

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜNE DÖKÜLEN AKARSULARDAN *STREPTOMYCES*  
TÜRLERİNİN İZOLASYONU TEŞHİSİ VE MOLEKÜLER TANISI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Hamdullah SEÇKİN  
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Kerem ÖZDEMİR

VAN – 2018



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜNE DÖKÜLEN AKARSULARDAN *STREPTOMYCES*  
TÜRLERİNİN İZOLASYONU TEŞHİSİ VE MOLEKÜLER TANISI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Hamdullah SEÇKİN

Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı Tarafından **2017-FDK-5054** Nolu Proje ile  
Desteklenmektedir.

VAN – 2018



## KABUL VE ONAY SAYFASI

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde Dr. Öğr. Üyesi Kerem ÖZDEMİR danışmanlığında, Hamdullah SEÇKİN tarafından sunulan “**Van Gölüne Dökülen Akarsulardan *Streptomyces* Türlerinin İzolasyonu Teşhisi Ve Moleküler Tanısı**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 04/05/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/ oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. H. Halil BIYIK

İmza:

Üye : Prof. Dr. Musa TÜRKER

İmza:

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Erdal ÖĞÜN

İmza:

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsmail YILDIZ

İmza:

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Kerem ÖZDEMİR

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../20 tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Enstitü Müdürü



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Hamdullah SEÇKİN







## ÖZET

### VAN GÖLÜNE DÖKÜLEN AKARSULARDAN *STREPTOMYCES* TÜRLERİNİN İZOLASYONU TEŞHİSİ VE MOLEKÜLER TANISI

SEÇKİN, Hamdullah

Doktora Tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Kerem ÖZDEMİR

Mayıs 2018, 163 Sayfa

Bu çalışmada Van Gölü'ne dökülen akarsulardan alınan sediment örneklerinden *Streptomyces* türlerinin izolasyonu, teşhisi ve moleküler tanısı amaçlanmıştır. Van Gölü'ne dökülen akarsulardan toplamda 24 sediment örneği alınmıştır. Daha sonra örneklerin nem ve pH oranları tespit edilmiştir. Alınan örneklerden *Streptomyces* bakterilerinin izolasyonu yapılarak, bakterilerin saf kültürleri elde edilmiştir. Bu işlem sonucunda 179 *Streptomyces* bakterisi izole edilmiştir. Bütün bakterilere başta renk gruplandırması, degradesyon, azot kaynakları, karbon kaynakları, antibiyogram ve antimikrobiyal testler olmak üzere 77 test uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar IDENTAX Bacterial Identifier 1.2 programına aktarılıp bakterilerin benzerlik oranları tespit edilerek bilgisayar yardımı ile teşhis yapılmıştır. Majör testlerin sonuçlarına göre türlerin % 18.43'ü ve minör testlerin sonuçlarına göre türlerin %35.75'i %95 ve üzerinde benzerlik göstermiştir. Test sonuçları MVSP 3.2 bilgisayar programına girilerek benzerlik dendogramları oluşturulmuştur. Bu sonuçlara göre yedi minör, dört majör grup ve 16 tekli üye oluşmuştur. Ayrıca renk grubuna göre tespit edilen 7 türün taramalı elektron mikroskobu ile spor zincir morfolojisi tespit edilmiştir. 11 *Streptomyces* bakterisinin 16S rDNA gen bölgeleri PCR ve elektroforez işlemine tabii tutulduktan sonra sekans analizi yapılmıştır. Elde edilen diziler NCBI-GENBANK yardımıyla benzer dizilere sahip türler ile kıyaslanmıştır. 16S rDNA bölgeleri kıyaslanan bu türler MEGA 7 programına girilerek Maksimum Likelihood filogenetik ağacı oluşturulmuş ve türlerin filogenetik pozisyonları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre izolatlar ve benzerlik gösterdikleri türler kıyaslandığında % 97.82 ile %100 arasında benzerlik oranlarının olduğu görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Akarsu, *Streptomyces*, Van Gölü, 16S rDNA.



## ABSTRACT

### DIAGNOSIS OF INSULATION AND MOLECULAR DIAGNOSIS OF STREPTOMYCES WHICH OBTAINED FROM STREAMS FLOWING INTO VAN LAKE

SECKIN, Hamdullah

PhD Thesis, Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Kerem ÖZDEMİR

May 2018, 163 Page

In this study, isolation, identification and molecular diagnosis of *Streptomyces* species were aimed from the sediment samples taken from streams pouring into Van Lake. A total of 24 sediment samples were collected from the streams poured into Van Lake. *Streptomyces* bacteria were isolated from the samples and pure cultures of bacteria were obtained. This resulted in the isolation of 179 *Streptomyces* bacteria. A total of 77 tests were applied to all the bacteria, mainly color grouping, degradation, nitrogen sources, carbon sources, antibiotics and antimicrobial tests. The obtained results were transferred to IDENTAX Bacterial Identifier 1.2 program and the similarity ratios of the bacteria were determined and diagnosed with the help of computer. According to the results of the major tests, 18.43 % of the species and 35.75 % of the species according to the results of the minors were 95 % and more similar. Test results were entered into MVSP 3.2 computer program and similarity dendograms were created. According to these results, seven minors, four major groups and 16 single members were formed. In addition, sports chain morphology was detected by scanning electron microscopy, which was determined according to color group. 11 Sequence analysis was performed after PCR and electrophoresis of the 16S rDNA gene regions of *Streptomyces* bacterium. Obtained sequences were compared with species with similar sequences with the help of NCBI-GENBANK. Compared to the 16S rDNA regions, these species were introduced into the MEGA 7 program and a maximum Likelihood phylogenetic tree was established and the phylogenetic positions of the species were determined. According to the results obtained, it was seen that the similarities between 97.82 % and 100 % were obtained when the isolates and the species that they represent are compared.

**Keywords:** Stream, *Streptomyces*, Van Lake, 16S rDNA.



## ÖN SÖZ

Bilim dünyası, pek çok alanda olduğu gibi Moleküler Biyoloji ve Genetik alanında da çok hızlı ilerlemektedir. Bu konjüktüre ayak uydurmak bilim insanları için kaçınılmaz bir durumdur. Bilim ve teknolojinin sunduğu imkânların bilimsel etik sınırları içerisinde, sadece insanlara değil, canlılara ve doğaya katkı sağlaması yönünde kullanılması bir zorunluluk haline gelmiştir. Birlikte yaşadığımız canlıların doğadaki rollerini bilmek, yaşamak için geliştirdikleri adaptasyonların düzeyini anlamak, bir parçası olduğumuz yeryüzünün gizemine bir nebze olsun ışık tutabilecektir. Bu bağlamda yaptığımız çalışmada Van Gölü'ne dökülen ana akarsulardan aldığımız örneklerden bilimsel olarak önemli bir yere sahip olan *Streptomyces* bakterilerinin izolasyonu, teşhisi ve moleküler tanısını gerçekleştirdik.

Çalışma konusunun belirlenmesinde ve olgunlaşmasında, Laboratuvar çalışmaları başladıktan sonra karşılaştığımız zorlukların aşılmasında tavsiye ve yönlendirmeleri ile her zaman destek olan danışman hocam Dr. Öğr. Ü. Kerem ÖZDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları başta olmak üzere her zaman fikirleri, deneyimleri ve yardımseverliği ile çalışmanın olgunlaşmasına katkı sağlayan hocam Dr. Öğr. Ü. Erdal ÖĞÜN'e teşekkür ederim. Doktoramın başlangıcından itibaren çalışmalarımın her aşamasında çok önemli katkıları olan ve her zaman düşüncelerine başvurduğum saygıdeğer arkadaşım Dr. Metin ERTAŞ'a teşekkürü borç bilirim. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı Prof. Dr. İsmail ÇELİK ve Dr. Öğr. Ü. İsmail YILDIZ olmak üzere tüm Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü ve Biyoloji Bölümü öğretim üyelerine ve bu süreçte desteğini esirgemeyen Ömrüye ÖZOK, Dilara Hande ÜNAL, Nevroz ASLAN, Zeki ACAR, Fethi BARLIK ve Arş. Gör. Neşe ERAY'a teşekkür ederim.

Her zaman maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Annem, babam ve çocuklarıma, başta manevi ve psikolojik olmak üzere desteğini esirgemeyen ve hep yanımda olan eşim Feride SEÇKİN'e çok teşekkür ederim.

Ve emeği geçen herkese, teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, **Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına** **2017-FDK-5054** nolu proje ile bu çalışmaya verdiği desteğinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

2018

Hamdullah SEÇKİN



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
ÖN SÖZ .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ .....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiii
EKLER .....	xv
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞİ .....	3
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	25
3.1. Materyal .....	25
3.2. Yöntem .....	25
3.2.1. Sediment örneklerinin pH ve nem oranlarının belirlenmesi .....	25
3.2.2. <i>Streptomyces</i> türlerinin izolasyonu ve saflaştırılması .....	27
3.2.3. Renk gruplandırması .....	28
3.3. <i>Streptomyces</i> Bakterilerinin Taksonomi ve Tanısı İçin Uygulanan Testler ..	28
3.3.1. Morfolojik karakterler .....	29
3.3.2. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları .....	30
3.3.3. Antibiyotik duyarlılık testleri .....	30
3.3.4. Degredasyon aktiviteleri .....	30
3.3.5. Fizyolojik ve kimyasal inhibitör testleri .....	31
3.3.6. Lipolizis testi .....	31
3.3.7. Pektin hidrolizi .....	31
3.3.8. Azot kaynakları testleri .....	32
3.3.9. Karbon kaynakları testleri .....	32
3.4. Nümerik Taksonomik Analiz .....	33
3.5. Spor Zincir Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu ile Belirlenmesi	33
3.6. Bilgisayar Yardımı ile Tanı Çalışması .....	34

3.7. Moleküler taksonomik çalışma .....	34
3.7.1. Test suşlarının kaynağı ve büyütülmeleri .....	34
3.7.2. Genomik DNA izolasyonu .....	35
3.7.3. 16S rDNA geninin PCR ile çoğaltılması ve saflaştırılması .....	37
3.7.4. 16S rDNA geninin baz dizilerinin saptanması .....	39
3.7.5. 16S rDNA baz dizilerinin analizi .....	40
4. BULGULAR .....	41
4.1. Sediment Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri .....	41
4.2. Numunelerden İzolasyon Çalışması Sonuçları .....	42
4.3. Renk Gruplandırması .....	47
4.4. Nümerik Taksonomi .....	52
4.4.1. Antimikrobiyal aktivite .....	52
4.4.2. Antibiyotik duyarlılığı .....	54
4.4.3. Degradasyon aktivite testleri .....	56
4.4.4. Büyüme testleri .....	56
4.4.5. Lipolizis testi .....	57
4.4.6. Pektin hidrolizi .....	57
4.4.7. Azot kaynaklarının kullanımı .....	57
4.4.8. Karbon kaynaklarının kullanımı .....	58
4.4.9. Nümerik analiz sonuçları .....	58
4.5. Bilgisayar Yardımıyla Yapılan Tanı Sonuçları .....	61
4.6. Spor Zincir Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu ile Belirlenmesi .....	65
4.7. Genomik DNA İzolasyonu .....	69
4.8. 16S rDNA'nın PCR Amplifikasyonu .....	69
4.9. 16S rRNA Gen Bölgesinin Analizi .....	69
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	73
5.1. İzolasyon .....	73
5.2. Nümerik Taksonomi ve Bilgisayar Yardımı ile Tanı .....	75
5.3. Tanı .....	77
KAYNAKLAR .....	83
EKLER .....	95
ÖZ GEÇMİŞ .....	139



## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bazı <i>Streptomyces</i> bakterilerinin sekonder metabolizma ürünleri ve biyolojik aktiviteleri .....	13
Çizelge 3.1. <i>Streptomyces</i> izolasyonu için toplanan sedimant numunelerinin lokaliteleri ve alınış tarihleri .....	26
Çizelge 3.2. <i>Streptomyces</i> suşlarının nümerik taksonomi ve teşhisi için yapılan testler .....	29
Çizelge 3.3. Elektron Mikroskopunda Spor Zincir Morfolojisinin belirlenmesi için kullanılan suşlar .....	33
Çizelge 3.4. DNA çalışmaları için seçilen test organizmaları .....	34
Çizelge 3.5. PCR cihazında her bir örnek için gerekli olan madde miktarları ...	38
Çizelge 4.1. Numunelerin alındığı bölgelerin pH ve nem oranları .....	42
Çizelge 4.2. İzolasyon sonucu farklı besiyerlerinde çoğalan mikroorganizma sayıları .....	45
Çizelge 4.3. Oatmeal Agar besiyerine ekim yapılan <i>Streptomyces</i> izolatlarının 27°C'de 14 gün gelişimi sonucu oluşan renk grupları.....	47
Çizelge 4.4. Degredasyon aktivitesi için besiyerlerine eklenen maddeler ve oranları .....	56
Çizelge 4.5. UPGMA dendogramında % 87 benzerlik oranına göre oluşan küme sayısı ve izolatların dağılımı .....	61
Çizelge 4.6. Suşların Majör ve Minör testler sonucu benzerlik gösterdiği türler ve oranları .....	62
Çizelge 4.7. <i>Streptomyces</i> suşlarının IDENTAX 1.2 programı yardımıyla elde edilen teşhis sonuçları.....	62
Çizelge 5.1. <i>Streptomyces</i> suşları için uygulanan teşhis programları ve tespit edilen sonuçların karşılaştırılması.....	80



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Nümerik taksonomik analizler için temel basamakları .....	19
Şekil 3.1. Van Gölü Havzası'nda sediment alınan akarsuların belirtildiği harita	25
Şekil 4.1. Örneklerin alındığı lokalitelerden bazı görüntüler .....	41
Şekil 4.2. <i>Streptomyces</i> bakterileri dahil diğer mikroorganizmalarında çoğaldığı besiyeri görüntüleri .....	43
Şekil 4.3. <i>Streptomyces</i> bakterilerinin saflaştırma görüntüleri .....	44
Şekil 4.4. Bennet's Agar'da meydana gelen toplam kolonilerin <i>Streptomyces</i> bakterilerine oranları .....	45
Şekil 4.5. SM3 Agar'da meydana gelen toplam kolonilerin <i>Streptomyces</i> bakterilerine oranları .....	46
Şekil 4.6. Medium 65'te meydana gelen toplam kolonilerin <i>Streptomyces</i> bakterilerine oranları .....	46
Şekil 4.7. Oatmeal Agar Besiyerine ekilen izolatlardan elde edilen bazı görüntüler .....	52
Şekil 4.8. Antimikrobiyal aktivite sonrası elde edilen bazı görüntüler .....	53
Şekil 4.9. Antibiyotik duyarlılığı testleri sonucu elde edilen bazı görüntüler .....	55
Şekil 4.10. Biyokimyasal testler sonucu elde edilen bazı görüntüler .....	59
Şekil 4.11. UPGMA Dendogram .....	60
Şekil 4.12. HS002 nolu izolatın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü .....	66
Şekil 4.13. HS012 nolu izolatın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü .....	66
Şekil 4.14. HS025 nolu izolatın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	67
Şekil 4.15. HS112 nolu izolatın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü .....	67

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.16. HS056 nolu izolatin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	68
Şekil 4.17. HS069 nolu izolatin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü .....	68
Şekil 4.18. 16S rDNA analizi sonucunda MEGA 7 programı ile oluşturulan Maksimum Likelihood (ML) filogenetik ağacı .....	71



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklamalar</b>
$\mu$	Mikron
bç	Baz çifti
S <sub>SM</sub>	Simple matching coefficient
SJ	Jaccard coefficient
Pi	Test hatası oranı
Si	Test varyansı
kDa	Kilodalton
g	Gram
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
Mm	Milimolar
nm	Nanometre
nt	Nükleotit
$\mu$ g	Mikrogram
°C	Santigrat Derece
sp.	Tür (tek)
spp.	Türler
subsp.	Alttür
$\mu$ M	Mikromolar
$\mu$ l	Mikrolitre
A	Adenin
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
C	Sitozin

**Kısaltmalar****Açıklamalar**

<b>DDH</b>	DNA-DNA Hibridizasyonu
<b>ddH<sub>2</sub>O</b>	Deiyonize distile su
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>dNTP</b>	Deoksiribonükleotid Trifosfat
<b>DSMZ</b>	Alman Kültür Koleksiyonu
<b>EDTA</b>	Etilendiamin-Tetra-Asetik Asit
<b>G</b>	Guanin
<b>ISP</b>	International <i>Streptomyces</i> Project
<b>OTU</b>	Operational Taxonomic Units
<b>PFGE</b>	Pulsed Field Gel Electrophoresis
<b>PZR (PCR)</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RAPD</b>	Random amplified polymorphic DNA
<b>rRNA</b>	Ribozomal RNA
<b>SEM</b>	Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>T</b>	Timin
<b>TBE</b>	Tris-Borik Asit-EDTA Buffer
<b>TE</b>	Tris-EDTA Buffer
<b>UPGMA</b>	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages

## EKLER DİZİNİ

<b>Ekler</b>		<b>Sayfa</b>
<b>Ek 1.</b>	Besiyerleri .....	95
<b>Ek 2.</b>	Çözeltiler .....	99
<b>Ek 3.</b>	IDENTAX Bacterial Identifier 1.2 .....	103
<b>Ek 4.</b>	İzole Edilen Streptomyces Türlerine Uygulanan Test Sonuçları ...	104
<b>Ek 5.</b>	16S rDNA Gen Dizleri .....	132







## 1.GİRİŞ

Geçmişten günümüze canlılardaki biyolojik çeşitlilik her zaman merak uyandırmıştır. Yeni bir canlı türünün keşfi özellikle metabolik, biyokimyasal ve genetik açıdan bilim insanları tarafından detaylı incelemelere tabii tutulduktan sonra bu metabolizma tarafından üretilen yapılar veya bu yapıları üreten genler yeryüzündeki yaşam kalitesinin artırılmasına katkı sağlamak üzere kullanılmaktadır. Bu anlamda yeni keşfedilecek hayvan, bitki, mantar ve protist canlıların yanı sıra bakterilerinde bilim dünyası için çok büyük bir önem arz ettiği bilinmektedir. Yeryüzündeki bakteriyel çeşitlilik, özellikle antibiyotik dirençliliği geliştiren bakteri sayısının artmasından sonra yeni antibiyotik keşfi veya bakterilerdeki direnç mekanizmasını inhibe edici sistemlerin ortaya çıkarılmasını zorunlu kılmıştır.

Bakteri tanısında başta mikrobiyolojik ve biyokimyasal olmak üzere pek çok test uygulanmaktadır. Bununla beraber son yıllarda moleküler biyolojik yöntemler ve genetik alanında ortaya çıkan teknolojik gelişmeler bu alanda yapılacak olan çalışmalara pozitif yönde büyük bir katkı sağlamıştır. Bakterilerin doğal ürünleri başta sağlık olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. *Streptomyces* türlerinin bilim dünyasındaki yeri bu bakterilerin tanısını önemli kılmaktadır.

Genellikle yaşam alanları toprak olan *Streptomyces* bakterileri selüloz, lignin, kitin gibi doğal polimerlerin degradasyonunda ve döngüsünde rol alan mikrobiyal topluluğun önemli bir bileşeni olmalarının yanı sıra (Semêdo ve ark., 2004), yapısal olarak farklı ve biyolojik olarak aktif çok sayıda bileşiğin kaynağı olarak biyoteknolojik açıdan da önemli bir potansiyele sahiptir (Semêdo ve ark., 2004).

*Streptomyces* türleri Gram-pozitif, aerobik, katalaz pozitif, asit-fast olmayan, G+C oranı yüksek iyi bilinen saprofitik bakterilerdir. Bu mikroorganizmalar tabiatta çok farklı habitatlarda yer almakla birlikte en fazla toprakta bulunurlar. *Streptomyces*'ler çoğu bakteri türünde görülmeyen hücresel bir forma sahiptir. Bu bakteriler farklılaşmış doku olan miselyum'lardan oluşmaktadırlar. Uygun şartlarda toprakta bulunan dinlenme

halindeki spor, henüz bilinmeyen bir sinyal yoluyla bir ya da daha fazla germ tüpü oluşturur (Flardh, 2003). Bu tüpler uzadıkça yan dallanmalar başlar ve yeni miseller oluşur. Dallanmalar merkezden uzaklaşan hava miselleri tarafından bölümlere ayrılarak özel sporulasyon septalarını, septalar da sporları meydana getirir (Hopwood, 2006). *Streptomyces* bakterileri Actinobacteria sınıfında yer almaktadır. Bergey's Manual 2017 de ki sınıflandırmaya göre Actinobacteria şubesi, 6 sınıf, 23 takım, 56 familya, 244 cinsten oluşan Bacteria üstalemindeki en büyük ve en önemli gruplardan biridir. Actinobacteria terimi Actinobacteria aleminin tamamını tanımlarken, aktinomiset terimi Actinomycetales ordusuna ait suşları tanımlamakta kullanılmaktadır (Goodfellow ve Fiedler, 2010).

*Streptomyces* bakterileri metabolik faaliyetleri sonucunda birçok sekonder metabolit üretmektedir. Sekonder metabolit büyüme için ya da hücredeki diğer temel işlemler için gerekli olmayan maddelere denir. Sekonder metabolitler genelde toprakta yaşayan ve morfolojik farklılaşmaya uğrayan mikroorganizmalar tarafından üretilir (Vinning, 1990). *Streptomyces* türleri aktinomisetler arasında ekonomik açıdan önemli bir gruptur. Çünkü sekonder metabolit üreticilerinin başında gelirler. Sekonder metabolitler; canlının hayatta kalma faaliyetleri için birinci dereceden metabolit işlemlerde ve büyümede gerekli olmayan ancak proteinler, yağlar, karbonhidratlar, nükleik asitler gibi primer metabolitler kadar önemli olan birçok sektörde hammadde olarak kullanılan kimyasal maddelerdir (Cannel, 1998).

Yirmüç bin'den fazla bilinen mikrobiyal sekonder metabolitin %42'si Aktinobakterler, %42'si funguslar ve %16'sı diğer bakteriler tarafından üretilir. Günümüze kadar bilinen antibiyotiklerin yaklaşık üçte ikisi Aktinobakteriler tarafından, bunların da yaklaşık %75'i *Streptomyces* bakterileri tarafından üretilir (Newman ve ark., 2003). Ayrıca *Streptomyces* türlerinin ürettiği diğer değerli metabolitler; immunosupressif (bağışıklık baskılayıcı), pestisit, antifungal, antiviral, antitümoral, antiparazitik, antihipertansif (kan basıncını düşüren) ve antikanser ilaçlarını kapsar.

Bu tezde; ülkemizin en büyük gölü olan Van gölüne dökülen sekiz ana akarsudan alınan sediment örneklerinden *Streptomyces* bakterilerinin karakterizasyonu ve teşhisi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK BİLDİRİŞİ

### Actinomycetler

Aktinomisetler; Gram pozitif aerobik bakteriler olup (Kuster 1968), çok çeşitli morfolojik karakterleri, ekolojisi, patojenitesi, genom uzunluğu, genomunun içerdiği G+C oranı ve genomunda kodlanan bölge sayısı yönünden bakteriler içerisinde çok dikkat çekici bir grubu oluşturmaktadır (Embley ve Stackebrandt, 1994, Hopwood, 2007). 1870'lerde ilk aktinomisetin keşfinden 1950'lere kadar aktinomisetler; bakteriler ve funguslar arasında bir form olarak bilinmekteydi (Hopwood, 2006). Bu grubun üyeleri yüzyılı aşkın bir süre öncelikli olarak morfolojik kriterlere göre sınıflandırıldı. Aktinomisetlerin gerçekte Gram pozitif hücre duvarı bulundurduğu ve DNA baz içeriğinin % 70'ten yüksek G+C oranına sahip olduğu yapılan araştırmalarla ortaya çıkmıştır (Hopwood, 2006).

Aktinomisetler; küresel görünüme sahip *Micrococcus*'lardan, çubuk ve küresel şekilli *Arthrobacter*'lere, *Nocardia* türlerinde görülen filamentöz forma ya da *Micromonospora* ve *Streptomyces* türlerinde görüldüğü gibi geçici ve yüksek oranda dallanan miselyumlara kadar çok çeşitli morfolojik karakterleri içeren geniş bir takımdır. Bu takım içerisinde yer alan bazı cinsler spor oluştururken bazıları oluşturmamaktadır. Kuraklığa ve sıcaklığa dayanıklı olup diğer bakteriyel endosporlar gibi organizasyona sahip değildir (Bali, 2011).

Aktinomisetler toprakta, denizde, kaplıcalarda, gama ışınlarının bulunduğu yüzeylerde, bitki köklerinde, insan, bitki ve hayvan patojenleri gibi çok geniş habitatlarda yayılım göstermektedir (Goodfellow ve Williams, 1983). Ancak bazı gruplar belli bir ortamı diğer bir ortama tercih edebilir. Çok sayıda aktinomiset konidia ya da konidiaspor olarak bilinen sporları taşıyan havasal miselyumlardan oluşmaktadır. Sporangiospor olarak adlandırılan bu sporlar filamentlerin sonunda ya da sporangiumun içinde yer almaktadır (Prescott ve ark., 2002).

Aktinomisetler ürettikleri sekonder metabolitlerden dolayı bakteriler içerisinde en geniş kapsamda araştırılan gruptur. Bu kapasiteleri bakımından büyük bir endüstriyel öneme sahiptirler (Goodfellow ve Williams, 1983). Ayrıca ticari öneme sahip enzim,

vitamin ve antibiyotik gibi bileşenlerin üreticisi ve farklı antimikrobiyal metabolitlerin kaynağıdır. Aktinomisetler içerisinde en önemli sekonder metabolit üreticileri *Streptomyces* ve *Micromonospora* türleridir (Terkina ve ark., 2006). Actinomycetes ordosu Actinobacteria şubesinde yer alır. Aktinobakteriler ile ilgili çalışmalar, potansiyel farmasötik uygulamalarla yeni antibiyotiklerin keşfedilmesine yol açmıştır (Scott ve ark., 2008). Bu bakterilerin çoğu saprofitik yaşam sürdürmektedir. Bazıları bitki ve hayvanlarla parazitik ve mutualist olarak yaşamaktadır (Sembiring ve Goodfellow, 2008).

Aktinobakteriler insan sağlığına katkısı olan çoğu antibiyotik dahil olmak üzere çok sayıda önemli sekonder metabolit üretmektedirler (Lewin ve ark. 2016). Actinobacteria'nın çoğu, çeşitli kompleks polisakkaritleri parçalayabilen aerobik, heterotrofik ve kemototroftiktir (Gao ve Gupta 2012). Actinobacteria şubesi 6 sınıf (Actinobacteria, *Nitriliruptoria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Thermophilia* ve *Rubrobacteria*) 50 familya ve 251 genus içerir (Kämpfer 2012; Euzéby 2016). Filogenetik olarak diğer beş ordo ile birlikte (*Acidimicrobiales*, *Bifidobacteriales*, *Coriobacteriales*, *Rubrobacterales* ve *Euzebyales*) *Actinomycetales* ordosu Actinobacteria sınıfına aittir (Kurahashi ve ark., 2010). Actinobacteria şubesine ait bakterilerin teşhisi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Özellikle PCR'in keşfinden sonra moleküler yöntemler büyük bir önem kazanmıştır.

Moleküler teknikler, gen ekspresyonu çalışmalarını kolaylaştırmakta ve bu olumlu gelişmeler ilk olarak mikrobiyal ekolojide mikroorganizmaların toplumda yerinin anlaşılmasını sağlamaktadır (Brock, 2010). Topraktan izole edilen bakteri popülasyonlarının tanımlanmasında dünya çapında kullanılan 16S rDNA teknolojisi kullanılmaya başlanmıştır (Rheims ve ark., 1999; Felske, 1999). 16S rDNA'ları dikkate alınarak yapılan sınıflandırmada grup, 13 alt takıma ayrılmış ve bu grubun büyük bir çoğunluğu hala sınıflandırılmayı beklemektedir (Embley ve Stackebrandt, 1994). Teknolojik anlamda yeni moleküler tekniklerin ortaya çıkması bu durumun gittikçe aşıldığını göstermektedir.

16S rDNA gen dizileme bakteriler arasındaki filogenetik ilişkilerin ortaya çıkmasında, herhangi bir ortamdan izole edilen bakterilerin tanımlanmasında 1980'lerden beri kullanılan oldukça güvenilir bir tekniktir (Busse ve ark., 1996). 16S rDNA gen bölgesinin bakteriler arasında evrensel ve işlevinin sabit olması, korunaklı

bölgelerin yanında türe özgü değişiklik gösteren bölgelerin varlığı, bakterileri cins veya tür seviyesinde tüm araştırmacılara açık veritabanlarını kullanarak tanımlanmasına imkân sağlamaktadır (Cavalier-Smith, 2002). Karşılaştırmalı 16S rDNA gen dizi analizleri modern taksonominin vazgeçilmezleri arasındadır. 2000’li yıllardan itibaren PCR kullanımının ve DNA dizilemenin yaygınlaşmasının sonucu olarak 16S rDNA gen bölgesinin dizilenmesi klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bakteriyal izolatların doğru şekilde tanımlanmasında ve yeni bakteriyal izolatların literatüre kazandırılmasında kilit nokta olmuştur. 16S rDNA gen dizileri ile yapılan sınıflandırma, fenotipik tiplendirmeye dayalı sınıflandırmadan çok daha objektif ve güvenilir bir sınıflandırmadır (Brown-Elliot ve ark., 2006)

### *Streptomyces* Cinsi

*Streptomyces* sistematigi oldukça uzun ve karmaşık bir tarihe sahiptir. *Streptomyces* cinsinin *Streptomycetaceae* familyasında sınıflandırılmasını hücre duvarı kimyası ve morfolojisine dayanarak 1943’te Waksman ve Henrici önermiştir. *Streptomyces* cinsi; gram-pozitif ve toprak bakterilerini barındırmakta olup, hayat döngüleri boyunca çeşitli morfolojik değişimlere uğrarlar. Bu cinsteki bakteriler; batık ve havasal olmak üzere 2 tip miselyum oluştururlar. Normalde spor formunda olmalarına rağmen, yeterli nem ve besini bulduklarında sporları çimlenerek batık miselyumu oluşturur. Bu morfolojik değişimlerle beraber pigmentler, antibiyotikler ve sekonder metabolitlerin de üretimi başlar (Williams ve ark., 1989). *Streptomyces* cinsi kimyasal, moleküler ve nümerik taksonomik metotların uygulanmasıyla oldukça iyi tanımlanmıştır (Williams ve ark., 1983; Witt ve Stackebrandt, 1990).

Cins içerisindeki çoğu tür 25-35°C arasında ve pH 6.5-8.0 arasında optimum gelişme göstermektedir. Bazı suşlar termofilik ya da psikrofilik derecelerdeki sıcaklıklarda ve asidik ya da alkali pH değerlerinde gelişme gösterebilmektedirler (Goodfellow ve ark., 1987). Hücre duvar yapılarındaki peptidoglikan tabakasında LL-diaminopimelikasit ve muramik asidin molekülleri arasında bir glisin-LL-A2 pm içeren A3γ tip bulundurmaları karakteristiktir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970). Hücreler *iso* ve *anteiso*- yağ asitlerini içermektedir. *Streptomyces* bakterileri mikolik asit içermezken teikoik asit içermektedir (Minnikin ve O’Donnell 1984). DNA baz kompozisyonlarında

%66-78 arasında değişen G+C içeriğine sahiptirler (Pridham ve Tresner, 1974). *Streptomyces* cinsinin üyeleri yeni antibiyotik, alkalik enzimler ve enzim inhibitörleri için büyük bir kaynaktır (Sharma et al. 2016). Yaşam döngülerinin olgunlaşma safhasında havasal miselyumları içerisinde uzun zincirli artrosporlar üretirler. Bu özellik de *Streptomyces* cinsi bakterileri için karakteristiktir (Hayakawa ve ark., 2004). Bu bakteriler birçok renkte pigment üretme kapasitesine sahiptir. Oluşturdukları pigmentlerle substrat ve havasal miselyumlarına renk verirler ve buldukları ortamın renk değişimine sebep olurlar (Goodfellow ve Simpson, 1987; Özdemir, 2008). *Streptomyces* bakterileri insan sağlığına katkı sağlayan pek çok önemli ilacın içerisindeki antibiyotiğin üretimini sağlar (Lewin ve ark., 2016).

*Streptomyces* bakterileri tıbbi tedavide kullanılan pek çok biyoaktif bileşimin kaynağı olup bilinen antibiyotiklerin yaklaşık % 75'ni üretmektedir (Demain 2014; Cheng et al. 2016). *Streptomyces* bakterileri ile simbiyotik ilişkili bitkiler kuraklık, soğuk, besin azlığı, sıcaklık gibi abiyotik stresleri azaltabilir ve sonuç olarak bitki büyümesi hızlanır (Sousa ve Olivares., 2016).

#### *Streptomyces* Taksonomisi

*Streptomyces* bakterileri ve bunların fenotipik özelliklerine ait ilk taksonomik sistemlerdeki durum benzerlik ve farklılıkların ölçülmesine dayalıydı. Oluşturulan kümeler spor zincir morfolojileri, substrat-havasal miselyum renkleri ve melanin pigmenti üretimlerinin benzerlikleri incelenmiştir. Bu kümeler karbon kaynaklarını kullanma özelliklerine göre de alt kümelere ayrıştırılmıştır (Pridham ve Tresner, 1974). Bu metotlar daha sonradan *Streptomyces* bakterilerinin sınıflandırılması için kabul edilen metotların yenilenmesiyle de gelişme göstermiştir. *Streptomyces* bakterileri tarafından üretilen antibiyotiklerin keşfi 1940'larda, yeni bioaktif bileşiklerin incelenmesine ve cinsin sınıflandırılmasına rehberlik etmiştir.

Domain: Bacteria

Phylum: Actinobacteria

Class: Actinobacteria

Subclass: Actinobacteridae

Order: Actinomycetales

Suborder: Streptomycineae

Family: Streptomycetaceae

Genus: *Streptomyces*

Standart teşhis kriteri ve tip suşlarının farklı insanlar tarafından farklı isimlerle tanımlanmasının önlenmesine ihtiyaç duyulmuştur. 1964’de Uluslararası *Streptomyces* Projesi (ISP) tanımlanmış olan sinonim türlerin karmaşasını azaltmak için türlerin teşhis kriterleri üzerine çalışmalar yapmıştır. 1960 yıllarının başlarında Uluslararası *Streptomyces* Projesi ile cinsin tanımlanması ile ilgili bütün testler ve koşullar standardize edilmiştir. Nümerik taksonomik metotlar ile *Streptomyces* cinsinin ilk kez Silvestri ve ark., (1962) tarafından 200 test organizması ve bunların 100 farklı karakterini test edilmesi ile analizler sonucu 25 adet varyasyon belirlenmesiyle yapılmıştır.

Shirling ve Gottlieb (1966, 1967, 1968, 1969), karbon kaynaklarının kullanımı, melanin pigmentinin üretimi, substrat miseli ve çözünebilen pigmentin rengi, sporların rengi, spor yüzey ornemantasyonu, spor zincir morfolojisi gibi karakterleri türlerin teşhisinde kullanılan kriterlere dâhil etmişlerdir. 450’ den fazla *Streptomyces* türü yeniden tanımlanmış ve tip suşları uluslararası kültür koleksiyonlarında muhafaza edilmiştir. ISP bir teşhis şeması oluşturmamış fakat standart metotlar oluşturmayı başarmıştır. Bergeys’in 1974 baskısında cins içerisinde 463 tür yayınlanmıştır. İlk kapsamlı taksonomik çalışma ise Williams ve ark. (1983) tarafından yapılmıştır.

