç nodlarının hatlarına bakar ve köksüz ağaç oluşturur. Maksimum parsimoni metodu muhtemel ağaç topolojileri arasından en parsimonik ağacı bulmak için kullanılır (Felsenstein, 1981). Tüm değişim sayısının en az olduğu ağaç en parsimonik olandır ve evrimsel olarak en yakın çıkarsamayı verir.

Maksimum-likelihood metodu filogeninin oluşturulmasında çok sağlam istatistiksel bir yoldur (Felsenstein, 1981). Bu yaklaşım verilen bir evrimsel modele dayalı olan her bir düğümdeki her bir özellik durumunun ortaya çıkması olasılığının çarpımın hesaplanması ile verilen bir ağaç topolojisini gözlenen dizi verisine uyum sağlama olasılığını maksimize etmek için çabalar. Moleküler değişimlerin uzun dallar boyunca ortaya çıkmasının, daha kısa dallara göre daha olası olduğu varsayımından yola çıkar.

Ağaçların güvenilirlik derecesi istatistiksel olarak da değerlendirilebilir. Bu probleme yönelik yaklaşımlardan biri bootstrapping olarak adlandırılır. Bootstrap belirli bir ağaç üzerindeki dallardan hangilerinin diğerlerine göre daha desteklendiklerini değerlendiren bir tekniktir. Bootstrapping tahmininde bir dal ne kadar çok kere açığa çıkarsa, bu dalın gerçekte var olduğu konusunda güven artar.

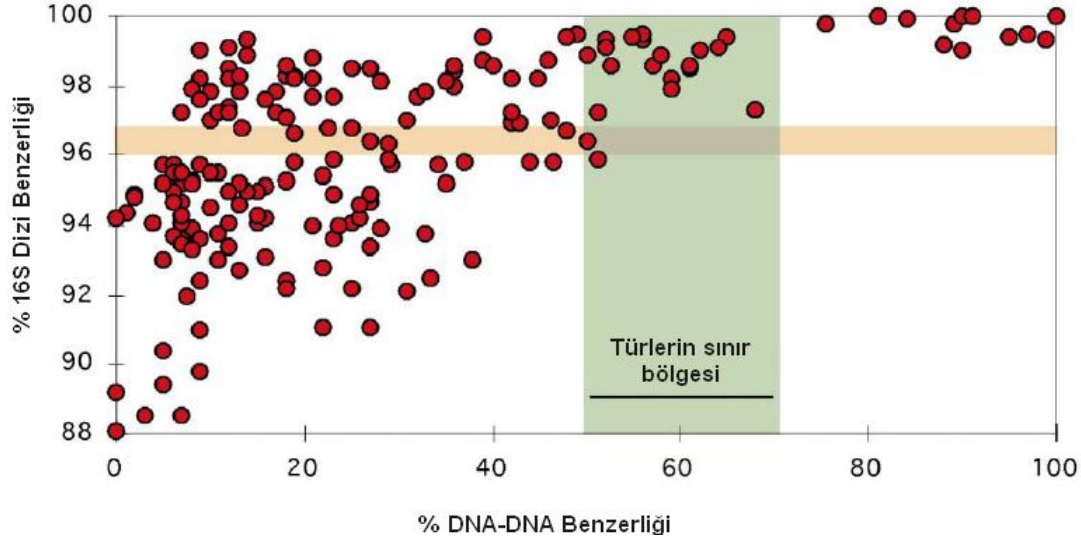
2.3.3 DNA-DNA Hibridizasyonu

DNA ve RNA'nın eşsiz özelliği, onların yeniden birleşme (renatürasyon) kapasiteleridir. DNA'nın komplementer dizileri denatüre olduğu zaman, uygun koşullarda doğal dupleksler olarak tekrar biraraya gelebilirler. Herhangi iki yakın ilişkili prokaryotik organizmanın nükleik asitleri karşılaştırıldığında onların moleküler hibrid ve termal stabilite dereceleri, aralarındaki nükleotit dizi benzerlik dereceleri için önemli veriler sunmaktadır. Teorik olarak bu temel yaklaşımlar, DNA-DNA ilişkilerinin temelini oluşturmaktadır. Prokaryotik çalışmalarda tür tayininde bu tip çalışmaların çerçevesi, ad hoc komitenin belirlediği kriterler ile çizilmektedir (Wayne ve diğ., 1987; Stackebrandt ve diğ., 2002). Wayne ve diğerleri (1987), archaeal ve bakteriyel türlerin filogenetik olarak belirlenmesinde, % 70 ve üzeri DNA-DNA hibridizasyon değeri ve 5 °C ve altında termal denatürasyon farkı (ΔT_m) gösteren suşların aynı genomik türe dâhil edilmesi gerektiğini bildirmektedir.

DNA-DNA hibridizasyon verilerinin deneysel hataya yatkın olduğu çok iyi bilinmektedir (Goodfellow ve diğ., 1997; Schleifer, 2009). Bu veriler iki suşun karşılaştırmalı analizlerini içerdiği için ortak bir veritabanı oluşturmak mümkün değildir (Stackebrandt ve diğ., 2002; Mehlen ve diğ., 2004; Kang ve diğ., 2007).

Son zamanlarda DNA-DNA hibridizasyon derecesini ölçmek için yaygın olarak iki deneysel yaklaşım kullanılmaktadır. Bunlar hibridizasyon bağlanma derecelerinin belirlenmesi (Ezaki ve diğ., 1989) ve termal denatürasyon orta noktasındaki farklılıkların ortaya çıkarılmasıdır (De Ley ve diğ., 1970). Bağlanma stratejisi, yüksek moleköl ağırlıklı tek zincirli fikse edilmiş DNA ile, düşük moleköl ağırlıklı etiketli DNA'nın inkübasyonunu içerir. Termal denatürasyon sıcaklığı ise homolog DNA'ya karşı hibrit DNA dupleksinin termal stabilitesinin tahmin edilmesinde kullanılır. Çift zincirli DNA'nın % 50'sinin tek zincirli DNA'ya denatüre olduğu sıcaklığa erime sıcaklığı veya termal denatürasyon orta noktası denir (T_m). DNA-DNA akrabalığını belirlemek için kullanılan parametre, ΔT_m , referans suşun T_m değeri ile hibrit DNA'sının arasındaki farktır. ΔT_m değerini saptamak için saflaştırılan genomik DNA ile ilgili suşun temsilcisinden elde edilen DNA karışımı denatüre edilir ve optimum sıcaklıkta renatüre olmalarına izin verilir [(T_{or}) De Ley ve diğ., 1970]. T_{or} , De Ley ve diğ., (1970) tarafından tanımlanan çalışmalardaki gibi suşların DNA'larının % G+C mol değerinden belirlenebilir. DNA'nın çift iplikten tek ipliğe dönüşümü, DNA erimesi, 260 nm absorbansdaki değişim ile ölçülebilir (Gonzalez ve Saiz-Jimenez, 2005). Bu teknik; DNA-DNA benzerliğini belirlemek için kullanılan metotlardan daha fazla avantaja sahip, uygulaması kolay, hızlı ve ucuz olup birçok verinin karşılaştırılmasına izin verir. Karşılaştırmalı çalışmalar bağlanma yüzdesini tespitten elde edilen sonuçlar ve ΔT_m değeri genellikle iyi bir uyuma sahiptir (Rosselló-Mora ve Amann, 2001; Gonzalez ve Saiz-Jimenez, 2005).

Bütün kısıtlamalarına rağmen, DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarının, prokaryotik türlerin açıklanmasında hala altın bir standart olduğu düşünülmektedir (Vandamme ve diğ., 1996; Goodfellow ve diğ., 1997; Rosselló-Mora ve Amann, 2001; Kumar ve Goodfellow, 2008). Hibridizasyon çalışmalarının yakın akraba suşlar arasındaki ilişkileri belirlemede 16S rRNA dizi analizi çalışmalarından daha net bir çözüm sunduğu açıktır (Goodfellow ve diğ., 1997; Rosselló-Mora ve Amann, 2001; Kumar ve Goodfellow, 2008). **Şekil 2.2**'de belirtildiği gibi neredeyse aynı 16S rRNA dizisine sahip suşlar DNA-DNA hibridizasyon verileri ile birbirlerinden ayrılabilir.



Şekil 2.2: DNA-DNA hibridizasyon verilerinin 16S rRNA dizi benzerliği ile olan ilişkisi (Rosselló-Mora ve Amann, 2001)

2.4 Kemotaksonomi

Kemotaksonomi, özellikle aminoasitler, lipidler, polisakkaritler, proteinler, isoprenoid kinonlar ve bunlarla ilişkili polimerlerin farklı taksa üyeleri arasındaki dağılımını inceler ve bu bilgiyi sınıflandırma ve tanımlamada kullanır (Goodfellow ve O'Donnell, 1993; Schleifer, 2009). Makromoleküllerin kemotaksonomik analizleri, aminoasitler, peptitler, lipitler (yağ asitleri, mikolik asit, polar lipid v.b.), polisakkaritler ve bunlarla ilişkili polimerler (şekerler ve teikoik asitler v.b.) taksonomik hiyerarşinin çeşitli kademelerinde prokaryotların sınıflandırılması için önemli veriler sunmaktadır (**Çizelge 2.1**). Aminoasit, hücre duvarı şeker kompozisyonu ve peptidoglikan yapılarının belirlenmesi aktinomisetlerin sistematiğinin yeniden değerlendirilmesini sağlamıştır (Williams ve diğ., 1989; Goodfellow ve Fiedler, 2010).

Son yıllarda sodyum dodesil-sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE: Lanoot ve diğ., 2005), hareketin matris destekli salınım/iyonizasyon zamanı (MALDI-TOF; Siegrist ve diğ., 2007) kullanılarak yapılan protein analizleri, başta aktinomiset olmak üzere bazı bakterilerin sınıflandırmasında değerli veriler ortaya koymaktadır. Genelde, kimyasal markırların dağılımı ile 16S rRNA gen ağaçlarındaki filetik hatlar arasında iyi bir uyum vardır (Chun ve Goodfellow, 1995; Ward ve Goodfellow, 2004; Goodfellow ve Fiedler, 2010).

Çizelge 2.1: Prokaryotları tanımlamada kullanılan taksonomik araçlar ve bunların ayırım kabiliyeti (Van damme, 1996).

Hücre bileşenleri	Analiz	Taksonlar		
		Cins ve Üzeri	Tür	Alttür
Kromozomal DNA	% G+C Baz Kompozisyonu	✓	✓	
	DNA-DNA hibridizasyonu		✓	✓
	Restriksiyon Çalışmaları (RFLP, Ribotipleme v.b.)		✓	✓
DNA kısımları	DNA Probları	✓	✓	✓
	DNA Dizi Analizi	✓	✓	✓
	Mültilokus Dizi Analizi		✓	✓
	PCR tabanlı DNA parmakizi (PCR-RFLP, RAPD)		✓	✓
Proteinler	Aminosit dizileri	✓	✓	
	Elektroforetik Analizler		✓	✓
	Mültilokus Enzim Elektroforezi			✓
	Serolojik karşılaştırma	✓	✓	✓
	MALDI-TOF	✓	✓	✓
Kimyasal markırlar	Yağ asitleri	✓	✓	
	İzoprenoid kinonlar	✓	✓	
	Mikolik asitler	✓	✓	
	Peptidoglikanlar	✓		
	Polar lipitler	✓	✓	
	Poliaminler	✓		
	Plisakkaritler	✓	✓	
	Teikoik asitler	✓	✓	
Tüm organizma	Piroliz kütle spektrometresi		✓	✓
	Hızlı enzim testleri		✓	✓

2.5 Nümerik Taksonomi

Nümerik taksonomi çalışmalarında sınıflandırılan organizmalar işlevsel taksonomik üniteler (OTU'ler) olarak ifade edilir. Çalışmalarda toplam suş miktarının yaklaşık % 10'u duplike olarak çalışılır ve testlerin tekrarlanabilirliğinin kontrolü sağlanmış olur (Sneath ve Johnson, 1972). Genetik olarak stabil, çevresel değişimlere bağımlı olmayan ve deneysel ya da gözlemsel belirsizliklere özellikle duyarlı olmayan fenotipik karakterler tercih edilir. Genel prosedür tüm genomu (genotip ve fenotip) ifade etmek için biyokimyasal, kültürel, morfolojik, besinsel ve fizyolojik karakterlerin seçimini yapmaktır. Taksonlar arasındaki ayırım için yeterli bilgiye sahip olmak önemlidir, en azından 50 ve tercihen 100 ya da 200 ünite karakter

çalışılmalıdır (Sneath ve Sokal, 1973; Stackebrandt ve diğ., 1997). Çoğu karakter ünitesi ikili ya da iki aşamalı olma eğilimindedir; 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.

Birçok benzerlik katsayısı organizma çiftleri arasındaki akrabalıkları tahmin etmek için kullanışlıdır. En yaygın kullanılan iki tanesinden biri Jaccard (SJ; Jaccard, 1908) ve diğeri basit karşılaştırma katsayısıdır (SSM; Sokal ve Michener, 1958). SSM katsayısı hem pozitif hem de negatif sonuçları eşdeğerde benzerliğe dayanarak benzerlik hesaplanmasında kullanılır. Böylece toplam karşılaştırılma sayısının karakter ünitesinin toplam sayısına oranının analizi yapılır. SJ katsayısı ile negatif sonuçlar karşılaştırmada göz ardı edilir. Bu nedenle pozitif karşılaştırılmanın toplam sayısının negatif karşılaştırılmaları katılmadan karakterlerin toplam sayısına oranını ölçer.

Aynı test organizmaları için hem SJ hem de SSM katsayılarını kullanmak iyi bir uygulamadır. SJ katsayısı, genellikle negatif korelasyona dayanmayan SSM katsayısı kullanılarak belirlenen akrabalıkları kesinleştirmek için uygulanır. Genelde çok sayıda negatif karakterlere sahip olduklarından OTU'lerin benzer olmadıkları düşünülür. SJ katsayısı özellikle hızlı ve yavaş gelişen organizmaların karşılaştırıldığı çalışmalarda kullanışlıdır (Whitham ve diğ., 1993; Trujillo ve Goodfellow, 2003). Çünkü daha sonra negatif sonuçların oransızlık sayılarını verebilir. OTU'ler hiyerarşik ya da hiyerarşik olmayan kümeler kullanılarak tüm yüksek fenotipik benzerliklere dayanarak gruplara tasnif edilebilir. Bu gibi metotlar suşların kümeler içerisinde gruplandırıldığı (taxospecies) ya da gruplar içinde toplandığı (cins) düzenli sınıflandırılmanın üretilmesi için kullanılırlar.

Nümerik taksonominin ana amacı geniş fenotipik veri seti kullanarak tek suşları homojen grup ya da kümelere (taxospecies) yerleştirmektir. Nümerik taksonomi aktinomisetlerin sınıflandırılmasında önemli gelişmelere öncülük etmiştir. Nümerik taksonomi araştırmaları *Actinomadura* (Athalye ve diğ., 1985), *Actinomyces* (Schofield ve Schaal, 1981), *Actinoplanes* (Goodfellow ve diğ., 1990), *Corynebacterium* (Goodfellow ve diğ., 1982), *Gordonia* (Goodfellow ve diğ., 1999), *Nocardia* (Goodfellow ve diğ., 1999), *Mycobacterium* (Wayne ve diğ., 1996), *Rhodococcus* (Goodfellow ve diğ., 1998), *Streptomyces* (Williams ve diğ., 1983; Kämpfer ve diğ., 1991), *Streptosporangium* (Whitham ve di., 1993) ve

Thermomonospora (Mc Carthy ve Cross, 1984) cinsleri gibi taksonomik olarak kompleks aktinomiset taksonlarında taksotürlerin sınırlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

2.6 Prokaryotik Çeşitlilik

Doğal habitatlardaki sayıları $4-6 \times 10^{30}$ olarak tahmin edilen (Whitman ve diğ., 1998) prokaryotların, bir gram toprak örneğinde, 2000—8.300.000 tane olduğu bildirilmektedir (Torsvik ve diğ., 2002; Fierer ve Jackson, 2006). Bununla birlikte doğru bir şekilde tanımlanmış ve kayıt altına alınmış 10.000 civarında prokaryotik türün mevcut olmasına rağmen ([URL-1](#)) doğal habitatlardan büyük bir çoğunluğunun (% 90-99) hala tanımlanmayı beklediği şaşırtıcı bir gerçektir (Zengler ve diğ., 2002; Rappé ve Giovannoni, 2003; Schloss ve Handelsman, 2004). Bu durum, aktinomisetleri de içeren prokaryotik türlerin biyoçeşitliliği ve doğal habitatlarındaki rolleri hakkında çok az şey bilindiğini de göstermektedir (Bull ve diğ., 2000).

Biyoteknolojik araştırma ve keşif programları öncelikle biyoçeşitliliğin ortaya konması ve uygun biyolojik materyalin seçilmesi ile başlar, ekonomik ve yararlı ürünün elde edilme yöntemlerinin geliştirilmesi ile devam eder (Bull ve diğ., 2000; Goodfellow ve Fiedler, 2010). Prokaryotların primer ve sekonder metabolizması sonucunda çeşitli doğal ürünlerin sentezi (özellikle sekonder metabolitlerin) gerçekleşir (Bérdy, 1995, 2005; Strohl, 2004). En iyi bilinen sekonder metabolitler antibiyotiklerdir. Yeni nesil antibiyotikler geliştirilmiş farmakolojik özellikleri ile mevcut ilaçlara dirençli bakteri ve funguslara mücadelede güvenilir sonuçlar sağlarlar (Payne ve diğ., 2007; Fischbach ve Walsh, 2009).

2.7 Aktinomisetler ve Doğal Ürünler

Prokaryotlar içinde filamentli aktinomisetler (özellikle *Streptomyces* cinsi) yeni antibiyotiklerin en üretken kaynağıdır (Bérdy, 2005; Goodfellow ve Fiedler, 2010). Tüm genom dizisi belirlenen *Amycolatopsis mediterranei* U32 (Zhao ve diğ., 2010), *Saccharopolyspora erythraea* NRRL 23338 (Oliynyk ve diğ., 2007), *Salinispora tropica* CNB 440 (Udwary ve diğ., 2007), *Streptomyces avermitilis* (Ikeda ve diğ., 2003) ve *Streptomyces coelicolor* A3(2) (Bentley ve diğ., 2002) türlerinde olduğu gibi, model aktinomisetlerin 20'den fazla biyosentetik gen kümesi içerdiği rapor edilmiştir. Yeni gen kümelerinin belirlenmesi, farklı türlere ait tüm

genom analizlerinin tamamlanmasına paralel olarak artacaktır (Goodfellow ve Fiedler, 2010).

Aktinomisetlerin 10.000'in üzerinde biyoaktif bileşiği ürettiği bilinmektedir. Bunların 7.600 kadarı *Streptomyces*'ler tarafından, kalanı ise *Streptomyces* cinsi üyesi olmayan organizmalar tarafından üretilmektedir (Lazzarini ve diğ., 2000). Bu şaşırtıcı orana rağmen şu ana kadar keşfedilen metabolitler aktinomisetlerin potansiyelinin sadece küçük bir kısmını kapsamaktadır (Watve ve diğ., 2001). Farklı mikrobiyal gruplardan sentezlenen antibiyotiklerin ve diğer biyoaktif bileşenlerin sayısı **Çizelge 2.2**'de sunulmaktadır.

Çizelge 2.2: Bakteri ve fungus tarafından sentezlenen antibiyotik ve diğer metabolitlerin sayısı (Berdy, 2005).

Kaynak	Antibiyotikler		Biyoaktif metabolitler		Toplam Biyoaktif Metabolit
	Toplam	Diğer aktiviter ile	Antibiyotik aktivitesi olmayan	Antibiyotik+ Diğer biyoaktiviter	
Bacteria:	2900	(780)	900	(1680)	3800
Eubacteriales	2170	(570)	580	(1150)	2750
<i>Bacillus</i> sp.	795	(235)	65	(300)	860
<i>Pseudomonas</i> sp.	610	(185)	185	(370)	795
Myxobacteria	400	(130)	10	(140)	410
Cyanobacteria	300	(80)	340	(420)	640
Actinomycetales:	8700	(2400)	1400	(3800)	10100
<i>Streptomyces</i> sp.	6550	(1920)	1080	(3000)	7630
Nadir aktinomisetler	2250	(580)	220	(800)	2470
Fungus	4900	(2300)	3700	(6000)	8600
Mikroskobik fungus	3770	(2070)	2680	(4750)	6450
<i>Penicillium/Aspergillus</i>	1000	(450)	950	(1400)	1950
Basidiomycetes	1050	(200)	950	(1150)	2000
Mayalar	105	(35)	35	(70)	140
Küfler	30	(5)	20	(25)	60
Toplam	16500	(5500)	6000	(11500)	22500

Aktinomisetler tarafından üretilen antibiyotikler **Çizelge 2.3**'te görüldüğü gibi, geniş bir kimyasal çeşitlilik göstermektedir. *Streptomyces* cinsi üyeleri ansa-laktam halkaları, makrosiklik laktonlar, polieter ve siklopeptit iskeletler gibi (Bérdy, 1995, 2005), spesifik yapıdaki antibiyotikleri içeren çok çeşitli kimyasal yapıları sentezleyebilmektedir. Ancak *Actinoplanes* ve *Amycolatopsis* ve *Nocardia* gibi aktinomisetler vancomycin benzeri glukopeptitlerin zengin kaynaklarıdır (Wink ve diğ., 2003).

Aktinomisetlerde özellikle tür seviyesindeki taksonomik çeşitlilik, kimyasal çeşitliliğin yerine kullanılabilir (Goodfellow ve diğ., 2007; Tan ve diğ., 2007). Bu durum yeni aktinomiset türlerinin aynı zamanda yeni biyoaktif biyobileşenlerin potansiyel kaynağı olması tezini doğrulamaktadır (Jensen, 2010). Bu sonuç ise farmakolojik tarama programları için yeni aktinomisetlerin seçici izolasyon ve karakterizasyon stratejilerinin geliştirilmesinin, patojen organizmalar ile mücadelede günümüzde yeni sekonder metabolitlere duyulan ihtiyaçtan dolayı, her zamankinden daha önemli bir konuma getirmiştir (Lazzarini ve diğ., 2000; Goodfellow ve Fiedler, 2010).

Çizelge 2.3: Aktinomisetlerden izole edilmiş antibiyotikler (URL-2).

Aktinomisetler	AG	ML	AML	BLA	PEP	GP	ANC	TC	NUC	POL	QN
<i>Streptomyces</i>											
Diğer aktinomisetler:											
<i>Actinomadura</i>											
<i>Actinoplanes</i>											
<i>Actinosynnema</i>											
<i>Ampullariella</i>											
<i>Amycolatopsis</i>											
<i>Dactylosporangium</i>											
<i>Kibdelosporangium</i>											
<i>Kitasatospora</i>											
<i>Microbispora</i>											
<i>Micromonospora</i>											
<i>Microtetraspora</i>											
<i>Nocardia</i>											
<i>Nocardopsis</i>											
<i>Nonomuraea</i>											
<i>Pseudonocardia</i>											
<i>Rhodococcus</i>											
<i>Saccharomonospora</i>											
<i>Saccharopolyspora</i>											
<i>Saccharothrix</i>											
<i>Streptoalloteichus</i>											
<i>Streptosporangium</i>											
<i>Thermomonospora</i>											

Kısaltmalar: AG, aminoglikozit; ML, makrolit; AML, ansamakrolit; BLA, β -laktam; PEP, peptit; GP, glikopeptit; ANC, ansadiklin; TC, Tet-rasiklin; NUC, nükleotit; POL, polyen; QN, kuinin; ML; AML (Okami ve Hotta, 1988).

Actinokineospora, *Acrocarpospora*, *Actinosynnema*, *Amycolatopsis*, *Catenuloplanes*, *Cryptosporangium*, *Dactylosporangium*, *Kineospora*, *Kutzneria*, *Microbispora*, *Microtetraspora*, *Nonomuraea*, *Thermomonospora*, *Pseudonocardia*,

Thermobifida, *Saccharomonospora*, *Spirilliplanes*, *Streptosporangium* ve *Virgosporangium* cinslerinde örnekleri görüldüğü gibi, aktinomisetler yeni antibiyotiklerin sentezi için tahmin edilenden daha fazla potansiyele sahiptir (Hayakawa, 2000). Eritromisin üreten, *Saccharopolyspora erythraea* (Oliynyk ve diğ., 2007), gentamisin üreten *Micromonospora purpurea* (Wagman ve Weinstein, 1980), rifamisin üreten *Amycolatopsis mediterranei* (Jin ve diğ., 2002), brasilidin A üreten *Nocardia brasiliensis* (Shigemori ve diğ., 1998) teikoplanin üreten *Actinoplanes teichomyceticus* (Somma ve diğ., 1984; Jung ve diğ., 2009) ve vankomisin üreten *Amycolatopsis orientalis* (Wink ve diğ., 2003) v.b. örnekler diğer aktinomisetlerin biyoteknolojik önemi olan biyoaktif ürünlerin elde edilmesindeki önemini ortaya koymaktadır.

2.8 Ribozomal Olmayan Peptitler ve Poliketitler

Ribozomal olmayan peptid antibiyotikler geniş bir biyoaktif ürün grubudur ve ziraat ve eczacılıkta yaygın olarak kullanılmaktadır. Nonribosomal Peptid Sentetaz (NRPS; von Döhren ve diğ., 1999) adlı modüler ve çok fonksiyonlu enzimlerce üretilirler. Peptidlerin çoğu, NRPS (Marahiel ve diğ., 1997) tarafından sentezlenir. Bir NRPS modülü, nonribosomal peptitlerin modifikasyonu ve elongation'u için temel olan 3 domain içerir. Bunlar, aminoasit tanıma ve aktivasyon domaini Adenilation Domain (A), peptidyl taşıyıcı protein (PCP) ve peptid bağlarının oluşumu için Condensation domaini (C) (Stachelhaus ve diğ., 1998)'dir.

Poliketidler, poliketid sentaz ile açıl CoA öncüllerinden sentezlenen, mikroorganizma ve bitkilerde bulunan doğal ürün ailesidir (PKS'ler; Shen, 2003). Sadece iki önemli tip I ve tip II poliketid sentaz ile üç PKS sistemi tanımlanmıştır (Malpartida ve Hopwood, 1984; Funa ve diğ., 1999; Liou ve diğ., 2003). Tip I PKS sistemleri, çok fonksiyonlu enzimlerdir ve erythromycin A gibi, indirgenmiş poliketidlerin biyosentezinden sorumludur (Staunton ve Weissman, 2001). Tip II PKS sistemleri ise tek bir aktif bölgeye sahip çoklu enzim kompleksleri olup, tetracenomycin gibi aromatik poliketidlerin biyosentezinden sorumludur (Shen, 2003).

Bu iki tip sekonder metabolit, terapötik derecede önemli ve geniş bir biyolojik aktivite göstermektedir ve antimikrobiyal, antifungal, antitümör ve immün baskılayıcı ajan olarak kullanılmaktadır (Ansari ve diğ., 2004). Örneğin, PKS-I biyosentetik kümeleri, avermektin, eritromisin, nidamisin, nystatin, oleveomisin,

pikromisin, pimarisin, rapamisin ve rifamisin gibi antibiyotiklerin sentezinde görev alır. Benzer şekilde, nonribosomal peptid sentetazların aktinomisin, balhimisin, sefamisin, kloroeremomisin, pristinamisin ve vankomisin sentezinde yer aldığı bilinmektedir (Ayuso-Sacido ve Genilloud, 2005).

Poliketid ve nonribosomal peptid sentaz gen kompleksleri, oldukça ilgi çekicidir ve yeni biyoaktif bileşenlerin keşfi için büyük öneme sahiptir. Ayrıca klasik tarama prosedürlerinde, bu biyosentetik genler, poliketidlerde basit yağ asitlerini polimerize edebilen enzimleri üretmek için, gen mühendisliği araçları ile genlerin yönlendirilmiş manipulasyonları için bir kaynak sağlamaktadır (Hutchinson, 2003).

Aktinomisetler, PKS'ler ve NRPS genleri için geniş ölçüde taranmaktadır (Metsä-Ketelä ve diğ., 1999, Metsä-Ketelä ve diğ., 2002; Shen, 2003; Ayuso ve diğ., 2005; González ve diğ., 2005). *Pseudonocardia* ailesi üyeleri, varolan yeni biyosentetik sistemlerle ilişkili olarak, antimikrobiyal aktivite gösterdiği için, yüksek oranda aktif olarak bulunmaktadır (González ve diğ., 2005). Sefamisin kaynağı *Amycolatopsis lactamdurans* (Ayuso-Sacido ve Genilloud, 2004), ve rifamisin kaynağı *Amycolatopsis mediterranei* (Tang ve diğ., 1998; Xu ve diğ., 2003) sırasıyla ribozomal olmayan peptid sentetaz ve tip I poliketid sentaz genlerinin metabolik yollarına göre sentezlendikleri ayrıntılı olarak bilinmektedir.

2.9 *Amycolatopsis* Cinsi

Amycolatopsis cinsi yanlış sınıflandırılmış nokardioform aktinomisetleri (*Streptomyces*, *Nocardia*, *Actinomyces*) gruplandırmak için ilk defa Lechevalier ve diğ. (1986) tarafından önerilmiştir.

Amycolatopsis cinsi, *Actinopolyspora* (Gochner ve diğ., 1975), *Kibdelosporangium* Shearer ve diğ. 1986, *Prauserella* (Kim ve Goodfellow 1999), *Pseudonocardia* (Hennessy 1957), *Saccharomonospora* (Nonomura ve Ohara 1969), *Saccharopolyspora* (Lacey ve Goodfellow 1975), *Thermobispora* (Wang ve diğ. 1996) ve *Thermocrispum* (Korn-Wendisch ve diğ. 1995) cinslerini de içeren *Pseudonocardia* ailesi içerisinde sınıflandırılır ve yakın zamanda yayımlanmış isimleriyle beraber 61 tür ve 4 alttür içerir (URL-3).

Cinsin üyeleri aerobik, Gram reaksiyonu pozitif, katalaz pozitif, non-acid fast, hücre duvarı peptidoglikanında mezo-diamino-pimelik asit, arabinoz ve galaktoz içeren, diagnostik fosfolipit olarak fosfatidiletanolamin içeren, mikolik asitlerden

yoksun, dallanmış substrat miselyum (0.2-2µm) oluşturan hareketsiz aktinomisetlerdir. Spor zincirleri vejetatif hifler üzerinde oluşur.

Amycolatopsis suşları, A1γ tip peptidoglikan (Schleifer ve Kandler, 1972), N-asetil muramik asit (Uchida ve diğ., 1999)'e sahiptir. Düz zincirde, tekli doymamış, iso, anteiso- ve 10-metil dallanmış doymuş yağ asitlerince zengindir (Yassin ve diğ., 1993). *Amycolatopsis* üyeleri, fosfatidiletanolamin (fosfatidilmetiletanolaminli ve fosfatidilmetiletanolaminsiz) ve difosfatidilgliserol, fosfatidil-inozitol ve fosfatidilinozitolmannozitlerin (fosfolipit tip II sensu Lechevalier ve diğ., 1977) oluşumu ile fosfatidilgliserol içerir. İsooprenolog olarak, 9 izopiren ünitesiyle di-, tetra- ve hekza hidrojenli menaquinonleri içerirler (Yassin ve diğ., 1993). DNA guanin+sitozin (G+C) içeriği % 66-72'dir.

2.9.1 *Amycolatopsis* cinsinin biyoteknolojik önemi

Selman Waksman'ın *Streptomyces griseus*'un streptomisin'i ürettiğini keşfettiğinden bu yana, çok sayıda aktinomiset izole edilmekte ve taranmaktadır. (Watve ve diğ., 2001). Başlangıçta araştırma ve keşif programları, izolasyon ortamında çabuk yetişip, kolayca izole edilebildiği için, streptomisetlere odaklanma eğilimindeydi. *Streptomyces* cinsi üyeleri üzerine yapılan çalışmalar, *Streptomyces antibioticus*'dan actinomisin (Waksman ve Woodruff, 1941), *Streptomyces fradiae*'den neomisin (Waksman ve Lechevalier, 1949) gibi birçok yeni antibiyotik keşfini mümkün kılmıştır. Sonrasında yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi *Amycolatopsis* gibi diğer cinsler de farmakolojik keşif programlarının ilgi çekici materyali olarak belirmektedir.

Amycolatopsis cinsi üyeleri, rifamisin ve vankomisin antibiyotiklerinin kaynağı olarak bilinmesinin yanı sıra, biyoteknolojik önemi olan yeni biyoaktif bileşenlerin üreticileri olarak son zamanlarda dikkatleri üzerine çekmektedir (Tang ve diğ., 1998; Wink ve diğ., 2003; Xu ve diğ., 2003). Glikopeptid bir antibiyotik olan Vankomisin, ilk defa *Amycolatopsis orientalis* strain M43-05865 - Eli Lilly ve Co; 'den izole edilmiştir. Bu bileşikler peptidoglikan sentezini inhibe eder, enterococci ve staphylococci'nin neden olduğu şiddetli bakteri enfeksiyonlarına müdahalede klinik olarak kullanılmaktadır. Rifamisin, rifamisin A, B, C, D ve E (Margalith ve Beretta, 1960) ismiyle en az 5 bileşenli bir kompleks olarak ilk defa *Amycolatopsis mediterranei*'den izole edilmiştir. Bu bileşik DNA-bağımlı RNA sentezini inhibe eden ansamycin antibiyotikidir. Rifamisin'in bir analogu olan Rifampisin, Gram (+)

ve Gram (-) bakterilere karşı aktiftir. Tüberküloz, lepra ve AIDS-ilişkili mikobakteriyal enfeksiyonların (Floss ve Yu, 2005) tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. *Amycolatopsis* suşlarınınca üretilen sekonder metabolitlerin bazıları, Çizelge 2.4’de sunulmaktadır.

Çizelge 2.4: *Amycolatopsis* cinsi üyelerince üretilen biyoaktif bileşenler (Birner ve diğ., 1972; Ghis-alba ve diğ., 1979 ; Mertz ve Yao, 1993; Pelzer ve diğ., 2001; Wink ve diğ., 2003).

Organizma	Metabolit	Bileşen Sınıfı
<i>A. alba</i> <i>A. azurea</i>	Oktakosamisin Azureomisin A ve B	Glikopeptit antibiyotik Antifungal poliketit antibiyotik
<i>A. balhimisina</i> <i>A. coloradensis</i> <i>A. fastidiosa</i> <i>A. japonica</i>	Balhimisin Avoporasin LL-AV290 Antibiyotik 41,034 and 41,494 (S,S)-N,N'- ethylene-diaminedisuccinic acid	Glikopeptit antibiyotik Glikopeptit antibiyotik Glikopeptit antibiyotik Makrobisiklik peptide Fosfolipaz C'yi inhibe eden
<i>A. keratiniphila</i> subsp. <i>nogabecina</i> ' <i>A. lactamadurans</i> '	Dethymisin Nogabesin Cephamsin Efrotomin 3-methylpseudouridin	Immunosuppressant Glikopeptit antibiyotiks β -laktam antibiyotik β -izomer Polieter
<i>A. lurida</i> (previously <i>A. orientalis</i> subsp. <i>lurida</i>)	Ristocestin Benzanthrin	Glikopeptit antibiyotik Quinone antibiyotik
<i>A. mediterranei</i>	Rifamisin B, G, L, O, SV, W, Y Proansamisin B-M1 31-homorifamisin W Kanglemisin A Protorifamisin Balhimisin	Ansamisin- tip antibiyotiks Ansamisin ilişkili antibiyotik Ansamisin- tip antibiyotik Ansamisin-tip antibiyotik Ansamisin biyosentezi arabasamakları Glikopeptit antibiyotik Ansamisin antibiyotik
<i>A. mediterranei</i> var. <i>kanglensis</i> ' 1747-64 <i>A. mediterranei</i> N813	Kanglemisin A Protorifamisin I Proansamisin B-M1 Protorifamisin I-M1	 Ansamisin antibiyotiks
<i>A. mediterranei</i> 51F6 <i>A. mediterranei</i> R-21 <i>A. orientalis</i>	MI710-dethymicin 3-hydroxyrifamisin S Quartromicin Vancomisin Muraceins	Immun-baskılayıcı Ansamisin antibiyotik Makrosiklik antibiyotik Glikopeptit antibiyotik Angiotensin-değiştiren enzim inhibitörü
<i>A. orientalis</i> ATCC 53550	UK-69,753	Efrotomisin ve faktumisin ilişkili
<i>A. orientalis</i> NCIB 12608 <i>A. orientalis</i> NRRL 15232 <i>A. orientalis</i> Q427-8 <i>A. tolypomisina</i>	MM47761, MM49721 N-demethylvancomisin Quartomisin A1, A2, A3, D1, D2, D3 Tolypomisin	Glikopeptit antibiyotik Vancomisin analogu Antiviral antibiyotik Ansamisin-tip antibiyotik

2.10 *Nocardia* cinsi

Fransız bir veteriner olan ve 1888'de beyin hasarına neden olan aerobik bir aktinomiseti tanımlayan Edmond Nocard'ın ismine atfen *Nocardia* ismi ile anılan cinsin üyeleri, aerobik, Gram reaksiyon pozitif, kısmi asit-fast, hareketsiz, filamentli ve yüksek GC içeriğine sahip bakterileri içeren bir gruptur. Edmondun izole ettiği aktinomiset 1889'da İtalyan bilim adamı Trevisan tarafından karakterize edilmiş ve cinsin tip türü *Nocardia farcinica* olarak adlandırılmıştır. Daha sonraki yıllarda cinsin en yaygın tanımlayıcı suşu olan *Nocardia asteroides* ATCC 19247^T International Judicial Commission tarafından yeni tip türü olarak kabul edilmiştir.

Corynebacterineae subordosu içinde homojen bir küme olarak beliren *Nocardiaceae* ailesi üyesi *Nocardia* türleri, 40-62 karbonlu kısa zincirli mikolik asitler içerir ve mezo-diaminopimelik asit, arabinoz ve galaktozdan oluşan tip IV hücre duvarı kemotipine sahiptir. Bağışıklık sistemi kuvvetli ve zayıf bireyleri enfekte edebilen bazı türler ile birlikte *Nocardia* üyeleri toprak mikroflorasında, deniz suyunda ve kısmen bitki materyalleri, toz ve havada geniş ölçüde dağılım göstermektedir. Cinsin türleri arasında deri ve solunum sistemi ile iltihabi ve tahriş edici enfeksiyon ajanları bulunmakta olup bunlar bir veya birkaç organı enfekte ederek Nokardial enfeksiyon adı altında geniş dağılım göstermektedir (Brown-Elliott ve diğ., 2006).

Günümüzde fenotipik ve moleküler analizlerle 100 tane *Nocardia* türü karakterize edilmiştir (URL-4). Bu türlerin önemli bir kısmı insanlarda ve hayvanlarda akciğer, merkezi sinir sistemi ve cildi etkileyen klinik hastalıkların etkenidirler (**Çizelge 2.5**).

Nocardia cinsi 16S rRNA benzerliklerine göre iki alt gruba ayrılır. Bu gruplardan ilki *Nocardia otitidiscaviarum* ile diğeri *Nocardia asteroides* ile benzerlik göstermektedir. İkinci alt grup olan *N. asteroides* insan patojeni olan *N. brevicatena*, *N. carnea*, *N. brasiliensis*, *N. farcinica* ve *N. transvalensis* türlerinin de bulunduğu klinik önemi olan bir alt gruptur (Chun ve Goodfellow, 1995).

Çizelge 2.5: *Nocardia* üyelerinin neden olduğu hastalıklar (Chopra ve diğ., 1985; Singh ve diğ., 2001)

Türler	İlişkili Hastalıklar		
	Kutanöz (Deri ile ilişkili)	Pulmonar (Akciğer ile ilişkili)	Sistemik
<i>N. abscessus</i>		+	+
<i>N. paucivorans</i>		+	+
<i>N. nova</i>		+	+
<i>N. africana</i>		+	
<i>N. veterana</i>		+	
<i>N. transvalensis</i>		+	+
<i>N. farcinica</i>		+	+
<i>N. asteroides</i>	+	+	+
<i>N. brasiliensis</i>	+		
<i>N. asiatica</i>		+	
<i>N. beijingensis</i>	+	+	+
<i>N. cyriacigeorgica</i>		+	+
<i>N. higoensis</i>		+	+
<i>N. niigatensis</i>	+		
<i>N. otitidiscaviarum</i>	+	+	+
<i>N. pseudobrasiliensis</i>		+	+

Nocardia cinsi üyeleri, toprak süspansiyonlarından antifungal ve antibakteriyal antibiyotik ilaveli DST (Diagnostic Sensitivity Test) Agar yüzeyinden ayrıca nalidixic acid ve neomycin ilave Humic Acid Vitamin Agar yüzeyinden izole edilebilmektedir (Orchard ve diğ., 1977; Hayakawa ve Nonomura, 1987). Besiyerlerinde 28 °C’de 21 gün inkübasyon sonunda pembeden kahveye dönen renkte beyaz sporlu koloniler görülmektedir. *Nocardia* türleri aynı zamanda nütrient, glikoz yeast ekstrakt agar (Waksman, 1950), ISP2, Bennett’s agar (Jones, 1949), gibi birçok laboratuvar besiyerinde rahat gelişim göstermektedir.

2.10.1 *Nocardia* cinsinin biyoteknolojik önemi

Yapılan birçok çalışmada *Nocardia* türlerinin antibiyotik üretici olduğu bildirilmiştir. Patojen bir organizma olan *Vibrio damsela* gelişimini inhibe etme potansiyeline sahip 16 aktinomiset cinsi üyesi suş ile yapılan çalışmada en geniş inhibisyon zonunu *Nocardia brasiliensis* oluşturmuştur (El-sersy ve Abou-Ellela, 2006). Bu tür ile ilgili yapılan çalışmalarda, brasilikardin A olarak adlandırılan indol alkaloid ile, brasiliquinon A, B, C29 olarak adlandırılan sitotoksik antifungal ve antibakteriyal antibiyotikleri sentezlediği rapor edilmiştir. Ayrıca *Nocardia transvalensis* IFM

10065 türünden tiazolin çinko kompleksi bir antibiyotik olan Transvalensin A'nın sentezlendiği bildirilmiştir (Hoshino, 2004). Yapılan diğer bir çalışmada Kırmızı bir alg olan *Laurenica spectabilis*'in üzerinden izole edilen *Nocardia* sp. ALAA 2000 suşunun kültürasyonu ve kimyasal analizi sonucunda klorinasyon ve nadir nitro grupları içermesi bakımından benzer özellik gösteren ve Gram-pozitif, Gram-negatif bakteri ve funguslara karşı 0.1-10 µg/ml arasında MIC değeri gösteren chrysophanol 8-methyl ether , asphodelin; 4,7- Bichrysophanol, justicidin B, ayamycin; 1,1-dichloro-4-ethyl-5-(4-nitro-phenyl)-hexan-2-one bileşiklerinin sentezlendiği ortaya konmuştur (Mervat ve diğ., 2008).

Günümüzde farmakolojik tarama programlarında yüksek kalitede biyoaktif bileşiklerin keşfinde potansiyel kaynak olan aktinomisetlerin farklı habitatlardan seçici izolasyonu ve karakterizasyonu için yeni prosedürlerin geliştirilmesi önem kazanmıştır (Bull ve diğ., 2000). Farklı ekolojik çevrelerden izole edilecek yeni *Amycolatopsis* ve *Nocardia* türlerinin belirlenmesi bunların potansiyel olarak yeni antibiyotik gen bölgelerinin ve yeni sekonder metabolitlerinin belirlenmesi bakımından önem arz etmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

Sigmadan temin edilen kimyasallar, neomisin, nalidiksik asit, novobiosin, sikloheksimit, nistatin, gliserol, Guanidin thiosiyanat, tris, EDTA, lizozim, formamid, SSC, H₂SO₄, benzen, molibdofosforik asit, petrol eteri, L- α -Phosphaditylinositol (PI), L- α -Phosphatidyl-DL-glycerol (PG), L- α -Phosphatidylcholine (PC), L- α -Phosphaditylinositol (PI), Diphosphatidylglycero (DPG) L- α -Phosphatidylethanolamine (PE), NaCl, EtOH, diaminopimelik asit, HCl, metanol, piridin, tolüen, ninhidrin, aseton, kloroform, izopropil eter. Flukadan temine dilen kimyasallar, adonitol, D-arabinoz, D-sellobiose, D-fruktoz D-salisin D-sorbitol D-galaktoz D-mannoz D-melezitoz D-melibioz D-mannitol, dekstrin, dekstran, inulin, L-sorboz, L-arabinoz, L-rhamnose, laktoz, L-glutamat, maltoz, *mezo*-inositol, propionik asit, rafinoz, nişasta, süksinik asit, sükroz, ksilitol, ksiloz alfa-iso-lösin, D-fenilalanin, glisin, L-alanin, L-arginin, L-sistein, L-histidin, L-hidroksiprolin, L-metionin, L-fenilalanin, L-prolin, L-serin, L-treonin, L-valin adenin, kazein, kitin, elastin, jelatin, guanin, hipoksantin, l-tirozin, nişasta, tween 20, tween 80, ksantin, ksilan. Merckten temin edilenler, n-hekzan, metil tert-bütül eter, glutraldehid, n-bütanol, Ba(OH)₂, NaOH, Na₂CO₃, SYBR Green-I (Invitrogen), genomik DNA izolasyon kiti (Norgen), GoTaq HotStart Master Mix (Promega), Qiaquick PCR Pürifikasyon kiti (Qiagen), API-ZYM kiti (Biomerieux).

3.2 Yöntem

3.2.1 Toprak örnekleri

Amycolatopsis ve *Nocardia* üyelerinin izole edildiği toprak örnekleri, ortamdan uygun şekilde alındı, steril torbalara kondu ve kullanıma kadar +4 °C'de saklandı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: Toprak örneklerinin fizikokimyasal özellikleri.

No	Kaynak	Toprak Tipi	Tarihi
1	Artvin-Tarla	TINLI KUM	12.11.2009
2	Çorum-Tarla	TINLI KUM	05.05.2009
3	Denizli-Pamukkale-Traverten	KUMLU SİLTİ TİN	06.18.2007
4	Edirne-Sinanköy-Açık Arazi	KUMLU TİN	12.11.2009
5	Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (Kompos) Karpuz Burnu-Dip Karpaz-Orta Maserya-Tarla	KUMLU TİN	25.10.2009
6	Mekke - (Kompos) - Açık Arazi	TINLI KUM	27.12.2009
7	Nijerya - Abuja (Kompos) - Açık Arazi	KUMLU TİN	30.01.2009
8	Medine - Açık Arazi	SİLTİ TİN	27.12.2009
9	Samsun-Büyükoyumca Köyü-Arazi	TINLI KUM	22.08.2010

3.2.2 Toprak pH'sı

Toprak örneklerinin pH'sı Reed ve Cummings (1945)'te tanımlanan prosedüre göre belirlendi. Örnekler (20 g.) 50 ml'lik behere aktarıldı, örneklerin üzerinde ince bir tabaka olana kadar yavaşça demineralize su eklendi ve suyun örneklere yeterince nüfuz edebilmesi için bir kaç saat bekletildi. pH metre ile toprak örneklerinin pH'ları ölçüldü. Her ölçümde, elektrot toprak örneğine iyice daldırıldı. Ölçüm üç kere tekrarlandı ve son pH değeri bu üç ölçümün ortalaması hesaplanarak kaydedildi.

3.2.3 Toprağın nem ve organik madde içeriği

Toprak örneklerinin nem ve organik madde içeriklerinin belirlenmesi için örnekler (1,0 g) hassas terazide tartılıp 105 °C'de kurutuldu ve yeniden tartıldı. Bu işlem 3 kere tekrarlandı ve bunların ortalaması alınarak örneklerin nem içeriği belirlendi. Erlene konulan kuru toprak daha sonra mufla fırınına yerleştirildi, sıcaklık yavaş yavaş 700 °C'ye çıkarıldı ve organik maddeyi tamamen yakmak için 30 dk. bekletildi. Örnekler gece boyunca soğumaya bırakıldı ve organik madde miktarı, belirlenen her üç ağırlıktaki kaybedilen ortalama yüzde olarak tespit edildi (Schollenberger, 1945).

3.2.4 *Amycolatopsis* ve *Nocardia* üyelerinin seçici izolasyonu

Amycolatopsis ve *Nocardia* cinsine ait organizmaların izolasyonu için Tan ve diğ., (2006)'nın seçici izolasyon prosedürü kullanıldı. Seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri **Çizelge 3.2**'de verildi (EK-A).

Tan ve diğ. (2006)'e göre topraktan bakteri izolasyonu için oda sıcaklığında kurutulan ve havanla iyice ezilerek toz haline getirilen toprak örneklerinden 1 g tartılarak içerisinde 9 ml steril Ringer çözeltisi bulunan 15 ml'lik vidalı kapaklı şişelere kondu. Her bir toprak örneği için hazırlanan 10^{-1} 'lik solüsyonlar, toprak kolloidlerine tutunmuş olan spor ve misellerin toprak kolloidlerinden ayrılması için 60 dakika süre ile çalkalandı. Daha sonra bu solüsyonlar, izolasyon plaklarında oluşabilecek vejetatif formlara bağlı kontaminasyonları azaltmak için 60 °C'deki sıcak su banyosunda 20 dakika bekletildi. 10^{-2} 'lik toprak dilüsyonunu hazırlamak için, içerisinde steril 9 ml Ringer çözeltisi bulunan tüplere, vorteks ile karıştırılan 10^{-1} dilüsyonundan, otomatik pipet ile alınan 1 ml toprak solüsyonu ilave edildi. Bu işlem aynı şekilde 10^{-3} dilüsyonu için de tekrarlandı. 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} dilüsyonlarının her birinden 100 µl alınan çözeltiler seçici izolasyon besiyerlerinin yüzeyine yayma plaka yöntemiyle inokülasyonu yapılarak 28 °C'de, 14-21 gün süreyle inkübasyona bırakıldı.

Çizelge 3.2: Toprak örneklerinden seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri.

Besiyeri	Bazal Besiyeri	Seçici Ajan*
SM1	Stevenson's Medium	Neomisin (4 µg/ml), D-sorbitol (1%, w/v)
SM2	Stevenson's Medium	Neomisin (4 µg/ml), D-melezitoz (1%, w/v)
SM3	Gauze Medium No.2	Nalidiksik asit (10 µg/ml), Novobiosin (10 µg/ml)

*Her bir izolasyon besiyerine sikloheksimit (50 µg/ml) ve nistatin (50 µg/ml) ilave edildi.

3.2.5 İzolatların seçilmesi, saflaştırılması ve saklanması

Seçici izolasyon besiyerlerinde 28 °C ve 14-21 gün inkübasyon sonunda gelişen koloniler, steril kürdan ile modifiye Bennett's agar (Jones, 1949) ve International *Streptomyces* Project Medium No.2 (ISP2; Shirling ve Gottlieb, 1966) agar yüzeyine inoküle edilerek saflaştırıldıktan sonra gliserol (% 20 v/v) stok çözeltiler içerisinde transfer edildi ve kullanım zamanına kadar - 20 °C'de muhafaza edildi.

3.2.6 Genomik DNA ekstraksiyonu

Test organizmalarının DNA izolasyonu için Pitcher ve diğ. (1989) tarafından tanımlanan “Guanidin thiosiyanat DNA izolasyon” metodu ve Norgen Genomik DNA İzolasyon Kiti (Norgen Inc., Kanada) kullanıldı. DNA izolasyonunu takiben elde edilen ürünlerin varlığı agaroz gel elektroforezinde kontrol edildi (Sambrook ve Russel, 2001).

Guanidin thiosiyanat DNA izolasyon metoduna göre steril ddH₂O ile yıkanmış olan hücre pelleti üzerine 100 µl TE tamponu (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0) ilave edildi. Kültür 13 000 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek bir kez yıkandı. Daha sonra tampon mikrosantrifüj tüpünden otomatik pipet ile uzaklaştırıldı. 50 mg ml⁻¹ lizozim (Sigma) içeren TE tamponundan 100 µl alınarak, kültür içeren mikrosantrifüj tüpüne transfer edildi. Otomatik pipet ile homojenize edilerek 37 °C’de bir gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, 500 µl guanidin thiosiyanat karışıma ilave edildi ve 37 °C’de 10 dk. inkübe edilerek liziz işlemi gerçekleştirildi ve 5 dk buzda soğutuldu. Lizata 250 µl 7,5 M amonyum asetat eklendi ve birkaç defa tüp altüst edilerek 10 dk buzda soğutuldu. Lizata 500 µl kloroform-izo-amil alkol (24:1 v/v) ilave edildi ve birkaç defa tüp altüst edilerek 13 000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant otomatik pipet ile yeni bir mikrosantrifüj tüpüne transfer edildi ve 0,54 ml soğuk izo-propanol ilavesi ile DNA’nın çökmesini takiben 13000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. İzo-propanol dikkatli bir şekilde otomatik pipet ile uzaklaştırıldı. 100-150 µl soğuk % 70’lik etanol ilave edilerek 13 000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Bu işlem 2 defa tekrarlandı. İki kez alkol yıkamasından sonra alkol uzaklaştırıldı ve kapaklar açık bırakılarak yaklaşık 20 dk kurumaya bırakıldı. 90 µl TE tamponu ilave edilerek 5 dk bekletildi. 10 µl RNAaz ilave edilerek 37 °C’de 1 saat inkübasyon sonrasında 20 µl proteinaz K eklendi ve 37 °C’de bir gece boyunca inkübasyona bırakıldı. 10 µl 8 M LiCl₂ takiben üzerine 130 µl fenol-kloroform-izo-amil alkol ilave edildi ve 13 000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz steril yeni mikrosantrifüj tüplere aktarıldı. Ayrıca, 130 µl kloroform-izo-amil alkol (24:1 v/v) ilave edildi ve 13 000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz steril yeni mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Toplam hacmin 2,5 katı olacak şekilde izo-propanol ilave edildi ve tüpler altüst edilerek 13 000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Alkol, otomatik pipet ile uzaklaştırıldı. 100 µl % 70’lik etanol ilave edilerek 13 000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi ve alkol

uzaklaştırıldı. Bu işlem bir defa daha tekrarlandı. DNA pelleti oda sıcaklığında 20 dk bekletilerek kurutuldu ve 30-50 µl ddH₂O ilave edilerek oda sıcaklığında 15 dk bekletildi ve -20°C’de gereksinim duyulana kadar stoklandı.

DNA örnekleri, izolasyon işleminin bir sonucu olarak geleneksel bir metot olan agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edildi. Jele yüklenmiş DNA örnekleri daha sonra Mini Lümi görüntüleme cihazında görüntülenerek kaydedildi.

3.2.7 16S rRNA geni PCR amplifikasyonu

Genomik DNA izolasyonu tamamlanan test suşlarının 16S rRNA gen bölgesi PCR amplifikasyonları 27F ve 1525R evrensel primerleri (**Çizelge 3.3**) kullanılarak Thermal Cycler (MyGenie-96 Gradient Thermal Cycler, Korea) cihazında gerçekleştirildi.

Polimeraz zincir reaksiyonları için Promega firmasından temin edilen GoTaq Hot Start Master Mix (Promega Corporation, USA) kullanıldı. Hazırlık aşamasında, 50 µl çözelti için, 25 µl Hot Start Master Mix, 1 µl 27F primeri, 1 µl 1525R primeri, 2 µl template DNA ve 21 µl nükleaz içermeyen su kullanıldı. Reaksiyon şartları, 95 °C’de 2’ (ön denatürasyon), 95 °C’de 1’, 55 °C’de 1’, 72 °C’de 1’ (30 döngü) ve 72 °C’de 5’ olacak şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünleri kullanıma kadar -20°C’de muhafaza edildi.

3.2.8 16S rRNA PCR ürünlerinin saflaştırılması ve dizi analizi

PCR ürünleri % 1,5’luk agaroz jelde (30 ml 1xTBE tampon, 0.3 g agaroz) PCR DNA marker (Sigma, 50 bp) ile birlikte 100 voltta 30 dakika yürütülerek UV-transillüminatör (Vilber Lourmat, UV) üzerinde kontrol edildikten sonra QIAquick PCR pürifikasyon kiti (Qiagen, Germany) kullanılarak saflaştırıldı. Saflaştırılan amplifikasyon ürünleri 16S rRNA gen bölgesinin yaklaşık uzunluğunun tamamının dizi analizi için en az üç primer ile (**Çizelge 3.3**) Macrogen Inc. (Güney Kore) firmasında ABI PRISM 3730XL Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) cihazı kullanılarak dizileme işlemi gerçekleştirildi.

Çizelge 3.3: 16S rRNA gen bölgesi amplifikasyon ve sekans primerleri.

Primer	Dizi (5'-3')*	Baz Büyüklüğü	Kaynak
800R	TACCAGGGTATCTAATCC	18	Chun, 1995
Mg3F	CTACGGGRSGCAGCAG	16	Chun, 1995
Mg5F	AAACTCAAAGGAATTGACGG	20	Chun, 1995
27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	20	Lane, 1991
1525R	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA	20	Lane, 1991

*R; adenin veya guanin, S; guanin veya sitozini ifade etmektedir.

3.2.9 16S rRNA dizi verilerinin analizi

İzolatların 16S rRNA gen bölgesi sekans analizi tamamlandıktan sonra elde edilen dizi verisi PHYDIT programı (URL-5) ile manuel olarak birleştirildi ve EzTaxon Server (URL-6; Kim ve diğ., 2012)'da bulunan global hizalama algoritmaları kullanılarak en yakın akraba organizmalarla olan 16S rRNA nükleotit benzerliği belirlendi. Filogenetik analizler için MEGA 5 programı, hizalama için aynı programın kullanılarak CLUSTAL_W (Tamura ve diğ., 2011) opsiyonu kullanıldı. Filogenetik dendogramların çizilmesinde Neighbour Joining (Saitou ve Nei, 1987), Maximum Likelihood, Maximum Parsimony algoritmaları ve Jukes-Cantor evrimsel uzaklık matrisi kullanıldı. Bootstrap testi 1000 tekrarlı olarak yapıldı.

3.2.10 DNA-DNA homolojisi

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

3.2.11 DNA G+C içeriğinin belirlenmesi

İzolatlardan % G+C içeriğinin belirlenmesi, De Ley ve diğ. (1970)'nin florometrik yöntemine göre yapıldı. 5 µg genomik DNA, 0,5 ml santrifüj tüpüne konuldu ve 30 dk kurutuldu. Kurutulmuş DNA'lar 90 µl % 30 formamid içeren 0,1x SSC (pH 8.0) tamponunda tekrar suspans edildi. Örnekler 0,2 ml 8-strip PCR tüplerine transfer edildi (Stratagene, LA Jolla, CA, USA). Üzerine 10 µl 1x SYBR Green I (Molecular probes, Eugene, Ore, USA) eklendi (Orijinal stok 1/10000 oranında sulandırıldı).

Stratagene Mx3000® Real Time PCR (Stratagene, LA Jolla, CA, USA) kullanılarak 25 °C-100 °C arasında 1 °C/dk da floresans absorbans değerleri ölçüldü. Her bir suşa ait T_m değeri sıcaklığa karşı floresan değişimlerini içeren erime eğrisine göre belirlendi. GC oranı % G+C= $(1.99 T_m) - 71.08$ formülü ile hesaplandı (De Ley ve diğ ., 1970). Standart olarak *Escherichia coli* K-12 (G+C içeriği % 51) suşunun genomik DNA'sı kullanıldı.