Öztürk (2000) yaptığı nümerik taksonomik çalışmasında Ssm analizi ile %82,5 benzerlik seviyesi gösteren yedi major, dokuz minör ve 10 tek üyeli küme belirleyerek temsilci izolatlar seçmiş ve sınıflandırmalarını yapmıştır. *Streptomyces* cinsinin 1997 yılında geçerli olarak kaydedilmiş 464 türü ve 45 alttürü bilinmektedir ve *Actinomycetales* takımının en geniş cinsidir (Hain ve ark., 1997; Stackebrandt ve ark., 1997; Zhang ve ark., 1997). Bu sayı 2018’de LPSN’den (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature) alınan verilere göre 38’i alttür olmak üzere 835 tür olarak belirtilmiştir. Fenotipik özellikleri kullanarak yapılan nümerik taksonomi sistemlerinin gelişimi *Streptomycetaceae* familyası içerisinde akrabalığın çözümlenmesine yardım etmiş ve 6 cinsin yeniden sınıflandırılarak *Streptomyces* genusuna ilave edilmesini

sağlamıştır (*Actinopycnidium*, *Actinosporangium*, *Chainia*, *Eltrosporangium*, *Kitasatoa* ve *Microellobosporia*, (Williams ve ark., 1983a; Goodfellow ve ark., 1986a, b). Fenotipik karakterleri kullanan ilk nümerik sistemler sınıflandırma sistemleri içerisinde moleküler biyolojik karakterleri kapsamıyla temelde değişikliğe uğramış ve bu sistemler *Actinobacteria* içerisinde sınıflandırılan cinsler için farklı fikirler oluşmasını sağlamıştır (Stackebrandt ve ark., 1997). Bundan önce *Streptomyces* ve *Streptoverticillium* cinslerinin her ikisi de Tip I hücre duvarına sahip olan, aynı faj ile enfekte olan ve filogenetik olarak yakın sayılan iki farklı cins olarak değerlendirilmekteydi. (Lechevalier ve Lechevalier, 1970; Stackebrandt ve Woese, 1981). İmmunodifüzyon çalışmaları *Streptoverticillium* genusunun üyelerini *Streptomyces lavendulae* tür grubuna bağlamıştır. Kampfer ve ark., (1991) da fizyolojik testlerden yola çıkarak aynı sonuca varmışlardır. Gladek ve ark. (1985) DNA-RNA eşleştirmesindeki farklılıkları incelemişler ve iki genus arasında hem DNA-RNA homolojisi hem de spiral spor zinciri oluşturma özellikleri açısından fark olduğunu ortaya koymuşlardır. Witt ve Stackebrandt (1990), 16S ve 23S rRNA'ları karşılaştırarak *Streptoverticillium* cinsinin aslında *Streptomyces* cinsinin sinonimi olduğu sonucuna varmışlardır. *Kitasatosporia* cinsinde hücre duvarı kompozisyonundaki farklılıklar ve 16S rRNA benzerliği temeline bağlı olarak *Streptomyces* cinsine dahil edilmiştir (Wellington ve ark., 1992). Fakat 16S rRNA geninin tüm baz dizi analizi yapıldıktan sonra ve *Streptomyces* cinsinden farklı monofletik küme oluşturduktan sonra Zhang ve ark. (1997) tarafından iptal edilmiştir. *Kineosporia* ve *Sporichthya* cinslerinin sınıflandırılmasında önemli kriter olan kemotaksonomik karakterin yetersiz olduğu belirlenmiştir (Logan,1994). Bu iki cins 16S rRNA dizi analizinden sonra farklı bir kategoriye yerleştirilmiştir; *Frankinea* alt takımının *Sporichthyaceae* familyasının cinsi olarak kabul edilmiştir (Stackebrandt ve ark.,1997) ve *Kineosporia*, *Kineococcus* ile birlikte kümelendirilmiştir (Kudo ve ark., 1998). Bu değişikliklere dayanarak *Streptomyces* cinsi familyanın tek üyesi durumundadır. Bu cinslerin birleştirilmesine rağmen günümüzde sınıflandırma sistemleri henüz cins içerisindeki taksonomik sorunu tam anlamıyla çözememiştir. Kemotaksonomik ve moleküler metotlar şimdilerde *Streptomyces* cinsi içerisinde türlerin benzerliklerinin anlaşılabilmesi için nümerik taksonomik metotlarla birlikte kullanılmaya başlanmıştır.



## *Streptomyces* Ekolojisi ve İzolasyonu

*Streptomyces* cinsinin üyeleri doğada geniş bir yayılış göstermektedir. *Streptomyces* türleri topraktan izole edilmelerine rağmen hem sucul hem de karasal habitatlarda oldukça geniş dağılım gösterirler (Kutzner, 1981; Williams ve ark., 1989). Şahin (2005) tarafından izole edilen altı *Streptomyces* izolatının, mantarlarda kahverengi leke hastalığına sebep olan patojen *Pseudomonas tolaasii*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Toprak mikrobiyotasının önemli bir bileşenini oluşturan actinomyceteslerden özellikle *Streptomyces*, çeşitli bitkilerin kök sisteminde geniş bir şekilde yayılış göstermekte olup, rizosferdeki bitki kök patojeni funguslarla rekabet halindedir (Sembiring ve ark., 2000; Iznaga ve ark., 2004). *Streptomyces* cinsinin bazı suşları, bitkilerde nadiren de insanlarda patojen olarak bulunmaktadır. *Streptomyces scabie* türünün, patates yumrularında lezyonlar oluşturarak bitki uyuzuna sebep olduğu tespit edilmiştir (Lambert ve Loria, 1989; Doumbou ve ark., 2001). Özok (2014) Sakarya'da ormanlık bölgelerden alınan toprak örneklerinden *Streptomyces* bakterilerini izole etmiştir.

*Streptomyces* bakterilerinin, topraktaki dağılışını ve aktivitesini nem oranı, sıcaklık, pH, toprağın tipi, organik madde içeriği ve vejetasyonu gibi çevresel faktörler etkilemektedir (Upton, 1994; Basilio ve ark., 2003). Toprak reaksiyonu, *Streptomyces* türlerinin dağılışını ve aktivitesini belirlemede önemli bir faktördür. Çoğu toprak *Streptomyces* bakterileri, nötral veya zayıf alkalın koşullarda optimum gelişme gösterirler. Asidik topraklarda genellikle pH 3.5-7.5 aralığında gelişebilen, fakat optimum olarak pH 5-5.5'te gelişen asidofilik ve nötrotolerant *Streptomyces* bakterilerinde yaygındır (Basilio ve ark., 2003; Kim ve ark., 2004).

*Streptomyces* bakterileri çoğu diğer mikroorganizma gibi besin devamlılığının olmadığı evrelerde gelişmelerini durdurarak spor oluştururlar ve besin dengesi sağlanana kadar bu şekilde kalırlar. Sporlar hiflere oranla daha kalın bir çepere sahip olup kurumaya ve sıcaklığa karşı oldukça dirençlidirler (Goodfellow ve Simpson, 1989). Sellektif besi ortamı *Streptomyces* gibi toprak actinomyceteslerin ve diğer bakterilerin gelişmesini ve büyümesini etkiler. Örneğin humik asit ilavesi sporların çimlenmesini aktive eder (Hayakawa ve Nonomura, 1987).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla önemli biyoaktif potansiyele sahip yeni halofilik *Streptomyces* türleri izole edilmiştir (Thumar ve ark., 2010). *Streptomyces* bakterileri, başlıca doğal habitatları olan toprakta saprofit olarak yaşarlar ve bitki ve hayvan kısımlarının ayrıştırılmasında önemli bir role sahiptirler. Çoğunlukla da polisakkarit, protein, aromatik bileşenler ve lignoselülozu içeren tortuları ayrıştırabilirler. *Streptomyces* türleri bir lignoselüloz bileşiğindeki selüloz ve hemiselüloz ile birlikte doğada bulunan lignini ayrıştırabilir. Ayrıca bu bakteriler, pamuk, bitki lifleri (Lacey ve Lacey, 1987), odun (Noval ve Nickerson, 1959), jet yakıtlarındaki hidrokarbonlar (Genner ve Hill, 1981), kauçuk (Hutchinson ve ark., 1975) ve plastik gibi diğer materyalleri de parçalama yeteneğine sahiptir. Bundan dolayı besinlerin döngüsüne ve dönüştürülmesine katkı sağlamaktadırlar (Williams ve ark., 1989).

*Streptomyces luridiscabiei*, *Streptomyces niveiscabiei* ve *Streptomyces puniscabiei* türleri Kore'deki patates uyuzunun sebepleridir (Rosenberg ve ark., 2014). Şimdiye kadar çok az *Streptomyces* türü insan patojenikal materyallerden izole edilmiştir (Rosenberg ve ark., 2014). *Streptomyces* bakterileri birçok çevresel ortamda gelişebilir (Mokraneet al. 2013). Çin'in güney topraklarından izole edilen yeni *Streptomyces* türleri için filogenetik analiz yapılmıştır (Zhang ve ark., 2014).

*Streptomyces* bakterilerinin yaşamlarının devam ettirmesi ve çoğalması için en uygun ortam topraktır (Yousif ve ark. 2015). Afrika topraklarından izole edilen *Streptomyces somaliensis* türü actinomycetoma hastalığının ajanlarından biridir. *Streptomyces albus* ve *Streptomyces anulatus* türleri de klinik materyallerden izole edilmiştir (Korn-Wendisch ve Kutzner, 1992; Trujillo ve Goodfellow, 2003). *Streptomyces* bakterileri üretmiş oldukları kitinaz,  $\beta$ -1,3 glukonaz gibi ekstrasellüler enzimlerle fungusların hücre duvarlarını parçalama yeteneğindedirler (Bielecki ve Galas, 1991; Mahadevan ve Crawford, 1997). Antifungal aktiviteye ve biyokontrole sahip olan bu enzimlerle çalışmalar mevcuttur (Lloyd, 1969; Mahadevan ve Crawford, 1997). Bu hidrolazlar bazı *Streptomyces* türlerinin mikoparazitik potansiyelleri sorumlu olabilir (Tu, 1996) ve bitki hastalıkların kısmi süprasyonu, tabii toprak fungus hücre duvarı, kitin ve laminarin ile ıslah edildiğinde gözlenmiştir.

Sharma ve ark. (2016) Hindistan'daki Lonar tuzlu su gölünden yeni *Streptomyces* türleri izole etmiştir. *Streptomyces* bakterileri aerobik olmalarına rağmen, topraktaki düşük oksijen konsantrasyonlarında da gelişebilmekte, ancak %10'dan daha yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonunda gelişmeleri inhibe olmaktadır (Goodfellow ve Simpson, 1987; Williams ve ark., 1989). *Streptomyces* bakterileri sıcaklık gereksinimlerine göre de farklı alanlarda yayılış göstermektedir. Bu cins içindeki çeşitliliğin fazla olması, sıcaklık toleransının geniş olmasını sağlamaktadır (Korn-Wendisch ve Kutzner, 1992). Genellikle 25-35 °C sıcaklıklarda gelişme gösterirler. Buna karşılık +4°C'de gelişebilen psikrofil ve 45-55°C'de gelişebilen termofilik türlerine de rastlanmaktadır (Goodfellow ve ark., 1987; Kim ve ark., 1996).

Ertaş (2016) Van Gölü havzasından, Actinomycetes ordosunun bir diğer üyesi olan *Micromonospora* cinsine ait 141 tür izole etmiştir. Ünal (2017) Sapanca Gölü havzasından aldığı toprak ve sediment örneklerinden 60 *Streptomyces* bakterisi izole etmiştir. (Shearer) 1987 izolasyon ortamında funguslardan kurtulmak için sikloheksimid (50mg/L) ve/veya nystatin (100 units/mL) besi ortamına ilave edilebilir. Daha seçici izolasyon için novobiosin, streptomisin, gentamisin ve tunikamisin gibi diğer antibiyotikler uygun konsantrasyonlarda ilave edilebilir. Hopkins ve ark., (1991) santrifüjle toprak numunelerinden bakteri izolasyonunun etkili olduğunu belirtmiştir. Atalan, (1995) bu yöntemle *Streptomyces* bakterilerinin dilüsyon yöntemine kıyasla 10 kat daha fazla sayım yaptığını belirtmiştir. Deniz aktinomisetleri, özellikle *Streptomyces* üyeleri kimyasal ve aktinobakteriyel çeşitlilik için önemli bir kaynaktır (Veyisoglu 2014). Jia ve ark. (2015), Kuzey Çin'in Jilin eyaletindeki Longwan şehrinden toplanan volkanik tortulların toprak numunelerinden az sayıda *Streptomyces* izole edildi. Pakistan'ın sıcak su kaynaklarından yeni *Streptomyces* türleri izole edildi (Amin ve ark. 2016). Ningthoujam ve ark. (2013) Kireç taşı ocaklarından yeni *Streptomyces* türlerini izole etti.

### *Streptomyces* Bakterilerinin Biyoteknolojik Önemleri

*Streptomyces* bakterileri antibiyotik ve diğer bioaktif bileşikler gibi birçok sekonder metabolitlerin üreticileri olarak bilinmektedirler. *Streptomyces* cinsi üyelerinin yeni, ticari olarak önemli ve farmakolojik olarak aktif antibiyotik, enzim, enzim

inhibitörü gibi antimikrobiyal madde üretme yetenekleri *Streptomyces* bakterilerini prokaryotlar arasında önemini artırmaktadır (Berdy, 1995; Annaliesa ve ark., 1997; Saintpierre ve ark., 2003; Lee ve ark., 2005). Günümüzde ise bilinen tüm antibiyotiklerin yaklaşık %80'inin ve çok sayıda sekonder metabolitin üreticisi olduklarından dolayı prokaryotlar arasında ayrı bir öneme sahiptirler. Birçok *Streptomyces* üyesi önemli doğal ürün üretme kapasitesi ile insanlığa katkı sağlamıştır ve sağlamaktadır (Berdy, 2005). Antimikrobiyal maddeler, çok az yoğunlukta dahi mikroorganizma gelişimini engelleyen biyolojik kökenli sekonder metabolitler olup, mikroorganizmanın çoğalmasını engelleyici “bakteriostatik” veya “fungustatik” olabildikleri gibi; mikroorganizmanın ölümüne sebep olan “bakterisidal” veya “fungusidal” maddelerde olabilirler. Mikroorganizmalar tarafından üretilen, düşük molekül ağırlıklı, organik doğal ürünler olan antimikrobiyal maddeler seçici toksiteye sahip olduklarından çok düşük konsantrasyonlarda bile mikroorganizmaya zararlı olup makroorganizmaya zarar vermezler (Yılmaz ve Beyatlı, 2003). *Streptomyces antibioticus* türünün ürettiği ilk antibiyotik actinomycinin keşfi, bu kümede yer alan organizmalar oldukça geniş kapsamlı bir çalışma programının başlamasına vesile olmuş ve yaklaşık 50 yılın sonunda 10000 antibiyotikğin Actinomycetes grubu organizmalar tarafından üretildiği kaydedilmiştir (Berdy, 2005).

Antibiyotiklerin modern çağı *Streptomyces griseus* türünün ürettiği streptomycin antibiyotikğinin elde edilmesi ile başlamıştır (Schatz ve ark., 1944). *Streptomyces* cinsine ait üyeler, bu tipte bileşikleri üretme yetenekleri bakımından diğer prokaryotlar arasında eşsiz organizmalardır (Sembring, 2000). Düşük sıcaklık, yüksek nispi nem ve besin içeriği gibi faktörler, bu ortamlarda bulunan streptomyceteslerin aktivitesini kontrol eden başlıca faktörler olarak bilinmektedir (Groth ve Saiz-Jimenez, 1999; Laiz ve ark., 2000). Son zamanlarda mangrov ekosistemi topraklarından izole edilen *Streptomyces* bakterilerinin antikanser ve antibakterial özelliğe sahip 7 azlomycin F analog ve macrocyclic lakton ürettiği keşfedilmiştir (Yuan ve ark., 2013). Son zamanlarda rapor edilenlere göre kanser, ölümlerin ikinci önde gelen sebebidir (Tan ve ark., 2015). Dahası kemoterapiye direnç büyük bir sağlık problemi olmuştur (Tan ve ark., 2015). Bu konu ekonomik açıdan daha az gelişmiş ülkelerde daha ciddi bir sorundur. Çünkü bu ülkelerde yüksek tedavi maliyetlerine ve standart teşhis olanaklarına erişim yok denilecek kadar azdır (Tan ve ark., 2015). Tian ve ark., (2017) *streptomyces sp.* SN0280

bakterisinden izole ettikleri streptoone A maddesinin antibakterial, streptoone B maddesinin antifungal etkisinin olduğunu tespit etmiştir. Mısır'da bazı topraklardan izole edilen *Streptomyces sp. Ru87* türünün, bazı gıda ve kan yoluyla bulaşan patojenlere karşı önemli inhibisyon aktiviteleri gösterdiği görülmüştür (Amin ve ark., 2017).

Çizelge 2.1. Bazı *Streptomyces* bakterilerinin sekonder metabolizma ürünleri ve biyolojik aktiviteleri (Rosenberg, 2014).

Üretici	Ürün	Biyolojik Aktivite
<i>Streptomyces spp</i>	Aerosporin	Antibiyotik
<i>Streptomyces sp</i>	Bleomisin	Antikanser
<i>Streptomyces sp</i>	Daunorubisin HCl	Antitümöral
<i>Streptomyces alboniger</i>	Puromisin	Antibakteriyal
<i>Streptomyces albus</i>	Salinomisin	Büyüme destekleyici
<i>Streptomyces ambofaciens</i>	Spiramisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces antibioticus</i>	Boromisin	Antiviral
<i>Streptomyces archromogenes</i>	Streptozotosin	Diyabetojenik
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Tetrasiklin HCl	Antibiyotik
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Klortetrasiklin	Antibiyotik
<i>Streptomyces avermitilis</i>	Avermektin	Antiparazitik
<i>Streptomyces canus</i>	Kanamisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces clavuligerus</i>	Sefalosporin	Antibiyotik
<i>Streptomyces coespitosus</i>	Mitozan	Antitümöral
<i>Streptomyces erythreus</i>	Eritromisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces fradiae</i>	Neomisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces galileus</i>	Antrosiklin	Antitümöral
<i>Streptomyces griseus</i>	Streptomisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces griseus</i>	Bafilomisin	ATPase inhibitörleri
<i>Streptomyces griseus</i>	Streptomisin sülfat	Antibiyotik
<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Rapamisin	Antifungal
<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Higromisin	Antimikrobiyal
<i>Streptomyces lavendulae</i>	Mitomisin C	Antitümöral
<i>Streptomyces lavendulae</i>	Neomisin B	Antibiyotik
<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Lincomisin HCl	Antibiyotik
<i>Streptomyces natalensis</i>	Natamisin	Antifungal
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amfoterisin	Antifungal
<i>Streptomyces noursei</i>	Nistatin	Antifungal
<i>Streptomyces orchidaceus</i>	Sikloserin	Antibiyotik
<i>Streptomyces orientalis</i>	Vankomisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces peucetius</i>	Doksorubisin	Antitümöral
<i>Streptomyces platensis</i>	Migrastatin	Antikanser
<i>Streptomyces platensis</i>	Platensimisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces rimosus</i>	Oksitetrasiklin	Antibiyotik
<i>Streptomyces rimosus</i>	Paromomisin	Antibiyotik
<i>Streptomyces spheroides</i>	Novobiyosin	Antibiyotik
<i>Streptomyces staurosporeus</i>	Staurosporin	Antifungal
<i>Streptomyces torulosus</i>	Tunikamisin	Antibakteriyal
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Kloramfenikol	Antibakteriyal

Son çalışmalar, antioksidanın zengin kaynağı olarak görülen bitkilere ek olarak (Tan ve ark., 2015) mikroorganizmaların da doğal antioksidan üreticileri olarak kullanılabilir olduğunu göstermektedir. Antibiyotikler 20.YY'nin sonları boyunca ortalama ömrü artırmıştır. Ancak tedavi edilmesi zor olan ciddi derecede enfeksiyonlara

sebepler olan patojen organizmaların dirençlerinin artması durumu karmaşıklaştırmıştır. Dirençli bakteriler tarafından sebep olunan enfeksiyonlar tedaviye yanıt vermemiştir. Bu da uzun süren hastalıklara ve daha fazla ölüm risklerine neden olmuştur. Tedavi kusurları, yüksek oranda dirence sahip uzun dönemli infektiviteye sebep olmuş ve böylece infekte olmuş insanların sayısı artmıştır (Costelloe ve ark., 2010). *Streptomyces* bakterilerinin özelliklerinden bazıları antifungal, antiviral, antitümoral, antihipertansif, bağışıklık baskılayıcı ve özellikle antibiyotikler gibi bioaktif sekonder metabolitleri üretmektir (Araújo ve ark. 2012). Malezya'da mangrov orman toprağından izole edilen *Streptomyces colonosanans MUSC 93JT* suşundan elde edilen özütün kuvvetli antioksidan aktivite gösterdiği ve bu özütün insanlarda kolon kanseri hücrelerine karşı antikanser aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Law ve ark., 2017). Ye ve ark. (2015) Deniz dip bölgesinden aldıkları sedimentlerinden *streptomyces sp.* P11-23B türünü izole ederek, bu bakteriden elde ettikleri streptodepsipeptides P11A ve P11B maddelerinin glioma hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiğini ve P11A'nın bazı tümör metabolizma enzimlerinin ekspresyonunu baskıladığını ortaya koymuştur. Sandrin ve ark., (2017) Brezilya amazon bölgesinde bulunan *Paullinia cupana* bitkisinin rizosferinden izole ettikleri *streptomyces hygrosopicus* ACTMS-9H bakterisinin ürettiği elaiophylin maddesinin antibakteriyal, antifungal ve antikanser etkisinin olduğunu göstermiştir. Poliprenol fosfat mannoz (PPM) bakterilerde ekstra sitoplazmik glikozil transferazlar tarafından kullanılan bir lipid ilişkili şeker vericisidir. *Streptomyces coelicolor*'un ppm1 mutantlarının, hücre duvar biyosentezini hedefleyen birtakım antibiyotiklere duyarlılığının artırdığını göstermiştir (Howlett ve ark., 2018).

#### Polifazik ve Nümerik Taksonomi

Actinobacteria üyeleri sadece çevrede organik maddeleri parçalayıcı olarak değil, aynı zamanda antibiyotiklerin üreticisi ve ticari alanların faydalı bileşimlerinin üreticisi olmaları nedeniyle önemli bir bakteri gurubudurlar. Bu özelliklerinden dolayı bu türlerin tamamen anlaşılır ve doğru bir şekilde sınıflandırılmaları, taksonomik konumlarının kesin ve net bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalardan bu düzeyde doğru sonuçların alınabilmesi ancak bu familyaya ait cins ve türlerin teşhisi ve sınıflandırılması; hücre morfolojisi, üreme özellikleri, spesifik polar

lipitlerin analizine dayanan kemotaksonomik çalışmalar ve nükleik asit dizi verileri gibi özellikleri kapsayan polifazik bir yaklaşıma göre yapılmaktadır.

16S rRNA gen dizileme bakteriler arasındaki filogenetik ilişkilerin ortaya çıkmasında, herhangi bir ortamdan izole edilen bakterilerin tanımlanmasında 1980'lerden beri kullanılan oldukça güvenilir bir tekniktir (Busse ve ark., 1996).

Nümerik taksonomi; nümerik olarak kodlanan ve birer karakter olarak ifade edilen veriler için çeşitli matematiksel yöntemlerin uygulanması ve organizmaların kapsamlı benzerliğine dayanarak kümelere yerleştirilmesiyle, dendogramlar şeklinde ilişkilerin ortaya konmasıdır (Manfio, 1995). Nümerik taksonomi veya bilgisayar destekli taksonomi, karakterlerle şekillendirilen taksonomik birimlerin (Suş: OTU; Operational Taxonomic Unit) nümerik yöntemlerle sınıflandırılması anlamına gelmektedir (Sneath ve Sokal, 1973). NT olarak ifadelendirilen nümerik taksonomi fikri ilk 1957'de Sneath tarafından kullanılmıştır (Sneath, 1957a, 1957b).

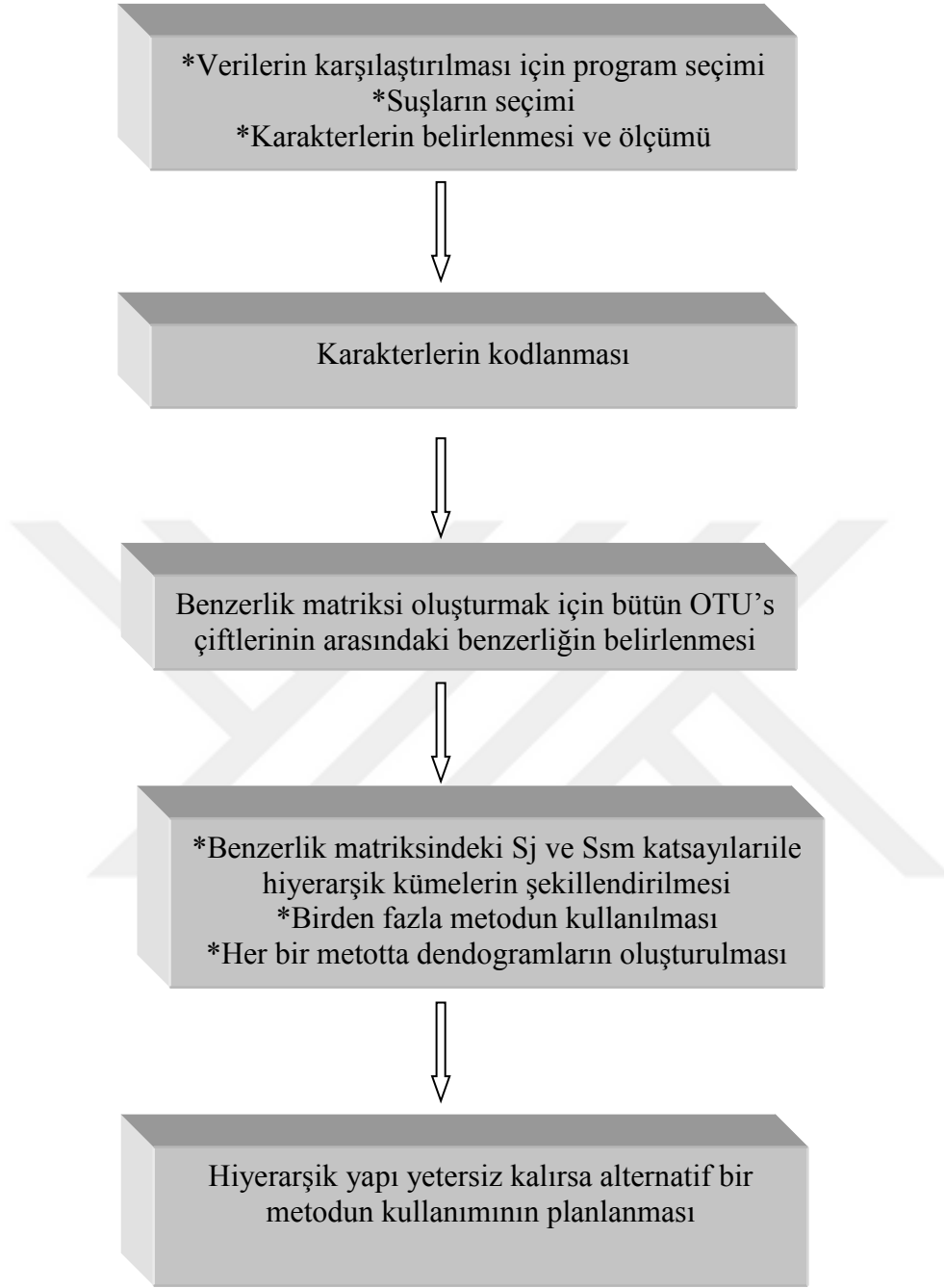
Nümerik taksonomi; sınıflandırmanın temel aldığı Adanson prensiplerini esas alarak çok sayıda birim karakterlerin kullanıldığı yüksek bilgi içerir ve bu sınıflandırma pek çok araştırmacı tarafından bakteri sistematğinde ve *Streptomyces* sistematik çalışmalarında uygulanmıştır (Sneath ve Sokal 1973; Goodfellow ve Dickinson, 1985; MacDonell ve Colwell, 1985; Sackin ve Jones, 1993). Bu sınıflandırmanın ilk hedefi, her bir bakteriyel suşu, morfolojiden biyokimyasal, beslenmeden fizyolojik özelliklerine kadar tüm farklı safhalardan elde edilen fenotipik verileri kullanarak homojen gruplar haline getirmektir.

Son yıllarda bakteriyologlar tamamen anlaşılır ve doğru temellere dayalı sınıflandırmanın birçok tekniğin bir arada kullanılarak uygulanması olarak bilinen polifazik yaklaşımla çok daha objektif sonuçlar verdiği konusunda hemfikirdirler. Bu şekilde sınıflandırmaya tabi tutulan organizmaların hem fenotipik hem de genotipik özelliklerinin araştırılması yapıldığından dolayı oldukça tutarlı taksonomik sonuçlar olduğu bilinmektedir. Williams ve ark., (1983a) tarafından tanımlanan nümerik sınıflandırma *Streptomyces* sistematğinde önemli bir adımdır. Nümerik taksonomik çalışmalardaki testler ve suşların seçimi, test hataları ve çalışmadaki suşların genetik değişkenliğinden etkilendiği de iyi bilinen bir durumdur. Polifazik taksonomik yaklaşımlar, kullanılan kimyasal ve moleküler teknikler ışığında nümerik sınıflandırmanın şekillenmesinde oldukça önemlidir (Goodfellow ve O'Donnell, 1993).

Nümerik taksonomik analiz özellikle çok sayıda veri içeren grupların sınıflandırması için oldukça faydalı bir metottur. Çünkü cins içerisindeki suşlar sadece tek karakter bakımından değil birçok karakter açısından kıyaslandığı zaman çok daha güvenilir bir sınıflandırma oluşturulur. Öncelikle sınıflandırmanın ortaya konabilmesi için uygun bir bilgisayar programı seçilmiş olmalıdır. Seçilen uygun bilgisayar programı ile nümerik analizin planlanması ve verilerin sağlıklı sonuçlara dönüştürülmesi mümkün olacaktır. Nümerik taksonomi, çok sayıda fenotipik karakterlerin aynı anda değerlendirilmesine olanak sağlayan bir metottur. Williams ve ark., (1983a) *Streptomyces* bakterileri ve ilişkili cinslerin nümerik taksonomi çalışmasını fenotipik karakterleri kullanarak yapmışlardır. Sınıflandırma sistemine göre *Streptomyces*; major, minor ve tek üyeli kümelerden oluşmaktadır. Büyük (major) kümeler 6 veya daha fazla tip suşu içeren kümeler iken küçük (minor) kümeler 2-5 arası tip suşu içeren kümelerdir (Anderson ve Wellington, 2001).

En geniş ve alt kümeleri de içeren küme 71 suş bulunduran *Streptomyces albidoflavus* kümesidir. Bunlardan en önemlileri de *S. albidoflavus*, *S. anulatus* ve *S. halstedii* alt kümeleridir (Williams ve ark., 1983a, b). Toplam 475 suş, 139 karakteri test edilmiştir. Sonuçlar ortalama bağlantı allogaritması benzerlik katsayısı ile analiz edilmiştir. Aynı zamanda araştırmacılar tür kümeleri içerisinde *Streptomyces* cinsini alt kümelere ayırmışlardır. Üç yüz doksandört *Streptomyces* tip suşu fenotipik testlerin analizi sonucu ortaya çıkan benzerliklerine göre kümelendirilmiştir. % 77.5 Ssm seviyede 19 major, 40 minor ve 18 tek suşlu kümeler kaydedilmiştir. Minor kümelerin çoğu 5 suşdan az tür içermektedir. Bunlardan örneğin; *Streptomyces flavoviridis* ISP 5153 ve *Streptomyces glaucescens* ISP 5155 suşları *Streptomyces glaucescens* sınıflandırıldı. Major kümeler 6'dan 71 suşa kadar değişik sayıda tür içermektedir. Bazı kümeler içerisinde gözlenen yüksek çeşitliliğe bağlı olarak türler tek tür şeklinde kümelendirildi. En fazla tür içeren *Streptomyces albidoflavus* grubu olup 71 tip suşu, geçersiz olarak yayınlanmış 15, isimlendirilmemiş 12 ve 44 diğer tip suşu içermektedir. Bu küme ayrıca 3 alt kümeye ayrıldı: küme 1A; *Streptomyces albidoflavus* subsp. *albidoflavus* (20 suş içerir), küme 1B; *Streptomyces albidoflavus* subsp. *anulatus* (38 suş içerir) ve küme 1C; *Streptomyces albidoflavus* subsp. *halstedii* 13 suş içerir (Williams ve ark., 1983a).





Şekil 2.1. Nümerik taksonomik analizler için temel basamakları (Goodfellow ve ark., 1985).

16S rDNA gen dizileri ile yapılan sınıflandırma, fenotipik tiplendirmeye dayalı sınıflandırmadan çok daha objektif ve güvenilir bir sınıflandırmadır (Schloss ve Handelsman, 2004; Brown-Elliott ve ark., 2006). *Streptomyces* bakterilerinin teşhisi için mümkün olan veriler nümerik taksonomik verilerde kullanılan bilgilerle düzenlenmiştir. Bu çalışmada Willcox 0,85 değeri pozitif bir teşhis için yeterli olarak

alınmıştır. Nümerik taksonominin kullanılmasıyla termofilik *Streptomyces* (55°C' de gelişen) bakterilerini sınıflandırmak için Goodfellow ve Simpson (1987) yapılan 8 çalışmada 8 küme oluşturdular. Kampfner ve ark., (1991) birçoğu Williams ve ark., (1983a)'ın belirlediği türleri kapsamayan 821 suşu 329 test kullanarak yeniden nümerik sınıflandırma yaptılar.

Nümerik taksonomik metotların amacı, taksonomik birimleri morfolojik, biyokimyasal, degridasyon, antibiyotik dirençliliği, antimikrobiyal aktivite ve fizyolojik özellikler gibi çok sayıda fenotipik veriyi kullanarak homojen gruplar oluşturmaktır. Nümerik fenotipik veriler genellikle MVSP, NTSYS, TAKSON gibi özelleşmiş programlar kullanılarak kaydedilir ve değerlendirilir (Chun, 1995).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında klasik yöntemlerle bakteri tanımlaması yapılırken bazı fenotipik testler, Gram boyama ve biyokimyasal testler kültür koşullarından ve büyüme faktörlerinden etkilenmektedir (Woo ve ark., 2008). 16S rDNA gen bölgesinin dizilenmesi bakteri izolatlarının tanımlanmasında, özellikle mikrobiyoloji laboratuvarlarında anormal fenotipik profiller gösteren, nadir görülen, geç büyüyen, kültürde üretilmeyen ya da zor üretilen bakteriler karşılaşıldığında oldukça önemli rol oynamaktadır.

Günümüzde 16S rDNA gen sekansına dayanan analizler bakteriyel taksonominin omurgasını oluşturmakta (Ludwig, 2007) ve türlerin filogenetik analizleri 16S rDNA gen dizisi temel alınarak oluşturulmaktadır (Stackebrandt ve Ebers, 2006). Labeda ve Lyons (1991) on farklı kümeye ait *Streptomyces* suşunun DNA homolojisi belirlemek için çalışmalar yapmışlar ve tek üyeli kümeye ait suşların %70'den daha fazla benzerlik gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.

rDNA dizilerinin bazı karakteristikleri temel alınarak yapılan filogenetik ağaçlarda benzer nükleotidlerin sıklığı, farklı bölgelerdeki tekrarlı bölgelerin birbirinden bağımsız olmayışları, nesiller arasındaki tekrar oranlarındaki varyasyonlar, uzak akraba taksonlar arasındaki DNA hizalamalarında bazı anlamsızlıklar sebebiyle türlerin gerçekte olduğundan daha yakınmış gibi görünmelerine sebep olabilecektir. Bu durum filogenetik mutasyon oranının düşük olması ve birbiri ile ilişkili türlerde ayırt ediciliğinin az olması nedeniyle filogenetik markır olarak 16S rDNA dizisinin kullanılmasının dezavantajları olarak görülebilecektir (Woese ve ark., 1990; Viale ve ark., 1994; Boto, 2010).

Witt ve Stackebrandt (1990), *Streptomyces* içerisinde akrabalığın belirlenmesi için nükleik asit hibridizasyon tekniğini kullanmışlardır. *Streptomyces* sistematigi için bu analizlerin önemi çok açık olmasa da DNA hibridizasyon verilerinin genetik pozisyonun belirlenmesi için gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Kemotaksonomik metotlar diğer actinomycetler'den *Streptomyces* bakterilerini ayırmak için uzun yıllardır kullanılmaktadır (Lechavalier ve Lechavalier, 1970). *Streptomyces* cinsinin üyeleri, düz zincirli, 14-18. atomun uzun zincirine bir karbon ile yağ asidi zincirleri bağlanmış olarak iso-anti iso yağasitlerine sahiptirler (Hofheinz ve Grisebach, 1965; Lechevalier, 1977; Saddler ve ark., 1986, 1987).

Sanglier ve ark. (1992) geniş tür ihtiva eden *Streptomyces* kümelerinin analizi için PyMS metodunu kullanmışlar ve *Streptomyces albidoflavus*, sinonim türlerinin *Streptomyces albidoflavus* ve *Streptomyces anulatus* olarak iki farklı gruba ayrıldığını ortaya koymuşlardır.

*Streptomyces griseus* ve *Streptoverticillium flavopersicum*'a karşı geliştirilen antikolar ile test edilen iki *Nocardioopsis dassonvillei* suşundan biri çapraz reaksiyon aktivitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Wipat ve ark., (1994) *Streptomyces lividans* 1326 sporlarına karşı monoklonal antikolar geliştirerek ve hibridoma hücrelerinden elde edilmiş antikoların *Streptomyces lividans* 1326 suşuna spesifik olduğunu belirlemişlerdir. Belirlenen antikolar *Streptomyces lividans* içeren kümeler için spesifik olduğu ve bu durum Williams ve ark (1983a) tarafından öne sürülen kümelenilmeyi de desteklemektedir.