3.2.12 Diaminopimelik Asit (DAP) izomerlerinin belirlenmesi

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

Her bir liyofilize hücre örneği ~50 mg olacak şekilde otoklava dayanıklı vidalı kapaklı cam tüplere transfer edildi. Örnekler üzerine 1 ml 6N HCl ilave edildikten sonra kapakları sıkıca kapatılarak hidroliz için 100 °C'de 18 saat tutuldu. Hidrolizatlar oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 6000 rpm'de 4 dk santrifüj edildi ve süpernatant yeni bir vidalı kapaklı cam tüpe transfer edildi. Süpernatantın bulunduğu cam tüpler ağzı açık olacak şekilde 120 °C'ye ayarlı inkübatöre kondu ve ortalama 2-3 saat tutularak sıvı kalmayınca kadar kurutuldu. Kurumuş hidrolizatlar 1 ml steril saf suda çözüldü ve 100°C'ye ayarlı inkübatörde tekrar kurutuldu. Bu işlem HCl kokusu kalmayınca kadar tekrarlandı. Kurumuş hidrolizatlar 200 µl steril ddH₂O ile çözülerek otomatik pipet ile eppendorf tüplere transfer edildi. 20x20 cm selüloz ince-tabaka (Chromatogram-Eastman Kodak No. 13255) üzerinde çözülmüş örneklerin inokülasyonun yapılacağı noktalar, tabandan 1,5 cm yukarıda ve 1,5 cm aralıklı olacak şekilde belirlendi. İnce-tabaka üzerinde belirlenen noktalara, her bir örnekten mikropipet ile 3 µl olacak şekilde nokta inokülasyon yapıldı. İnoküle

edilen örneklerle birlikte standart diaminopimelik asit (Sigma) örneği de aynı oranda yüklendi. İnce-tabaka metanol (Sigma): ddH₂O: 10N HCl: piridin (Merck) (80: 26.25: 3.75: 10 v/v)'den oluşan solvent içerisine konuldu. Solvent, tabakanın üst kısmında 1 cm kalana kadar yükseldikten sonra (2-2,5 saat) tabaka solvent içerisinden alındı. Solvent içerisinden alınan ince-tabaka çeker ocakta 15 dk kurutuldu. Spotlar aseton içerisinde çözünmüş ninhidrin (% 0.2 w/v) ile spreylendi ve 100 °C'de 5 dk kurutularak gözlenebilir hale getirildi ve fotoğraflandı.

3.2.13 Şeker analizleri

Tüm hücre hidrolizatlarının şeker analizleri Stanek ve Roberts (1974)'in metoduna göre belirlendi. Ortalama 50 mg liyofilize edilmiş biyomas 2 ml'lik viallere eklendi, 1,5 ml 1N H₂SO₄ ilave edilerek 100 °C'de 3 saat hidroliz edildi. Hidrolizat doygun Ba(OH)₂ ile pH 5-5,5 'e ayarlandıktan sonra, 1500×g'de 5 dakika santrifüjlendi. Üst faz dikkatli bir şekilde ayrı bir tüpe alındıktan sonra sıvı tamamen uzaklaşmaya kadar buharlaştırıldı. Kalıntı 0,1 ml dH₂O ve 0.25 ml pyridinde çözüldü ve her bir örnek Merck 60-F254 silica gel TLC plakalarına 3'er µl olacak şekilde standart karışımları ile birlikte yüklendi. Plaka iyice kuruduktan sonra n-bütanol:dH₂O:piridin:toluen (10:6:6:1, v/v) yürütücü fazında ortalama 4 saat yürütüldü. TLC plaka daha sonra 30 dk. kurutuldu. İyice kurutulduktan sonra anilin-fitalat ayırıcı ile spreylendi ve 100°C'de 4 dk. bekletildi. Altı karbonlu şekerler, kahve ve koyukahve tonlarında, beş karbonlu şekerler ise kıvılcık tonlarında belirginleşti. İzolatların şeker tipleri belirlenirken aktinomisetlerde varlığı bilinen 7 temel şeker standart olarak kullanıldı. Bu şekerler TLC plakasında daha belirgin bir ayrışma sağladığı için iki gruba ayrılarak, TLC tabakaya yüklendi. İlk grupta galaktoz, arabinoz ve ksiloz, ikinci grupta ise glikoz, mannoz, riboz ve ramnoz bulunmaktadır. Aynı zamanda aynı şartlarda yüklenen standart şekerler ve izolatlardan elde edilen şeker hidrolizatı yürütme işleminden sonra hizalama ve tonlamaya göre şeker tipleri belirlendi.

3.2.14 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 aktarılarak 150 rpm de 72 saat süre ile 28 °C de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası alınan 5 ml starter kültür 50 ml TSB içine aşılansarak 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-bütül eter (HPLC grade)] ilave edildi. 10 dakika tüp çalkalayıcı ile çalkalandı. Temiz bir pastör pipeti ile sulu alt faz hekzan tabakasında bulaştırılmadan alındı. Yağ asidi metil esterleri, asidik sulu fazdan ayrıldı ve sıvı-sıvı ekstraksiyonuyla organik faza transfer edildi.

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

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

3.2.15 Polar lipid profilinin belirlenmesi

Test izolatlarından *Amycolatopsis* sp. KT2025^T, *Nocardia* sp., CR3272^T ve *Amycolatopsis* sp. K206'nın polar lipid profillerinin belirlenmesi Almanya'nın Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) firması tarafından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi. Yeni tür olma ihtimali yüksek olan *Amycolatopsis* sp. AR1438, *Amycolatopsis* sp. NJ2060 ve *Nocardia* sp. PM1004 suşlarının polar lipid profilleri Minnikin ve diğ. (1984)'nin tanımladığı metoda göre laboratuvarımızda gerçekleştirildi. Bu yönteme göre, 15 ml teflon kaplı vidalı kapaklı tüplere ortalama 100 mg liyofilize örnek kondu, 3 ml MeOH/0.3% NaCl (100/10) ve 2 ml petrol eteri ilave edildi, tüp karıştırıcıda 30 dk. karıştırıldı ve 1500 rpm'de 10 dk. santrifüjlendi. Üst faz ayrı bir tüpe ayrıldı ve alt faza aynı işlem bir defa daha yapıldı. Hidrolizat sıcak su banyosunda 5 dk. kaynatıldı ve sıcaklık oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutuldu. Daha sonra 2.3 ml CHCl₃/MeOH/% 0.3 NaCl (90/100/30 v/v) ilave edildi ve karıştırıcıda 1 saat karıştırıldı. Santrifüj işleminin ardından üst faz yeni bir vidalı kapaklı tüpe alındı ve tekrar 0,75 ml CHCl₃/MeOH/% 0.3 NaCl (50/100/40 v/v) eklendi, 30 dk. karıştırıldı. Santrifüj sonrası üst faz aynı tüpe alındı ve ekstrakta 1,3 ml CHCl₃, 1,3 ml % 0,3 NaCl eklendi ve iyice karıştırıldı. Santrifüj sonrası alt faz temiz bir vialde alındı ve azot gazı ile buharlaştırıldı. 100 µl CHCl₃:MeOH (2:1 v/v)'de çözüldü ve her bir örnekten 10 µl alınarak Merck 60-F254 silica gel TLC plakalarına yüklendi. İki boyutlu yapılacak yürütme işleminde ilk yürütmede CHCl₃/MeOH/ddH₂O (65/25/4), ikinci yürütmede CHCl₃/Acetic acid/MeOH/ddH₂O (80/15/12/4 v/v) yürütücü faz olarak kullanıldı. Tüm lipidlerin belirlenmesi için % 10'luk molibdofosforik asit (Sigma P1518), ile spreysel işleminden sonra 140 °C'de 10 dakika kurutuldu. Daha önce temin edilen ve Aktinomisetlerde var olduğu bilinen 6 farklı lipid standartlarının (Sigma-Aldrich, Germany) aynı yürütücü fazlarda elde edilen alıkonma zamanları ile karşılaştırmalı şekilde fosfolipit tipleri belirlendi.

3.2.16 Menakinon profillerinin belirlenmesi

Organizmaların menakinon profilleri, Collins ve diğ. (1977)'nin ekstraksiyon metodu ve Tamaoka ve diğ. (1983)'nin HPLC analiz yöntemine göre belirlendi. Yaklaşık 100 mg liyofilize hücre 20 ml kloroform/metanol (2:1) ile 1-2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldı, 0,45µ'luk filtreden geçirildi, rotary evaporator'de (<37°C) buharlaştırıldı ve 200 µl aseton da çözüldü. Kiesel Gel 60 F₂₅₄ (Merck) TLC plakaya yüklenen saf menakinonların yürütülmesinde yürütücü faz olarak benzen (Sigma, 270709) kullanıldı ve yürütme işleminden sonra örnekler 254 nm UV'de kontrol edildi. Menaquinone (Sigma) standartının hizasındaki bant plakadan kazınarak plakadan temiz bir tüpe alındı ve tekrar 200 µl aseton da çözüldü ve Dionex - UltiMate 3000 HPLC cihazında analiz edildi. HPLC'de mobil faz olarak methanol-isopropyl ether (3:1, v/v) kullanıldı ve dakikada 1 ml akış hızı ve 30 °C olacak şekilde yürütüldü, UV dedektörde 270 nm'de analiz edildi.

3.2.17 Mikolik asit testi

Test örneklerinin mikolik asit metil ester içerikleri Klatte ve diğ. (1994)'e göre gerçekleştirildi. Agar yüzeyinden bir miktar hücre 2 ml solüsyon ile karıştırıldı (Solüsyon: Methanol:Toluen:H₂SO₄ 30:15:1). Karışım gece boyu 80 °C'de ısıtıldıktan sonra, oda sıcaklığında soğutulup, 2 ml n-hekzan ile ekstrakte edildi. Santrifüj sonrası hekzan üst fazı ayrı bir tüpe alındı, buharlaştırıldı ve n- hekzan ile tekrar çözülüp TLC'ye yüklendi. Tek boyutlu TLC için yüklenen örnekler için yürütücü faz olarak petrol-eteri/aseton (95:5 v/v) kullanıldı. TLC plate % 10 molibdofosforik asit ile spreylendi ve 120 °C de 5 dk. ısıtıldı. Çıkış noktasından sonra görülen ilk spotlar mikolik asitler olarak kaydedildi ve Rf değerleri hesaplandı. Rf değeri örneğin başlangıç noktasının orta noktasından itibaren, örneğin aldığı yolun, yürütücünün aldığı yola bölünmesi ile belirlendi.

3.2.18 Fenotipik karakterizasyon

İzolatların fenotipik karakterlerinin belirlenmesi için, farklı besi ortamlarındaki kültürel özellikleri ile, temel hidroliz testleri, karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme, belirli maddeleri degrade edebilme, NaCl, sıcaklık ve pH toleransı gibi bazı fizyolojik testler ve API-ZYM testi uygulandı.

3.2.19 Kültürel ve morfolojik özelliklerin belirlenmesi

3.2.19.1 Farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişim morfolojileri

Test izolatlarından yalnızca yeni tür olduğu kesinleşen *Amycolatopsis* sp. KT2025^T, *Amycolatopsis* sp. K206^T, *Nocardia* sp., A2012^T, *Nocardia* sp., A2019^T ve *Nocardia* sp., CR3272^T suşlarına uygulanan gelişme ve morfolojik özellikleri modifiye Bennett's agar (Jones, 1949), glukoz maya ekstraktı-malt ekstraktı (ISP medium 2; Shirling ve Gottlieb, 1966), oatmeal agar (ISP 3; Shirling ve Gottlieb, 1966), inorganik tuz-nişasta agar (ISP 4; Shirling ve Gottlieb, 1966), gliserol asparajin agar (ISP medium 5; Shirling ve Gottlieb, 1966), pepton-maya ekstraktı-demir agar (ISP 6; Shirling ve Gottlieb, 1966) ve tirozin agar (ISP medium 7; Shirling ve Gottlieb, 1966), nutrient agar (Difco) ve Czapek's agar ortamına aynı anda inoküle edilen ve 28°C'de 14 gün süreyle inkübasyona bırakılan organizmaların bu ortamlardaki büyüme özellikleri, spor rengi, hava misel rengi ve çözünür pigment özelliklerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi.

3.2.19.2 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile spor morfolojisi

Test organizmalarının spor zincir morfolojileri Pridham ve diğ. (1958) göre ISP2 agar'da 28 °C'de 14 gün süre inkübasyon sonrası Nikon Optiphot binokuler ışık ve Scanning Electron Mikroskopu (JEOL JSM 6060, JEOL Ltd. Tokyo, Japan) kullanılarak incelendi. İnkübasyon sonrası, organizmaların geliştiği ve sporun yoğun olduğu kısımlardan 5 mm çapında birkaç agar blok alındı. Her örnek için ayrı olmak üzere alınan agar bloklar % 2 gluteraldehid içinde +4 °C'de 24 saat bekletilerek fikse edildi. Fiksasyon sonrası her agar blok dehidrasyon işlemi için sırası ile % 10-20-30-40-50-60-70-80-90-95-100'lük etanol ile 10 dk. muamele edildi. Daha sonra örnekler sıvı CO₂ ile Critical Point Dryer (Polaron, CPD 7501) aletinde kurutuldu. Kurumuş agar bloklar Gold Sputter ile altın kaplanarak elektron mikroskopunda spor yüzey morfolojilerinin araştırılması için hazır hale getirildi. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile spor yüzey morfolojileri belirlenerek görüntülendi.

3.2.20 Biyokimyasal testler

3.2.20.1 Aeskulin hidrolizi

Aeskulin hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. Hazırlanan bazal ortama % 0,1 (w/v) konsantrasyonunda aeskulin ilave edildi ve daha sonra 5 ml'lik tüplere 2'şer ml olacak şekilde konulup otoklavla sterilizasyonu sağlandı. Pozitif kontrol olarak aeskulin içeren tüpler, negatif kontrol olarak da aeskulin içermeyen tüpler hazırlandı. Steril öze ile inokülasyonu yapılan tüpler, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası, pozitif ve negatif kontrol ortamları karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrolden farklı olarak koyu kahverengi-siyah renk oluşumu pozitif (+) olarak kaydedildi.

3.2.20.2 Arbutin hidrolizi

Arbutin hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. Hazırlanan bazal ortama % 0.1 (w/v) oranında Arbutin ilave edildi ve daha sonra 5 ml'lik tüplere 2'şer ml olacak şekilde konulup otoklavla sterilizasyonu sağlandı. Pozitif kontrol olarak arbutin içeren tüpler, negatif kontrol olarak da arbutin içermeyen tüpler hazırlandı. Steril öze yardımıyla inokülasyonu yapılan tüpler, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası, pozitif ve negatif kontrol ortamları karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrolden farklı olarak koyu kahverengi-siyah renk oluşumu pozitif (+) olarak kaydedildi.

3.2.20.3 Allantoin hidrolizi

Allantoin hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. Hazırlanan bazal ortama % 1 (w/v) konsantrasyonunda allantoin ilave edildi ve 5 ml'lik tüplere 2'şer ml olacak şekilde konulup otoklavla sterilizasyonu sağlandı. Pozitif kontrol olarak allantoin içeren tüpler, negatif kontrol olarak da allantoin içermeyen tüpler hazırlandı. Steril öze yardımıyla inokülasyonu yapılan tüpler, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası, pozitif ve negatif kontrol ortamları karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrolden farklı olarak koyu pembe renk oluşumu pozitif (+) olarak kaydedildi.

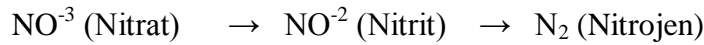
3.2.20.4 Üre hidrolizi

Üre hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak belirlendi. % 1 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanan üre ayrı olarak 100 ml saf su içerisinde çözüldü ve filtrasyon tekniği ile steril edildi. Üre, otoklavda steril edilmiş bazal ortam içeriğine aseptik şartlarda ilave edilerek karıştırıldı ve besiyeri aseptik koşullarda 5 ml'lik steril tüplere her tüpte 2'şer ml olacak şekilde transfer edildi. Pozitif kontrol olarak üre içeren tüpler, negatif kontrol olarak da üre içermeyen tüpler hazırlandı. Steril öze ile inokülasyonu yapılan tüpler, 28 °C'de 7 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, pozitif ve negatif kontrol ortamları karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Negatif kontrolden farklı olarak sarı/turuncudan parlak pembe/kırmızıya renk değişimi pozitif (+) olarak kaydedildi.

3.2.20.5 Nitrat redüksiyonu

Nitrat (0.1%, w/v) redüksiyonu, Goodfellow (1971) tarafından tanımlanmış besiyeri kullanılarak belirlendi. 5 ml'lik tüplere 2'şer ml besiyeri konuldu ve otoklav edilerek sterilizasyonu sağlandı. Steril öze ile inokülasyonu yapılan tüpler, 28 °C'de 14 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası, tüplere eşit miktarlarda nitrat redüksiyonu ayıraçlarından (A ve B solüsyonları; Goodfellow, 1971: içeriği Ek-A'da verilmiştir) ilave edildi. Sülfanilik asit, diazonyum tuzunu oluşturmak için nitrit ile reaksiyona girer, naftilamin varlığında pembe-kırmızı (koyu kırmızı: stabil red azo) renk oluşur. Renginde bu şekilde değişiklik gösteren tüpler nitrat redüksiyonu için pozitif olarak değerlendirildi. Renk değişiminin olmaması iki sonuçtan birini gösterir:

Ya nitratın, nitrit aşamasından daha aşağı kademelere indirildiğini gösterir, ya da nitratın indirgenmediğini gösterir.



Bu nedenle, renk değişimi olmayan tüplere az miktarda çinko tozu eklendi. Çinko iyonları (Zn^{++}) aynı reaksiyonu nitrat redüktaz enzimi gibi katalizler. Eğer besiyerinde nitrat kalmışsa, çinko tozu ilavesi onu nitrite çevirecek, karakteristik kırmızı renk oluşumu gözlenecektir. Bu şekilde gözlenen test tüpleri için sonuç negatif olarak kaydedildi. Bununla birlikte, çinko tozunun ilavesiyle izlenen süreçte herhangi bir renk değişikliğinin olmaması nitratın nitrojen gazına indirildiğini gösterdiğinden bu reaksiyonlar da pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.21 Degradasyon testleri

Adenin (% 0,5 w/v), elastin (% 0,3 w/v), kazein (% 1,0 w/v), hipoksantin (% 0,4 w/v), guanin (% 0,05 w/v), nişasta (% 1 w/v), L-tirozin (% 0,5 w/v), ksantin (% 0,4 w/v), ksilan (% 0,4 w/v) ve jelatin (% 0,4 w/v) degradasyonu Williams ve diğ.(1983) tarafından tanımlanmış metotlar kullanılarak belirlendi. Bu degradasyon testleri için, bazal ortam olarak Bennett's Agar (Jones, 1949) kullanıldı. RNA (% 0,5 w/v) degradasyonu Goodfellow ve diğ. (1979) tarafından tanımlanan bazal ortam, kitin (% 0,4 w/v) degradasyonu Hsu ve Lockwood, (1975) tarafından tanımlanan bazal ortam ve Tween 80 (Polysorbate-80; % 1 w/v) degradasyonu, Nash ve Krenz (1991) tarafından tanımlanan pepton agar bazal ortamı kullanılarak değerlendirildi. Nişasta ve kitin hariç diğer maddeler tinalizasyon ile steril edildikten sonra steril bazal ortama katıldı ve petrilere döküldü. Test suşlarının inokülasyonu, Multipoint Inokulator (SCAN 400, Mast Group Ltd., Merseyside, UK)'de her petriye 12 test organizması olacak şekilde yapıldı.

Adenin, elastin, hipoksantin, L-tirozin, ksilan, guanin, ksantin ve kazein degradasyonu için inokülasyonlu petriyer 28 °C'de inkübe edildi. İnkübasyonun 3., 7. 14. ve 21. günlerinde petriyer kontrol edilerek okundu ve her bir test suşunun besiyeri ortamında oluşturduğu koloniler etrafında veya petri plağın alt kısmından bakıldığında açık bir zon oluşmuşsa pozitif (+), oluşmamışsa negatif (-) olarak değerlendirildi. Koloni etrafında veya altında açık zon oluşması, o test suşunun o maddeyi degrade edebilme özelliğini gösterir. Adenin degradasyonunun değerlendirilmesi inkübasyonun 7. gününde, guanin ve ksantin degradasyonunun değerlendirilmesi ise, inkübasyonun 30. gününde yapıldı.

Nişasta degradasyonu testinde bazal ortam olarak Bennett's Agar (Jones, 1949) kullanıldı. Nişasta (Starch: 1%, w/v), 50 ml saf su içerisinde çözüldükten sonra bazal ortam içeriğine katıldı ve besiyeri otoklav ile steril edildi. İnokülasyon sonrası, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda Lugol's iodin eriyiği petri yüzeyine ince bir tabaka oluşturacak şekilde dökülerek nişasta degradasyonu değerlendirilmesi yapıldı. Nişasta, α -1,4 bağlı düz zincirli amiloz ve hem α -1,4 hem de α -1,6 bağlı dallanmış amilopektin olmak üzere iki farklı yapısal şekilde olan α -D-glucopyranose alt ünitelerinden meydana gelmiş bir polisakkarittir. α - ve β -amilaz enzimlerinin her ikisi de bu polisakkariti degrade edebilmektedir. Nişasta degradasyonu değerlendirilmesinde ortama dökülen iodin ortamda nişasta varsa

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

Tween 20, 40 ve 80 (Polysorbate-20,40 ve 80; 1%, w/v) degradasyonu, Nash ve Krenz (1991) tarafından tanımlanan pepton agar bazal ortamı kullanılarak değerlendirildi. Tween 20, 40 ve 80 tinalizasyon ile steril edildikten sonra steril bazal ortama katıldı ve petrilere döküldü. İnokülasyonlu plaklar, 28 °C'de inkübe edildi ve değerlendirme inkübasyonun 3., 7. ve 14. gününde yapıldı. Tween sorbitolün polioksialkilen türevinin suda çözünebilir, yüksek moleküler ağırlığa sahip yağ asidi esterlerinin homolog serilerindedir ve spesifik esterazların tespitinde kullanılabilir. Test suşları tarafından üretilen esterazlar Tween'deki ester bağlarını hidrolize ederek serbest yağ asitlerinin açığa çıkmasına neden olur. Yağ asitleri de ortamda bulunan kalsiyum iyonları ile birleşerek karakteristik beyaz kristaller olarak çökerek, çözünmeyen kalsiyum tuzlarını oluştururlar. Çözünmeyen kalsiyum tuzu kristalleri koloniler etrafında opak bir halka oluşturduğunda pozitif (+) sonuç olarak değerlendirildi.

Jelatin (% 0,4 w/v) degradasyonu testinde, bazal ortam olarak Bennett's Agar (Jones, 1949) kullanıldı. % 0.4 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanan Gelatin, tinalizasyon ile steril edildikten sonra steril bazal ortam içeriğine katıldı ve besiyeri aseptik olarak petrilere döküldü. İnokülasyon sonrası, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. Değerlendirme öncesi, besiyeri ortam yüzeyine ince bir tabaka oluşacak şekilde trikloroasetik asit solüsyonu (TCA, % 3 v/v) döküldü. TCA güçlü bir asit olduğundan, ortamda bulunan hayvansal protein olan jelatinin çökmesi ile sonuçlanan dönüşümsüz denatürasyona neden olur. Koloniler etrafında açık zon oluşumu pozitif (+) olarak değerlendirildi.

RNA (% 0,5 w/v) degradasyonu testinde, Goodfellow ve diğ. (1979) tarafından tanımlanan bazal ortam kullanıldı. % 0.5 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanan RNA, tinalizasyon ile steril edildikten sonra steril bazal ortam içeriğine katıldı ve besiyeri aseptik olarak petrilere döküldü. İnokülasyon sonrası, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. Değerlendirme öncesi, besiyeri ortam yüzeyine 1 M HCl döküldü. Bu test, ribonükleazların yarı saflaştırılmış nükleik asit özütü solüsyonlarının vizkozitesini azaltma yeteneklerine dayanır. 1 M HCl ilavesi nükleik asitlerin fibröz bir kütle

olarak çökelmelerine sebep olur. Bu nedenle, test suşlarının büyüdüğü alanın altında ve çevresinde açık zon pozitif (+) olarak değerlendirildi.

Kitin (0.4%, w/v) degradasyonu testinde, Hsu ve Lockwood, (1975); tarafından tanımlanan bazal ortam kullanıldı (Ek-A). İnokülasyonlu plaklar 28 °C'de inkübasyona bırakıldı ve değerlendirme inkübasyonun 7., 14., 21. ve 30. günlerinde yapıldı. Koloniler etrafında açık zon oluşumu pozitif (+) olarak değerlendirildi.

3.2.22 Temel karbon kaynaklarını kullanabilme

Karbon kaynaklarında gelişme testi için, bazal ortam olarak ISP 9 besiyeri kullanıldı (ISP 9; Shirling ve Gottlieb, 1966). Her bir karbon kaynağı % 1 w/v oranında 50 ml saf suda çözülüp tinalizasyon tekniği ile steril edilerek steril bazal ortama aseptik şartlarda ilave edildi. Negatif kontrol olarak sadece bazal ortam, pozitif kontrol olarak da % 1 (w/v) konsantrasyonunda glikoz ilave edilmiş bazal ortamlar kullanıldı. İnokülasyon, iki kontrol ortamına da yapıldı. Bütün plaklara test inokülasyonu, multipoint inokülatör vasıtasıyla yapıldı. İnokülasyonlu plaklar, 28 °C'de inkübasyona bırakıldı ve değerlendirilme, inkübasyonun 7., 14. ve 21. günlerinde pozitif ve negatif kontrol plaklarının her ikisi ile karşılaştırılarak yapıldı. Test suşlarının gelişmesi, negatif kontrol plağındaki gelişmelerden daha geniş veya pozitif kontrol plağındaki gelişmelere daha yakın ise pozitif (+); negatif kontrol plağındaki gelişmelere eşit veya gelişme daha az ise negatif (-) olarak kaydedildi.

3.2.23 Temel azot kaynaklarında gelişme

Azot kaynaklarında gelişme testi için, bazal ortam olarak Williams ve diğ. (1983) tarafından tanımlanan azot kaynağı kullanım ortamı kullanıldı. Her bir azot kaynağı % 0,1 w/v oranında 50 ml saf suda çözülüp tinalizasyon tekniği ile steril edilerek steril bazal ortama aseptik şartlarda ilave edildi. Negatif kontrol olarak sadece bazal ortam, pozitif kontrol olarak da % 0.1 (w/v) konsantrasyonunda L-asparagine ilave edilmiş bazal ortamlar kullanıldı. İnokülasyon iki kontrol ortamına da yapıldı. Bütün plaklara test inokülasyonu, multipoint inokülatör vasıtasıyla yapıldı. İnokülasyonlu plaklar, 28 °C'de inkübasyona bırakıldı ve test plaklarının değerlendirilmesi inkübasyonun 7., 14. ve 21. günlerinde pozitif ve negatif kontrol plaklarının her ikisi ile karşılaştırılarak yapıldı. Test suşlarının gelişmesi, negatif kontrol plağındaki gelişmelerden daha geniş veya pozitif kontrol plağındaki gelişmelere daha yakın ise

pozitif (+); negatif kontrol plağındaki gelişmelere eşit veya gelişme daha az ise negatif (-) olarak kaydedildi.

3.2.24 Antibakteriyal aktivite testi

Amycolatopsis ve *Nocardia* izolatları, Gram (+) bakteriler, Gram (-) bakterilerden oluşan toplam dokuz organizmaya karşı yayma (overlay) tekniğı kullanılarak antimikrobiyal aktivite testine tabi tutuldu.

Her bir izolat için, ağzı kapaklı küçük cam şişelere 2 ml Ringer çözeltisi ilave edildi ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. ISP ortamında gelişen izolatların spor ve substrat miselleri, etiketlenmiş şişelere steril öze ile aseptik şartlarda transfer edildi ve vortekste karıştırılarak homojenize spor ve misel solüsyonları haline getirildi. Daha sonra, bu solüsyonlardan otomatik pipet ile 7 µl alınarak, antibiyotik ilavesiz modifiye Bennett's Agar (Jones, 1949) yüzeyine 5'li gruplar halinde nokta ekim yöntemiyle inoküle edildi. İnokülasyonlu plaklar, 28 °C'de 3 gün süreyle inkübasyona bırakıldı ve 3. günün sonunda gelişen koloniler üzerine, steril enjektör ile 3-5 ml'lik kloroform döküldü. Kloroformun buharlaşması için petri plaklarının kapağı, 40 dakika boyunca yarı açık bir şekilde tutuldu. Bu şekilde öldürülen koloniler üzerine, her biri % 0,5'lik nutrient agar içerisinde 2 gün boyunca gelişen patojen test organizmaları yayma plaka yöntemiyle inoküle edildi. İnokülasyonlu plaklar 37 °C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon sonrasında koloniler etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçüldü.

3.2.25 Fizyolojik testler

3.2.25.1 pH toleransı

İzolatların pH toleransı, 4-10 aralığında gerçekleştirildi. Bazal ortam olarak modifiye edilmiş Bennett's agar (Jones, 1949) kullanıldı. pH ayarlaması, pH 4, 5 ve 6 için, 1 M HCl, pH 8, 9 ve 10 için % 20'lik Na₂CO₃ kullanarak cam elektrotlu pH metre (Model 292, Unicam Ltd.) ile yapıldı. İnokülasyon, multipoint inokülatör vasıtasıyla yapıldı ve inokülasyonlu plaklar 28 °C'de 7 ve 14 gün inkübasyondan sonra okundu. Test plağında gelişme gösteren suşlar pozitif (+), gelişme gösteremeyenler (-) olarak değerlendirildi.

3.2.25.2 Sıcaklığa tolerans

Test suşları, multipoint inokülatör ile inoküle edildikten sonra 4°C, 10°C, 20 °C, 28 °C, 37°C ve 45°C sıcaklık değerlerine göre ayarlanmış etüvlerde inkübe edildi. Bazal ortam olarak modifiye edilmiş Bennett's agar (Jones, 1949) kullanıldı. 4 °C'deki petripler 6 hafta süreyle her hafta kontrol edilerek, 10, 20 ve 37 °C'deki petripler 7. ve 14. günlerde kontrol edilerek, 45°C'deki petripler 3. ve 7. günlerde kontrol edilerek değerlendirildi. Test plağında gelişme gösteren suşlar pozitif (+) olarak değerlendirildi.

3.2.25.3 NaCl toleransı

NaCl toleransı için, 10 farklı konsantrasyonda (% 1-10 w/v) besiyeri hazırlandı. Bazal ortam olarak modifiye edilmiş Bennett's agar (Jones, 1949) kullanıldı. İnokülasyon, multipoint inokülatör vasıtasıyla yapıldı ve inokülasyonlu plaklar 28 °C'de 7 ve 14 gün inkübasyondan sonra okundu. Test plağında gelişme gösteren suşlar pozitif (+), gelişme gösteremeyenler (-) olarak değerlendirildi.

3.2.26 API-enzim testleri

API-ZYM, izolatlarda 19 farklı enzimin aktivitesinin varlığının belirlenebilmesi amacı ile üretilmiş ticari bir enzim kitidir. Bu test, 16S rRNA gen bölgesi analizleri ve DNA:DNA hibridizasyon analizlerine göre yeni tür olduğu kesinleşen KT2025^T suşu için üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde uygulandı (bioMerieux, France).

3.2.27 PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgelerinin PCR amplifikasyonu

16S rRNA sekansı ve DNA-DNA hibridizasyon verilerine göre yeni tür olduğu kesinleşen veya yeni tür olma ihtimali yüksek organizmaların PKS-I, PKS-II ve NRPS glikopeptit antibiyotik gen bölgeleri için yapılan PCR amplifikasyonlarında **Çizelge 3.4**'deki primer setleri kullanıldı (Ayuso-Sacido ve diğ. 2005).

Çizelge 3.4: PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgeleri PCR amplifikasyonu için kullanılan primerler.

Gen	Primer	Dizi (5'- 3')	Baz Büyüklüğü	Kaynak
PKS-I	K1F	TSAAGTCSAACATCGGBCA	19	Ayuso-Sacido ve diğ., (2005)
	M6R	CGCAGGTTSCSGTACCAGTA	20	Ayuso-Sacido ve diğ., (2005)
PKS-II	KS- α	TSGCSTGCTTGGAYGCSATC	20	Metsä Ketelä ve diğ., (2002)
	KS- β	TGGAANCCGCCGAABCCGCT	20	Metsä Ketelä ve diğ., (2002)
NRPS	A3F	GCSTACSYSATSTACACSTCSGG	23	Ayuso-Sacido ve diğ., (2005)
	A7R	SASGTCVCCSGTSCGGTAS	19	Ayuso-Sacido ve diğ., (2005)

Açıklama; B: Guanin, sitozin veya timin, S: Guanin veya sitozin, Y: Timin veya sitozin, V: Guanin, adenin veya timin.

İlgili gen bölgelerinin PCR amplifikasyonları için Promega firmasından temin edilen GoTaq Hot Start Master Mix kullanıldı. Hazırlık aşamasında, 50 μ l çözelti için, 25 μ l Hot Start Master Mix, 1'er μ l ilgili primer, 5 μ l DMSO, 2 μ l template DNA ve 21 μ l nükleaz içermeyen su kullanıldı. Reaksiyon şartları, 95 °C'de 2' (ön denatürasyon), 95 °C'de 30", 54 °C'de 1' (K1F/M6R ve KS- α / KS- β primerleri için), 58 °C'de 1' (A3F-A7R primerleri için), 72 °C'de 4' (30 döngü) ve 72 °C'de 10' olacak şekilde gerçekleştirildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Bulgular

4.1.1 Topraktan bakterilerin izole edilmesi, saflaştırılması ve saklanması

Tez kapsamında, bakteri izolasyonunda kullanılan toprak örnekleri, Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden ve Nijerya, KKTC gibi ülkelerin arazilerinden temin edildi (**Şekil 4.1**). Ayrıca toprakların fizikokimyasal özellikleri analiz edilerek kaydedildi (**Çizelge 4.1**).

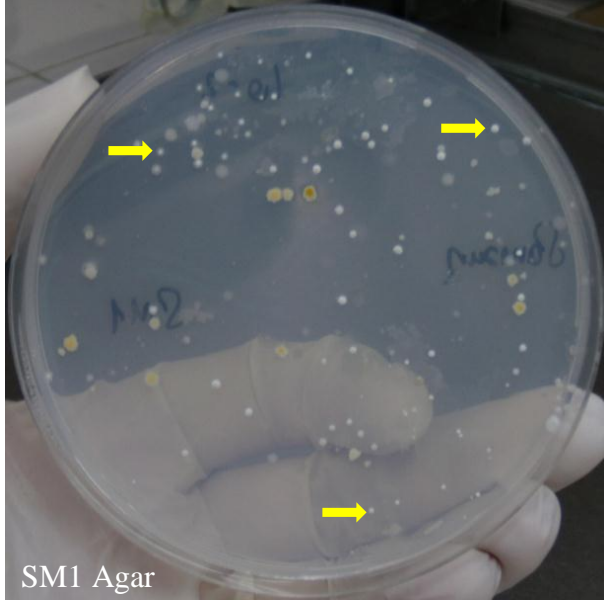
Temin edilen toprak örneklerinden SM1, SM2 ve SM3 seçici besiyerlerinde bakteri izolasyonu gerçekleştirildi. Besiyerleri, ekim sonrası 28 °C'de ve 14-21 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler önceki izolasyon çalışmalarında tavsiye edildiği gibi (Tan ve diğ. 2006) sert kabuğumsu ve beyaz/sarımtırak/kahvemsî olarak tespit edildi. Olası cins üyesi koloniler sarı ok ile işaretlendi (**Şekil 4.2**). Toprak izolasyonu sonrası olası *Amycolatopsis* üyeleri için beyazdan sarımtırağa dönen renklerde sert kabuğumsu koloniler ve *Nocardia* cinsi üyeleri için beyaz sporlu ve substrat miselyumu sarıdan kahverengiye değişen renkteki koloniler seçilerek modifiye Bennett's (Jones, 1949) agarda ve ISP2 agarda 28 °C ve 14-21 gün inkübasyon sonunda geliştirilerek saflaştırıldı ve bazı izolatlar görüntülendi (**Şekil 4.3**).



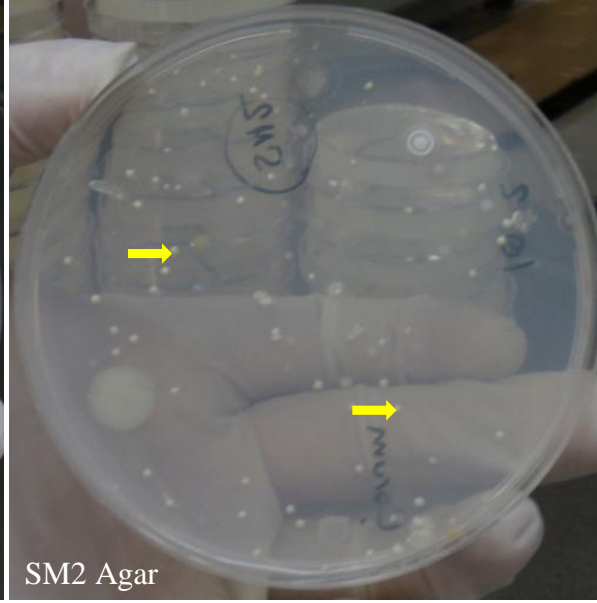
Şekil 4.1: Bakteri izolasyonunda kullanılan toprak örnekleri.

Çizelge 4.1: Kullanılan toprak örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri.

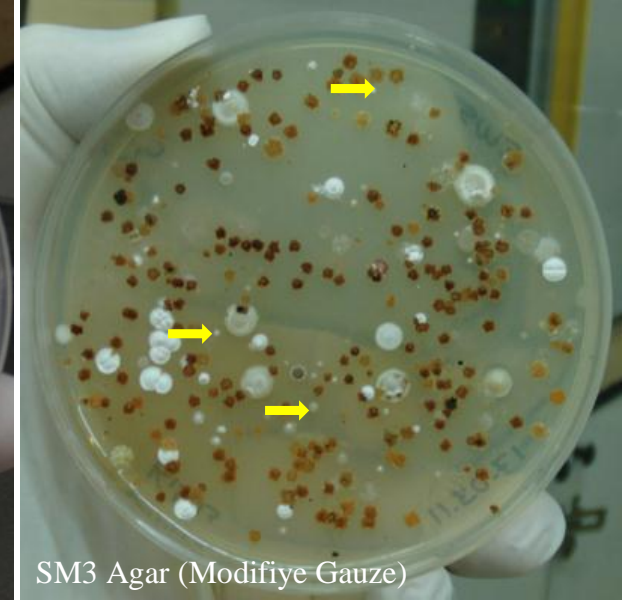
No	Kaynak	Toprak Tipi	pH	Organik Madde (%)	Nem (%)
1	Artvin-Tarla	TINLI KUM	8.62	1,02	6,04
2	Çorum-Tarla	TINLI KUM	8.70	0,88	5,60
3	Denizli-Pamukkale-Traverten	KUMLU SİLTİLİ TIN	8.35	0,76	0,56
4	Edirne-Sinanköy-Açık Arazi	KUMLU TIN	8.41	3,03	3,95
5	Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (Kompos) Karpuz Burnu-Dip Karpaz-Orta Maserya-Tarla	KUMLU TIN	8.31	3,16	4,37
6	Mekke - (Kompos) - Açık Arazi	TINLI KUM	8.05	0,32	0,22
7	Nijerya - Abuja (Kompos) - Açık Arazi	KUMLU TIN	7.97	0,25	0,20
8	Medine - Açık Arazi	SİLTİLİ TIN	8.56	0,38	5,89
9	Samsun-Büyükoyumca Köyü-Arazi	TINLI KUM	8.27	1,28	5,39



SM1 Agar



SM2 Agar



SM3 Agar (Modifiye Gauze)

Şekil 4.2: SM1, SM2 ve SM3 seçici izolasyon besiyerlerinde 28 °C’de en az 14 gün gelişen, beyazdan açık kahve tonlarına değişen genelde sert ve kabuğumsu koloniler.



Nocardia sp. PM3009



Nocardia sp. A2014



Amycolatopsis sp. MK1013



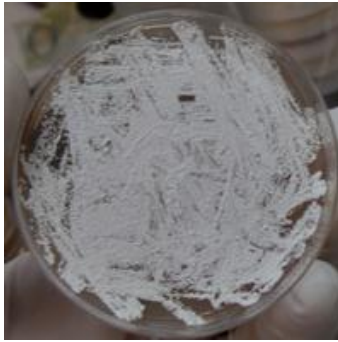
Nocardia sp. NJ3016 suşu



Nocardia sp. CR2267 suşu



Amycolatopsis sp. K237 suşu



Nocardia sp. 2019^T suşu



Amycolatopsis sp. NJ1018 suşu



Amycolatopsis sp. MK1164 suşu



Nocardia sp. NJ3051 suşu



Nocardia sp. A4019 suşu

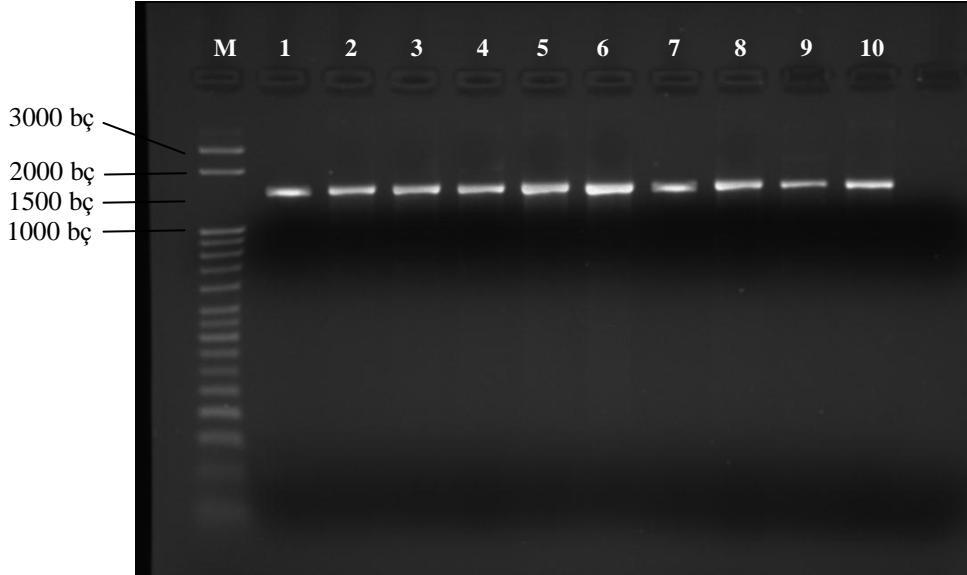


Amycolatopsis sp. NJ2060 suşu

Şekil 4.3: Kültüre alınan cins üyelerinin 28 °C ve 14 gün inkübasyon süresi sonunda ISP2 ve Bennett's agar yüzeyindeki görüntüleri.

4.1.2 16S rRNA geni PCR amplifikasyonu

Genomik DNA'sı izole edilen izolatların 16S rRNA gen bölgesi 27F ve 1525R evrensel primerleri ile Gradient PCR'da çoğaltıldı. PCR sonrası beklendiği gibi çoğaltılan ortalama 1500 baz çifti büyüklüğündeki DNA bölgesi agaroz jel elektroforezinde görüntülendi ve Mini Lumi görüntüleme cihazında fotoğraflandı (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: Test organizmalarına ait 16S rRNA geni amplifikasyon ürünleri. M; markır (Sigma, 50 bp), 1; CR3272^T, 2; A2012^T, 3; A2019^T, 4; KT2025^T, 5; PM1004, 6; AR1438, 7; NJ2060, 8; SM1242, 9; NJ1018, 10; K206.

4.1.3 16S rRNA geni dizi analizi ve filogenisi

16S rRNA gen bölgesi, PCR amplifikasyonları gerçekleştirilen örnekler QIAquick PCR Purifikasyon Kiti ile saflaştırıldıktan sonra, 800R, MG3 ve MG5 primerleri ile dizi analizi yapıldı (EK-B). Sekansı tamamlanan 138 test izolatının toprak örneklerine ve izolasyon besiyerlerine göre sayısal olarak dağılımı belirlenerek, çalışmada kullanılan test izolatlarının suş numaraları ile birlikte hangi topraklarda izole edildiği belirtildi (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3). Elde edilen dizi verileri, Eztaxon Server kullanılarak, uluslararası veritabanlarındaki en yakın akraba türlerin dizi verileri ile karşılaştırıldı ve % benzerlikleri belirlendi (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5). 16S rRNA dizi verilerine göre test suşlarının filogenetik pozisyonlarının belirlenmesi için dendogramları oluşturuldu. Dendogramların sunumunda 16S rRNA geni dizi verilerine göre en yakın akrabası ile *Amycolatopsis* izolatları için 9 nükleotit ve üzeri, *Nocardia* üyeleri için 12 nükleotit ve üzeri izolatlar tercih edildi (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13,

Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16). Dendogramlar, neighbour-joining, maximum likelihood ve maximum-parsimony (Kluge ve Farris, 1969) algoritmaları ve evrimsel uzaklık matrisi olarak Jukes ve Cantor (1969) metodu izlenerek gerçekleştirildi (EK-C). Filogenetik analizler için MEGA5 paket programı kullanıldı (Tamura ve diğ., 2011). Oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri (Felsenstein, 1985) 1000 tekrarlı olarak yapıldı.

Çizelge 4.2: 16S rRNA sekansı tamamlanan izolatların toprak örneklerine ve izolasyon besiyerlerine göre sayısal olarak dağılımı.

No	Toprak Örnekleri	Seçici Besiyeri	<i>Amycolatopsis</i> spp.	<i>Nocardia</i> spp.	Diğer Cinsler	Sekansı Yapılanlar
1	Artvin-Tarla	SM1	1	-	1	2
		SM2	-	-	2	2
		SM3	-	-	-	-
2	Çorum-Tarla	SM1	-	-	-	-
		SM2	-	1	1	2
		SM3	-	1	9	10
3	Denizli-Pamukkale-Traverten	SM1	-	1	-	1
		SM2	-	2	2	4
		SM3	-	3	8	11
4	Edirne-Sinanköy-Açık Arazi	SM1	-	1	1	2
		SM2	-	-	-	-
		SM3	-	9	4	13
5	Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (Kompos)	SM1	4	-	7	11
		SM2	2	-	22	24
		SM3	-	-	2	2
6	Mekke - (Kompos) - Açık Arazi	SM1	9	-	8	17
		SM2	1	-	2	3
		SM3	-	3	4	7
7	Nijerya - Abuja (Kompos) - Açık Arazi	SM1	1	-	1	2
		SM2	1	-	2	3
		SM3	-	7	7	14
8	Medine - Açık Arazi	SM1	-	-	-	-
		SM2	-	-	-	-
		SM3	-	1	4	5
9	Samsun - Açık Arazi	SM1	-	3	-	3
		SM2	-	-	-	-
		SM3	-	-	-	-
TOPLAM			19	32	87	138

Çizelge 4.3: *Amycolatopsis* ve *Nocardia* üyesi test izolatlarının toprak örneklerine göre dağılımı.

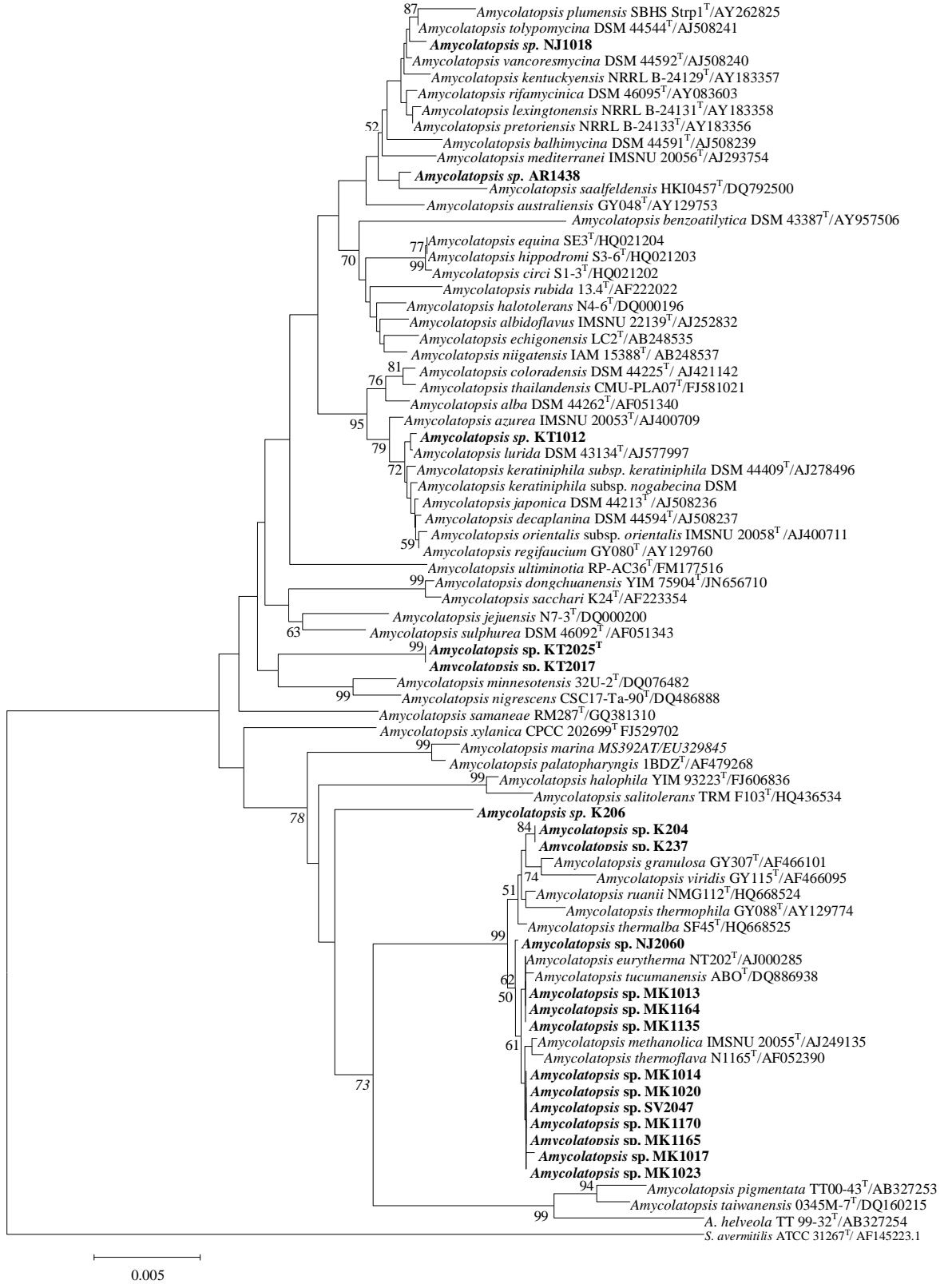
No	Toprak Örnekleri	<i>Amycolatopsis</i> İzolatları	<i>Nocardia</i> İzolatları
1	Artvin-Tarla	AR1438	-
2	Çorum-Tarla	-	CR2267, CR3272 ^T
3	Denizli-Pamukkale-Traverten	-	PK2002, PM1004, PM2005, PM3006, PM3009, PM3011
4	Edirne-Sinanköy-Açık Arazi	-	A2004, A2012 ^T , A2014, A2018, A2019 ^T , A7021
5	Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (Kompos)	K204, K206, K237, KT1012, KT2017, KT2025 ^T	-
6	Mekke - (Kompos) - Açık Arazi	MK1013, MK1014, MK1017, MK1020, MK1023, MK1135, MK1164, MK1165, MK1170, SV2047	MK3512, MK3103
7	Nijerya - Abuja (Kompos) - Açık Arazi	NJ1018, NJ2060	A4017, A4018, A4019, A4021, A4042, NJ3016, NJ3017, NJ3025, NJ3032, NJ3051, NJ3347, NS3402
8	Medine - Açık Arazi	-	MD3440
9	Samsun - Açık Arazi	-	SM1342, SM1318, SM1481

Çizelge 4.4: *Amycolatopsis* cinsi üyesi izolatların Eztaxon Server'a göre en yakın tip türlerine olan 16S rRNA benzerlikleri.

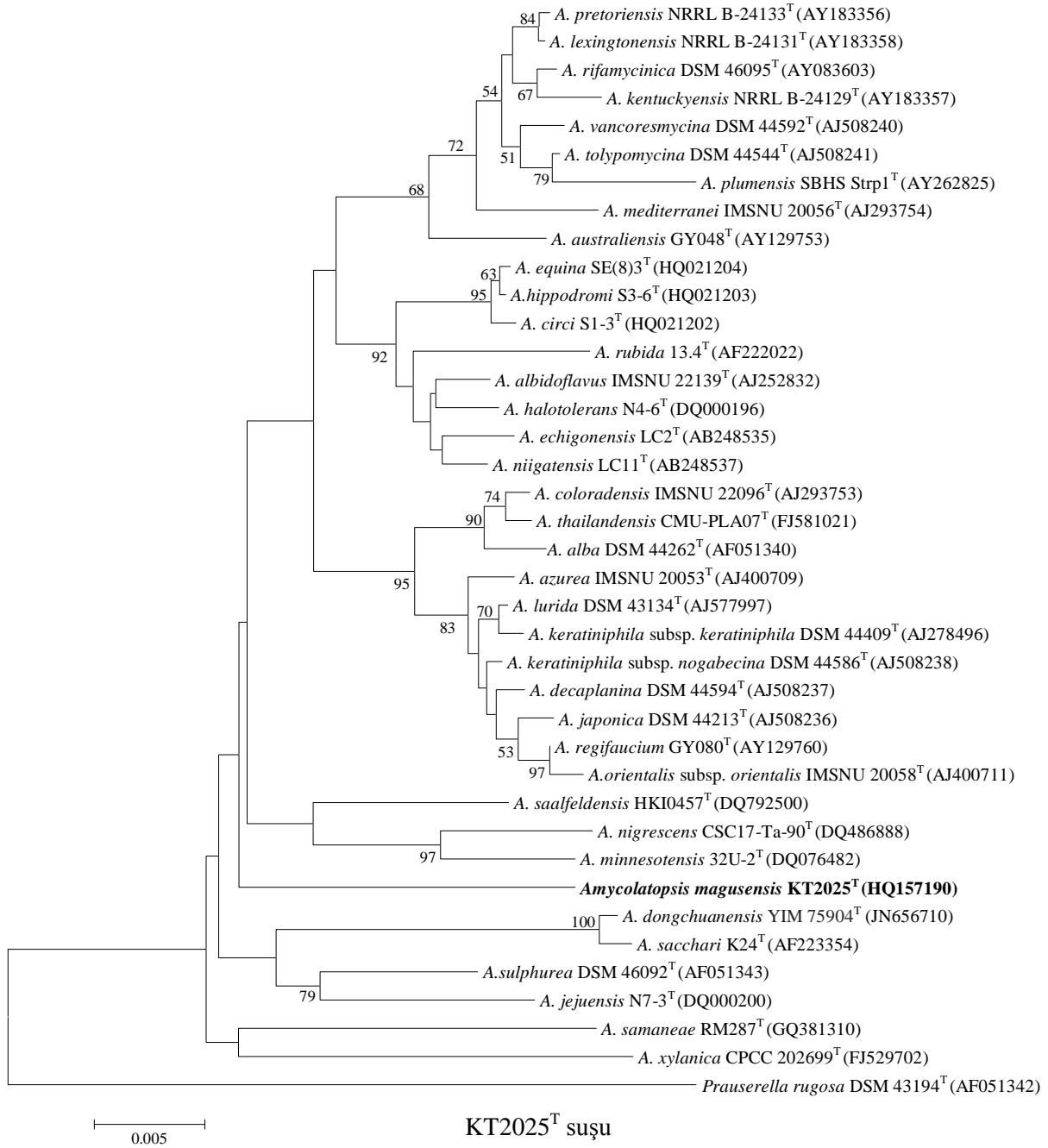
<i>Amycolatopsis</i> Cinsi Test İzolatları				
No	İzolat No	En Yakın Tip Türü	% Benzerlik	Nükleotid Farkı
1.	AR1438	<i>Amycolatopsis pretoriensis</i> NRRL-B 24133 ^T	99.178	12/1397
2.	K204	<i>Amycolatopsis ruanii</i> NMG112 ^T	99,179	12/1461
3.	K206	<i>Amycolatopsis bartoniae</i> SF26 ^T	97,976	29/1426
4.	K237	<i>Amycolatopsis ruanii</i> NMG112 ^T	99,179	12/1461
5.	KT1012	<i>Amycolatopsis lurida</i> DSM 43134 ^T	99.570	6/1395
6.	KT2017	<i>Amycolatopsis lurida</i> DSM 43134 ^T	97.489	35/1394
7.	KT2025 ^T	<i>Amycolatopsis lurida</i> DSM 43134 ^T	97.561	34/1394
8.	MK1013	<i>Amycolatopsis eurytherma</i> NT202 ^T	99.931	1/1460
9.	MK1014	<i>Amycolatopsis thermoflava</i> N1165 ^T	99.589	6/1459
10.	MK1017	<i>Amycolatopsis eurytherma</i> NT202 ^T	99.658	5/1460
11.	MK1020	<i>Amycolatopsis thermoflava</i> N1165 ^T	99.592	6/1447
12.	MK1023	<i>Amycolatopsis thermoflava</i> N1165 ^T	99.592	6/1460
13.	MK1135	<i>Amycolatopsis eurytherma</i> NT202 ^T	100.000	0/1291
14.	MK1164	<i>Amycolatopsis eurytherma</i> NT202 ^T	99.931	1/1460
15.	MK1165	<i>Amycolatopsis eurytherma</i> NT202 ^T	99.795	3/1460
16.	MK1170	<i>Amycolatopsis thermoflava</i> N1165 ^T	99.592	6/1460
17.	NJ1018	<i>Amycolatopsis tolypomycina</i> DSM 44544 ^T	99.293	10/1406
18.	NJ2060	<i>Amycolatopsis ruanii</i> NMG112 ^T	99.382	9/1461
19.	SV2047	<i>Amycolatopsis thermoflava</i> N1165 ^T	99.589	2/1450

Çizelge 4.5: *Nocardia* cinsi üyesi izolatların Eztaxon Server'a göre en yakın tip türleri ile olan 16S rRNA benzerlikleri.

Nocardia Cinsi Test Organizmaları				
No	Suş Adı	En Yakın Tip Türü	% Benzerlik	Nükleotid Farkı
1.	A2004	<i>Nocardia carnea</i> DSM 43397 ^T	99.931	2/1455
2.	A2012 ^T	<i>Nocardia caishijiensis</i> F829 ^T	98.597	20/1426
3.	A2014	<i>Nocardia abscessus</i> IMMIB D-1592 ^T	100.000	0/1447
4.	A2018	<i>Nocardia abscessus</i> IMMIB D-1592 ^T	100.000	0/1447
5.	A2019 ^T	<i>Nocardia mexicana</i> CIP 108295 ^T	98.947	18/1464
6.	A4017	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.931	2/1456
7.	A4018	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.863	3/1456
8.	A4019	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.931	2/1456
9.	A4021	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.931	2/1456
10.	A4042	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.657	5/1456
11.	A7021	<i>Nocardia iowensis</i> UI 122540 ^T	99.790	3/1427
12.	CR2267	<i>Nocardia soli</i> DSM 44488 ^T	99.451	8/1457
13.	CR3272 ^T	<i>Nocardia goodfellowii</i> A2012 ^T	98.613	20/1462
14.	MK3512	<i>Nocardia carnea</i> DSM 43397 ^T	99.931	2/1455
15.	MK3103	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i> DSM 44484 ^T	100.000	0/1457
16.	NJ3016	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.725	3/1456
17.	NJ3017	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.657	5/1456
18.	NJ3025	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.931	1/1456
19.	NJ3032	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.657	5/1456
20.	NJ3051	<i>Nocardia anaemiae</i> IFM 0323 ^T	99.796	3/1467
21.	NJ3347	<i>Nocardia africana</i> SD769 ^T	99.719	4/1421
22.	NS3402	<i>Nocardia carnea</i> DSM 43397 ^T	99.794	3/1455
23.	PK2002	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.176	12/1456
24.	PM1004	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.176	12/1456
25.	PM2005	<i>Nocardia araoensis</i> IFM 0575 ^T	99.176	12/1456
26.	PM3006	<i>Nocardia carnea</i> DSM 43397 ^T	99.863	2/1455
27.	PM3009	<i>Nocardia carnea</i> DSM 43397 ^T	99.931	1/1455
28.	PM3011	<i>Nocardia fluminea</i> S1 ^T	99.515	7/1442
29.	SM1342	<i>Nocardia pseudovaccinii</i> DSM 43406 ^T	98.972	15/1455
30.	SM1481	<i>Nocardia pseudovaccinii</i> DSM 43406 ^T	98.972	15/1455
31.	SM1318	<i>Nocardia pseudovaccinii</i> DSM 43406 ^T	98.972	15/1455
32.	MD3440	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i> DSM 44484 ^T	99.734	3/1457

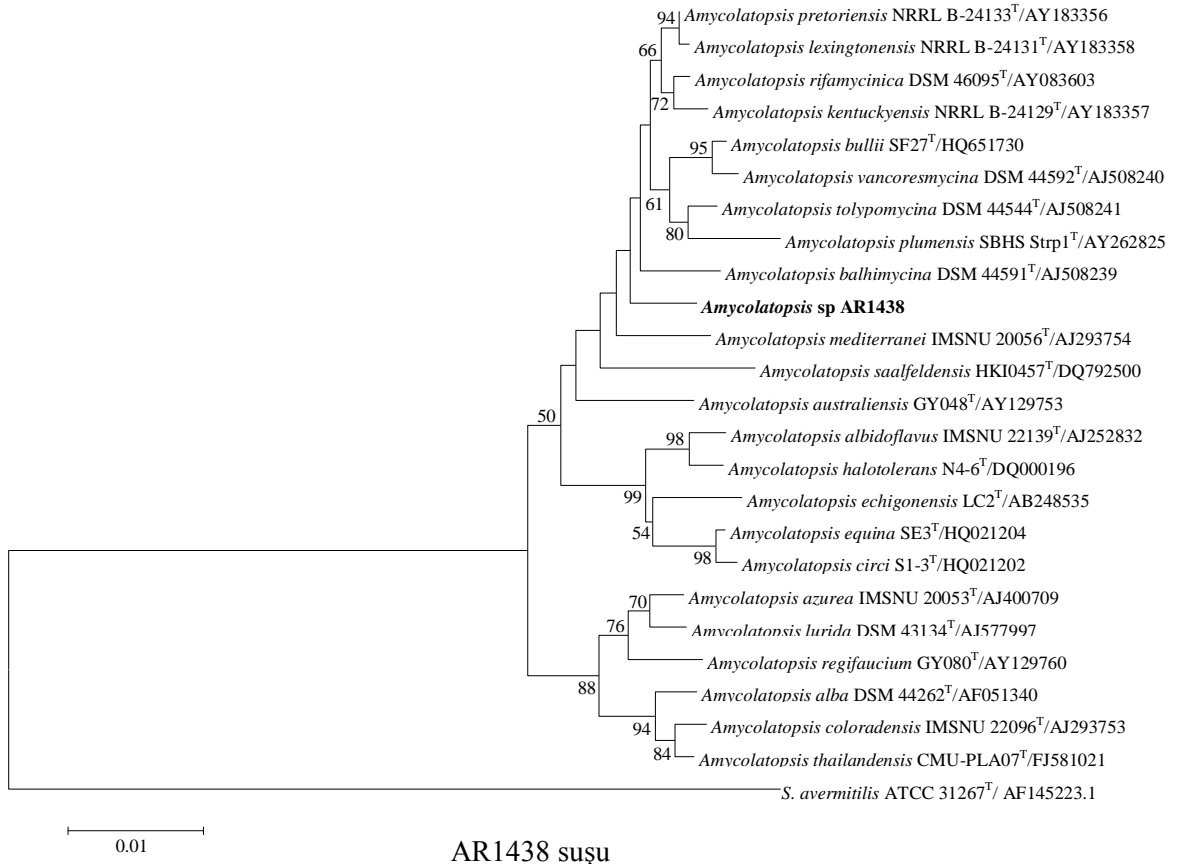


Şekil 4.5: Sekansı yapılan *Amycolatopsis* suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



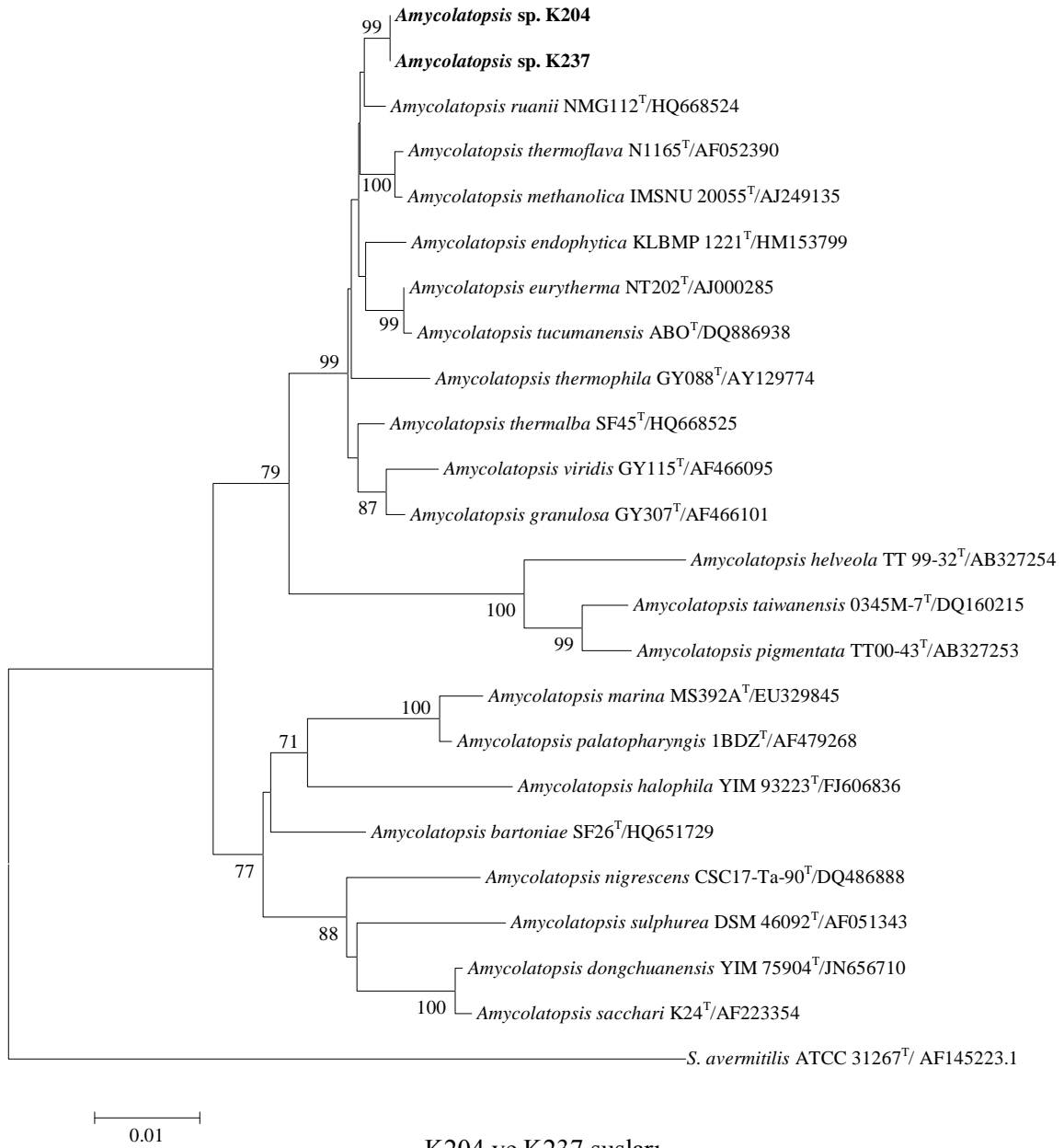
No	İsim	Gen Bank	% Benzerlik	Nt Farkı
1	<i>Amycolatopsis lurida</i> DSM 43134 ^T	AJ577997	97.56	34/1394
2	<i>Amycolatopsis keratiniphila</i> subsp. <i>keratiniphila</i> DSM 44409 ^T	AJ278496	97.43	36/1402

Şekil 4.6: KT2025^T suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



No	İsim	Gen Bank	% Benzerlik	Nt Farkı
1	<i>Amycolatopsis pretoriensis</i> NRRL B-24133 ^T	AY183356	99.14	12/1397
2	<i>Amycolatopsis bullii</i> SF27 ^T	HQ651730	98.82	17/1440
3	<i>Amycolatopsis rifamycinica</i> DSM 46095 ^T	AY083603	98.77	18/1463
4	<i>Amycolatopsis mediterranei</i> IMSNU 20056 ^T	AJ293754	98.69	19/1453
5	<i>Amycolatopsis plumensis</i> SBHS Strp1 ^T	AY262825	98.62	20/1446
6	<i>Amycolatopsis lexingtonensis</i> NRRL B-24131 ^T	AY183358	98.61	20/1436
7	<i>Amycolatopsis kentuckyensis</i> NRRL B-24129 ^T	AY183357	98.57	21/1473
8	<i>Amycolatopsis tolypomycina</i> DSM 44544 ^T	AJ508241	98.51	21/1407
9	<i>Amycolatopsis balhimycina</i> DSM 44591 ^T	AJ508239	98.48	22/1448
10	<i>Amycolatopsis saalfeldensis</i> HKI0457 ^T	DQ792500	98.33	24/1435
11	<i>Amycolatopsis vancoresmycina</i> DSM 44592 ^T	AJ508240	98.23	26/1467

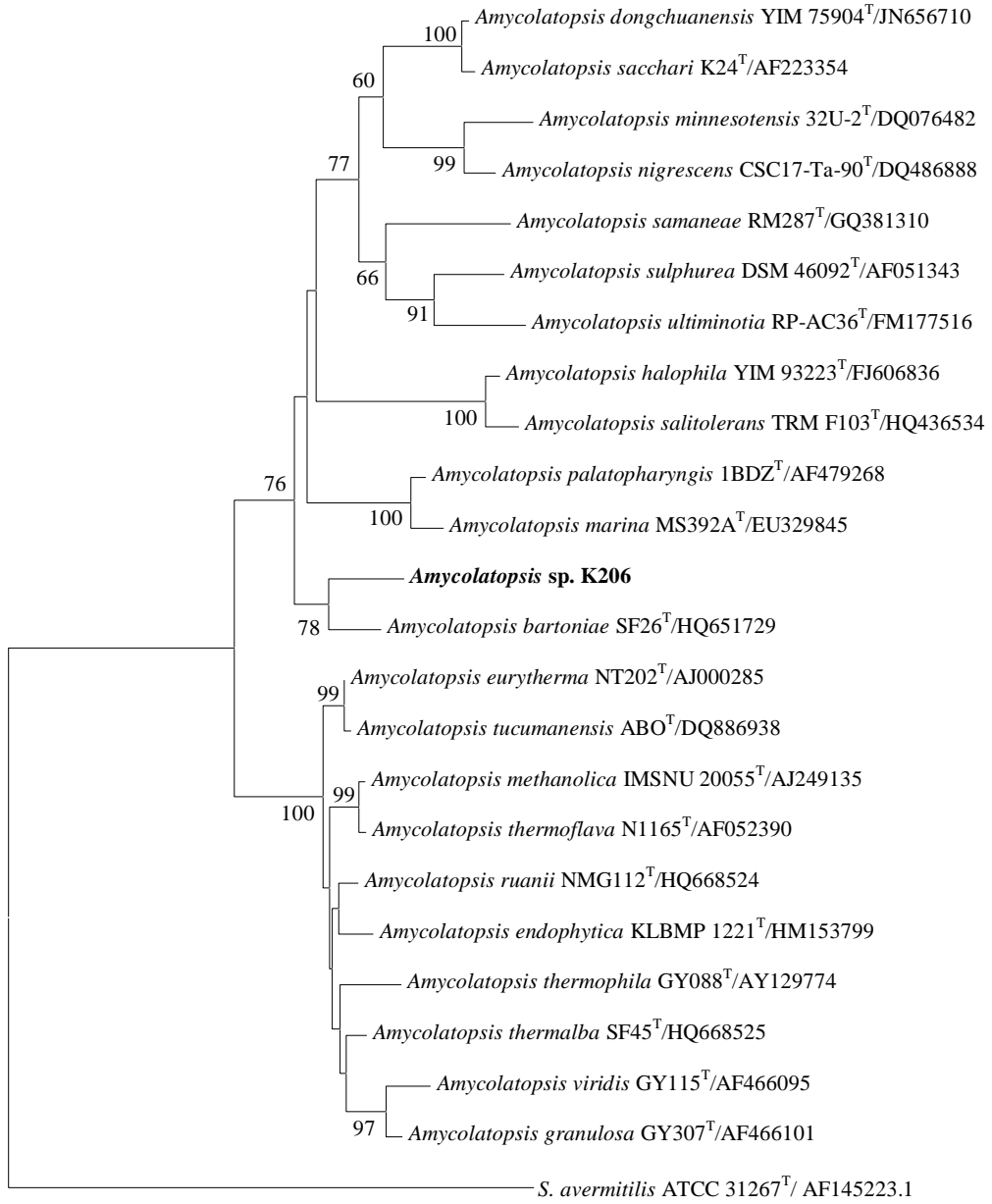
Şekil 4.7: AR1438 test organizmasının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



K204 ve K237 suşları

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Amycolatopsis ruanii</i> NMG112 ^T	HQ668524	99.18	12/1461
2	<i>Amycolatopsis thermoflava</i> N1165 ^T	AF052390	98.97	15/1458
3	<i>Amycolatopsis methanolica</i> IMSNU 20055 ^T	AJ249135	98.90	16/1459
4	<i>Amycolatopsis endophytica</i> KLBMP 1221 ^T	HM153799	98.89	16/1443
5	<i>Amycolatopsis thermalba</i> SF45 ^T	HQ668525	98.78	17/1392
6	<i>Amycolatopsis viridis</i> GY115 ^T	AF466095	98.78	17/1389
7	<i>Amycolatopsis eurytherma</i> NT202 ^T	AJ000285	98.63	20/1458
8	<i>Amycolatopsis granulosa</i> GY307 ^T	AF466101	98.59	20/1417

Şekil 4.8: K204 ve K237 test organizmalarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.

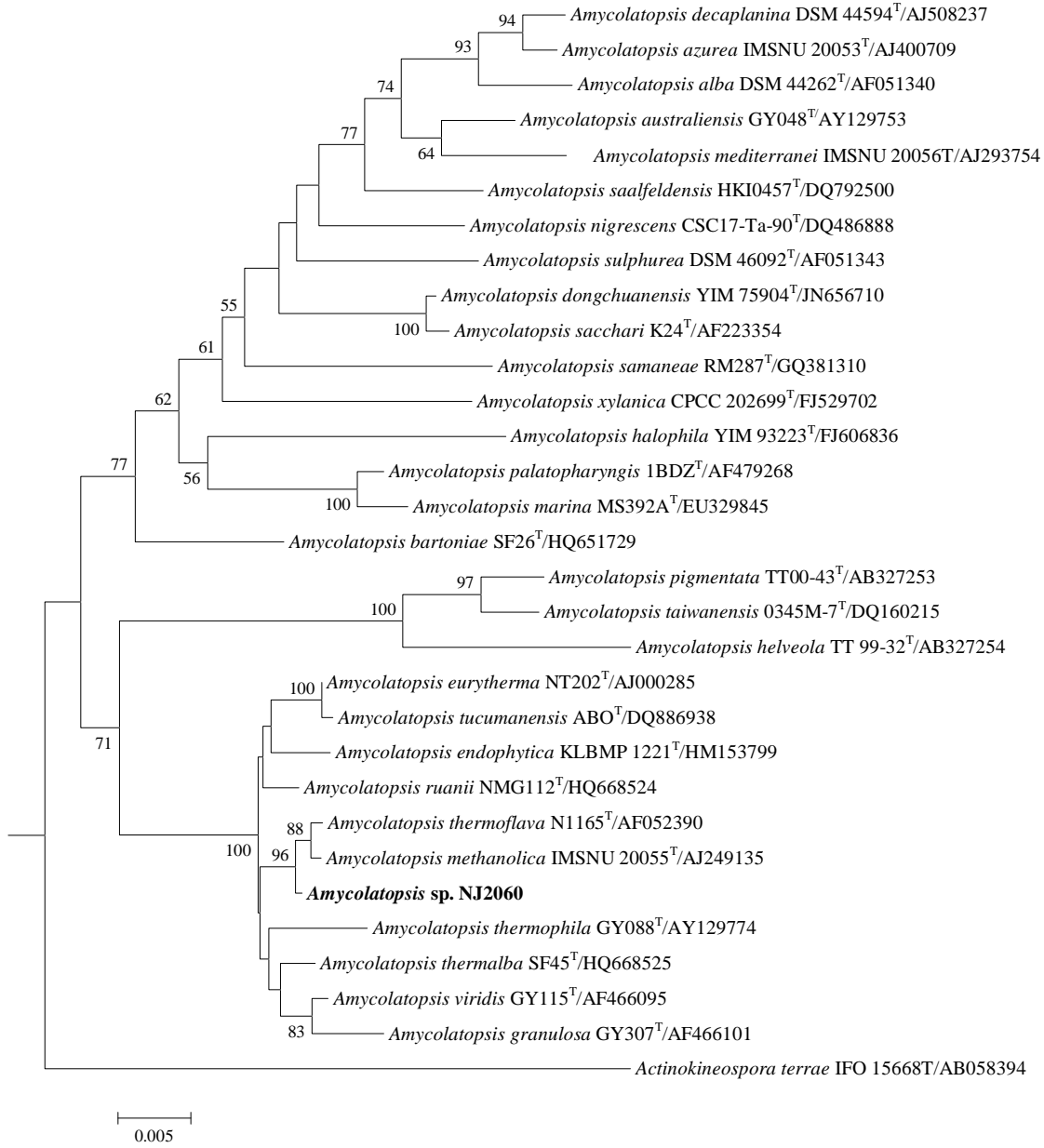


0.01

K206 suşu

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Amycolatopsis bartoniae</i> SF26 ^T	HQ651729	97.97	29/1426
2	<i>Amycolatopsis dongchuanensis</i> YIM 75904 ^T	JN656710	96.98	44/1457
3	<i>Amycolatopsis sacchari</i> K24 ^T	AF223354	96.90	45/1450
4	<i>Amycolatopsis sulphurea</i> DSM 46092 ^T	AF051343	96.75	47/1447

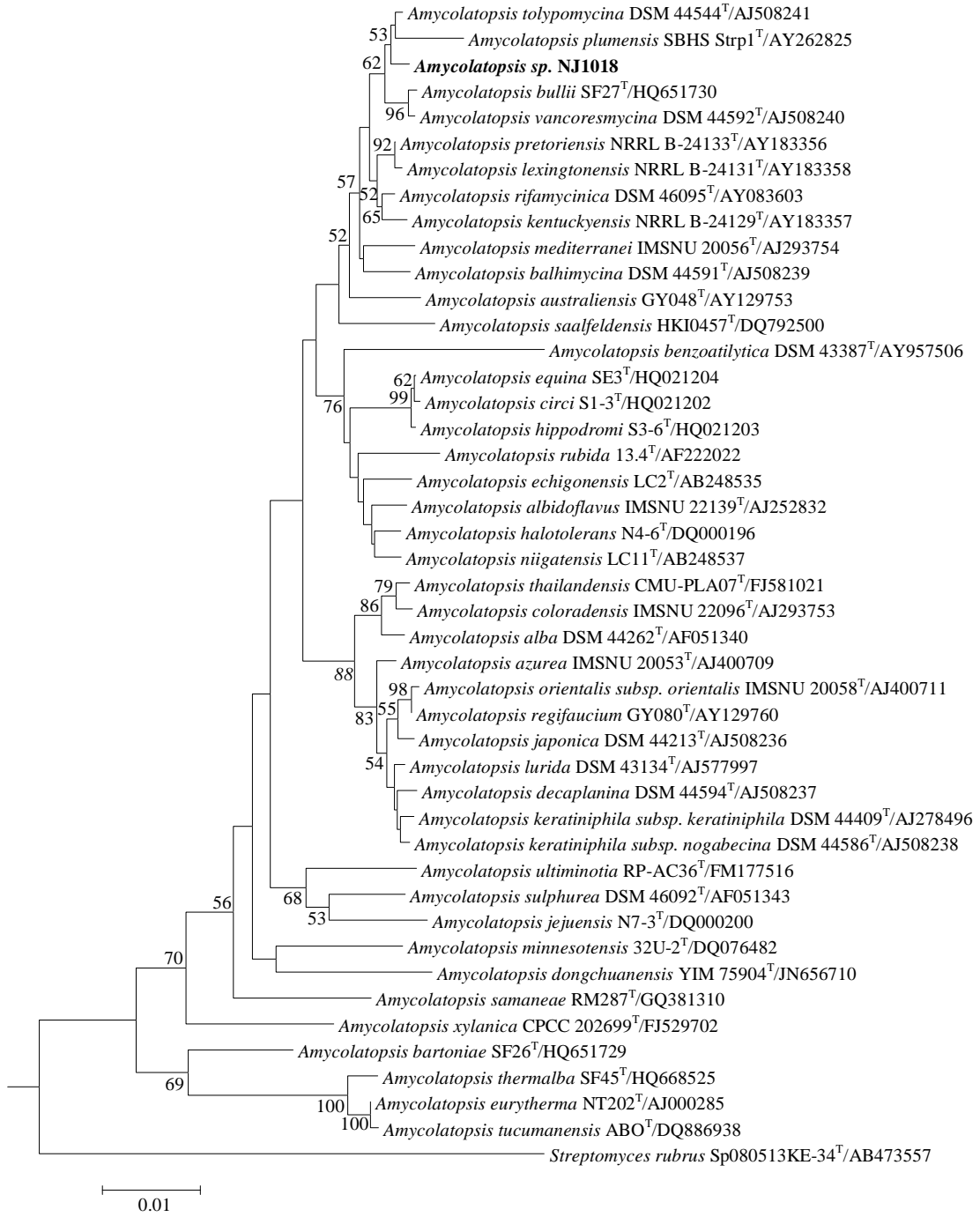
Şekil 4.9: K206 suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



NJ2060 suşu

No	İsim	% Benzerlik	Nt. Farkı
1	<i>A. ruanii</i> NMG112 ^T	99.38	9/1461
2	<i>A. thermoflava</i> N1165 ^T	99.24	11/1456
3	<i>A. methanolica</i> IMSNU 20055 ^T	98.98	15/1470
4	<i>A. thermalba</i> SF45 ^T	98.92	15/1392
5	<i>A. viridis</i> GY115 ^T	98.78	17/1388
6	<i>A. eurytherma</i> NT202 ^T	98.76	18/1456
7	<i>A. granulosa</i> GY307 ^T	98.59	20/1415

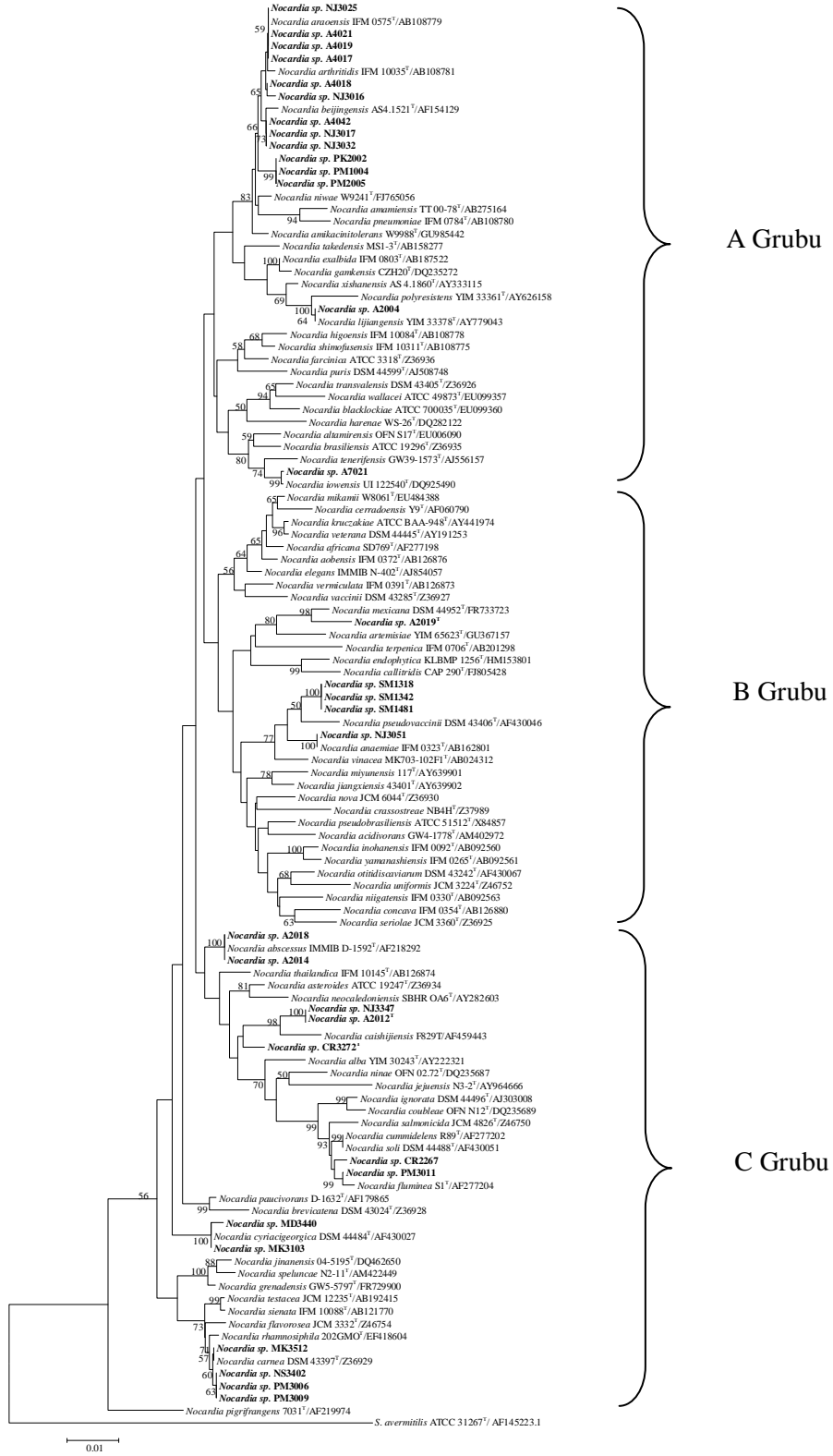
Şekil 4.10: NJ2060 suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



NJ1018 suşu

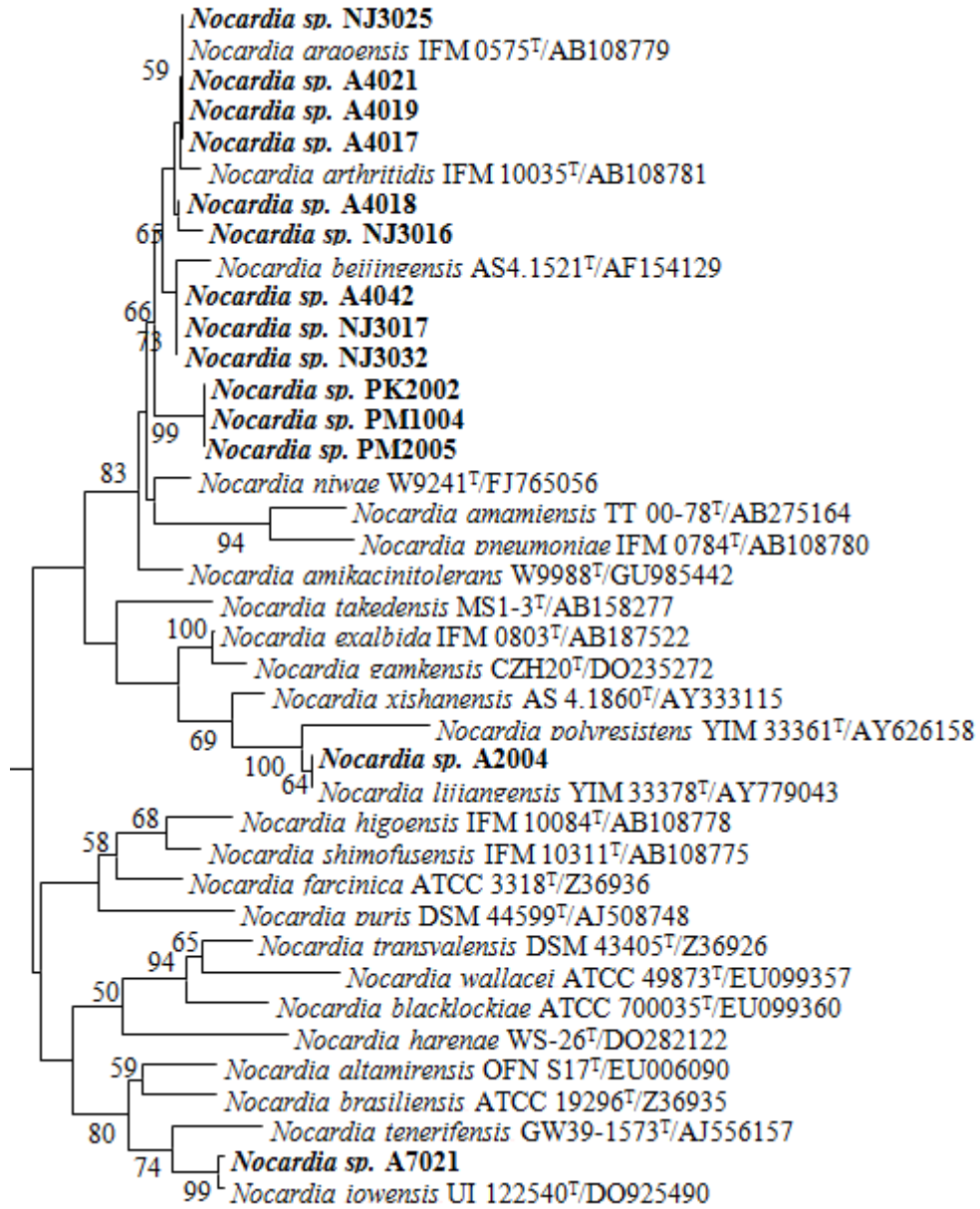
No	İsim	% Benzerlik	Nt. Farkı
1	<i>A. tolypomycina</i> DSM 44544 ^T	99.29	10/1406
2	<i>A. pretoriensis</i> NRRL B-24133 ^T	98.85	16/1397
3	<i>A. lexingtonensis</i> NRRL B-24131 ^T	98.25	25/1431
4	<i>A. bullii</i> SF27 ^T	97.92	30/1442

Şekil 4.11: NJ1018 suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



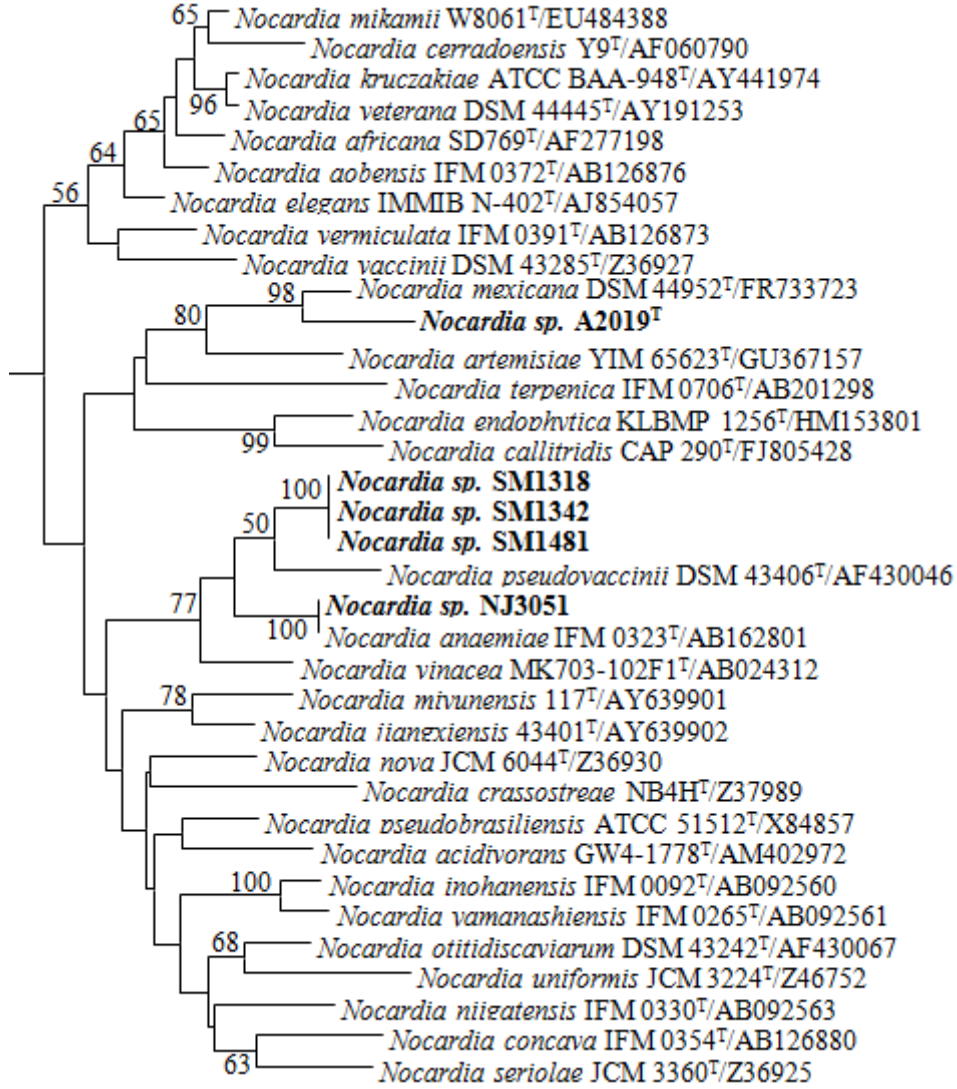
Şekil 4.12: Sekansı yapılan *Nocardia* suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.

A Grubu



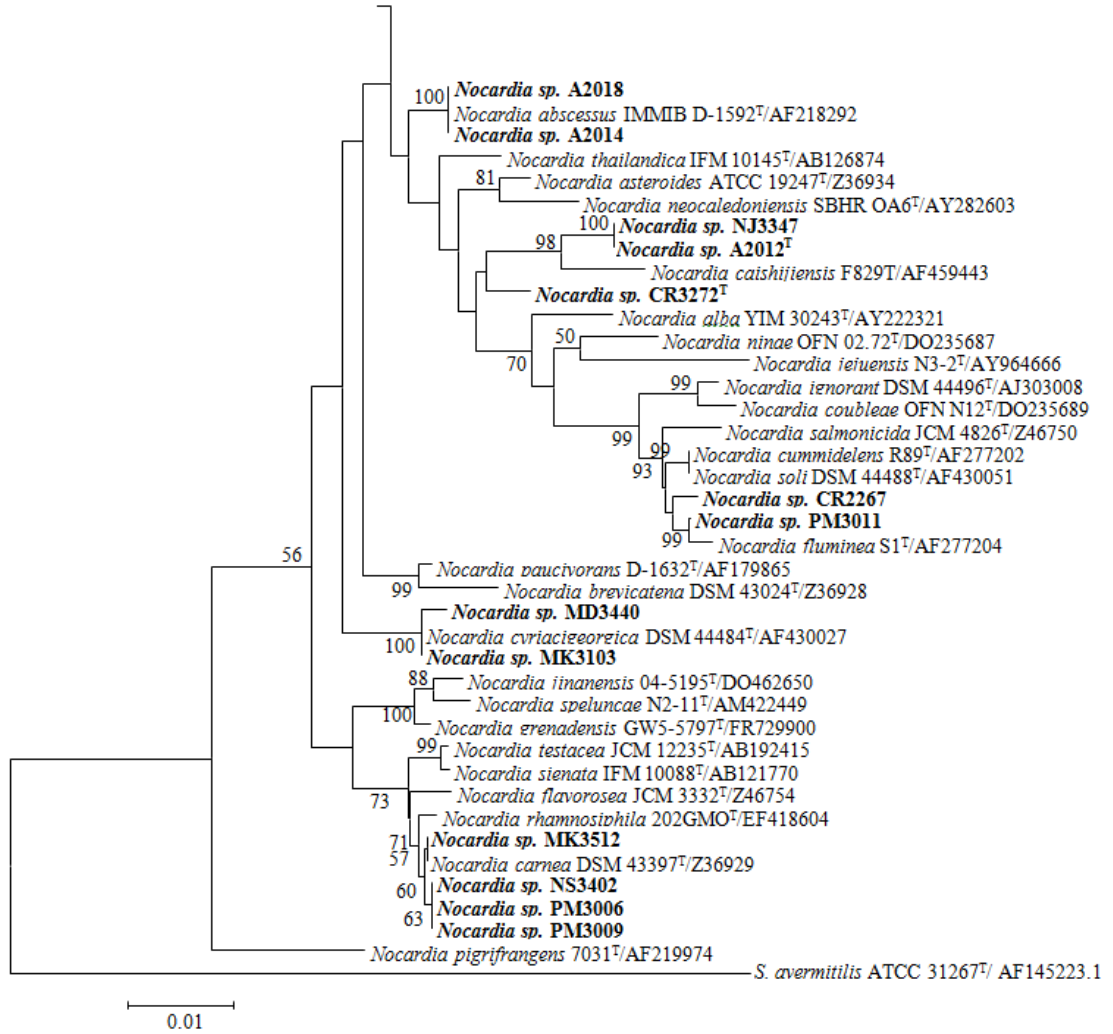
Şekil 4.12A: A grubuna dâhil olan *Nocardia* üyelerinin 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.

B Grubu

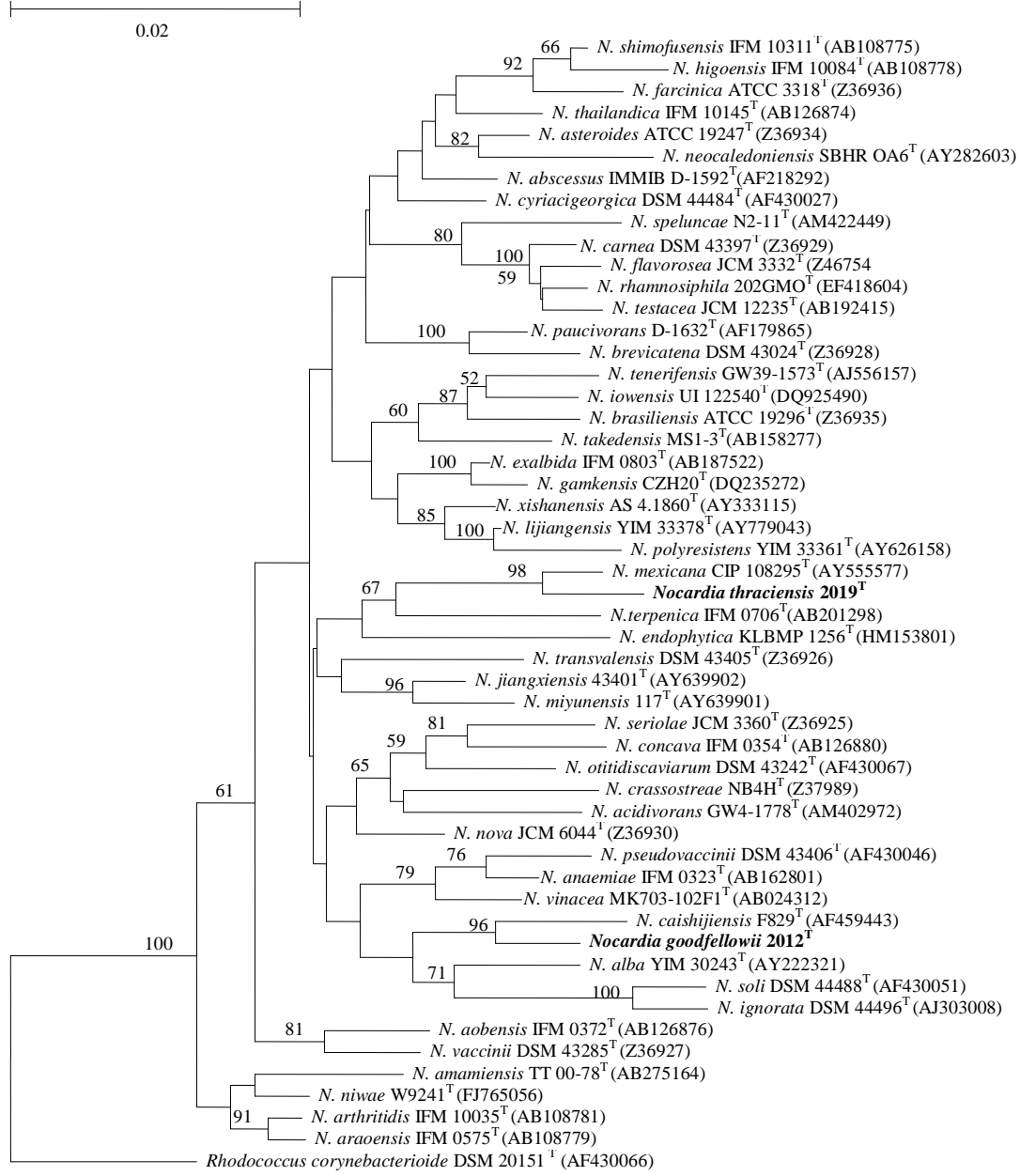


Şekil 4.12B: B grubuna dâhil olan *Nocardia* üyelerinin 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.

C Grubu

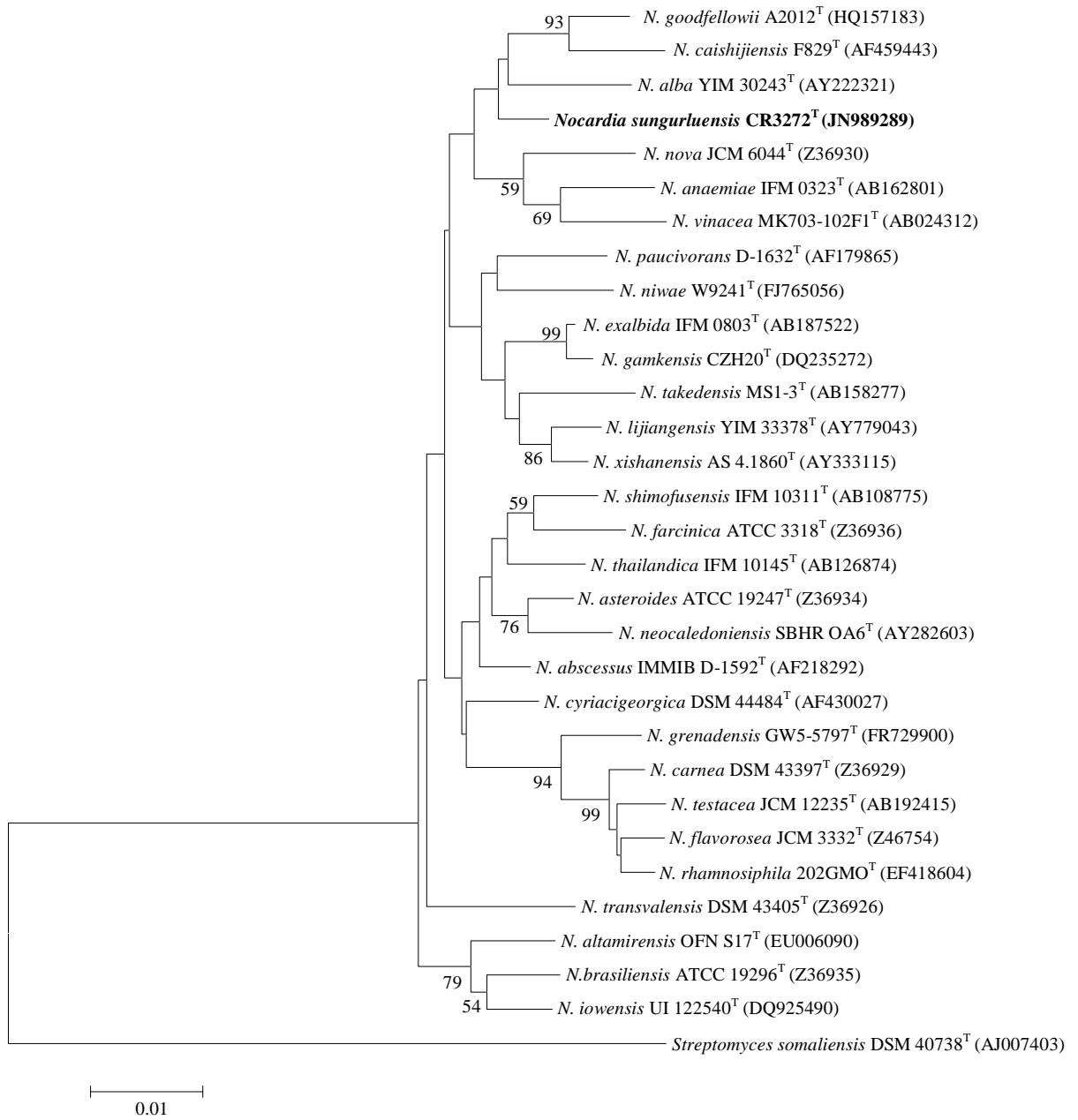


Şekil 4.12C: C grubuna dâhil olan *Nocardia* üyelerinin 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



A2012 ^T				A2019 ^T			
No	İsim	% Benzerlik	Nt. Farkı	No	İsim	% Benzerlik	Nt. Farkı
1	<i>Nocardia caishijiensis</i> F829 ^T	98.60	20/1426	1	<i>Nocardia mexicana</i> DSM 44952 ^T	98.77	18/1464

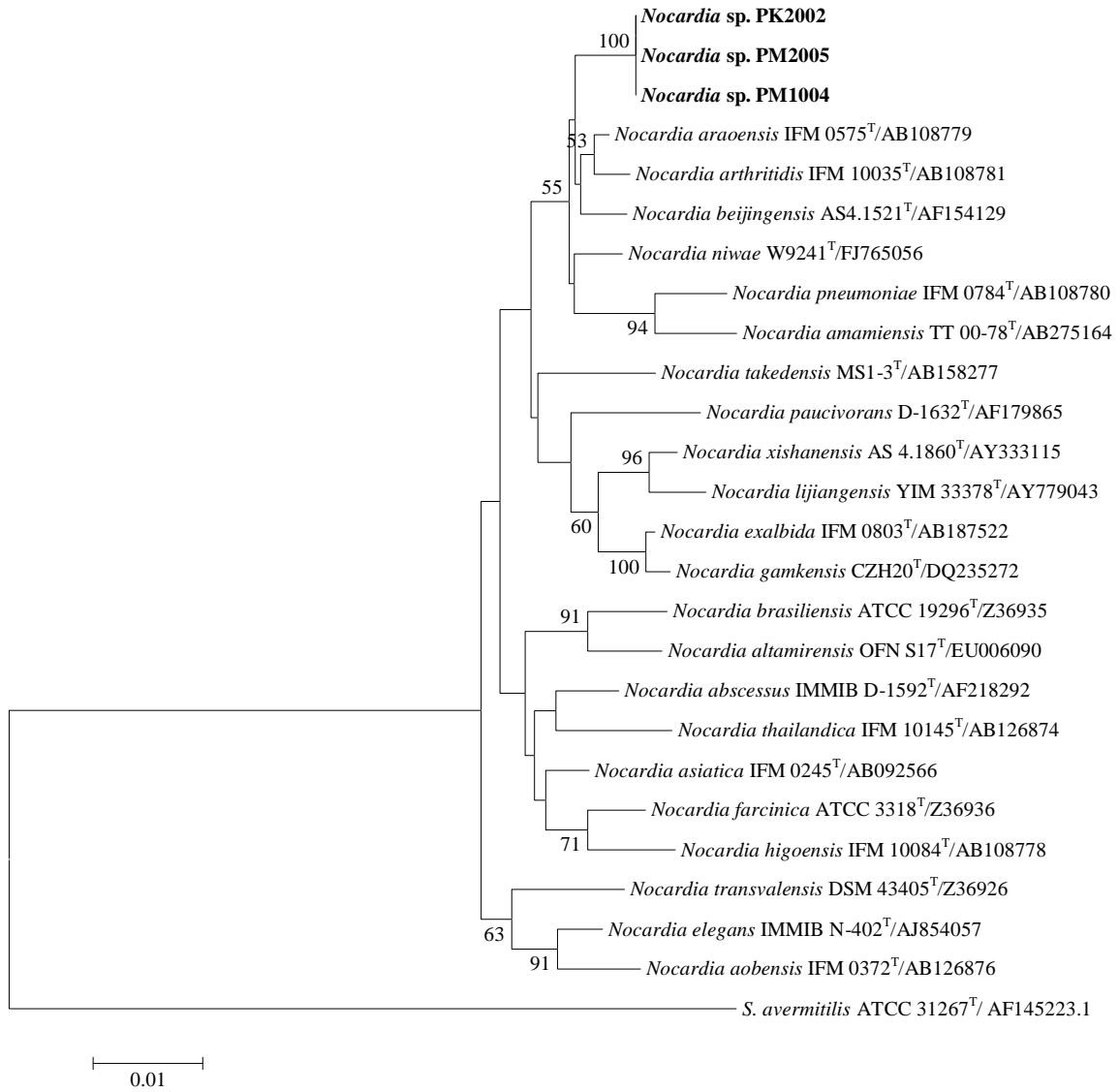
Şekil 4.13: A2012^T ve A2019^T suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



CR3272^T suşu

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Nocardia goodfellowii</i> A2012 ^T	HQ157183	98,63	20/1462
2	<i>Nocardia alba</i> YIM 30243 ^T	AY222321	98,54	21/1442
3	<i>Nocardia caishijiensis</i> F829 ^T	AF459443	97,90	30/1426

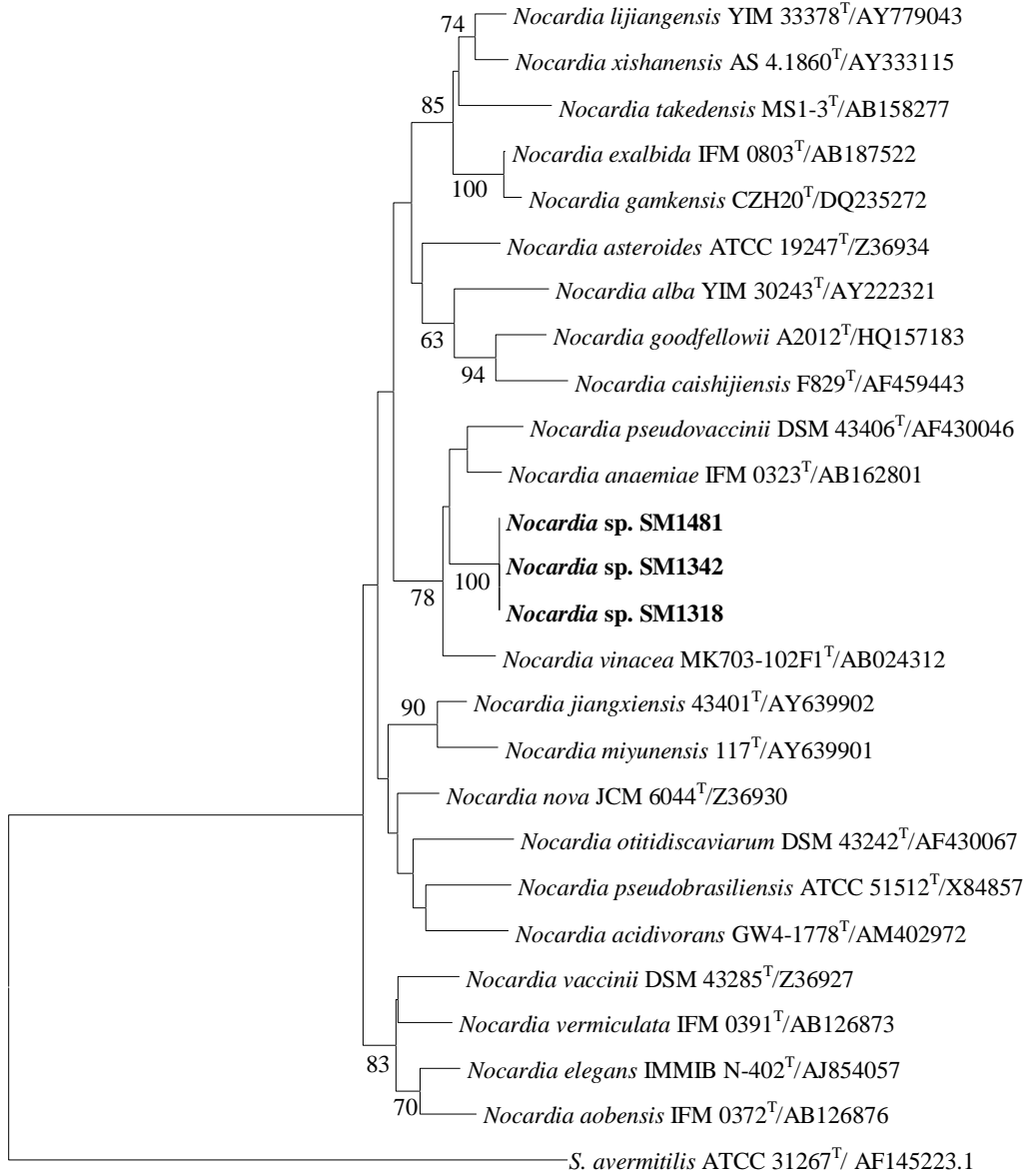
Şekil 4.14: CR3272^T suşunun 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



PM1004, PM2005 ve PK2002 suşları

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Nocardia araoensis IFM 0575^T</i>	AB108779	99.17	12/1464
2	<i>Nocardia arthritis IFM 10035^T</i>	AB108781	99.04	14/1456
3	<i>Nocardia beijingensis AS4.1521^T</i>	AF154129	98.99	14/1421
4	<i>Nocardia niwae W9241^T</i>	FJ765056	98.96	15/1440

Şekil 4.15: PK2002, PM2005 ve PM1004 suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.



0.01

SM1481, SM1342 ve SM1318 suşları

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
1	<i>Nocardia pseudovaccinii</i> DSM 43406 ^T	AF430046	98.97	15/1455
2	<i>Nocardia vinacea</i> MK703-102F1 ^T	AB024312	98.90	16/1461
3	<i>Nocardia anaemiae</i> IFM 0323 ^T	AB162801	98.56	21/1463
4	<i>Nocardia nova</i> JCM 6044 ^T	Z36930	97.94	30/1455
5	<i>Nocardia vaccinii</i> DSM 43285 ^T	Z36927	97.80	32/1455

Şekil 4.16: SM1481, SM1342 ve SM1318 suşlarının 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi.

4.1.4 DNA-DNA hibridizasyonu ve % G+C kompozisyonu

16S rRNA geni dizi verilerine göre filogenetik pozisyonu belirlenen izolatların yeni tür olup olmadığının kesinleştirilebilmesi için yapılan DNA-DNA hibridizasyon deneylerinde, en yakın akrabaları ile en fazla nükleotit farkı bulunan *Amycolatopsis* sp. KT2025^T, *Nocardia* sp. A2012^T, *Nocardia* sp. A2019^T ve *Nocardia* sp. CR3272^T suşları seçildi. Bu suşların filogenetik dendogramlarındaki en yakın akrabaları ile olan pozisyonlarına göre *Amycolatopsis* sp. KT2025^T suşunun *A. lurida* DSM 43134^T ve *A. keratiniphila* subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T ile, *Nocardia* sp. A2012^T suşunun *Nocardia caishijiensis* F829^T ile, *Nocardia* sp. A2019^T suşunun *Nocardia mexicana* CIP 108295^T ile ve *Nocardia* sp. CR3272^T suşunun ise *Nocardia goodfellowii* A2012^T, *Nocardia caishijiensis* F829^T ve *Nocardia alba* YIM 30243^T ile hibridizasyon yapılmasına karar verildi (**Çizelge 4.6**). İzolatların % G+C içerikleri hibridizasyon deneyleri tamamlandıktan sonra gerçekleştirildi.

Çizelge 4.6: KT2025^T, A2012^T, A2019^T ve CR3272^T suşlarının DNA-DNA hibridizasyon değerleri ve % G+C kompozisyonları.

DNA-DNA Hibridizasyonu (%)	<i>A. lurida</i> DSM 43134 ^T	<i>A. keratiniphila</i> subsp. <i>keratiniphila</i> DSM 44409 ^T
<i>Amycolatopsis</i> sp. KT2025 ^T	21,5	12,8

DNA-DNA Hibridizasyonu (%)	<i>N. caishijiensis</i> F829 ^T	<i>N. mexicana</i> CIP 108295 ^T	<i>Nocardia</i> sp. A2019 ^T
<i>Nocardia</i> sp. A2012 ^T	15,4	-	-
<i>Nocardia</i> sp. A2019 ^T	-	27,2	22,6

DNA-DNA Hibridizasyonu (%)	<i>N. goodfellowii</i> A2012 ^T	<i>N. alba</i> YIM 30243 ^T	<i>N. caishijiensis</i> F829 ^T
<i>Nocardia</i> sp. CR3272 ^T	37,8	24,4	23,7

	<i>Amycolatopsis</i> sp. KT2025 ^T	<i>Nocardia</i> sp. A2012 ^T	<i>Nocardia</i> sp. A2019 ^T	<i>Nocardia</i> sp. CR3272 ^T
G+C içeriği (%)	70,8	70,6	69,5	70,4

4.1.5 Kültürel ve morfolojik özellikler

16S rRNA gen bölgesi sekansı sonucu yeni tür olduğu kesinleşen ve yeni tür olma ihtimali yüksek olan *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsi üyelerinin farklı besiyerlerindeki kültürel ve morfolojik özellikleri ile, spor morfolojileri dijital fotoğrafı ve taramalı elektron mikroskopisi ile görüntülendi.

4.1.5.1 ISP2 agarda büyüme ve gelişim morfolojileri

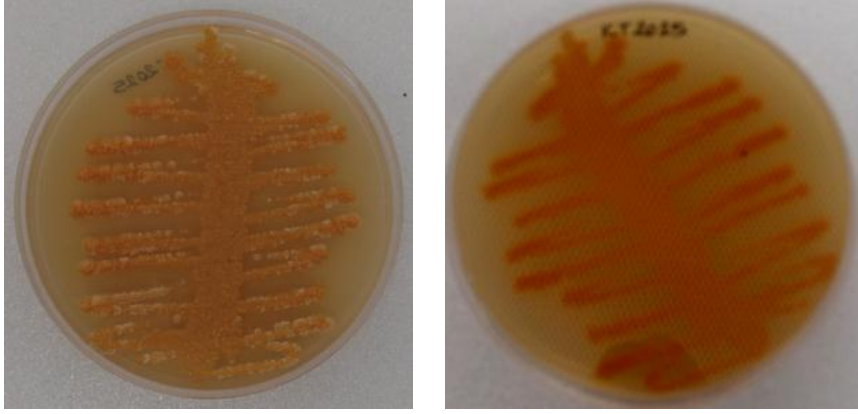
Kültüre alınan ve cins üyesi oldukları kesinleşen örneklerin ISP2 agar yüzeyindeki büyüme gelişim morfolojileri en yakın akraba tip türleri ile birlikte görüntülendi ve kaydedildi (Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23). *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsi üyeleri ile 16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerine göre bunlarla yakın ilişkili tip türlerine ait fotoğraflar 28 °C’de 14 gün inkübasyona sonucunda çekildi. Fotoğraflarda aynı koşullarda ve aynı besi ortamına ekilen izolatların hava miseli, substrat miseli ve çözünür pigment rengi v.b. morfolojik oluşumları görülmektedir.

4.1.5.2 Farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişim morfolojileri

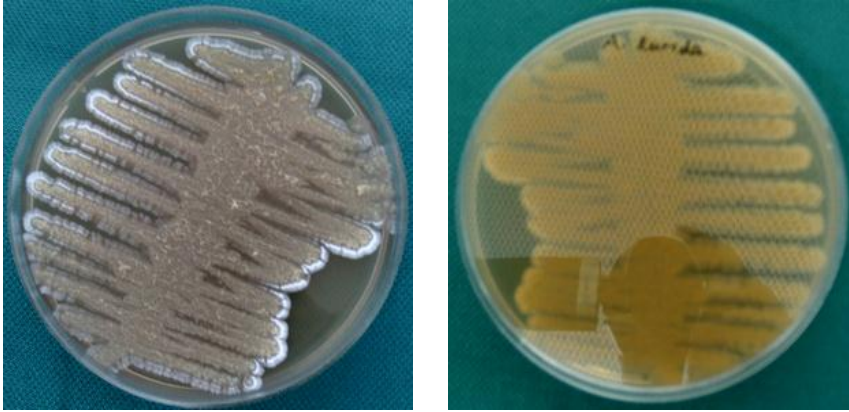
16S rRNA sekans verilerine göre filogenetik pozisyonu belirlenen test suşlarından yeni tür olduğu kesinleşen suşların ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7, Bennett’s agar, Czapek’s agar ve nutrient agar besiyerindeki büyüme ve gelişim morfolojileri görüntülendi (Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26, Çizelge 4.7).