*Streptomyces* bakterilerinin sınıflandırılmasında monoklonal antikoların kullanımını besin ortamlarındaki değişikliklerin sınırlandırdığı ve bu durumun gram negatif mikroorganizmalar için geçerli olduğu belirtilmiştir (Nelson ve ark., 1991).

Taguchi ve ark., (1996) *Streptomyces coelicolor* suşlarının taksonomik durumlarının belirlenmesi için morfolojik ve fizyolojik düzende tanımlanmamış roller oynayan inhibitör bir proteini (Subtilisin) kullanmışlardır (SSI). SSI benzeri proteinler 9-12 kDA kütleyle sahiptir ve SSI'nın tersiyer yapısının korunması için gerekli olan korunmuş bölgelerdeki aminoasit dizi homolojisinde önemini belirtmiştir. *Streptomyces lividans* 66, *Streptomyces coelicolor* Mülter ISP 5233T ve *Streptomyces coelicolor* A3(2) suşlarının SSI aminoasit dizileme kıyaslanması yapılmıştır. Buna göre

*Streptomyces coelicolor* A(3) tip suşu olan *Streptomyces coelicolor* Müler ISP 5233T'ye *Streptomyces lividans* 66'dan daha yakın olduğu görülmüştür.

Nükleik asitlerin karşılaştırılmasına ve sekanslanmasına imkân veren teknolojik gelişmelerden önce, organizmalar arasındaki temel genomik benzerliklerin değerlendirilmesi için olanak sağlayan çok sayıda dolaylı yöntem geliştirilmiştir. 16S rDNA molekülüne sekanslama yapılmadan yararlanmak üzere çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler, daha hızlı ve daha kolay gerçekleştirilmektedir. Bu metotlar esas olarak organizmaların tanımlanması ve sınıflandırılmasında kullanılan karakteristik fragment örneklerini üretmek için restriksiyon endonükleaz kesimlerinin kullanımı ile gerçekleşmektedir.

16S rDNA genini kullanan yöntemlerin çok sayıda olmasına rağmen, bunlar aynı zamanda yakın ilişkili organizmalar arasında ayırım sağlamamaktadır. Bu Şekilde, diğer genler ya da gen ürünlerinin kullanımına izin veren alternatif metotların gelişimi tüm genom akrabalık ilişkilerinin ve filogeninin değerlendirmesine imkan sağlamaktadır (Stackebrandt ve ark., 2002; Veyisoğlu, 2014).

Çoğu *Streptomyces* türü linear ve sirküler tipte olan plazmitleri içermektedir. Linear plazmit 10-600 kb boyutta ve kromozoma benzerdir. *Streptomyces rochei* türüne ait 17 kb'lık PSLA2 linear plazmitlerinin çoğu merkezi olarak yerleşmiş bir replikasyon orjini vasıtasıyla çoğalır ve 280 baz çifti olan plazmidin sentezi sadece terminal proteinler tarafından gerçekleştirilir. Çoğu araştırmacı plazmit fingerprinting'in bakterilerin tiplendirilmesinde kullanılabileceğini göstermişlerdir (Chang ve Cohen, 1994; Goodfellow ve ark., 2006; Flemming ve ark., 2007). *Streptomyces coelicolor* 3 adet verimli plasmide sahiptir; SCP1, SCP2 ve SLP1. SCP1 (350 kb) lineardir, SCP2 (30 kb) sirküler ve SLP1 plazmiti de kromozom içine entegre olmuştur.

Genel olarak İlk analizler 16S rDNA geni ile sınırlıydı. Sekanslama maliyetinin azalmasıyla birlikte diğer genlerde sekanslanmış ve filogenetik analizlerde yer almışlardır. Sonrasında tüm genom sekanslama analizleri de filogenide kullanılmaya başlanmıştış (Coenye ve ark., 2005; Ludwig, 2007; Sohler ve ark., 2008; Bolshoy ve Volkovich, 2009).

Cezayirde aşırı tuzlu topraklardan izole edilen *Streptomyces S35T* suşunun 16 S rDNA gen bölgesi dikkate alınarak karakterizasyonu yapılmıştış (Djaballah ve ark., 2018).

Gram pozitif bakterilerin yüksek bir G+C oranına sahip üyesi olan *Streptomyces* türleri bazen değişebilmekle birlikte %70-74 oranında G+C içeriğine sahip olduğu bilinmektedir. Wright ve Bibb, (1992) tarafından yapılan çalışmada, 27 farklı türde 64 streptomycetes bakterisinin kodlanan bölgelerinin analizi yapmışlar ve G+C oranının %61-80 arasında değişim gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu değer *Saccharopolyspora*, *Amycolatopsis* ve *Micromonospora* içinde aynıdır. Bunun yanı sıra *Streptomyces* bakterilerinin daha kısa segmentli bölgelerinin analizinde daha düşük bir G+C oranında gözlenmiştir. Örneğin *Streptomyces coelicolor* türünün aktinorhodin geninin kodlamayan bölgelerinde durum böyledir (Fernandez-Moreno ve ark., 1992).

Mehling ve ark., (1995) yüksek seviyede actinomycetes spesifitesi olmayan primerleri kullanarak hiçbir karakteristik bant elde edememişlerdir.

Yapılan çalışmaların sonucunda ribozomlardaki önemli rollerinden dolayı rDNA gen grubu son derece korunmuş olmasından dolayı prokaryot taksonomisi rDNA genlerin analizini içeren tekniklerle tamamen değişmiştir (Goodfellow ve O'Donnell, 1993). rDNA'ların canlılar arasında evrensel olarak dağılım gösteren ve çevresel değişikliklerden etkilenmeyen bir molekül olduğu bilinmektedir. Bu gen bölgesinin önemli ölçüde genetik bilgi içermesi ve prokaryotlar filogenetik ilişkilerinin ortaya konmasında temel molekül oluşunun önemini açıklamaktadır (Manfio, 1995).

rDNA dizi analizinin kıyaslanması özellikle Streptomycetes taksonomisinde çok güçlü bir yöntemdir. Aynı zamanda rDNA dizi analizi kıyaslaması cins içerisinde yatay gen transferi ile alakalı sorunların çözümü içinde faydalıdır. Bu genler bakteriler içerisinde yüksek oranda korunmuştur. 16S rDNA içerisinde üç bölge *Streptomyces* cinsi içerisindeki türe spesifik ( $\gamma$  bölgesi) ve cinse spesifik ( $\beta$  ve  $\alpha$  bölgesi) problemler açısından faydalı olan yeterli dizi varyasyonlarına sahip olduğu gözlenmiştir (Stackebrandt ve ark., 1991, 1992). Ribozomal proteinlerin dizi analizi ve 23S rRNA, 5S rRNA dizi analizi de *Streptomyces* cinsi içerisindeki türlerin akrabalığını belirlemede kullanılan yöntemlerdir (Liao ve Dennis, 1994; Ochi, 1995).

16S rDNA dizi analizi mikrobiyal taksonomi de en geniş çapta kullanılan standart tekniklerden biridir. Bu teknik tüm canlıları *Archaea*, *Bacteria* ve *Eucaria* olarak üç büyük domaine ayırmıştır (Woese, 1987). Bu molekülün filogenetik sonuçlar için evrensel standart parametresi olarak kullanılmasındaki önemli bir özelliği sekans dizilemesinin oldukça kolay olmasıdır (Embley ve Stanckebardt, 1994).

16S rDNA dizi analizleri iki organizma arasındaki tür ve tür üstü kategorilerde ortaya koymaktadır. Ancak, aynı türe ait olan organizmalar arasındaki ayırt ediciliği ortaya koyması açısından yeterli bir teknik değildir (O'Donnell ve ark., 1993). Her ne kadar 16S rDNA molekülünün korunmuş doğası olsa da DNA-DNA homolojisi ile lineer korelasyonu yoktur. Bu nedenle bakteriyal tür tanımı organizmaların sadece rDNA dizi benzerlik derecesi dikkate alınarak yapılamaz. Bununla birlikte bu yaklaşım, kültürü yapılamayan prokaryot tür çeşitliliğinin ortaya konulması ve kültür bağımlı olmayan mikrobiyal komünitelerin belirlenmesi için rRNA hedef problemlerinin dizaynında son derece avantajlıdır (Rosello-Mora ve ark., 2001).

Nükleik asit dizi analizi çalışmaları *Streptomyces* türleri içerisindeki filogenetik sınıflandırma için oldukça faydalı bilgiler sağlamaktadır. İlk 16S rDNA dizi analizi çalışmaları Stackebrandt ve ark., (1983) tarafından *Chainia*, *Elytrosporangium*, *Kitasatoa*, *Microellobosporia*, *Streptoverticillium* *Streptomyces* cinsleri üyeleri arasında uygulanmıştır. Bu cinslerin hepsi şu anda *Streptomyces* cinsinin sinonimi olarak kabul edilmiştir (Goodfellow ve ark., 1986a, b, c; Witt ve Stackebrandt, 1990).

Hain ve ark., (1997) tarafından yapılan bir çalışmada 14 sucül *Streptomyces* bakterisinin 16S rDNA dizi analizini karşılaştırmıştır. Bu izolatların kısmi dizi analizi kümelerini aydınlatmak için yeterli iken, genelde tüm izolatlara uygulamanın yetersiz olduğu belirtilmiştir. Toprakta izole edilen bakteri popülasyonlarının tanımlanmasında dünya çapında kullanılan 16S rDNA teknolojisi kullanılmaya başlanmıştır (Rheims ve ark., 1999; Felske, 1999).

Son yıllarda 16S rDNA dizi karşılaştırmaları, pek çok yeni cinsin tanımlanmasına, mevcut cinslerin bölünmesine ve hatta daha önce farklı cinslere yerleştirilen türlerin aynı cins içerisinde yerleştirilmesini sağlamıştır. Mevcut cinslere ait yeni türlerin tanımlanması ve yakınlık derecelerinin saptanmasında DNA-DNA hibridizasyonunun yanısıra DNA-16SrDNA hibridizasyonu çalışmaları da kullanılmıştır (Gutierrez ve ark., 1989).

rDNA dizi analizleri türler arası ve tür içi filogenetik akrabalığın tanımlanması için günümüzde uygulamaların devam ettiği bilinmektedir (Maidak ve ark., 2000; Doumbou ve ark., 2001). Mevcut türler ve yeni suşların tanımlanmasındaki problemler devam etmektedir ve tür seviyesindeki *Streptomyces* taksonomisinde filogenetik, genotipik ve fenotipik testlerin bir kombinasyonu'nun kullanılmasıyla gerçekleştirilen

bir polifazik yaklaşıma ihtiyaç duyulmaktadır. Spesifik genlerin dizi analizlerinin karşılaştırılması aynı zamanda antibiyotik üreten streptomycetes bakterilerinin spesifik kümelerinin incelenmesinde kullanıldığı gibi genellikle patates scab hastalığına yol açan patojen *Streptomyces* kümelerinin belirlenmesinde de oldukça faydalı olmuştur (Takeuchi ve ark., 1996).

Kim ve ark., (1996) yapmış oldukları çalışmada *Streptomyces* cinsi içerisindeki termofilik türlerin 16S rDNA dizi analizi kıyaslamasını yapmışlardır. Araştırmacılar 8 türü inceleyerek izole ettikleri DNA'dan 16S rDNA genini çoğaltarak dizi analizlerini belirlemişler ve filogenetik dendogramlarını oluşturmuşlardır.

Kataoka ve ark., (1997) *Streptomyces* cinsi içerisinde hızlı bir teşhis metodu olarak kullanılabilmesi için 16S rDNA üzerindeki değişken bölgeleri incelemişlerdir. Genus içerisindeki 89 türün  $\alpha$  bölgesini karşılaştırarak suşları kümelendirilmişlerdir. Sonuçta türleri birbirinden ayırırken 16S rDNA üzerindeki bu 120 bp uzunluğundaki segmentin oldukça faydalı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Rintala ve ark., (2002) nemli ortamlardaki *Streptomyces* bakterilerinin 16S rDNA dizi analizlerine bağlı çeşitliliğini incelemişlerdir. Gharaibeh ve ark., (2003) streptomycin ürettikleri belirlenen *Streptomyces* türlerinden *strb1* gen bölgesini PCR yardımıyla çoğaltarak bu bölgeleri değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında iki farklı primer kullanmışlardır. İzolatları 14 gün boyunca oatmeal agar besiyeri üzerinde geliştirerek bu izolatları kullanarak hazırladıkları diskleri duyarlı *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* test mikroorganizmaları ile birlikte aynı ortama ekerek oluşan inhibisyon zonlarını karşılaştırmışlardır. Daha sonra bu izolatlardan streptomisin biyosentez genini çoğaltarak genin dizi analizi çalışmalarını yapmışlardır.

Park ve ark., (2006) denatüre gradient jel elektroforezi ve 16S-23S rDNA interspace bölge analizine dayanarak *Streptomyces* cinsinin hızlı bir şekilde teşhisine yönelik çalışmalar yapmışlardır. Bu amaç için çoğalttıkları 16S-23S rDNA bölgesinin dizi analizi yapmış ve DGGE'de ayrılmalarını sağlamışlardır. Sonuçta çevresel *Streptomyces* populasyonunun hızlı bir şekilde karakterizasyonu için bu iki metodun uygun olduğunu belirtmişlerdir. Bakteriyel çeşitliliğin ölçülebilmesi, bakteriyel biyocoğrafyanın ve ortak topluluğun sistematik çalışması için önceden yapılması zorunlu bir durumdur. Bununla beraber; bakteriyel çeşitliliğin deneysel tanımı, bakteriyel topluluklarının doğal yollarla ortaya çıkmasını ve prokaryotik çeşitliliğin

geniş bir şekilde pratik hesaplanmanın ötesinde tutulmasını garanti altına almaz (Curtis ve ark., 2002). Çevresel çeşitliliğin temel ölçüsü 16S rDNA dizi analizi olsada polifazik taksonomik yaklaşımlar daha önemlidir. Çünkü bu yaklaşım bütün fenotipik ve genotipik dataları göz önünde bulundurup onları bir ortak sınıflandırma çeşidinde birleştirir (Vandamme ve ark., 1996). Çad'ın Gama bölgesinden alınan toprak örneğinden izole edilen anti-mantar aktivitesine sahip yeni bir aktinomiseti olan NEAU-Gz11T, için yapılan morfolojik, kemotaksonomik ve 16S rDNA gen dizisi benzerlik çalışmaları sonucu suşun *Streptomyces gamaensis sp.* ismiyle *Streptomyces* cinsinden yeni bir türü temsil ettiği sonucuna varılmıştır (Zhao, ve ark., 2017).

### Bilgisayar Yardımıyla Tanı

Taksonomi, sınıflandırma sisteminin içerdiği verinin doğruluğuna ve belli bir taksonun teşhisinin doğruluğuna bağlıdır. Mikrobiyologların çoğunluğu, bilinmeyen izolatların minimum sayıda karakteri test ederek teşhis etmeyi tercih eder. Bu nedenle teşhis yöntemleri hem mikrobiyologların amaçlarını gerçekleştirmeli hem de teşhisi yapılmak istenen taksonun doğal yapısını ortaya koymalıdır.

Günümüzde hem bilimsel kaynaklarda hem de ticari kit olarak bilgisayarla teşhis sistemleri geliştirilmiştir. Çoğunluğu bilinmeyen organizmaların bilinen taksonların verileri ile kıyaslanarak belli seviyedeki benzerlik oranlarını esas almaktadır. Böylece teşhis, önemli kabul edilen birkaç anormal karaktere bağlı bir sistem olmaktan çıkar. Bu yüzden bilgisayara dayalı teşhis sistemleri tabii olarak yeterli ve çok sayıda karakterin verisini kullanır ve bazen rutin yapılan teşhislerden farklı sonuçlar ortaya çıkarmaktadır (Özdemir 2008). *Streptomyces* bakterilerinin bilgisayarla teşhisi için ilk kapsamlı çalışma Williams ve ark., (1983b) önceden yapılan nümerik taksonomi çalışmasını analiz ederek majör *Streptomyces* taksonları için 139 karakterden seçilen 50 test teşhis matrisinin oluşturulduğu çalışmadır.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

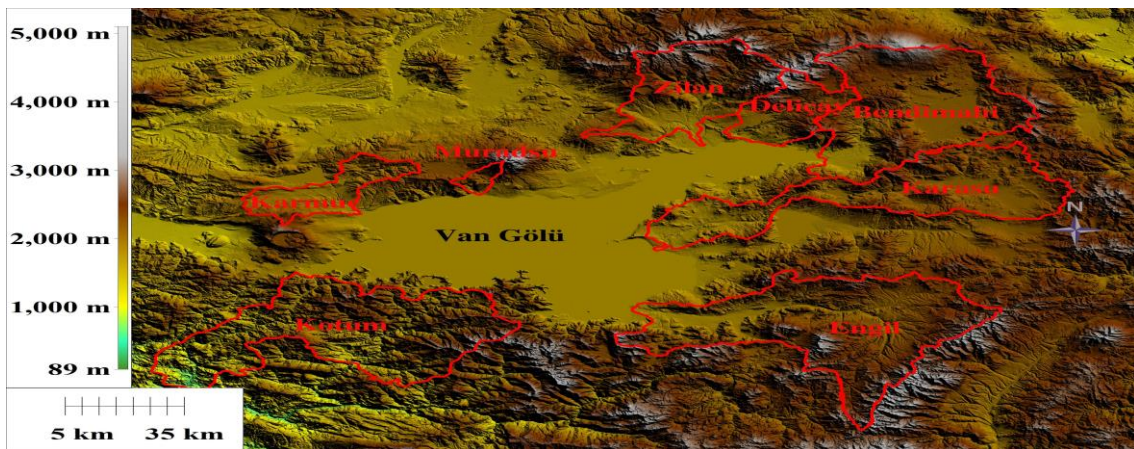
#### 3.1. Materyal

Van Gölü'ne dökülen 8 akarsuyun farklı lokalitelerinden bir kepçe yardımıyla steril kaplara alınan sediment örneklerinden *Streptomyces* cinsine ait bakteriler izole edildi. Bu bölgelerin coğrafik konumu Şekil 3.1.'de verilmiştir. Alınan numunelerin koordinatları ve numunelerin alınış tarihi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Sediment örneklerinin pH ve nem oranlarının belirlenmesi

Toplanan sediment örneklerinin nem oranlarının tespiti için 1'er g tartılarak porselen krozelere konulduktan sonra 105 °C'ye ayarlanmış etüve yerleştirildi. Her 24 saatte bir tartıldı ve bu işleme ağırlık sabitleşinceye kadar devam edildi. Bu ölçümler sonucu kaybolan ağırlığın ortalama % 'si, numunelerin nem oranı olarak hesaplanmıştır. Sediment örneklerinin pH'sının tespiti için numuneler laboratuara getirilerek her numuneden beherlere 20 g toprak konuldu, toprak yüzeyini kaplayıncaya kadar saf su ekleyip 3 saat karıştırıldıktan sonra pH ölçümü yapıldı (Reed ve Cummings 1945).



Şekil 3.1. Van Gölü Havzası'nda sediment alınan akarsuların belirtildiği harita (Meydan, 2013).

Çizelge 3.1. *Streptomyces* izolasyonu için toplanan sediment numunelerinin lokaliteleri ve alınış tarihleri.

No	İstasyon	Koordinat	Tarih
F1	Karasu	38 35 13 K 43 17 45 D	19/05/2016
F2	Karasu	38 35 13 K 43 17 45 D	19/05/2016
F3	Karasu	38 35 13 K 43 17 45 D	19/05/2016
F4	Bendimahi	38 93 75 K 43 66 06 D	19/05/2016
F5	Bendimahi	38 93 75 K 43 66 06 D	19/05/2016
F6	Bendimahi	38 93 75 K 43 66 06 D	19/05/2016
F7	Deliçay	39 00 50 K 43 47 09 D	19/05/2016
F8	Deliçay	39 00 50 K 43 47 09 D	19/05/2016
F9	Deliçay	39 00 50 K 43 47 09 D	19/05/2016
F10	Zilan	39 00 65 K 43 31 83 D	19/05/2016
F11	Zilan	39 00 65 K 43 31 83 D	19/05/2016
F12	Zilan	39 00 65 K 43 31 83 D	19/05/2016
F13	Muradsu	38 79 56 K 42 75 03 D	19/05/2016
F14	Muradsu	38 79 56 K 42 75 03 D	19/05/2016
F15	Muradsu	38 79 56 K 42 75 03 D	19/05/2016
F16	Karmuç	38 73 58 K 42 44 04 D	19/05/2016
F17	Karmuç	38 73 58 K 42 44 04 D	19/05/2016
F18	Karmuç	38 73 58 K 42 44 04 D	19/05/2016
F19	Kotum	38 47 85 K 42 38 89 D	19/05/2016
F20	Kotum	38 47 85 K 42 38 89 D	19/05/2016
F21	Kotum	38 47 85 K 42 38 89 D	19/05/2016
F22	Engil	38 34 52 K 43 48 94 D	19/05/2016
F23	Engil	38 34 52 K 43 48 94 D	19/05/2016
F24	Engil	38 34 52 K 43 48 94 D	19/05/2016

### 3.2.2. *Streptomyces* türlerinin izolasyonu ve saflaştırılması

*Streptomyces* bakterilerinin izolasyonu için klasik dilüsyon ve yüzeye yayma yöntemi kullanıldı. Her örnekten 25 g tartılarak içerisinde 250 mL ringer çözeltisi bulunan 500 mL'lik steril cam şişelere konuldu. Bu şekilde, her bir toprak örneği için hazırlanmış olan  $10^{-1}$  solüsyonlar, toprak kolloidlerine tutunmuş olan mikroorganizma sporlarını ve misellerini ayırmak için 1 saat süre ile çalkalandı. Daha sonra bu  $10^{-1}$  solüsyonlar, vejetatif formların neden olabileceği kontaminasyonları azaltmak için, 65 °C 'ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 10 dakika bekletildi. Her bir toprak örneği homojen hale getirildi ve otomatik pipet ile aseptik şartlarda 1 mL alınarak içerisinde 9 ml ringer çözeltisi bulunan steril cam tüplere konuldu. Bu şekilde,  $10^{-2}$  lik toprak solüsyonu elde edildi ve aynı işlemler  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dilüsyonları elde etmek için de tekrarlandı. Bu şekilde dilüsyon serileri  $10^{-4}$  seyreltmeye kadar devam edildi.  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dilüsyonların her birinden otomatik pipet ile 0.1 mL alınan çözeltiler, cycloheximide (50 ug /mL), nystatin (50 ug /mL) ve novobiosin (0.5 ug/mL) ilaveli M65 agar, Bennet's agar ve SM3 agar yüzeyine steril L şeklindeki eğri cam çubuk kullanılarak yayma plak yöntemiyle ayrı ayrı inoküle edildi (Vickers ve Williams 1987). Her bir dilüsyon için 3 plak hazırlandı ve 27 °C'de 14 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Kullanılan besiyerleri ve bunların içeriği Ek 1.'de verilmiştir

Cycloheksimid (50 ug/mL), novobiosin (0.5 ug/mL) ve nystatin (50 ug/mL) antibiyotikleri hazırlanan besiyerlerine istenmeyen bakteri ve mikrofunguslarının üremesini inhibe etmek için eklenmiştir. Ekim yapılan petripler 27 °C 'de 14 gün süre ile inkübe edildi ve gelişen koloniler incelendi ve sayımı M65 Agar'da (Rowbotham ve Cross,1977) 25 °C'de 14 gün inkübasyona bırakılan izolasyon plaklarındaki olası farklı *Streptomyces* suşları, koloni morfolojileri dikkate alınarak seçildi.

İzole edilen bu koloniler, steril kürdanlarla cycloheximide (50 ug/ml), nystatin (50 ug /ml) ve novobiosin (0.5 ug/ml) ilaveli Bennet's Agar besiyeri (DSMZ) yüzeyine çizgi plak yöntemiyle transfer edilerek tek koloni düşürülmeye çalışıldı. Saf izolatlar içerisinde % 20'lik gliserol bulunan kriyojenik tüplere konularak buzdolabında muhafaza edildi.

### 3.2.3. Renk gruplandırması

Saflaştırılan toplam 179 *Streptomyces* suşunun renk gruplandırılması için Oatmeal Agar (ISP 3; Shirling ve Gottlieb, 1996) besi ortamına ekimi yapıldı. Çizgi ekim metoduyla inoküle edilen izolatlar 14 gün 28 °C'de inkübe edildikten sonra havasal miselyum rengi substrat miselyum renkleri renk kataloğuna göre tespit edildi ve gruplandırma yapıldı.

İzolatların melanin pigmenti üretilip üretilmediğini belirlemek için pepton yeast extract iron agar (ISP6; Shirling ve Gottlieb, 1966) besi ortamına öze yardımıyla ekim yapıldı ve 28 °C'de 7 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda petri kabı içerisinde üremiş olan kolonilerden siyahımsı renk oluşumu melanin pigmenti üretiminin olduğunu, renk değişimi olmamış koloniler ise melanin üretmeyen koloniler olarak değerlendirilmiştir.

Sonuçta hem havasal ve substrat miselyum renk hem de melanin pigment üretimi dikkate alınarak tüm izolatlar gruplandırıldı.

### 3.3. *Streptomyces* Bakterilerinin Taksonomi ve Tanısı İçin Uygulanan Testler

İzole edilmiş 179 *Streptomyces* suşu nümerik taksonomi ve bilgisayar yardımı ile teşhis için Williams ve ark. (1983), tarafından tavsiye edilen karakter açısından test edildi. Test organizmaları -20 °C 'de gliserol içerisinde muhafaza edildi. Çizelge 3.2 'de *Streptomyces* test organizmalarının teşhisi için yapılan testler verilmektedir.

Çizelge 3.2. *Streptomyces* suşlarının nümerik taksonomi ve teşhisi için uygulanan testler

Havasal Spor Oluşumu	25. Oleandomisin	51. L- Asparagin
1. Krem	Degredasyon testleri	52. L - Sistin
2. Sarı	26. Guanin	53. L - Arjinin
3. Turuncu	27. Ksantin	54. L - Serin
4. Beyaz	28. Kazein	55. L - Metionin
5. Gri	29. Arbutin	56. L - Triptofan
6. Mavi	30. Trozin	57. L – Sistein
Substrat Miselyum Oluşumu	31. Üre	58. L – Hidroksiprolin
7. Sarı	32. Jelatin	59. L- Fenilalanin
8. Krem	33. Lipolizis	Karbon Kaynakları (1 % w/v)
9. Turuncu	34. Pektin Hidrolizi	60. Laktoz
10. Kırmızı	35. Lesitinaz	61. Maltoz
11. Beyaz	36. Pepton	62. Sukroz
12. Kahverengi	Büyüme ve Gelişme (%w/v)	63. Fruktoz
13. Yeşil	37. 5 °C	64. Galaktoz
Difüzye Pigment Oluşumu	38. 27 °C	65. Mannoz
14. Kahverengi	39. 45 °C	66. Arabinoz
15. Turuncu	40. pH 4.2	67. Xyloz
16. Krem	41. pH 7.15	68. Ksilitol
17. Kırmızı	42. NaCl (5)	69. Mannitol
18. Sarı	43. NaCl (10)	70. Ramnoz
Antimikrobiyal aktivite	44. NaCl (15)	71. Arabitol
19. <i>Esherichia coli</i>	45. Sodyum azit (0.01)	72. Inositol
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	46. Fenol (0.1)	73. Glikoz
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47. Sodyum asetat (0.001)	74. Dulcitol
Antibiyotik Duyarlılığı	48. Sodyum sitrat (0.1)	75. Traheloz
22. Rifamisin	Azot Kaynakları (0.1 % w/v)	76. Eritritol
23. Penisilin	49. L - Sistein	77. Cellebioz
24. Neomisin	50. L - Valin	

### 3.3.1. Morfolojik karakterler

İzole edilmiş 179 *Streptomyces* suşu nümerik taksonomi ve bilgisayar yardımı ile teşhis için Williams ve ark. (1983), tarafından tavsiye edilen karakter açısından test edildi. Test organizmaları -20 °C 'de gliserol içerisinde muhafaza edildi. Çizelge 3.2 'de *Streptomyces* test organizmalarının teşhisi için yapılan testler verilmektedir. Bennets Agar besi yeri üzerinde 27 °C'de 21 günlük inkübasyon sonrasında tüm test suşlarının spor zincir morfolojileri, mikroskop vasıtasıyla incelenmiş ve sonuçlar, Shirling ve Gottlieb (1966) tarafından yapılan çalışma dikkate alınarak kaydedilmiştir.

### 3.3.2. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Daha önceden saflaştırılıp -20 °C'de gliserol içerisinde saklanan *Streptomyces* izolatları 3 adet patojen ya da non-patojen (**1**→*Esherichia coli* ATCC 25952, **2**→*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, **3**→*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032) test organizmasına karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelendi (Williams ve ark., 1983a). Bennet's agar besi yerine ekilen *Streptomyces* test izolatları 27 °C'de 3 gün süre ile aktive edildikten sonra çalışmada kullanıldı. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için hazırlanan besiyerinin merkezine çizgi şeklinde her izolat ayrı olarak ekildi. Plak kapları 2 gün süre ve 27 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda üremiş olan *Streptomyces* bakterilerine dik çizgi yöntemi ile patojen test organizmalarının ekimi yapıldı ve 37 °C'de tekrar inkübasyona bırakıldı. Sonuçlar test organizmalarının etrafındaki şeffaf zona bakılarak duyarlı ya da dirençli olarak kaydedilmiştir.

### 3.3.3. Antibiyotik duyarlılık testleri

Bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi için yapılan çalışmada hazırlanan besi ortamına sıvı solüsyon olarak hazırlanmış *Streptomyces* bakterileri yayma metodu ile ekim yapıldı ve hemen akabinde ticari antibiyotikler (neomisin, oleondamisin, penisilin G, rifamisin) ve laboratuvar ortamında disklerle emdirme metoduyla hazırlanan antibiyotik diskleri petri kaplarına yerleştirilmiştir. Yaklaşık 2-3 gün 27 °C'de inkübasyondan sonra disklerin etrafında meydana gelen şeffaf inhibisyon zonlarına göre o bakterinin diskte bulunan antibiyotiğe duyarlı olduğu belirtilmiştir.

### 3.3.4. Degredasyon aktiviteleri

İzolatlar Çizelge 3.2'de belirtilen Ksantin % 0.4, Guanin % 0.05, Arbutin % 1, Tirozin % 0.05, Kazein % 1, Üre % 1, Jelatin % 1 olmak üzere 7 substrat maddeyi degrede edebilme özelliklerine göre incelenmiştir. *Streptomyces* suşları her bir madde için ayrı ayrı besi yerine standart olarak 7 µL ekim yapıldı. Bu degradasyon testleri için, bazal ortam olarak Bennett's Agar (Jones, 1949) kullanıldı. Tüm substrat maddeler, 3

gün boyunca 30 dk. tinalizasyon yöntemiyle sterilize edildi. Ortalama 3 gün 27 °C'de inkübe edildikten sonra her bir test suşunun besiyeri ortamında oluşturduğu koloniler etrafında veya petri plağının alt kısmından bakıldığında şeffaf bir zon oluşmuşsa pozitif (+), oluşmamışsa negatif (-) olarak değerlendirildi.

### 3.3.5. Fizyolojik ve kimyasal inhibitör testleri

*Streptomyces* suşlarının 45 °C'de gelişme yetenekleri gözlemlendi. Sıcaklıkta gelişme testleri için Bennett's Agar kullanıldı. Test izolatları inoküle edildikten sonra 45 °C sıcaklığa ayarlanmış etüvde inkübe edildi. Petrilerde gözlenen koloniler pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol ile eşit veya fazla büyüme (+) olarak, aksi halde (-) olarak değerlendirildi. NaCl (% 5, 10, 15), sodyum asetat (% 0.1), sodyum sitrat (% 0.01), sodyum azit (% 0.01), fenol (% 0.1) olmak üzere 6 farklı kimyasal inhibitörün farklı yoğunluklarda gelişme kabiliyetleri üzerine test edildi. Bazal ortam olarak Bennett's Agar kullanıldı. İnhibitör maddeler, 50 ml saf su içerisinde çözüldü ve bazal ortama ilave edilip 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. 27 °C'de 7 ve 14 gün inkübasyondan sonra okundu. Test suşları, kimyasal inhibitörlere direnç göstererek gelişmiş ise pozitif (+), gelişmemiş ise negatif (-) olarak değerlendirildi.

### 3.3.6. Lipolizis testi

Bu testler Nitsch ve Kutzner (1969) metoduna göre hazırlanan egg yolk medium da belirlenmiştir. Test izolatları egg yolk agara ekilerek 25 °C sıcaklıkta inkübasyona bırakıldı ve 2, 4 ve 6. günlerde çıplak göz ile lipolizis aktivitesi için değerlendirilmiştir. Lipolizis aktivitesi ise yine gelişen koloniler etrafında meydana gelen 10-15 mm çapındaki parlak zon ile belirlenmiştir.

### 3.3.7. Pektin Hidrolizi

Test izolatları Hankin ve ark., (1971) tarafından öngörülen, % 0.5 w/v pektin ilaveli besiyerine ekilerek, 25 °C sıcaklıkta 6 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petriler ısıtılmış hegzadesiltrimetilamonyum bromid (% 1 w/v, CTAB)

solüsyonu ile muamele edilmiştir. Gelişen koloniler etrafında oluşan şeffaf zon pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir

### **3.3.8. Azot kaynakları testleri**

Test suşları, gelişme ve enerji gereksinimleri için 9 farklı azot kaynağını (Çizelge 3.2) kullanabilme kabiliyetleri üzerine test edilmiştir. Azot kaynaklarında gelişme testi için, bazal ortam olarak Williams ve ark. (1983) tarafından tanımlanan azot kaynağı kullanım ortamı kullanılmıştır. Uygun miktardaki her bir azot kaynağı 50 ml saf suda çözülüp tinalizasyon tekniği ile steril edilerek aseptik şartlarda steril bazal ortama ilave edilmiştir. Negatif kontrol olarak sadece bazal ortam, pozitif kontrol olarak da L-asparagine (% 0.1, w/v) ilave edilmiş bazal ortamlar kullanılmıştır. İnokülasyon iki kontrol ortamına da yapılmıştır. İnokülasyon yapıldıktan sonra plaklar, 27 °C'de inkübasyona bırakılmış ve test plaklarının değerlendirilmesi inkübasyonun 7 ve 14'üncü günlerde pozitif ve negatif kontrol plaklarının her ikisi ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Test suşlarının gelişmesi, negatif kontrol plağındaki gelişmelerden daha geniş veya pozitif kontrol plağındaki gelişmelere eşit ya da yakın ise pozitif (+); negatif kontrol plağındaki gelişmelere eşit veya gelişme daha az ise negatif (-) olarak kaydedilmiştir.

### **3.3.9. Karbon kaynakları testleri**

Test suşları, gelişme ve enerji gereksinimleri için 18 farklı karbon kaynağını (Çizelge 3.2) kullanabilme kabiliyetleri üzerine test edildi. Karbon kaynaklarında gelişme testi için, bazal ortam olarak ISP 9 besiyeri kullanıldı (ISP 9; Shirling ve Gottlieb, 1966). Her bir karbon kaynağından 0.5 g tartıldı ve 50 ml saf suda çözülüp tinalizasyon tekniği ile sterilize edilerek, steril karbon kaynağı aseptik şartlarda bazal ortama ilave edildi. Negatif kontrol olarak sadece bazal ortam, pozitif kontrol olarak da glikoz (% 1.0, w/v) ilave edilmiş bazal ortamlar kullanıldı. İnokülasyon yapıldıktan sonra, 25 °C'de inkübasyona bırakıldı ve değerlendirme, inkübasyonun 7. ve 14. 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 eşit ya da yakın ise pozitif (+); negatif kontrol plağındaki gelişmelere eşit veya gelişme daha az ise negatif (-) olarak kaydedildi.

### 3.4. Nümerik Taksonomik Analiz

179 test suşuna (test sayısı) birim karakterin uygulanması sonucu, bütün test sonuçları ikili formata uygun olarak pozitif sonuçlar için “+” ve negatif sonuçlar için “-” kullanılarak kodlanmıştır. Temel karbon ve enerji kaynağı kullanım testi ile temel azot ve enerji kaynağı kullanım testi, Sneath ve Sokal (1973) tarafından tanımlanan metoda uygun şekilde, pozitif ve negatif kontrol plağındaki gelişmeler ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test plağındaki gelişme, pozitif kontrol plağındaki gelişmeye eşit veya daha yakın ise pozitif (+), negatif kontrol plağındaki gelişmeye eşit veya daha zayıf ise negatif (-) olarak kaydedilmiştir.

### 3.5. Spor Zincir Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Belirlenmeleri

Daha önceden saflaştırılıp -20 °C’de gliserol içerisinde saklanan olası *Streptomyces* izolatlarından seçilen 7 suş Bennets Agar besi ortamında 7 gün 27 °C’de geliştirilerek hizmet alımı karşılığında Ankara Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsüne SEM çekimleri yaptırılmıştır.