4.1.5.3 Spor morfolojisi

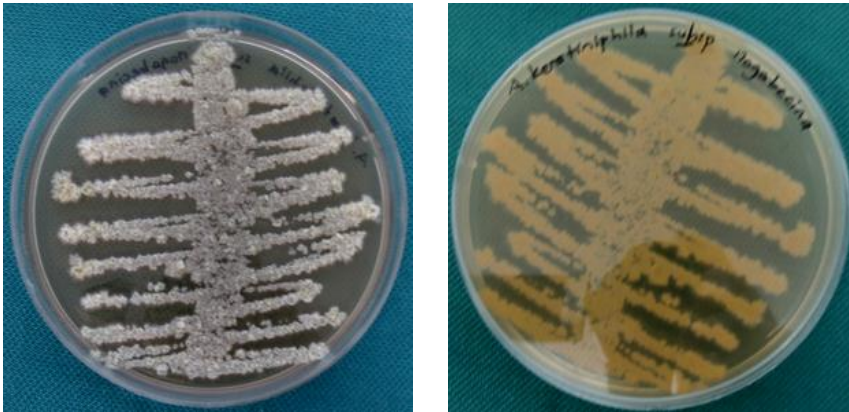
Taramalı elektron mikroskopu ile spor yüzeyinin ve zincir yapısının belirlenmesi işlemi, yeni türlere ve yeni tür olma ihtimali olan birkaç organizma için gerçekleştirildi. Görüntüleme sonunda *Amycolatopsis* ve *Nocardia* üyeleri dallanmış misellerin arasında düz yüzeyli genelde çubuk ve spiral şeklinde görülmektedir (Şekil 4.27).



Amycolatopsis sp. KT2025^T

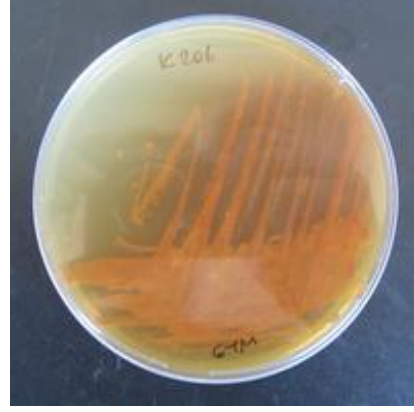


Amycolatopsis lurida DSM 43134^T



Amycolatopsis keratiniphila subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T

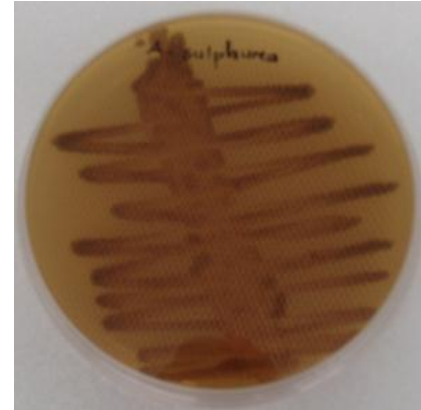
Şekil 4.17: KT2025^T suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.



Amycolatopsis sp. K206

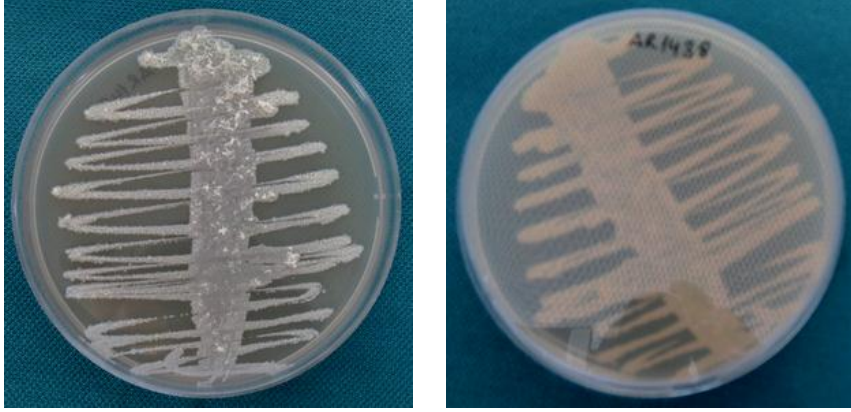


Amycolatopsis sacchari DSM 44468^T

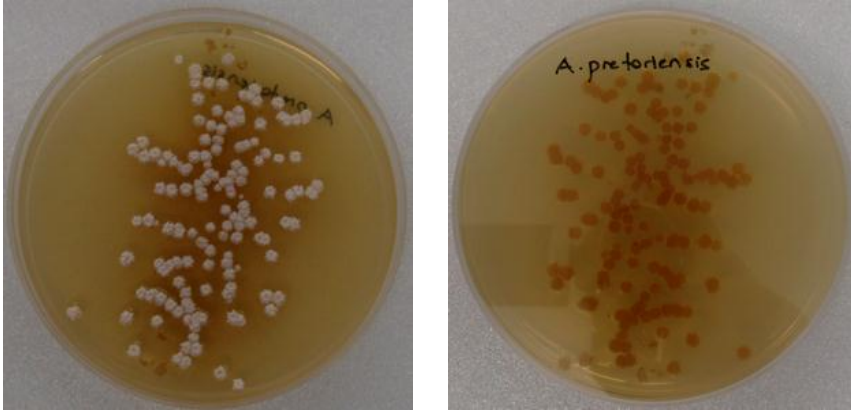


Amycolatopsis sulphurea DSM 46092^T

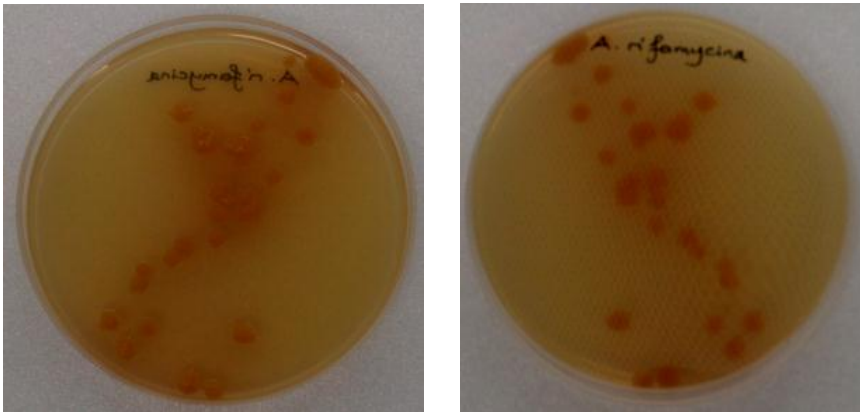
Şekil 4.18: K206 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.



Amycolatopsis sp. AR1438



Amycolatopsis pretoriensis DSM 44654^T

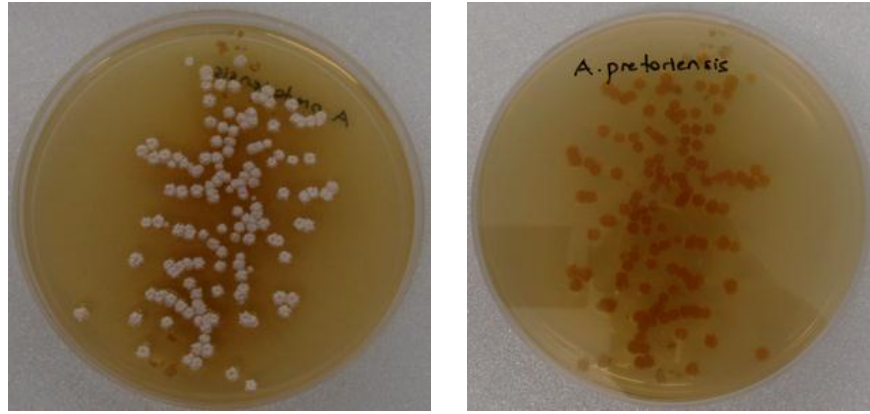


Amycolatopsis rifamycinica DSM 46095^T

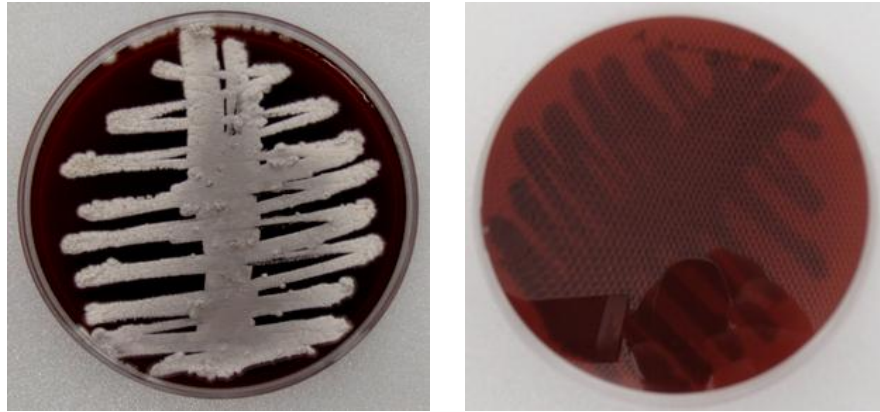
Şekil 4.19: AR1438 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.



Amycolatopsis sp. NJ1018

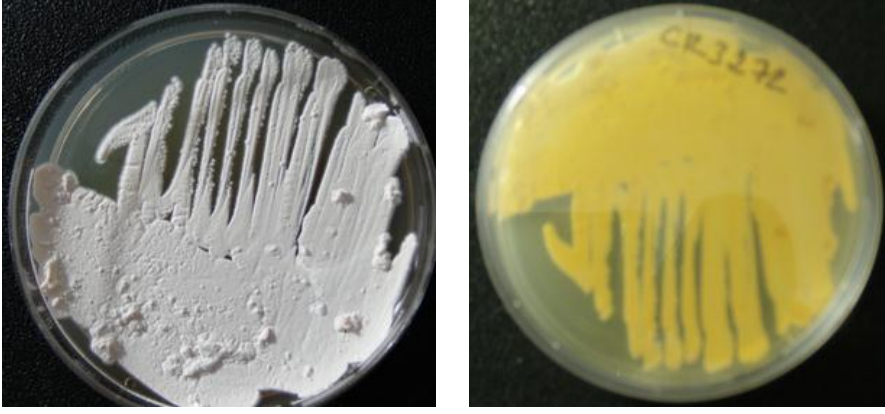


Amycolatopsis pretoriensis DSM 44654^T

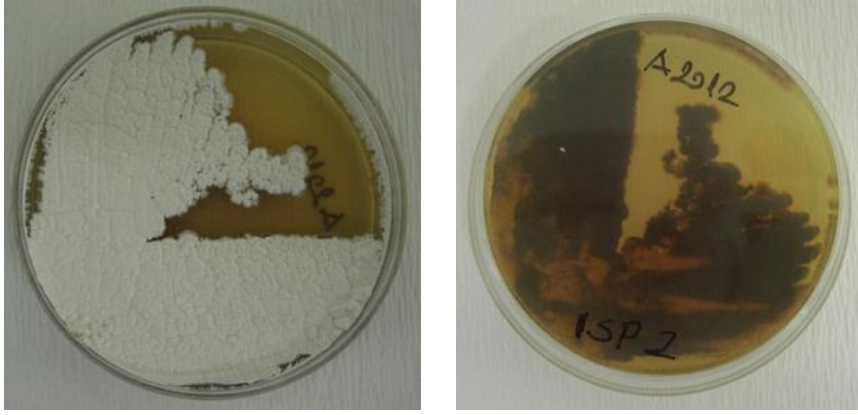


Amycolatopsis lexingtonensis DSM-44653^T

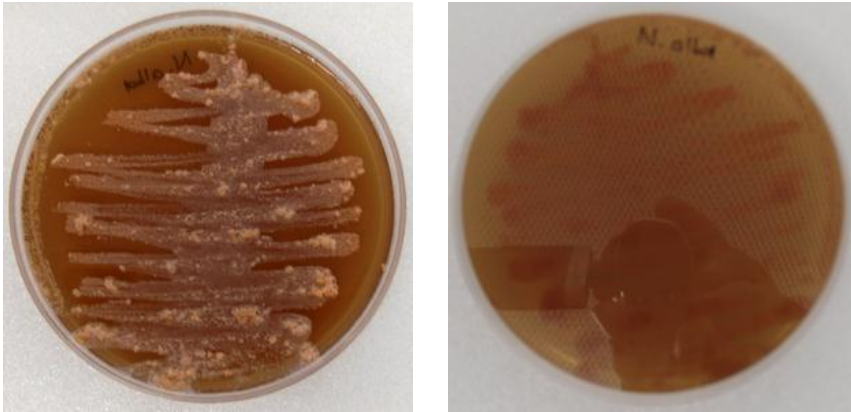
Şekil 4.20: NJ1018 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.



Nocardia sp. CR3272^T

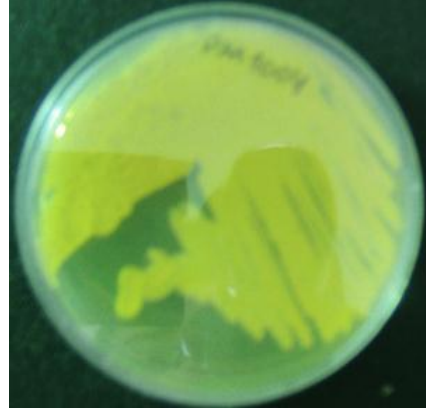


Nocardia goodfellowii sp. nov. A2012^T

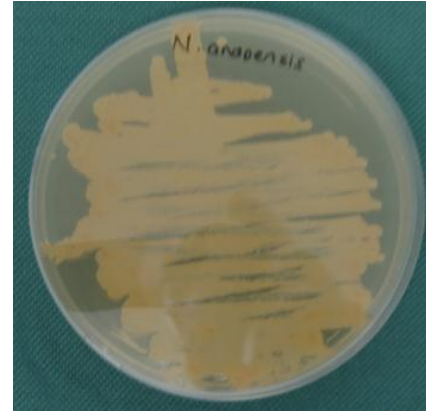


Nocardia alba DSM 44684^T

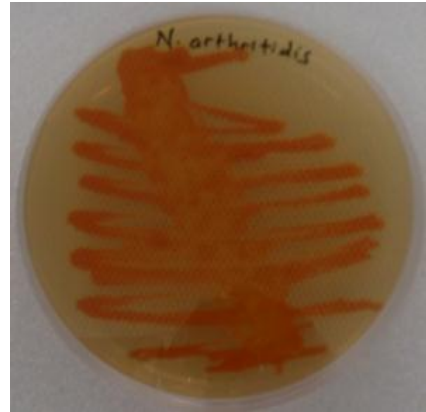
Şekil 4.21: CR3272^T suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.



Nocardia sp. PM1004

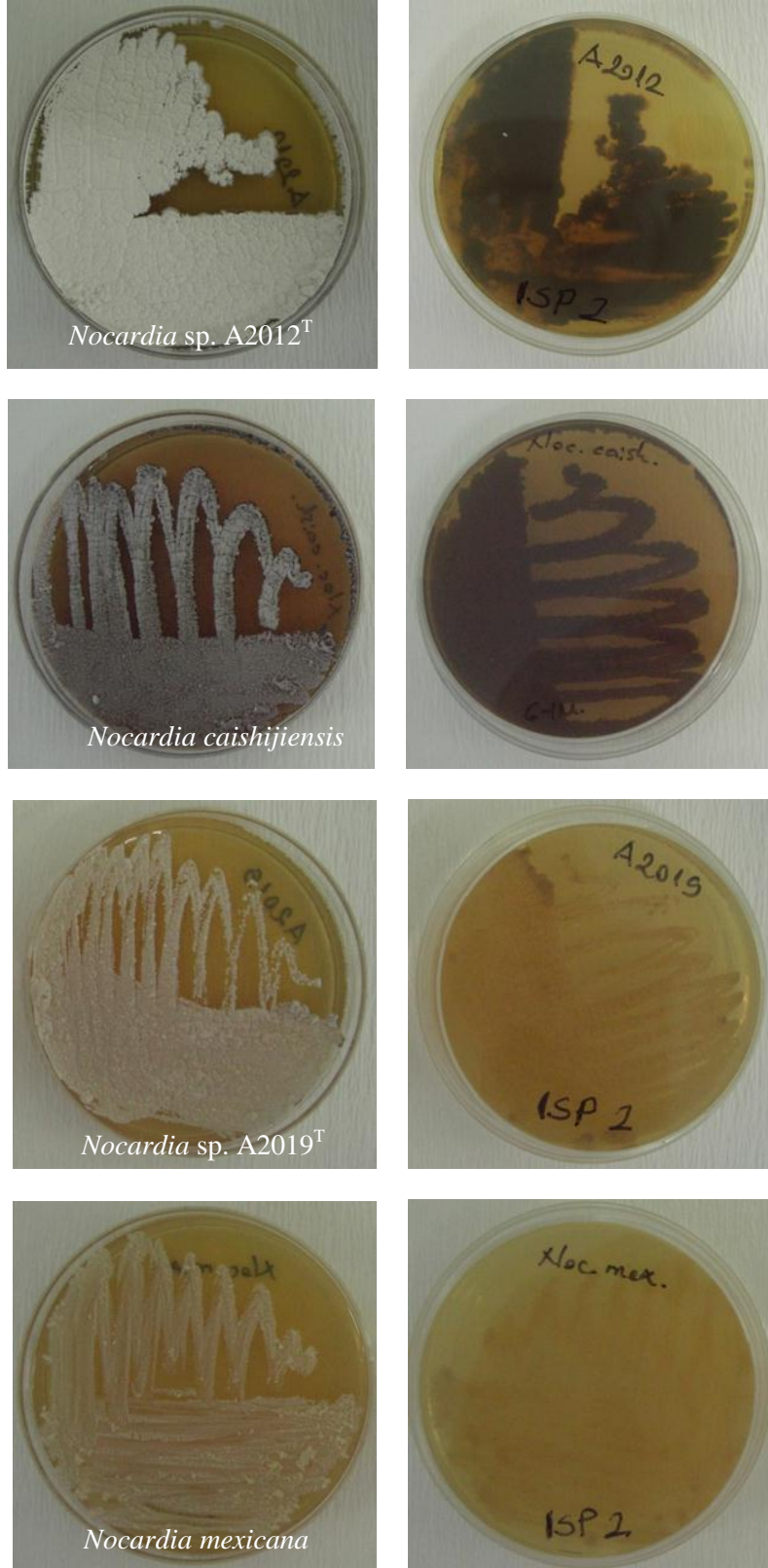


Nocardia araoensis DSM 44729^T

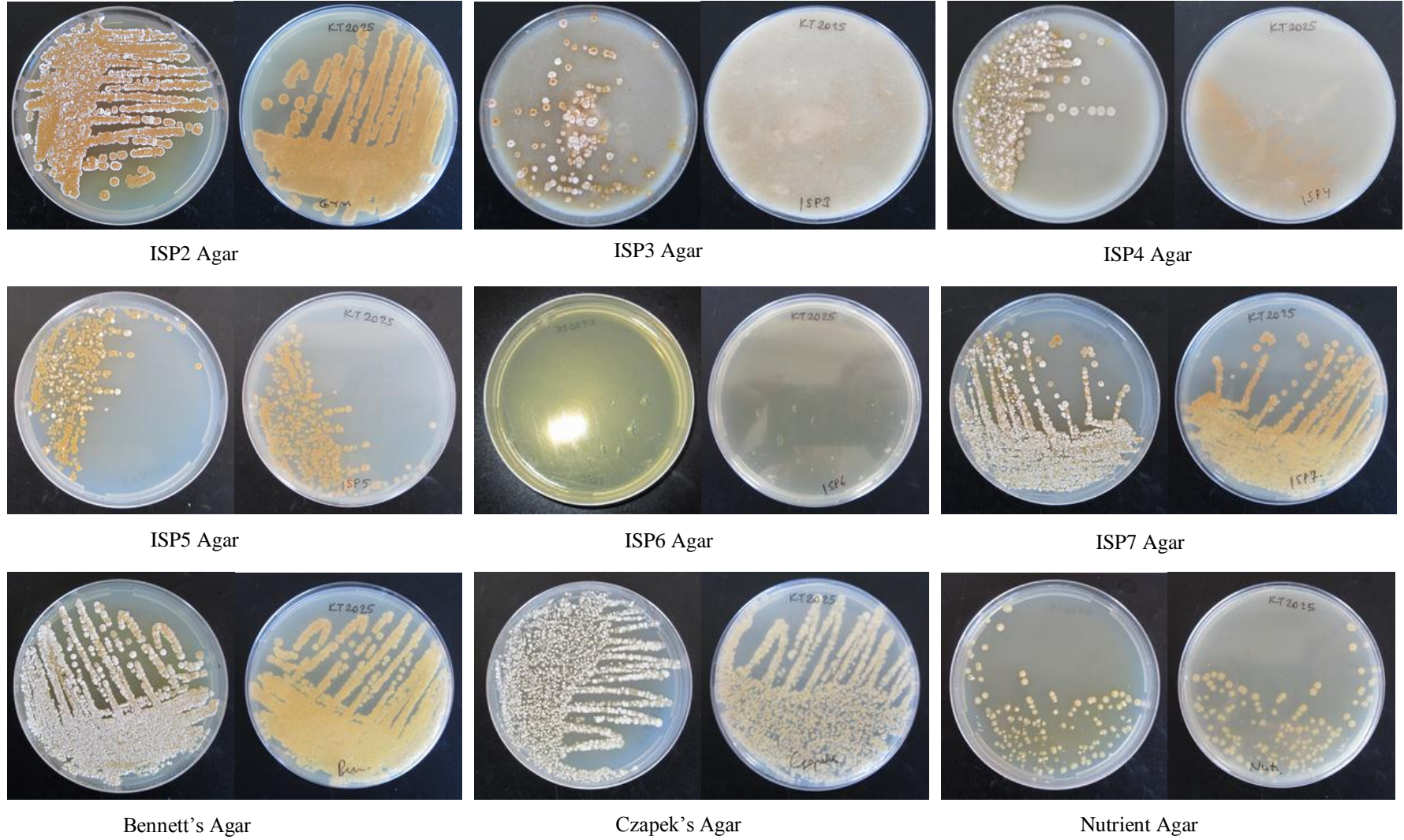


Nocardia artritidis DSM 44731^T

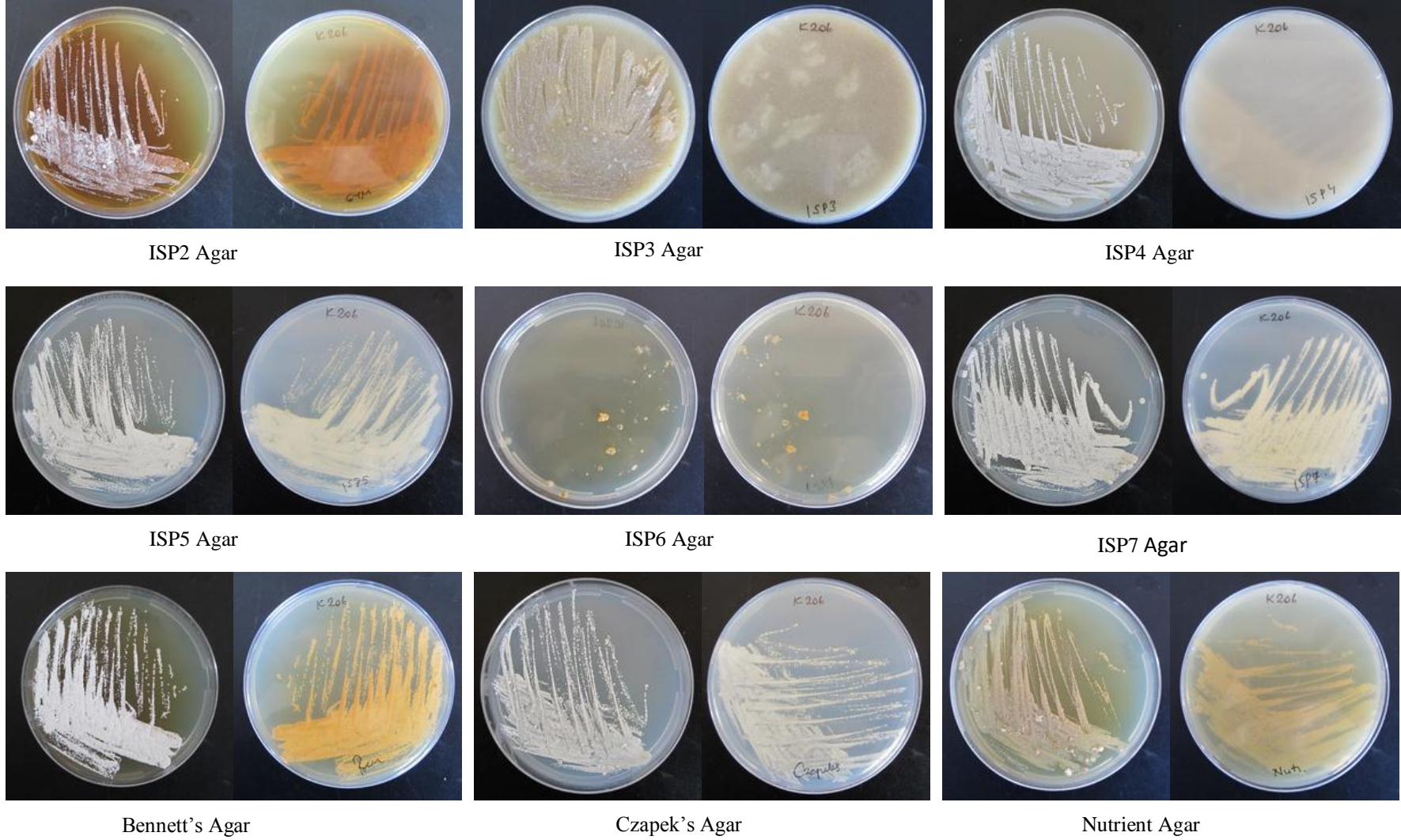
Şekil 4.22: PM1004 suşu ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.



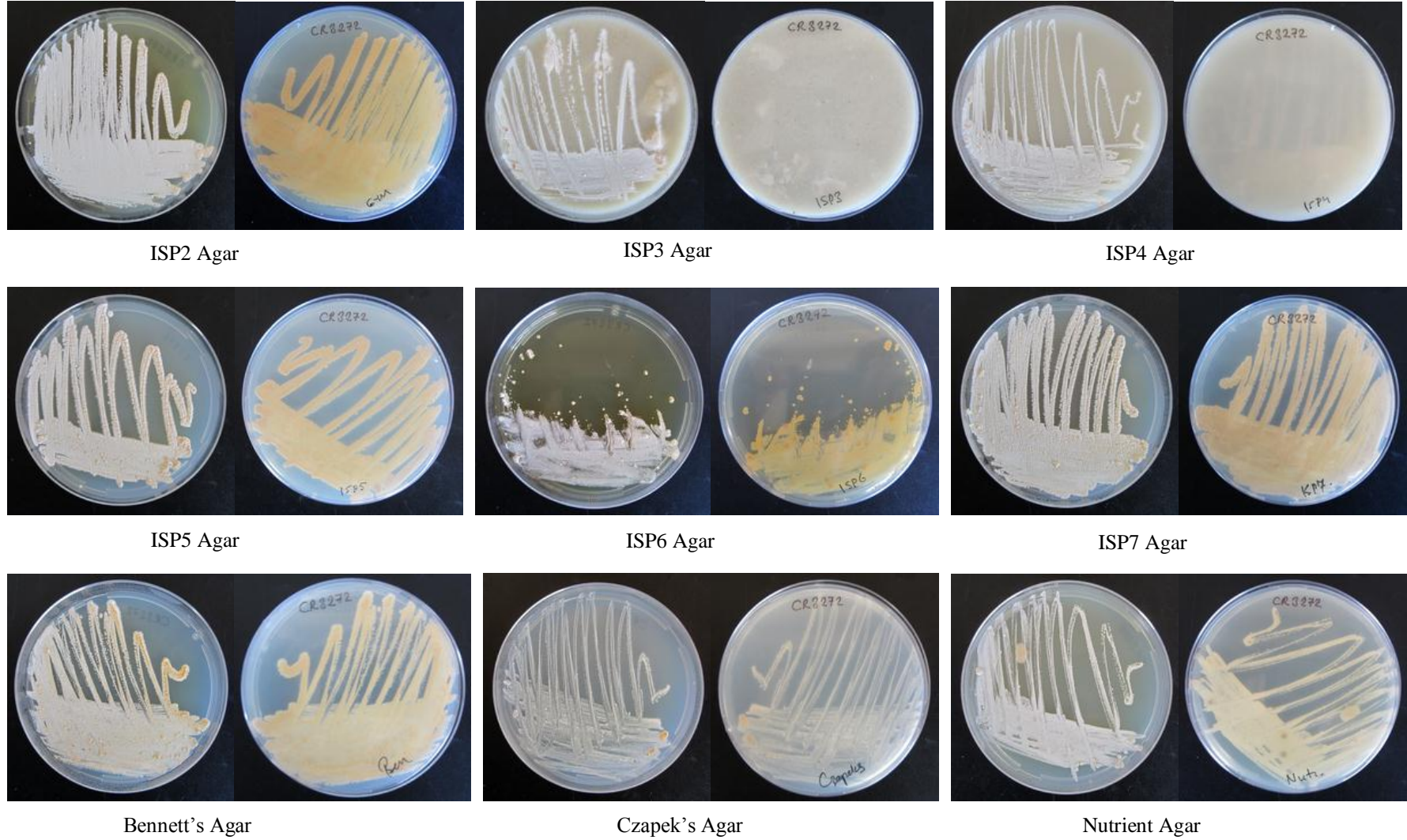
Şekil 4.23: A2012^T ve A2019^T suşları ve en yakın tip türlerinin koloni morfolojileri.



Şekil 4.24: KT2025^T izolatının dokuz farklı besiyerindeki koloni morfolojileri.



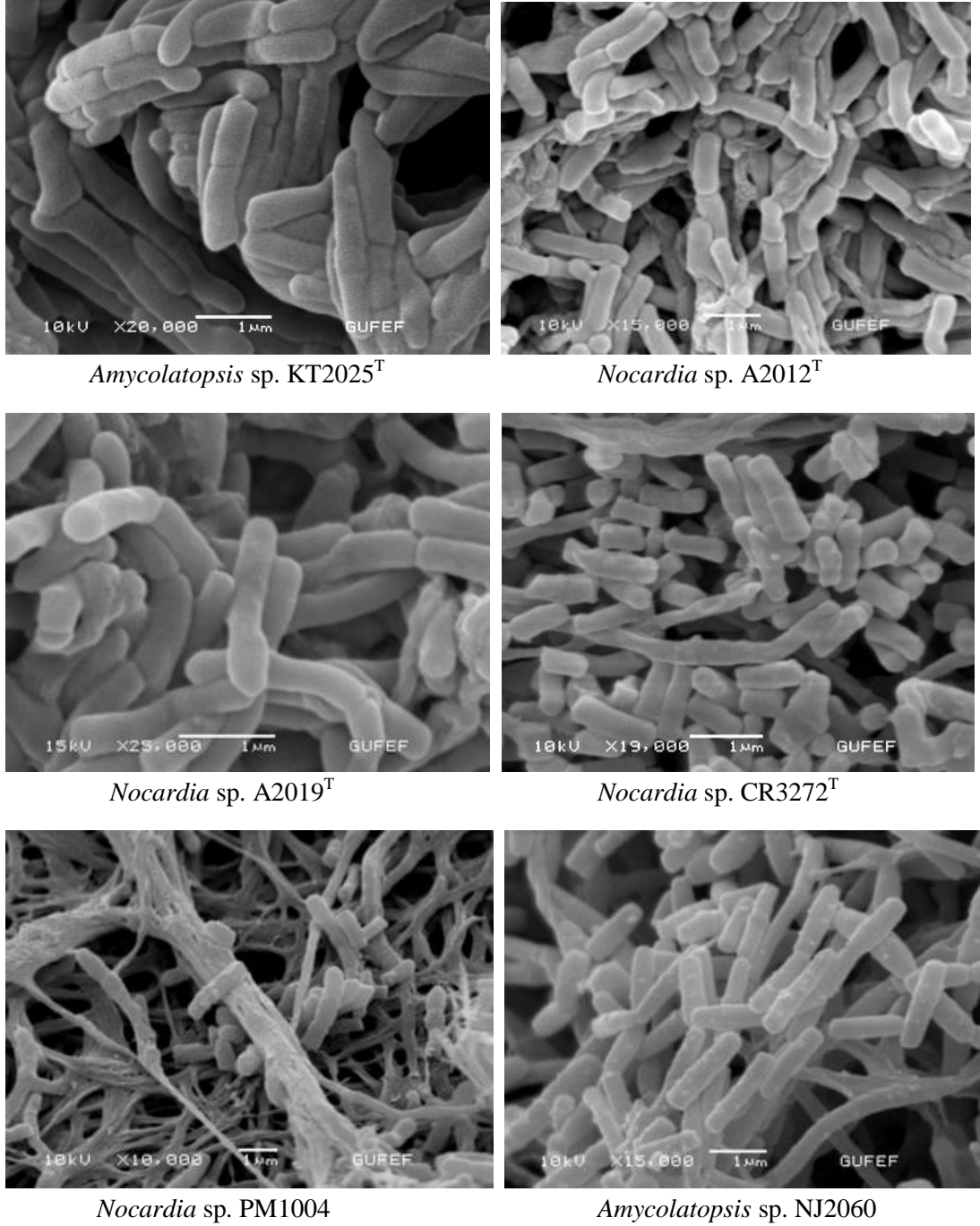
Şekil 4.25: K206 izolatının dokuz farklı besiyerindeki koloni morfolojileri.



Şekil 4.26: CR3272^T izolatının dokuz farklı besiyerindeki koloni morfolojileri.

Çizelge 4.7: Bazı test izolatlarının dokuz farklı besiyerindeki kültürel ve morfolojik özellikleri: 1, *Amycolatopsis* sp. KT2025^T; 2, *Amycolatopsis* sp. K206; 3, *Nocardia* sp. A2012^T; 4, *Nocardia* sp. A2019^T; 5, *Nocardia* sp. CR3272^T.

	Kültürel Karakteristikler	Yeast extract-Malt extract agar (ISP2)	Oatmeal agar (ISP3)	Inorganic salt starch agar (ISP4)	Glycerol asparagine agar (ISP5)	Pepton-yeast extract iron agar (ISP6)	Tyrosine agar (ISP7)	Modified Bennett's agar	Czapek's agar	Nutrient agar
1	Gelişimi: Spor rengi: Substrat miselyum: Çözünür pigment:	+++ Beyaz Turuncu -	+++ Beyaz Kırmızımsı-turuncu -	+++ Beyaz Turuncu-sarı -	+ Beyaz Açık-K.rengi -	Gelişim yok	++ Beyaz Açık turuncu -	+++ Beyaz Turuncu -	++ Beyaz Beyaz -	+++ Beyaz Turuncu -
2	Gelişimi: Spor rengi: Substrat miselyum: Çözünür pigment:	+++ Beyaz K.rengi-turuncu -	+++ Beyaz Parlak sarı -	+++ Beyaz Zayıf turuncu sarı -	+++ Beyaz Açık sarı -	+++ Beyaz K. rengi -	+++ Beyaz Açık sarı -	+++ Beyaz Turuncu-sarı --	++ Beyaz Beyaz -	+++ Beyaz Turuncu-sarı -
3	Gelişimi: Spor rengi: Substrat miselyum: Çözünür pigment:	+++ Turuncu-sarı Sarı-K.rengi -	+++ Beyaz Turuncu-sarı -	+++ Beyaz Beyaz -	+++ Açık turuncu Orta k.rengi Turuncu-sarı	+ Açık turuncu Turuncu-sarı -	+++ Açık k.rengi Griimsi-k.rengi Açık turuncu-sarı	+++ Griimsi yeşil Sarımsı-kahve --	+++ Beyaz Beyaz -	+++ Beyaz Açık turuncu sarı -
4	Gelişimi: Spor rengi: Substrat miselyum: Çözünür pigment:	+++ Açık turuncu sarı Turuncu sarı -	+++ Beyaz Zayıf sarı -	Gelişim yok	+++ Beyaz Açık turuncu -	+++ Beyaz Turuncu Turuncu sarı	+++ Griimsi k.rengi Koyu k.rengi K.rengi	+++ Açık turuncu sarı Koyu k.rengi Açık turuncu	+++ Beyaz Beyaz -	+++ - Açık turuncu sarı -
5	Gelişimi: Spor rengi: Substrat miselyum: Çözünür pigment:	+++ Açık turuncu Canlı turuncu -	++ Beyaz Turuncu-sarı -	++ Beyaz Turuncu-sarı -	+++ Açık turuncu Parlak turuncu -	++ Beyaz Turuncu-sarı -	+++ Sarımsı pembe Kırmızı-turuncu -	+++ Sarımsı pembe Kırmızı-turuncu -	++ Açık turuncu-sarı Açık turuncu-sarı -	+++ Açık turuncu-sarı Açık turuncu-sarı -



Şekil 4.27: Bazı *Amycolatopsis* ve *Nocardia* izolatlarının misel yapıları ve spor morfolojilerinin taramalı elektron mikroskop görüntüleri.

4.1.6 Fenotipik karakterizasyon

16S rRNA dizi benzerliği verileri ve filogenetik pozisyona göre *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cins üyelerine ait olduğu belirlenen ve yeni tür olan/olma ihtimali yüksek test organizmaları, en az 50 birim karakter üzerinden fenotipik değerlendirmeye tabi tutuldu. Test seçimi, test suşları arasındaki morfolojik, besinsel, biyokimyasal ve fizyolojik farklılıkları en iyi gösterecek şekilde yapıldı. Bütün testler her bir suş için

en az bir kez uygulandı ve sonuçlar inkübasyon süresi sonunda olarak kaydedildi (**Çizelge 4.8, Çizelge 4.9**). Biyokimyasal testler yapılırken, test ortamları 5 ml'lik yatık agarlar halinde, kapaklı küçük deney tüplerine hazırlandı. İnkübasyon sonucunda test suşları negatif kontrol ile birlikte karşılaştırılarak değerlendirildi. Yeni tür olduğu kesinleşen KT2025^T suşuna uygulanan API-ZYM test verileri değerlendirilirken, ortama uygun ayıraçlar muamele edildikten sonra, aktivitenin daha iyi gözlenmesi için ortam 30 sn kuvvetli ışığa maruz bırakıldı ve okuma yapıldı (**Çizelge 4.10**).

Çizelge 4.8: Bazı *Amycolatopsis* izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri. İzolatlar ve tip türleri; 1, KT2025^T; 2, K204; 3, K206; 4, AR1438; 5, KT1012; 6, MK1017; 7, NJ2060; 8, *A. orientalis* subsp. *orientalis* DSM 40040^T; 9, *A. azurea*; DSM 43854^T; 10, *A. australiensis*; 11, *A. lurida* DSM 43134^T; 12, *A. keratiniphila* subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T; 13, *A. keratiniphila* subsp. *nogabecina*; 14, *A. nigrescens* DSM 44992^T; 15, *A. minnesotensis* NRRL B-24435^T; 16, *A. sacchari*; 17, *A. pretoriensis*; 18, *A. lexingtonensis*; 19, *A. rifamycinica*; 20, *A. kentuckyensis*.

	% 1 w/v	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Temel Karbon Kaynakları																				
2	Adonitol	-	-	-	Y	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	Y	Y	Y	Y
3	D-arabinoz	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	D-sellobioz	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	D-fruktoz	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	D-salisin	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	D-sorbitol	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
8	D-galaktoz	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	D-mannoz	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	D-melezitoz	+	+	+	+	+	+	+	Y	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	D-Melibioz	-	Y	Y	Y	-	-	Y	-	-	-	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
12	D-Mannitol	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Dekstrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
14	Dekstran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
15	İnulin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	L-sorbose	-	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	L-arabinose	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
18	L-rhamnose	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
19	Laktoz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
20	L-glutamat	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
21	Maltoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
22	mezo-inositol	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
23	Propionik asit (% 0.1 w/v)	-	Y	Y	Y	-	+	Y	+	+	-	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
24	Rafinoz	-	Y	Y	Y	-	-	Y	-	-	-	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
25	Nişasta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
26	Süksinik asit (% 0.1 w/v)	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
27	Sükroz (Sakkaroz)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
28	Ksilitol	-	-	-	-	-	+	Y	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+
29	Ksiloz	-	+	-	+	-	+	Y	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

+;pozitif, -; negatif, Y; yapılmadı

Çizelge 4.8 (devamı): Bazı *Amycolatopsis* izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri.

	% 0,1 w/v	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Temel Azot Kaynakları																				
1	Alfa-iso-lösin	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-
2	D-fenilalanin	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
3	Glisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	L-alanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	L-arginin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	L-sistein	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
7	L-histidin	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	L-hidroksiprolin	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
9	L-metionin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-
10	L- fenilalanin	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
11	L-prolin	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
12	L-serin	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	L-treonin	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
14	L-valin	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	Degradasyon Testleri (w/v)																				
1	Adenin (% 0.5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Kazein (% 1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Kitin (% 0.5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	DNA (% 0.5)	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Elastin (% 0.3)	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
6	Jelatin (% 0.5)	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Guanin (% 0.05)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
8	Hipoksantin (% 0.4)	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	L-tirozin (% 0.5)	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
10	RNA (% 0.5)	-	Y	Y	Y	-	-	+	+	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
11	Nişasta (% 1)	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
12	Tween 20 (% 1)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Tween 80 (% 1)	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
14	Ksantin(% 0.4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Ksilan (% 0.4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+:pozitif, -: negatif, Y; yapılmadı

Çizelge 4.8 (devamı): Bazı *Amycolatopsis* izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri.

	Biyokimyasal Testler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1.	Aeskulin hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
2.	Arbutin hidrolizi	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
3.	Allantoin hidrolizi	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+
4.	Nitrat Redüksiyonu	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
5.	Üre hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	pH toleransı																				
1.	4	-	-	-	-	-	-	+	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	5	-	+	-	-	-	-	+	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
3.	6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	8	-	+	-	-	-	-	+	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
6.	9	+	-	+	-	+	-	+	Y	Y	Y	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	10	+	-	-	+	-	-	-	Y	Y	Y	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
	Sıcaklık																				
1.	4 °C	-	-	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	10°C	-	-	-	+	-	+	+	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
3.	20 °C	+	+	-	+	+	-	+	Y	Y	Y	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
4.	28 °C	+	+	+	+	+	+	+	Y	Y	Y	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	37 °C	-	-	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
6.	45 °C	-	-	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	NaCl (% w/v)																				
1.	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	2	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3.	3	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
4.	4	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
5.	5	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6.	6	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
7.	7	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
8.	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
9.	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
10.	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+;pozitif, -; negatif, Y; yapılmadı

Çizelge 4.9: Bazı *Nocardia* izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri. İzolatlar ve tip türleri; 1, A2012^T; 2, A2019^T; 3, PM2005; 4, CR3272^T; 5, PM1004; 6, PM3011; 7, A4042; 8, CR2267; 9, SM1481; 10, *N. caishijiensis*; 11, *N. mexicana*; 12, *N. terpenica* 13, *N. araoensis* 14, *N. alba*; 15, *N. asteroides*; 16, *N. farcinica* 17, *N. ignorata* 18, *N. cyriacigeorgia* 19, *N. attidiscoviorium*; 20, *N. xishomensis* 21, *N. abscessus*; 22, *N. neocaledoinensis*; 23, *N. kruezakiae*; 24, *N. brasiliensis*; 25, *N. pseudobrasiliensis*; 26, *N. takedensis*; 27, *N. nova*; 28, *N. cummideles*; 29, *N. beijingensis*; 30, *N. arthritis*.

	% 0,1 w/v	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
	Temel Azot Kaynakları																													
1	Alfa-iso-lösin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2	D-fenilalanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
3	Glisin	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	L-alanin	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	L-arginin	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	L-sistein	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	L-histidin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	L-hidroksiprolin	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
9	L-metionin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10	L- fenilalanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
11	L-prolin	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
12	L-serin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
13	L-treonin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
14	L-valin	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Degradasyon Testleri (w/v)																													
1	Adenin (% 0.5)	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Kazein (% 1)	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Kitin (% 0.5)	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	DNA (% 0.5)	-	-	-	+	-	Y	Y	Y	Y	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
5	Elastin (% 0.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Jelatin (% 0.5)	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Guanin (% 0.05)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Hipoksantin (% 0.4)	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
9	L-tirozin (% 0.5)	+	+	+	+	+	Y	Y	Y	Y	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
10	RNA (% 0.5)	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
11	Nişasta (% 1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
12	Tween 20 (% 1)	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
13	Tween 80 (% 1)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+:pozitif, -: negatif, Y; yapılmadı

Çizelge 4.9 (devamı): Bazı *Nocardia* izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri.

	% 1 w/v	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
	Temel Karbon Kaynakları																												
1	α -metil D-glikozid	-	+	-	+	+	Y	Y	Y	Y	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
2	Adonitol	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
3	D-arabinoz	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
4	D-sellobiose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
5	D-fruktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
6	D-salisin	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7	D-sorbitol	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
8	D-galaktoz	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+
9	D-manoz	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
10	D-melezitoz	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
11	D-Melibioz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
12	D-Mannitol	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
13	Dekstrin	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
14	Dekstran	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
15	İnulin	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
16	L-sorbose	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
17	L-arabinose	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
18	L-rhamnose	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
19	Laktoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
20	L-glutamat	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
21	Maltoz	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+
22	mezo-inositol	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-
23	Propionik asit (% 0.1 w/v)	+	+	+	+	+	Y	Y	Y	Y	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
24	Rafinoz	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
25	Nişasta	-	+	-	-	-	Y	Y	Y	Y	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
26	Süksinik asit (% 0.1 w/v)	+	+	+	+	-	Y	Y	Y	Y	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Sükroz (Sakkaroz)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
28	Ksilitol	-	-	-	-	-	Y	Y	Y	Y	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-

+:pozitif, -:negatif, Y; yapılmadı

Çizelge 4.9 (devamı): Bazı *Nocardia* izolatları ve tip türlerinin fenotipik özellikleri.

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

+;pozitif, -; negatif, Y; yapılmadı

Çizelge 4.10: KT2025^T suşunun en yakın tip türleri ile yapılan API-ZYM test sonuçları.

Test No.	Enzim	KT2025 ^T izolatı ve Tip Türleri*						
		1	2	3	4	5	6	7
1.	Alkaline phosphatase	-	+	+	+	+	-	+
2.	Esterase (C4)	-	-	+	-	+	-	+
3.	Esterase lipase (C8)	+	+	+	+	+	+	+
4.	Lipase (C14)	-	+	+	+	+	-	+
5.	Leucine arylamidase	+	+	+	+	+	+	+
6.	Valine arylamidase	-	-	+	+	+	-	-
7.	Cystine arylamidase	-	-	+	+	-	-	-
8.	Trypsin	+	+	+	+	+	-	+
9.	Chymotrypsin	-	+	+	+	+	+	+
10.	Acid phosphatase	+	+	+	+	+	+	+
11.	Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	+	-	+	-	+	+	+
12.	α -Galactosidase	+	-	-	+	+	-	-
13.	β -Galactosidase	-	+	+	+	+	+	-
14.	β -Glucuronidase	-	-	-	-	+	-	-
15.	α -Glucosidase	+	+	+	+	+	+	+
16.	β -Glucosidase	+	+	+	+	+	+	+
17.	N-acetyl- β -glucosaminidase	+	+	+	+	+	+	+
18.	α -Mannosidase	-	-	+	-	-	+	-
19.	α -Fucosidase	-	-	-	-	-	-	-

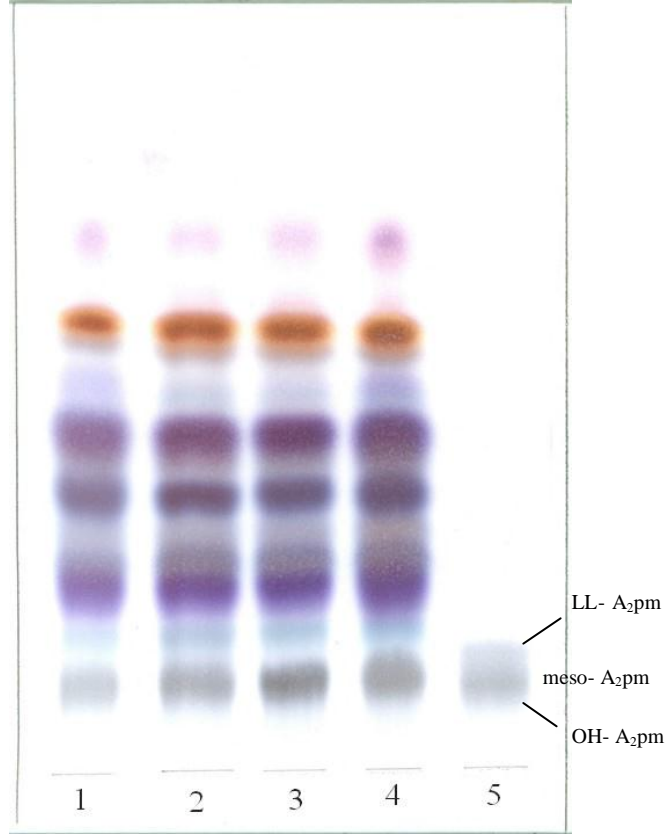
*1, *Amycolatopsis* sp. KT2025^T; 2, *A. lurida* DSM 43134^T; 3, *A. keratiniphila* subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T; 4, *A. keratiniphila* subsp. *nogabecina* DSM 44586^T; 5, *A. nigrescens* DSM 44992^T; 6, *A. azurea* DSM 43854^T; 7, *A. minnesotensis* DSM 44988^T.

4.1.7 Kemotaksonomik karakterizasyon

İzolatlara, ait oldukları cinslerin karakteristik kimyasal özelliklerinin belirlenmesi için kemotaksonomik analizleri gerçekleştirildi. Bu analizler diaminopimelik asit, şeker, yağ asiti kompozisyonu, polar lipid, mikolik asit ve menakinon analizlerini kapsamaktadır.

4.1.7.1 DAP analizi

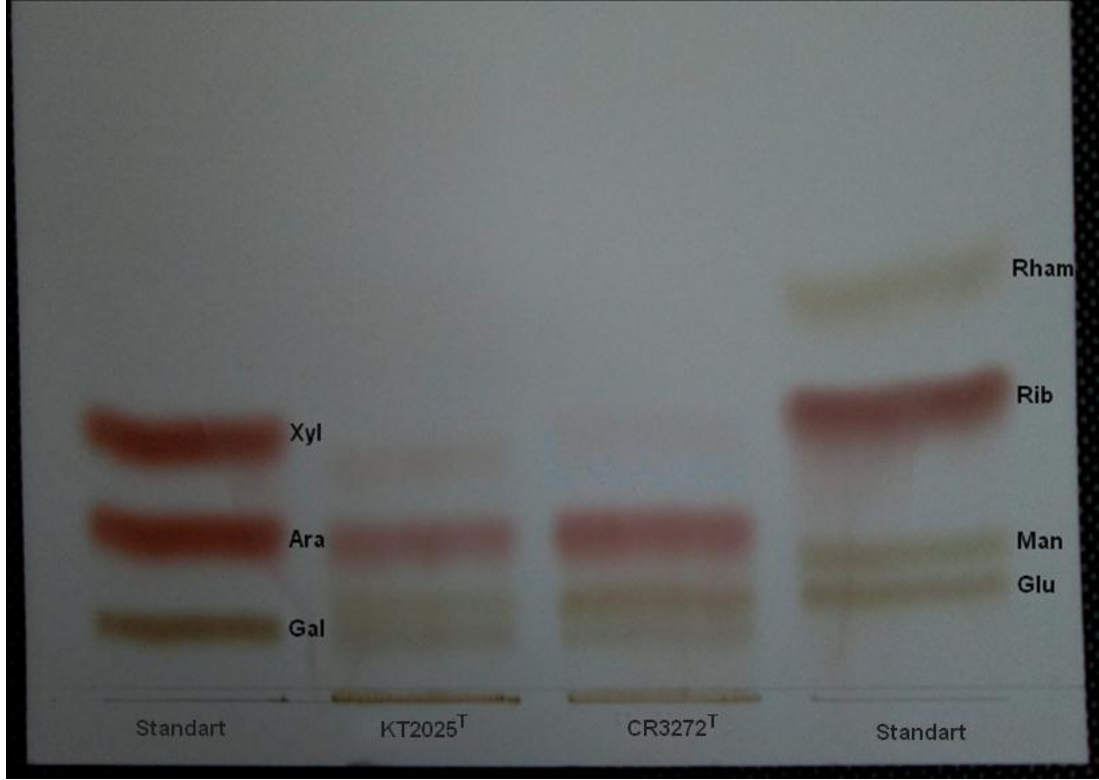
İzolatların kendi cinsine ait hücre duvarı kemotipine uygun olup olmadığının belirlenmesi için yapılan DAP analizinde, tek boyutlu ince tabaka kromatografisinde oluşan bantların pozisyonu standart A₂pm solüsyonu ile kıyaslandığında ilgili spotlar mezo-A₂pm olarak belirginleşmektedir (**Şekil 4.28**). Şekilde yalnızca yeni tür olduğu kesinleşen KT2025^T, A2012^T, A2019^T, CR3272^T suşlarının mezo-A₂pm içeriğinin görüldüğü tek boyutlu TLC kromatogramı verilmiştir. Bunun dışında yeni tür olma ihtimali olan K206, AR1438, NJ2060 ve PM1004 suşlarının da DAP analizleri tamamlanmış ve mezo-diaminopimelik asit içerdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.28: DAP testi sonucunda yeni türlerin A₂pm izomerlerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı. 1, KT2025^T; 2, A2012^T; 3, A2019^T; 4, CR3272^T; 5, Standart A₂pm (Sigma).

4.1.7.2 Şeker profili

Hücre duvarı kemotipi içerisinde ele alınan tüm hücre şeker profili, tek boyutlu ince tabaka kromatografisinde aktinomisetler için belirlenen yedi tane standart şekerle kıyaslanarak belirlendi. Şekilde görüldüğü gibi, *Amycolatopsis* ve *Nocardia* üyeleri galaktoz, glikoz, arabinoz, ksiloz ve riboz şekerlerini içermektedir (**Şekil 4.29**). İzolatların şeker profili, yeni tür olduğu kesinleşen suşların tamamı için ve yeni tür olma ihtimali olan, K206, PM1004, AR1438, SM1342 ve NJ2060 suşları için belirlenmiştir. Şekil 4.29 da yalnızca KT2025^T ve CR3272^T suşlarının TLC kromatogramı verilmiştir.



Şekil 4.29: *Amycolatopsis* sp. KT2025^T ve *Nocardia* sp. CR3272^T izolatlarının şeker profillerinin tek boyutlu ince tabaka kromatogramı. Gal; galaktoz; Ara; arabinoz; Xyl; ksiloz; Glu; glikoz; Man, mannoz; Rib, riboz; Rham, ramnoz.

4.1.7.3 Yağ asiti

Gaz kromatografisi verilerine göre test suşları ve en yakın akraba tip türlerinin yağ asiti metil esteri profilleri **Çizelge 4.11** ve **Çizelge 4.12**'de verildi.

Çizelge 4.11: Bazı *Amycolatopsis* izolatlarının ve tip türlerinin yağ asiti profilleri. 1, KT2025^T; 2, NJ2060; 3, K206; 4, K204; 5, AR1438; 6, *Amycolatopsis lurida* DSM 43134^T; 7, *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T; 8, *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *nogabecina* DSM-44586; 9, *Amycolatopsis nigrescens* DSM 44992^T; 10, *Amycolatopsis minnesotensis* NRRL B-24435^T.

Yağ Asitleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C12:0			1.43							
C 14:0	1,08	1,01	1,37	0,87	1,71	0,75	0,84	0,93	1,53	3,83
C 14:0 ISO	13,43	3,45	1,26	3,47	4,29	6,27	7,84	8,69	5,71	4,5
C 15:0	3,12	2,58	0,70	2,01	3,56	3,37	1,98	1,68	1,87	2,1
C 15:0 ANTEISO	3,47	2,71	0,75	1,74	3,65	4,73	4,28	1,44	1,81	3,95
C 15:0 ISO	13,7	4,54	7,30	4,93	7,76	18,52	11,41	8,92	7,39	8,12
C 15:0 ANTEISO 2OH	3,33			0,42	1,57	0,12	-	5,99	3,65	8,08
C 15:0 3OH	2,47	1,47		1,82	3,02	-	2,41	0,96	-	-
C 15:1 B	3,2	1,98		1,97	1,10	-	-	-	-	-
C 16:1 ISO H	2,73	2,94	3,36	3,67	4,82	-	-	-	2,44	-
C 16:1 CIS 9	3,87	3,05	7,38	-	-	-	-	-	-	-
C 16:0	2,14	7,81	15,39	10,08	8,88	8,58	9,45	9,4	6,44	7,69
C 16:0 ISO	17,46	22,67	26,31	28,91	26,49	25,62	29,98	26,38	29,74	21,85
C 16:0 ANTEISO	-	0,42		-	-	-	-	-	0,97	-
C 17:0			1,66							
C 17:0 ISO	4,38	3,23	5,09	5,80	4,73	6,34	5,66	9,45	7,34	11,83
C 17:0 ANTEISO	4,2	1,87	4,26	2,09	1,09	1,78	2,77	2,47	5,78	4,46
C 17:1 CIS 9	8,18	4,72	1,73	2,51	6,02	2,48	-	-	2,26	-
C 16:0 ISO 2OH	4,6	1,08		-	-	-	-	-	-	-
C 17:0 ISO 2OH		-		-	-	-	-	-	-	-
C 17:0 ISO 10 METHYL	-					-	-	-	1,32	-
C 17:0 CYCLO	-		12,35			-	5,26	-	-	-
C 17:1 ISO	0,8	1,1		2,10	-	1,65	1,47	1,44	2,31	2,66
C 18:0			3,83							
C 18:0 ISO 10 METHYL	2,13	1,45		0,83	-	-	-	-	4,53	-
Birleşik Yağ Asitleri†	3,93	4,28		10,81	7,19	18,49	14,58	18,16	12,43	18,25

† Birleşik Yağ Asitleri C_{16:1} *trans* 9/15i2OH

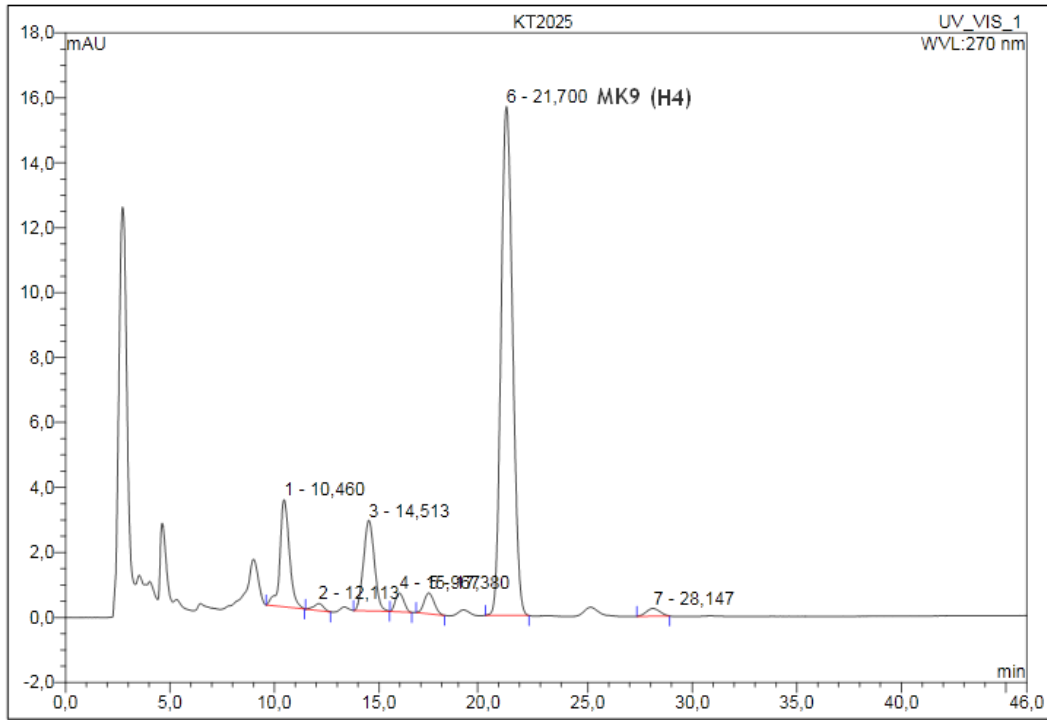
Çizelge 4.12: Bazı *Nocardia* izolatlarının ve tip türlerinin yağ asiti profilleri. 1, A2012^T; 2, A2019^T; 3, CR3272^T; 4, SM1342; 5, PM1004; 6, *N. araoensis*; 7, *N. caishijiensis* 8, *N. alba*^T; 9, *N. asteroides* 10, *N. mexicana*.