Çizelge 3.3. Elektron Mikroskobunda Spor Zincir Morfolojisinin belirlenmesi için kullanılan suşlar.

Laboratuar No	Numune No	Alındığı Bölge
HS002	F2	Karasu
HS012	F14	Muradsu
HS025	F7	Deliçay
HS056	F5	Bendimahi
HS069	F7	Deliçay
HS112	F6	Bendimahi
HS152	F4	Bendimahi

### 3.6. Bilgisayar Yardımı ile Tanı Çalışması

Toplam 179 *Streptomyces* bakterisine uygulanan tüm fenotipik testlerin sonuçları IDENTAX Bacterial Identifier 1.2 programı ile analiz edilerek bilgisayar yardımı ile teşhis edildi (Ek. 4). Test organizmaları Williams ve ark., (1983b) ve Bergey's Manual 4. Ciltte *Streptomyces* türleri için tavsiye ettikleri frekans matrisine göre dizayn edilmiş major ve minör *Streptomyces* taksonları için belirlenen test kullanılarak teşhis edildi. Teşhisler için bu teşhis matrisi sonucu elde edilen en yüksek değer dikkate alınmıştır. Sonuçlar her bir takson için ayrı olarak verildi.

### 3.7. Moleküler Taksonomik Çalışma

Çalışmada renk gruplandırması ve nümerik analiz sonucuna göre toplam 11 test organizması seçildi. Kısmi 16S rDNA analizi ve filogenetik analizleri yapıldı.

Çizelge 3.4. DNA çalışmaları için seçilen test organizmaları.

Laboratuar No	Numune No	Alındığı Bölge
HS007	F15	Muradsu
HS008	F15	Muradsu
HS027	F4	Bendimahi
HS029	F14	Muradsu
HS031	F21	Kotum
HS040	F6	Bendimahi
HS050	F7	Deliçay
HS052	F9	Deliçay
HS092	F9	Deliçay
HS099	F21	Kotum
HS129	F19	Kotum

#### 3.7.1. Test Suşlarının Kaynağı ve Büyütülmeleri

Moleküler çalışmalar için seçilen 11 test mikroorganizmasının izolasyon kaynağı Çizelge 3.4' de belirtildi. İzole edilen bu suşlar bennet's agar besi yerinde 4 gün 27 °C' de geliştirildi. Test suşlarının gliserol stoklarından Bennett's agar besiyerlerine ekim yapılarak 27 °C'de 64 saat inkübasyona bırakıldı. Burada besiyerinin yüzeyde

meydana gelen koloni üremelerinden öze yardımıyla koloniler toplanarak genomik DNA izolasyonu için kullanıldı.

### 3.7.2. Genomik DNA İzolasyonu

Bakterilerden genomik DNA izolasyonu için Ausubel ve ark. (1994), metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. İzolasyon için kullanılan tampon ve diğer çözeltilerin içerikleri Ek 2’de verilmiştir.

Metodun uygulanışı aşağıdaki gibidir.

1. Steril, ağzı kapaklı ependorflara 800 µL STE tamponu konularak içerisine 4-5 öze dolusu daha önceden Bennet’s agar besiyerinde geliştirilmiş bakteri bioması ilave edilmiştir.
2. Tüpler 2700 rpm’de vortekslenerek homojenizasyon sağlanmıştır.
3. Vortekslenen tüpler 10000 rpm’de 10 dk. santrifüjlendikten sonra üst faz mikropipetle alınmış ve pellet üzerine tekrar 800 µL STE tamponu eklenerek 10 dk. 10000 rpm’de santrifüj yapılmıştır.
4. Santrifüj sonrası oluşan üst faz atılıp pellet üzerine 400 µL STE tamponu ilave edilmiştir. Tamponun pelletle tamamen karışması sağlanmıştır.
5. Tüpler 75 °C’ye ayarlı su banyosunda 30 dk. inkübe edilmiştir.
6. Su banyosundan çıkartılarak 50 µL % 10’luk SDS ve 2 µL proteinaz K eklenen tüpler 40 °C’ye ayarlı su banyosunda 1 saat bekletilmiştir.
7. İnkübasyon sonrası tüplere ortamdaki tuz konsantrasyonu 0.75 - 0.8 olacak şekilde 5M NaCl ve 0.1 hacim % 10 CTAB / 0.7 M NaCl eklenmiştir.
8. Tüpler 65 °C’ye ayarlı su banyosunda 10 dk. inkübe edilmiştir.
9. Eşit hacimde 24:1 kloroform:izoamilalkol ilave edilen tüpler 10 dk. oda sıcaklığında hematoloji çalkalayıcısında karıştırılmıştır.
10. Tüpler 16000 rpm’de 15 dk. santrifüjlendikten sonra üst faz yeni steril ependorf tüplere aktarılmıştır. Her bir tüpe 0.1 hacim % 10 CTAB / 0.7 M NaCl ilave edilmiştir.
11. 65 °C’ye ayarlı su banyosunda tüpler 10 dk. bekletilmiştir.
12. Tüplere eşit hacimde 25:24:1 fenol:kloroform:izoamilalkol eklenmiş ve tüpler 10 – 20 dk. oda sıcaklığında, hematoloji çalkalayıcısında çalkalanmıştır.

13. Tüpler 16000 rpm'de 15 dk. santrifüj edildi. Oluşan üst faz yeni steril bir ependorfa alınmış ve üzerine eşit hacimde 24:1 kloroform: izoamilalkol eklenmiştir.
14. Hafif şekilde tüpler 10 dk. karıştırılmıştır.
15. Üst faz tekrar yeni steril bir ependorf tüpüne aktarılmış ve üzerine 0.8 hacim isopropanol (-20 °C) ilave edilerek tüpler -20 °C'de bir gece bekletilmiştir.
16. Daha sonra tüpler 16000 rpm de 15 dk. santrifüj edilmiş ve supernatant atılmıştır.
17. Her bir suş için steril ependorf tüplerine % 70'lik etil alkolden 100 µL konulmuştur. Pipetin yardımıyla DNA bu tüplerde yıkanmıştır.
18. Tekrar 16000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiş ve supernatant atılmıştır.
19. Kalan etil alkolün uçması ve DNA'nın kuruması için DNA'lar şeffaf bir görünüm alana kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.
20. Elde edilen DNA miktarına göre steril ependorf tüplerine 30 -100 µL TE çözeltisi konulmuştur.
21. DNA iyice çözüldükten sonra tüplere 2 µL RNAz ilave edilmiştir.
22. 2-3 sn. santrifüj edilen tüpler 37 °C'de 30 dk. bekletilmiştir.
23. Sonra tüpler etiketlenerek +4°C'de muhafaza edilmiştir.

DNA numuneleri, izolasyon işleminin sonunda agaroz jel elektroforeze koşturularak kontrol edilmiştir. İzole edilen DNA numunelerinin agaroz jelde görünür hale gelmesi için jel içerisine floresans özellik gösteren etidyum bromid boyası ilave edilmiştir. Etidyum bromid çift zincirli DNA'nın baz çiftlerine bağlanarak 254 veya 312 nm dalga boyunda UV transillüminatörde kırmızı floresans yayma özelliği gösterir. Bu özellik DNA izole edilmiş ise UV transillüminatör üzerinde agaroz jelde bantların görünmesini sağlar. Bunun için 0.4 g (% 1) agaroz 40 ml 1X TBE tamponu bulunan 100 ml'lik erlene ilave edilmiştir. Karıştırıldıktan sonra mikro dalga fırın yardımıyla tamamen agarozun erimesi sağlanmış ve ortalama 60 °C'ye soğuyunca içerisine 6 µL etidyum bromid (10 mg/ml) ilave edilmiştir. Erlen hava kabarcığı oluşmayacak şekilde hafifçe karıştırılmıştır. Elektroforez tablası düz bir zemine yerleştirildikten sonra jel solüsyonu hava kabarcığı oluşturulmadan dökülmüştür. Taraklar dikkatli bir şekilde yerleştirilmiştir. Agarozun donmasından sonra tarak çıkarılmış (15-20 dk) ve içinde 1X TBE pH 8 tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Tarağın oluşturduğu boşluklara her bir DNA numunesinden 10 µL ve 8 µL yükleme boyası (Brom Fenol

Mavisi) ile birlikte toplam 18 µL olarak yüklenmiştir. Agaroz jel 100 voltta ortalama 20 dk elektroforez edilmiş ve UV transillüminatör'de görüntülenmiştir.

### 3.7.3. 16S rDNA geninin PCR ile çoğaltılması ve saflaştırılması

Bakterilerin bütün hücre DNA'sı izole edildikten sonra 1492R ve 27F primerleri kullanılarak PCR ile 16S rDNA 'sı kısmi amplifiye edildi. PCR karışımı için primerler, hedef DNA, taq polimeraz, Taq polimeraz enzim tamponu ve MgCl<sub>2</sub> PCR tüplerine konuldu ve akabinde PCR cihazına yerleştirildi. Test organizmaları arasındaki benzerlik ve farklılığı ortaya koymak 16S rDNA bölgeleri PCR ile çoğaltıldı. Toplam 4 test organizması non-sporolasyon besi ortamında 3 gün süre ile 25 °C'de inkübe edildi. Bütün tamponlar hazırlanarak, gerekli maddeler ve enzimler ticari şirketlerden satın alındı. Elde edilen izolatların ve kontrol olarak kullanılan *Streptomyces* suşlarının izole edilen DNA'ların konsantrasyonları spektrofotometrik olarak, 260 nm dalga boyunda ölçüldü. 16S rDNA'yı çoğaltmak için 1492R (5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT3') ve 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3') spesifik primerleri kullanıldı. PCR amplifikasyonu Perkin Elmer DNA Thermal Cycler 480 ile 0.5 mL PCR tüpleri kullanılarak yapıldı. Taq DNA polimeraz, MgCl<sub>2</sub> solüsyonu ve Taq tamponu, deoksiribonükleotidler (dNTPs) ticari şirketlerden satın alındı (Fermentas). Tüm PCR karışımı (Çizelge 3.5) mikrofüj tüplerinde hazırlandıktan sonra düşük seviyede vortekslendi ve PCR cihazına yerleştirinceye kadar buzda tutuldu. PCR programı başlangıç 95 °C'de 5 dk, 35 döngü, denatürasyon için 95 °C'de 1 dk, annealing 55 °C'de 1 dk, uzama için 72 °C'de 1 dk ve son olarak 72 °C'de 10 dk olarak ayarlandı. PCR'da çoğaltılmış 16S rDNA'ları % 1'lik 0.5 µg/ml ethidium bromide içeren agaroz jelde (0.5 X TBE tampon) koşturuldu. Yaklaşık 5 µL PCR ürünü jel yükleme boyası (mavi renkli) ile birlikte karıştırılarak jele yüklendi ve 100V, 1 saat boyunca koşturuldu.

Çoğaltılan 16S rDNA segmenti moleküler marker ile (Gene Ruler<sup>TM</sup> 100 bp DNA Ladder Plus, MBI Fermentas) kıyaslanarak 1200 bp uzunluğundaki band tespit edildi (Kim ve ark, 1996; Rintala ve ark, 2001; Lanoot ve ark, 2005).

Çizelge 3.5. PCR cihazında her bir örnek için gerekli olan madde miktarları

Kullanılan Madde	Miktar
DNA örneği	5 µL
Deionize su	33.25 µL
MgCl <sub>2</sub>	3 µL
Primer Forward	1 µL
Primer Reverse	1 µL
ddntp	1 µL
Taq Tamponu	5 µL
Taq polimeraz	0.25 µL
Toplam	50 µL

16S rDNA'nın tesbit edilen 1200 bp uzunluğundaki PCR ürünü daha sonra dizi analizi için saflaştırıldı. Saflaştırma işlemi aşağıdaki gibi uygulandı;

1. PCR ürünün jel elektroforezde yürütülmesi için 2 µL (stok solüsyon 10 mg/mL) etidyum bromid ilaveli % 1'lik agaroz jel (40 ml 1xTBE, 0.4 g agaroz) hazırlandı.
2. Her bir organizmanın PCR ürünü, yükleme tamponu (brom fenol mavisi) ile homojenize edilerek jelin çukurlarına yüklendi.
3. Yükleme yapıldıktan sonra % 1'lik agaroz jelde 80 voltta 1 saat elektroforez edildi.
4. Sonuçlar UV trasillüminatör'de kontrol edildikten sonra, hedef ürünün bulunduğu jel bölgesi kesilerek eppendorf tüpe transfer edildi.
5. -18 °C'de en az 1 saat (gece boyunca) veya -70 °C'de 30 dk bekletildi.
6. Buzdan alınan örnekler sıcak su banyosunda 55 °C'de jel tamamen eriyinceye kadar (1saat) bekletildi.
7. 1/10 veya % 10 hacim 8 M LiCl<sub>2</sub> ilave edildi ve hafifçe pipet ile homojenize edilerek 10 dk. buz içerisinde soğutuldu.
8. Eppendorf tüpteki miktara eşit olacak şekilde (v/v) fenol-kloroform ilave edildi. Tüp el ile alt üst edilerek homojenizasyon sağlandı.
9. 13 000 rpm de 10 dk santrifüj edildikten sonra üst faz dikkatlice yeni steril eppendorf tüpe alındı.
10. Üst fazın 2.5 katı % 96'lık etil alkol ilave edildi. Tüp hafifçe alt üst edilerek DNA'nın çökmesi sağlandı.
11. -18 °C'de 1 saat veya -70 °C'de yarım saat bekletildi.
12. 13 000 rpm de 20 dk santrifüj edildikten sonra sıvıfaz uzaklaştırıldı.
13. 13 000 rpm de 5 dk % 70'lik etanol ile pellet 2 defa yıkandı.

14. Pellet oda sıcaklığında 30 dk bekletilerek kurutuldu.
15. 20-40 µL ddH<sub>2</sub>O ilave edilerek süspanse edildi.
16. PCR ürünü -18 °C’de tutuldu.
17. 3-5 µL PCR ürünü, PCR DNA marker ile birlikte % 1’lik agaroz jelde 100 voltta 15 dakika yürütüldü. Sonuçlar UV-transillüminatör’de (Vilber Lourmat, UV) gözlendi.

#### 3.7.4. 16S rDNA geninin baz dizilerinin saptanması

Test organizmalarının 16S rDNA’nın 1200 bp uzunluktaki kısmını kodlayan gen bölgeleri 1492R ve 27F primerleri kullanılarak Elmer DNA Thermal Cycler 480 yardımı ile çoğaltıldı. Amplifikasyon ürünleri % 1.5’luk agaroz jelde DNA Markeri ile 100 voltta 45 dk yürütülerek UV-Translimünatör üzerinde kontrol edildi. Amplifikasyon ürünleri otomatik sekanslama işlemi için hazır hale getirildi. Temsilci test organizmalarının 16S rRNA amplifikasyon ürünleri saflaştırıldıktan sonra hedef bölgenin baz dizilimi ABI PRISM™ Genetic Analyzer otomatik sekanslama cihazı kullanılarak elde edildi. 16S rDNA molekülünün yaklaşık 1200 baz çifti uzunluğunun sekanslanması için yine 1492R ve 27F primerleri kullanıldı.

16S rDNA sekans baz dizilerinin elde edilmesi aşağıda belirtilen uygulamalar sonucunda gerçekleştirilmiştir:

1. Sekanslama döngüsü, ABI PRISM™ BigDye™ FS, *AmpliTaQ*R DNA Polimeraz içeren Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit kullanılarak PE Applied Biosystems tarafından önerilen protokole göre yapıldı.
2. Sekanslama döngüsü karışımı, sekanslama şartları uygulanarak Thermal Cycler (ABI 9700, PE Applied Biosystems) da sekanslandı. Uzama ürünleri DyeEx 2.0 Spin Kit ile saflaştırıldı.
3. Saflaştırılan uzama ürünleri, Genetic Analyzer (ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer, PE Applied Biosystems) cihazına yerleştirildi ve Lazer Detektör ile otomatik olarak sekans okuması bilgisayara kaydedildi.

### 3.7.5. 16S rDNA baz dizilerinin analizi

NCBI/GenBank (Benson ve ark., 2004), EMBL (European Molecular Biology Lab., Kanz ve ark., 2005) gibi data banklar aracılığıyla *Streptomyces* 16S rDNA nükleotid baz dizileri Mega7 programı kullanılarak hem veri tabanındaki yakın türlerle hem de kendi aralarında analiz edildi. Zayıf nitelikli baz dizilerinin (belirsiz yani 'N' kodlu birkaç baz) genellikle sekans başları ve sonlarındaki bölgelerinde kesilerek uzaklaştırıldı. Tüm izolatların 16S rDNA nükleotid baz dizileri filogenetik dendogramların oluşturulması için kullanıldı. Mega7 programı için uygun algoritmayı hesaplamak için jModel test programı kullanıldı. İzolatların baz dizileri NCBI gen bankasına kaydedildi ve giriş numaraları (accession number) alındı. Mega7 programı ile neighbour-joining metodu kullanılarak türlerin sekans yapılan gen bölgelerine göre filogenetik pozisyonları ve benzerlik oranları belirlendi (Saitou ve Nei, 1987). Son olarak türlerin akrabalık durumlarının şematize edildiği dendogramlar oluşturuldu.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Sediment Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri

Van gölüne dökülen 8 ana akarsudan toplamda 24 farklı sedimant örneği alınmıştır. Her akarsudan ve akarsu yatağına ait bölgelerden yaklaşık 10 metre aralıklarla üç örnek olmak üzere toplamda 24 numune toplanmıştır. Örneklerin alındığı lokalitelerden bazı görüntüler Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Alınan örneklerin izolasyonu yapılmadan önce pH dereceleri ölçüldü ve bu işlem yapıldıktan sonra nem ölçümü yapıldı. pH ve nem oranlarını belirten oranlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Örneklerin alındığı lokalitelerden bazı görüntüler

Çizelge 4.1. Numunelerin alındığı bölgelerin pH ve nem oranları

Lab. No	Lokalite	Nem (%)	pH
F1	Karasu	65.0	7.12
F2	Karasu	67.6	7.17
F3	Karasu	71.2	7.30
F4	Bendimahi	57.1	6.59
F5	Bendimahi	59.3	6.67
F6	Bendimahi	64.8	7.00
F7	Deliçay	65.9	6.86
F8	Deliçay	66.1	6.92
F9	Deliçay	68.7	6.95
F10	Zilan	61.5	7.15
F11	Zilan	62.6	7.52
F12	Zilan	64.2	7.65
F13	Muradsu	57.4	6.98
F14	Muradsu	61.0	7.36
F15	Muradsu	63.2	7.41
F16	Karmuç	68.6	7.48
F17	Karmuç	70.1	7.70
F18	Karmuç	72.6	7.95
F19	Kotum	66.4	7.52
F20	Kotum	67.9	7.65
F21	Kotum	69.0	7.79
F22	Engil	51.9	7.17
F23	Engil	55.3	7.40
F24	Engil	57.8	7.55

#### 4.2. Numunelerden İzolasyon Çalışması Sonuçları

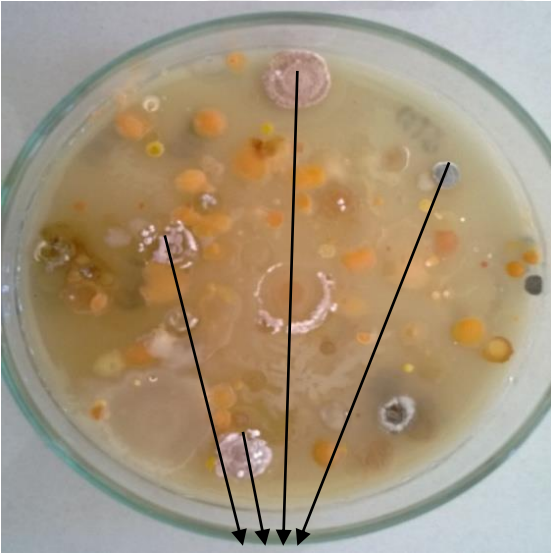
Bölge olarak 24 farklı noktadan alınan sediment örneklerinden *Streptomyces* bakterilerinin izolasyonu yapılmıştır. Antibakteriyal bir antibiyotik olan Cycloheximid (50 µg/ml) ve Antifungal bir antibiyotik olan nystatin (50 µg/ml) ilave edilmiş Bennet's Agar, SM3 Agar ve Medium 65 besi ortamlarında koloni oluşturan *Streptomyces* bakterileri havasal miselyum ve renk pigmentasyonuna göre izole edilmiştir. *Streptomyces* bakterileri dahil diğer mikroorganizmalarında çoğaldığı besiyeri görüntüleri Şekil 4.2'de ve *Streptomyces* bakterilerinin saflaştırma görüntüleri Şekil 4.3'de verilmiştir. İzolasyon çalışmaları sonucunda besiyerlerinde meydana gelen toplam kolonilerin *Streptomyces* bakterilerine oranları Bennet's Agar için şekil 4.3'te, SM3 Agar için şekil 4.4'te ve Medium 65 için şekil 4.5'te verilmiştir. İzolasyon sonucu farklı besiyerlerindeki mikroorganizma sayıları Çizelge 4.2'de verilmiştir



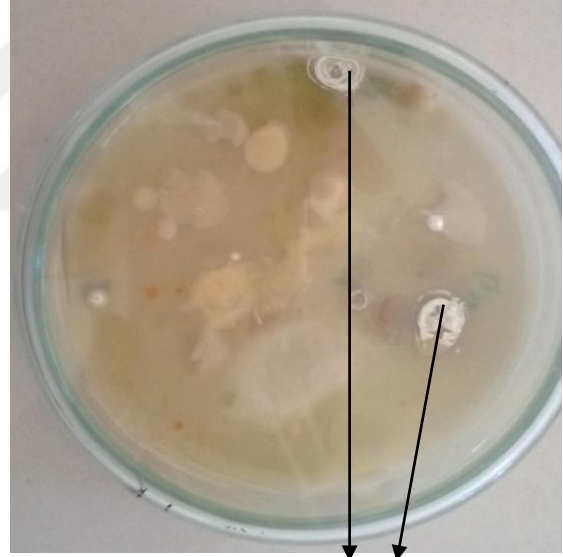
*Streptomyces*



*Streptomyces*



*Streptomyces*



*Streptomyces*

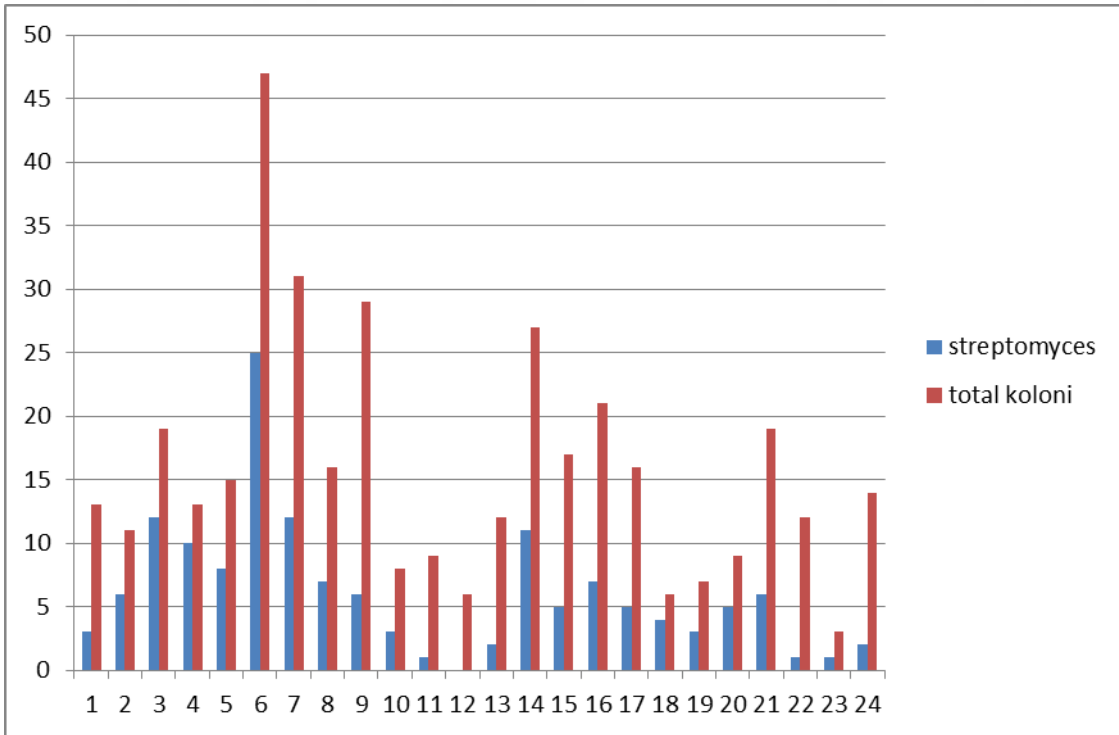
Şekil 4.2. *Streptomyces* bakterileri dahil diğer mikroorganizmalarında çoğaldığı besiyeri görüntüleri

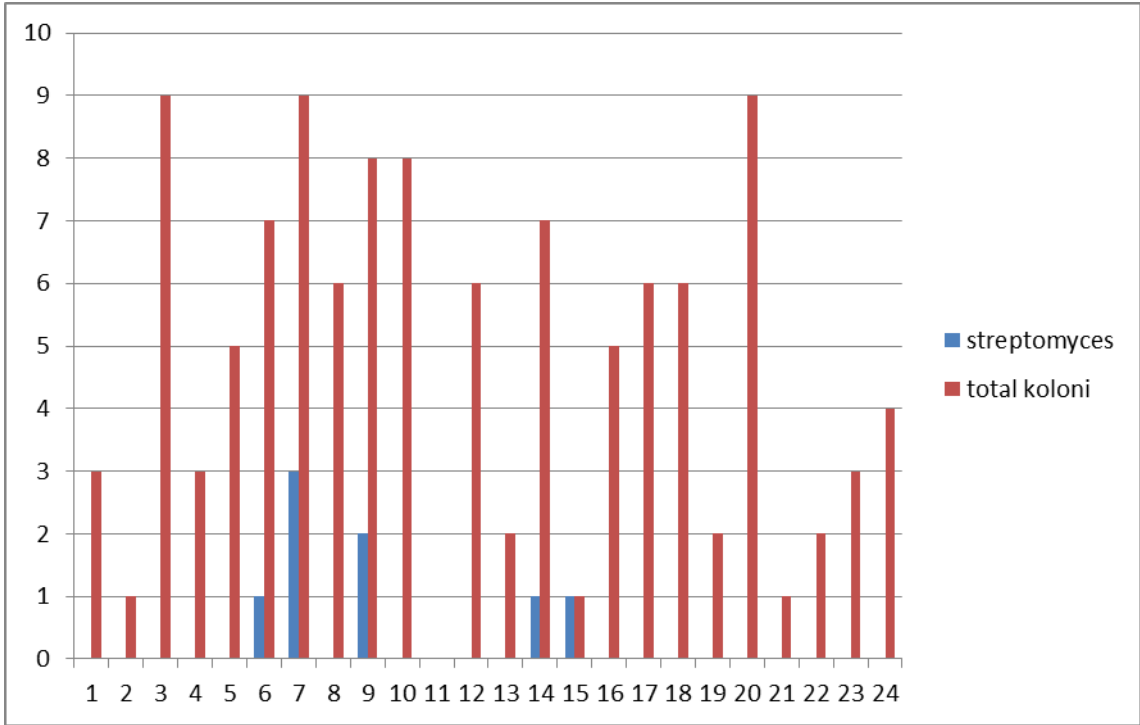


Şekil 4.3 *Streptomyces* bakterilerinin saflaştırma görüntüleri

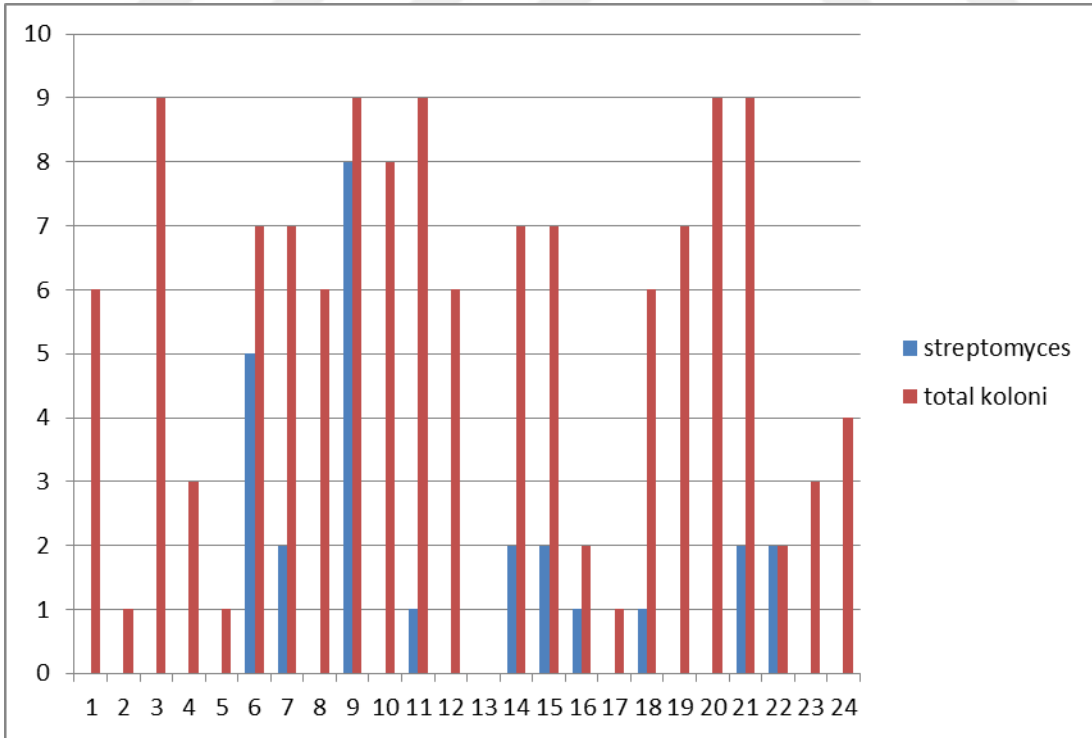
Çizelge 4.2. İzolasyon sonucu farklı besiyerlerinde çoğalan mikroorganizma sayıları

Lab No	Bennet's Agar		SM3		M65	
	Actinobacteria	<i>Streptomyces</i>	Actinobacteria	<i>Streptomyce</i>	Actinobacteria	<i>Streptomyces</i>
F1	13	3	3	0	6	0
F2	11	6	1	0	1	0
F3	19	12	9	0	9	0
F4	13	10	3	0	3	0
F5	15	8	5	0	1	0
F6	47	25	7	1	7	5
F7	31	12	9	3	7	2
F8	16	7	6	0	6	0
F9	29	6	8	2	9	8
F10	8	3	8	0	8	0
F11	9	1	0	0	9	1
F12	6	0	6	0	6	0
F13	12	2	2	0	0	0
F14	27	11	7	1	7	2
F15	17	5	1	1	7	2
F16	21	7	5	0	2	1
F17	16	5	6	0	1	0
F18	6	4	6	0	6	1
F19	7	3	2	0	7	0
F20	9	5	9	0	9	0
F21	19	6	1	0	9	2
F22	12	1	2	0	2	2
F23	3	1	3	0	3	0
F24	14	2	4	0	4	0

Şekil 4.4. Bennet's Agar'da meydana gelen toplam kolonilerin *Streptomyces* bakterilerine oranları



Şekil 4.5. SM3 Agar'da meydana gelen toplam kolonilerin *Streptomyces* bakterilerine oranları



Şekil 4.6 Medium 65'te meydana gelen toplam kolonilerin *Streptomyces* bakterilerine oranları

### 4.3. Renk Gruplandırması

İzolasyon sonucu elde edilen kültürlerden saf kültür meydana getirmek için Bennets Agar besiyerine ekim yapıldı. Bu metot kullanılarak 179 *Streptomyces* kolonisi saf bir şekilde elde edildi. Renk gruplandırması yapmak için oatmeal agar besiyeri hazırlandı. *Streptomyces* bakterileri oatmeal besiyerine ekildi ve inkübasyon için etüvde uygun sıcaklığa bırakıldı. İnkübasyon süresinden sonra sonuçlar değerlendirildi ve izolatlar renk çeşidine göre farklı gruplara ayrıldı. Oatmeal Agar Besiyerine ekilen izolatlardan elde edilen bazı görüntüler Şekil 4.6.'da verilmiştir. Renk gruplandırması yapılırken havasal miselyum rengi, substrat misel rengi ve difüziye renk pigmenti dikkate alındı. Gruplandırma sonucu havasal miselyum rengine göre 6, substrat misel rengine göre 7 ve difüziye renk pigmentine göre 5 renk grubu oluşmuştur. İzolatların renk grubu dağılımı ile ilgili istatistikler Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Oatmeal Agar besiyerine ekim yapılan *Streptomyces* izolatlarının 27°C'de 14 gün gelişimi sonucu oluşan renk grupları

Renk Grubu	Numune No	Havasal Miselyum Rengi	Substrat Miselyum Rengi	Difüziye Renk Pigmenti
1. Grup	HS001	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS004	Beyaz	Krem	Negatif
	HS005	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS006	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS007	Beyaz	Krem	Negatif
	HS018	Beyaz	Kahverengi	Kahverengi
	HS021	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS025	Beyaz	Kahverengi	Negatif
	HS028	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS043	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS044	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS045	Beyaz	Kahverengi	Kahverengi
	HS047	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS048	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS049	Beyaz	Krem	Negatif
	HS057	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS062	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS065	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS072	Beyaz	Krem	Negatif
	HS073	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS074	Beyaz	Turuncu	Turuncu
	HS075	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS076	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS078	Beyaz	Krem	Negatif
	HS079	Beyaz	Krem	Negatif
	HS080	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS084	Beyaz	Beyaz	Negatif

Çizelge 4.3. Oatmeal Agar besiyerine ekim yapılan *Streptomyces* izolatlarının 27°C'de 14 gün gelişimi sonucu oluşan renk grupları (Devamı)

Renk Grubu	Numune No	Havasal Miselyum Rengi	Substrat Miselyum Rengi	Difüzye Renk Pigmenti
1. Grup	HS091	Beyaz	Kahverengi	Kahverengi
	HS094	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS096	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS098	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS099	Beyaz	Krem	Krem
	HS114	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS115	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS119	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS124	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS125	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS126	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS127	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS128	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS130	Beyaz	Krem	Negatif
	HS131	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS134	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS135	Beyaz	Yeşil	Negatif
	HS146	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS148	Beyaz	Krem	Negatif
	HS150	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS151	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS155	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS159	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS163	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS164	Beyaz	Sarı	Negatif
	HS167	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS171	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS172	Beyaz	Beyaz	Negatif
	HS179	Beyaz	Beyaz	Negatif
2. Grup	HS002	Sarı	Sarı	Negatif
	HS003	Sarı	Sarı	Negatif
	HS017	Sarı	Sarı	Negatif
	HS035	Sarı	Sarı	Negatif
	HS037	Sarı	Sarı	Negatif
	HS040	Sarı	Sarı	Negatif
	HS042	Sarı	Sarı	Negatif
	HS058	Sarı	Kahverengi	Kahverengi
	HS083	Sarı	Sarı	Negatif
	HS088	Sarı	Sarı	Negatif
	HS089	Sarı	Beyaz	Negatif
	HS108	Sarı	Sarı	Negatif
	HS113	Sarı	Sarı	Negatif
	HS132	Sarı	Sarı	Negatif
	HS133	Sarı	Sarı	Negatif
	HS156	Sarı	Sarı	Negatif
	3. Grup	HS129	Turuncu	Turuncu
HS162		Turuncu	Turuncu	Negatif
4. Grup	HS008	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS009	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS012	Gri	Kırmızı	Kırmızı
	HS014	Gri	Yeşil	Negatif

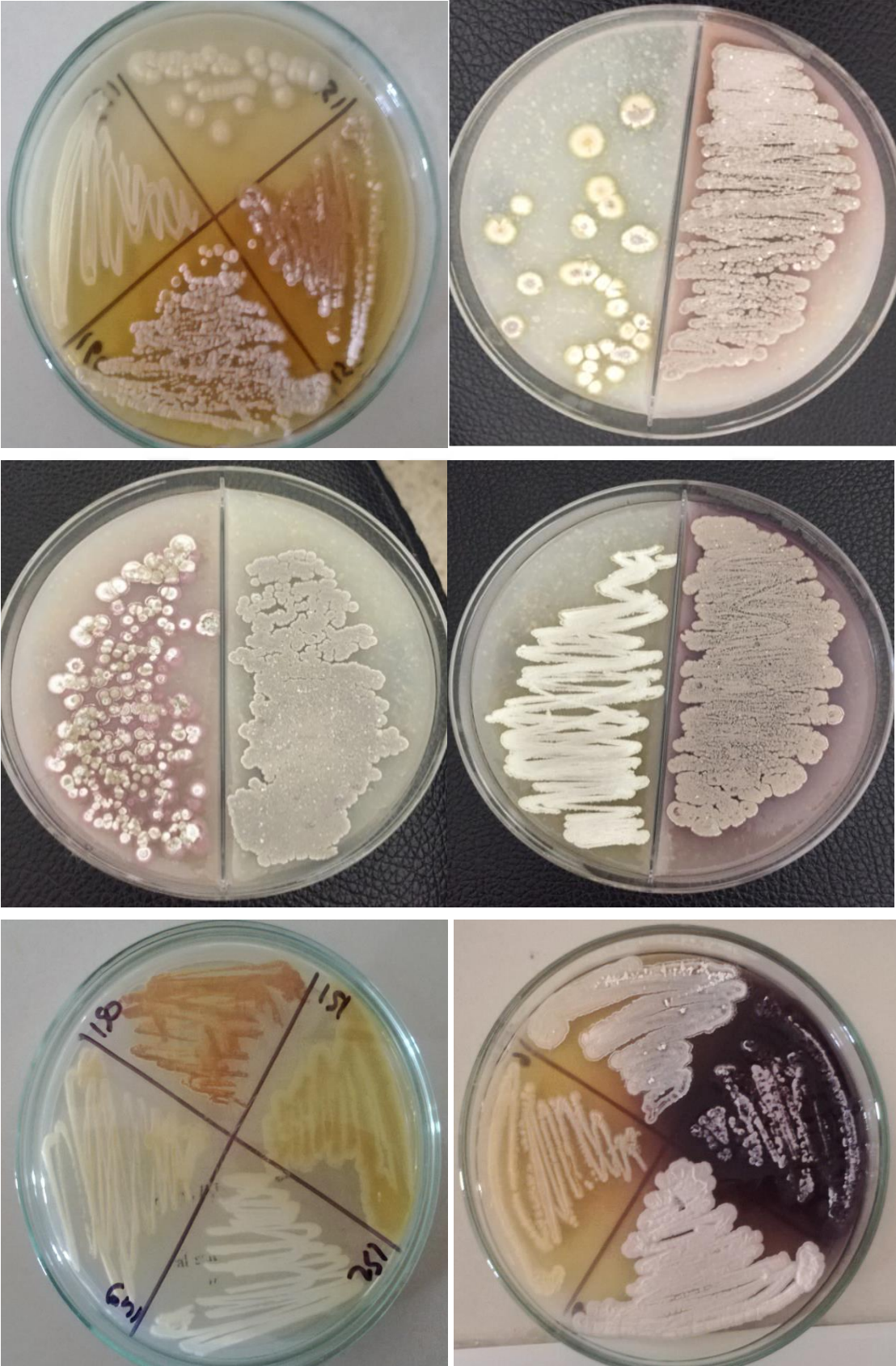


Çizelge 4.3. Oatmeal Agar besiyerine ekim yapılan *Streptomyces* izolatlarının 27°C’de 14 gün gelişimi sonucu oluşan renk grupları (Devamı)

Renk Grubu	Numune No	Havasal Miselyum Rengi	Substrat Miselyum Rengi	Difüziye Renk Pigmenti
4. Grup	HS015	Gri	Sarı	Krem rengi
	HS019	Gri	Krem rengi	Negatif
	HS020	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS023	Gri	Krem rengi	Negatif
	HS024	Gri	Beyaz	Negatif
	HS026	Gri	Sarı	Negatif
	HS027	Gri	Krem rengi	Negatif
	HS029	Gri	Kırmızı	Kırmızı
	HS030	Gri	Kırmızı	Kırmızı
	HS033	Gri	Yeşil	Negatif
	HS036	Gri	Beyaz	Negatif
	HS038	Gri	Kahverengi	Negatif
	HS039	Gri	Yeşil	Negatif
	HS050	Gri	Beyaz	Negatif
	HS053	Gri	Yeşil	Negatif
	HS054	Gri	Yeşil	Negatif
	HS055	Gri	Yeşil	Negatif
	HS056	Gri	Yeşil	Negatif
	HS059	Gri	Kırmızı	Negatif
	HS060	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS061	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS063	Gri	Sarı	Sarı
	HS064	Gri	Yeşil	Negatif
	HS069	Gri	Sarı	Negatif
	HS071	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS077	Gri	Yeşil	Negatif
	HS087	Gri	Krem rengi	Negatif
	HS093	Gri	Beyaz	Negatif
	HS097	Gri	Sarı	Negatif
	HS102	Gri	Yeşil	Negatif
	HS103	Gri	Krem rengi	Negatif
	HS105	Gri	Krem rengi	Negatif
	HS106	Gri	Krem rengi	Negatif
	HS138	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS139	Gri	Kırmızı	Kırmızı
	HS141	Gri	Kahverengi	Kahverengi
	HS144	Gri	Kahverengi	Kahverengi
HS147	Gri	Yeşil	Negatif	
HS154	Gri	Kırmızı	Kırmızı	
HS160	Gri	Krem rengi	Negatif	
HS166	Gri	Krem rengi	Negatif	
HS168	Gri	Beyaz	Negatif	
HS170	Gri	Krem rengi	Negatif	
5. Grup	HS010	Krem rengi	Sarı	Negatif
	HS011	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS013	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS016	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS022	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS031	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS032	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS034	Krem rengi	Krem rengi	Negatif

Çizelge 4.3. Oatmeal Agar besiyerine ekim yapılan *Streptomyces* izolatlarının 27°C’de 14 gün gelişimi sonucu oluşan renk grupları (Devamı)

Renk Grubu	Numune No	Havasal Miselyum Rengi	Substrat Miselyum Rengi	Difüzye Renk Pigmenti
5. Grup	HS041	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS046	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS052	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS066	Krem rengi	Kahverengi	Kahverengi
	HS067	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS068	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS070	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS081	Krem rengi	Sarı	Negatif
	HS082	Krem rengi	Sarı	Negatif
	HS085	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS086	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS090	Krem rengi	Kahverengi	Kahverengi
	HS092	Krem rengi	Kahverengi	Kahverengi
	HS095	Krem rengi	Sarı	Negatif
	HS100	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS101	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS104	Krem rengi	Beyaz	Negatif
	HS107	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS109	Krem rengi	Sarı	Negatif
	HS110	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS111	Krem rengi	Sarı	Negatif
	HS112	Krem rengi	Beyaz	Negatif
	HS116	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS117	Krem rengi	Kahverengi	Kahverengi
	HS118	Krem rengi	Sarı	Negatif
	HS120	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS121	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS122	Krem rengi	Krem rengi	Kahverengi
	HS123	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS136	Krem rengi	Kahverengi	Kahverengi
	HS137	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS140	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS142	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS143	Krem rengi	Kahverengi	Kahverengi
	HS145	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS149	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS152	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
	HS153	Krem rengi	Krem rengi	Negatif
HS157	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS158	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS161	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS165	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS169	Krem rengi	Sarı	Negatif	
HS173	Krem rengi	Beyaz	Negatif	
HS174	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS175	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS176	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS177	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
HS178	Krem rengi	Krem rengi	Negatif	
6. Grup	HS051	Mavi	Beyaz	Negatif



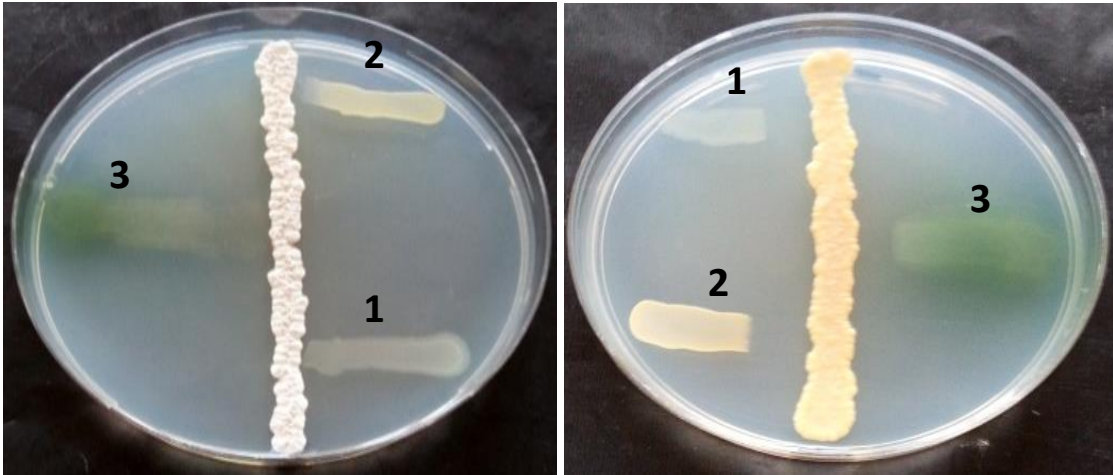
Şekil 4.7. Oatmeal Agar Besiyerine ekilen izolatlardan elde edilen bazı görüntüler

#### 4.4. Nümerik Taksonomi

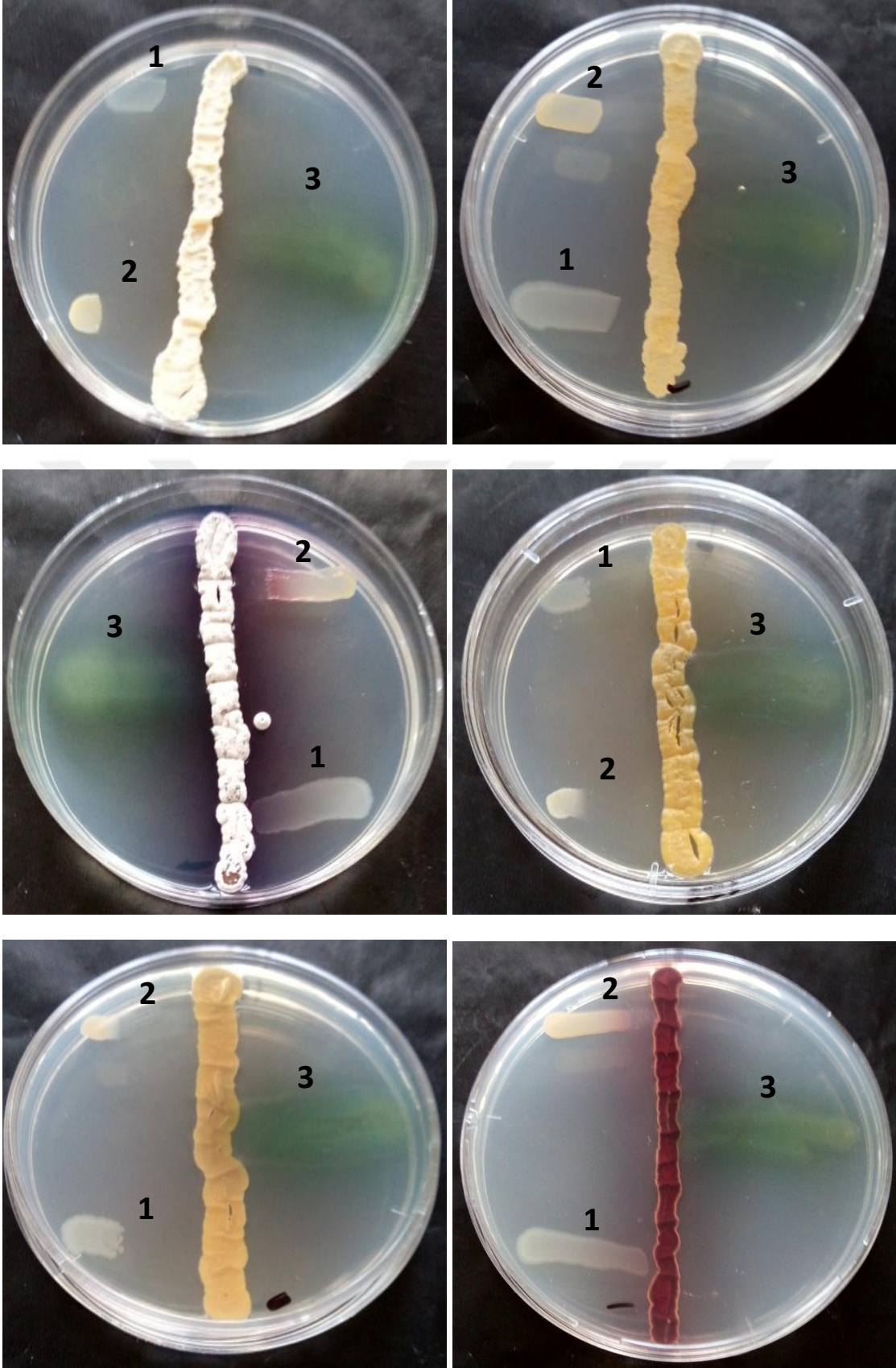
Uygun steril şartlar sağlandıktan sonra *Streptomyces* suşları her bir bakteri için iki izolat olacak şekilde %20'lik gliserolde muhafaza edilmiştir. Hazırlanan izolatlardan birincisi test çalışmaları için kullanılırken, ikincisi derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Yüzyetmişdokuz *Streptomyces suşu* için nümerik taksonomi yapılmadan önce renk gruplandırılması yapılmıştır.

##### 4.4.1. Antimikrobiyal aktivite

Yüzyetmişdokuz *Streptomyces* izolatı üzerine 3 tane patojen (1→*Esheria coli*, 2→*Staphylococcus aureus*, 3→*Pseudomonas aeruginosa*) test mikroorganizması denenmiş ve bu mikroorganizmaların saflaştırılmış *Streptomyces* türleri ile etkileşimi incelenmiştir. İzolatlar Bennet's Agar besiyerine ekildikten sonra yaklaşık 27°C'de 7 gün etüv'de bekletilmiştir. İnkübasyon süresinden sonra her *streptomyces* bulunan petri kutusuna patojenler mesafeli olacak şekilde ekildi. İnkübasyon için etüve bırakılan petriler 24 saat sonra incelendi ve antimikrobiyal faaliyetler tespit edildi. Şekil 4.7.'de antimikrobiyal aktivite sonrası elde edilen bazı görüntüler verilmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda *streptomyces* izolatlarının % 28.49'u *Esheria coli*'ye, % 48.04'i *Staphylococcus aureus*'a ve % 6.70'i *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antagonistik etkide bulunmuştur. HS087, HS107, HS117, HS149, ve HS179 kullanılan patojenlerin tamamına karşı antagonistik etki göstermiştir.



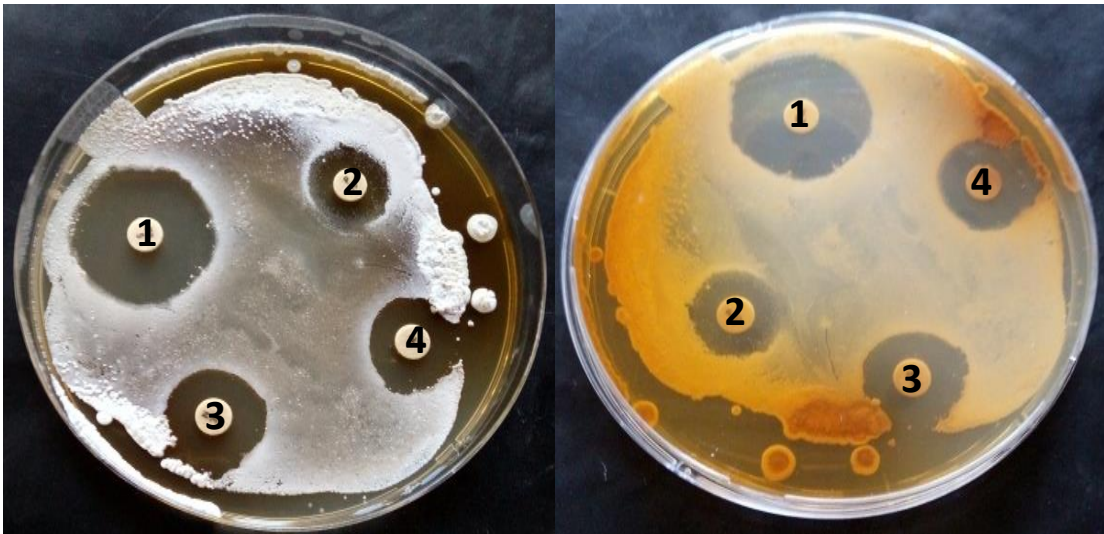
Şekil 4.8. Antimikrobiyal aktivite sonrası elde edilen bazı görüntüler (1→*Esheria coli*, 2→*Staphylococcus aureus*, 3→*Pseudomonas aeruginosa*)



Şekil 4.8. Antimikrobiyal aktivite sonrası elde edilen bazı görüntüler (1→*Esherichia coli*, 2→*Staphylococcus aureus*, 3→*Pseudomonas aeruginosa*)

#### 4.4.2. Antibiyotik duyarlılığı

179 *Streptomyces* izolatının dört farklı antibiyotiğe olan direnç ve duyarlılıklarının tespit edilmesi için Bennet's Agar besiyeri hazırlandıktan sonra elde edilen suşları için hazırlanmış sıvı ortamdan besi ortamlarına 5 µL ekim yapıldı. Bakterilerin homojen bir şekilde dağılması için petri kutusunda yayma işlemi yapıldı ve Rifamisin (50 µg/ml), Penisilin G (50 µg/ml) Neomisin (100 µg/ml) ve Oleandomisin (100 µg/ml), antibiyotikleri ile hazırlanmış diskler petrilere yerleştirildi ve 27 °C'de bir hafta bekletildi. Antibiyotiğin etrafında şeffaf bir zon meydana gelmiş ise bakterinin antibiyotiğe duyarlı olduğunu gösterir. Eğer antibiyotik disk etrafında herhangi bir zon meydana gelmemiş ise bakterinin antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu gösterir. *Streptomyces* izolatlarının % 87.70'i Rifamisin'e, % 55.86'sı Penisilin'e, % 97.76'sı Neomisin'e ve % 41.89'unun ise Oleandomisin antibiyotiğine karşı duyarlı olduğu tespit edildi. HS003, HS004, HS007, HS013, HS015, HS029, HS030, HS034, HS036, HS041, HS043, HS047, HS051, HS052, HS054, HS056, HS067, HS070, HS073, HS082, HS086, HS087, HS089, HS101, HS104, HS105, HS106, HS108, HS112, HS119, HS121, HS129, HS130, HS134, HS145, HS148, HS149, HS152, HS157, HS161, HS162, HS167, HS171, HS172, HS174, HS175, HS176 ve HS177 suşlarının kullanılan antibiyotiklerin tamamına karşı duyarlı olduğu tespit edildi. Antibiyotik duyarlılığı testleri sonucu elde edilen bazı görüntüler Şekil 4.9'de verilmiştir.



Şekil 4.9. Antibiyotik duyarlılığı testleri sonucu elde edilen bazı görüntüler (1→ Rifamisin, 2→ Penisilin, 3→ Neomisin, 4→ Oleandomisin)



Şekil 4.9. Antibiyotik duyarlılığı testleri sonucu elde edilen bazı görüntüler (1→ Rifamisin, 2→ Penisilin, 3→ Neomisin, 4→ Oleoandomisin)

#### 4.4.3. Degradasyon aktivite testleri

Saf bir şekilde elde edilmiş 179 *Streptomyces* suşu için degradasyonda kullanılacak maddelerin bulunduğu besiyerleri hazırlanmıştır. Besiyerlerine eklenen maddeler ve oranları Çizelge 4.4.'te vermiştir. Hazırlanan Bennet's agar besiyerlerine her bakteri suşundan 5 µL ekim yapılmıştır. Besiyerleri inkübasyon için 27 °C'de Etüve bırakılır. Yaklaşık 4 günlük inkübasyon süresi sonunda bakteri suşlarının etrafında şeffaf bir zon meydana gelmiş ise bakterilerin bu maddeleri degrede ettiği anlaşılır ve sonuç pozitifdir. Elde edilen sonuçlara göre *Streptomyces* bakterilerinin % 97.20'si Ksantin'i, % 96.08'i Guanin'i, % 49.72'si Kazein'i, % 96.08'i Arbutin'i, % 54.74'ü Üre'yi, % 96.64'ü Jelatin'i ve % 26.81'i Pepton'u degrede etmiştir.

Çizelge 4.4. Degradasyon aktivitesi için besiyerlerine eklenen maddeler ve oranları

Eklenen degradasyon maddesi	Besiyerindeki Miktar (%)
Ksantin	% 0.4
Kazein	% 1
Guanin	% 0.05
Arbutin	% 1
Üre	% 0.1
Jelatin	% 0.1
Pepton	% 1.5

#### 4.4.4. Büyüme testleri

İlk olarak *Streptomyces* suşları'nın farklı pH, sıcaklık ve tuz oranlarında gelişme durumları test edilmiştir. 27 °C *Streptomyces* izolatları'nın üremesi için optimum sıcaklık olarak belirlenmiştir. Bakteriler için ekstrem olabilecek 5 °C ve 45 °C de yapılan testlerde herhangi bir çoğalma meydana gelmemiştir. *Streptomyces* suşları'nın ortalama pH 7.15'te gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir. Farklı bir pH (4.2) aralığında yapılan gelişme testinde izolatların üremedikleri gözlenmiştir. Farklı tuz yoğunluğunda bakterilerin gelişme durumlarını incelemek için, % 5, % 10, % 15 NaCl içeren besiyerleri hazırlandı ve ekim yapıldı. İnkübasyon süresinden sonra besiyerlerinde kolonilerin gelişmediği görülmüştür. *Streptomyces* suşları'nın % 26.81'i Sodyum azit



(0.01), % 51.95'i Fenol (0.1), % 98.88'i Sodyum asetat (0.001) ve % 95.53'ü Sodyum sitrat (0.1) içeren besiyerinde gelişmiştir.

#### 4.4.5. Lipolizis Testi

*Streptomyces* suşları egg yolk agara ekilerek iki gün aralıklarla gözlem yapılmıştır. Lipolizis faaliyeti gösteren koloni etrafında 10-15 mm çapında meydana gelen parlak zon pozitif olarak değerlendirilmiştir. İzolatların % 14.52'si parlak zon oluşturmuştur.

#### 4.4.6. Pektin Hidrolizi

*Streptomyces* suşları pektin ilaveli besiyerine ekildikten sonra 6 gün etüve bırakılmıştır. İnkübasyon süresinden sonra ısıtılmış % 1'lik hekzadesiltrimetilamonyum bromid eklenmiştir. Kolonilerin etrafında meydana gelen zonlar pozitif olarak kabul edilmiştir. *Streptomyces* suşları'nın % 40.78'i zon oluşturmuştur.

#### 4.4.7. Azot kaynaklarının kullanımı

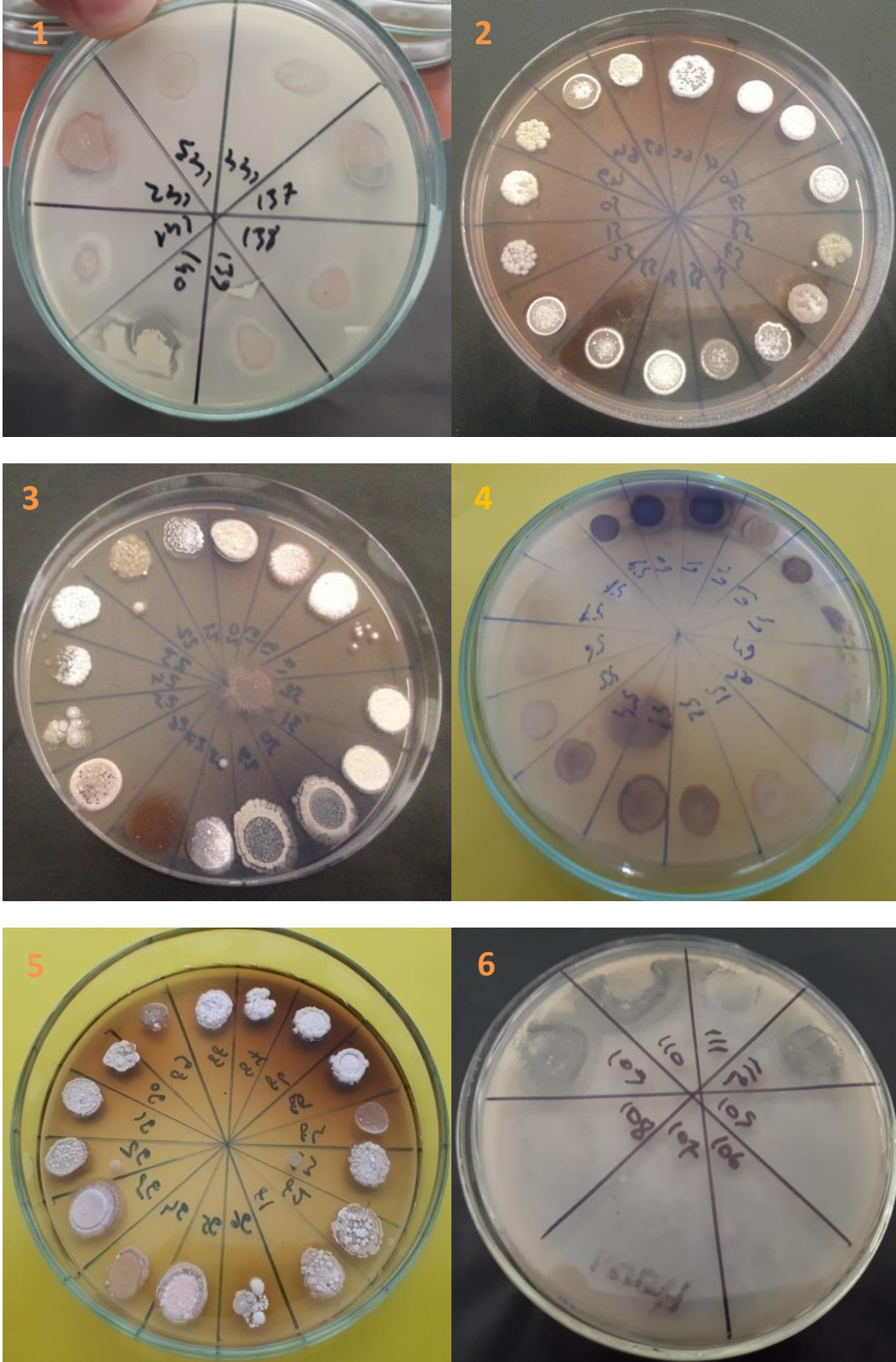
Azot kaynaklarının kullanımı tesleri için 12 azot kaynağı filtrasyon işleminden geçirilerek steril edilmiştir. Besiyerlerine % 0.1 oranında (Williams ve ark., 1983) azot kaynakları eklendikten sonra *Streptomyces* izolatlarının ekimi yapılmıştır. İnkübasyon için 27 °C'de 7 gün beklendikten sonra *L*-asparagin aminoasiti kriter alınarak diğer azot kaynaklarının üreme sonuçları kaydedilmiştir. *Streptomyces* izolatlarının % 100'ü *L*-Asparagin'i, % 99.44'ü *L* – Sistein'i, % 93.85'i *L* – Valin'i, % 97.76'sı *L* – Sistin'i, % 97.76'sı *L* – Arjinin'i, % 97.20'si *L* – Serin'i, % 92.17'si *L* – Metionin'i, % 97.76'sı *L* – Triptofan'ı, % 98.32'si *L* – Hidroksiprolin'i ve % 89.38'i *L*- Fenilalanin'i azot kaynağı olarak kullanmıştır.

#### 4.4.8. Karbon kaynaklarının kullanımı

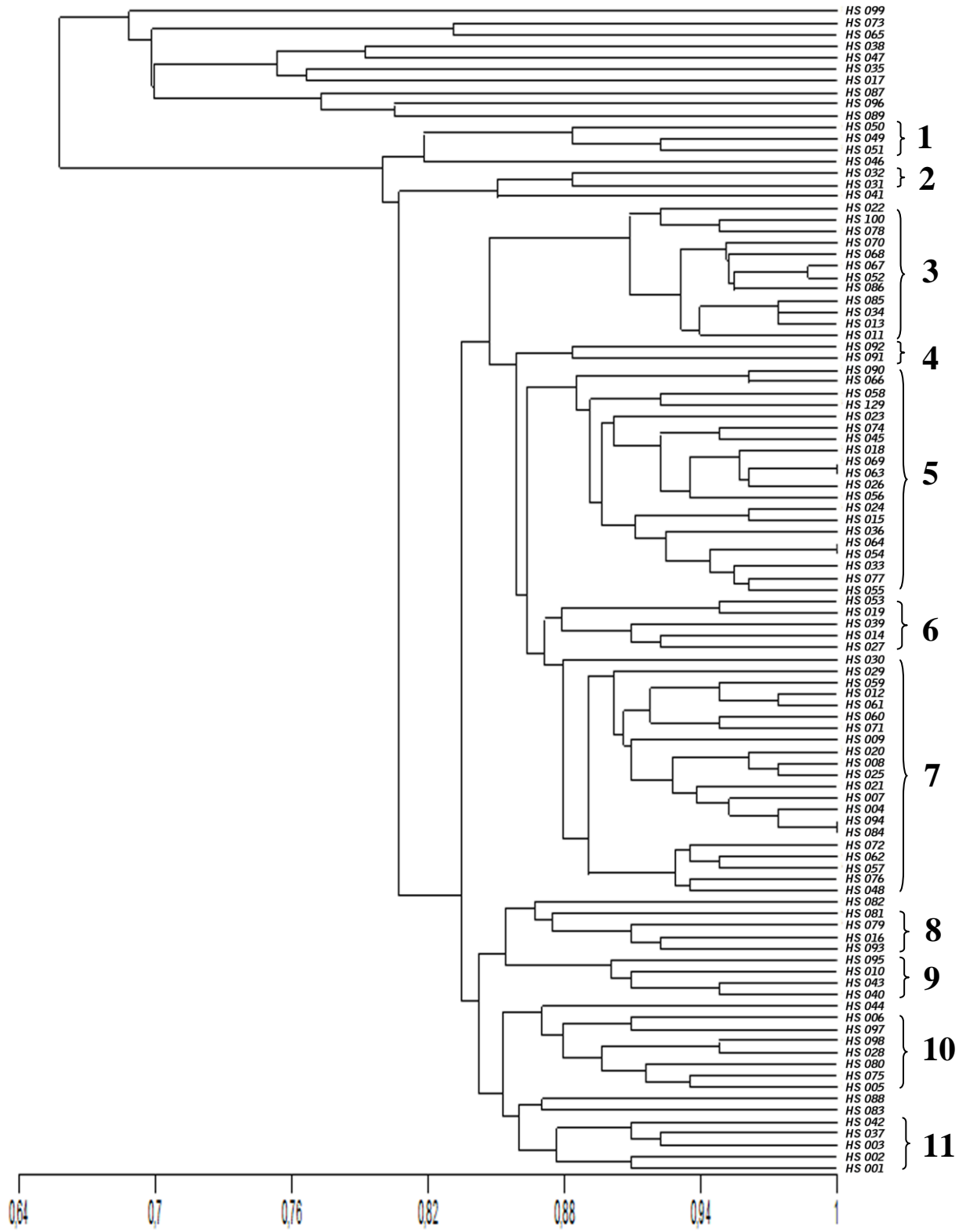
Karbon kaynaklarının kullanımı tesleri için 18 karbon kaynağı besiyeri (ISP 9) hazırlandı ve her bir karbon kaynağı için filtrasyon işlemi yapılarak sterilize edildi ve besiyerlerine eklendi. Saf bir şekilde elde edilen *Streptomyces* suşları için hazırlanmış sıvı ortamdaki besiyer ortamlarına 5 µl ekim yapıldı. İnkübasyon için 27 °C'de 7 gün beklendikten sonra glikoz içeren besiyerleri kriter alınarak diğer karbon kaynakları, üreme durumları ve koloni büyüklüklerine göre değerlendirilmiştir. Yapılan testler sonucunda *Streptomyces* izolatlarının % 91.62'si Laktoz'u, % 92.17'si Maltoz'u, % 97.20'si Sukroz'u, % 66.48'i Fruktoz'u, % 91.06'sı Galaktoz'u, % 93.29'u Mannoza'u, % 64.24'ü Arabinoz'u, % 48.04'ü Xyloz'u, % 77.65'i Ksilitol'ü, % 95.53'ü Mannitol'ü, % 93.85'i Ramnoz'u, % 96.08'i Arabitol'ü, % 97.76'sı Inositol'ü, % 100'ü Glikoz'u, % 92.73'ü Dulcitol'ü % 95.53'ü Trehaloz'u, % 95.53'ü Eritritol'ü ve % 89.38'i Cellobiose'u karbon kaynağı olarak kullanmıştır.