Yağ Asitleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C11:0 ISO-3OH	0,71	1,85					1,57		0,24	
C 14:0	1,14	1,63	1,24		1,12	1,49	1,23	1,0	0,88	1,74
C 15:0	2,31	1,85	2,43		1,59	0,93	2,98	1,4	1,1	1,41
C 15:0 3OH			9,00	8,77	4,42	3,06			1,4	
C 15:1 CIS 10	0,87						1,12			
C 16:1 CIS 9	2,62	1,25			2,54			4,1	2,9	1,81
C 16:0	26,33	32,1	27,18	34,99	34,77	36,86	21,75	31,8	28,8	34,04
C 16:0 ISO		1,04			0,24	0,45	2,17		1,4	2,82
C 16:0 9? METHYL	1,63				1,10	0,72				
C 17:0	1,03	0,61					8,08		4,1	0,94
C 17:1 CIS 10							2,65			
C 17:0 10 METHYL	2,50						0,94		0,88	
C 17:0 ANTEISO 2OH										
C 18:0	2,67	0,50					11,25	4,5		0,63
C 18:0 10 methyl TBSA	14,57	15,54	12,86	12,97	14,22	18,93	14,10	16,2	14,8	13,20
C 18:0 ISO 10METHYL			3,73	10,88		6,11			3,4	
C 18:1 CIS 9	7,93	10,3	7,02	9,42	4,87	6,89	3,2	9,3	4,7	13,03
C 19:0 ANTEISO		7,36								
Birleşik Yağ Asitleri†	32,12	24,25	34,92	22,96	24,38	23,06	24,57	28,1	29,7	25,05

† Birleşik Yağ Asitleri C_{16:1 trans 9/15i2OH}

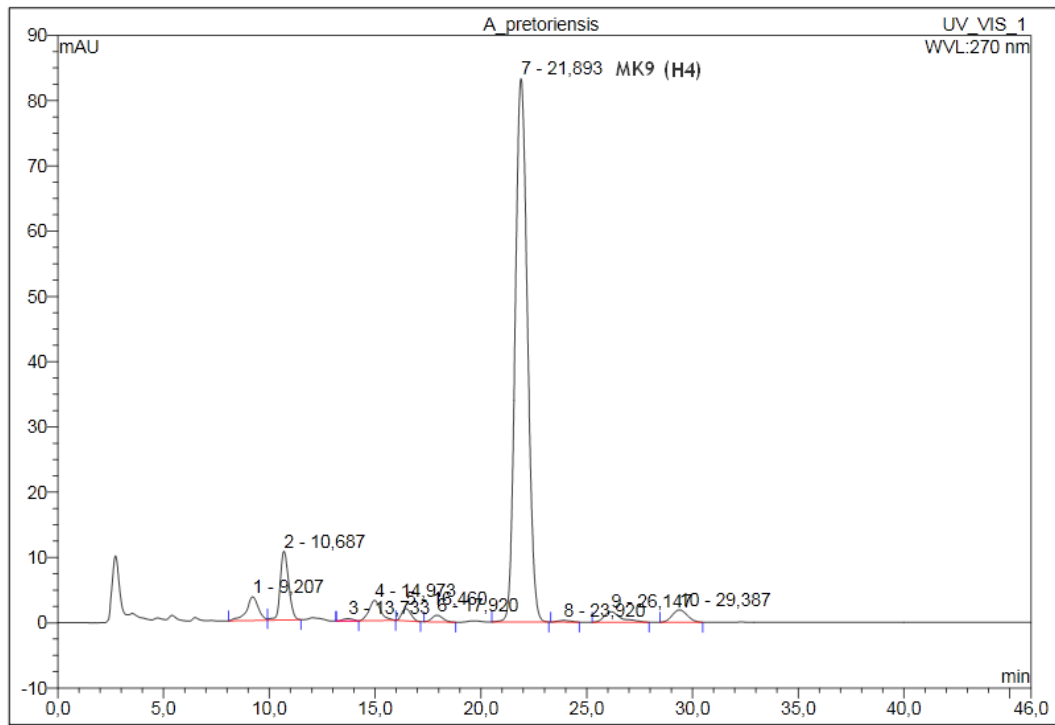
4.1.7.4 Menakinonların belirlenmesi

16S rRNA gen bölgesi dizi verileri ve DNA-DNA hibridizasyon sonuçlarına göre yeni tür olduğu kesinleşmiş KT2025^T, A2012^T, A2019^T ve CR3272^T suşları ile birlikte, K206, K204 ve PM1004 izolatlarının menakinon profilleri belirlenmiştir.. Yapılan ölçümlerde kinon tipi daha önce belli olan tip türleri *Amycolatopsis pretoriensis* NRRL B-24133^T ve *Nocardia alba* YIM 30243^T'nin alıkonma zamanı (RT) değerleri referans olarak kullanıldı (Şekil 4.30, Şekil 4.31, Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35). Örneklerin alıkonma zamanlarına göre yapılan analizlerde *Amycolatopsis* üyelerinin MK9 (H₄), *Nocardia* üyelerinin MK8 (H_{4-cyclo}) menakinonlarını içerdiği belirlendi.



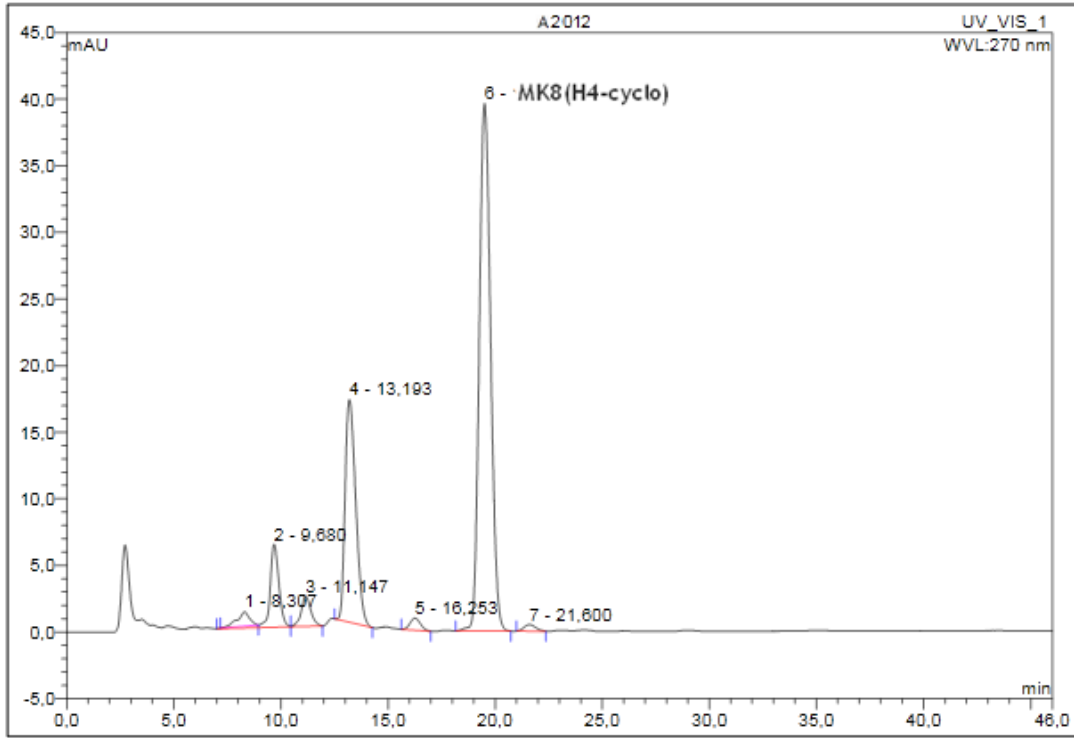
No.	Ret.Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %	Amount	Type
1	10,46	n.a.	3,301	1,732	12,03	n.a.	BMB
2	12,11	n.a.	0,221	0,118	0,82	n.a.	BMB
3	14,51	n.a.	2,786	1,676	11,64	n.a.	BMB
4	15,97	n.a.	0,576	0,275	1,91	n.a.	BMB
5	17,38	n.a.	0,635	0,356	2,47	n.a.	BMB
6	21,70	n.a.	15,676	10,063	69,90	n.a.	BMB
7	28,15	n.a.	0,236	0,175	1,22	n.a.	BMB
Total:			23,428	14,396	100,00	0,000	

Şekil 4.30: *Amycolatopsis magusensis* sp. nov. KT2025^T türünün HPLC menakinon kromatogramı.



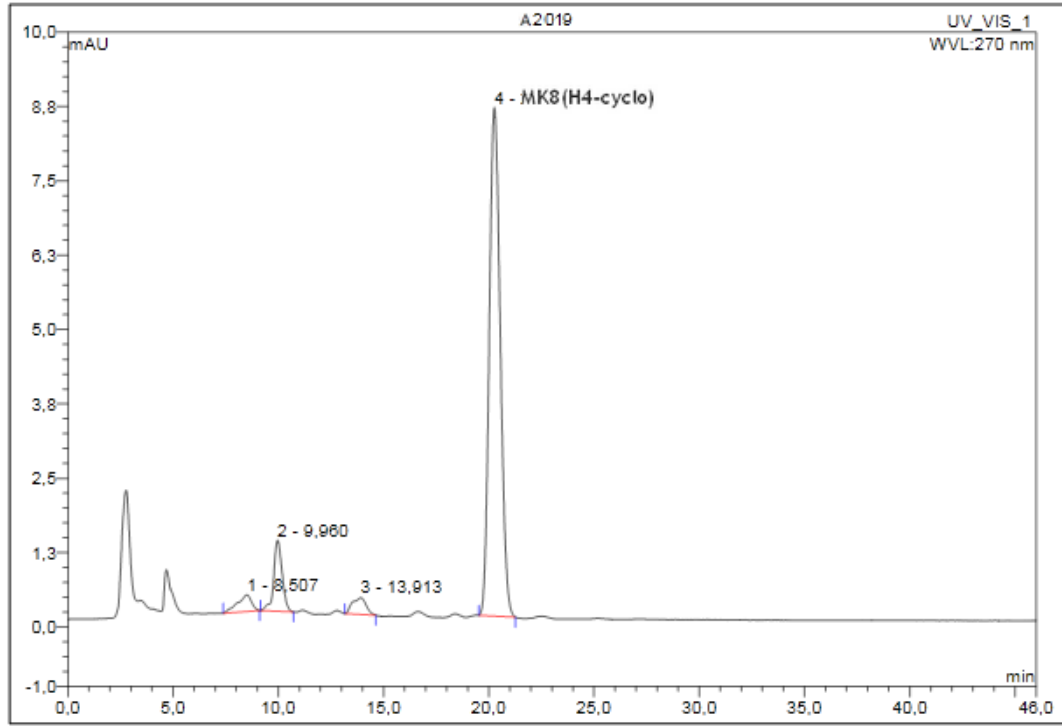
No.	Ret.Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %	Amount	Type
1	9,21	n.a.	3,621	2,336	3,34	n.a.	BM
2	10,69	n.a.	10,516	4,873	6,97	n.a.	MB
3	13,73	n.a.	0,362	0,195	0,28	n.a.	Ru
4	14,97	n.a.	3,094	1,966	2,81	n.a.	BMB
5	16,46	n.a.	1,877	0,953	1,36	n.a.	BMB
6	17,92	n.a.	1,022	0,604	0,86	n.a.	BMB
7	21,89	n.a.	83,265	55,762	79,76	n.a.	BMB
8	23,92	n.a.	0,257	0,169	0,24	n.a.	BMB
9	26,15	n.a.	1,629	1,500	2,15	n.a.	BMB
10	29,39	n.a.	1,882	1,552	2,22	n.a.	BMB
Total:			107,525	69,911	100,00	0,000	

Şekil 4.31: *Amycolatopsis pretoriensis* NRRL-B 24133^T tip türünün HPLC menakinon kromatogramı.



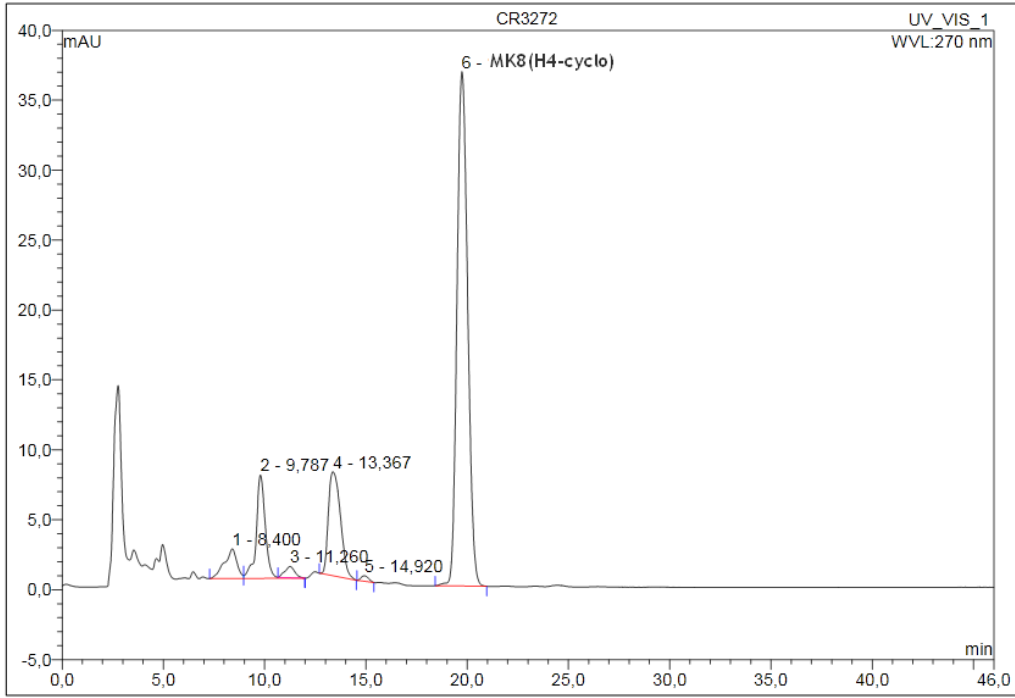
No.	Ret.Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %	Amount	Type
1	8,31	n.a.	1,069	0,715	1,80	n.a.	Ru
2	9,68	n.a.	6,220	3,142	7,89	n.a.	BM
3	11,15	n.a.	2,254	1,187	2,98	n.a.	MB
4	13,19	n.a.	16,715	9,641	24,21	n.a.	BMB
5	16,25	n.a.	0,896	0,498	1,25	n.a.	BMB
6	19,51	n.a.	39,607	24,335	61,11	n.a.	BMB
7	21,60	n.a.	0,487	0,305	0,77	n.a.	BMB
Total:			67,248	39,823	100,00	0,000	

Şekil 4.32: *Nocardia goodfellowii* sp. nov. A2012^T türünün HPLC menakinon kromatogramı.



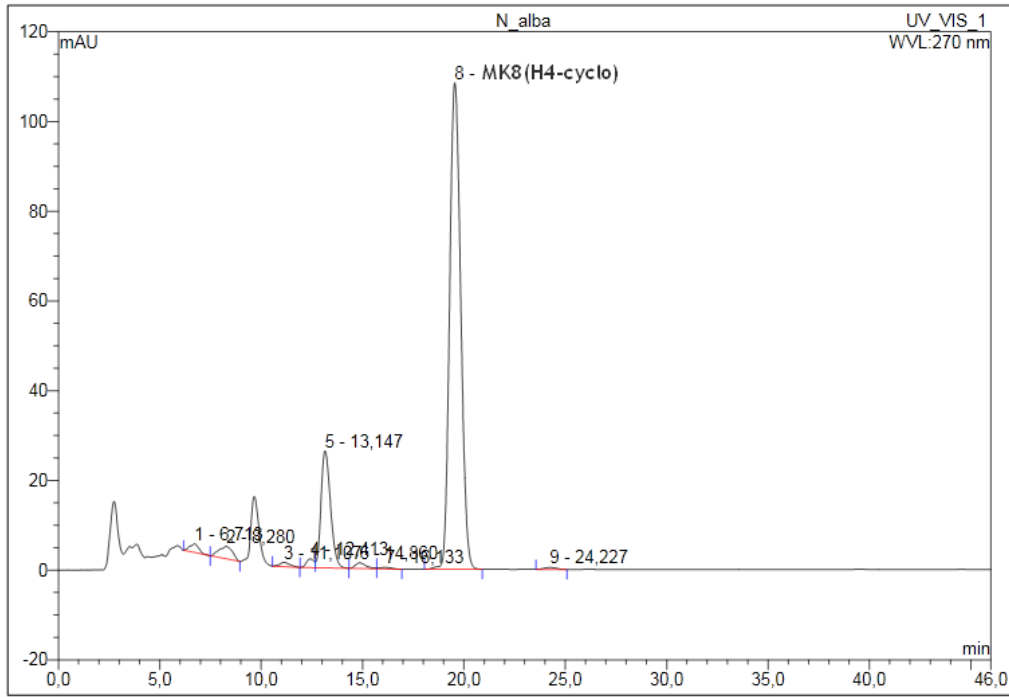
No.	Ret.Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %	Amount	Type
1	8,51	n.a.	0,282	0,217	3,54	n.a.	BMB
2	9,96	n.a.	1,192	0,554	9,04	n.a.	BMB
3	13,91	n.a.	0,281	0,210	3,42	n.a.	BMB
4	20,27	n.a.	8,549	5,150	84,00	n.a.	BMB
Total:			10,304	6,131	100,00	0,000	

Şekil 4.33: *Nocardia thraciensis* sp. nov. A2019^T türünün HPLC menakinon kromatogramı.



No.	Ret.Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %	Amount	Type
1	8,40	n.a.	2,125	1,520	4,53	n.a.	BM
2	9,79	n.a.	7,394	3,840	11,44	n.a.	MB
3	11,26	n.a.	0,804	0,458	1,36	n.a.	Rd
4	13,37	n.a.	7,425	5,127	15,28	n.a.	BMB
5	14,92	n.a.	0,394	0,167	0,50	n.a.	BMB
6	19,74	n.a.	36,795	22,443	66,88	n.a.	BMB
Total:			54,938	33,555	100,00	0,000	

Şekil 4.34: *Nocardia sungurluensis* sp. nov. CR3272^T türünün HPLC menakinon kromatogramı.

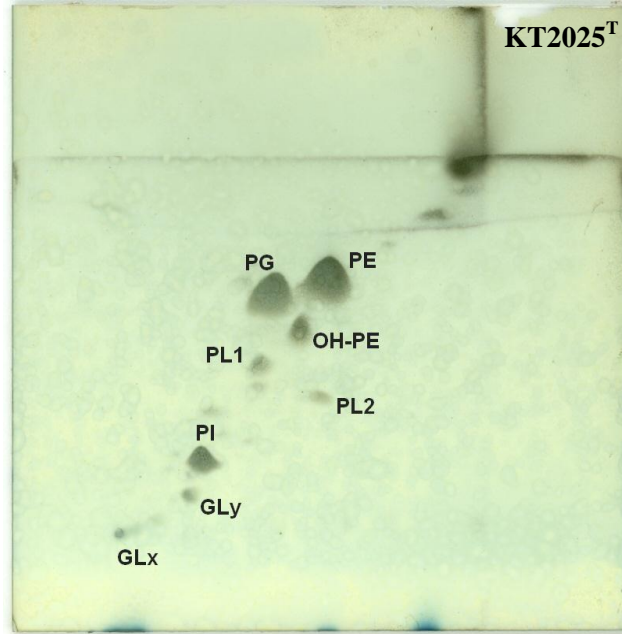


No.	Ret.Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %	Amount	Type
1	6,71	n.a.	1,920	0,983	1,11	n.a.	BM *
2	8,28	n.a.	2,779	2,133	2,41	n.a.	MB*
3	11,11	n.a.	0,942	0,546	0,62	n.a.	BMB
4	12,41	n.a.	1,920	0,820	0,92	n.a.	BM
5	13,15	n.a.	26,090	14,181	15,99	n.a.	MB
6	14,86	n.a.	1,265	0,795	0,90	n.a.	BM
7	16,13	n.a.	0,384	0,262	0,30	n.a.	MB
8	19,55	n.a.	108,480	68,625	77,40	n.a.	BMB
9	24,23	n.a.	0,462	0,320	0,36	n.a.	BMB
Total:			144,241	88,665	100,00	0,000	

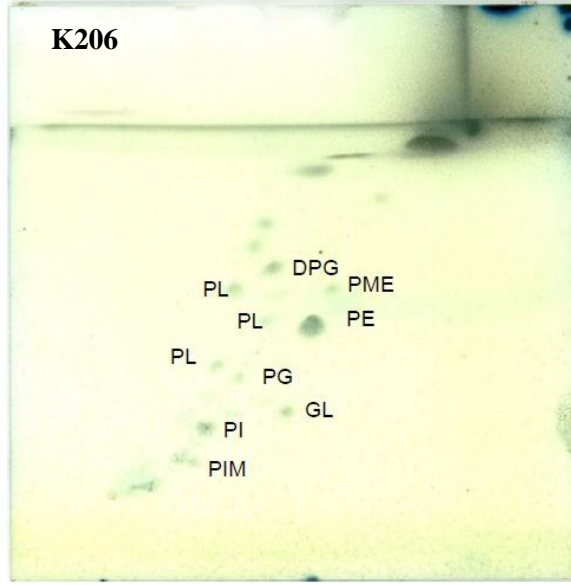
Şekil 4.35: *Nocardia alba* DSM 44684^T tip türünün HPLC menakinon kromatogramı.

4.1.7.5 Polar lipidlerin belirlenmesi

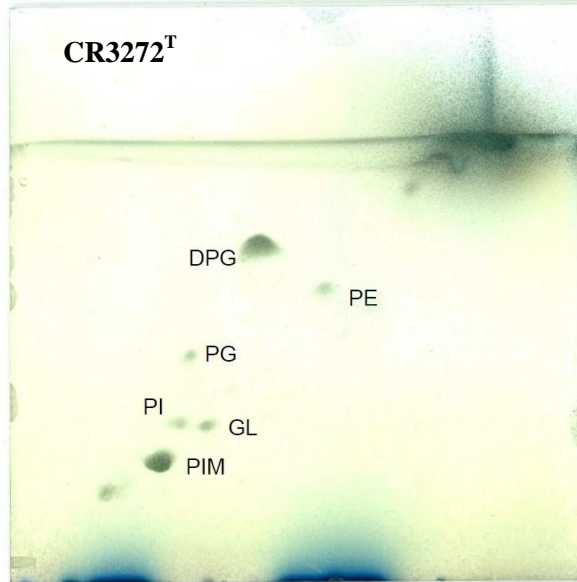
Şekil 4.36, 4.37 ve 4.38'de sırasıyla KT2025^T, K206 ve CR3272^T suşlarının DSMZ firması tarafından yapılan molibdofosforik asitle boyanmış tüm lipit profilleri görülmektedir. Amino grupları ninhidrin ile, glikolipitler α -naftol ile ve fosfat grupları molibden blue ile ayrıca boyanmış ancak TLC kromatogramları sunulmamıştır.



Şekil 4.36: *Amycolatopsis magusensis* sp nov. KT2025^T türünün polar lipit profili. (PE; fosfatidil-etanolamin, PG; fosfatidil gliserol, OH-PE; hidroksi-fosfatidil-etanolamin, PI; fosfatidil-inozitol, PL; fosfolipit, GL; glikolipit.)

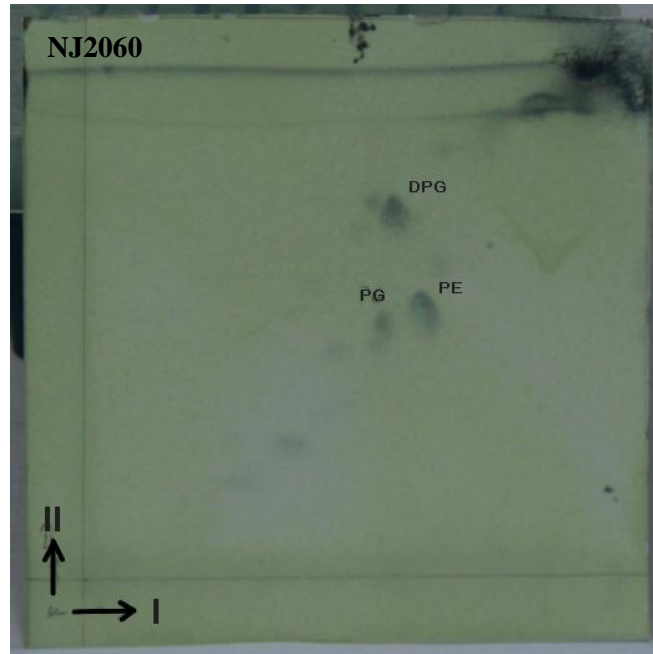


Şekil 4.37: *Amycolatopsis* sp. K206 izolatının polar lipid profili. DPG; difosfatidil-glisero, PME; fosfatidil-metil-etanolamin, PE; fosfatidil-etanolamin, PG; fosfatidil gliserol, OH-PE; hidroksi-fosfatidil-etanolamin, PI; fosfatidil-inozitol, PIM; fosfatidil-inozitol-mannozid, PL; fosfolipit, GL; glikolipit.

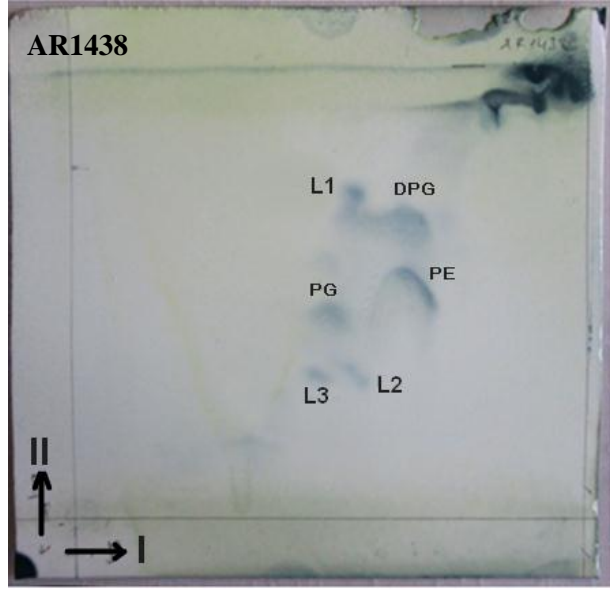


Şekil 4.38: *Nocardia sungurluensis* sp. nov. CR3272^T türünün polar lipid profili DPG; difosfatidil-glisero, PME; fosfatidil-metil-etanolamin, PE; fosfatidil-etanolamin, PG; fosfatidil gliserol, OH-PE; hidroksi-fosfatidil-etanolamin, PI; fosfatidil-inozitol, PIM; fosfatidil-inozitol-mannozid, PL; fosfolipit, GL; glikolipit.

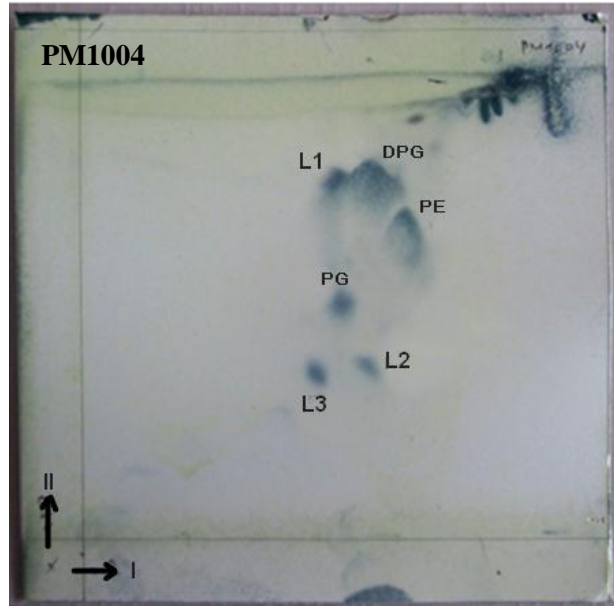
Şekil 4.39, Şekil 4.40 ve Şekil 4.41’de yeni tür olma ihtimali olan NJ2060, AR1438 ve PM1004 suşlarının polar lipid profili Şekil 4.42’deki karakteristik 6 lipid profilleri dikkate alınarak molibdofosforik asit boyaması sonucu aynı yürütücü fazlar kullanılarak x ve y eksenini boyunca aynı zamanda yürütülen lipidler karşılaştırılarak spotların tipleri belirlendi. Bunlara ait TLC plaklarda L harfiyle ifade edilen tanımlanmamış lipid spotlarının amino-, fosfat- ve şeker gruplarına ait olup olmadıkları ile ilgili boyama işlemleri yapılmamıştır.



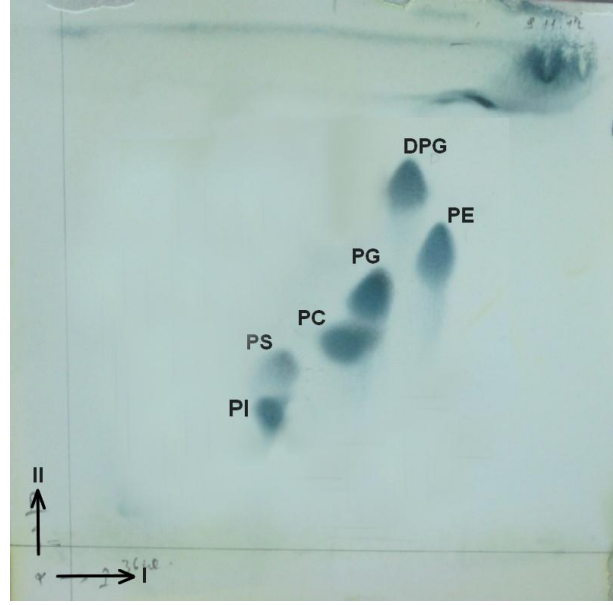
Şekil 4.39: *Amycolatopsis* sp. NJ2060 izolatının polar lipid profili. DPG; difosfatidil-gliseroL, PE; fosfatidil-etanolamin, PG; fosfatidil gliserol,



Şekil 4.40: *Amycolatopsis* sp. AR1438 izolatının polar lipit profili. DPG; difosfatidil-gliserol, PE; fosfatidil-etanolamin, PG; fosfatidil gliserol, L; tanımlanmamış lipit profili.



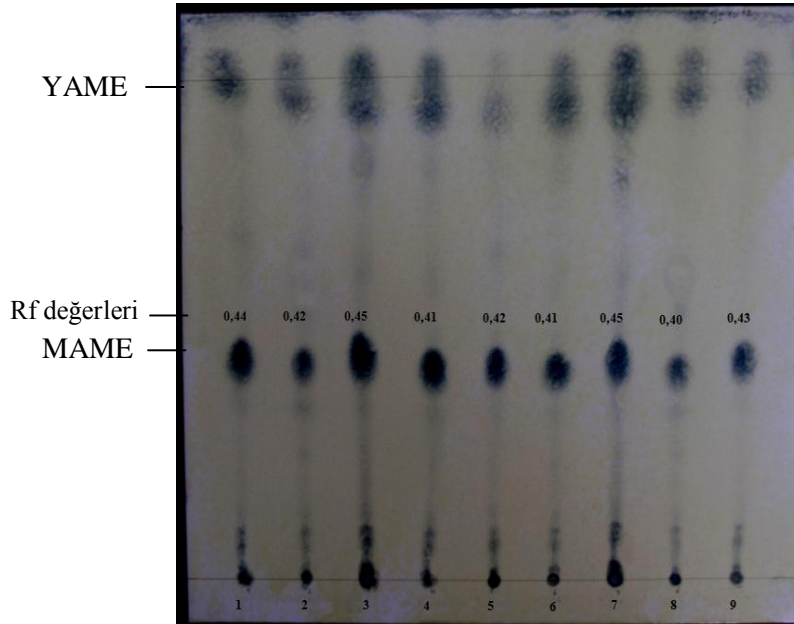
Şekil 4.41: *Nocardia* sp. PM1004 izolatının polar lipit profili. DPG; difosfatidil-gliserol, PE; fosfatidil-etanolamin, PG; fosfatidil gliserol, L; tanımlanmamış lipit profili.



Şekil 4.42: Aktinomisetlerde varolduğu bilinen 6 fosfolipitin iki boyutlu TLC kromatogramı. DPG; difosfatidil-gliserol, PE; fosfatidil-etanolamin, PG; fosfatidil gliserol, PC; fosfatidil-kolin, PS; fosfatidil serin, PI; fosfatidil-inozitol.

4.1.7.6 Mikolik asit testi

Minnikin ve diğ. (1980)'e göre ekstrakte edilen ve TLC'de petrol eteri/aseton (95:5, v/v) ile yürütülen mikolik asit metil esterlerinin varlığı ve Rf değerleri **Şekil 4.43**'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre, yalnızca *Nocardia* cinsi üyelerinin mikolik asit içerdiği görüldü.



Şekil 4.43: Bazı izolatların mikolik asit içeriğinin TLC kromatogram. MAME; mikolik asit metil esterleri, YAME; yağ asiti metil esterleri. 1. CR3272^T, 2. A4042, 3. *Nocardia. abscessus* DSM 44432^T, 4. CR2267, 5. PM3011, 6. SM1342, 7. PM1004, 8. SM1481, 9. PM2005

4.1.8 Antibakteriyal aktivite

Antibakteriyal aktivite testi sonucunda *Amycolatopsis* ve *Nocardia* izolatu yeni tür olduğu kesinleşen suşların ve yeni tür olma ihtimali olan diğer bazı izolatların Gram (+) ve Gram (-) patojenlere karşı gösterdiği antibakteriyal aktivitelerinin varlığı ve ölçülen inhibisyon zon çapları **Çizelge 4.13**'te verildi.

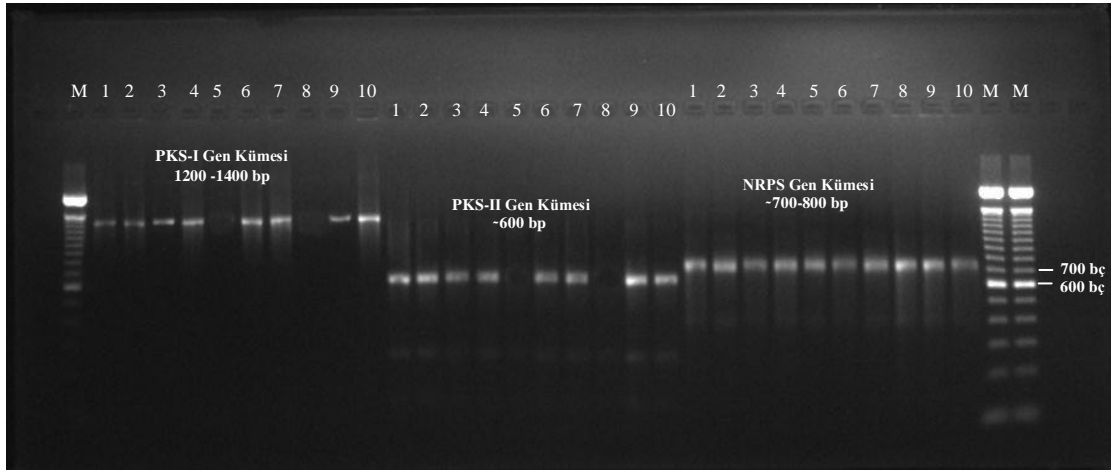
Çizelge 4.13: Antibakteriyal aktivite testi sonuçlarına göre petriden ölçülen zon çapları (mm).

İzolatlar	Patojen bakteriler*								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Amycolatopsis</i> sp. KT2025 ^T	14	29	16	20	14	29	16	15	80
<i>Amycolatopsis</i> sp. SV2047	-	-	-	-	-	-	-	-	22
<i>Amycolatopsis</i> sp. K204	16	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amycolatopsis</i> sp. K206	18	-	-	21	-	17	-	-	-
<i>Amycolatopsis</i> sp. AR1438	-	-	-	-	-	-	-	18	-
<i>Amycolatopsis</i> sp. NJ1018	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nocardia</i> sp. PM1004	-	-	-	-	48	-	-	-	39
<i>Nocardia</i> sp. PM3011	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nocardia</i> sp. CR2267	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nocardia</i> sp. CR3272 ^T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nocardia</i> sp. SM1342	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nocardia</i> sp. A4042	-	-	15	-	-	-	-	-	-

* 1, *Bacillus cereus* NRRL-B 3711^T; 2, *Bacillus licheniformis* NRRL-B 1001^T; 3, *Bacillus pumilis* NRRL-BD 142^T; 4, *Escherichia coli* ATCC 25922^T; 5, *Listeria monocytogenes*–medikal izolat 6, *Micrococcus luteus* NRRL-B 1013^T; 7, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B 2679^T; 8, *Bacillus subtilis* Kuan 16D III 75; 9, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B 427^T.

4.1.9 PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgelerinin PCR amplifikasyonu

Yeni tür olduğu kesinleşen veya filogenetik akrabası ile en fazla nükleotid farklılığına sahip test organizmalarının genomlarında glikopeptid antibiyotik gen bölgelerinden PKS-I, PKS-II ve NRPS gen bölgelerinin varlığı, PCR amplifikasyonu sonucu gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntülerine göre, her iki cins üyesinin NRPS veya PKS gen kümelerinden en az birini içerdiği, bazılarının üç gen bölgesini de genomunda bulundurduğu tespit edildi (**Şekil 4.44, Çizelge 4.14**).



Şekil 4.44: PKS-NRPS gen bölgelerinin PCR ürünleri. Bantlar sırasıyla 1, KT2025^T; 2, K206; 3, K204; 4, AR1438; 5, NJ1018; 6, NJ2060; 7, CR3272^T; 8, PM1004; 9, SM1342; 10, A4042, M; markır (Amresco, 100 bp).

Çizelge 4.14: İzolatların PKS I, PKS II ve NRPS gen bölgeleri PCR amplifikasyonu.

İzolatlar	PKSI	PKSII	NRPS
<i>Amycolatopsis</i> sp. KT2025 ^T	+	+	+
<i>Amycolatopsis</i> sp. K206	+	+	+
<i>Amycolatopsis</i> sp. K204	+	+	+
<i>Amycolatopsis</i> sp. AR1438	+	+	+
<i>Amycolatopsis</i> sp. NJ1018	-	-	+
<i>Amycolatopsis</i> sp. NJ2060	+	+	+
<i>Nocardia</i> sp. CR3272 ^T	+	+	+
<i>Nocardia</i> sp. PM1004	-	-	+
<i>Nocardia</i> sp. SM1342	+	+	+
<i>Nocardia</i> sp. A4042	+	+	+

4.2 Tartışma

Actinobacteria sınıfına dâhil olan *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsi üyeleri doğal habitatlarında, toprak, mağara, çöl kumu, deniz sedimenti, endofitik ortamlar gibi birçok çevrede dağılım göstermektedir (Maldonado ve diğ., 2000, Lee ve diğ., 2006, Miao ve diğ., 2011). *Amycolatopsis* türleri, vankomisin, rifampisin, nogabesin gibi, *Nocardia* türleri ise nokardisin, tubelaktomisin A ve brasilikardin A gibi endüstriyel önemi olan sekonder metabolitleri üretme kabiliyetlerinden ötürü bu her iki cins üyesi organizmalar, farmakolojik araştırmaların *Streptomces* cinsinden sonra tercih edilen bakteri grupları arasında yer almaktadır (Aoki ve diğ.,1976; Komaki ve diğ.,1999; Igarashi ve diğ., 2000, Pelzer ve diğ., 2001, Wink ve diğ., 2003). Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgeleri ile, Nijerya, KKTC, Mekke ve Medine'den temin edilen toprak örneklerinden *Amycolatopsis* ve *Nocardia* üyelerinin izolasyonu ve polifazik karakterizasyonu yapılarak bu organizmaların biyoçeşitliliğine katkı sağlanması ve farmakolojik çalışmalar için kaynak mikroorganizmaların oluşturulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada öncelikle, dokuz farklı toprak örneğinden, SM1, SM2 ve SM3 besi ortamlarında *Amycolatopsis* ve *Nocardia* izolasyonu yapılmış ve toplam 238 izolat, kültür ortamlarında geliştirilmiş, saflaştırılmış ve stoklanmıştır.

İzolasyon sonrası saf kültürleri elde edilen aktinobakteria üyelerinin farklı kültür ortamlarındaki koloni morfolojileri ve pigmentasyon özelliklerine göre gruplandırılması, test organizmalarının belli bir orana göre bu gruplardan seçilerek oluşturulması yaygın olarak tercih edilen bir yoldur. Aynı genomik türe ait suşlar arasında farklı morfolojik ve pigmentasyon özellikleri görülebildiği gibi, farklı tür ve cins üyeleri arasında da benzer morfolojik ve pigmentasyon özellikler görülebilmektedir. Bu ise gruplardan rastgele seçilerek oluşturulan test organizmalarının, biyoçeşitliliği tam olarak temsil etmemesi sonucunu doğurmaktadır.

Saflaştırılan 238 izolat içerisinde, koloni morfolojisi ve pigmentasyon özelliklerine göre oluşturulan her grubu temsil edecek şekilde 138 suş seçilmiş ve bu suşların genomik DNA izolasyonu, 16S rRNA gen bölgesi dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen dizi verilerinin filogenetik analizleri sonucunda, *Amycolatopsis* cinsi üyesi 19 ve *Nocardia* cinsi üyesi 32 olmak üzere toplam 51 izolat suş test organizmaları olarak belirlenmiştir.

Amycolatopsis cinsine ait toplam 19 izolattan 15'i SM1 (% 78.94) ve 4'ü SM2 (% 21.06) besiyerlerinden izole edilirken SM3 besiyerinden *Amycolatopsis* izole edilememiştir. Toplam 32 *Nocardia* izolatının 24'ü (% 75) SM3, 5'i SM1 ve 3'ü SM2 besiyerinden izole edilmiştir.

Tan ve diğerleri (2006) komposit toprak örneklerinde SM1, SM2 ve SM3 besiyerlerinde yaptıkları *Amycolatopsis* biyoçeşitliliği çalışmalarında, izole ettikleri 175 izolattan, 16S rRNA gen bölgesi dizi analizleri sonucunda *Amycolatopsis* üyesi 41 suşun, % 49'unu SM1, % 39'unu SM2 ve % 12'sini SM3 besiyerinden saflaştırdıklarını rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsleri dışında kalan 87 izolatin (Ek D) yapılan 16S rRNA gen bölgesi nükleotid dizi analizleri, bu üç izolasyon besiyerinden aynı zamanda birbirinden farklı değişik cins üyelerinin de izole edildiğini göstermektedir. Tez kapsamı dışında kalan bu suşların büyük çoğunluğu *Alloactinosynnema*, *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nonomuraea*, *Pseudonocardia*, *Rhodococcus*, *Saccharomonospora*, *Streptomyces* gibi cinslere, çok az bir kısmı da *Methylobacterium*, *Lechevalieria* ve *Microvirga* gibi diğer cinslere ait suşlardır. Bu doktora tezinin de desteklendiği PYO. FEN. 1901.09.003 nolu araştırma projesi kapsamında bu cinslere ait *Actinoplanes abujensis* (Sazak ve diğ., 2012), *Lechevalieria nigeriaca* (Camas ve diğ., 2013a), *Microvirga makkahensis* ve *Microvirga arabiaca* (Camas ve diğ., 2013b), *Nonomuraea jabiensis* (Camas ve diğ., 2013c) gibi isimlendirilen birçok yeni tür yayımlanmış ya da yayımlanmak üzere işlem aşamasında bulunmaktadır. Bu sonuçlar biyoçeşitlilik ile ilgili izolasyon çalışmalarında SM1, SM2 ve SM3 besiyerlerinin *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinslerinin izolasyonu için seçici olup olmadığı konusunda kesin bilgiler vermemektedir.

Bakteri sistematğinde, diğerlerinden farklı yeni bir türün tanımlanması için gerekli ilk aşama 16S rRNA gen bölgesi dizi verilerinin elde edilmesidir. 16S rRNA molekülü, yapısında bulunan değişken ve korunmuş bölgeleri ile filogenetik bilgiyi içerebilecek özellikte ve kolaylıkla dizi analizi yapılabilecek büyüklükte olması, onu bakteri filogenisinde önemli bir parametre haline getirmektedir (Woese, 1987). 16S rRNA sekans analizleri iki organizma arasındaki akrabalığı tür ve cins düzeyinde ortaya koymaktır (O'Donnell ve diğ., 1994).

Farklı topraklardan elde edilen izolatların öncelikle hangi cinse ait olduklarını belirlemek için pigmentasyon, koloni morfolojisi ve çözünür pigment gibi temel

morfolojik farklılıklara dayanılarak seçilen 138 izolatın 16S rRNA gen bölgesi dizi analizleri gerçekleştirilmiş, *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsine ait 51 test izolatının en yakın tip türleri ile % 97 ve üzeri 16S rRNA geni dizi benzerliğe sahip olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada 16S rRNA sekansı tamamlanan test organizmalarının filogenetik analizlerine göre akraba tip türleri ile en fazla nükleotit farkı gösteren suşlara öncelik verilerek moleküler, kemotaksonomik ve fenotipik karakterizasyonunun yapılmasına ve literatüre kazandırılmasına çalışılmıştır. Filogenetik analizlere göre *Amycolatopsis* izolatları içerisinde akraba tip türlerinden nükleotid farklılıklarına göre yeni tür olma ihtimali olan izolatlar KT2025^T, AR1438, K206, K204, NJ1018 ve NJ2060 numaralı suşlardır. *Nocardia* izolatları içerisinde ise 16S rRNA dizi benzerliğine göre yeni tür olma ihtimali olan suşlar A2012^T, A2019^T, CR3272^T, PM1004, SM1342 numaralı suşlardır.

Amycolatopsis cinsine ait suşlardan, 16S rRNA dizi verilerinin filogenetik değerlendirmeleri sonucunda, SM2 besiyerinden izole edilen Kıbrıs izolatı KT2025^T, en yakın akrabaları *Amycolatopsis lurida* DSM 43134^T ile % 97.5, *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T ile % 97.4, *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *nogabecina* DSM 44586^T ile % 97.1 ile 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır. SM2 besiyerinden izole edilen Kıbrıs izolatı K206, yapılan filogenetik analizlere göre en yakın akrabası *Amycolatopsis bartoniae* SF26^T ile % 97.9, *Amycolatopsis dongchuanensis* YIM 75904^T ile % 96.9 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği bulunmaktadır. Artvin'den temin edilen toprak örneğinden ve SM1 besiyerinden izole edilen AR1438 suşu, en yakın akrabası *Amycolatopsis pretoriensis* NRRL B-24133^T ile % 99.1, *Amycolatopsis bullii* SF27^T ile % 98.8, *Amycolatopsis rifamycinica* DSM 46095^T ile % 98.7 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği göstermektedir. 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği % 100 olan K204 ve K237 suşları en yakın filogenetik akrabaları *Amycolatopsis ruanii* NMG112^T ile % 99.1, *Amycolatopsis thermoflava* N1165^T ile % 98.9, *Amycolatopsis endophytica* KLBMP 1221^T ile % 98.8 dizi benzerliği göstermektedir. SM2 besiyerinden izole edilen NJ2060 suşu *Amycolatopsis ruanii* NMG112^T ile % 99.3, *Amycolatopsis thermoflava* N1165^T ile % 99.2, *Amycolatopsis methanolica* IMSNU^T ile % 98.9 16S rRNA dizi benzerliği bulunmaktadır. SM1 besiyerinden izole edilen Nijerya izolatı NJ1018'in, *Amycolatopsis tolypomycina*

DSM 44544^T ile % 99.2, *Amycolatopsis pretoriensis* NRRL B-24133^T ile % 98.8 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği bulunmaktadır.

Nocardia cinsine ait suşlardan, SM3 besiyerinden izole edilen A2012^T ve A2019^T suşları, sırasıyla en yakın tip türleri *Nocardia caishijiensis* DSM 44831^T ve *Nocardia mexicana* CIP 108295^T ile % 98.9 ve % 98.6 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermektedir. Filogenetik analizlere göre CR3272^T suşu *Nocardia goodfellowii* DSM 45516^T, *Nocardia alba* DSM 44684^T ve *Nocardia asteroides* ATCC 19247^T ile sırası ile % 98.6, % 98.5 ve % 98.2 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır. Pamukkale toprağından SM1/SM2 besiyerlerinden izole edilen PM1004 suşunun, *N. araoensis* IFM 0575^T ile % 99.1, *N. beijingensis* AS4.1521^T ile % 99.0, *N. niwae* W9241^T % 98.9 dizi benzerliği ve 15 nükleotit farklılığı bulunmaktadır. Samsun Büyükoyumca Köyü toprağından izole edilen kendi aralarında % 100 16S rRNA benzerliği bulunan SM1481, SM1342 ve SM1318 suşlarının, en yakın akraba tip türleri *Nocardia pseudovaccinii* DSM 43406^T ile % 98.97, *Nocardia vinacea* MK703-102F1^T ile % 98.90, *Nocardia anaemiae* IFM 0323^T ile % 98.50 dizi benzerliği bulunmaktadır.

Sistematikte, bir bakterinin en yakın filogenetik ilişkili tip türü ile 16S rRNA geni dizi benzerliği tek başına yeterli bir kriter olarak görülmemektedir (Van damme ve diğ., 1996). Uygulamada, bir test izolatu, en yakın akrabası ile % 97 ve üzeri 16S rRNA dizi benzerliği gösteriyorsa, aynı zamanda % 70 ve altında bir DNA-DNA hibridizasyon değerine sahip ise yeni tür olarak kabul edilmektedir (Stackebrandt ve diğ., 2002).

DNA-DNA hibridizasyonu, % 97 ve üzerinde 16S rRNA dizi benzerliğine sahip bakterilerin tanımlamasında, günümüzde halen altın standart olarak kullanılan bir metottur (Wayne ve diğ., 1987). DNA-DNA hibridizasyon değerleri, tür ve alt-tür düzeyinde bakteriler arasındaki genomik benzerliği belirlemek için kullanılmaktadır (Rosselló-Mora ve Amann, 2001).

Bakteriyal tür tanımlamada ikinci adım olan DNA-DNA hibridizasyon deneylerinin gerçekleştirilebilmesi için, *Amycolatopsis* ve *Nocardia* izolatlarından filogenetik dendogramlarda en yakın tip türleri ile olan pozisyonları göz önünde bulundurularak, % 97 ve üzeri 16S rRNA dizi benzerliği gösteren ve en fazla nükleotit farkına sahip 4 izolat (A2012^T, A2019^T, KT2025^T, CR3272^T) seçilmiş ve ilgili tip türleri ile DNA-DNA hibridizasyonu yapılmasına karar verilmiştir. **Şekil 4.6** incelendiğinde, bağlı olduğu kümeye dışardan bir hat ile bağlanan KT2025^T

izolatının, sırasıyla % 97,5 ve % 97,4 16S rRNA dizi benzerliği gösterdiği en yakın tip türleri olan *Amycolatopsis lurida* DSM 43134^T ve *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T ile hibridizasyon yapılması yeterli görülmüştür. A2012^T izolatu **Şekil 4.13**'teki dendogramda aralarında % 98.6 16S rRNA dizi benzerliği bulunan en yakın tip türü *Nocardia caishijiensis* F829^T ile belirgin şekilde farklılaşmış, A2019^T ise % 98.7 16S rRNA dizi benzerliği bulunan en yakın tip türü *Nocardia mexicana* DSM 44952^T ayrı bir kola yerleşmiş ve bu izolatların yalnızca en yakın tip türleri ile DNA-DNA hibridizasyonu yapılması kararlaştırılmıştır. CR3272^T izolatu **Şekil 4.14**'da görüleceği gibi, en yakın akrabaları *Nocardia goodfellowii* A2012^T, *Nocardia alba* YIM 30243^T ve *Nocardia caishijiensis* F829^T ile kümelenmekte ve bu tipleri ile sırasıyla % 98,6, % 98,5 ve % 97,9 16S rRNA dizi benzerliği göstermektedir. En yakın kümelendiği üç tip türü ile DNA-DNA hibridizasyon yapılmasına karar verilen CR3272^T dâhil olmak üzere yapılan hibridizasyon deneyleri sonucunda tüm hibridizasyon verilerinin % 40 ve altında olduğu belirlenerek yeni birer tür oldukları kesinleştirilmiştir (**Çizelge 4.6**).

Son yıllarda % 98 ve daha düşük 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği gösteren suşlar arasında yapılan DNA:DNA hibridizasyon çalışmalarının tür tanımı için kabul edilen % 70 DNA:DNA hibridizasyon üst değerinden her zaman daha düşük verdiği, bu nedenle % 98 ve daha düşük nükleotid benzerliği gösteren suşlar arasında DNA-DNA hibridizasyonuna gerek olmadığı bildirilmektedir (Stackebrandt ve Ebers, 2006; Konstantinidis ve Tiedje, 2007; Meier-Kolthoff ve diğ., 2013). Nitekim, yapılan bir çalışmada (Meier-Kolthoff ve diğ., 2013), *Actinobacteria* (140 adet), *Bacteroidetes* (26 adet), *Deinococcus-Thermus* (25 adet), *Euryarchaeota* (14 adet), *Firmicutes* (100 adet) ve *Proteobacteria* (266 adet) filumlarında toplam 571 adet DNA-DNA hibridizasyon ve 16S rRNA dizi verilerini istatistiksel olarak kıyaslayarak yaptıkları çalışmalarında, % 97-98.5 arası 16S rRNA dizi benzerliğine sahip bakterilerin ölçülen DNA-DNA hibridizasyon verilerinin % 40'ın altında olduğunu belirtmiş ve bu sonucun DNA-DNA hibridizasyonunun yapılmasında karar için yeni bir eşik değeri olabileceğini öngörerek rapor etmişlerdir (Meier-Kolthoff ve diğ., 2013). Tarafımızdan yapılan bu çalışmada ilgili literatür verisi dikkate alınarak en yakın akraba tip türleri *Amycolatopsis bartoniae* SF26^T ile % 97.9 16S rRNA dizi benzerliği gösteren K206 izolatının bu tip türü ile DNA-DNA hibridizasyonuna gerek olmadığına karar verilmiştir. Bununla birlikte CR3272^T izolatu, **Şekil 4.14**'te görüldüğü gibi, en yakın akraba tip türleri *Nocardia goodfellowii* A2012^T, *Nocardia*

alba YIM 30243^T ve *Nocardia caishijiensis* F829^T ile filogenetik olarak aynı kümede yer aldığı için CR3272^T'nin *Nocardia caishijiensis* F829^T ile 16S rRNA geni dizi benzerliği % 97-98.5 aralığında olsa da DNA-DNA hibridizasyonu yapılması kararlaştırılmıştır.

Polifazik taksonomik yaklaşımlara göre, bir bakterinin genomik olarak yeni bir tür olduğu kesinleştirildikten sonra, bu bilginin kemotaksonomik ve fenotipik verilerle desteklenmesi ve o bakterinin ait olduğu taksonun karakteristik özelliklerine sahip olup olmadığının tespit edilmesi gerekmektedir (Van damme ve diğ., 1996). Kemotaksonomi, aminoasitler, peptitler, lipitler, polisakkaritler, proteinler, enzimler ve izoprenoid kinon ile sterol gibi diğer kompleks polimerik molekülleri içeren kimyasal makromoleküllerin farklı takson üyeleri arasındaki dağılımını inceler ve bu bilgileri sınıflandırma ve tanımlamada kullanır. Filogenetik veriler bakteriler arasındaki akrabalığın hiyerarşik iskeletini verir fakat tür seviyesinin üstündeki taksonların tanımlanmasında her zaman güvenilir bilgi vermez. Aksine, kimyasal biyomarkırlar taksonlarda düzensiz olarak dağılırlar ve taksonların hiyerarşik seviyeleri ile ilgili bilgi verebilirler (Goodfellow ve O'Donnell, 1994).

Bu çalışmada makromoleküllerin kemotaksonomik analizinde, öncelikle yeni tür olduğu kesinleşen A2012^T, A2019^T, KT2025^T ve CR3272^T suşları başta olmak üzere yeni tür olma ihtimali olan suşların bazılarında diaminopimelik asit, tüm hücre şeker profili, yağ asiti, menakinon profili, polar lipid profili, mikolik asit gibi bazı kemotaksonomik karakteristikler belirlenmeye çalışılmıştır.

Aktinomisetlerde hücre duvarı amino asit ve şeker içeriği analizleri, bu organizmaların hücre duvarlarının peptidoglikan tabakasını oluşturan belirli bileşenlerin dağılımına bağlı olarak birkaç gruba veya hücre duvar kemotiplerine sınıflandırılabilceğini göstermiştir. Hücre duvarı diaminopimelik asitleri LL-, mezo- ve OH- formlarında farklılaşmakta, tüm hücre şeker içerikleri ise galaktoz, glukoz, mannoz, arabinoz, ksiloz, riboz ve ramnoz olarak farklılık göstererek bakteri sistematüğinde kemotaksonomik bir karakter olarak değerlendirilmektedirler (Minnikin ve O'Donnell, 1984). *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsi üyeleri hücre duvarı yapısında mezo-diaminopimelik asit içeren, karakteristik olarak galaktoz ve arabinoz şekerleri olan tip-4 hücre duvarı kemotipi sergilemektedir (Lechevalier ve Lechevalier, 1980).

A2012^T, A2019^T, KT2025^T, CR3272^T ve K206 suşlarının tamamı hücre duvarında mezo-diaminopimelik, karakteristik olarak galaktoz ve arabinoz şekerleri içeren tip4 hücre duvarı kemotipi sergilemiştir (**Şekil 4.28, Şekil 4.29**).

Yağ asitleri uzun-zincirli alifatik moleküllerin karboksilik asit türevleri olarak tanımlanırlar (Suzuki ve diğ., 1993). Bakterilerde yağ asitlerinin zincir uzunluğu 2 karbon molekülünden, mikolik asitlerde olduğu gibi 90 karbon molekülüne kadar değişen bir aralıkta bulunmaktadır. Taksonomik açıdan C₁₀ ve C₂₄ aralığındaki yağ asitleri en geniş bilgiyi gösterir. Yağ asiti tiplerindeki çeşitlilik, bu bileşikler bakteriyal sistematikte değerli markırlar yapmaktadır (Goodfellow ve Minnikin, 1985).

Amycolatopsis ve *Nocardia* cinsi üyeleri düz-açıl zincirli doymuş ve tek çift bağ içeren doymamış yağ asitleri içermekte *Amycolatopsis* türleri, majör olarak iso-formunda doymuş hegzadekanoik yağ asiti (C_{16:0-iso}), ve iso- formunda pentadekanoik yağ asiti (C_{15:0-iso}), *Nocardia* türleri ise majör olarak hegzadekanoik asitleri (C_{16:0}) ve tüberkilostearik asitlerle metillenmiş oktadekanoik asitleri (C_{18:0} 10-metil TBSA) bulundurmaktadır (Lechevalier ve diğ., 1986; Kim ve Goodfellow, 1999).