#### 4.4.9. Nümerik analiz sonuçları

İzolasyon sonucu elde edilen 179 *Streptomyces* suşu içerisinde renk grubuna göre seçilen 101 bakteri izolatu için uygulanan 77 testin verileri MVSP 3.22 programına girilerek SSM matrislerine göre UPGMA dendogram analizleri yapılmıştır. Simple Matching Coefficient analiz sonuçlarına göre *Streptomyces* bakterilerinin oluşturduğu dendogram Şekil 4.11' de verilmiştir. Bakteri suşlarının tamamı % 70 oranında benzerlik göstermiştir. Elde edilen dendogramda % 87 benzerlik oranı dikkate alındığında toplamda 11 küme oluşmuştur. Bu 11 küme içerisinde 4 majör ve 7 minör grup meydana gelmiştir. UPGMA dendogramında % 87 benzerlik oranına göre oluşan küme sayısı ve izolatların dağılımı Çizelge 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.10. Biyokimyasal testler sonucu elde edilen bazı görüntüler (1-Pektin hidrolizi, 2-Azot kaynakları, 3-Karbon kaynakları, 4-Degradasyon testi, 5-Büyüme testi, 6-Lipolizis testi)



Şekil 4.11. UPGMA dendrogram

Çizelge 4.5. UPGMA dendogramında % 87 benzerlik oranına göre oluşan küme sayısı ve izolatların dağılımı

Küme No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	HS050	HS032	HS022	HS092	HS090	HS053	HS030	HS081	HS095	HS006	HS042
	HS049	HS031	HS100	HS091	HS066	HS019	HS029	HS079	HS010	HS097	HS037
	HS051		HS078		HS058	HS039	HS059	HS016	HS043	HS098	HS003
			HS070		HS129	HS014	HS012	HS093	HS040	HS028	HS002
			HS068		HS023	HS027	HS061			HS080	HS001
			HS067		HS074		HS060			HS075	
			HS052		HS045		HS071			HS005	
			HS086		HS018		HS009				
			HS085		HS069		HS020				
			HS034		HS063		HS008				
			HS013		HS026		HS025				
			HS011		HS056		HS021				
					HS024		HS007				
					HS015		HS004				
					HS036		HS094				
					HS064		HS084				
					HS054		HS072				
					HS033		HS062				
					HS077		HS057				
					HS055		HS076				
							HS048				

#### 4.5. Bilgisayar yardımıyla yapılan tanı sonuçları

179 *Streptomyces* suşu için 77 majör ve minör test uygulandı. Test sonuçları Williams ve ark. (1983) tarafından oluşturulan matrisler kullanılarak bakterilerin teşhisi yapıldı. Teşhis için IDENTAX 1.2 programı kullanıldı. Teşhis sonuçları Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Elde edilen verilere göre IDENTAX programına göre 179 bakteri izolatından elde edilen verilere göre suşların benzerlik gösterdiği türlerin isimleri ve oranları majör ve minör testler için çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Suşların Majör ve Minör testler sonucu benzerlik gösterdiği türler ve oranları

Majör testler sonucu suşların benzerlik gösterdiği türler	Suş sayısı	Minör testler sonucu suşların benzerlik gösterdiği türler	Suş sayısı
<i>Streptomyces cyaneus</i>	48	<i>Streptomyces flaveolus</i>	58
<i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	25	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	44
<i>Streptomyces violaceus</i>	25	<i>Streptomyces xanthochromogenes</i>	32
<i>Streptomyces diastaticus</i>	19	<i>Streptomyces alboflavus</i>	18
<i>Streptomyces lydicus</i>	18	<i>Streptomyces nogalater</i>	8
<i>Streptomyces microflavus</i>	17	<i>Streptomyces glaucescens</i>	6
<i>Streptomyces fulvissimus</i>	10	<i>Streptomyces graminofaciens</i>	5
<i>Streptomyces antibioticus</i>	4	<i>Streptomyces prasinosporus</i>	4
<i>Streptomyces exfoliatus</i>	4	<i>Streptomyces tubercidicus</i>	1
<i>Streptomyces filipinensis</i>	4	<i>Streptomyces luridus</i>	1
<i>Streptomyces atroolivaceus</i>	1	<i>Streptomyces rochei</i>	1
<i>Streptomyces anulatus</i>	1	<i>Streptomyces roseus</i>	1
<i>Streptomyces chromofuscus</i>	1		
<i>Streptomyces chromogenus</i>	1		
<i>Streptomyces rochei</i>	1		

Çizelge 4.7. *Streptomyces* suşlarının IDENTAX 1.2 programı yardımıyla elde edilen teşhis sonuçları

İzolatlar	Majör	Minör
HS001	% 79.42 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.39 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS002	% 96.01 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 96.60 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS003	% 83.36 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 99.71 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS004	% 99.57 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 85.98 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS005	% 76.53 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.51 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS006	% 70.90 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 86.67 <i>Streptomyces roseus</i>
HS007	% 99.57 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 86.88 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS008	% 76.47 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 86.89 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS009	% 89.13 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 77.32 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS010	% 97.95 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 63.10 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS011	% 97.76 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 99.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS012	% 92.70 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 88.33 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS013	% 83.02 <i>Streptomyces anulatus</i>	% 68.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS014	% 77.86 <i>Streptomyces antibioticus</i>	% 85.92 <i>Streptomyces graminofaciens</i>
HS015	% 75.69 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 73.12 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS016	% 70.90 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS017	% 94.12 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 100 <i>Streptomyces prasinosporus</i>
HS018	% 98.85 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 62.34 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS019	% 89.99 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 78.24 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS020	% 98.74 <i>Streptomyces exfoliatus</i>	% 83.96 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS021	% 94.63 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 86.88 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS022	% 98.30 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 81.62 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS023	% 96.81 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.39 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS024	% 70.83 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 78.43 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS025	% 91.64 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 66.07 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS026	% 70.19 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 66.79 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS027	% 97.69 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.53 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS028	% 94.22 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 99.50 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS029	% 82.72 <i>Streptomyces exfoliatus</i>	% 93.18 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS030	% 88.80 <i>Streptomyces filipinensis</i>	% 92.57 <i>Streptomyces flaveolus</i>

Çizelge 4.7. *Streptomyces* suşlarının IDENTAX 1.2 programı yardımıyla elde edilen teşhis sonuçları (Devamı)

İzolatlar	Majör	Minör
HS031	% 94.94 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 99.53 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS032	% 85.58 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 84.80 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS033	% 83.65 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 69.18 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS034	% 85.05 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 70.30 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS035	% 93.16 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 78.73 <i>Streptomyces prasinosporus</i>
HS036	% 67.99 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 99.63 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS037	% 86.83 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 99.51 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS038	% 63.86 <i>Streptomyces filipinensis</i>	% 97.53 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS039	% 92.18 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 82.41 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS040	% 74.80 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS041	% 85.41 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 82.44 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS042	% 87.10 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.51 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS043	% 63.75 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 84.97 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS044	% 61.54 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 60.21 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS045	% 96.20 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 95.62 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS046	% 79.09 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 78.47 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS047	% 98.13 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.42 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS048	% 73.60 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 85.07 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS049	% 88.79 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 68.61 <i>Streptomyces prasinosporus</i>
HS050	% 95.90 <i>Streptomyces filipinensis</i>	% 97.35 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS051	% 82.95 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 97.48 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS052	% 74.17 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 99.64 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS053	% 91.01 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 86.28 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS054	% 70.46 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 78.24 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS055	% 91.01 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 86.28 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS056	% 66.21 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 85.35 <i>Streptomyces graminofaciens</i>
HS057	% 90.23 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS058	% 94.72 <i>Streptomyces chromogenus</i>	% 68.64 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS059	% 74.72 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 67.73 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS060	% 70.18 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 70.90 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS061	% 70.18 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 70.90 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS062	% 85.22 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS063	% 82.75 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.98 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS064	% 61.76 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 67.73 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS065	% 72.48 <i>Streptomyces chromofuscus</i>	% 73.68 <i>Streptomyces tubercidicus</i>
HS066	% 94.53 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.99 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS067	% 94.87 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 68.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS068	% 81.63 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 94.26 <i>Streptomyces glaucescens</i>
HS069	% 85.41 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 78.43 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS070	% 94.87 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 78.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS071	% 60.75 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 77.84 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS072	% 90.23 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS073	% 69.43 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.46 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS074	% 99.14 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 98.82 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS075	% 76.53 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.51 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS076	% 62.72 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.71 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS077	% 96.81 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 62.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS078	% 96.79 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 85.40 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS079	% 72.31 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS080	% 94.63 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 81.63 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS081	% 68.33 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS082	% 90.00 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 84.97 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS083	% 69.37 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 93.36 <i>Streptomyces alboflavus</i>

Çizelge 4.7. *Streptomyces* suşlarının IDENTAX 1.2 programı yardımıyla elde edilen teşhis sonuçları (Devamı)

İzolatlar	Majör	Minör
HS084	% 87.86 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.97 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS085	% 96.39 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.48 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS086	% 74.17 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 99.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS087	% 72.35 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 69.10 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS088	% 94.63 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 81.63 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS089	% 72.00 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 99.97 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS090	% 76.14 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 95.46 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS091	% 99.85 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 87.53 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS092	% 99.78 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 92.14 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS093	% 96.02 <i>Streptomyces antibioticus</i>	% 67.73 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS094	% 98.60 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 98.33 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS095	% 90.23 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 86.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS096	% 73.58 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 70.40 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS097	% 84.48 <i>Streptomyces antibioticus</i>	% 96.22 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS098	% 77.58 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.51 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS099	% 67.26 <i>Streptomyces atroolivaceus</i>	% 85.15 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS100	% 80.38 <i>Streptomyces exfoliatus</i>	% 100 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS101	% 73.23 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 99.39 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS102	% 74.91 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 85.74 <i>Streptomyces graminofaciens</i>
HS103	% 92.06 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 87.52 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS104	% 64.31 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 92.78 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS105	% 72.90 <i>Streptomyces rochei</i>	% 67.07 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS106	% 89.50 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 75.21 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS107	% 99.50 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.97 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS108	% 91.00 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 75.68 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS109	% 95.14 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 84.97 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS110	% 65.92 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS111	% 61.17 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 86.88 <i>Streptomyces luridus</i>
HS112	% 94.87 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 78.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS113	% 94.63 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 81.63 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS114	% 73.68 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 74.28 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS115	% 76.53 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.50 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS116	% 98.70 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.97 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS117	% 99.46 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 97.78 <i>Streptomyces nogalater</i>
HS118	% 91.30 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 99.66 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS119	% 83.36 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 99.71 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS120	% 71.36 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 68.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS121	% 94.87 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 94.26 <i>Streptomyces glaucescens</i>
HS122	% 99.15 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 87.33 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS123	% 93.00 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 94.26 <i>Streptomyces glaucescens</i>
HS124	% 90.46 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 81.63 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS125	% 90.46 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 66.49 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS126	% 90.46 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 81.63 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS127	% 90.46 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 79.96 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS128	% 82.79 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 89.47 <i>Streptomyces prasinusporus</i>
HS129	% 98.38 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 99.97 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS130	% 79.34 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 72.88 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS131	% 98.47 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 81.63 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS132	% 81.38 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 99.85 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS133	% 84.48 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 95.65 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS134	% 85.05 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 71.82 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS135	% 68.72 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.92 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS136	% 90.46 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 64.70 <i>Streptomyces alboflavus</i>



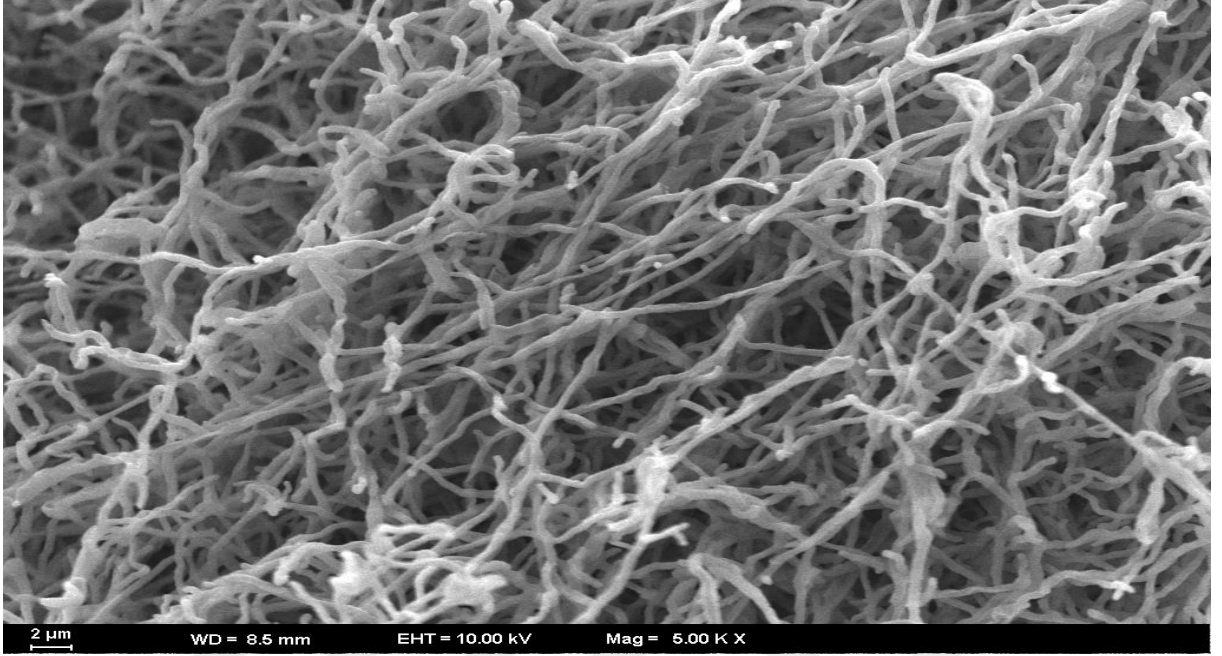
Çizelge 4.7. *Streptomyces* suşlarının IDENTAX 1.2 programı yardımıyla elde edilen teşhis sonuçları (Devamı)

İzolatlar	Majör	Minör
HS137	% 65.92 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS138	% 71.95 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 77.23 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS139	% 84.81 <i>Streptomyces filipinensis</i>	% 95.39 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS140	% 65.92 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 99.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS141	% 71.95 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 95.39 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS142	% 65.92 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 70.30 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS143	% 87.77 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 68.55 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS144	% 71.95 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 95.39 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS145	% 97.56 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 94.26 <i>Streptomyces glaucescens</i>
HS146	% 62.57 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 76.64 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS147	% 89.99 <i>Streptomyces antibioticus</i>	% 62.34 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS148	% 68.18 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 90.21 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS149	% 80.17 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 99.97 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS150	% 61.92 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 97.23 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS151	% 76.53 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.51 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS152	% 80.83 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 88.07 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS153	% 91.91 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 94.26 <i>Streptomyces glaucescens</i>
HS154	% 85.13 <i>Streptomyces exfoliatus</i>	% 75.25 <i>Streptomyces cellulosa</i>
HS155	% 61.54 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 84.60 <i>Streptomyces alboflavus</i>
HS156	% 71.36 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 89.88 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS157	% 91.00 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 72.88 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS158	% 95.72 <i>Streptomyces violaceus</i>	% 72.88 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS159	% 87.86 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 94.84 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS160	% 87.52 <i>Streptomyces diastaticus</i>	% 98.85 <i>Streptomyces graminofaciens</i>
HS161	% 68.18 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 90.21 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS162	% 98.18 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 99.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS163	% 94.63 <i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	% 81.63 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS164	% 76.53 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 87.54 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS165	% 93.00 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 97.27 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS166	% 98.19 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.83 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS167	% 85.05 <i>Streptomyces fulvissimus</i>	% 99.59 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS168	% 86.91 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 72.57 <i>Streptomyces aureofaciens</i>
HS169	% 93.00 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 94.26 <i>Streptomyces glaucescens</i>
HS170	% 64.20 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.92 <i>Streptomyces graminofaciens</i>
HS171	% 94.87 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 68.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS172	% 68.18 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.27 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS173	% 93.00 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 68.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS174	% 68.18 <i>Streptomyces lydicus</i>	% 99.64 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS175	% 94.80 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 97.27 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS176	% 94.87 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 68.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS177	% 94.87 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 97.27 <i>Streptomyces xanthochromogenes</i>
HS178	% 93.00 <i>Streptomyces cyaneus</i>	% 68.93 <i>Streptomyces flaveolus</i>
HS179	% 98.28 <i>Streptomyces microflavus</i>	% 99.56 <i>Streptomyces aureofaciens</i>

#### 4.6. Spor Zincir Morfolojisinin Elektron Mikroskobu (SEM) ile Belirlenmeleri

Renk grubuna göre tespit edilmiş bazı *Streptomyces* izolatlarının Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile spor zincir morfolojilerine bakılmıştır. HS025 koloni görüntüsü dışında HS002, HS012, HS056, HS069, HS112 izolatlarının knobby

(budaklı) görüntüsü oluşturduğu görülmüştür. *Streptomyces* izolatlarının Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüsü Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de verilmiştir.



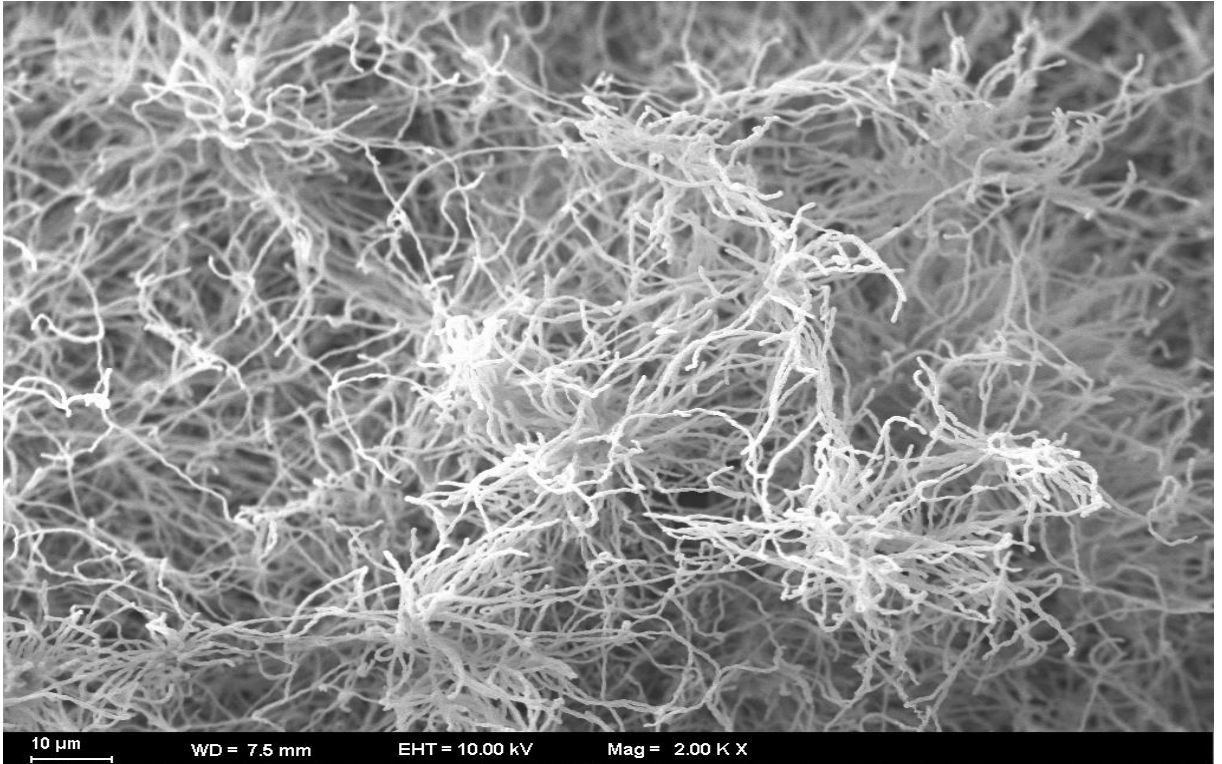
Şekil 4.12. HS002 nolu izolatın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü



Şekil 4.13. HS012 nolu izolatın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.



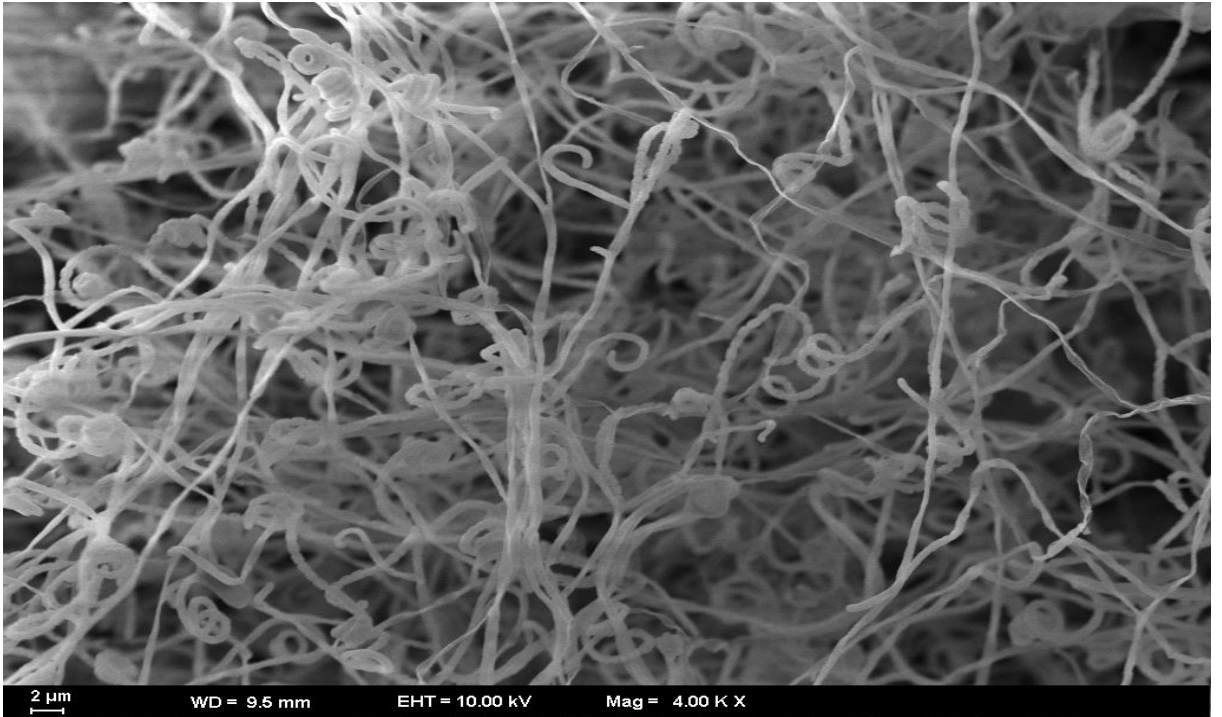
Şekil 4.14. HS025 nolu izolatin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.



Şekil 4.15. HS112 nolu izolatin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.



Şekil 4.16. HS056 nolu izolatin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.



Şekil 4.17. HS069 nolu izolatin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü.

#### 4.7. Genomik DNA İzolasyonu

Ausubel ve ark. (1994) tarafından geliştirilen yöntem yardımıyla 11 bakteri suşundan elde edilen genomik DNA'lar, % 1'lik agaroz jelde yürütüldü

#### 4.8. 16S rDNA'nın PCR Amplifikasyonu

11 *Streptomyces* suşundan DNA izolasyonu yapıldıktan sonra PCR ve Elektroforez işleminin gerçekleştirilmesi için gerekli olan maddeler hazırlandı. PCR işlemi için genellikle *Streptomyces* bakterilerinin 16S rDNA bölgeleri için dizayn edilen 27 Forward ve 1492 Revers primerleri kullanıldı. Uygun steril şartlar sağlandıktan sonra 1200 bp büyüklüğündeki DNA bölgesi PCR yapılarak çoğaltıldı. İşlem sonucu elde edilen ürünler % 1.5 lik agaroz içeren jelde yürütüldü. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra görüntüleme işlemi yapıldı.

#### 4.9. 16S rDNA Gen Bölgesinin Analizi

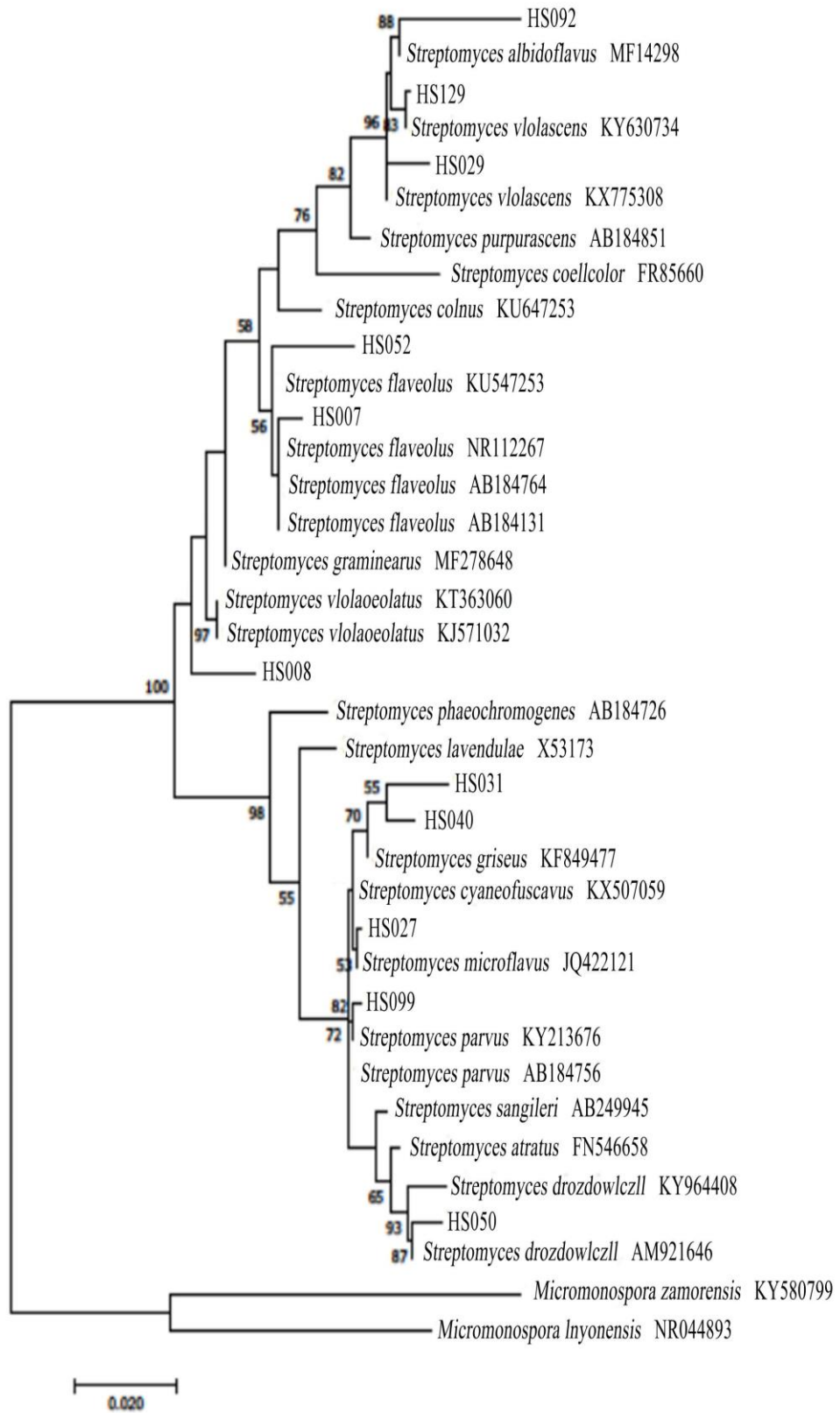
11 *Streptomyces* suşundan elde edilen PCR ürünlerinin 16S rDNA gen bölgesinin dizi analizi için BM Laboratuar Sistemleri firmasına hizmet alımı yapılarak sekanslama işlemi yaptırıldı. Elde edilen diziler sırasıyla NCBI-GENBANK-Nukleotit aşamalarından sonra tespit edilen yakın türler ile birlikte MEGA-7 programına aktarıldı. MEGA-7 programında dizilerin uzunlukları dengelendikten sonra akrabalık derecesinin tespit edilmesi için filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Oluşturulan Maksimum Likelihood filogenetik ağacına göre iki ana klad meydana gelmiştir. Bunlardan birincisi *Streptomyces* türleri için oluşurken ikincisi micromonospora türleri için meydana gelmiştir. *Streptomyces* türleri kendi arasında iki klad'a ayrılmıştır.

Üst tarafta meydana gelen klad'da kendi arasında kümelenmeler meydana getirmiştir. Üst taraftaki kümelenmede *Streptomyces violascens* KX775308, HS029, HS092, *Streptomyces coelicolor* FR856603, *Streptomyces violascens* KY630734, *Streptomyces purpurascens* AB184851, *Streptomyces coelicolor* FR856603, *Streptomyces albidoflavus* MF114298, HS129, HS007, *Streptomyces flaveolus*

NR112267, HS052, *Streptomyces collinus* JN187857, *Streptomyces flaveolus* KU647253, HS008, *Streptomyces violaceolatus* KT363060, *Streptomyces flaveolus* AB184764, *Streptomyces graminearus* MF278648 *Streptomyces flaveolus* AB184131 türleri kendi arasında alt gruplar meydana getirmiştir.

Alt taraftaki kümelenmede ise *Streptomyces phaeochromogenes* AB184726, *Streptomyces sanglieri* AB249945, *Streptomyces atratus* FN646668, *Streptomyces drozdowiczii* KY964408, HS050, *Streptomyces griseus* KF849477, HS027, *Streptomyces microflavus* JQ422121, HS031, *Streptomyces cyaneofuscatus* KX507059, HS040, HS099, *Streptomyces parvus* KY213676, *Streptomyces lavendulae* X53173, *Streptomyces parvus* AB184756, *Streptomyces drozdowiczii* AM921646 türleri kendi arasında alt gruplar oluşturmuştur.



Şekil 4.18. 16S rDNA analizi sonucunda MEGA 7 programı ile oluşturulan Maksimum Likelihood (ML) filogenetik ağacı (Bootstrap değerleri % 50'nin üzerinde olanlar verilmiştir).





## 5. TARTIŞMA SONUÇ

Bu çalışma 2016 yılı içerisinde Van Gölü'ne dökülen 8 ana akarsudan sediment örneklerinin alınması ile başlamıştır. Alınan numunelerden izole edilen *Streptomyces* bakterilerinin nümerik ve moleküler teknikler kullanılarak teşhisi yapılmıştır. İzolsyon işlemi yapıldıktan sonra saf kültürler elde edilmiştir. Elde edilen 179 *Streptomyces* bakterisine gelişim, biyokimyasal ve morfolojik olmak üzere toplamda 77 test uygulanmıştır. Yapılan testlerin sonuçları kullanılarak, nümerik analiz sonucu türlerin benzerlik dendogramı oluşturulmuştur. Yüzyetmişdokuz izolattan, renk gruplarını temsilen 7 türün spor zincir morfolojisi elektron mikroskobu yardımıyla tespit edilmiştir. 11 izolatın 16S rDNA gen bölgesinin dizi analizi yapılarak türlerin nümerik ve filogenetik pozisyonları belirlenerek teşhisleri yapılmıştır.

### 5.1 İzolasyon

*Streptomyces* bakterilerini sucul ve karasal ortamlardan izole etmek mümkündür (Korn-Wendish ve Kutzner, 1992). *Streptomyces* türleri buldukları ortamda, yaşam alanının özellikleri olan bitki örtüsü, toprağın organik madde içeriği ve türü, iklim, sıcaklık, toprağın nem oranı, pH gibi biyotik ve abiyotik birçok faktörden etkilenir (Kieser ve ark., 2000). Toprak, *Streptomyces* bakterilerinin üremesi ve hayatta kalması için en iyi yaşam ortamıdır (Yousif ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda tatlı sulardan alınan sediment örneklerinden *Streptomyces* bakterileri izole edilmiştir.

Özdemir (2008) yaptığı çalışmada bazı bitki türlerinin köklerinden alınan toprak numunelerinden 230 *Streptomyces* bakterisi izole etmiştir. Yaptığımız çalışmada akarsu ortamından alınan sedimentlerden elde ettiğimiz izolat sayısı 179 olarak tespit edilmiştir. Bu noktada Van Gölü havzasında, *Streptomyces* bakteri sayısı dikkate alındığında toprak florasının akarsu ortamına göre daha yoğun olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak sucul ortamda *Streptomyces* izolat sayısının az olmasının sebebi bu bakterilerin ana habitatının toprak olmasından kaynaklanmaktadır. Buna karşın Veyisoğlu'nun (2014) yaptığı çalışmada Karadeniz dip sedimentinden aldığı

örneklerden birçok yeni tür tespit etmesi bu çalışmada ısrarcı olmamızın sebeplerinden biri olmuştur.

Yapmış olduğumuz çalışmada Van Gölü'ne dökülen 8 akarsudan toplamda 24 sediment örneği alınmıştır. Numuneler alınırken bölgelerin koordinatları ve alınış tarihleri kayıt altına alınmıştır. Nem oranları % 51.9 ile % 72.6 arasında değişkenlik göstermiştir. pH oranlarının ise 6.86 ile 8.00 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. *Streptomyces* bakterilerinin çoğaldığı Bennet's Agar (Wakisaka ve ark., 1982), Medium65 (Rowbotham ve Cross, 1977) ve SM3 (Tan ve ark., 2006) besiyerlerine ekim yapılmıştır. Besiyerleri hazırlanırken özellikle küf oluşumuna sebep olan funguslar izolasyon sürecinde kontaminasyona sebep olmuştur. Bu sıkıntının giderilmesi için Sikloheksimid (Goodfellov ve Haynes, 1984) antibiyotiği belirli oranlarda kullanılmıştır. Aynı şekilde gram (-) bakterilerin çoğalmasını engellemek amacıyla Nystatin (Falconer, 1988) ve Novobiocin (Torikata ve ark., 1983) antibiyotikleri belirli oranlarda kullanılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri inkübasyon için İnkübasyon süresinden sonra morfolojik duruma göre yapılan sayım işlemi sonucunda Bennet's Agar besiyerinde 145, SM3 besiyerinde 8, Medium65 besiyerinde ise 26 olmak üzere toplamda 179 *Streptomyces* bakterisi izole edilmiştir. Yapılan son çalışmalar sucul ortamlardan alınan sediment örneklerinden *Streptomyces* bakterilerinin çoğalması için Bennet's Agar besiyerinin uygun olduğunu göstermiştir (Veyisoğlu, 2014). İzolasyon çalışmasında, F6 (Bendimahi) istasyonunda 31, F7 (Deliçay) istasyonunda 17 ve F9 (Deliçay) istasyonunda 16 tür tespit edilmiştir. Hafif alkali ve nötr pH'ya sahip topraklarda çok sayıda *Streptomyces* bakterisi gözlemlendi (Watkins, 2013). *Streptomyces* bakterilerinin çoğalma oranlarının yüksek olduğu istasyonlarda nem oranının % 64.8 ile % 68.7 arasında ve pH 6.86 ile 7.00 arasında olduğu görülmüştür. Veyisoğlu (2014) yaptığı çalışmada Karadeniz dip sedimentinden aldığı örneklerin fizikokimyasal analizleri sonucu pH oranlarını 7.51 ve 7.59 olarak tespit etmiştir. *Streptomyces* bakteri oranının yüksek olması, pH ve nem oranlarının paralellik göstermesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Moleküler karakterizasyonun analiz sonuçlarına göre habitatlar dikkate alındığında HS007 HS052, *Streptomyces phaeochromogenes* (EU841549), *Streptomyces collinus* (KY558686), *Streptomyces flaveolus* (KU647253)'ün yer aldığı kümedeki bakterilerin tamamı ile habitat benzerliği göze çarpmaktadır. HS092, HS129

ve *Streptomyces coelicolor* (KY305481) bakterilerinin tamamı sucul ortamdan izole edildiği için habitat uyumunun yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı şekilde HS008, *Streptomyces violaceolatus* KT363060 ve *Streptomyces graminearus* MF278648'in yüksek oranda habitat uyumu gösterdiği görülmüştür.

Genel anlamda habitat olarak *Streptomyces* bakterilerinin toprak ortamında oran olarak yüksek olduğu bilinmektedir. Fakat toprak ve su geçişlerinin olduğu ekoton bölgelerde bu oranın göz ardı edilmemesi gerektiğini göstermektedir. Sonuçta karasal, geçiş bölgeleri ve sucul bölgelerde coğrafik izolasyon gibi faktörlerden kaynaklı genetik sürüklenmeler sonucunda farklı tür oluşumlar ortaya çıkabileceği gibi, farklı bölgelerde aynı tür adaptasyonlarında oluşabileceği söz konusu olabilir.

Renk grubu çalışmasında havasal miselyum rengine göre 6, substrat misel rengine göre 7 ve diffüziye pigment üretimine dayalı 5 renk grubu oluşmuştur. *Streptomyces* bakteri çeşitliliğinin sucul ortamlarda, toprakta bulunma oranlarına göre daha az olması renk grubu sayısının daha az olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

## 5.2. Nümerik Taksonomi ve Bilgisayar Yardımı ile Tanı

Nümerik taksonomi; nümerik olarak kodlanan ve bir karakter olarak kabul edilen veriler için çeşitli yöntemlerin kullanılması ve organizmaların bütünsel olarak benzerliğine dayanarak kümelere yerleştirilmesi sonucu, dendogramlar oluşturulup ilişkilerin ortaya konmasıdır (Manfio, 1995). *Streptomyces* bakterilerinin sistematigi üzerine yapılmış olan ilk çalışmalar, genellikle morfoloji ve pigment oluşumuna dayalı olduğu için *Streptomyces* bakteri sayısında artışa neden olmuştur. Böylece yeni türlerin sınıflandırılması ve teşhisi için kabul edilen yöntemlerin eksikliği, *Streptomyces* bakterilerinin morfolojik ve çoğalma kültürü karakterlerindeki farklılıklar çerçevesinde adlandırılmasına neden olmuştur. Bu şekilde *Streptomyces* bakterilerinin sayısı 1970'lerde 3000'e kadar ulaşmıştır. Bu suşların çoğunun birbirlerinin benzeri olduğu düşünülmektedir (Anderson ve Wellington, 2001). *Streptomyces* bakterilerinin sistematigindeki sorunların çözülmesindeki en önemli katkıyı çok sayıda fenotipik özelliğin kullanılması sonucu meydana gelen nümerik taksonomi sağlamıştır. Nümerik taksonomi sistemlerinden elde edilen bilgiler ışığında, *Streptomyces* bakterilerinin tanımlaması için veritabanları oluşturulmuştur (Williams ve ark., 1983).

*Actinomycetes* arasındaki akrabalığın tespit edilmesinde species ve subspecies seviyesine uygun bir yöntem olan nümerik taksonomi, bakteriyel sistematikte birinci temel basamağı oluşturmaktadır (Kim ve ark., 1999). Nümerik taksonomi çalışmaları ve bilgisayar yardımıyla teşhisi gerçekleştirmek için 179 *Streptomyces* bakterisine, havasal spor oluşumu, substrat miselyum oluşumu, difüziye pigment oluşumu, antimikrobiyal aktivite, degradasyon testleri, büyüme ve gelişme, azot kaynakları, karbon kaynakları antibiyotik duyarlılığı olmak üzere 9 test grubu olmak üzere 77 test uygulanmıştır. Yapılan test sayısının yüksek olması teşhis aşamasında daha güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır.