Yağ asiti içeriği organizmaların gelişme şartlarından ve ekstraksiyon metotlarından etkilenebilecek veriler olduğu için, bir suşun yağ asiti belirlenirken en yakın akraba tip türleri birlikte yapılması tavsiye edilmektedir (Embley ve Wait, 1994). Yağ asiti içeriğindeki temel yağ asiti tipleri genelde benzer olsa da yüzde içeriğindeki değişimler taksonomik açıdan önem arz etmektedir.

Çizelge 4.11 ve **Çizelge 4.12** incelendiğinde, KT2025^T suşu ve en yakın akraba tip türleri *Amycolatopsis lurida* DSM 43134^T, *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *keratiniphila* DSM 44409^T ve *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *nogabecina* DSM-44586^T ile yapılan yağ asiti analizlerinde majör yağ asitinin sırasıyla % 17,46, % 22,67, % 26,31 ve % 28,91 C_{16:0-iso} olduğu belirlenmiştir. A2012^T izolatu ve en yakın tip türü *Nocardia caishijiensis* F829^T'in majör yağ asitleri içeriği sırasıyla % 26,33 ve % 21,75 oranında C_{16:0}, % 14,57 ve % 14,10 oranında oktadekanoik asit C_{18:0} 10-metil TBSA olduğu görülmektedir. Benzer şekilde A2019^T izolatu ve en yakın tip türü *Nocardia mexicana* DSM 44952^T'nin majör yağ asitler sırasıyla % 32,1 ve % 34,04 oranında C_{16:0}, % 10,3 ve % 13,03 oranında C_{18:0} 10-metil TBSA olarak belirlenmiştir. CR3272^T suşunun en yakın tip türleri *Nocardia goodfellowii* A2012^T, *Nocardia alba* YIM 30243^T ve *Nocardia caishijiensis* F829^T ile yapılan yağ

asiti analizlerinde majör yağ asitlerinin sırasıyla % 27,18, % 26,33, % 31,8 ve % 21,75 oranında C_{16:0}, % 12,86, % 14,57, % 13,2 ve % 14,1 C_{18:0} 10-metil TBSA olduğu belirlenmiştir.

İzoprenoid kinonlarda görülen moleküler varyasyonlar prokaryotların sınıflandırılması ve identifikasyonunda taksonomik kriter olarak kullanılmaktadır. Menakinon türevleri aktinomisetlerde yaygın olarak bulunmaktadır (Collins, 1994). Bu moleküller kimyasal yapı bakımından vitamin K2 (MK-7) ile analogtur (Collins ve Jones, 1981) ve yüksek-performanslı sıvı kromatografisi (HPLC; High-performance liquid chromatography) tekniği kullanılarak tanımlanabilen çeşitli hidrojenlenme derecesi gösterirler (Collins, 1994). Bu moleküller diğer kemotaksonomik kriterlerle birlikte kullanıldığında taksonomik açıdan önemli sonuçlar vermektedir (Goodfellow ve O'Donnell, 1993).

Amycolatopsis türlerinde karakteristik olarak MK9-(H₄) (Kroppenstedt, 1987), *Nocardia* türlerinde MK8-(H_{4-cyclo}) (Collins ve diğ., 1988) menakinonları bulunmaktadır.

Şekil 4.30, Şekil 4.31, Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34 ve Şekil 4.35'teki HPLC kromatogramları incelendiğinde, KT2025^T suşunun MK9 (H₄), A2012^T, A2019^T ve CR3272^T suşlarının MK8 (H_{4-cyclo}) menakinon tipine sahip olduğu görülmekte ve analiz edilen suşlar, ait oldukları cinsin karakteristik özelliklerini yansıtmaktadır. Ayrıca K206, K204, NJ1018 numaralı *Amycolatopsis* suşlarının menakinon tipi de MK9 (H₄) olarak tespit edilmiştir.

Fosfolipitler, bakteriyal plazma membranlarında bulunan en yaygın polar lipitlerdir (Suzuki ve diğ., 1993). Bu polar lipitlerin alifatik zincirleri taksonomik açıdan önemli ölçüde çeşitlilik gösterirken, polar veya hidrofilik baş kısmı daha az çeşitlilik göstermektedir. Lechevalier ve diğerleri (1981), aktinomiset taksonlarını tüm organizma ekstraktında bulunan majör lipit markırların "yarı-kantitatif" analizlerine bağlı olarak beş fosfolipit gruba sınıflandırmış ve *Amycolatopsis* ve *Nocardia* üyelerinin karakteristik olarak büyük miktarda fosfatidiletanolamin (PE) bulunduran PII yapısındaki organizmalar grubuna dahil olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada yeni tür olduğu kesinleşen KT2025^T ve CR3272^T ile birlikte yeni tür olma ihtimali çok yüksek olan K206 suşunun polar lipid profilleri hizmet alımıyla gerçekleştirilmiştir (**Şekil 4.36, Şekil 4.37, Şekil 4.38**). Yeni tür olma ihtimali olan NJ2060, AR1438 ve PM1004 suşlarının polar lipit profilleri laboratuvarımızda gerçekleştirilmiş, karakteristik lipit spotları molibdofosforik asitle boyanmış ve **Şekil**

4.42'deki standartlarla karşılaştırılarak belirlenmiştir. **Şekil 4.39, Şekil 4.40 ve Şekil 4.41**'de de görüldüğü gibi, karakteristik lipidlerin dışında kalan tanımlanmamış lipid profillerinin hangi tipte olduğu (amino, gliko, fosfat) belirlenememiştir. Tez sürecine yetiştirilemeyen bu çalışma tez sonrası tamamlanacaktır.

Mikolik asitler uzun zincirli karbon atomları ve ikili dallanmış zincire sahip 3-hidroksi asitler ile karakteristiktir (Goren, 1972; Minnikin ve diğ., 1980). Mikolik asitlerin yapısal farklılıkları *Nocardiaceae* üyelerinin sınıflandırılması ve tanımlanmasında önemli bir taksonomik kriterdir (Valero ve diğ., 1980). *Nocardia* cinsi üyeleri uzun karbon zincirine (C₅₀-C₅₈) sahip mikolik asitler içermekte ve 0,38-0,48 aralığında Rf değeri göstermektedir (Baba, 1997). *Amycolatopsis* cinsi üyeleri ise mikolik asitler içermemektedir (Lechevalier ve diğ., 1986).

Şekil 4.43'te görüldüğü gibi, analizi yapılan *Nocardia* suşlarının tamamı TLC plakta 0,40-0,45 aralığında değişen Rf değerleri ile belirlenmiştir. Mikolik asit içermediği bilinen *Amycolatopsis* üyelerinden KT2025^T, K206 ve AR1438 suşlarına da mikolik asit testi uygulanmış ve TLC plak üzerinde mikolik asit içeren herhangi bir spota rastlanmamıştır.

Test izolatlarının kültürel ve morfolojik özellikleri, yeni türler ve yeni tür olma ihtimali çok yüksek olan K206 suşu için uygulanmıştır. **Çizelge 4.7**'de görüldüğü gibi, ilgili suşlar ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7, Nutrient, Czapek's Bennett's agar besi ortamların aynı zamanda inokule edilmiş ve 28°C'de 14 gün inkübasyon sonunda değerlendirmeye alınmışlardır. A2019^T suşu, ISP4 besiyerinde gelişim göstermemekle birlikte, diğer besiyerlerinde iyi bir büyüme göstermekte ve sarıdan kahverengine değişen renklerde spor rengine ve çözünür pigmente sahip olmaktadır. ISP6 besiyerinde KT2025^T gelişmemekte, A2012^T çok zayıf gelişim göstermektedir. KT2025^T ayrıca ISP5 besiyerinde çok zayıf gelişim göstermektedir. Çalışılan suşlar yukarıda ifade edilen özellikler dışında tüm besiyerlerinde iyi bir gelişim göstermekte ve beyaz renkli sporlar oluşturmaktadırlar.

Aktinomiset sistemantiklerinde spor morfolojisi taramalı elektron mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilen, spor yapılarının yüzeyi, zincir yapısı ve şekli hakkında bilgiler ihtiva eden veriler içerisinde yer almaktadır. *Amycolatopsis* ve *Nocardia* üyeleri dallanmış miseller arasında, zincir yapısında, düz yüzeyli genelde çubuk şekilli sporlar ihtiva etmektedir (Gochner ve diğ., 1975, Lechevalier ve diğ., 1986). **Şekil 4.26**'da A2012^T, A2019^T, KT2025^T, CR3272^T, PM1004 ve NJ2060 suşlarının düz yüzeyli, çubuk şeklindeki sporları görülmektedir.

Test organizmalarının fenotipik karakterizasyonları, 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizisine dayalı oluşturulan filogenetik analizlere göre akraba olan tip türleri ile birlikte gerçekleştirilmiştir. Uygulanan testler, mümkün olduğu kadar genomu en iyi şekilde temsil etmesi için aynı türden çok sayıda testen ziyade biyokimyasal, degradasyon, karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme, farklı pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonlarında gelişme ve enzim aktivitelerinin belirlenmesi gibi farklı alanlardan seçilmiştir.

Amycolatopsis cinsi üyesi izolatlar ve tip türlerinin birçoğunun besi ortamında, arabinoz, cellobioz, fruktoz, galaktoz, mannoz, mannitol, mezo-inositol ve ksilozu kullanırken, adonitol, dekstrin, dekstran, sorbitol, inulin, laktozu kullanmadığı belirlenmiştir. Cins üyeleri ortamdaki birçok azot kaynağını kullanırken, alfa-iso-lösin, L-hidroksiprolin, L-metionin gibi azot kaynaklarında gelişim göstermemiştir. Tween-20, tween-80, hipoksantin, gelatin gibi maddeleri degrade edebilen cins üyelerinin adenini kazein, kitin, RNA gibi maddeleri degrade edemediği tespit edilmiştir. Genel olarak izolatlar, aeskulin, arbutin, allantoin ve üre hidrolizi yapmakta, nitratı redükte edebilmektedirler. Fizyolojik test sonuçlarına göre ise izolatların, pH 6-7'de, % 1-2 tuz konsantrasyonunda ve 20-28 °C sıcaklık aralığında gelişim gösterdiği belirlenmiştir (**Çizelge 4.8**).

Nocardia üyesi test organizmaları ve tip türleri, D-cellobiose, fruktoz, sorbitol, galaktoz, mannoz, maltoz ve propionik asit varlığından gelişirken, arabinoz, salisin, dekstrin, dekstran, inülin, sorboz, laktoz, L-glutamat, ksilitol varlığında gelişim ya görülmemiş, ya da çok az görülmüştür. Cinsin üyelerinin, alfa iso-lösin, glisin, L-alanin, L-arjinin, L-sistein, L-histidin, L-prolin, L-serin, L-valin azot kaynaklarını kullandığı, DL-fenilalanin, L-metionin, L-hidroksiprolin, L-treonin azot kaynaklarını ise yeterince kullanamadığı belirlendi. Yapılan degradasyon testlerinde, cins üyelerinin gelatin, hipoksantin ve L-tyrosin dışındaki maddeleri degrade edemediği tespit edildi. A2019^T haricinde allantoin hidrolizi gerçekleştiremeyen *Nocardia* izolatları, aeskulin, arbutin, ve üre hidrolizi yapmakta, nitratı redükte edebilmektedirler. Fizyolojik testlere göre izolatlar pH 6 ve 7, % 1-2 NaCl konsantrasyonu ve 20-28 °C sıcaklık aralığında gelişim gösterdiği belirlenmiştir (**Çizelge 4.9**).

Bu tez çalışmasında yeni tür olan KT2025^T ve CR3272^T suşları ile yeni tür olma ihtimali olan K206, K204, AR1438, NJ1018, NJ2060, PM1004, SM1342 ve A4042 suşlarının genomunda PKS ve NRPS antibiyotik gen bölgelerinin var olup

olmadığı belirlenmiş, çalışılan suşların tamamı NRPS gen bölgesi bakımından pozitif sonuç vermiş, NJ1018 ve PM1004 suşlarının haricinde tüm izolatların PKS gen amplifikasyonu pozitif sonuçlanmıştır (**Şekil 4.44, Çizelge 4.14**).

Poliketit-sentazlar ve ribozomal olmayan peptid sentetazlar geniş bir biyoaktif ürün grubudur ve tıpta, ziraatte ve eczacılıkta antimikrobiyal, antifungal, antitümör ve immün baskılayıcı ajan olarak kullanılmaktadır (Ansari ve diğ., 2004). *Amycolatopsis* cinsi üyeleri, rifamisin ve vankomisin antibiyotiklerinin kaynağı olarak bilinmesinin yanı sıra, biyoteknolojik önemi olan yeni biyoaktif bileşenlerin üreticileri olarak dikkat çekmektedir (Xu ve diğ., 2003). *Nocardia* cinsi üyelerinden izole edilen metabolitler insanlarda ve hayvanlarda akciğer, merkezi sinir ve lenf sistemi ajanları olarak iyi bilinmekle birlikte doğal habitatlardan izole edilen üyelerin nokardisin, tubelaktomisin A ve brasilikardin A gibi ticari önemi olan biyobileşenleri de üretmektedirler (Aoki ve diğ.,1976; Komaki ve diğ.,1999; Igarashi ve diğ., 2000). Bu metabolitlerin üretiminde önemli metabolik yollara sahip olan poliketid sentaz ve nonribosomal peptid sentetaz gen kompleksleri, oldukça ilgi çekicidir ve yeni biyoaktif bileşenlerin keşfi için büyük öneme sahiptir. Bu nedenle aktinomisetler, PKS'ler ve NRPS genleri için geniş ölçüde taranmaktadır (Metsä-Ketelä ve diğ., 1999, Metsä-Ketelä ve diğ., 2002; Shen, 2003; Ayuso ve diğ., 2005; González ve diğ., 2005).

Ayuso ve diğerlerinin (2005) yaptıkları çalışmada da görülmektedir ki, tarama yapılan 16 *Nocardia* türünden yalnızca 15 tanesinin NRPS gen bölgesini, 10 tanesinin ise PKS-I gen bölgesini içerdiği, 20 *Amycolatopsis* türünün hepsinin NRPS gen bölgesini, 13 tanesinin PKS-I gen bölgesini genomunda bulundurduğu rapor edilmiştir.

Bu çalışmada ayrıca yeni tür olduğu kesinleşen KT2025^T ve CR3272^T suşları ile birlikte yeni tür olma ihtimali olan 10 adet izolata antibakteriyal aktivite testi uygulanmış PKS/NRPS gen bölgesi amplifikasyon verileri ile antibakteriyal aktivite arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. **Çizelge 4.13**'te görüldüğü gibi, çalışılan tüm *Amycolatopsis* suşları en az bir patojene karşı antibakteriyal aktivite gösterirken, *Nocardia* suşlarından iki tanesinin (PM1004 ve A4042) antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla antibakteriyal aktivite ile antibiyotik gen bölgelerinin birlikte değerlendirilmesi sonucu araların bir ilişkinin bulunmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, Huang ve diğerleri (2012) Çin Denizi süngerlerinde izole ettikleri aktinomisetlerin % 91'inin

PKS veya NRPS gen bölgeleri bakımında pozitif olduğunu, fakat % 27.5'in *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'tan en az bir patojene karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişler ve bu iki durum arasında bir korelasyon olmadığını rapor etmişlerdir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Türkiye'nin Artvin, Edirne, Denizli, Samsun illeri ile, Abuja (Nijerya), Gazi Magosa (KKTC) Mekke ve Medine (Suudi Arabistan)'den temin edilen toprak örneklerinden SM1, SM2 ve SM3 izolasyon besiyerlerinden bakteri izolasyonu yapıldı ve 238 izolat kültüre alınarak saflaştırıldı. Bu izolatlardan, kültür besiyerlerinde, koloni oluşumu ve pigmentasyon özelliklerine göre seçilen 138 temsilci organizmanın 16S rRNA gen bölgesi analizleri neticesinde 19 suşun *Amycolatopsis* cinsine, 32 izolatın *Nocardia* cinsi ait olduğu tespit edilmiştir.

Polifazik taksonomik yaklaşımlara göre, 16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerine göre, cins düzeyinde tanımlanan suşları tür düzeyinde karakterizasyonlarının yapılabilmesi için DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları ile birlikte fenotipik ve kemotaksonomik karakteristiklerinin de belirlenmesi gerekmektedir.

5.1 Sonuçlar

Yapılan çalışmalar sonucunda, MK1014, MK1023, MK1170, NJ2060 ve SV2047, NJ2060 nolu *Amycolatopsis* izolatlarının *A. thermoflava* N1165^T ile MK1013, MK1017, MK1135, MK1165 ve SV1058 izolatları *A. eurytherma* NT202^T ile, KT1012, KT2017 ve KT2025^T izolatları *A. lurida* DSM 43134^T ile, NJ1018 izolatı *A. tolypomycina* DSM 44544^T ile, K204 ve K237 izolatları *A. ruanii* NMG112^T ile, AR1438 izolatı *A. pretoriensis* NRRL-B 24133^T ile ve K206 izolatı ise *A. bartoniae* SF26^T ile en yüksek 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği göstermiş ve filogenetik dendogramda birlikte kümelenmişlerdir. % 100 16S rRNA nükleotit dizi benzerliği gösteren KT2017 ve KT2025^T izolatları *Amycolatopsis magusensis* KT2025^T olarak isimlendirilmiş ve literatüre kazandırılmıştır.

En yakın filogenetik akrabası ile 29 nt farklılığına (% 97.97 nt benzerliği) sahip olan K206 izolatının tüm fenotipik, kemotaksonomik ve genotipik testleri tamamlanmış olup yayımlanmak üzere yazım aşamasında bulunmaktadır. Filogenetik analizlerde *A. pretoriensis* türü ile 12 nt farklılığı gösteren AR1438, *A. tolypomycina* ile 10 nt farkı bulunan NJ1018, *A. ruanii* türü ile sırasıyla 9 nt ve 12 nt farklılığı

gösteren NJ2060 ve K204 izolatları diğer izolatlara göre tür statüsü kazanma şansı en yüksek olan izolatlar olarak değerlendirilmektedir.

16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi analizlerine göre filogenetik akraba tip türlerinden 18-20 nt farklılık gösteren A2012^T *Nocardia* izolatı *N. goodfellowii* A2012^T, A2019^T izolatı *N. thraciensis* A2019^T ve CR3272^T izolatı ise *N. sungurluensis* CR3272^T olarak isimlendirilmiş ve literatüre kazandırılmıştır.

Filogenetik akraba tip türleri ile % 100 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği gösteren A2014 ve A2018 izolatları *N. abscessus*, MK3103 izolatı ise *N. cyriacigeorgica* olarak tanımlanmıştır. Geriye kalan 20 *Nocardia* izolatı, en yakın filogenetik akraba türler ile 2-8 nt farklılık göstermektedir.

Filogenetik analizlere göre *N. pseudovaccinii* DSM 43406^T tip türü ile en yüksek 16S rRNA gen bölgesi nükleotit benzerliği gösteren (% 98.97, 15 nt farklılık) SM 1318, SM1342 ve SM1481 *Nocardia* izolatları ile *N. araoensis* IFM 0575^T tip türü ile filogenetik akrabalığa sahip olan PK2002, PM1014 ve PM2025 izolatları isimlendirilerek yayınlanmamış *Nocardia* izolatları içerisinde farklı takson statüsü kazanma şansı en yüksek izolatlar olarak görülmektedir.

5.2 Öneriler

Amycolatopsis cinsine ait izolatlardan K206, en yakın tip türü *A. bartoniae* SF26^T ile 29 nt farklılığına sahip olup, Meier-Kolthoff ve diğerleri (2013)'e göre DNA-DNA hibridizasyonu yapılması gerekmemektedir. Gerekli fenotipik ve kemotaksonomik analizlerinin tamamı yapılan K206 suşunun % G+C kompozisyonu belirlendikten sonra, isimlendirilip literatüre tip türü olarak sunulmalıdır.

K204 ve AR1438 suşu en yakın akraba türler ile aralarında 12 nt ve üzerinde farklılık göstermektedir. DNA-DNA hibridizasyonu, fenotipik karakterizasyon ve kemotaksonomik analizler için gerekli tip türleri kültür koleksiyonlarından temin edildikten sonra, ilgili testler tamamlanıp yeni tür statüsüne sahip olup olmadığı ortaya konulmalıdır.

Nijerya izolatlarından *Amycolatopsis* cinsi üyesi NJ1018 ve NJ2060 suşları en yakın tip türleri ile sırasıyla 10 nt ve 9 nt farkına sahiptir. Yakın akraba tip türleri laboratuvarımızda bulunmayan bu suşların filogenetik pozisyonlarına göre DNA-DNA hibridizasyonu yapılacak türler tespit edildikten sonra ilgili kültür koleksiyonlarından temin edilip yeni tür statüsünde olup olmadığı belirlenmelidir. Eğer bu türler % 70'in altında bir hibridizasyon değerine sahip olurlarsa diğer

karakteristikleri belirlenmelidir. NJ2060 suşunun DAP, şeker, menakinon ve lipit profilleri belirlenmiştir. Ancak lipit profilinde yer alan tanımlanmamış lipitlerin hangi tipte olduğu gerekli boyalar kullanılarak belirlenmelidir. NJ2060'ın kalan kemotaksonomik analizleri ile birlikte, NJ1018 suşunun fenotipik ve kemotaksonomik karakteristikleri belirlenmelidir.

Nocardia izolatlarından PM1004 ve SM1342 suşları yakın tip türleri ile aralarında sırasıyla 12 nt ve 15 nt fark bulunmaktadır. Yeni tür olma ihtimali yüksek olan bu suşların filogenetik dendograma göre DNA-DNA hibridizasyonu yapılacak türler belirlenmeli yeni tür olup olmadıkları kesinleştirilmelidir.

Poliketit sentaz ve ribozomal olmayan peptid sentetaz glikopeptid antibiyotik gen bölgelerinin PCR amplifikasyonlarına göre KT2025^T, K206, K204, AR1438, NJ2060, CR3272^T, ve A4042 suşları PKS-I, PKS-II ve NRPS genleri bakımında pozitif reaksiyon vermiş, NJ1018, PM1004 suşlarının yalnızca NRPS gen bölgesi pozitif sonuçlanmıştır. Öncelikle yeni türlerden başlamak üzere, pozitif reaksiyon gösteren suşların hangi tipte bir sekonder metabolit üretebildikleri daha sonra yapılacak kapsamlı çalışmalarla ortaya konulmalıdır.

KAYNAKLAR

Ansari M. Z., Yadav G., Gokhale R. S., Mohanty D., 2004. NRPS-PKS: a knowledge-based resource for analysis of NRPS/PKS megasynthases. *Nucleic Acids Research*, 32, 405-413.

Aoki H., Sakai H., Kohsaka M., Konomi T., Hosoda J., Kubochi Y., Iguchi E., Imanaka H., 1976. Nocardicin A, a new monocyclic beta-lactam antibiotic. I. Discovery, isolation and characterization. *J Antibiot*, 29, 492–500.

Athalye M., Goodfellow M., Lacey J. White R. P., 1985. Numerical classification of *Actinomadura* and *Nocardiosis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 35, 86-98.

Ayuso A., Clark D., González I., Salazar O., Anderson A. Genilloud O., 2005. A novel actinomycete strain de-replication approach based on the diversity of polyketide synthase and nonribosomal peptide synthetase biosynthetic pathways. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76, 795-806.

Ayuso-Sacido, A., Genilloud, O., 2005. New PCR primers for the screening of NRPS and PKS-I systems in actinomycetes: Detection and distribution of these biosynthetic gene sequences in major taxonomic groups. *Microbial Ecology*, 49, 10-24.

Baba T., Nishiuchi Y., Yano I., 1997. Composition of Mycolic Acid Molecular Species as a Criterion in Nocardial Classification. *Int J Syst Bacteriol*, 47, 795-801.

Becker B., Lechevalier M. P., Lechevalier H. A., 1965. Chemical composition of cell-wall preparation from strains of various form-genera of aerobic actinomycetes. *Appl Microbiol*, 13, 236–243.

Benson D. A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D. J., Ostel J. Sayers E. W., 2009. GenBank. *Nucleic Acids Res*, 37, 26-31.

Bentley S. D., Chater K. F., Cerdeno-Tarraga A.-M., Challis G. L., Thomson N. R., James K. D., Harris D. E., Quail M. A., Kieser H., Harper D., Bateman A., Brown S., Chandra G., Chen C. W., Collins M., Cronin A., Fraser A., Goble A., Hidalgo J., Hornsby T., Howarth S., Huang C.-H., Kieser T., Larke L., Murphy L., Oliver K., O'Neil S., Rabbinowitsch E., Rajandream M.-A., Rutherford K., Rutter, S., Seeger K., Saunders D., Sharp S., Squares R., Squares S., Taylor K., Warren T., Wietzorrek A., Woodward J., Barrell B. G., Parkhill J. Hopwood D. A. 2002. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417, 141-147.

Birner, J., Hodgson, P.R., Lane, W.R. Baxter, E.H. 1972. An Australian isolate of *Nocardia mediterranei* producing rifamycin SV. *Journal of Antibiotics*, 25, 356-359.

Bérdy, J. 1995. Are actinomycetes exhausted as a source of secondary metabolites? *Biotechnologia*, 7, 13–34.

- Bérdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites: a personal view. *J Antibiot*, 58, 1-26.
- Brown-Elliott B. A., Brown J. M., Conville P. S., Wallace R. J., 2006. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. *Clin Microbiol Rev*, 19, 259–282.
- Bull A. T., Ward A. C., Goodfellow M., 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: The paradigm shift. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 573-606.
- Camas M. Sahin N. Sazak A. Spröer C. Klenk H. P., 2012. *Amycolatopsis magusensis* sp. nov., isolated from Northern Cyprus soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, 63, 1254–1260.
- Camas M., Veyisoglu A., Tatar D., Saygin H., Cetin D., Sazak A., Guven K., Sahin N., 2013a. *Lechevalieria nigeriaca* sp. nov., isolated from arid soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, doi:10.1099/ijs.0.052266-0.
- Camas M., Veyisoglu A., Tatar D., Saygin H., Sazak A., Guven K., Sahin N., 2013b. *Microvirga makkahensis* sp. nov., and *Microvirga arabiacum* sp. nov., isolated from sandy arid soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, IJSEM paper no. IJS/2013/051029.
- Camas M., Sazak A., Spröer C., Klenk H. P., Cetin D., Guven K., Sahin N. 2013c. *Nonomuraea jabiensis* sp. nov., isolated from Nigerian arid soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 212–218.
- Cashion P., Holder-Franklin M. A., Mc Cully J. Franklin, M., 1977. A rapid method for the base ratio determination of bacterial DNA. *Anal Biochem*, 81, 461–466.
- Castresana J., 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology Evolution*, 17, 540-552.
- Chun J., 1995. Computer-assisted Classification and Identification of Actinomycetes. Ph.D. thesis. Newcastle upon Tyne, UK: University of Newcastle.
- Chun J., Goodfellow, M., 1995. A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences. *Int J Syst Bacteriol*, 45, 240-245.
- Clayton, M. A., Clayton, J. M., Brown, D. R. Middlebrook, J. L., 1995. Protective vaccination with a recombinant fragment of *Clostridium botulinum* neurotoxin serotype A expressed from a synthetic gene in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 63, 2738-2742
- Coenye T., Gevers D., van de Peer Y., Vandamme P., Swings J., 2005. Towards a prokaryotic genomic taxonomy. *FEMS Microbiol Rev*, 29,147–167.
- Collins, M. D., 1994. Isoprenoid quinones. In *Chemical Methods in Prokaryotic Systematics*, pp. 265–310. Edited by M. Goodfellow & A. G. O'Donnell. Chichester: Wiley.
- Collins M. D., Jones, D., 1981. The distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implications. *Microbiol Rev*, 45, 316–354.

Collins M. D., Pirouz T., Goodfellow M., Minnikin, D. E., 1977. Distribution of menaquinones in actinomycetes and corynebacteria. *J Gen Microbiol*, 100, 221–230.

Collins M., Brown J., Jones D., 1988. *Brachybacterium faecium* gen. nov., sp. nov., a coryneform bacterium from poultry deep litter. *Int J Syst Bacteriol*, 38, 45-48.

Colwell R. R., 1970. Polyphasic taxonomy of bacteria. In Culture Collections of Microorganisms: Proceedings of the International Conference on Culture Collections, pp. 421-436. Edited by H. Iizuka & T. Hasegawa. Tokyo: University Tokyo Press.

Chopra V., Ahir G. C., Grossman M. E., 1985. Cutaneous nocardiosis. *J Am Acad Dermatol*, 48, 211.

De Ley J., Cattoir H., Reynaerts A., 1970. The quantitative measurement of DNA hybridization from renaturation rates. *Eur J Biochem*, 12, 143–153.

El-sersy N. A., Abou-Elela G. M., 2006. Antagonistic effect of marine *Nocardia brasiliensis* against the fish pathogen *Vibrio damsela*: application of Plackett- Burman experimental design to evaluate factors affecting the production of the antibacterial agent IJOO 1(1): 141-150In: International Journal of Oceans and Oceanography. *Research India Publications*: Delhi. ISSN 0973-2667.

Embley T. M., Wait R., 1994. Structural lipids of eubacteria. In Chemical Methods in Prokaryotic Systematics, pp. 121–161. Edited by M. Goodfellow & O'Donnell, Chichester.

Embley T. M., Smida J., Stackebrandt E., 1988. The phylogeny of mycolate-less wall chemotype-IV actinomycetes and description of *Pseudonocardiaceae* fam. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 11, 44-52.

Ezaki T., Hashimoto Y., Yabuuchi E., 1989. Fluorometric deoxyribonucleic acid-deoxyribonucleic acid hybridization in microdilution wells as an alternative to membrane filter hybridization in which radioisotopes are used to determine genetic relatedness among bacterial strains. *Int J Syst Bacteriol*, 39, 224-229.

Felsenstein J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J Mol Evol*, 17, 368-376.

Fierer N. Jackson R. B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci*, 103, 626-631.

Fitch W. M., Margoliash E., 1967. Construction of phylogenetic trees: a method based on mutation distances as estimated from cytochrome C sequences is of general applicability. *Science*, 155, 279-284.

Fitch W. M., 1971. Towards defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology*, 20, 406-416.

Fitch W. M., Yasunobu K. T., 1975. Phylogenies from amino acid sequences aligned with gaps: the problems of gaps weighting. *J Mol Evol*, 5, 1-24.

Fischbach M. A. Walsh C. T., 2009. Antibiotics for emerging pathogens. *Science*, 325, 1089-1093.

Floss H. G., Yu T. W., 2005. Rifamycin – Mode of action, resistance, and biosynthesis. *Chemical Reviews*, 105, 621-632.

Funa N., Ohnishi Y., Fujii I., Shibuya M., Ebizuka Y., Horinouchi S., 1999. A new pathway for polyketide synthesis in microorganisms. *Nature*, 400, 897–899.

Gevers D., Cohan F. M., Lawrence J. G., Sprat B. G., Coeyne T., Feil E. J., Stackebrandt E., Van de Peer Y., Vandamme P., Thompson F. L., Swings J., 2005. Opinion: Re-evaluating prokaryotic species. *Nat Rev Microbiol*, 3, 733-739.

Ghisalba O., Traxler P., Fuhrer H., Richter W. J., 1979. Early intermediates in the biosynthesis of ansamycins. II. Isolation and identification of proansamycin B-M1 and protorifamycin I-M1. *Journal of Antibiotics*, 32, 1267-1272.

Gillis M., Vandamme P., De Vos, P., Swings J., Kersters K., 2005. Polyphasic taxonomy. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, pp. 43-48. Edited by D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley & G. M. Garrity, New York.

Gochnauer M. B., Leppard G. G., Komaratat P., Kates M., Novitsky T. Kushner, D. J., 1975. Isolation and characterisation of *Actinopolyspora halophila* gen. et sp. nov., an extremely halophilic actinomycete. *Canadian Journal of Microbiology*, 21, 1500-1511.

Goodfellow, M., 1971. Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *J Gen Microbiol*, 69, 33–80.

Goodfellow, M., Isik, K. Yates, E., 1999. Actinomycete systematics: an unfinished synthesis. *Nova Acta Leopoldina*, 80, 47-82.

Goodfellow, M., Weaver, C. R., Minnikin, D. E., 1982. Numerical classification of some rhodococci, corynebacteria and related organisms. *Journal of General Microbiology*, 128, 731-745.

Goodfellow, M., Stanton, L. J., Simpson, K. E., Minnikin, D. E., 1990. Numerical and chemical classification of Actinoplanes and some related actinomycetes. *Journal of General Microbiology*, 136, 19-36.

Goodfellow M., O'Donnell A. G., 1993. Handbook of new bacterial systematics. Academic Press, London.

Goodfellow M., O'Donnell, A. G., 1994. Chemical Methods in Prokaryotic Systematics. John Wiley and Sons, Chichester.

Goodfellow M., Manfio G. P., Chun J., 1997. Towards a practical species concept for cultivable bacteria. In *The Units of Biodiversity - Species in Practice*, pp. 25-59. Edited by M. F. Claridge, H. A. Dawah, M. R. Wilson, London.

Goodfellow M., Stainsby F. M., Davenport R., Chun J., Curtis T. P., 1998. Activated sludge foaming: The true extent of actinomycete diversity. *Water Science and Technology*, 37, 511-519.

Goodfellow M., Kumar Y., Labeda D. P., Sembiring L., 2007. The *Streptomyces violaceusniger* clade: a home for streptomycetes with rugose ornamented spores. *Antonie van Leeuwenhoek*, 92, 173-199.

Goodfellow M., Fiedler H. P. 2010. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. *Antonie van Leeuwenhoek*, 98, 119-142.

González I., Ayuso-Sacido A., Anderson A. Genilloud O., 2005. Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. *FEMS Microbiology and Ecology*, 54, 401-415.

Gonzalez J. M., Saiz-Jimenez C., 2005. A simple fluorimetric method for the estimation of DNA-DNA relatedness between closely related microorganisms by thermal denaturation temperatures. *Extremophiles*, 9, 75-79.

Goren M. B. 1972. Mycobacterial lipids: selected topics. *Bacteriol Rev*, 36, 33-64.

Harayama S. Kasai, H., 2006. Bacterial phylogeny reconstruction from molecular sequences. In *Molecular Identification, Systematics, and Population Structure of Prokaryotes*, pp 23-50. Edited by E. Stackebrandt. Springer-Verlag, Berlin.

Hayakawa M., Nonomura, H., 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for selective isolation of soil actinomycetes. *J. Ferment. Technol.*, 65, 501-509.

Hayakawa M., Otaguro M., Takeuchi T., Yamazaki T. Iimura Y., 2000. Application of a method incorporating differential centrifugation for selective isolation of motile actinomycetes in soil and plant litter. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78, 171-185.

Hennsen A. 1957. Über die Bedeutung der thermophilen Mikroorganismen für die Zersetzung des Stallmistes. *Archiv für Mikrobiology*, 27, 63-81.

Hoshino Y., Mukai A., Yazawa K., Uno J., Ando A., Mikami Y., Fukai T., Ishikawa J., Yamaguchi K., 2004. Transvalencin A, a thiazolidine zinc complex antibiotic produced by a clinical isolate of *Nocardia transvalensis*. II. Structure elucidation. *J Antibiot*, 57, 803–807.

Hsu S. C., Lockwood J. L., 1975. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Appl Microbiol*, 29, 422-426.

Huang Y., Qi W., Lu Z., Liu Z., Goodfellow M., 2001. *Amycolatopsis rubida* sp. nov., a new *Amycolatopsis* species from soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, 51, 1093–1097.

Hutchinson C. R., 2003. Polyketide and non-ribosomal peptide synthases: falling together by coming apart. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 3010-3012.

Ikeda H., Ishikawa J., Hanamoto A., Shinose M., Kikuchi H., Shiba T., Sakaki Y., Hattori M. Omura S., 2003. Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. *Nat Biotechnol*, 21, 526-531.

Igarashi M., Hayashi C., Homma Y., Hattori S., Kinoshita N., Hamada M., Takeuchi T., 2000. Tubelactomicin A, a novel 16-membered lactone antibiotic, from *Nocardia* sp. I. Taxonomy, production, isolation and biological properties. *J Antibiot*, 53, 1096–1101.

Jaccard P., 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull Soc Vaudoise Sci Nat*, 44, 223-270.

Jensen, P. R., 2010. Linking species concepts to natural product discovery in the post-genomic era. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 37, 219-224.

Jin Z. H., Lin J. P., Xu Z. N., Cen P. L., 2002. Improvement of industry-applied rifamycin B-producing strain, *Amycolatopsis mediterranei*, by rational screening. *J Gen Appl Microbiol*, 48, 329-334.

Jones K. L., 1949. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelia is a fluctuating characteristic. *Journal of Bacteriology*, 57, 141-145.

Jukes T. H. Cantor C. R., 1969. Evolution of protein molecules. In *Mammalian Protein Metabolism*, pp. 21-132. Edited by H. N. Munro, Academic Press, New York.

Jung H. M., Jeya M., Kim S. Y., Moon H. J., Kumar Singh R., Zhang Y. W., Lee J. K., 2009. Biosynthesis, biotechnological production, and application of teicoplanin: Current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 84, 417-428.

Kämpfer P., Kroppenstedt R. M. Dott W., 1991. A numerical classification of the genera *Streptomyces* and *Streptoverticillium* using miniaturized physiological tests. *Journal of General Microbiology*, 137, 1831-1891.

Kämpfer P., Kroppenstedt R. M., 1996. Numerical analysis of fatty acid patterns of coryneform bacteria and related taxa. *Can J Microbiol*, 42, 989-1005.

Kang C. H., Nam Y. D., Chung W. H., Quan Z. X., Park Y. H., Park S. J., Desmone R., Wan X. F. Rhee S. K. 2007. Relationship between genome similarity and DNA-DNA hybridization among closely related bacteria. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 17, 945-951.

Kanz C., Aldebert P., Althorpe N., Baker W., Baldwin A., Bates K., Browne P., Van den Broek A., Castro M., Cochrane G., 2005. The EMBL *Nucleotide Sequence Database*. *Nucleic Acids Res*, 33, 29-33.

Kim S. B. Goodfellow M., 1999. Reclassification of *Amycolatopsis rugosa* Lechevalier et al. 1986 as *Prauserella rugosa* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 507-512.

Kim O.-S., Cho Y.-J., Lee K., Yoon S.-H., Kim M., Na H., Park S. C., Jeon Y. S., Lee J. H., Yi H., Won S. Chun J., 2012. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 62, 716-721.

Klatte S., Rainey F. A., Kroppenstedt R. M., 1994. Transfer of *Rhodococcus aichiensis* Tsukamura 1982 and *Nocardia amurae* Lechevalier and Lechevalier 1974 to the genus *Gordona* as *Gordona aichiensis* comb. nov. and *Gordona amarae* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 44, 769-773.

Kluge A., Farris J. S., 1969. Quatitative phylogenetics and evolution of the annurans. *Systematic Zoology*, 18, 1-32.

Komaki H., Nemoto A., Tanaka Y., Takagi H., Yazawa K., Mikami Y., Shigemori H., Kobayashi J., Ando A. Nagata Y., 1999. Brasilicardian A, a new terpenoid antibiotic from pathogenic *Nocardia brasiliensis*: fermentation, isolation and biological activity. *J Antibiot*, 52, 13-19.

Koonin, E. V., 2009. Darwinian evolution in the light of genomics. *Nucleic Acids Res*, 37, 1011-1034.

Korn-Wendisch F., 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.

Korn-Wendisch F., Rainey F., Kroppenstedt R. M., Kempf A., Majazza A., Kutzner H. J. Stackebrandt E., 1995. *Thermocrispum* gen. nov., a new genus in the order Actinomycetales, and description of *Thermocrispum municipale* sp. nov., and *Thermocrispum agreste* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45, 67-77.

Konstantinidis K. T., Tiedje J. M., 2007. Prokaryotic taxonomy and phylogeny in the genomic era: advancements and challenges ahead. *Current Opinion in Microbiology*, 10, 504-9.

Kroppenstedt R. M., 1987. Chemische Untersuchungen an *Actinomycetales* und verwandten Taxa, Korrelation von Chemosystematik und Phylogenie. Habilitationsschrift, Technische Hochschule Darmstadt, Darmstadt, Germany.

Kumar Y. Goodfellow M. 2008. Five new members of the *Streptomyces violaceusniger* 16S rRNA gene clade: *Streptomyces castelarensis* sp. nov., comb. nov., *Streptomyces himastatinicus* sp. nov., *Streptomyces mordarskii* sp. nov., *Streptomyces rapamycinicus* sp. nov. and *Streptomyces ruanii* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 58, 1369-1378.

Kumar P. Satyanarayana T., 2007. Optimization of culture variables for improving glucoamylase production by alginate-entrapped *Thermomucor indicae-seudaticae* using statistical methods. *Bioresour Technol*, 98, 1252-1259.

Lacey J. Goodfellow M., 1975. Novel actinomycete from sugar-cane bagasse—*Saccharopolyspora hirsuta* gen. et sp. nov. *Journal of General Microbiology*, 88, 75-85.

Lane D. J., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, pp. 115-148. Edited by E. Stackebrandt and M. Goodfellow. John Wiley and Sons, Chichester.

Lanoot B., Vancanneyt M., Hoste B., Vandemeulebroecke K., Cnockaert M. C., Dawyndt P., Liu Z., Huang Y. Swings J., 2005. Grouping of streptomycetes using 16S-ITS RFLP fingerprinting. *Res Microbiol*, 156, 755-762.

Lapage S. P., Sneath P. H. A., Lessel E. F., Skerman V. B. D., Seeliger H. P. R., Clark W. A., 1975. *International Code of Nomenclature of Bacteria*. ASM Press, Washington, DC.

Lapage S. P., Sneath P. H. A., Lessel E. F., Skerman V. B. D., Seeliger H. P. R. Clark W. A., 1992. *International Code of Nomenclature of Bacteria (1990 Revision)*. Bacteriological Code, ASM Press, Washington, DC.

Lazzarini A., Cavaletti L., Toppo G., Marinelli F., 2000. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78, 399-405.

Lechevalier M. P., Lechevalier H. A., 1980. The chemotaxonomy of actinomycetes. In: A.Dietz & D.W.Thayer (eds.) *Actinomycete Taxonomy*. SIM Special Publ., No. 6, Arlington, pp. 277-284, Virginia.

Lechevalier, M. P., De Bièvre, C., Lechevalier, H. A., 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5, 249-260.

Lechevalier M. P., Stern, A. E. Lechevalier, H. A., 1981. Phospholipids in the taxonomy of actinomycetes. *Zentralbl Bakteriol Hyg Abt 1 Suppl*, 11, 111-116

Lechevalier M. P., Prauser, H., Labeda, D. P., Ruan, J. S., 1986. Two new genera of nocardioform actinomycetes – *Amycolata* gen. nov. and *Amycolatopsis* gen. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36, 29-37.

Lee M. Y., Myeong J. S., Park H. J., Han K. Kim E. S., 2006. Isolation and partial characterization of a cryptic polyene gene cluster in *Pseudonocardia autotrophica*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33, 84-87.

Lerat E., Daubin V., Ochman H., Moran N. A., 2005. Evolutionary origins of genomic repertoires in bacteria. *Plos Biol*, doi:10.1371/journal.pbio.0030130.

Liou G. F., Lau J., Cane D. E., Khosla C., 2003. Quantitative analysis of loading and extender acyltransferases of modular polyketide synthases. *Biochem*, 42, 200–207.

Ludwig W. Klenk H. P., 2005. Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, pp. 49-66. Edited by D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley G. M. Garrity, : Springer, New York.

Maidak B. L., Olsen G. J., Larsen N., Overbeek R., McCaughey M. J., Woese C. R., 1997. The RDP (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res*, 25, 109-111.

Maldonado L., Hookey J. V., Ward A. C., Goodfellow M., 2000. The *Nocardia salmonicida* clade, including descriptions of *Nocardia cummidelens* sp. nov., *Nocardia fluminea* sp. nov. and *Nocardia soli* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78, 367-377.

Malpartida F., Hopwood D., 1984. Molecular cloning of the whole biosynthetic pathway of a *Streptomyces* antibiotic and its expression in a heterologous host. *Nature*, 309, 462-464.

Marahiel M. A., Stachelhaus T., Mootz H. D., 1997. Modular peptide synthetases involved in ribosomal peptide synthesis. *Chemical Reviews*, 97, 2651-2673.

Margalith P., Beretta G., 1960. Rifomycin. IX. Taxonomic study on *Streptomyces mediterranei* nov. sp. *Mycopathology and Mycology Applied*, 13, 321-330.

McCarthy A. J., Cross T., 1984. A taxonomic study of Thermomonospora and other monosporic actinomycetes. *Journal of General Microbiology*, 130, 5-25.

Mehlen A., Goeldner M., Ried S., Stindl S., Ludwig W., Schleifer K. H., 2004. Development of a fast DNA-DNA hybridization method based on melting profiles in microplates. *Syst Appl Microbiol*, 27, 689-695.

Meier-Kolthoff J. P., Göker, M., Spröer C., Klenk, H. P., 2013. When should a DDH experiment be mandatory in microbial taxonomy? *Arch Microbiol*, DOI 10.1007/s00203-013-0888-4.

Mertz F. P., Yao, R. C., 1993. *Amycolatopsis alba* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43, 715-720.

Mervat M., A., Hawas U. V., Jaspars M., 2008. Novel Bioactive Metabolites from a Marine Derived Bacterium *Nocardia* sp. ALAA 2000, *J. Antibiot*, 61, 379–386.

Metsä-Ketelä M., Halo L., Munukka E., Hakala J., Mäntsälä P., Ylihonko K., 2002. Molecular evolution of aromatic polyketides and comparative sequence analysis of polyketide ketosynthase and 16S ribosomal DNA genes from various *Streptomyces* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 4472-4479.

Metsä-Ketelä M., Salo V., Halo L., Hautala A., Hakala J., Mäntsälä P., Ylihonko K., 1999. An efficient approach for screening minimal PKS genes from *Streptomyces*. *FEMS Microbiology Letters*, 180, 1-6.

Miao Q., Qin S., Bian G. K., Yuan B., Xing K., Zhang Y. J., Li Q., Tang S. K., Li W. J., Jiang J. H., 2011. *Amycolatopsis endophytica* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from oil-seed plant *Jatropha curcas* L.. *Antonie van Leeuwenhoek*, 100, 333-339.

Minnikin D. E., Hutchinson I. G., Caldicott A. B., Goodfellow M., 1980. Thin-layer chromatography of methanolysates of mycolic-acid containing bacteria. *J Chromatogr*, 188, 221-233.

Minnikin D. E., Odonnell A. G., Goodfellow M., Alderson G., Athalye M., Schaal A. Parlett J. H., 1984. An integrated procedure for the extraction of bacterial isoprenoid quinones and polar lipids. *J Microbiol Methods*, 2, 233-241.

Nash P., 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.

Nonomura H., Ohara Y., 1969. The distribution of actinomycetes in soil. VI. A selective plate-culture isolation method for *Microbispora* and *Streptosporangium* strains. *Journal of Fermentation Technology*, 47, 463-469.

O'Donnell A. G., Goodfellow M., Hawksworth D. L., 1994. Theoretical and Practical Aspects of the Quantification of Biodiversity among Microorganisms. *Phil. Trans. R. Soc. Lond B*, 345, 65-73.

Okami Y., Hotta K., 1988. Search and discovery of new antibiotics. In *Actinomycetes in Biotechnology*, pp. 33-67. Edited by M. Goodfellow, S. T. Williams & M. Mordarski. Academic Press, London.

Oliynyk M., Samborsky M., Lester J. B., Mironenko T., Scott N., Dickens S., Haydock S. F., Leadlay P. F., 2007. Complete genome sequence of the erythromycin-producing bacterium *Saccharopolyspora erythraea* NRRL 23338. *Nat Biotechnol*, 25, 447-453.

Orchard V. A., Goodfellow M., Williams S. T., 1977. Selective isolation and occurrence of nocardiae in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 233-238.

Payne D. J., Gwynn M. N., Holmes D. J., Pompliano D. L., 2007. Drugs for bad bugs: Confronting the challenges of antibacterial discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 6, 29-40.

Pelzer S., Bihlmaier C., Bischoff D., Pfeifer V., Puk O., Shawky R., Süßmuth R., Jung G., Wohlleben W., 2001. The biosynthesis of the glycopeptide antibiotic balhimycin in *Amycolatopsis mediterranei*. In *The 12th International Symposium on the Biology of Actinomycetes Abstracts*, pp. 139, Poster 212. Vancouver, Canada.

Pitcher D. G., Saunders N. A., Owen R. J., 1989. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. *Lett Appl Microbiol*, 8, 151-156.

Pridham T. G., Hesseltine C. W. Benedict R. G., 1958. A guide for the classification of *Streptomyces* according to selected groups. *Applied Microbiology*, 6, 52-79.

Rappé M. S. Giovannoni S. J., 2003. The uncultured microbial majority. *Annu Rev Microbiol*, 57, 369-394.

Reed, J. F. Cummings, R. W., 1945. Soil-reaction-glass electrode and colorimetric methods for determining pH values of soil. *Soil Sciences*, 59, 97-104.

Rosselló-Mora R. Amann R., 2001. The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 25, 39-67.

Roussel E. G., Bonavita M. A. C., Querellou J., Cragg B. A., Webster G., Parkes R. J., 2008. Extending the sub-sea-floor biosphere. *Science*, 320, 1046.

Saitou N. Nei M., 1987. The neighbour-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees. *Molecular and Biological Evolution*, 4, 406-425.

Sambrook J. Russell D. W., 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

Santelli C. M., Orcutt B. N., Banning E., Bach W., Moye, C. L., Sogin M. L., Staudigel H., Edwards K. J., 2008. Abundance and diversity of microbial life in ocean crust. *Nature*, 453, 653-656.

Sazak A., Sahin N., Camas M., 2012. *Nocardia goodfellowii* sp. nov. and *Nocardia thraciensis* sp. nov., isolated from soil in Turkey. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 1228–1234.

Sazak A., Sahin N., Camas M., 2012. *Actinoplanes abujensis* sp. nov., isolated from Nigerian arid soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 960–965

Schleifer K. H., Kandler O., 1972. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriological Reviews*, 36, 407-477.

Schleifer K. H., 2009. Classification of Bacteria and Archaea: Past, present and future. *Syst Appl Microbiol*, 32, 533-542.

Schloss P. D. Handelsman J., 2004. Status of the microbial census. *Microbiol Mol Biol Rev*, 68, 686-691.

Schofield G. Schaal K. P., 1981, A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. *Journal of General Microbiology*, 127, 237-259.

Schollenberger C. J., 1945. Determination of soil organic matter. *Soil Sci*, 59, 53-56.

Schwartz R. M. Dayhoff M. O. 1978. Origins of prokaryotes, eukaryotes, mitochondria, and chloroplasts. *Science*, 199, 395-403.

Shearer M. C., Colman P.M., Ferrin, R.M., Nisbet, L.J. ve Nash III, C.H. 1986. New genus of the Actinomycetales: *Kibdelosporangium aridum* gen. nov., sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 36: 47-54.

Shen B., 2003. Polyketide biosynthesis beyond the type I, II and III polyketide synthase paradigms. *Current Opinion in Chemical Biology*, 7, 285-295.

Shen F. T., Young C. C., 2005. Rapid detection and identification of the metabolically diverse genus *Gordonia* by 16S rRNA-gene-targeted genus-specific primers. *FEMS Microbiol Lett*, 250, 221-227.

Shigemori H., Komaki H., Yazawa K., Mikami Y., Nemoto A., Tanaka Y., Sasaki T., 1998. Brasilicardin A. A novel tricyclic metabolite with potent immune-suppressive activity from actinomycete *Nocardia brasiliensis*. *J Org Chem*, 63, 6900-6904.

Shirling E. B. Gottlieb D., 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16, 313-340.

Siegrist T. J., Anderson P. D., Huen W. H., Kleinheinz G. T., Mc Dermott C. M., Sandrin T. R., 2007. Discrimination and characterization of environmental strains of *Escherichia coli* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). *J Microbiol Methods*, 68, 554-562.

Singh S. M., Ahir G. C., Gian Chand., Jain P. K., 2001. Pulmonary nocardiosis mimicking pulmonary tuberculosis. *Ind J Tub*, 47, 30-2.

Skerman V. B. D., Mc Gowan V. Sneath P. H. A. 1980. Approved lists of bacterial names. *Int J Syst Bacteriol*, 30, 225-420.

Sneath P. H. Johnson R. 1972. The influence on numerical taxonomic similarities of errors in microbiological tests. *J Gen Microbiol* 72, 377-392.

Sneath P. H. A. Sokal R. R., 1973. Numerical taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification. W. H. Freeman: San Fransisco.

Sokal R. R., Michener C. D., 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. *Kansas University Science Bulletin*, 38, 1409-1438.

Somma S., Gastaldo L. Corti A. 1984. Teicoplanin, a new antibiotic from 184 *Actinoplanes teichomyceticus* sp.nov. *Antimicrob Agents Chemother*, 26, 917-923.

Stach J. E. M., Maldonado L. A., Masson D. G., Ward A. C., Goodfellow M. Bull A. T. 2003a. Statistical approaches for estimating actinobacterial diversity in marine sediments. *Appl Environ Microbiol*, 69, 6189-6200.

Stach J. E. M., Maldonado L. A., Ward A. C., Goodfellow M. Bull A. T. 2003b. New primers for the class Actinobacteria: application to marine and terrestrial environments. *Environ Microbiol*, 5, 828-841.

Stachelhaus T., Mootz H. D., Bergendahl V. Marahiel M. A. 1998. Peptide bond formation in nonribosomal peptide synthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 22773-22781.

Staneck J. L. Roberts G. D., 1974. Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Applied Microbiology*, 28, 122-131.

Stackebrandt E. Ebers J. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiol Today*, 33, 152-155.

Stackebrandt E., Witt D., Kemmerling C., Kroppenstedt R. Liesack W., 1991. Designation of streptomycete 16S and 23S rRNA-based target regions for oligonucleotide probes. *Appl Environ Microbiol*, 57, 1468-1477.

Stackebrandt E., Kramer I., Swiderski J. Hippe H., 1999. Phylogenetic basis for a taxonomic dissection of the genus *Clostridium*. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 24, 253–258.

Stackebrandt E., Rainey F. A., Ward-Rainey, N. L., 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *Int J Syst Bacteriol*, 47, 479-491.

Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G. M., Grimont P. A. D., Kämpfer P., Maiden M. C. J., Nesme X., Rosselló-Mora R., Swings J., 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *Int J Syst Evol Microbiol*, 52, 1043–1047.

Staunton J. Weissman K. J., 2001. Polyketide biosynthesis: a millennium review. *Natural Product Reports*, 18, 380-416.

Strohl W. R., 2004. Antimicrobials. In: Microbial Diversity and Bioprospecting, Bull, A.T. (Ed.). *ASM Press*, pp: 336-355, United Kingdom.

Suzuki Y. J., Tsuchiya M., Wassall S. R., Choo Y. M., Govil G., Kagan V. E. Packer L. 1993. Structural and dynamic membrane properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol: implication to the molecular mechanism of their antioxidant potency. *Biochemistry*, 32, 10692-10699.

Takahashi Y. Omura S., 2003. Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J. Gen. App. Microbiol*, 49, 141–154.

Tamaoka J., Katayama-Fujimura Y. Kuraishi H., 1983. Analysis of bacterial menaquinone mixtures by high performance liquid chromatography. *J Appl Bacteriol*, 54, 31–36.

Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. Kumar S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Bio Evol*, 28, 2731–2739.

Tan G. Y. A., Ward A. C., Goodfellow M., 2006. Exploration of *Amycolatopsis* diversity in soil using genus-specific primers and novel selective media. *Syst. Appl. Microbiol*, 29, 557–569.

Tan G., Robinson S., Lacey E., Brown R., Kim W. Goodfellow M. 2007. *Amycolatopsis regifaucium* sp. nov., a novel actinomycete that produces kigamicins. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57, 2562-2567.

Tang L., Yoon Y. J., Choi C. Y. Hutchinson C. R., 1998. Characterization of the enzymatic domains in the modular polyketide synthase involved in rifamycin B biosynthesis by *Amycolatopsis mediterranei*. *Gene*, 216, 255-265.

Tateno Y., Imanishi T., Miyazaki S., Fukami-Kobayashi K., Saitou N., Sugawara H. Gojobori T., 2002. DNA Data Bank of Japan (DDBJ) for genome scale research in life science. *Nucleic Acids Res*, 30, 27-30.

Torsvik V., Daae F. L., Goksyr J., 1995. Extraction, purification, and analysis of DNA from soil bacteria. In: Trevors JT, van ElsasJD (eds) *Nucleic acids in the environment: methods and applications*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 29–48, Germany.

Trevisan V. 1889. I generi e le specie delle Batteriacee. Zanaboni and Gabuzzi, Milan.

Trujillo M. E. Goodfellow M., 2003. Numerical phenetic classification of clinically significant aerobic sporoactinomycetes and related organisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 84, 39-68.

Trüper H. G., 1992. Prokaryotes: an overview with respect to biodiversity and environmental importance. *Biodiversity and Conservation*, 1, 227-236.

Udway D. W., Zeigler L., Asolkar R. N., Singan V., Lapidus A., Fenical W., Jensen P. R. Moore B. S., 2007. Genome sequencing reveals complex secondary metabolome in the marine actinomycete *Salinispora tropica*. *Proc Natl Acad Sci*, 104, 10376-10381.

Uchida K., Kudo T., Suzuki K. Nakase T., 1999. A new rapid method of glycolate test by diethyl ether extraction, which is applicable to a small amount of bacterial cells of less than one milligram. *J Gen Appl Microbiol*, 45, 49-56.

URL-1: www.bacterio.cict.fr

URL-2: <http://www.antibiotics.or.jp>

URL-3: <http://www.bacterio.cict.fr/a/amycolatopsis.html>

URL-4: <http://www.bacterio.cict.fr/n/nocardia.html>

URL-5: <http://plaza.snu.ac.kr/~jchun/phydit>

URL-6: <http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>

Valero Guillard P. L., Pacheco F. Martin Luengo F., 1985. Fatty acid composition and mycolic acid pattern of some chromogenic mycobacteria. *J. Appl. Microbio*, 59, 113-126.

Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K. Swings J., 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev*, 60, 407-438.

Von Döhren H., Dieckmann R., Pavela-Vrancic M., 1999. The nonribosomal code. *Chemistry and Biology*, 6, 273-279.

Wagman G. H. Weinstein M. J., 1980. Antibiotics from *Micromonospora*. *Annu Rev Microbiol*, 34, 537-557.

Waksman S. A. Lechevalier H. A. 1949. Neomycin, a new antibiotic active against streptomycin resistant bacteria, including tuberculosis organisms. *Science* 109: 305-307.

Waksman S. A. 1950. The actinomycetes. Ann. Cryptogamici et Phytopathologici. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass.,9, 196.

Waksman S. A. Woodruff H. B., 1941. *Actinomyces antibioticus*, a new soil organism antagonistic to pathogenic and non-pathogenic bacteria. *Journal of Bacteriology*, 42, 231-249.

Wang Y., Zhang Z. Ruan J., 1996. A proposal to transfer *Microbispora bispora* (Lechevalier 1965) to a new genus, *Thermobispora* gen. nov., as *Thermobispora bispora* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46, 933-938.

Ward A. C., Goodfellow, M., 2004. Phylogeny and functionality: taxonomy as a roadmap to genes. In *Microbial Diversity and Bioprospecting*, pp. 288-313. Edited by A. T. Bull. Washington, D.C.: ASM Press.

Watve M. G., Rashmi T. Maithili M. J., 2001. How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Archives of Microbiology*, 176, 386-390.

Wayne L. G., Brenner D. J., Colwell R. R., Grimont P. A. D., Kandler O., Krichevsky M. I., Moore L. H., Moore W. E. C., Murray R. G. E., Stackebrandt E., Starr M. P. Trueper H. G., 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *Int J Syst Bacteriol*, 37, 463-464.

Wayne L. G., Good R. C., Böttger E. C., Butter R., Dorsch M., Ezaki T., Gross W., Jonas V. 14 Other Co-authors., 1996. Semantide- and chemotaxonomy- based analysis of some problematic phenotypic clusters of slowly growing mycobacteria, a cooperative study of the International Working Group on Mycobacterial Taxonomy. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46, 280-297.

Whitman W. B., Coleman D. C., Wiebe W. J., 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 95, 6778-6583.

Whitham T. S., Athalye M., Minnikin, D. E., Goodfellow, M., 1993. Numerical and chemical classification of *Streptosporangium* and related actinomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 64, 357-386.

Whitman W. B., Coleman D. C., Wiebe W. J., 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 6578-6583.

Williams S. T., Goodfellow M., Alderson G., Wellington E. M., Sneath P. H. Sackin M. J. 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *J Gen Microbiol*, 129, 1743-1813.

Williams S. T., Goodfellow M., Alderson G., 1989. *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339^{AL}. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, pp. 2452-2492. Edited by S.T.Williams, M.E. Sharpe. and J.G. Holt. Williams and Wilkins, Baltimore.

Wink J. M., Kroppenstedt R. M., Ganguli B. N., Nadkarni S.R., Schumann P., Seibert G. Stackebrandt E., 2003. Three new antibiotic producing species of the genus *Amycolatopsis*, *Amycolatopsis balhimycina* sp. nov., *A. tolypomycina* sp. nov., *A. vancoremycina* sp. nov., and description of *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *keratiniphila* subsp. nov. and *A. keratiniphila* subsp. *nogabecina* subsp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 26, 38-46.

Woese C. R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev*, 51, 221-271.

Xu J., Mahmud T. Floss H. G., 2003. Isolation and characterization of 27-O-demethylrifamycin SV methyltransferase provides new insights into the post-PKS modification steps during the biosynthesis of the antitubercular drug rifamycin B by *Amycolatopsis mediterranei* S699. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 411, 277-288.

Yassin A. F., Haggenei B., Budzikiewicz H., Schaal K. P., 1993. Fatty-acid and polar-lipid-composition of the genus *Amycolatopsis* – application of fast-atom-bombardment mass-spectrometry to structure analysis of underivatized phospholipids. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43, 414-420.

Zhao W., Zhong Y., Yuan H., Wang J., Zheng H., Wang Y., Cen X., Xu F., Bai J., Han X., Lu G., Zhu Y., Shao Z., Yan H., Li C., Peng N., Zhang Z., Zhang Y., Lin W., Fan Y., Qin Z., Hu Y., Zhu B., Wang S., Ding X. Zhao G. P., 2010. Complete genome sequence of the rifamycin SV-producing *Amycolatopsis mediterranei* U32 revealed its genetic characteristics in phylogeny and metabolism. *Cell Res*, 20, 1096-1108

Zengler K., Toledo G., Rappe M., Elkins J., Mathur E. J., Short J. M. Keller M. 2002. Cultivating the uncultured. *Proc Natl Acad Sci*, 99, 15681-15686.

Zhi X. Y., Tang S. K., Li W. J., Xu L. H. Jiang C. L. 2006. New genus-specific primers for the PCR identification of novel isolates of the genus *Streptomonospora*. *FEMS Microbiol Lett*, 263, 48-53.

Zuckerkindl E., Pauling L., 1965. Evolutionary divergence and convergence in proteins. In: Bryson V., Vogel H., (eds), *Evolving Genes and Proteins*, , NY: Academic Press, New York.

EKLER

EK A: Seçici izolasyon besiyerleri, kültür ortamları ve çözeltiler

EK B: Test izolatlarının 16S rRNA gen dizileri

EK C: İzolatların maximum likelihood ve maximum parsimony algoritmaları ile oluşturulmuş filogenetik dendogramları

EK D: *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinsi dışında kalan diğer cinslere ait izolatların 16S rRNA geni benzerlik yüzdeleri.

EK-A

Seçici İzolasyon Besiyerleri

Gauze's Agar No. 2

Glikoz 10 g, NaCl 5 g, peptone 5 g, tryptone 3 g, agar 15 g.

Stevenson's medium (Stevenson, 1967)

67 g yeast nitrogen base ve 0.1 g casamino acid 1 litre ddH₂O'da çözülür ve filter sterilizasyonu yapılır. Steril K₂HPO₄ (200 ml, 10% w/v) 10X Stevenson's Medium hazırlamak için 800 ml'ye eklenir. 1x Stevenson's medium hazırlamak için, 100 ml 10 x Stevenson's medium steril erimiş agar ile karıştırılır (1.5%, w/v).

Seçici İzolasyon Ortamları (Tan ve diğ., 2006)

SM1: Stevenson's agar medium (1x) + D-sorbitol (1%, w/v) + neomycin sulphate (4 µg/ml).

SM2: Stevenson's agar medium (1x) + D-melezitose (1%, w/v) + neomycin sulphate (4 µg/ml).

SM3: Gauze's medium No. 2 + nalidixic acid (10 µg/ml) + novobiocin (10 µg/ml).

Antibiyotikler aşağıdaki oranlara göre hazırlanır ve kullanmadan önce 0.22 µm nitrocellulose filtrelerden geçirilerek -20 °C'de saklanır. Aseptik koşullarda uygun konsantrasyonlarda agar ortamına eklenir.

Antibiyotik	Miktar (mg)	Çözücü	Stok (mg/ml)	1 litre agara uygulanacak hacim (ml).
Cycloheximidine	500	10 ml MilliQ water	50	1
Nalidixic acid	100	10 ml MilliQ water	10	1
Neomycin sulphate	500	10 ml MilliQ water	50	0.08
Novobiocin sodium salt	160	10 ml MilliQ water	16	0.75
Nystatin	500	10 ml MilliQ water	50	1

KÜLTÜR ORTAMLARI

Bennett's Agar (Jones, 1949)

Bennett's Agar (MBA: Modified Bennett's Agar) büyüme, degradasyon, kimyasal inhibitörlere ve antibiyotiklere direnç testinde bazal ortam olarak kullanılmıştır.

Yeast Extract (Lab M)	1 g
Lab-lemco (Merck)	0.8 g
Bacto-casitone (Difco)	2 g
Gliserol	10 ml
Agar (Difco)	12 g
Saf su	1000 ml
pH	7.2-7.3

Agar hariç diğer ortam içerikleri 1000 ml saf su içerisinde çözüldü. pH (0.1 M) NaOH veya HCl ile ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklav şişelerine dökülerek 121°C'de 15 dk otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullarda petrilere döküldü. Degradasyon testi maddeleri tinalizasyonla steril edildikten sonra steril besiyerine katıldı ve petrilere döküldü. Antibiyotikler filtrasyon tekniği ile steril edildikten sonra steril besiyerine katıldı. Kimyasal inhibitör maddeleri ise, otoklav öncesi şişelere dökülmüş besiyerine ölçülü miktarda katıldı ve besiyeri karışımı kimyasal inhibitör madde ile birlikte steril edildi.

Glukoz Malt-Yeast Extract Agar

Glukoz (Merck)	4 g
Yeast-extract (Acumedia)	4 g
Malt-extract (LabM)	10 g
Agar (Acumedia)	20 g
Distile su	1000 ml
pH:	7.2-7.4

Agar hariç diğer ortam içerikleri 1000 ml distile su içerisinde çözüldü ve pH (0.1 M) NaOH veya HCl ile ayarlandı. Agar ilave edilerek sürekli karıştırmak suretiyle kaynamaya bırakıldı ve hazırlanan kültür ortamı otoklava dayanaklı 400 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121 °C'de 15 dk otoklav edildi.

Oatmeal Agar (Shirling ve Gottlieb, 1966)

Oatmeal Agar (ISP 3) ortamı, *Streptomyces*'lerin renk gruplarını belirlemek için kullanılmıştır.

Oatmeal	20 g
Agar	18 g
Trace salt solution (Shirling ve Gottlieb,1966)	1 ml
Saf su	1000 ml
pH	7.2

Oatmeal (Ticari organik ürün), 1000 ml saf su içerisinde 20 dakika kaynatılarak çözüldü ve süzgeç vasıtasıyla süzüldü. Daha sonra, oda ısısında soğumaya bırakıldı ve soğuduktan sonra eksilen su miktarı tamamlanarak pH'sı 0.1 M NaOH veya HCl ile ayarlandı ve agar ilave edilerek kaynatıldı. Hazırlanan besiyeri 500 ml'lik şişelerde 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Otoklavdan sonra su banyosunda 45-50°C'ye kadar soğutulan besiyerlerine aseptik koşullarda Trace Salt Solution'dan 1 ml /Lt olacak şekilde ilave edildi ve besiyeri petrilere döküldü.

Pepton- Yeast Extract Iron Agar (Shirling ve Gottlieb, 1966)

Pepton-Yeast Extract Iron Agar (ISP 6) ortamı izolatların melanin pigmenti üretme yeteneklerini belirlemek için kullanılmıştır.

Pepton-Iron Agar	36 g
Yeast Extract	1 g
Saf su	1000 ml

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

İnorganik Tuz-Nişasta Agar (Shirling ve Gottlieb, 1966)

İnorganik Tuz-Nişasta Agar (ISP 4) ortamı, *Streptomyces*'lerin spor morfolojilerinin tespiti için kullanılmıştır.

Çözünür Nişasta (Soluble Starch, BDH)	10 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	1 g
NaCl	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
CaCO ₃	3 g
Trace Salt Solution (Shirling ve Gottlieb, 1966)	1 ml
Agar (Difco)	20 g
Saf su	1000 ml
pH	7.0-7.4

Pridham ve Gottlieb's Trace Salts Solution (Shirling ve Gottlieb, 1966)

Bu çözelti, karbon kaynağı kullanım testi ortamlarının hazırlanmasında kullanılmıştır.

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
Saf su	100 ml

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

Nişasta, trace salt solution ve agar hariç diğer ortam içerikleri 800 ml saf su içerisinde çözüldü ve pH (0.1 M) NaOH ve HCl ile ayarlandı. Agar ilave edilerek sürekli karıştırmak suretiyle kaynamaya bırakıldı. Nişasta, 200 ml saf su içerisinde ayrı olarak çözüldü ve sıcak besiyerine eklendi. Otoklav şişelerine dökülen kültür ortamı, 121°C’de 15 dk. otoklav edilerek steril edildi. Otoklavdan sonra su banyosunda 45-50°C’ye kadar soğutulan besiyerine, aseptik koşullarda Trace Salt Solution ‘dan 1 ml /Lt olacak şekilde ilave edildi ve besiyeri petrilere döküldü.

Tyrosine agar (ISP medium 7; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Glycerol.....	15g
L-Tyrosine (Difco).....	0.50g
L-Asparagine (Difco).....	1.00g
K ₂ HPO ₄ (anhydrous basis).....	0.50g
MgSO ₄ · 7H ₂ O.....	0.50g
NaCl.....	0.50g
FeSO ₄ · 7H ₂ O.....	0.01g
Distilled water.....	1000 ml
Trace salt solution.....	1.0 ml
Agar.....	20.0g
pH.....	7.2 - 7.4

5. Yeast Extract-Malt Extract Agar (Shirling ve Gottlieb, 1966)

Yeast Extract-Malt Extract Agar (ISP 2) ortamı, *Streptomyces*’lerin stok kültürlerinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

Bacto-Yeast Extract (Difco)	4 g
Bacto-Malt Extract (Difco)	10 g
Glukoz (Glucose)	4 g
Agar	20 g
Saf su	1000 ml
pH	7.3

Agar hariç diğer ortam içerikleri saf su içerisinde çözüldü. pH (0.1 M) NaOH ve HCl ile 7.3’e ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklav şişelerine dökülerek 121°C’de 15 dk. otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50°C’ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullarda petrilere döküldü.

Glukoz Malt-Yeast Extract Broth

Glukoz malt-yeast extract broth, *Streptomyces*’lerin diaminopimelik asit tayini ve DNA izolasyon çalışması için hücre pelleti elde edilmesinde kültür ortamı olarak kullanılmıştır.

Glukoz (Merck)	4 g
Yeast-extract (Acumedia)	4 g
Malt-extract (LabM)	10 g
Distile su	1000 ml
pH:	7.2-7.4

Tüm ortam içerikleri 1000 ml distile su içerisinde çözüldü ve pH (0.1 M) NaOH veya HCl ile ayarlandı. Sürekli karıştırmak suretiyle kaynamaya bırakıldı ve hazırlanan kültür ortamları 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde transfer edildi ve ağızları pamukla kapatılarak 121 °C'de 15 dk otoklav edildi.

Trypticase Soy Broth Agar (TSBA)

Trypticase soy broth	30 gr
Agar	15 gr
Saf su	1000 ml

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

ÇÖZELTİLER

% 20'lik Gliserol

Gliserol (Park, Northampton, UK)	20 ml
Distile su	80 ml

%20 v/v gliserol süspansiyonu yaklaşık 1.5 ml miktarında vidalı kapaklı küçük tüplere konularak 121 °C'de 15 dk otoklav edildi.

0.5 M EDTA, pH 8

EDTA (Merck)	186.1 g
ddH ₂ O	1000 ml

800 ml DDH₂O içerisine 186.1 g EDTA ve ~ 20 g NaOH pelleti ilave edilerek manyetik karıştırıcı üzerinde berraklaşmaya kadar çözüldü. Son hacim DDH₂O ile 1000 ml'ye tamamlandı. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121 °C'de 15 dk otoklavda steril edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

1 M Tris, pH 8

Tris (Merck)	121.1 g
ddH ₂ O	1000 ml

800 ml DDH₂O içerisine 121.1 g tris ilave edildi ve manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözümlenerek oda sıcaklığında

soğumaya bırakıldı. pH 8'de 1 M Tris elde etmek için solüsyon içerisine 42 ml %38'lik HCl ilave edildi. Son hacim DDH₂O ile 1000 ml'ye tamamlandı. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121 °C'de 15 dk otoklavda steril edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

TE tamponu, pH 8

0.5M EDTA, pH 8 (Merck)	2 ml
1M Tris, pH 8	10 ml
ddH ₂ O	1000 ml

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

Lizozim (50 mg/ml)

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

500 mg lizozim 10 ml TE tampon içerisinde çözülerek hazırlandı. 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -20 °C'de kullanım zamanına kadar saklandı.

Proteinaz K (2 mg/ml)

Proteinaz K (AppliChem)	2 mg
TE tamponu	10 ml

2 mg proteinaz K 10 ml TE tamponu içerisinde çözüldü. 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -20 °C'de kullanım zamanına kadar saklandı.

7.5 M Amonyum asetat

Amonyum asetat (AppliChem)	57.81 g
ddH ₂ O	100 ml

57.81 g amonyum asetat 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konularak üzerine yaklaşık 40 ml DDH₂O ilave edildi. Son hacim DDH₂O ile 100 ml'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözüldü. Solüsyon 121 °C'de 15 dk otoklav edilerek +4 °C'de saklandı.

%10'luk Sarkosil

N-laurylsarcosine (Sigma)	1 g
ddH ₂ O	10 ml

1 g N-laurylsarcosine 8 ml DDH₂O içeren 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konularak manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözüldü ve son hacim DDH₂O ile 10 ml'ye tamamlandı. Solüsyon otoklav ile steril edildi ve şişenin etrafı alüminyum folyo kapatılarak oda sıcaklığında saklandı.

Guanidin thiosiyanat solüsyonu (5 M guanidin thiosiyanat, 100 mM EDTA, % 0.5 sarkosil)

Guanidine thiosiyanat (AppliChem)	60 g
ddH ₂ O (otoklav edilmiş)	20 ml
0.5 M EDTA, pH 8	20 ml

g guanidine thiosiyanat steril 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konuldu ve üzerine steril 20 ml DDH₂O ve 0.5 M EDTA (pH 8) ilave edildi. Solüsyon manyetik karıştırıcıda 65 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözüldü ve oda sıcaklığında soğuduktan sonra, N-Laurylsarcosine %10 v/v (otoklav edilmiş) 5 ml Son hacim steril DDH₂O ile 100 ml'ye tamamlanarak 0.45 µm çapındaki membran filtreden geçirildi. Şişenin etrafı alüminyum folyo ile kapatılarak oda sıcaklığında saklandı.

Kloroform-izo-amil alkol (24:1 v/v)

Kloroform (Merck)	24 ml
Izo-amil alkol (Merck)	1 ml

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

RNAaz (10 mg/ml)

RNAaz (AppliChem)	10 mg
TE tamponu	10 ml

10 mg RNA az 10 ml TE tamponu içerisinde çözüldü. 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -20 °C'de saklandı.

8M LiCl₂

LiCl ₂ (Merck)	33.912 g
ddH ₂ O	100 ml

33.912 g LiCl₂ tartılarak bir beher içerisine konuldu ve üzerine 60 ml DDH₂O ilave edildi. Manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C sıcaklık muamelesi ile berraklaşmaya kadar çözüldü ve son hacim 100 ml'ye tamamlanarak 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konuldu. Solüsyon 121 °C'de 15 dk otoklav edilerek oda sıcaklığında saklandı.

TBE Tamponu (Tris-Borik asit-EDTA; 10x, pH 8)

Tris	121.10 g
Borik asit (Merck)	61.83 g
EDTA (susuz)	5.84 g
ddH ₂ O	1000 ml

Solüsyon içerikleri tartıldı ve 1000 ml'lik beher içerisinde kondu. İçerisine 500 ml ddH₂O ilave edilerek solüsyon manyetik karıştırıcı üzerinde berraklaşmaya kadar tutuldu. Son hacim 1000 ml'ye tamamlandı. pH 8'e ayarlanarak +4 °C'de saklandı.

1xTBE, pH 8

10xTBE tamponu	50 ml
ddH ₂ O	450 ml

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

Brom fenol mavisi (Yükleme Tamponu)

Brom fenol mavisi (AppliChem)	40 mg
Gliserol	5 ml
0.5 M EDTA	1.5 ml
ddH ₂ O	3.5 ml

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

10 x SSC (Sodyum Salin Sitrat 50ml Stok Çözeltisi pH.8.0)

NaCl	4, 383g
NaCitrate	2, 206g
ddH ₂ O	50ml

Solüsyon içeriklerine toplam hacim 50 ml olacak şekilde saf su eklendi ve 15 dk otoklavda steril edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

% 30 Formamid içeren 0,1 x SSC çözeltisi (pH.8.0)

SSC 10X stok	0,05 ml
Formamide	1,5 ml
Steril ddH ₂ O	3,45 ml

Ortam içerikleri steril şartlarda karıştırıldı ve oda sıcaklığında saklandı.

EK-B

Amycolatopsis sp. AR1438 suşunun 16S rRNA geni baz sırası

GenBank: JN989303.1

CTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAACACTTTCGGGTGTGGATG
AGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAATCTGCCCTGCACTCTGGGATAAGCCTTGGAACGGGGTC
TAATACCGGATATCACAACTTCAGGCATCTGGGGTTGTTGAAAGTTCTGGCGGTGCAGGATGAACCCGCG
GCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACC
GGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGG
CGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCGCCAGGGA
CGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGATAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT
AGGGTGCAAGCGTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTACGTCGGCCGTGAA
ATCTCCACGCTTAACGTGGAGCGTGGGTCGATACGGGCAGACTTGAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATT
CCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGAT
ACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACG
TTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACATCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGG
GAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATT
AATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCGCCAGACATCCCCAGAGATGGGGCTTCC
CTTGTGGTTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG
CAACGAGCGCAACCCTTATCCTACGTTGCCAGCGGTTATGGCGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGGTC
AACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACA
ATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATC
GCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATA
CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCAA
CCCCTAAGGGAGGGAGTGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTC

***Amycolatopsis* sp. K204 ve K237 suşlarının 16S rRNA geni baz sırası**

GenBank: JQ582691.1

TCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCATCTTCGGGTGTGGATGA
GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGAAACGGGGTCT
AATACCGAATATGACTGAGCTCCGCATGGGGTTTGGTGGAAAGTTTCGGCGGTACGGGATGGGCCCGCGG
CCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGTCCG
GCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATGCACAATGGGC
GGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCGCCAGGGAC
GAAGCGTAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA
GGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTTCGCGTCTGCTGTGAAA
ATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGTAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTC
CTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATA
CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGT
TGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGCGGAGCATGTGGATTA
ATTGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCCC
TTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCCTGTCTGTGTTGCCAGCGCTAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCA
ACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAA
TGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCCTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCG
CAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATAC
GTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAAC
CCCTTCGGGGGAGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Amycolatopsis* sp. K206** suşunun 16S rRNA geni baz sırası

GenBank: JQ582692.1

TCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGATCCATCTTCGGGTGGGGATGA
GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAATCTGTCTGTACTTTGGGATAAGCCTTGAAACGGGGTCT
AATACCGAATACGACTTTCCTGGGCATCCGGGAGGGTGGAAAGTTTCGGCGGTACAGGGTGAGCCCGCG
CCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCG
GCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGC
GAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCGCCAGGGAC
GAAGCGTGAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTA
GGGTGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTGGCGTCGGCCGTGAAA
ACTGGAGGCTTAACCTCCAGCTTGCGGTCGATACGGGCAGACTTGAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTC
CTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATA
CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGT
TGGGCGCTAGGTGTGGGTGACATCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTA
ATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCC
TTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTTCGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTATCCTGTGTGGCAGCGCGTGTGGCGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGTCA
ACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAA
TGGCTGGTACAGAGGGTTGCGATATCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCG
TAGTCTGCAACTCGACTACGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATAC
GTTCCCGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCACGGCCCAAC
CCCCTCAGGGGAGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Amycolatopsis* sp. K1012 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

CAGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCTTTCGGGGTGGATTAGTG
GCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGA
TATGACTGGGGATCGCATGGGGGTGGTGGAAAGCTCCGGCGGTACAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTTG
GTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC
GGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTG
AGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGATAAGAAGCA
CCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGC
TCGTAGGCGGTTTTGTCGCGTCGTTTCGTGAAAACCTCCACGCTTAACGTGGAGCGTGCGGGCGATACGGGCAGACTTG
AGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAG
GCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCC
ACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACATCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCG
CCTGGGGAGTACGGCCGAAGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATT
AATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCGCCAGACATCCCTAGAGATAGGGCTTCCCTTGTTG
GTTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGAGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAA
CCCTTATCCTACGTTGCCAGCGGTTATGGCGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGG
GATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGAT
ACCGCGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGG
AGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCA
TGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCGTAAGGGGGGAGTGGTTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGG
GACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCT

***Amycolatopsis magusensis* KT2025^T türünün 16S rRNA geni baz sırası**

GenBank: HQ157190.1

CATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCCTTCGGGGTGG
ATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAATCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGAAACGGG
GTCTAATACCGGATATGACTGCGCATCGCATGGTGTGTGGTGGAAAGCTCCGGCGGTATGGGATGAACCC
GCGGCCATCAGCTTGTGGTGGGGTAAAAGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCG
ACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTA AACCTCTTTTCGACAG
GGACGAAGGGCAACTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGCGGTTTGTTCGCGTCGGCCGT
GAAAACGGAGGCTTAACCTCCAGCTTGCGGTCGATACGGGCGAGACTTGAGTTCCGTAGGGGAGACTGGA
ATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGGTCTCTGGGCC
GATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAA
ACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACATCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCC
GGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAAC TCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGG
ATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGCTTGACATGCGCCAGACATCCCTAGAGATAGGGCT
TCCCTTGTGGTTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTC
CCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTATGTTGCCAGCGGTTTCGGCCGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGG
TCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTA
CAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGA
TCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAA
TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCC
AACCCTTGTGGGAGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT

***Amycolatopsis* sp. MK1013 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

AACCGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGGGT
GTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGA
AACGGGGTCTAATACCGAATATGACTCGCTGAGGCATCTTGGTGGGTGGAAAAGTTTCGGCGGTACAGG
ATGGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCC
TGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAA
ACCTCTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCG
GCTTGTGCGCTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGA
GTTCCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGT
GGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAG
ATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCG
TAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGA
CATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTCCG
TCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTGTGTTGCCAGC
GCGTAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGT
CATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGT
GAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGT
CGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC
CCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGTGG
TCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGGGCGACCCC
CCCCCCTAAAA

***Amycolatopsis* sp. MK1014 şununun 16S rRNA geni baz sırası**

TTTTACTGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCG
GGTGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCT
GGAAACGGGGTCTAATACCGAATATGACNNTGCACCCGATGGTGTGGGGTGGAAAGTTTCGGCGGTAC
AGGATGGGCCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCG
GCCTGAGAGGGTGACCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG
GGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTG
TAAACCTCTTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGT
GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAG
GCGGCTTGTGCGCTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCT
TGAGTTCCGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACC
GGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTG
CCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCCGCACAAGCGGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCT
TGACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTG
TCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCGTGTTGCC
AGCGCGTAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCA
AGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATAC
CGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
AGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAG
TGGTGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGTTG

***Amycolatopsis* sp. MK1017 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

TGGCTCAGGACGAACGCTGTCCGGCGTGGCTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGGGTGT
GGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGAAA
CGGGGTCTAATACCGAATATGACTCGGTAAGGCATCTTGGTGGGTGGAAAAGTTTCGGCGGTACAGGAT
GGCCCCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTG
AGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAAT
ATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAAC
CTCTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGC
TTGTTCGCGTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGAGT
TCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGG
CGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTA
GCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACA
TGCACTGGAAACCGGCAGAAATGTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCTGTGTTGCCAGCGC
GTAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCA
TCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGA
GGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCG
GAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
GTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGTGGTC
GAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGTGACCCCC
CCTTATTAATAATAATGGTAAGGCTCGTGTGACAGGTGTGTTTCGTGACATGTCCTTTTGGATGCCA
TCATATACTCTTTTTCCATCTGCT

***Amycolatopsis* sp. MK1020** süşunun 16S rRNA geni baz sırası

CAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCAYCTTCGGGTGTGGATG
AGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGAAACGGGG
TCTAATACCGAATATGACYYKGYAMSGCATSKTGKKGGGTGGAAAGTTTCGGCGGTACAGGATGGGCC
CGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGG
GTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGC
ACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTT
TCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTC
GCGTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGAGTTCGGT
AGGGGWGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGWTATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAG
GCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCC
GGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAA
CGCATTAAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCC
CACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCAC
TGGA AACCGGCAGAGATGTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC
GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCGTGTTGCCAGCGCGTAAT
GGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATG
CCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGTGG
AGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTC
GCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTCAC
GTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGTGGTCTGAAGG
TGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGT

***Amycolatopsis* sp. MK1023 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

GAACAGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGG
GTGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTG
GAAACGGGGTCTAATACCGAATATGACCTTGCACCGCATGGTGTGGGGTGGAAAAGTTTCGGCGGTACA
GGATGGGCCCCGCGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGG
CCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG
GAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGT
AAACCTCTTTCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTG
CCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGG
CGGCTTGTTCGCTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTT
GAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCG
GTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATT
AGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGC
CGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGAC
GGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTT
GACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCA
GCGCGTAATGGCGGGGACTCGCGGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA
GTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACC
GTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAA
GTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGT
GGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGTGAC
ACACCCCTCTTAAAA

***Amycolatopsis* sp. MK1135 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

GGGTGGAAAGTTTTCGGCGGTACAGGATGGGCCCCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAGTGGCCTA
CCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGA
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTG
AGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAG
AAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATT
ATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTGCGTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGAC
CTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGAGTTCCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATG
CGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTG
GGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAA
GGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAA
CGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCCCTTGTGGCCG
GTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGG
CTGGTACAGAGGGCTGCGATAACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGC
AGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATA
CGTTCCCCGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCC
AACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGTGGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA
GCCGTACCGGAAGGTGCGGTACCCCC

***Amycolatopsis* sp. MK1164 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

TACACAGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGG
GTGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTG
GAAACGGGGTCTAATACCGAATATGACTCGCTGAGGCATCTTGGTGGGTGGAAAAGTTTCGGCGGTACA
GGATGGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGG
CCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG
GAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGT
AAACCTCTTTGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTG
CCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGG
CGGCTTGTGCGCTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTT
GAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCG
GTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATT
AGATAACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGC
CGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGAC
GGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTT
GACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCA
GCGCGTAATGGCGGGGACTCGCGGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA
GTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACC
GTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAA
GTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCC GGGCCTTGTACACACC
GCCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGT
GGTCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGTGAA
ACACATCCCTTTAAA

***Amycolatopsis* sp. MK1165** süşunun 16S rRNA geni baz sırası

CGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGGGTGTG
GATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGAAAC
GGGGTCTAATACCGAATATGACTCGGCAAGGCATCGTGTTGGGTGGAAAGTTTCGGCGGTACAGGATG
GGCCCGGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGA
GAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATA
TTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAC
TCTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCT
TGTCGCGTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGAGTT
CGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGC
GAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTAG
CTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACAT
GCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTGTCCCTGTGTTGCCAGCGCG
TAATGGCGGGGACTCGCGGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAT
CATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAG
GTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGG
AGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCAGGGCCTTGACACACCGCCCCG
TCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGTGGTCG
AAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGGTCAAC
CCTCCTTAAA

***Amycolatopsis* sp. MK1170** suşunun 16S rRNA geni baz sırası

GATCAGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGGG
TGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGG
AAACGGGGTCTAATACCGAATATGACCTTGCACCGCATGGTGTGGGGTGGAAAAGTTTCGGCGGTACAG
GATGGGCCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGC
CTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTA
AACCTCTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTACCGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGC
CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAAGACTCGTAGGC
GGCTTGTGCGCTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTG
AGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGG
TGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCC
GTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTG
ACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAG
CGCGTAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG
TCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCG
TGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAG
TCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGTG
GTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGTGATC
CACCTCTCTTAAAA

***Amycolatopsis* sp. NJ1018 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

CCCCGTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCCCTTCGGTTG
TGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAATCTGCCCTGCACTCTGGGATAAGCCTTGAA
ACGAGGTCTAATACCGGATATCACCATCTCAGGCATCTGGGGTGGTTGAAAGTTCTGGCGGTGCAGGA
TGAACCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCT
GAGAGGGTGACCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAA
CCTCTTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGATAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGG
TTTGTGCGGTCGGCCGTGAAATCTCCACGCTTAACGTGGAGCGTGCGGTGATACGGGCAGACTTGAG
TTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTG
GCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACATCCACGTTGTCCGTGCCGT
AGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGAC
ATGCGCCAGACATCCCCAGAGATGGGGCTTCCCTTGTGGTTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTACGTTGCCAGCG
CGTCATGGCGGGGACTCGTGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTC
ATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGCG
AGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTC
GGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCC
CGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCAAGGAGAGAGAGTGCTAA
AGTGTGACAGTGGAGAGTGACAAGAAGCTCATCACGGTGTACCCATAGCAGAGTGGCGTTGAACC

***Amycolatopsis* sp. NJ2060** süşunun 16S rRNA geni baz sırası

GAACACCCCCCCTCGAGAGAGNTTTTNTCTGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGC
AAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGGGTGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACT
GCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATATGACCTTGCACCGCATGGTG
TGGGGTGGAAAGTTTCGGCGGTACGGGATGGGCCCCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAGTGGCC
TACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCG
TGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCCGCCAGGGACGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGG
AGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAA
TTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTGCGGTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGG
ACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA
TGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGC
GAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTG
TGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGC
AAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGC
AACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACTGGAAACCGGCAGAGATGTCGGCCCCCTTGTGGC
CGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGA
GCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGTCAACT
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAAT
GGCTGGTACAGAGGGCTGCGATAACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATC
GCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAA
TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGC
CCAACCCGTAAGGGAGGGAGTGGTTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGC
CGTACCGGGAGGTGCGGCTGTCCCCCTTCCATTATGGAATTCCTGGTGTACCGGTGAAATGCGCANA
TATCAGGAGGAACACCGGTGCGAAGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACC

***Amycolatopsis* sp. SV2047 suşunun 16S rRNA geni baz sırası**

CACTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCACCTTCGGGTGTG
GATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTTTGGGATAAGCCCTGGAAAC
GGGGTCTAATACCGAATATGACYTKGYAMSGCATSKTGKKGGGTGGAAAAGTTTCGGCGGTACAGGATG
GGCCCGGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAGTGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGA
GAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATA
TTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAC
TCTTTCGCCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGGAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCT
TGTCGCGTCTGCTGTGAAAATCCGGGGCTTAACTCCGGACCTGCAGTGGATACGGGCAGGCTTGAGTT
CGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGC
GAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGCGACTTCCACGTTGTCCGTGCCGTAG
CTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACAT
GCACTGGAAACCGGCAKAGATGTCGGCCCCCTTGTGGCCGGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGAACGAGCGCAACCCTTGTCCCTGTGTTGCCAGCGCG
TAATGGCGGGGACTCGCGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAT
CATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCTGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAG
GTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGG
AGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCAGGCTTGTACACACCGCCCCG
TCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCCGCTTGCGGGGAGGGAGTGGTCCG
AAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTAC

***Nocardia* sp. A2004 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGC
CCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTTGCACTCTGGGATAA
GCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTGCAGTTGCATGACTGTGGGTGGAAAAGATTTATC
GGTGCAGATGAGCCCCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCACGACGGGT
AGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC
AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCG
GGTTGTAAACCTCTTTGACTCCGACGAAGCGAAAGTGACGGTAGGAGTATAAGAAGCACCGGCCAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGAGCT
TGTAGGCGGCTTGTGCGTCGATCGTGAAAACCTCGGGGCTCAACCCCGAGCTTGCGGTCGATACGGGC
AGGCTTGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGA
ACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAAGTACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTAAGTGTGGGTTTCCCTTCCACGGGA
TCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGG
AATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTGGTGTACAGGTGGTGCA
TGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTAT
GTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTG
CGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACC
CCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGAGGGA
GCCGTGCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Nocardia goodfellowii* A2012^T türünün 16S rRNA geni baz dizisi**

GenBank: HQ157183.1

GGATAGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGT
ACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCCTGTACTTCGGGATAAGCCTGGGAAACT
GGGTCTAATACCGGATATGACCTCAGAGTGCATGCTTTGGGGTGGAAAGATTTATCGGTACAGGATGGGC
CCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTGAGAGGG
TGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTTCGAC
AGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTAAGGCTTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTGTGCGGTCGTTT
GTGAAAACCTTGGGGCTCAACCCCAAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTAGAGTACTTCAGGGGAGACTG
GAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGG
AAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCG
CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATG
TGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCAGAAACACCTAGAGATAGG
TGCCCCCTTGTGGTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAA
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCTTATGTTGCCAGCGGTTATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCC
GGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACAT
GCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTT
CGGATCGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGG
TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTG
GCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Nocardia* sp. A2014 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

CAGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTA
CACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAAC
TGGGTCTAATACCGGATATGACCTGCTGTCGCATGGCGGTGGGTGGAAAGATTTATCGGTGCGAGATG
GGCCCGCGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGA
GAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGGAATA
TTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACC
TCTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTT
TGTCGCGTCGTCCGTGAAAACCTGGGGCTCAACCCCAAGCTTGCGGGCGATACGGGCAGACTTGAGTA
CTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGC
GAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTA
GCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACA
TACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATCTTATGTTGCCAGCGC
GTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCA
TCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGA
GGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTG
GAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
GTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAA
GGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTG

***Nocardia* sp. A2018 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

GATAGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGG
TACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAA
ACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTGCTGTTCGCATGGCGGTGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCGAGA
TGGGCCCGCGGCCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCT
GAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAA
CCTCTTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGG
TTTGTTCGCGTTCGTCGTAAGTGGGCTCAACCCCAAGCTTGCGGGCGATACGGGCAGACTTGAG
TACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTG
GCGAAGGCGGGTCTCTGGGCGTAAGTGCAGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCG
TAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGA
CATAACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCTG
TCAGCTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTATGTTGCCAGC
GCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGT
CATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGT
GAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGT
TGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC
CCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCG
AAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCT

***Nocardia thraciensis* A2019^T türünün 16S rRNA geni baz dizisi**

GenBank: HQ157184.1

GTACTGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTA
CACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGTACTCTGGGATAAGCCTGGGAACTG
GGTCTAATACCGGATATGACCACATGTCGCATGGTGTGTGGTGGAAAGATTTATCGGTGCGAGATGGGCC
CGCGGCTATCAGCTTGTGTGGTGGGTAACGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTGAGAGGGT
GATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAA
TGGGGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGCGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCGCTTTCGACT
CCGACGAAGCGAGAGTACGGTAGGAGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAT
ACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTCTGTCCGCTTCTCTG
TAAAATTACAGCTCAACTGTGAACCTGCAGGGGATACGGGCAGACTAGAGTACTTCAGGGGAGACTGG
AATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGA
AGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGC
CTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGCGGAGCATGT
GGATTAATTGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGTTTGACATACGCCAGACGCCGCGCAGAGATGTCG
GTTCCCTTGTGGTTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAG
TCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTATGTTGCCAGCGCGTATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCG
GGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATG
CTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATAACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTC
GGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGT
GAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGG
CCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGGTGGGATTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGC
CGTACCGGAAGG

***Nocardia* sp. A4017 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

TTAATTTTAGCTCTTGAGCCTGCTCAGCTGGAGGACCTCTTTAGAGTTTGATCATGGCTCAGGCTGGA
GCACCTCCTTAGAGTTTGATCATGGCTCAGGCTGGAACACCTCCTTAGAGTTTGATCATGGCTCAGGA
CGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCG
AACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAACTGGGTCTAATA
CCGGATATGACCTCTTGTGCGATGGCTTGGGGTGGAAAGATTTATCGGTGCGAGATGGGCCCGCGGCC
TATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCG
GCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGG
GCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCGACAG
GGACGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTGTGCGCTCGT
CTGTGAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGTACTGCAGGGGAG
ACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTC
TCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATT
AAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAG
CGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGAAA
CCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTCCGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTG
TGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTGTCTGTGTTGCCAGCGCTTATGGCGGG
GACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTT
ATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCCTGAGGTGGAGCGAA
TCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGT
AATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATG
AAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGGTGGGATCGG
CGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCCGGAGGTGCGGCTGGTCC

***Nocardia* sp. A4018 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

CATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGT
ACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAA
CTGGGTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTGCGATGGCTTGGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCGAGAT
GGGCCCCGGCCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTG
AGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAT
ATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAAC
CTCTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGT
TTGTGCGTCTGTGAAAACACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGT
ACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGG
CGAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACCTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCCTTCCACGGGATCCGTGCCGT
AGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTAC
ATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTCCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCG
CGTTATGGCGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTC
ATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTG
AGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTT
GGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCC
CGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGA
AGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTG

***Nocardia* sp. A4019 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

ACTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACAC
GAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAACTGG
GTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTTCGCATGGCTTGGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCGAGATGGGC
CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAG
GGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG
CACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCT
TTTCGACAGGGACGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGGTTCGAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAAGACTTGTAGGCGGTTTGT
CGCGTCTGTGAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGTACTG
CAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAA
GGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACC
TGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCT
AACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATAC
ACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGC
TCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGCGTT
ATGGCGGGGACTTCGAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCA
TGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGT
GGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTTCGGATCGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAG
TCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCAGGGCCTTGTACACACCGCCCGTC
ACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGGT
GGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTG

***Nocardia* sp. A4021 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

ACACTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCG
GGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAA
GCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTGCGATGGCTTGGGGTGGAAAGA
TTTATCGGTGCGAGATGGGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAG
GCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAG
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACG
CCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGACAGGGACGAAGCGTAAGTG
ACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGT
GCGAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTGTGCGTCTGTCTGT
GAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGTACTGCAGGGG
AGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAA
GGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAG
ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATC
CGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCA
AAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAA
GAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCG
GTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGCGTTATGGCGGGGACTCGCAGGAGACTGCC
GGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCT
TCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATAACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTT
AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGT
AATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAC
GTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGA
AGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGT
TATCCTCCTTGAATTGTGGGGTAGGGCGCAAGTGCCGAGATATCAACGAGGAACACCGGTGG
CGAAGGCCGGGTTTCTGGGACAGTAACTGACGCTGAGAACCCAAAGCGTGGGGAGCAGACAG
GATATATACCCGTGGTAGTCCACGCCCTATACCGTGGTGCCTAGGTGTGTGTTTCCCTCAA
CCGGCATTTCGCGACGTAGCTTACGCATTATGATGACCCCGCTGGGCAGTACG

***Nocardia* sp. A4042 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

CGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACA
CGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAACTG
GGTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTTCGCATGGCTTGGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCGAGATGGG
CCCCGGCCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGA
GGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT
GCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTC
TTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAG
CCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTG
TCGCGTTCGTCTGTGAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGTACT
GCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGA
AGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACC
CTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGC
TAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGC
CCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGTTTGACATA
CACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAG
CTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGGAT
TATGCCGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATC
ATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGG
TGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGA
GTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCT
CACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGG
TGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTG

***Nocardia* sp. A7021 süşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

TTTAGGCCCTTCTTAAGAGTTTGTACATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCA
AGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCC
TCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTTCCAGTGCATGCTGGTG
GGTGGAAAGATTTATCGGTGCGAGATGGGCCCCGGCCCTATCAGCTTGTGGCGGGTAACGGCCAC
CAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGAC
TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGA
GGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCGACAGGGACGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGTAGA
AGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCGGAATTA
CTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTCTGTGCGTCTTCTGTGAAAACCTTGGGGCTCAACCTTAAGCT
TGCAGGCGATACGGGCAGACTAGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGC
GCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAA
AGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGG
GTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAA
GGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAA
CGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCG
GTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCG
GAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGG
CCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGG
GGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATA
CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCT
AACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCAAGGTGGGATTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCC
GTACCGGAAGGTGCGGCTGCACCC

***Nocardia* sp. CR2267 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

TATGGCTCAGGACGAACGCTAGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGT
ACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTTGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAA
CTGGGTCTAATACCGGATATGACCCCGAATGCATGTTCTGGGGTGGAAAGATTTATCGGTGCGAGAT
GGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTG
AGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAT
ATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGCGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAC
CGCTTTTGACAGGGACGAAGCGCAAGTACTGTACCTGTAGAATAAGGACCGGCCAACTACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGT
TCGTGCGCTCGTTTGTGAAAACCTTGGGGCTCAACCTTAAGCTTGCAGGCATACGGGCGGACTAGAGT
ACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGG
CGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGGCTCCTTCCACGGACTCCGTGCCGT
AGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGAAATTGACGGG
GGCCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGAC
ATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCCGAACGAGCGCAACCCCTTATCTTATGTTGCCAGCG
CGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTC
ATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGCG
AGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTT
GGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCC
CGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTGCA
AGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGGTCCACC
CTCC

***Nocardia sungurluensis* CR3272^T türünün 16S rRNA geni baz dizisi**

GenBank: JN989289.1

CTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAG
CGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCCTGTAAGCTTCGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTA
ATACCGGATATGACCACTGATCGCATGGTTGGTGGTGGAAAGATTTATCGGTACAGGATGGGCCCGCGGC
CTATCAGCTTGGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGG
CCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCG
GAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGACAGGGACG
AAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACCTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG
GGTGCAGCGTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTGTTCGCGTCGTTTGTGAAAA
CTTGGGGCTCAACCCCGAGCTTGCAGGCGATACGGGCGAGACTAGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTC
TGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAAC
TGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGT
GGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTA
ATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCC
TTGTGGTCCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCCTTATCTTATGTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCA
ACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAA
TGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCCTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCCGGATCG
GGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTGCCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATAC
GTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAAC
CCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Nocardia* sp. MK3512 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGC
CCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTTGCACTCTGGGATAA
GCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTGCAGTTGCATGACTGTGGGTGGAAAGATTTATC
GGTGCAGATGAGCCCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGT
AGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC
AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCG
GGTTGTAAACCTCTTTGACTCCGACGAAGCGAAAGTGACGGTAGGAGTATAAGAAGCACCGGCCAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGCTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCT
TGTAGGCGGCTTGTGCGCTCGATCGTGAAAACCTCGGGGCTCAACCCCGAGCTTGCGGTCGATACGGGC
AGGCTTGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGA
ACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGA
TCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAAC TCAAAGG
AATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTCGGTGTACAGGTGGTGCA
TGGCTGTGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCTTAT
GTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTG
CGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGTCTGCAACTCGACC
CCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAAGTCGGTAACACCCGAAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGAGGGA
GCCGTGCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Nocardia* sp. MK3103 süşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGC
CCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTCTGGGATAA
GCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTTACATCGCATGGTGTGGTGGAAAGATTTATC
GGTGCAGATGGGCCCGGGCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGT
AGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC
AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCG
GGTTGTAAACCTCTTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGAGCT
TGTAGGCGGCTTGTTCGCGTTCGATCGTGAAAACCTTGGGGCTCAACCCCAAGCTTGCGGTCGATACGGGC
AGGCTTGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGA
ACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGA
TCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGG
AATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TGGGTTTGACATACCCGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCA
TGGCTGTCGTAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTAT
GTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTC AAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTG
CGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACC
CCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACCCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGG
GAGCCGTCGAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

***Nocardia* sp. NJ3016 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

ATGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTAC
ACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAACT
GGGTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTTCGCATGGCTTGGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCGAGATGG
GCCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATAT
TGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCT
CTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCA
GCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTGCCGAATTAAGTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTT
GTCGCGTCTGTGAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCATACGGGCAGACTTGAGTAC
TGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCG
AAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATAC
CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAG
CTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACAT
ACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGCG
TTATGGCGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGACTACGTCAGGTCAT
CATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAG
GTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTTCGGATCGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGG
AGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCG
TCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAG
GTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGACCCCCCT
TCTATAAAATTCGCGGGGTACCCGTGAAATGCGGCAAATTTTCAAGAGAGGAACCACCGGTGGCGA
AAGGCGGGTCTTCTGGGGCAGTTAACTTGACGCTGAGAAGCCGAAAGCGTGGGTAGCCACAGGATTA
GATACC

***Nocardia* sp. NJ3017 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

TTTTACAGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGG
GGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGG
AAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTGCGCATGGCTTGGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCGA
GATGGGCCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGC
CTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA
AACCTCTTTGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGC
CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAAGAGCTTGTAGGC
GGTTTGTGCGCTCGTCTGTGAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTG
AGTACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGG
TGCGGAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGC
CGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGAC
GGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTT
GACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTCCGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCA
GCGGATTATGCCGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAA
GTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACC
GTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCCGATCGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAA
GTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGT
CGAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGTGCTACC
CCCCCTC

***Nocardia* sp. NJ3025 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

CAGAGAAAGGGTTTAACTGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTA
AGGCCCTTCGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGG
ATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTTCGCATGGCTTGGGGTGGAAAGATT
TATCGGTGCGAGATGGGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCTACCAAGGCGACGAC
GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACCGCGCTGAGGGATGACGGCC
TTCGGTTGTAAACCTCTTTTCGACAGGGACGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGC
CAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAACTACTGGGCGTAAAG
AGCTTGTAGGCGGTTTGTTCGCGTCGTCTGTGAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATAC
GGGCAGACTTGAGTACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGG
AGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGC
GAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGTTTCCTTCCAC
GGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCA
AAGGAATTGACGGGGGCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCT
TACCTGGGTTTGTACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGG
TGCATGGCTGTTCGTTCAGCTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGT
CTGTGTTGCCAGCGCCTTATGGCGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGG
GCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTC
GACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCC
TTGTACACACCGCCCGTACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGG
GAGGGAGCCGTGCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGT
GCGGTACA

***Nocardia* sp. NJ3032 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

AAGAGAGGGGTTACACACTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAG
GCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGAT
AAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTCTTGTTCGCATGGCTTGGGGTGGAAAAGATTTA
TCGGTTCGAGATGGGCCCGGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGG
GTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCA
GCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTT
CGGGTTGTAAACCTCTTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCA
ACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGAG
CTTGTAGGCGGTTTTGTTCGCGTCTGTGAAAACCTCACAGCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGG
GCAGACTTGAGTACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAG
GAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGG
GATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAA
GGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTA
CCTGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTG
CATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTT
GTGTTGCCAGCGGATTATGCCGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGA
CGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGC
TGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGA
CCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGA
GGGAGCCGTGCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGC
GGTA

***Nocardia* sp. NJ3051 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

CATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGT
ACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCCTGTACTTCGGGATAAGCCTGGGAAA
CTGGGTCTAATACCGGATATGACCATGGGATGCATGTCTTGTGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCAGGAT
GGCCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTG
AGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAT
ATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAC
CTCTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAAGACTTGTAGGCGGT
TCGTGCGCTCGATCGTGAAAACCTGGCGGCTCAACTGCCAGCTTGCGGTCGATACGGGCGGACTAGAGT
ACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGG
CGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGT
AGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGAC
ATACACCAGAAACATCCAGAGATGGGTGCCCCCTTGTGGTTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTATGTTGCCAGCG
CGTTATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTC
ATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTG
AGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTT
GGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCC
CGTCACGTGATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGA
AGGTGGGATTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGAC

***Nocardia* sp. NJ3347 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

TTATATGATGATGTTGTTTTTATTCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAG
CGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGTACT
CTGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCACGAATCGCATGGTTTGTGGTGGAA
AGATTTATCGGTGCGAGATGGGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCG
ACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGA
CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCA
CCGGCCAACACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTGTCCGGAATTACTGGGCG
TAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTCGTGCGCTCGATCGTGAAAACCTTGACGCTCAACTGCGAGCTTGC GGTC
GATACGGGCGGACTAGAGTACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATA
TCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGG
GTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCT
TCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAG
AACCTTACCTGGGTTTTGACATACACCAGAAAGCCGTAGAGATACGGCCCCCTTGTGGTTGGTGTACA
GGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTGTCCTGTGTTGCCAGCGCCTTATGGCGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAG
GTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTAC
AGAGGGCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGC
AACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCC
GGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCT
CGTGGGAGGGAGCCGTGCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGG
AAGGTGCGGTAC

***Nocardia* sp. NS3402 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

GCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACAC
GAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTTGCACTCTGGGATAAGCCTGGGAAACTGG
GTCTAATACCGGATATGACCTCCAGTTGCATGACTGGGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCAAGATGAGC
CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAG
GGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG
CACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCT
TTGCACTCCGACGAAGCGAAAAGTGACGGTAGGAGTATAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAAGACTTGTAGGCGGCTTGT
CGCGTCGATCGTGAAAACCTCGGGCTCAACCCCGAGCTTGCGGTCGATACGGGCAGGCTTGAGTACTT
CAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAA
GGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACC
TGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCT
AACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATAC
ACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTCCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGC
TCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACGAGCGCAACCCTTATCTTATGTTGCCAGCGCGTA
ATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCA
TGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGT
GGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAG
TCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTC
ACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGAGGGAGCCGTCGAAGGTGG
GATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGC

***Nocardia* sp. PM1004, PK2002, PM2005 suslarının 16S rRNA geni baz dizisi**

GenBank: JN989290.1

ACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGA
ACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAACTGGGTCTAATACCG
GATATGACCAGTTGCTGCATGGTTTCTGGTGAAAGATTTATCGGTGCGAGATGGGCCCGCGGCCTATCA
GCTTGTGGTGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACAC
TGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCC
TGATGCACGCGACCGCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCGACAGGGACGAAGCGT
GAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCG
AGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTGTGCGGTCGTCTGTAAAACTCACA
GCTCAACTGTGAGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGTACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGT
AGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGC
TGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGC
TAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACC
GCCGAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGA
TGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGCCCCCTTGTGG
TCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAG
CGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGGATTATGCCGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGG
AGGAAGGTGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCG
GTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGTCT
GCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCC
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTG
TGGGAGGGAGCCGTCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAAACAAGGTAGCCGTA

***Nocardia* sp. PM3006 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

TTTGATATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTC
GGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTTGCACTCTGGGATAAGCCTG
GGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTGCAGTTGCATGACTGTGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGC
AAGATGAGCCCCGGCCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCG
GCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG
GGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTG
TAAACCTCTTTTCGACTCCGACGAAGCGAAAGTGACGGTAGGAGTATAAGAAGCACCGGCCAACTACGT
GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGAGCTTGTAG
GCGGCTTGTCGCGTCGATCGTGAAAACCTCGGGGCTCAACCCGAGCTTGCGGTCGATACGGGCAGGCT
TGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACC
GGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGT
GCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGT
TTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCT
GTCGTGAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTATGTTGC
CAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTC
AAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATA
CCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTG
AAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACA
CCGCCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGAGGGAGCCGT
CGAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACAAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGGATC
AC

***Nocardia* sp. PM3009 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

AAAAGGCTTGGTACTGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGG
CCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTTGCACTCTGGGATA
AGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTGCAGTTGCATGACTGTGGGTGGAAAGATTTAT
CGGTGCAAGATGAGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCTACCAAGGCGACGACGGG
TAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAG
CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTC
GGTTGTAAACCTCTTTGACTCCGACGAAGCGAAAGTGACGGTAGGAGTATAAGAAGCACCGGCCAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAAGC
TTGTAGGCGGCTTGTGCGTCGATCGTGAAAACCTCGGGCTCAACCCCGAGCTTGCGGTGATACGGG
CAGGCTTGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGG
AACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGG
ATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAG
GAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTAC
CTGGGTTTGACATACCCGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTCCGTGTACAGGTGGTGC
ATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCTTA
TGTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGAC
GACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCT
GCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGAC
CCCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCCTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGAGGG
AGCCGTGCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGT
ACCC

***Nocardia* sp. PM3011 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

GCTCAGGACGAACGGCTAGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACA
CGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTTGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAACTG
GGTCTAATACCGGATATGACCTCGAATCGCATGGTTTCGGGGTGGAAAAGATTTATCGGTGCGAGATGGG
CCCCGGCCCTATCAGCTTGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTGAGA
GGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT
GCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGCGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCGC
TTTTGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACTGTACCTGTAGAATAAGGACCGGCCAACTACGTGCCAGCAG
CCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTCG
TCGCGTCGTTTGTGAAAACCTGGGGCTCAACCTTAAGCTTGCAGGCGATACGGGCGGACTAGAGTACT
TCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGA
AGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACC
CTGGTAGTCCATGCCGTAAACGGTGGGTAAGTGTGGGGCTCCTTCCACGGACTCCGTGCCGTAGC
TAACGCATTAAGTACCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGAAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATA
CACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAG
CTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTATGTTGCCAGCGCGT
AATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATC
ATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGCGAGG
TGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGA
GTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGT
CACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGG
TGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGC

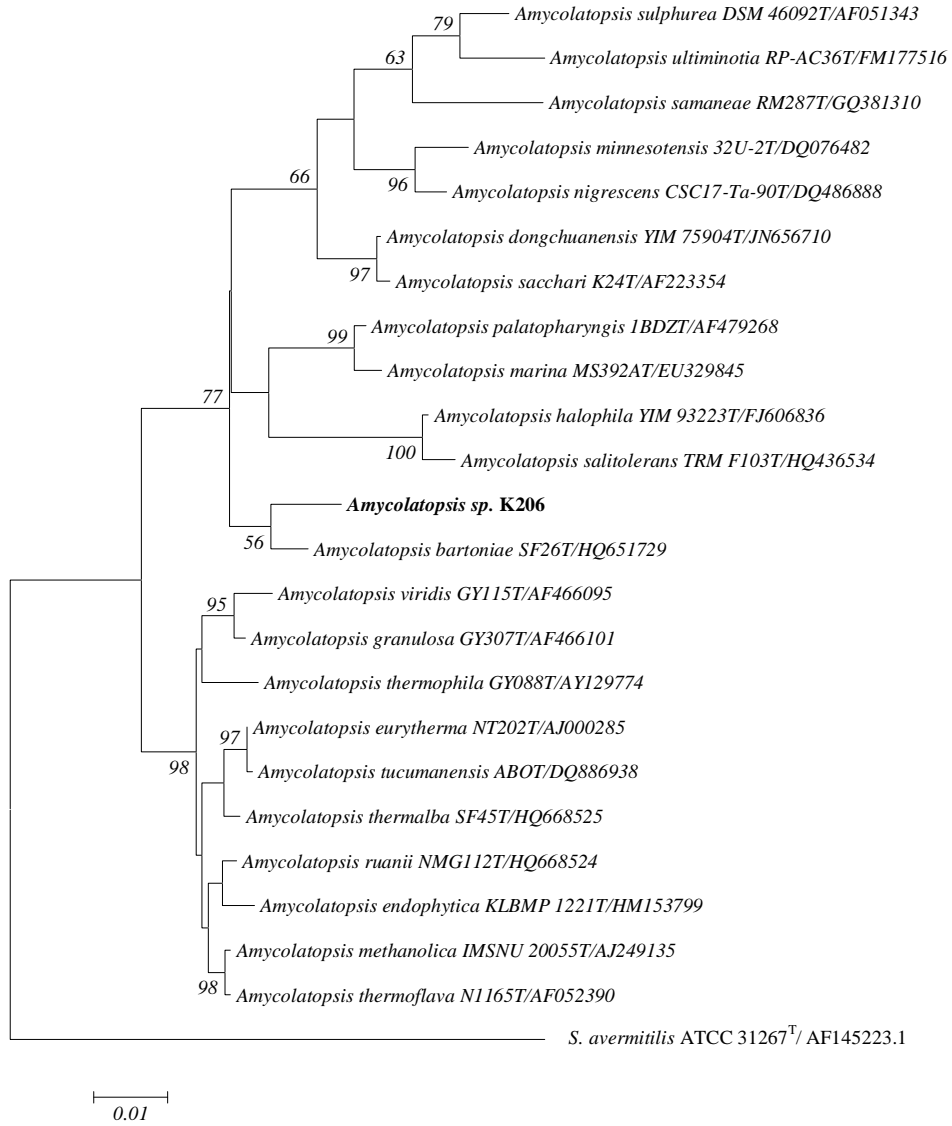
***Nocardia* sp. SM1342, SM1481 ve SM1318 suşlarının 16S rRNA geni baz dizisi**

GCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACAC
GAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCCTGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAACTGG
GTCTAATACCGGATATGACTACGGGATGCATGTCTTGTGGTGGAAAGATTTATCGGTGCAGGATGGGC
CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTGAGAG
GGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG
CACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCT
TTCGACAGGGACGAAGCGGAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGCTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTCGT
CGCGTTCGTTGAAAACCTACCGCTCAACGGTGGGCTTGCGGTCGATACGGGCGGACTAGAGTACTT
CAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAA
GGCGGGTCTCTGGGAAGTAACCTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCT
AACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATAC
ACCAGAAAGCTATAGAGATATAGCCCCCTTGTGGTTGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGC
TCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTATGTTGCCAGCGCGTT
ATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCA
TGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGT
GGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAG
TCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTC
ACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGGGAGCCGTCGAAGGT
GGGATTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