Nümerik taksonomi sonuçları, seçilmiş olan test ve organizma, testlerde ortaya çıkan hatalar ve analiz edilen organizmaların genetik kararsızlıkları gibi unsurlar olumsuz etkiler. Bu yüzden nümerik taksonomik sonuçlar, polifazik taksonomi ile desteklenmelidir (Özdemir, 2008). Nümerik taksonomi ile beraber moleküler karakterizasyonun da yapılması ile daha sağlıklı sonuçların elde edileceği düşünülmektedir. Yüzyetmişdokuz *Streptomyces* bakterisi için uygulanan testlerin sonuçları IDENTAX 1.2 programına aktararak bakterilerin benzerlik oranlar tespit edilmiştir. Majör testlerden elde edilen verilere göre bakterilerin % 18.43'ü (33) teşhis edilen türlere % 95 ve üzerinde benzerlik göstermiştir. Testlerden elde edilen sonuçların yüksek oranlara sahip olması, kullanılan teşhis matrisinin fazla olmasından kaynaklandığı ve dolayısıyla uygulanan test sayısının artması daha güvenilir sonuçların ortaya çıkmasının kaçınılmaz olduğunu göstermektedir. HS004 HS007 suşları % 99.57 *Streptomyces violaceus* olarak teşhis edilmiştir. Minör testlerden elde edilen verilere göre bakterilerin % 35.75'i (64) teşhis edilen türlere % 95 ve üzerinde benzerlik göstermiştir. HS001, HS023 ve HS101 suşları % 99.39 HS084, HS107, HS116 ve HS149 suşları % 99.97 *Streptomyces xanthochromogenes* olarak teşhis edilmiştir. HS005, HS037, HS042, HS075, HS098 ve HS151 % 99.51 *Streptomyces aureofaciens* olarak teşhis edilmiştir. HS011, HS086, HS110, HS137, HS140, HS162 ve HS172 % 99.27 *Streptomyces flaveolus* olarak teşhis edilmiştir. HS005, HS037, HS042, HS075, HS098 ve HS151 % 99.51 *Streptomyces aureofaciens* olarak teşhis edilmiştir. HS017 % 100 *Streptomyces prasinosporus* ve HS100 %100 *Streptomyces xanthochromogenes* olarak teşhis edilmiştir. Mevcut çalışmamızda izolatlar arasındaki benzerlikler  $S_{SM}$  benzerlik katsayılarına göre hesaplanırken, küme oluşturma durumları UPGMA

analizine göre yapılmıştır.  $S_{SM}$ -UPGMA analizleri sonucu oluşan kümelenmelerin, izolatlar arasındaki ilişkiyi daha iyi yansıttığı için,  $S_{SM}$  koeffisiyenti tercih edilmiştir. Öztürk (2000) yaptığı çalışma ile  $S_{SM}$  analizi sonucu % 82.5 oranında benzerlik gösteren 7 majör, 9 minör ve 10 tek üyeli küme tespit etmiştir. Yine Özdemir (2008) izole ettiği 230 *Streptomyces* bakterisine 105 farklı test uygulamış ve  $S_{SM}$  analizi sonucu % 80 benzerlik oranını esas alarak 5 majör, 4 minör ve 10 tekli üye tespit etmiştir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmadaki analiz sonuçlarına göre oluşan dendogramki kümeleşme durumu dikkate alındığında % 87 benzerlik oranına göre 7 minör, 4 majör ve 16 tekli üye oluşmuştur. Tespit edilen 4 majör küme, izolatların % 59.40'ını oluşturmaktadır. Tekli üyelerden HS065 ve HS087'nin Bendimahi çayı, HS046 ve HS051'in ise Deliçay'dan izole edildiği tespit edilmiştir. Yine minör ikili kümeden HS049 ve HS050'nin Deliçay'dan izole edilmiştir.  $S_{SM}$ -UPGMA'da yapılan analizler sonucu kullanılan izolatlar arasında %81 oranında benzerlik olduğu görülmüştür. Duplike suşlardan HS053-HS055, HS060-HS061 ve HS005-HS075 arasında % 100 olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak benzerlik oranlarının yüksek olduğu kümelerde izolasyon bölgelerinin fizikokimyasal özellikleri ve coğrafik konumları paralellik göstermiştir.

### 5.3. Tanı

Mikrobiyoloji, biyoinformatik ve moleküler tekniklerin bilimsel anlamda gelişmesi, bu alanların paralelinde yer alan Moleküler Biyoloji ve Genetik biliminin yeni teknikler çerçevesinde bilim dünyasına daha fazla katkı sağlayacağı anlamına gelmektedir. Şüphesiz geçmişten günümüze Moleküler ve Genetik alanında pek çok aydınlatıcı çalışma ve yenilik, bilim dünyasının hizmetine sunulmuştur. Mendel'in bezelye karakterizasyonu, Watson-Crick DNA modeli, İnsülin geninin transformasyonu gibi birçok kazanım elde edilmiştir. Özellikle PCR'nin keşfi bu alanlarda yapılacak olan pek çok çalışmaya öncülük etmiştir. Bu açıdan canlıların sınıflandırılması gittikçe artan bir ivme kazanmaktadır. Bakteriyal sistematiğe mikrobiyolojik ve biyokimyasal çalışmaların belirleyici rollerinin yanında moleküler tekniklerinde katkısıyla daha iyi sonuçların elde edilebileceği mümkündür. 16S rDNA gen bölgesinin teşhis noktasında kullanılması büyük öneme sahiptir.

Günümüzde 16S rDNA gen sekansına dayanan analizler bakteriyel taksonominin omurgasını oluşturmakta (Ludwig, 2007) ve türlerin filogenetik analizleri 16S rDNA gen dizisi temel alınarak oluşturulmaktadır (Stackebrandt ve Ebers, 2006). DNA sekanslama teknolojilerinin gelişmesi ve yaygınlaşmasıyla birçok çalışmada 16S rRNA'yı üreten gen bölgesinin tamamı çalışılmaya başlanmıştır (Kim ve ark., 2011). Klinik laboratuvarlarında kültür geliştirmeden hızlı ve kesin sonuç alınabilmesi nedeniyle, 16S rDNA gen bölgelerinin kullanımı çok yaygındır (Ramasamy ve ark., 2014). Özdemir (2008) yaptığı çalışmada *Lens orientalis* (Boiss.) Hand & Mazz. ve *Cicer anatolicum* Alef. bitki türlerinin köklerinden alınan toprak numunelerinden *Streptomyces* bakterilerinin izolasyonunu yaptıktan sonra 105 farklı fenotipik ve biyokimyasal test sonucu oluşan gruptan 15 suşun moleküler teşhisini yapmıştır.

Yapılan çalışmada 179 *Streptomyces* bakteri suşu içerisinde renk grubuna göre seçilen HS007, HS008, HS027, HS029, HS031, HS040, HS050, HS052, HS092, HS099 ve HS129 olmak üzere 11 türün universal primerler olan 1492R ve 27F kullanılarak 16S rDNA gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Sekans analizi sonucu elde edilen veriler Codon Code Aligner V.6.0.2 programına aktarılarak burada elektroferogramları kontrol edilmiştir. Daha sonra bu dizilere benzerlik gösteren *Streptomyces* bakterileri NCBI-GENBANK-Nükleotit-BLAST sıralamasıyla elde edilmiştir. NCBI'dan alınan diziler ve 16S rDNA gen bölgelerinin birebir eşleştirmesi yapılmıştır. Diziler filogenetik analizlere uygun hale getirildikten sonra MEGA7 programı kullanılarak türler arasındaki genetik mesafeyi tespit etmek için 16S rDNA bölgeleri Maksimum Likelihood sistemine tabi tutularak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçta yer alan *Streptomyces* türleri ve izole ettiğimiz türlerin habitatları GENBANK yardımıyla oluşturulmuştur.

Toplamda 1200-1350 nükleotit aralığına sahip olan 16S rDNA gen bölgelerinin benzerlik oranlarının tespiti için GENBANK'tan elde edilen analiz sonuçlarına göre HS007 izolatu 1254 nükleotit'lik gen bölgesi, 5 nükleotit'lik farklılığı ve % 99.60 oranıyla *Streptomyces flaveolus*'a (NR112267), HS008 izolatu 1280 nükleotit'lik gen bölgesi, 21 nükleotit'lik farklılığı ve % 98.38 oranıyla *Streptomyce violaceolatus*'a (KT363060), HS027 izolatu 1235 nükleotit'lik gen bölgesi, 2 nükleotit'lik farklılığı ve % 99.83 oranıyla *Streptomyces microflavus*'a (JQ422121), HS029 izolatu 1302 nükleotit'lik gen bölgesi, 10 nükleotit'lik farklılığı ve % 99.23 oranıyla *Streptomyces*

*violascens*'e (KX775308), HS031 izolatu 1212 nukleotit'lik gen bölgesi, 14 nukleotit'lik farklılığı ve % 98.85 oranıyla *Streptomyces cyaneofuscatus*'a (KX507059), HS040 izolatu 1321 nukleotit'lik gen bölgesi, 11 nukleotit'lik farklılığı ve % 99.17 oranıyla *Streptomyces griseus*'a (KF849477), HS050 izolatu 1278 nukleotit'lik gen bölgesi, 2 nukleotit'lik farklılığı ve % 99.81 oranıyla *Streptomyces drozdowiczii*'ye (KY964408), HS052 izolatu 1331 nukleotit'lik gen bölgesi, 16 nukleotit'lik farklılığı ve % 98.81 oranıyla *Streptomyces flaveolus*'a (KU647253), HS092 izolatu 1305 nukleotit'lik gen bölgesi, 29 nukleotit'lik farklılığı ve % 97.82 oranıyla *Streptomyces albidoflavus*'a (MF114298), HS099 izolatu 1239 nukleotit'lik gen bölgesi ve % 100 oranıyla *Streptomyces parvus*'a (KY213676) ve HS129 izolatu 1258 nukleotit'lik gen bölgesi ve % 100 oranıyla *Streptomyces violascens*'e (KX775308) benzerlik göstermiştir. Suşlar ve benzerlik gösterdikleri türler arasında çok yakın bir homoloji ile kümelenececeği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda 11 suşun 16S rDNA gen bölgesi benzerlik oranları dikkate alındığında izolatlar ve benzerlik gösterdikleri türler arasında % 97.82 ile % 100 arasında değişen yüksek bir oranın ortaya çıktığı görülmüştür. Mevcut sonuçlar değerlendirildiğinde özellikle HS027 izolatının IDENTAX majör tetlerin sonucuna göre %97.69 ve 16S rDNA dizi analizleri sonuçlarına göre % 99.83 oranıyla *Streptomyces microflavus* olarak teşhis edilmiştir. Yine aynı şekilde HS052 izolatu IDENTAX minör tetlerin sonucuna göre % 99.64 ve 16S rDNA dizi analizleri sonuçlarına göre % 99.81 oranıyla *Streptomyces flaveolus* olarak teşhis edilmiştir. Bu durum klasik taksonomi çalışmalarının polifazik taksonomi çalışmaları ile desteklendiğinde daha güvenilir sonuçların ortaya çıkacağını göstermiştir. *Streptomyces* suşları için uygulanan IDENTAX 1.2, MVSP 3.2 (Multi-Variate Statistical Package), NCBI-BLAST-MEGA7 teşhis programları ile tespit edilen sonuçların karşılaştırılması Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. *Streptomyces* suşları için uygulanan teşhis programları ve tespit edilen sonuçların karşılaştırılması

Test No	Renk Grubu	MVSP 3.2	IDENTAX(Majör)	IDENTAX(Minör)	Maksimum Likelihood
HS007	1	IX	<i>Streptomyces violaceus</i> (% 99.57)	<i>Streptomyces aureofaciens</i> (% 86.88)	<i>Streptomyces flaveolus</i> (% 99.60)
HS008	4	VIII	<i>Streptomyces microflavus</i> (% 76.47)	<i>Streptomyces flaveolus</i> (% 86.89)	<i>Streptomyce violaceolatus</i> (% 98.38)
HS027	4	VIII	<i>Streptomyces microflavus</i> (% 97.69)	<i>Streptomyces aureofaciens</i> (% 99.53)	<i>Streptomyces microflavus</i> (% 99.83)
HS029	4	VIII	<i>Streptomyces exfoliatus</i> (% 82.72)	<i>Streptomyces flaveolus</i> (% 93.18)	<i>Streptomyces violascens</i> (% 99.23)
HS031	5	IV	<i>Streptomyces cyaneus</i> (% 94.94)	<i>Streptomyces aureofaciens</i> (% 99.53)	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i> (% 98.85)
HS040	2	X	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i> (% 74.80)	<i>Streptomyces alboflavus</i> (% 86.55)	<i>Streptomyces griseus</i> (% 99.17)
HS050	4	III	<i>Streptomyces filipinensis</i> (% 95.90)	<i>Streptomyces flaveolus</i> (% 97.35)	<i>Streptomyces drozdowiczii</i> (% 99.81)
HS052	5	IV	<i>Streptomyces fulvissimus</i> (% 74.17)	<i>Streptomyces flaveolus</i> (% 99.64)	<i>Streptomyces flaveolus</i> (% 99.81)
HS092	5	V	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i> (% 99.78)	<i>Streptomyces flaveolus</i> (% 92.14)	<i>Streptomyces albidoflavus</i> (% 97.82)
HS099	1	I	<i>Streptomyces atroolivaceus</i> (% 67.26)	<i>Streptomyces nogalater</i> (% 85.15)	<i>Streptomyces parvus</i> (% 100)
HS129	3	VI	<i>Streptomyces fulvissimus</i> (% 98.38)	<i>Streptomyces xanthochromogenes</i> (% 99.97)	<i>Streptomyces violascens</i> (% 100)



Sonuç olarak;

*Streptomyces* bakterilerinin piyasadaki antibiyotiklerin yaklaşık %80'nini üretiyor olması bu bakterilerin bilim dünyası için önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışma ile özellikle sulak alanlarda yeni antibiyotik üreticisi bakterilerin tespitine ve yeni sekonder metabolitlerin belirlenmesine temel teşkil edecek bir karakterizasyon ve teşhis çalışması yapılmıştır.

Toplamda 179 *Streptomyces* bakterisi izole edilerek saflaştırılmıştır. Türlerin karakterizasyonu ve teşhisi için 77 fenotipik ve biyokimyasal test yapılarak 7 minör, 4 majör ve 16 tekli üye tespit edilmiştir.

Bilgisayar yardımı ile yapılan teşhis çalışmalarının, türlerin belirlenmesi ve kıyaslanmasında oldukça anlamlı veriler ortaya koyduğu gözlenmiştir. Bu verilerin moleküler karakterizasyon çalışmaları ile desteklenmesi, teşhis ve karakterizasyon noktasında daha sağlıklı sonuçların ortaya çıkmasını sağlamıştır.

Tür teşhislerinin moleküler testlerle desteklenmesi açısından 16S rDNA gen bölgesi çoğaltılarak sekans analizi yapılarak, oluşturulan filogenetik dendograma göre türler biyokimyasal ve fenotipik testlerle oluşturulan dendogram sonuçları kıyaslanarak klasik taksonomi sonuçlarının genel itibarıyla moleküler taksonomik değerlerle desteklendiği sonucuna varılmıştır.

Yeni tür olma potansiyeline sahip izolatların teşhisi noktasında çalışmalarımız, farklı gen bölgelerinin sekans analizi yapılarak devam edecektir.



## KAYNAKLAR

- Amin, A., Ahmed, I., Khalid, N., Osman, G., Khan, IU., Xiao, M., Li, WJ., 2016. *Streptomyces caldifontis* sp. nov., isolated from a hot water spring of Tatta Pani, Kotli, Pakistan. *Antonie van Leeuwenhoek*. DOI 10.1007/s10482-016-0778-2
- Amin, D. H., Tolba, S., Abolmaaty, A., Abdallah, N. A., Wellington, E. M., 2017. Phylogenetic and Antimicrobial Characteristics of a Novel *Streptomyces* sp. *Ru87* Isolated from Egyptian Soil. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* **6**(8): 2524- 2541.
- Anderson, A., S., Wellington, E., M., H., 2001. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera *Int Journal of Sys And Evo Mic*, **51**: 797-814.
- Annaliesa, S., Huddleston, L., Neil, Cresswell, M., Cristina, P., Neves, John, E., Beringer, Simon Baumberg, D., Ianthomas, Wellington, E., M., H., 1997. Molecular Detection of Streptomycin-Producing Streptomycetes in Brazilian Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**: 1288–1297.
- Anzai, Y., Okuda, T., Watanabe, J., 1994. Application of the random amplified polymorphic DNA using the polymerase chain reaction for efficient elimination of duplicate strains in microbial screening. II. *Actinomycetes*. *J Antibiot*, **47**: 183–190.
- Araujo, FV., Rosa, CA., Freitas, LFD., Lachance, MA., Vaughan-Martini, A., Mendonca Hagler, LC., Hagler, AN. 2012., “*Kazachstania bromeliacearum* sp. nov., a yeast species from water tanks of bromeliads”, *International J Syst. Evolution. Microbiol.*, **62**(4): 1002–1006,
- Atalan, E., 1995. Identification of *Streptomyces* isolated from environmental soil samples using rapid enzyme data. *Journal of Environmental Science and Health Part A* **30-6**: 1133-1143.
- Bali, B., 2011. *Karasal Ortamlardan İzole Edilen Streptomyces Türlerinin Sekonder Metabolit Biyosentez Genlerinin Taranması* (Yüksek Lisans Tezi Basılmamış) Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Basilio, A., Gonzalez, I., Vicente, M. F., Gorrochategui, J., Cabello, Gonzalez, A., Genilloud, O., 2003. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology*, **95**: 814-823.
- Benson, D., A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D., J., Ostell, J., Wheeler, D., L., 2004. GenBank: update, *Nucleic Acids Res.* **32**: D23-D26.
- Berdy, J., 1995. Actinomycetes exhausted as a source of secondary metabolites. *Biotechnologia*. **7-8**: 13-14.
- Berdy, J., 2005. Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiot.* **58** (1):1-26.
- Bielecki, S., Galas, E., 1991. Microbial glucanases different from cellulases. *Critical Reviewson Biotechnology* **10**: 275-304.
- Bolshoy A., Volkovich Z., 2009. Whole-genome prokaryotic clustering based on gene lengths. *Discrete Appl Math*, **157**: 2370-2377.
- Boto, L., 2010. Horizontal gene transfer in evolution: facts and challenges. *Proc R Soc B*, **277**: 819-827.
- Boynukara, B., Korkoca, H., Senler, N. G., Gulhan, T., Atalan, E., 2004. The characterisation of protein profiles of the isolated *Aeromonas sobria* strains from animal feces by SDS-PAGE. *Indian Veterinary Journal* **81**: 245-249.

- Brock T.D., 2010. *Principles of Microbial Ecology*. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall Preface
- 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.
- Busse, H.J., Denner, E.B.M., and Lubitz, W., 1996. Classification and identification of bacteria: Current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. *J. Biotech.*, **47**: 3-38.
- Cannell, R.J.P., 1998. *How to Approach the Isolation of a Natural Product*. Humana Press, Totowa. 1-51.
- Cavalier-Smith, T., 2002. The neomuran origin of archaeobacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification. *Int J Syst Evol Microbiol*, **52**: 7-76.
- Chang, P., C., Cohen, S., N., 1994. Bidirectional replication from an internal origin in a linear *Streptomyces* plasmid. *Science*, **265**: 952-954.
- Cheng, C., Li, YQ., Asem, MD., Lu, CY., Shi, XH., XC., Li, WJ., 2016. *Streptomyces xinjiangensis* sp. nov., an actinomycetes isolated from Lop Nur region, *Arch. Microbiol.*, **198** (8): 785-791.
- Chun, J., 1995, *Computer Assisted Classification and Identification of Actinomycetes Ph. D. Thesis*, University of Newcastle upon Tyne, UK.
- Coenye T., Gevers D., Van de Peer Y., Vandamme P., Swings J., 2005. Towards a prokaryotic genomic taxonomy. *FEMS Microbiol Rev*, **29**: 147-167.
- Costelloe, C., Metcalfe, C., Lovering, A., Mant, D., 2010. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, **340**: 2096.
- Curtis, T. P., W. T. Sloan, J. W. Scannell. 2002. Estimating prokaryotic diversity and its limit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**: 10494-10499.
- Demain, AL., 2014. Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **41**: 185–201,
- Devasagayam, T.P., Tilak, J.C., Bolor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, R.D., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of Association Physicians*, **52**: 794–804.
- Djaballah, C. E., Kitouni, M., Raoult, D., Khelaifia, S., 2018. *Streptomyces massialgeriensis* sp. nov., a new bacterial species isolated from an extremely saline soil collected from the dry lake of Ank el Djamel in Algeria. *New Microbes and New Infections* **21**: 18-19
- Doumbou, C., Akimov, V., Cote, M., Charest, P., M., Beulie, C., 2001. Taxonomic study on nonpathogenic Streptomyces isolated from common scab lesions on potato tubers. *System Appli Microbiol* **24**: 451-456.
- Embley, T. M., ve E. Stackebrandt. 1994. The molecular phylogeny and systematic of the actinomycetes. *Annu. Rev. Microbiol.*, **48**: 257-289
- Ertaş, M., 2016. *Van Gölü Havzası Micromonospora Cinsi Bakterilerin İzolasyonu, Teşhisi ve Karakterizasyonu*. (Doktora tezi basılmamış). YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Van.
- Euzéby, 2016. *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*, <http://www.bacterio.net> Accessed 12 June.

- Falconer, C., 1988. *The Isolation, Physiology and Taxonomy of Carboxydrotrophic Actinomycetes*. Ph. D. Thesis University of New Castle upon Tyne, Department of Microbiology, UK.
- Felske, A. 1999. Reviewing the DA001 . files: a 16S rRNA chase on suspect #X99967, a Bacillus and Dutch underground activist. *J. Microbiol. Methods*, **36**: 77-93.
- Fernandez-Moreno, M., A., Martinez, E., Boto, L., Hopwood, D., A., Malpartida, F., 1992. Nucleotide sequence and deduced functions of a set of co-transcribed genes of *Streptomyces coelicolor* A3(2) including the polyketide synthase for the antibiotic actinorhodin. *J. Biol. Chem.*, **267**: 19278-19290.
- Flårdh, K. 2003. Essential role of DivIVA in polar growth and morphogenesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Molecular Microbiology*, **49**: 1523–1536.
- Flemming, L., Douglas, R., Hafizah, C., 2007. Phenotypic and molecular characterisation of fish-borne *Flavobacterium johnsoniae* like isolates from aquaculture systems South Africa. *Research in Microbiol.*, **158**: 18-30.
- Gao, B., Gupta, R.S., 2012, “Phylogenetic Framework and Molecular Signatures for the Main Clades of the Phylum Actinobacteria”, *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **76**(1): 66 –112.
- Genner, C. and Hill, E.C., 1981. *Fuels and oils. In Microbial Biodeterioration, Econ Microbiol* 6 (edited by Rose). Academic Press, London, pp. 259–306.
- Gharaibeh, R., Saadoun, I., Mahasneh, A., 2003. Evaluation of combined 16S rDNA and *strb1* gene targeted PCR to identify and detect streptomycin-producing *Streptomyces*, *J Basic Microbiol*, **43**: 4: 301-311.
- Gladek, A., Mordarski, M., Goodfellow, M., Williams, S., T., 1985. Ribosomal ribonucleic acid similarities in the classification of *Streptomyces*. *FEMS Microbiol. Lett.* **26**: 175-180.
- Goodfellow, M. and Maldonado, L.A., 2006. The families Dietziaceae, Gordoniaceae, Nocardiaceae and Tsukamurellaceae. *In The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria*, **3**: 843-888.
- Goodfellow, M., Dickinson, C. H., 1985. Delineation and description of microbial populations using numerical methods. In *Computer-Assisted Bacterial Systematics*, pp. 165-225. Edited by Goodfellow, M.; Jones, D. & Priest, F. G. *Academic Press, London*.
- Goodfellow, M., Fiedler, H.P., 2010. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. *Antonie van Leeuwenhoek*, **98**: 119–142.
- Goodfellow, M. & J. A. Haynes. 1984. Actinomycetes in marine sediment, p. 453-472. In: L. Ortiz-Ortiz, L. F. Bojalil, & V. Yakoleff (ed.), *Biological, biochemical, and biomedical aspects of actinomycetes. Academic Press, Orlando*.
- Goodfellow, M., Labeda, D., P., Vancanneyt, M., Lanoot, B., Kim, S., Liu, Z., Chun, J., Swings, J., 1987. *Finally a Phylogeny for Streptomyces*. Microbial Genomics and Bioprocessing Research, USDA, ARS, National Center for Agricultural Utilization Research, 1815 N. University Street, Peoria, IL 61604, USA.
- Goodfellow, M., O'Donnell, A., G., 1993. *Roots of Bacterial Systematics*. In *Handbook of New Bacterial Systematics*. Edited by M. Goodfellow & A. G. O'Donnell. London: Academic Press. 3–56.
- Goodfellow, M., Simpson, K., E., 1987. Ecology of *Streptomyces*. *Frontiers in Microbiology* **2**: 97-125.
- Goodfellow, M., Williams, S., T., 1983. Ecology of *Actinomycetes*. *Review of Microbiology* **37**: 189-216.

- Goodfellow, M., Williams, S., T., Alderson, G., 1986a. Transfer of *Actinosporangium violaceum* Krasil'nikov ve Yuan, *Actinosporangium vitaminophilum* Shomura ve ark., *Actinopycnidium caeruleum* Krasil'nikov to the genus *Streptomyces* with amended description of the species. ***Systematic and Applied Microbiology*, 8:** 61-64.
- Goodfellow, M., Williams, S., T., Alderson, G., 1986b. Transfer *Kitasatoa purpurea* Matsumea and Hata to the genus *Streptomyces purpurea* comb. nov. ***Systematic and Applied Microbiology*, 8:** 65-66.
- Groth, I., Saiz-Jimenez, C., 1999. Actinomycetes in hypogean environments. ***Geomicrobiology Journal*, 16:**1-8.
- Gutierrez, M. C., Ventosa, A. and Berraquero, F. 1989. DNA-DNA homology studies among strains of *Haloferax* and other Halobacteria. ***Curr. Mic.*, 18:** 253-256.
- Hain, T., Ward-Rainey, N., Kroppenstedt, R., M., Stackebrandt, E., Rainey, F., A., 1997. Discrimination of *Streptomyces albidoflavus* strains based on the size and number of 16S-23S ribosomal DNA intergenic spacers. ***International Journal of Systematic Bacteriology* 47:** 202-206.
- Hayakawa, M., ve H. Nonomura., 1987. Humic acid- Vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. ***J. Ferment. Technol.*, 65:** 501-509.
- Hayakawa, M., Yoshida, Y, Iimura, Y., 2004. Selective isolation of bioaktive soil Actinomycetes belonging to the *Streptomyces violaceusniger* phenotypic cluster. ***Journal of Applied Microbiology*, 96:** 973-981.
- Hofheinz, W., Grisebach, H., 1965. Die Fettsauren von *Streptomyces erythreus* and *Streptomyces halstedii*. ***Z. Naturforsch*, 20B,** 43.
- Hopkins, D. W., MacNaughton, S. J., O'Donnell, A. G., 1991. A dispersion and differential centrifugation technique for representatively sampling. ***Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 63(4):**735-750.
- Hopwood, D., 2006. Soil to genomics: the *Streptomyces* chromosome. ***Annual Review of Genetics*, 40:** 1–23.
- Hopwood, D., 2007. ***Streptomyces in Nature and Medicine, The Antibiotic Makers***. Oxford University press, New York. 124-139.
- Howlett, R., Read, N., Varghese, A., Kershaw, C., Hancock, Y., Smith, M.C.M., 2018. *Streptomyces coelicolor* strains lacking polyprenol phosphate mannose synthase and protein O-mannosyl transferase are hyper-susceptible to multiple antibiotics. ***Microbiology Society* 164:** 369-382
- Hutchinson, M., Ridgway, JW. and Cross, T., 1975. Biodeterioration of rubber in contact with water, sewage and soil. ***In Microbial Aspects of the Deterioration of Materials*** (edited by Lovelock and Gilbert). Academic Press, London, pp. 187–202.
- Iznaga, Y., Lemus, M., Gonzales, L., Garmendia, L., Nadal, L., Valin, C., 2004. Antifungal activity of Actinomycetes from Cuban soils. ***Phytother. Res.* 18:** 494-496.
- Jia, FY., Liu, CX., Zhao, JW., Zhang, YJ., Li, LJ., Zhou, SY., Shen, Y., Wang, XJ., Xiang, WS., 2015, *Streptomyces vulcanius* sp. nov. a novel actinomycete isolated from volceni sediment, ***Antonie Van Leeuwenhoek* 107:** 15–21.
- Jones, K., L., 1949. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelium is fluctuating characteristic. ***Journal of Bacteriology* 57:** 141-146.

- Kämpfer, P., "Genus I. *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339 emend. Witt and Stackebrandt 1990, 370 emend. Wellington, Stackebrandt, Sanders, Wolstrup and Jorgensen 1992, 159", *Bergey's Manual Syst Bacteriol* **5**: 1455–1767.
- Kämpfer, P., Kroppenstedt, R., M., Wolfgand, D., 1991. A numerical classification of the genera *Streptomyces* and *Streptoverticillium* using miniaturized physiological tests. *Journal of General Microbiology* **137**:1831-1891.
- Kataoka, M., Ueda, K., Kudo, T., Seki, T., Yoshida, T., 1997. Application of the variable region in 16S rDNA to creat rapid species identification in the genus *Streptomyces*. *FEMS Microbiol. Lett.*, **151**: 249-255.
- Khan, MR., Williams, ST., 1975. Studies on the ecology of *Actinomycetes* in soil. VIII. Distribution and characteristics of acidophilic actinomycetes. *Soil Biology and Biochemistry*, **7**: 345–348.
- Kieser, T., Bibb, MJ., Buttner, MJ., Chater, KF., Hopwood, DA., 2000. "Practical *Streptomyces* Genetics", The John Innes Foundation, Norwich, UK.
- Kim, D., Chun, J., Sahin, N., Hah, Y-C., Goodfellow, M., 1996. Analysis of thermophilic clades within the genus *Streptomyces* by 16S ribosomal DNA sequence comparison. *International Journal of systematic Bacteriology*, **46**: 581-587.
- Kim, S. B., Seong, C. N., Jeon, S. J., Bae, K. S., Goodfellow, M., 2004. Taxonomic study of neutrotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil and description of *Streptomyces yeochonensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **54**: 211-214.
- Kirby, R., Rybicki, E., P., 1986. Enzyme-linked immuno- sorbent assay (ELISA) as a means of taxonomic analysis of *Streptomyces* and related organisms. *J Gen Microbiol* **132**: 1891–1894.
- Kong, L., Tzeng, D., Yang, C., H., 2001. Generation of PCR-based DNA fragments for Spesific Detection of *Streptomyces saraceticus* N45, *Proc. Natl. Sci. Counc.* **25**: 119-127.
- Korn-Wendisch, F., Kutzner, H., J., 1992. **The Family Streptomycetaceae**. In *The Prokaryote. A handbook on the biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Application*, Vol. 1, Edited by A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer. Second Ed., Springer-Verlag, New York. 921-995.
- Kudo, T., Matsushima, K., Itoh, T., Sasaki, J., Suzuki, K., 1998. Description of four new species of the genus *Kinesporia*: *Kinesporia suucinea*, *Kinesporia rhizophila*, *Kinesporia mikuinensis*, *Kinesporia rhamnosa* isolated from plant samples and amended description of the genus *Kinesporia*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **48**: 1245-1255.
- Kurahashi M., Fukunaga Y., Sakiyama Y., Harayama S., Yokota A., 2010. *Euzebya tangerina* gen. nov., sp. nov., a deeply branching marine actinobacterium isolated from the sea cucumber *Holothuria edulis* and proposal of *Euzebyaceae* fam. nov., *Euzebyales* ord. nov. and *Nitriliruptoridae* subclassis nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **60**: 2314-2319.
- Kuster, E., 1968. Taxonomy of soil Actinomycetes & related organisms. In: " Ecology of soil bacteria", eds. Gray TRG Parkinson (D.) *Liverpool University Press*, Liverpool, 322-336.

- Kutzner, H.J., “The family Streptomycetaceae. In: Starr, MP., Stol, p.H., Truper, HG., Balows, A., Schlegel, HG., , 1981. *The Prokaryotes: a Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria*, Springer, Berlin, 2: 2028–2090.
- Labeda, D. P., and Lyons, A. J., 1991. Deoxyribonucleic acid relatedness among species of the “*Streptomyces cyaneus*” cluster. *Syst. Appl. Microbiol.* **14**: 158-164.
- Lacey, J., Lacey, M., 1987. Microorganisms in the air of cotton mills. *Annals Occupational Hygiene*, **31**: 1–19.
- Laiz, L., Groth, I., Schumann, P., Zezza, F., Felske, A., Hermosin, B., Saiz-Jimenez, C., 2000. Microbiology of stalactites from Grotta dei Cevri, Porto, Badisco, Italy, *Internat. Microbiol.* **3**: 25-30.
- Lambert, D., H., Loria, L., 1989. *Streptomyces scabies* sp. nov., nom., rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **39**: 387-392.
- Lanoot B, Vancanneyt, M., Bart, H., Vandemeulebroecke, K., 2005. Grouping of Streptomycetes using 16S-ITS RFLP fingerprinting. *Research in Microbiology* **156**: 755–762.
- Law, J. W. F., Ser, H. L., Duangjai, A., Saokaew, S., Bukhari, S. I., Khan, T.M., Lee, L. H., 2017. *Streptomyces colonosanans* sp. nov., A Novel Actinobacterium Isolated from Malaysia Mangrove Soil Exhibiting Antioxidative Activity and Cytotoxic Potential against Human Colon Cancer Cell Lines. *Frontiers in microbiology* **8**: 877
- Lechevalier, M., P., 1977. Lipids in bacterial taxonomy-a taxonomist’s view. *CRC Rev. Microbiol.* **5**: 109-210.
- Lechevalier, M., P., Lechevalier, H., A., 1970. Chemical compositions as a criterion in the classification of aerobic Actinomycetes. *International Journal of Systematic Bacteriology.* **20**: 435-443.
- Lee, J., Y., Jung, H., W., Hwang, B., K., 2005. *Streptomyces koyangensis* sp. nov., a novel Actinomycete that produces 4-phenly-3-butenoic acid. *International Journal of Systematic an Evolutionary Microbiology* **55**: 257-262.
- Lewin, GR., Carlos, C., Chevrette, MG., Horn, HA., McDonald, BR., Stankey, RJ., Fox, BJ., Currie, CR., 2015. “Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenerge Applications”, *Annu.Rev.Microbiol* **70**: 235–54, 2016.
- Liao, D., Dennis, P., P., 1994. Molecular phylogenies based on ribosomal protein L11, L1, L10, and L12 sequences. *J. Mol. Evol.* **38**: 405–413.
- Lloyd, A., B., 1969. Dispersal of Streptomycetes in air. *Journal of General Microbiology* **57**: 5-9.
- Logan, N., A., 1994. *Bacterial Systematic*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 570.
- Ludwig W., 2007. Nucleic acid techniques in bacterial systematics and identification. *Int. J. Food Microbiol*, **120**: 225-236.
- MacDonell, M. J., Colwell, R. R., 1985. The contribution of numerical taxonomy to the systematics of Gram-negative bacteria pp. 107-135. in *Computer-Assisted Bacterial Systematics* Edited by M. goodfellow, D. Jones and F. G. Priest, Academic Pres, London.
- Mahadevan, B., Crawford, D., L., 1997. Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC-108. *Enzimology and Mirobial Technology* **20**: 489-493.
- Maidak, B. L., Cole, J. R., Lilburn, T. G., 2000. The RDP (Ribosomal Database Project) continues. *Nucleic Acids Res* **28**: 173–174.