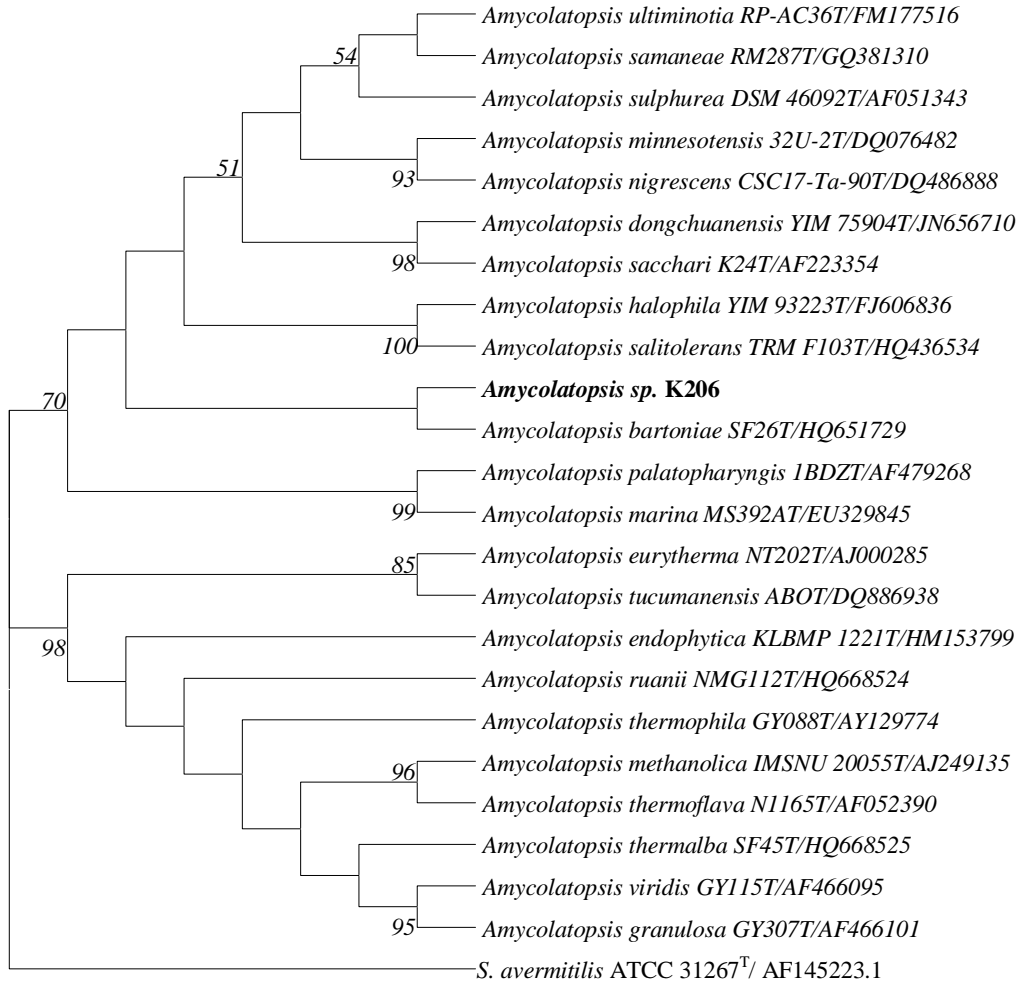
***Nocardia* sp. MD3440 suşunun 16S rRNA geni baz dizisi**

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGC
CCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCTCGCACTCTGGGATAA
GCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTTACATCGCATGGTGTFTGGTGGAAAGATTTATC
GGTGCAGATGGGCCCCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCTACCAAGGCGACGACGGGT
AGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC
AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCG
GGTTGTAAACCTCTTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCT
TGTAGGCGGCTTGTGCGTCGATCGTGAAAACCTGGGGCTCAACCCCAAGCTTGCGGTCGATACGGGC
AGGCTTGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGA
ACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGA
TCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGG
AATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACC
TGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAGATGTAGGCCCCCTTGTGGTCGGTGTACAGGTGGTGCA
TGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTAT
GTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTG
CGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACC
CCGTGAAGTTGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGGAGG
GAGCCGTGCAAGGTGGGATCGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

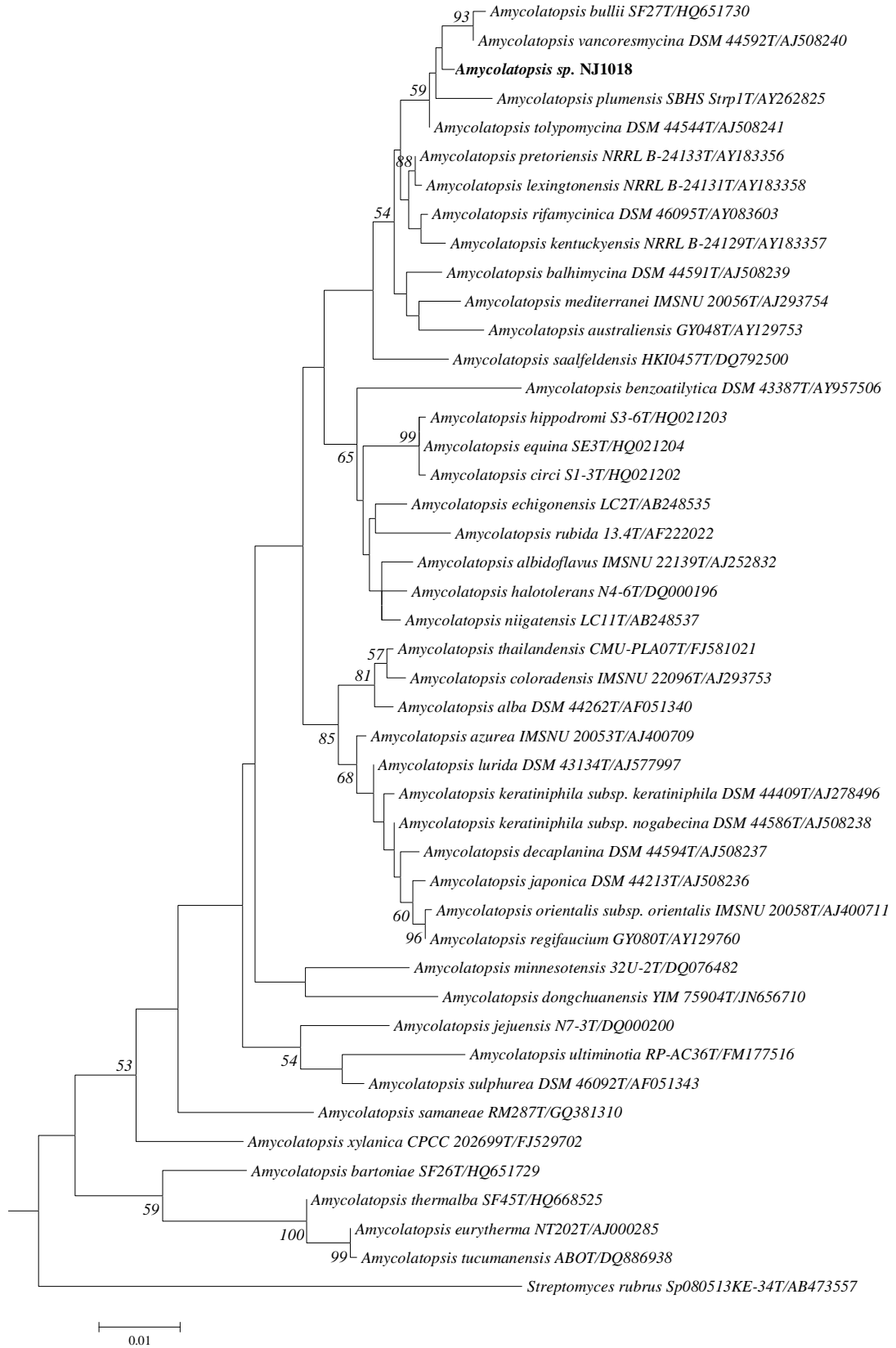
EK-C



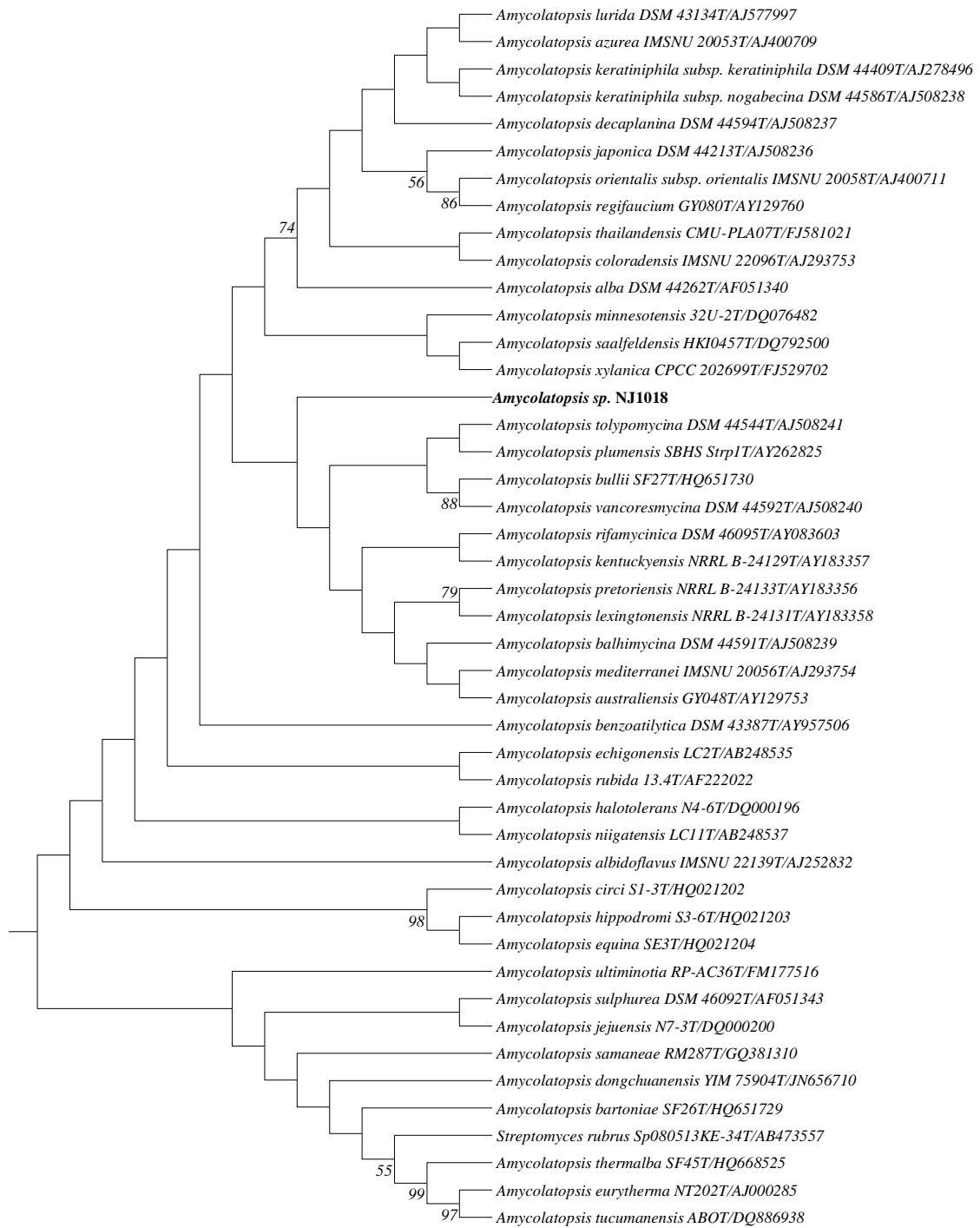
Şekil C.1: *Amycolatopsis* sp. K206 suşunun maximum likelihood dendrogramı



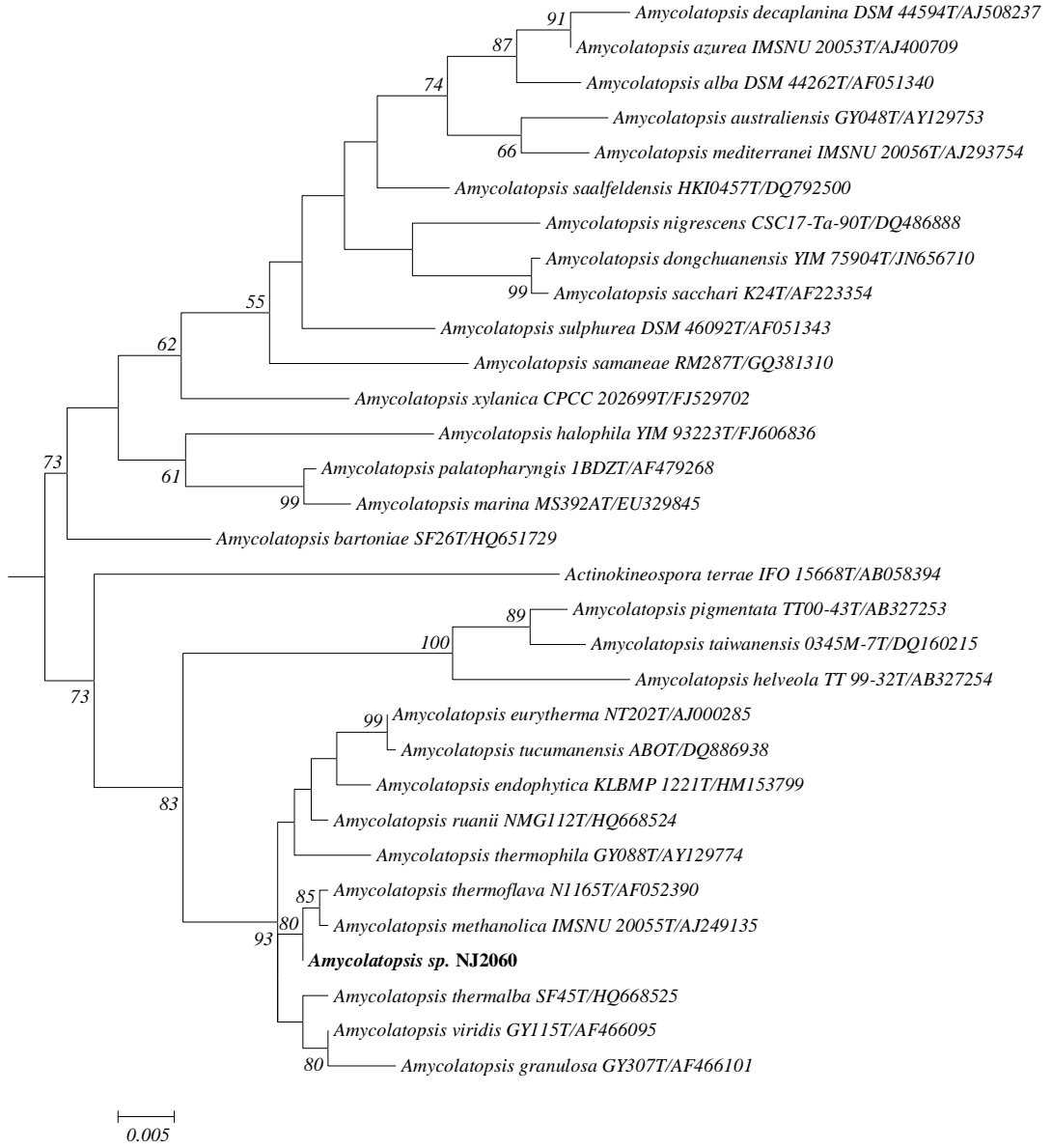
Şekil C.2: *Amycolatopsis* sp. K206 suşunun maximum parsimony dendrogramı



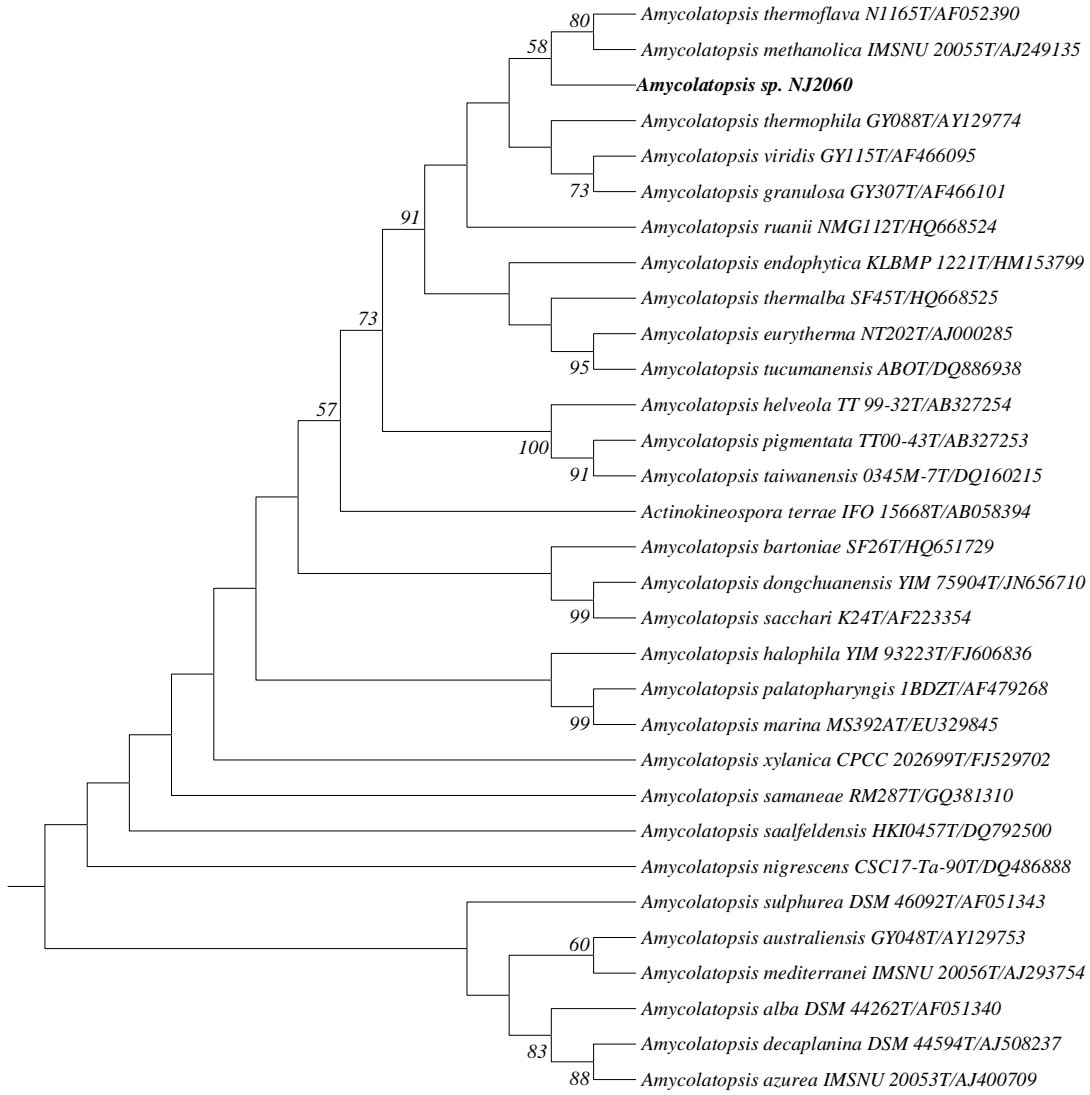
Şekil C.3: *Amycolatopsis* sp. NJ1018 suşlarının maximum likelihood dendogramı



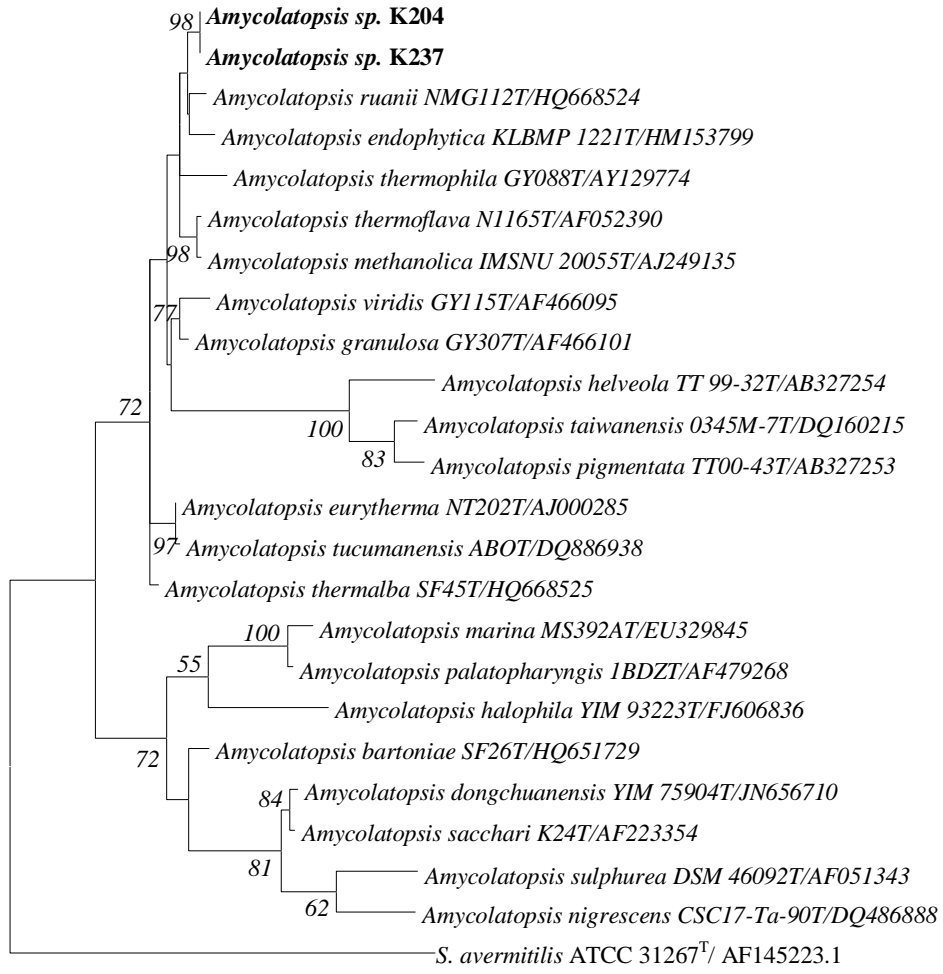
Şekil C.4: *Amycolatopsis* sp. NJ1018 maximum parsimony dendrogramı



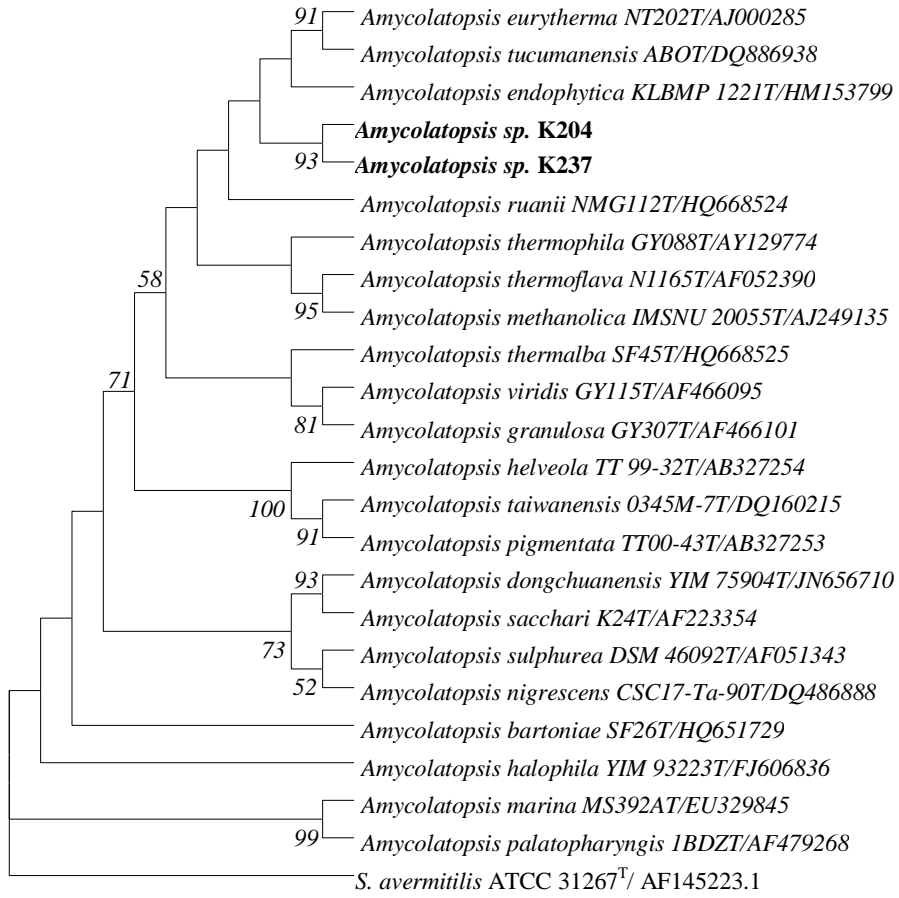
Şekil C.5: *Amycolatopsis* sp. NJ2060 suşunun maximum likelihood dendrogramı



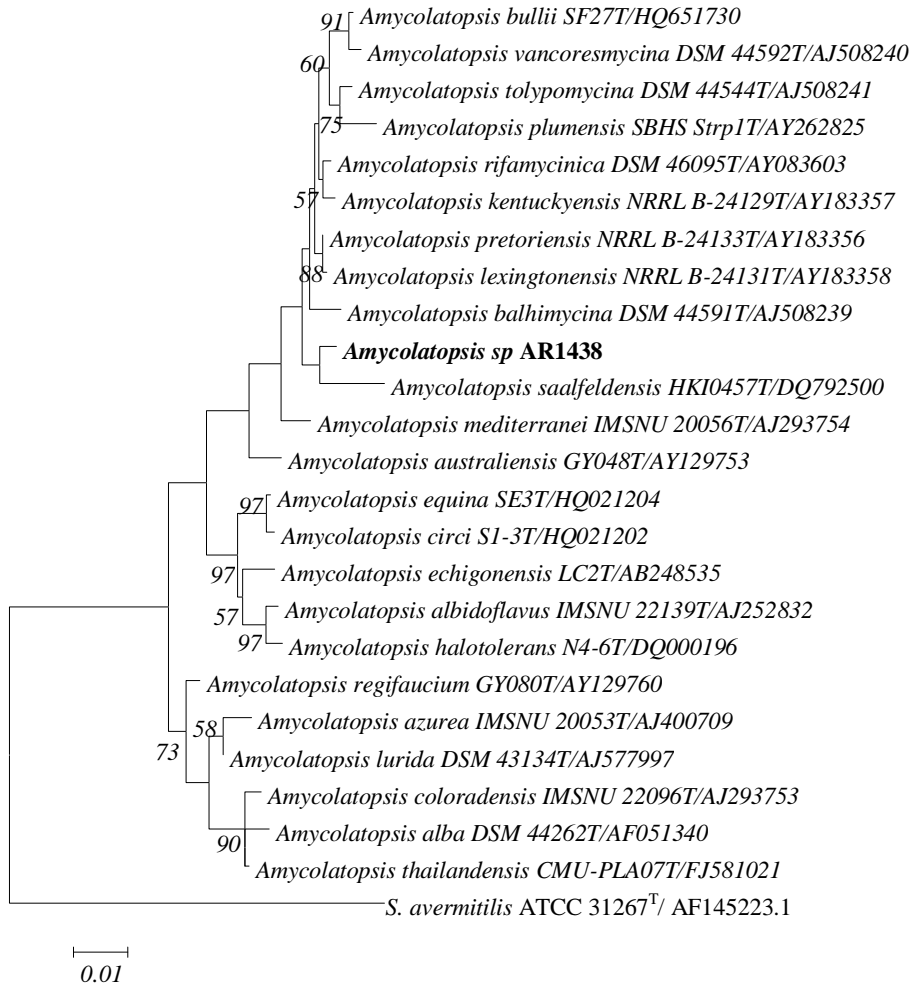
Şekil C.6: *Amycolatopsis* sp. NJ2060 suşunun maximum parsimony dendrogramı



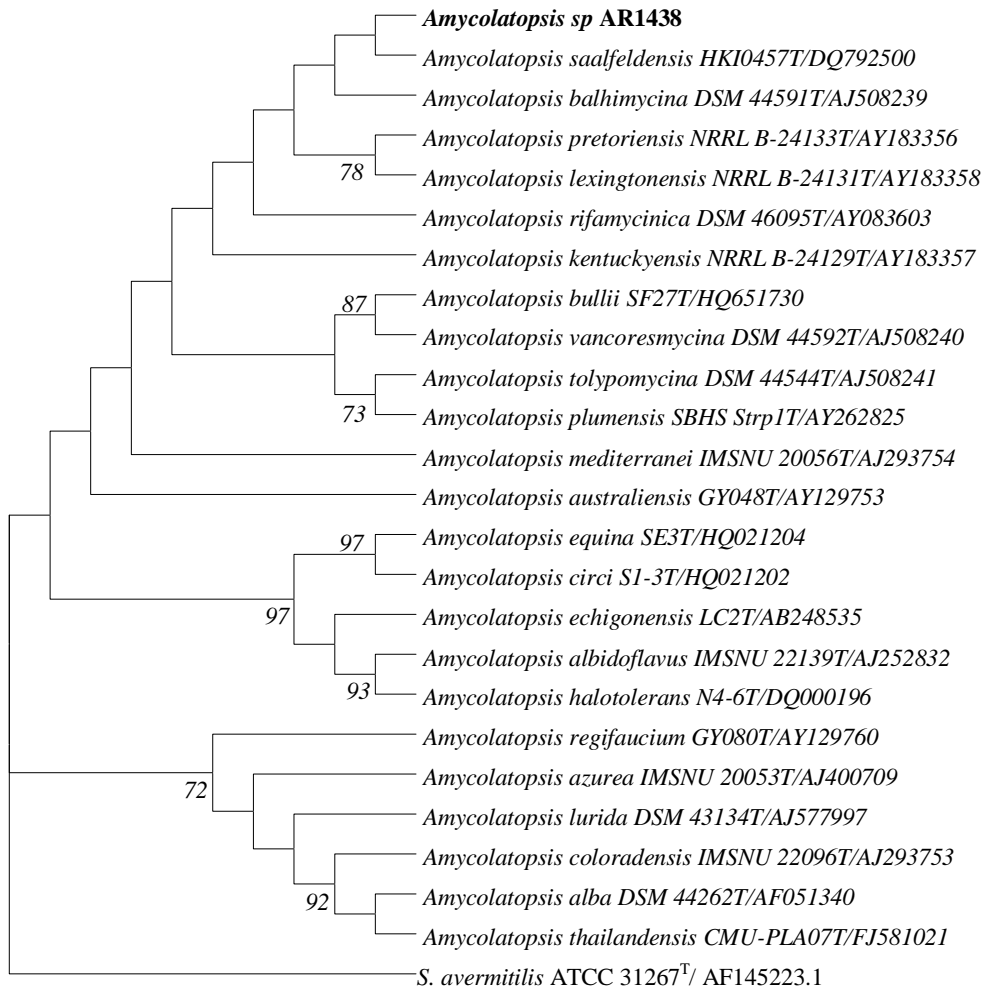
Şekil C.7: *Amycolatopsis sp. K204* ve *K237* suşlarının maximum dendogramı



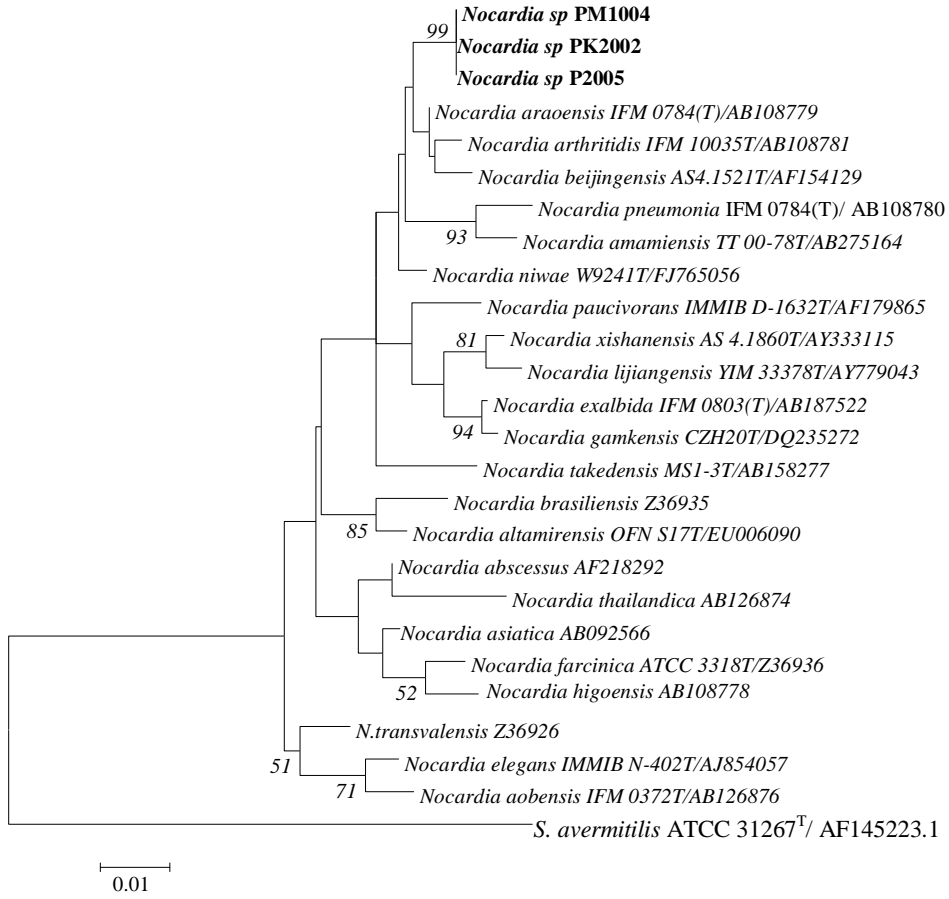
Şekil C.8: *Amycolatopsis* sp. K204 ve K237 suşlarının maximum parsimony dendrogramı



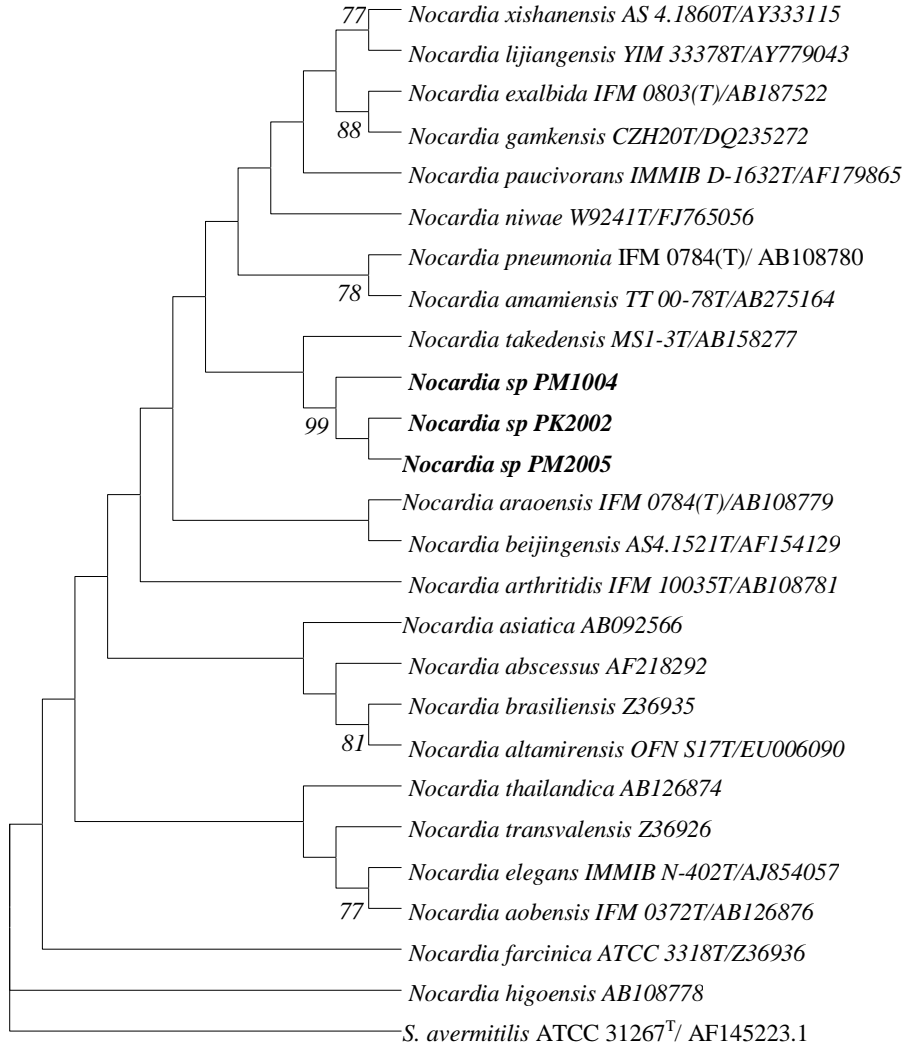
Şekil C.9: *Amycolatopsis* sp. AR1438 suşunun maximum likelihood dendrogramı



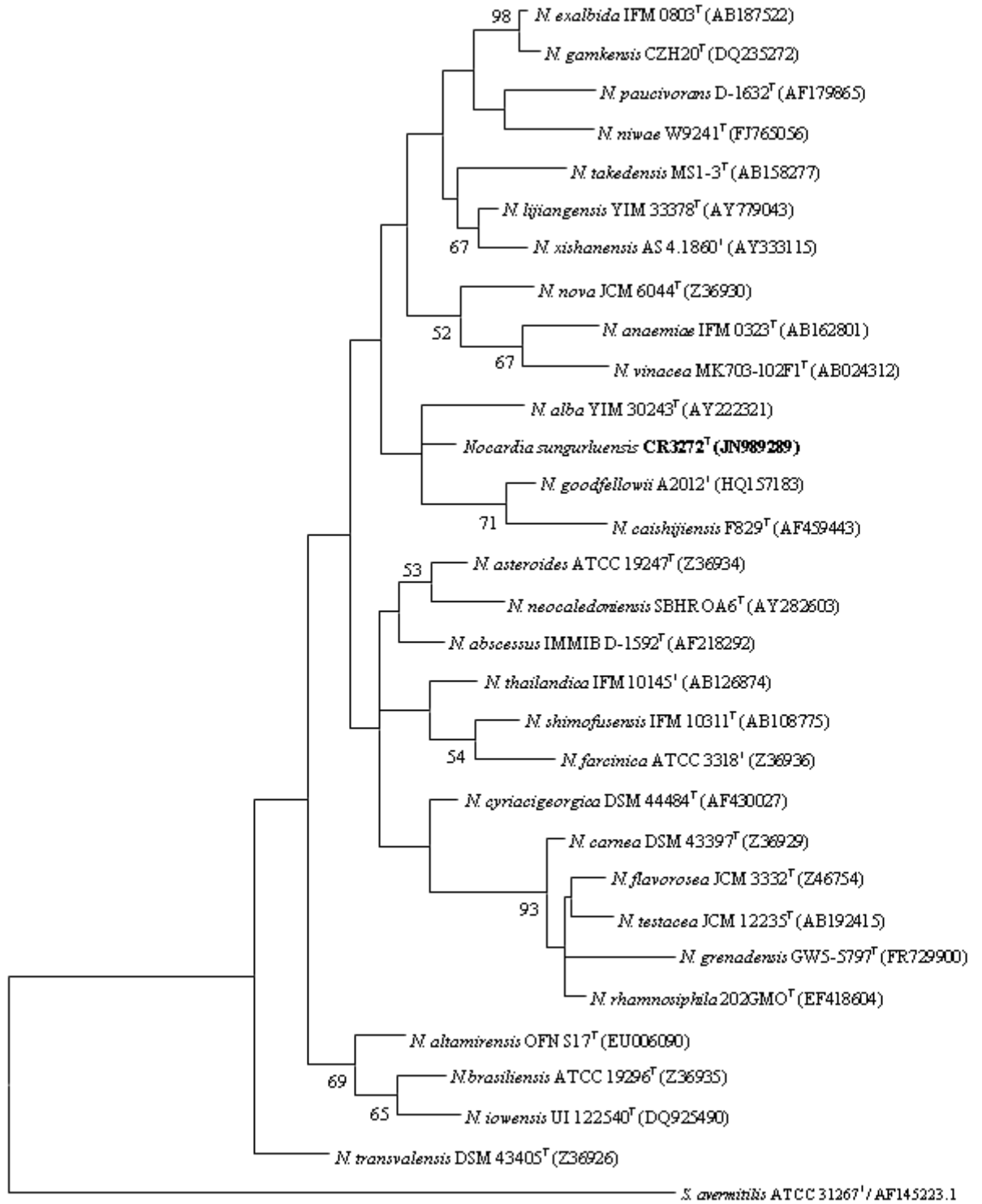
Şekil C.10: *Amycolatopsis sp. AR1438* suşunun maximum parsimony dendrogramı



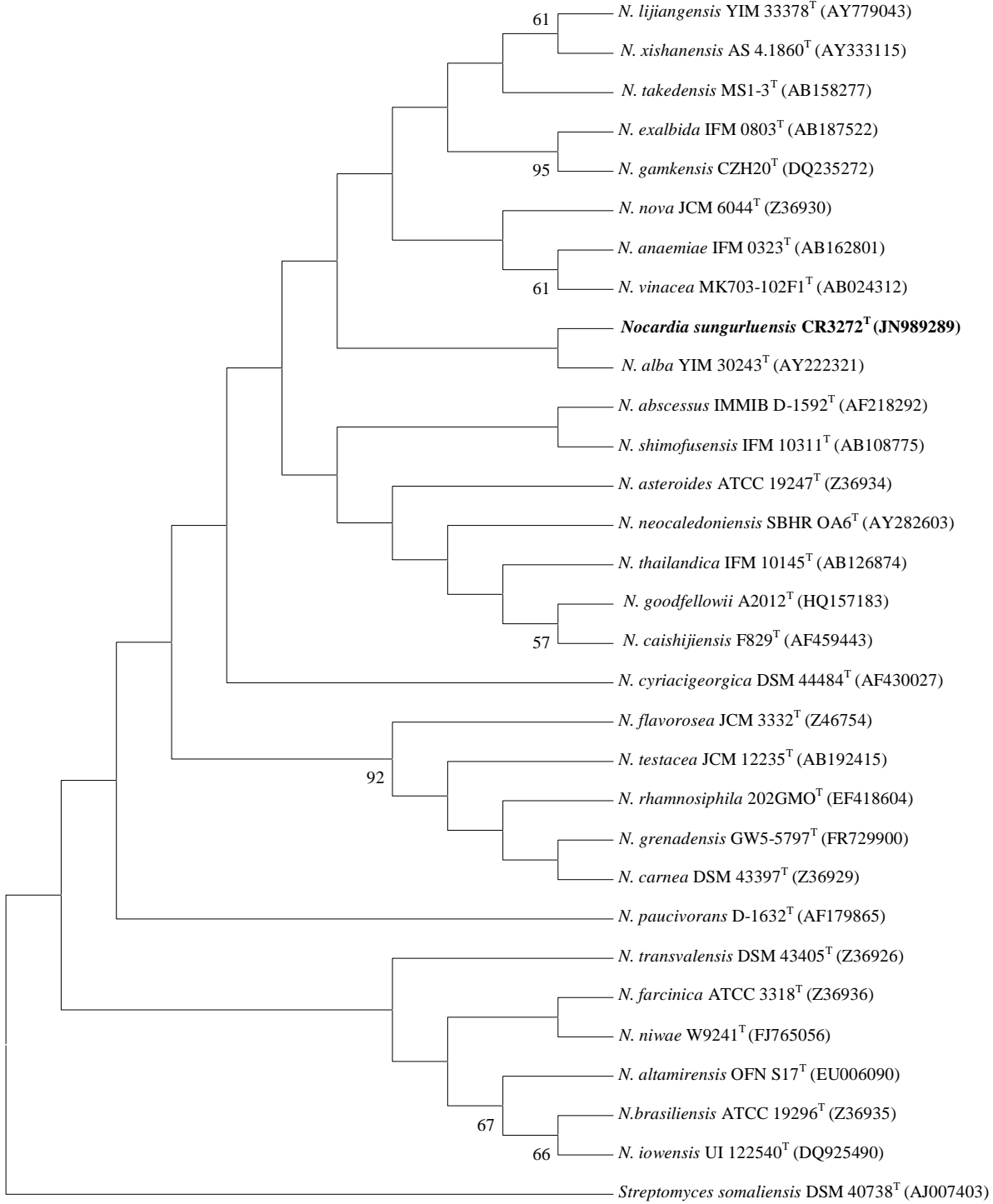
Şekil C.11: *Nocardia sp.* PM1004, PK2002 ve PM2005 suşlarının maximum likelihood dendogramı



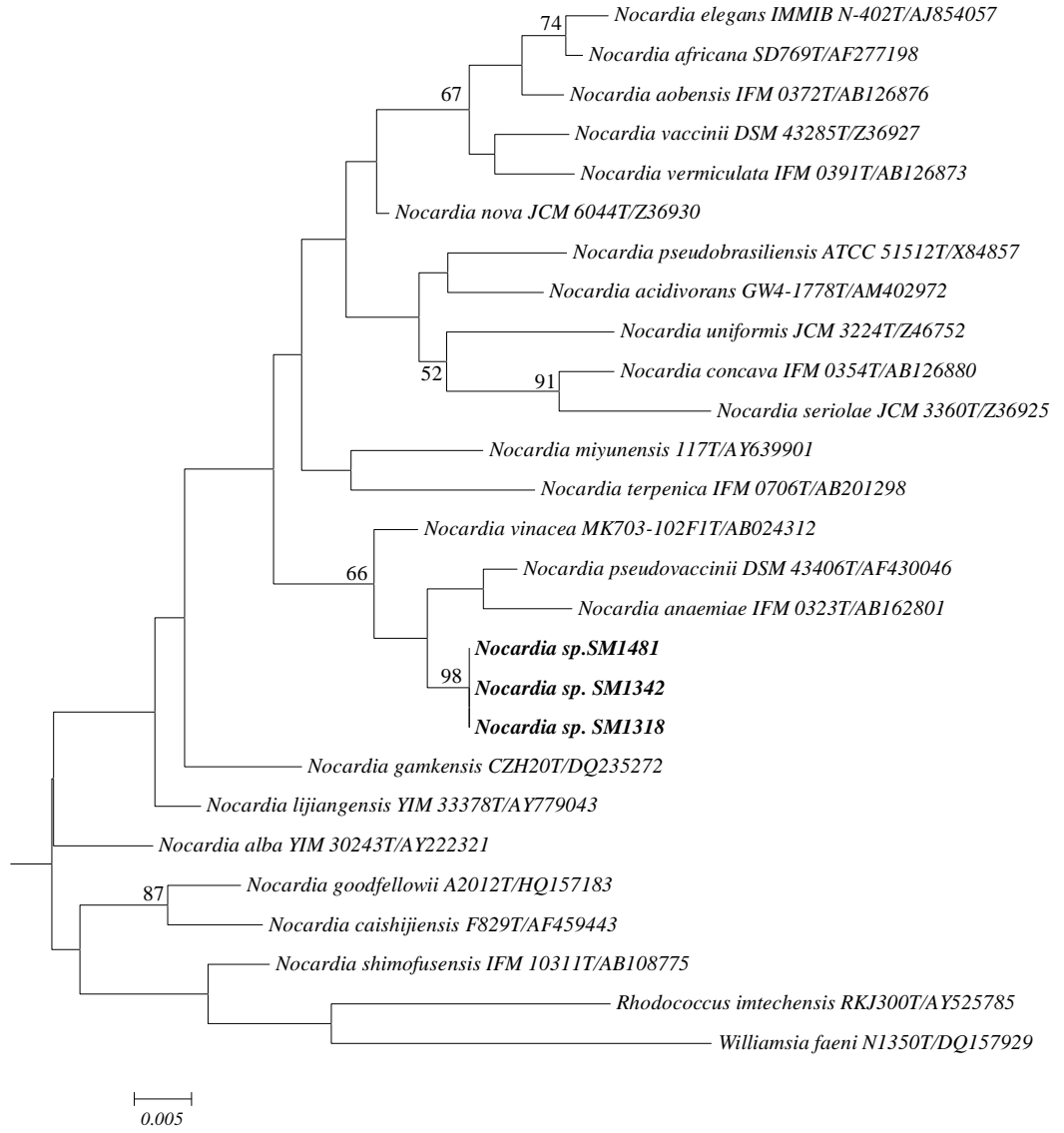
Şekil C.12: *Nocardia* sp. PM1004, PK2002 ve PM2005 suşlarının maximum parsimony dendrogramı



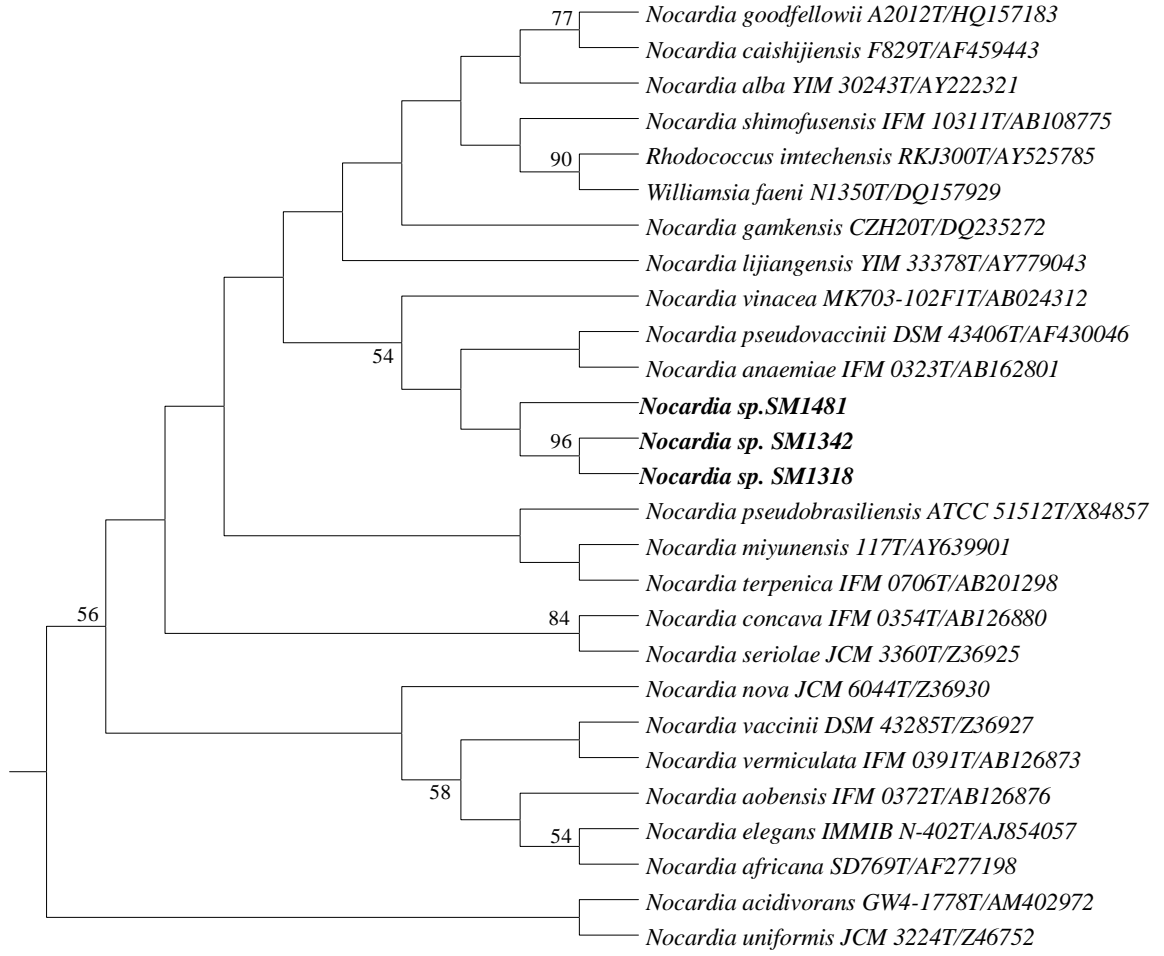
Şekil C.13: *Nocardia* sp. CR3272^T şusunun maximum likelihood dendogramı



Şekil C.14: *Nocardia* sp. CR3272^T suşunun maximum parsimony dendrogramı



Şekil C.15: *Nocardia* sp. SM1481, SM1342 ve SM1318 suşlarının maximum likelihood dendrogramı



Şekil C.16: *Nocardia* sp. SM1481, SM1342 ve SM1318 suşlarının maximum parsimony dendrogramı

EK D

Çizelge D.1: *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinslerine ait olmayan izolatların 16S rRNA benzerlik yüzdeleri

	İzolat No	En yakın akraba tip türü	16S rRNA Benzerliği	İzolasyon Besiyeri
1.	A4067	<i>Achromobacter xylosoxidans subsp. xylosoxidans DSM 10346(T)</i>	99,113	SM3
2.	A4076	<i>Actinomadura madura DSM 43067(T)</i>	99,841	SM3
3.	A8019	<i>Actinomadura madurae DSM 43067(T)</i>	99,239	SM3
4.	A2572	<i>Actinomadura maheshkhaliensis 13-12-50(T)</i>	99,454	SM2
5.	A4032	<i>Actinomadura maheshkhaliensis 13-12-50(T)</i>	99,591	SM3
6.	PM2091	<i>Actinomadura vinacea JCM 3325(T)</i>	98,749	SM2
7.	A4047	<i>Actinopolymorpha rutila YIM 45725(T)</i>	99,865	SM3
8.	CNBC1	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.850	SM1
9.	CNBC2	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.336	SM2
10.	KT1019	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.850	SM1
11.	KT1019A	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.918	SM1
12.	KT1019B	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.339	SM1
13.	KT1019C	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.339	SM1
14.	KT1019D	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.339	SM1
15.	KT1107	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.266	SM1
16.	KT2002	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.920	SM2
17.	KT2004	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.850	SM2
18.	KT2006	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.336	SM2
19.	KT2006A	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.336	SM2
20.	KT2006B	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.453	SM2
21.	KT2006C	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.841	SM2
22.	KT2015	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.336	SM2
23.	KT2015A	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.336	SM2
24.	KT2016	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.337	SM2
25.	KT2020	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.405	SM2
26.	KT2021	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.333	SM2
27.	KT2022	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.336	SM2
28.	KT2023	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.405	SM2
29.	KT2024	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.405	SM2
30.	KT2121	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	98.405	SM2
31.	KT2124	<i>Alloactinosynnema album 03-9939(T)</i>	97.989	SM2
32.	AR1397	<i>Arthrobacter gandavensis R5812</i>	99,446	SM1
33.	NJ1039	<i>Goodfellowiella coeruleoviolacea NRRL B-24058(T)</i>	99,455	SM1
34.	NJ2035	<i>Lechevalieria roselyniae C81(T)</i>	98,504	SM2
35.	AR1464	<i>Methylobacterium brachiatum B0021(T)</i>	99,647	SM1
36.	AR1463	<i>Methylobacterium brachiatum B0021</i>	99,596	SM1
37.	A0717	<i>Micrococcus yunnanensis YIM 65004(T)</i>	99,713	SM3

Çizelge D.1 (Devamı): *Amycolatopsis* ve *Nocardia* cinslerine ait olmayan izolatların 16S rRNA benzerlik yüzdeleri

38.	A7044	<i>Micromonospora chaiyaphumensis MC5-1(T)</i>	98,468	SM3
39.	KT3261	<i>Micromonospora chokoriensis 2-19/6(T)</i>	99,657	SM3
40.	A4025	<i>Micromonospora eburnea LK2-10(T)</i>	99,034	SM3
41.	PM3080	<i>M. purpureochromogenes DSM 43821(T)</i>	98,908	SM3
42.	PM3087	<i>Micromonospora echinaurantiaca DSM 43904(T)</i>	99,358	SM3
43.	A4065	<i>Micromonospora rosaria DSM 803(T)</i>	99,045	SM3
44.	A7046	<i>Micromonospora saelicesensis Lupac 09(T)</i>	99,795	SM3
45.	A9026	<i>Micromonospora saelicesensis Lupac 09(T)</i>	99,453	SM3
46.	A9027	<i>Micromonospora saelicesensis Lupac 09(T)</i>	99,453	SM3
47.	K226	<i>Micromonospora saelicesensis Lupac 09(T)</i>	99,248	SM2
48.	SV2184P	<i>Microvirga aerilata 5420S-16(T)</i>	97,979	SM2
49.	SV1470	<i>Microvirga flocculans TFB(T)</i>	98,105	SM1
50.	A4012	<i>Nonomuraea candida HMC10(T)</i>	99,147	SM3
51.	A4013	<i>Nonomuraea candida HMC10(T)</i>	99,147	SM3
52.	KT2421	<i>Nonomuraea kuesteri GW 14-1925(T)</i>	99,581	SM2
53.	K297	<i>Nonomuraea kuesteri GW 14-1925(T)</i>	99,758	SM2
54.	A4036	<i>Nonomuraea angiospora IFO 13155T</i>	99,000	SM3
55.	A4038	<i>Pseudonocardia halophobica DSM 43089(T)</i>	98,537	SM3
56.	KT2122	<i>Pseudonocardia petroleophila ATCC 15777(T)</i>	99,956	SM2
57.	KT2142	<i>Pseudonocardia zijingensis 6330(T)</i>	99,153	SM2
58.	PM2084	<i>Pseudonocardia zijingensis 6330(T)</i>	99,013	SM2
59.	MK3256	<i>Rhodococcus coprophilus DSM 43347(T)</i>	99,388	SM3
60.	MK3027	<i>Rhodococcus rhodochrous DSM 43241(T)</i>	99,253	SM3
61.	MK3008	<i>Rhodococcus rhodochrous DSM 43241(T)</i>	99,788	SM3
62.	MK2001	<i>Saccharothrix variispora NRRL B-16296(T)</i>	99,519	SM2
63.	MK2180	<i>Saccharomonospora cyanea NA134(T)</i>	99,523	SM2
64.	MK2194	<i>Saccharomonospora cyanea NA134(T)</i>	99,458	SM2
65.	MK3150	<i>Saccharomonospora cyanea NA134(T)</i>	99,25	SM3
66.	CR3506	<i>Saccharopolyspora spinosa DSM 44228(T)</i>	99,021	SM3
67.	A8023	<i>Streptomyces africanus CPJVR-H(T)</i>	99,562	SM3
68.	A5027	<i>Streptomyces ambofaciens ATCC 23877(T)</i>	99,584	SM3
69.	A9012S	<i>Streptomyces ambofaciens ATCC 23877(T)</i>	99,524	SM3
70.	A8025	<i>Streptomyces angustmycinicus NBRC 3934(T)</i>	99,864	SM3
71.	K294	<i>Streptomyces hawaiiensis NBRC 12784(T)</i>	99,59	SM2
72.	AR1396	<i>S.hygroscopicus subsp. glebosus NBRC 13786(T)</i>	99,932	SM1
73.	A4066	<i>Streptomyces iranensis HM 35(T)</i>	99,595	SM3
74.	A4066	<i>Streptomyces iranensis HM 35(T)</i>	99,595	SM3
75.	NIJ09	<i>Streptomyces lydicus NBRC 13058(T)</i>	99,876	SM3
76.	KT1010	<i>Streptomyces monomycini NBRC 100769(T)</i>	99,795	SM1
77.	A9011	<i>Streptomyces sioyaensis NRRL B-5408(T)</i>	99,875	SM3
78.	A9016	<i>Streptomyces sioyaensis NRRL B-5408(T)</i>	99,864	SM3
79.	ART11	<i>Streptomyces sioyaensis NRRL B-5408(T)</i>	99,864	SM3
80.	A3006	<i>Streptomyces sporoclivatus NBRC 100767(T)</i>	99,863	SM3
81.	A3014	<i>Streptomyces sporoclivatus NBRC 100767(T)</i>	99,317	SM3
82.	K431	<i>Streptomyces sporoclivatus NBRC 100767(T)</i>	100	SM3
83.	A4062	<i>Streptomyces violaceus NBRC 13103(T)</i>	99,317	SM3
84.	A8017	<i>Streptomyces violaceus NBRC 13103(T)</i>	100	SM3
85.	K295	<i>Streptomyces xantholiticus NBRC 13354(T)</i>	99,242	SM2
86.	A4044	<i>Streptomyces yogyakartensis NBRC 100779(T)</i>	100,00	SM3
87.	K429	<i>Streptomyces yogyakartensis NBRC 100779(T)</i>	99,567	SM3

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Mustafa ÇAMAŞ

Doğum Yeri ve Tarihi: Samsun / 1980

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

E-Posta: mustafacamas@gmail.com

Lisans: Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü-2002

Yüksek Lisans: Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri
Enstitüsü-2006

Mesleki Deneyim: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Araştırma
Görevlisi, 2009-2013.

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR

- Sazak A., Sahin N., Camas M., 2012. *Nocardia goodfellowii* sp. nov. and *Nocardia thraciensis* sp. nov., isolated from soil in Turkey. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 1228–1234.
- Camas M., Sahin N., Sazak A., Spröer C., Klenk H. P., 2013. *Amycolatopsis magusensis* sp. nov., isolated from Northern Cyprus soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 1254–1260.
- Camas M., Sahin N., 2013. *Nocardia sungurluensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, IJSEM paper no. IJS/2013/051334.