- Manchester, L., Pot, B., Kersters, K., Goodfellow, M., 1990. Classification of *Streptomyces* and *Streptovorticillium* species by numerical analysis of electrophoretic protein patterns. *Syst Appl Microbiol* **13**: 333–337.
- Manfio, G., P., 1995. *Towards Minimal Standards for the Description of Streptomyces species*. Ph. D. Thesis, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, U.K.
- Mehling, A., Wehmeier, U. F., Piepersberg, W., 1995. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) assays in identifying conserved regions of actinomycete genomes. *FEMS Microbiol Lett* **128**: 119–126.
- Meydan, A.F., 2013. *Van Gölü'nde Güncel Flüvyal Çökel Girdisi Ve Gösel Sedimentasyon İlişkisi*. YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Van.
- Minnikin, D., E., O'Donnell, A., G., 1984. *Actinomycete Envelope Lipid and Peptidoglycan Composition*. In *The Biology of Actinomycetes*. Edited by M. Goodfellow, M. M. Mordarski & S. T. Williams. London: Academic Press, 337–388.
- Mokraneet, S., Bouras, N., Sabaou, N., Mathieu, F., 2013. Actinomycetes from saline and non-saline soils of Saharan palm groves: Taxonomy, ecology and antagonistic properties, *African Journal of Microbiology Research* **7** (20): 2167-2178.
- Mordarski, M., Goodfellow, M., Williams, ST., Sneath, PH., 1986, Evaluation of species groups in the genus *Streptomyces*", In *Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes* (edited by Szabó, Biró and Goodfellow) *Akadémiiai Kaidó, Budapest*, pp. 517–525.
- Mukilik, K., Janda, I., Weiser, J., Jiranova, A., 1982. Ribosomal proteins of *Streptomyces aureofaciens* producing tetracycline. *Biochim. Biophys. Acta* **699**: 203–212.
- Nelson, D., Bathgate, A. J., Poxton, I. R., 1991. Monoclonal antibodies as probes for detecting lipopolysaccharide expression on *Escherichia coli* from different growth conditions. *J. Gen Microbiol* **137**: 2741–2751.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M. 2003. Natural Products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *Journal of Natural Products*, **66**: 1022–1037.
- Ningthoujam, DS., Nimaichand, S., Ningombam, D., Tamreihao, K., Li, L., Zhang, YG., Cheng, J., Liu, MJ. 2013, "*Streptomyces muensis* sp. nov.", *Antonie van Leeuwenhoek* **104**: 1135–1141.
- Nitsch, B., Kutzner, HJ., 1969. "Egg-yolk agar as a diagnostic medium for streptomycetes", *Experientia* **25**: 113.
- Noval, J., Nickerson, W., 1959. Decomposition of native keratin by *Streptomyces fradiae*. *Journal of Bacteriology*, **77**: 251–263.
- O'Donnell, A., G., Falconer, C., Goodfellow, M., Ward, A., C., Williams, E., 1993. Biosystematics and diversity amongst novel carboxydophilic Actinomycetes. *Antonie van Leewenhoek*, **64**: 324-340.
- Ochi, K., 1989. Heterogeneity of ribosomal proteins among *Streptomyces* species and its application to identification. *J. Gen. Microbiol.* **135**: 2635–2642.
- Ochi, K., 1995. A taxonomic study of genus *Streptomyces* by analysis of ribosomal protein AT-L30. *In. J. Syst. Bacteriol.*, **45**: 507-514.
- Özdemir K., 2008. *Lens orientalis (Boiss.) Hand & Mazz ve Cicer anatolicum Alef. Rizosferden Streptomyces Türlerinin İzolasyonu, Teşhisi Ve Karakterizasyonu*. (Doktora tezi basılmamış). YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü

- Özok, Ö., 2014. *Sakarya İli Ormanlık Alan Topraklarından Streptomyces Türlerinin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Bazı Ekstraselüler Enzimlerin Üretiminin Belirlenmesi*. Y.L. Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Öztürk, E., 2000. *Termofilik Streptomyces' lerin izolasyonu ve numerik taksonomisi*, Yüksek Lisans Tezi, OMÜ, Samsun, 143.
- Park., S., John, J., Kilbane, II, 2006. Rapid detection and high-resolution discrimination of the genus *Streptomyces* based on 16S-23S rDNA spacer region and denaturing gradient gel electrophoresis. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **33**: 289-297.
- Patricia, M., Dary, A., Andre, A., Bernard, D., 2000. Identification and typing of *Streptomyces* strains: evaluation of interspecific, intraspecific and intraclonal differences by RAPD fingerprinting, *Res. Mic.* **151**: 853-864.
- Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., 2002. Bacteria: The high G + C Gram positives. *In: Microbiology, 5th Edition, pp. 536-551*. U.S.A.: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Pridham, T., G., Tresner, H., D., 1974. Genus *I. Streptomyces Waksman and Henrici*. In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8. Edition, Baltimore, 748-829.
- Reed, JF., Cumming, RW., 1945. "Soil reaction glass electrodes and calorimetric methods for determining pH value of soil", *Soil science* **59**: 97-104.
- Rheims, H., Felske, A., Seufert, S., Stackebrandt, E. 1999. Molecular monitoring of an uncultured group of the class Actinobacteria in two terrestrial environments. *J. Microbiol. Methods*, **36**: 65-75.
- Rintala, H., Nevalainen, A., Suutar, M., 2002. Diversity of streptomycetes in water-damaged building materials based on 16S rDNA sequences. *Letters in Applied Microbiology*, **34**: 439-443
- Roes, M., Meyers, P., R., Rosello-Mora, R., Amann, R., 2001. The species concept for Prokaryotes. *FEMS Microbiol. Reviews*, **25**: 39-67.
- Rosello-Mora, R., Amann, R., 2001. The species concept for Prokaryotes. *FEMS Microbiol. Reviews*, **25**: 39-67.
- Rosenberg, E., Delong, E., Stackebrandt, E., Thompson, F., 2014. Actinobacteria, Chap.4. *The Prokaryotes* (Edited by E. Rosenberg, E. Delong, S. Lor, E. Stackebrandt, F. Thompson). Springer Verlag, Vol 4, Berlin. 989-995
- Rowbotham, T. J., and Cross, T., 1976. Rhodochrous-type organisms from freshwater habitats. *In Proceedings of the Society for General Microbiology* **3**: 100-101.
- Sackin, M. J., Jones, D., 1993. Computer-assisted classification. In *Handbook of new bacterial systematics*, pp. 281-313. Edited by Goodfellow, M. & O'Donnell, A. G. *Academic Press, London*.
- Saddler, G., S., O'Donnell, A., G., Goodfellow, M., Minnikin, D., E., 1987. SIMCA pattern recognition in the analysis of streptomycete fatty acids. *Journal of General Microbiology* **133**: 1137-1147
- Saddler, G., S., O'Donnell, A., G., Goodfellow, M., Minnikin, D., E., 1986. Influence of the growth cycle on the fatty acids and menaquinone composition of *Streptomyces cyaneus* NCIB 9616. *Journal of Applied Bacteriology* **60**: 51-56.
- Saintpierre, D., Amir, H., Pineau, R., Sembiring L., Goodfellow, M., 2003. *Streptomyces yatensis* sp. nov., a novel bioactive streptomycete isolated from a New-Caledonian ultramafic soil. *Antonie van Leeuwenhoek* **83**: 21-26.
- Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic tree. *Mol. Biol. Evol.*, **4**: 406-425.

- Sandrin, M.A., Lima, G.S., Melo, C.G., Militao, M.S., Lima, A., Lima, S., Aguiar, M., Araujo, R., Pascal Marcand, M., Araujo, G. 2017 Characterization of the biochemical, physiological, and medicinal properties of *Streptomyces hygrosopicus* ACTMS-9H isolated from the Amazon (Brazil) ***Applied Microbiology and Biotechnology* 101**: 711-723
- Sanglier, J., Whitehead, D., Saddler, G., Ferguson, E., Goodfellow, M., 1992. Pyrolysis mass-spectrometry as a method for the classification, identification and selection of actinomycetes. ***Gene* 115**: 235–242.
- Schatz, A., Bugie, E., Wkasman, S., A., 1944. Streptomycin a substance exhibiting antibiotic activity against Gram positive and Gram negative bacteria. ***Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 55**: 66-69.
- Schloss, P.D., Handelsman, J., 2004. Status of the microbial census. ***Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 68**: 686-691.
- Scott, JJ., Oh, DC., Yuceer, MC., Klepzig, KD., Clardy, J., Currie, CR., 2008. “Bacterial protection of beetle-fungus mutualism”, ***Science* 322, 5898**: 63
- Sembiring, L., Goodfellow, M., 2008. Ecological approach to unravel Streptomycte diversity as an unsurpassed sources of natural bioactive products. ***Microbiology Indonesia*. 2 (2)**: 49-56.
- Sembiring, L., Ward, A. C., Goodfellow, M., 2000. Selective isolation and characterisation of members *Streptomyces violaceusniger* clade associated with the roots of *Paraserianthes falcataria*. ***Antonie van Leeuwenhoek*, 78**: 353-366.
- Semêdo, L., Gomes, R. C., Linhares, A. A., Duarte, G. F., Nascimento, R. P., Rosado, A. S., Margis-Pinheiro, M., Margis, R., Silva, K., Alviano, C. S., Manfio, G. P., Soares, R., Linhares, L. F., Coelho, R., 2004. *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil. ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54**: 1323-1328.
- Sharma, KT., Mawlankar, R., Sonalkar, VV., Shinde, VK., Zhan, J., Li, WJ., Rele, MV., Dastager, SG., Kumar LS., 2016. “*Streptomyces lonarensis* sp. nov., isolated from Lonar Lake, a meteorite salt water lake in India”, ***Antonie van Leeuwenhoek* 109**: 225–235,
- Shearer, M.C. 1987. Methods for the isolation of *non-streptomycetes* actinomycetes ***J. Indus. Microbiol. Suppl.*, 2**: 91-97.
- Shirling, E., B., Gottlieb, D., 1966. Methods for characterisation of *Streptomyces* species. ***International Journal of Systematic Bacteriology* 16**: 313-340.
- Shirling, E., B., Gottlieb, D., 1967. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. I. The international *Streptomyces* Project, ***International of Systematic Bacteriology*, 17**: 315-322.
- Shirling, E., B., Gottlieb, D., 1968. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species Description from first study. ***International of Systematic Bacteriology*, 18**: 69-189.
- Shirling, E., B., Gottlieb, D., 1969. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. IV. Species Description from first and second studies. ***International of Systematic Bacteriology*, 19**: 391-512.
- Silvestri, L. Turri, M., Hill, L. R., Gilardi, E., 1962. A quantitative approach to the systematics of actinomycetes based on overall similarity. In ***Microbial Classification*, pp**: 333-360, Edited by G.C. Ainsworth & P.H.A. Sneath. Cambridge University Press, Cambridge.

- Sneath, P. H. A., 1957a. Some thoughts on bacterial classification. *Journal of General Microbiology*, **17**: 184-200.
- Sneath, P. H. A., 1957b. The application of computers to taxonomy. *Journal of General Microbiology*, **17**: 201-226.
- Sneath, P. H. A., Sokal, R. R. 1973. Numerical Taxonomy: *The Principles and Practice of Numerical Classification*. W. H. Freeman, Baltimore.
- Sohier D., Berthier F., Reitz J., 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: bacterial taxonomy. *Int J Food Microbiol*, **126**: 267-270.
- Sousa, J., Olivares, F., 2016. Plant growth promotion by *Streptomyces*: ecophysiology, mechanisms and application. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, **3**: 24.
- Stackebrandt, E., Ebers J., 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today*, **33**: 152-155.
- Stackebrandt, E., Liesack, W., Webb, R., Witt, D., 1991. Towards a molecular identification of *Streptomyces* species in pure culture and in environmental samples. *Actinomycetologia* **5**: 38-47.
- Stackebrandt, E., Liesack, W., Witt, D., 1992. Ribosomal RNA and rDNA sequence analyses. *Gene* **115**: 255-260.
- Stackebrandt, E., Rainey, F.A., Rainey, F.L., 1997. Proposal for a new hierarchic classification system. Actinobacteria classis nov. *Int. J. Sys. Bacteriology* **47**: 479-491.
- Stackebrandt, E., Woose, C., R., 1981. Towards a phylogeny of Actinomycetes and related organisms. *Current Mikrobiology*, **5**: 131-136.
- Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G. M., Grimont P. A. D., Kämpfer P., Maiden M. C. J., Nesme X., Rosselló-Mora R., Swings J., Trüper H. G., Vauterin L., Ward A. C., Whitman W. B., 2002. Report of the *ad hoc* committee for the reevaluation of the species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, **52**: 1043-1047.
- Şahin, N., 2005. Antimicrobial activity of *Streptomyces* species against mushroom blotch disease pathogen. *J. Basic Microbiol.*, **45**: 64-71.
- Taguchi, S., Kojima, S., Miura, K., Momose, H., 1996. Taxonomic characterisation of closely-related *Streptomyces* spp. based on the amino acid sequence analysis of protease inhibitor proteins. *FEMS Microbiol. Lett.*, **135**: 169-180.
- Takeuchi, T., Sawada, H., Tanaka, F., Matsuda, I., 1996. Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. causing potato scab based on 16S rRNA sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology* **46**: 476-479.
- Tan, G. Y. A., Ward, A. C., & Goodfellow, M. 2006. Exploration of *Amycolatopsis* diversity in soil using genus-specific primers and novel selective media. *Systematic and Applied Microbiology*, **29** (7): 557-569.
- Tan, L., Ser, H., Yin, W., Chan, K., Lee, L., Goh, B., 2015. Investigation of antioxidative and anticancer potentials of *Streptomyces* sp. MUM256 isolated from Malaysia mangrove soil. *Front Microbiol*, **6**: 1316.
- Thumar, J.T., Dhulia, K., and Singh, S.P., 2010. Isolation and partial purification of an antimicrobial agent from halotolerant alkaliphilic *Streptomyces aburaviensis* strain Kut-8. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **26**: 2081-2087.
- Terkina, I.A., Parfenova, V.V., Ahn, T.S., 2006. Antagonistic activity of actinomycetes.

- Torikata, A., R. Enokita, T. Okazaki, M. Nakajima, S. Iwado, T. Haneishi, and M. Arai. 1983. Mycoplanecins, novel actinomycobacterial antibiotics from *Actinoplanes awajinensis* subsp. *mycoplanecinus* subsp. nov. I. Taxonomy of producing organism and fermentation. *J. Antibiot.*, **36**: 957-960
- Trujillo, M., H., Goodfellow, M., 2003. Numerical fenetic classification of clinically signifikanterobic sporoactinomycetes and related organisms. *Antonie van Leuweemhoek*, **84**: 39-68.
- Tu, J., C., 1996. Hyperparasitism of *Streptomyces albus* ona destructive mycoparasite *Nectria inventa*. *Journal of Phytopathology* **117**: 71-76.
- Upton, M., 1994. *Ecological Approaches to Selective Isolation of Actinomyetes for Bioactivity Screening*. Ph.D. thesis. University of Newcatle, Newcastle upon Tyne, UK.
- Ünal, D.H., 2017 *Sapanca Gölü (Sakarya) Havzası Toprak ve Sedimentlerinden Streptomyces Cinsi Bakterilerin İzolasyonu, Moleküler Karakterizasyonu ve Teşhisi* Y.L. Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K., and Swings, J., 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.*, **60** (2): 407-438.
- Vauterin, L., Swings, J., Kersters, K., 1993. Protein electrophoresis and classification. In *Handbook of New Bacterial Systematics*, Edited by M. Goodfellow & A. G. O'Donnell. *Academic Press*, London, 251-281.
- Veyisoğlu, A., 2014. *Karadeniz Dip Sedimentinin Aktinobakteri Biyoçeşitliliğinin Belirlenmesi ve Polifazik Karakterizasyonu* (Doktora Tezi Basılmamış) On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Viale, A.M., Arakaki, A.K., Soncini, F.C., Ferreyra, R.G., 1994. Evolutionary relationship among eubacterial groups as inferred from GroEL (Chaperonin) sequence comparisons, *Int. J. of Syst. Bacteriol.*, **44** (3): 527-533.
- Wakisaka, Y., Y. Kawamura, Y. Yasuda, K. Koizumi, and Y. Nishimito. 1982. A selective isolation procedure for *Micromonospora*. *J. Antibiot.*, **35**: 822-836.
- Waksman and Henrici 1943, 339(AL). *International Journal of Systematic Bacteriology* **42**: 156-160.
- Watkins, 2013. *Factors Influencing the Distribution of Soil Streptomyces spp. and Determination of Species Capable of Producing a Neurodegenerative Metabolite*, Thesis, Tuscaloosa, Alabama, Univ. of Alabama, US.,.
- Wayne, L., G., Brenner, D., J., Colwell, R., R., 1987. International Committee on Systematic Bacteriology. Report of the adhoc committee on recon ciliation of approaches to bacterial systematics. *Int J Syst Bacteriol* **37**: 463–464.
- Wellington, E., M., H., Stackebrandt, E., Sanders, D., Wolstrup, J., Jorgensen, N., O., G., 1992. Taxonomic status of *Kitasatosporia* and proposed unification with *Streptomyces* on the basis of phenotipic and 16S rDNA analysis and emendation of *Streptomyces*
- Wendisch, F.K., Kutzner, H.J., 1991. The family *Streptomycetaceae*. In *Prokaryotes Second edition, Vol:1* p, 922-995. Ed. by A. Ballows et al., Springer Verlag.
- Williams, S., T., Goodfellow, M., Alderson, G., 1989. *Genus Streptomyces Waksman and Henrici 1943, 339AL*. In Berys's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 4, Edited by S.T. Williams, M.E. Sharpe & J.G. Holt. Williams & Wilkins. Baltimore, 2452-2492.

- Williams, S., T., Goodfellow, M., Aldersons, G., Wellington, E., M., H., Sneath, P., H., A., Sackin, M., J., 1983a. Numerical Classification of *Streptomyces* and Related Genera. *Journal of General Microbiology* **129**: 1743-1813.
- Williams, S., T., Goodfellow, M., Wellington, E., M., H., Vickers, J., C., Aldersons, G., Sneath, P., H., A., Sackin, M., J., Mortimer, A., M., 1983b. A probability matrix for identification of some *Streptomyces*. *Journal of General Microbiology*, **129**: 1815-1830.
- Wipat, A., Wellington, E., M., H., Saunders, V., A., 1994. Mono- clonal antibodies for *Streptomyces lividans* and their use for immunomagnetic capture of spores from soil. *Microbiology* **140**: 2067–2076.
- Witt, D., Stackebrandt, E., 1990. Unification of the genera *Streptoverticillium* and *Streptomyces* and amendment of *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943 339AL *Systematic and Applied Microbiology*, **13**: 361-371.
- Woese, C. R., 1987. Bacterial Evolution. *Microbiological Reviews*, **51**: 221-271.
- Woese, C.R., Kandler, O., Wheelis, M.L., 1990. Towards natural system of an organism: Proposal for the domains Archeae, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**: 4576-4579.
- Woo, P.C.Y., Lau, S. K. P., Teng, J.L.L., Tse, H. and. Yuen, K.-Y., 2008. Then and now: use of 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin. Microbiol. Infect.*, **14**: 908-934.
- Wright, F., Bibb, M., J., 1992. Codon usage in the G+C rich *Streptomyces* genome. *Gene*, **113**: 55-65.
- Ye Y, Minami A, Mandi A, Liu C, Taniguchi T, Kuzuyama T, Monde K, Gomi K, Oikawa H. J., 2015. *Am Chem Soc.* **137**:11846–11853.
- Yilmaz, M., Beyatlı, Y., 2003. *Bacillus* cinsi bakterilerde antimikrobiyal aktivite ve antibiyotik üretimi. *Orlab or-line Mikrobiyoloji Dergisi*, **7**: 35-49.
- Yousif, G., Busarakam, K., Kim, BY., Goodfellow, M., 2015, “*Streptomyces mangrovi* sp. nov., isolated from mangrove forest sediment”, *Antonie van Leeuwenhoek* **108**: 783–791.
- Yuan G., Hong K., Lin, H., She, Z., Li, J., 2013. New azalomycin F analogs from mangrove *Streptomyces* sp. 211726 with activity against microbes and cancer cells. *Marine Drugs*, **11**: 817–829.
- Zhang, BH., Cheng, J., Li, L., Zhang, YG., Wang, HF., Li, HQ., Yang, JY., Li, WJ., 2014. *Streptomyces jiujiangensis* sp. nov., isolated from soil in South China *Antonie van Leeuwenhoek* **105**: 763-770.
- Zhang, Z., Wang, Y., Ruan, J., 1997. A proposal to revive the genus *Kitasatosporia* (Omura, Takahashi, Iwai, Tanaka, 1982) *In. J. Syst. Bacteriol.*, **47**: 1048-1054.
- Zhao, S., Ye, L., Liu, C., Abagana, A. Y., Zheng, W., Sun, P., Wang, X., 2017. *Streptomyces gamaensis* sp. nov., a novel actinomycetes with antifungal activity isolated from soil in Gama, Chad. *Antonie van Leeuwenhoek* **110** (4): 471-477

## EKLER

### Ek 1. Besiyerleri

#### Bennett's Agar (Modified after Jones, 1949)

Yeast Ekstrakt	1.0 g
Lab Lemco	0.8 g
Bacto Casitone	2.0 g
Gliserol	10.0 g
Agar	18.0 g
Distile su	1 litre

#### Medium 65 (DSMZ)

Glukoz	4.0 g
Yeast extract	4.0 g
Malt extract	10.0 g
CaCO <sub>3</sub>	2.0 g
Agar	12.0 g
Distile su	1 litre

#### SM3 (Tan et al., 2006)

Glukoz	10.0 g
Pepton	5.0 g
Tryptone	3.0 g
NaCl	5.0 g
Agar	15.0 g

#### Oatmeal Agar (ISP 3; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Oatmeal	20.0 g
Trace Tuz Solusyonu	1 ml
Bacto-agar	18.0 g
Distile su	1 litre

## Azot Kaynaklarının Kullanımı (Willams ve ark., 1983a)

Glukoz	10.0 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
NaCl	0.5 g
Bacto-agar	6.0 g
Distile su	1 litre

## ISP 9 (Karbon Kaynaklarının Kullanımı; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Amonyum Sülfat	2.64 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.38 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5.65 g
MgSO <sub>4</sub>	1.0 g
Trace Tuz Solusyonu	1.0 ml
Bacto-agar	18.0 g
Distile su	1 litre

## ISP 4 (Shirling ve Gottlieb, 1966)

Nişasta	10.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5.65 g
MgSO <sub>4</sub>	1.0 g
NaCl	1.0 g
(NH <sub>4</sub> )H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2.0 g
Trace Tuz Solusyonu	1.0 ml
Bacto-agar	20.0 g
Distile su	1 litre



## Egg Yolk Agar (Lectinaz ve Lipolizis Reaksiyonu; Nitsch ve Kutzner, 1969)

Bakteriolojik pepton	10.0 g
Glukoz	1.0 g
NaCl	10.0 g
Yeast Ekstrakt	5.0 g
Bacto-agar	15.0 g
Egg-Yolk emülsyon	5% (v/v)

## Nitrat Agar (Skerman, 1967)

KNO <sub>3</sub>	10.0 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.01 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
NaCl	0.5 g
Bacto-agar	6.0 g
Distile su	1 litre

## Pepton Yeast Ekstrakt Demir Agar (ISP 6; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Bacto Pepton	15.0 g
Proteaz Pepton	5.0 g
Yeast Ekstrakt	1.0 g
Ferik Amonyum Sitrat	0.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
Sodyum tiosulfat	0.08 g
Bacto-agar	15.0 g
Distile su	1 litre

## Nişasta Kazein Agar (Küster ve Williams, 1964)

Nişasta	10.0 g
Vitaminsiz Kazein	0.3 g
KNO <sub>3</sub>	2.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.0 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.05 g
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 g
CaCO <sub>3</sub>	0.02 g
Agar	18.0 g
Distile Su	1 litre

## Arbutin Hidrolizi (Kutzner, 1976)

Arbutin	1.0 g
Yeast Ektrakt	3.0 g
Ferik Amonyum Sitrat	0.5 g
Agar	7.5 g
Distile su	1 litre

## Tirozin Agar (ISP 7; Shirling ve Gottlieb, 1966)

Gliserol	15.0 g
L-Tirozin	0.5 g
L-Aspargin	1.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 g
NaCl	0.5 g
Tuz Solusyonu	1 ml
Bacto Agar	20.0 g
Distile Su	1 litre

## Ek 2. Çözeltiler

### Ringer Çözeltisi

Ringer çözeltisi, izolasyon çalışmasına başlamadan önce toprak süspansiyonu elde edilmesi ve testlerin uygulama aşamasından önce spor süspansiyonunun hazırlanması için kullanılmıştır. Ringer çözeltisi (Oxoid) 1 tablet Saf su 500 ml 1 tane Ringer tableti 500 ml saf su içerisinde çözüldü ve ağzı kapaklı veya pamukla kapalı cam tüplere uygun miktarlarda konularak, 121°C’de 15 dakika otoklav edildi.

### Gliserol Stok Çözeltisi (Wellington ve Williams, 1978)

Gliserol stoğu, *Streptomyces* sporlarının ve misellerinin uzun süre -20°C’de saklanması için hazırlanmıştır. Gliserol 20 ml Saf su 80 ml % 20’lik gliserol çözeltisi, yaklaşık 1.5 ml miktarında vidalı kapaklı küçük tüplere konularak 121°C’de 15 dakika otoklav edilerek steril edildi.

### 50 µg/ml Konsantrasyonunda Cycloheximide Stok Solüsyonu

Cycloheximide (50 µg/ml), izolasyon ortamına, istenmeyen bazı mikroorganizmalarının üremesini engellemek için katılmıştır. Cycloheximide (50 µg/ml), antimikrobiyal aktivite, antibiyotik ve kimyasal inhibitör testleri hariç diğer kültür ortamlarında da aynı amaçla kullanılmıştır. Öncelikle 100 ml’lik otoklava dayanıklı boş bir şişe, 121°C’de 15 dakika otoklav edilerek steril edildi. Daha sonra ayrı olarak 100 ml metanol içerisinde 2 g cycloheximide çözüldü. Cycloheximide çözeltisi, steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş boş bir şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafilmleli +40C’de saklandı. Besiyeri hazırlanırken, aseptik koşullarda bu stok solüsyonundan 1 ml çekilerek steril edilmiş ve besiyerine katıldı. Ancak besiyerinin sıcaklığı ortalama 45-50°C olmalıdır. Daha sonra, besiyerinin petrilere döküm işlemi yapıldı (Cycloheximide etanol, metanol ve kloroform içinde çözünür).

### 50 µg/ml Konsantrasyonunda Nystatin Stok Solüsyonu

Nystatin (50 µg/ml), izolasyon ortamına istenmeyen bazı mikroorganizmalarının üremesini engellemek için katılmıştır. Öncelikle 100 ml’lik otoklava dayanıklı boş bir sise, 121°C’de 15 dakika otoklav edilerek steril edildi. Daha sonra ayrı olarak 100 ml

saf su içerisinde 2 g nystatin çözüldü. Nystatin çözeltisi, steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş bos bir şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. Şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafilmlemlenip +4°C’de saklandı. Besiyeri hazırlanırken, aseptik koşullarda bu stok solüsyonundan 1 ml çekilerek steril edilmiş besiyerine katıldı. Daha sonra, besiyeri petrilere döküldü.

Trace Salt Solution (Shirling ve Gottlieb, 1966)

Bu çözelti, İnorganik Salts-Starch Agar (ISP 4) ve Oatmeal Agar (ISP 3) ortamlarının hazırlanmasında kullanılmıştır.

FeSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O 0.1 g

MnCl<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O 0.1 g

ZnSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O 0.1 g

Saf su 100 ml

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

0.5 M EDTA, pH 8

EDTA (Merck)	186.1 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

1 M Tris, pH 8

Tris	121.1 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

TE tamponu, pH 8

0.5M EDTA, pH 8	2 ml
1M Tris, pH 8	10 ml
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

## % 10'luk SDS

SDS (Merck)	10.0 g
ddH <sub>2</sub> O	100 ml

## Proteinaz K (2 mg/ml)

Proteinaz K	2 mg
TE tamponu	10 ml

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

Kloroform	24 ml
Izo-amil alkol	1 ml

## %70'lik etanol

% 100'lük alkol	70 ml
DDH <sub>2</sub> O (steril)	30 ml

## RNAaz (10 mg/ml)

RNAaz	10 mg
TE tamponu	10 ml

## Fenol-kloroform-izo-amil alkol (25:24:1v/v)

Fenol	25 ml
Kloroform	24 ml
Izo-amil alkol	1 ml

## Etidyum Bromid (10 mg/ml stok)

Etidyum bromide	100 mg
ddH <sub>2</sub> O	10 ml

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

Tris	121.10 g
Borik asit	61.83 g
EDTA	5.84 g
ddH <sub>2</sub> O	1000 ml

## Brom fenol mavisi (Yükleme Tamponu)

Brom fenol mavisi	40 mg
Gliserol	5 ml
0.5 M EDTA	1.5 ml
ddH <sub>2</sub> O	3.5 ml

## STE Tamponu

5 M NaCl	10 ml
1 M Tris pH:8.0	25ml
0,5 M EDTA	100 ml
ddH <sub>2</sub> O	365ml

### Ek 3. IDENTAX Bacterial Identifier 1.2

Identax bilinen suşların teşhis matrislerine karşı bilinmeyen bakteriyal izolatların teşhisini yapabilmek için geliştirilmiş bir programdır. Programın üç ana fonksiyonu vardır

1. Bilinmeyen izolatların teşhisini yapabilme
2. Şayet teşhis başarısız olursa izolata en yakın benzerlik gösteren türlerin seçimini yapabilme
3. Sonuçları depolama ve yeniden çağırabilme

#### Yeni bir dosya yaratmak:

Öncelikle analiz yapılacak teşhis matrisi belirlenmelidir. Streptomyces bakterileri için üç temel teşhis matrisi bulunmaktadır. Bunlar Major, Minör ve Tek üyeli gruptan oluşmaktadır. Daha sonra uygulanan testlerin sonuçları uygun pencereye artı ve eksi biçiminde girilmelidir.

Uygulanan testler girildikten sonra program otomatik olarak teşhis sonucunu var olan matris ile karşılaştırıp vermektedir. Bu sonuca göre tam teşhis edilen türler belirlenerek eğer teşhis değeri yeterli bulunmazsa en yakın akraba türler sıralanmaktadır.

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları

Testler	HS001	HS002	HS003	HS004	HS005	HS006	HS007	HS008	HS009	HS010	HS011	HS012	HS013	HS014	HS015	HS016	HS017	HS018	HS019	HS020	HS021	HS022	HS023	HS024	HS025	HS026	
Morfoloji																											
Havasal Spor Üretimi																											
1. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
2. Sarı	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4. Beyaz	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	
5. Gri	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	
6. Mavi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Substrat Misel Oluşumu																											
7. Sarı	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
8. Krem	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	
9. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11. Beyaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	
12. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	
13. Yeşil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Difüziye Pigment Oluşumu																											
14. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
15. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
16. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
17. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
18. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	



Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS001	HS002	HS003	HS004	HS005	HS006	HS007	HS008	HS009	HS010	HS011	HS012	HS013	HS014	HS015	HS016	HS017	HS018	HS019	HS020	HS021	HS022	HS023	HS024	HS025	HS026
Antimikrobiyal aktivite																										
19. <i>Esheria coli</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Degredasyon testleri																										
22. Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. Kazein	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25. Arbutin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26. Üre	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
27. Jelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28. Lipolizis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29. Pektin Hidrolizi	+	+	+		+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
30. Lesitinaz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
31. Pepton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Gelişme (%w/v)																										
32. 5 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34. 45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. pH 4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. NaCl (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. NaCl (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS001	HS002	HS003	HS004	HS005	HS006	HS007	HS008	HS009	HS010	HS011	HS012	HS013	HS014	HS015	HS016	HS017	HS018	HS019	HS020	HS021	HS022	HS023	HS024	HS025	HS026	
Gelişme (%w/v)																											
40. Sodyum azit (0.01)	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	
41. Fenol (0.1)	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	
42. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
43. Sodyum sitrat (0.1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<u>Azot Kaynakları</u>																											
44. L- Asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
45. L - Sistein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
46. L - Valin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
47. L -Trozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
48. L - Sistin	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
49. L - Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
50. L - Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
51. L - Metionin	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
52. L - Triptofan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
54. L – Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
55. L- Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<u>Karbon Kaynakları</u>																											
56. Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
57. Maltoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
58. Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
59. Fruktoz	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
60. Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
61. Mannoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS001	HS002	HS003	HS004	HS005	HS006	HS007	HS008	HS009	HS010	HS011	HS012	HS013	HS014	HS015	HS016	HS017	HS018	HS019	HS020	HS021	HS022	HS023	HS024	HS025	HS026	
Karbon Kaynakları																											
62. Arabinoz	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	
63. Xylose	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
64. Ksilitol	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
65. Mannitol	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
66. Ramnoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
67. Arabitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
68. Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
69. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
70. Dulcitol	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
71. Trahelez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
72. Eritritol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
73. Cellobiose	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Antibiyotik Duyarlılığı																											
74. Rifamisin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
75. Penisilin	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	
76. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
77. Oleandomisin	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS027	HS028	HS029	HS030	HS031	HS032	HS033	HS034	HS035	HS036	HS037	HS038	HS039	HS040	HS041	HS042	HS043	HS044	HS045	HS046	HS047	HS048	HS049	HS050	HS051	HS052	
Morfoloji																											
Havasal Spor Üretimi																											
1. Krem	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
2.Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. Beyaz	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
5. Gri	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
6. Mavi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Substrat Misel Oluşumu																											
7. Sarı	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
8. Krem	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
9. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. Kırmızı	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11. Beyaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
12. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
13. Yeşil	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Difüziye Pigment Oluşumu																											
14. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
15. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17. Kırmızı	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS027	HS028	HS029	HS030	HS031	HS032	HS033	HS034	HS035	HS036	HS037	HS038	HS039	HS040	HS041	HS042	HS043	HS044	HS045	HS046	HS047	HS048	HS049	HS050	HS051	HS052
Antimikrobiyal aktivite																										
19. <i>Esherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Degredasyon testleri																										
22. Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
23. Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. Kazein	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
25. Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
26. Üre	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
27. Jelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
28. Lipolizis	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
29. Pektin Hidrolizi	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30. Lesitinaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
31. Pepton	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Gelişme (%w/v)																										
32. 5 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34. 45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. pH 4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. NaCl (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. NaCl (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS027	HS028	HS029	HS030	HS031	HS032	HS033	HS034	HS035	HS036	HS037	HS038	HS039	HS040	HS041	HS042	HS043	HS044	HS045	HS046	HS047	HS048	HS049	HS050	HS051	HS052	
Gelişme (%w/v)																											
40. Sodyum azit (0.01)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41. Fenol (0.1)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
42. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43. Sodyum sitrat (0.1)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Azot Kaynakları																											
44. L- Asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45. L - Sistein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
46. L - Valin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
47. L -Trozin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48. L - Sistin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
49. L - Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50. L - Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
51. L - Metionin	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
52. L - Triptofan	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54. L – Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55. L- Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Karbon Kaynakları																											
56. Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
57. Maltoz	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
58. Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
59. Fruktoz	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
60. Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
61. Mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS027	HS028	HS029	HS030	HS031	HS032	HS033	HS034	HS035	HS036	HS037	HS038	HS039	HS040	HS041	HS042	HS043	HS044	HS045	HS046	HS047	HS048	HS049	HS050	HS051	HS052	
Karbon Kaynakları																											
62. Arabinoz	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
63. Xylose	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
64. Ksilitol	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
65. Mannitol	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
66. Ramnoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
67. Arabitol	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
68. Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
69. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
70. Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	
71. Trahelez	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
72. Eritritol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
73. Cellobiose	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
Antibiyotik Duyarlılığı																											
74. Rifamisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
75. Penisilin	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	
76. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
77. Oleandomisin	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS053	HS054	HS055	HS056	HS057	HS058	HS059	HS060	HS061	HS062	HS063	HS064	HS065	HS066	HS067	HS068	HS069	HS070	HS071	HS072	HS073	HS074	HS075	HS076	HS077	HS078		
Morfoloji																												
Havasal Spor Üretimi																												
1. Krem	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4. Beyaz	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
5. Gri	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	
6. Mavi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Substrat Misel Oluşumu																												
7. Sarı	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
8. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	
9. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
10. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11. Beyaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
12. Kahverengi	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
13. Yeşil	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
Difüziye Pigment Oluşumu																												
14. Kahverengi	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
15. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
16. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
17. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
18. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	



Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS053	HS054	HS055	HS056	HS057	HS058	HS059	HS060	HS061	HS062	HS063	HS064	HS065	HS066	HS067	HS068	HS069	HS070	HS071	HS072	HS073	HS074	HS075	HS076	HS077	HS078
Antimikrobiyal aktivite																										
19. <i>Esheria coli</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Degredasyon testleri																										
22. Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. Kazein	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
25. Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26. Üre	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
27. Jelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28. Lipolizis	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29. Pektin Hidrolizi	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+
30. Lesitinaz	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
31. Pepton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Gelişme (%w/v)																										
32. 5 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34. 45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. pH 4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. NaCl (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. NaCl (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS053	HS054	HS055	HS056	HS057	HS058	HS059	HS060	HS061	HS062	HS063	HS064	HS065	HS066	HS067	HS068	HS069	HS070	HS071	HS072	HS073	HS074	HS075	HS076	HS077	HS078	
Gelişme (%w/v)																											
40. Sodyum azit (0.01)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	
41. Fenol (0.1)	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	
42. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
43. Sodyum sitrat (0.1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Azot Kaynakları																											
44. L- Asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
45. L - Sistein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
46. L - Valin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
47. L -Trozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
48. L - Sistin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
49. L - Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
50. L - Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
51. L - Metionin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
52. L - Triptofan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
54. L – Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
55. L- Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
Karbon Kaynakları																											
56. Laktoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
57. Maltoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
58. Sukroz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
59. Fruktoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	
60. Galaktoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
61. Mannoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS053	HS054	HS055	HS056	HS057	HS058	HS059	HS060	HS061	HS062	HS063	HS064	HS065	HS066	HS067	HS068	HS069	HS070	HS071	HS072	HS073	HS074	HS075	HS076	HS077	HS078	
Karbon Kaynakları																											
62. Arabinoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	
63. Xyloze	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	
64. Ksilitol	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	
65. Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
66. Ramnoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
67. Arabitol	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
68. Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
69. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
70. Dulcitol	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
71. Trahelez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
72. Eritritol	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
73. Cellobiose	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Antibiyotik Duyarlılığı																											
74. Rifamisin	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
75. Penisilin	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
76. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
77. Oleandomisin	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS079	HS080	HS081	HS082	HS083	HS084	HS085	HS086	HS087	HS088	HS089	HS090	HS091	HS092	HS093	HS094	HS095	HS096	HS097	HS098	HS099	HS100	HS101	HS102	HS103	HS104	
Morfoloji																											
Havasal Spor Üretimi																											
1. Krem	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	
2.Sarı	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4. Beyaz	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	
5. Gri	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	
6. Mavi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Substrat Misel Oluşumu																											
7. Sarı	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
8. Krem	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	
9. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11. Beyaz	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	
12. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13. Yeşil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
Difüziye Pigment Oluşumu																											
14. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
15. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
16. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
17. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
18. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS079	HS080	HS081	HS082	HS083	HS084	HS085	HS086	HS087	HS088	HS089	HS090	HS091	HS092	HS093	HS094	HS095	HS096	HS097	HS098	HS099	HS100	HS101	HS102	HS103	HS104
Antimikrobiyal aktivite																										
19. <i>Esherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Degredasyon testleri																										
22. Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. Kazein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
25. Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26. Üre	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+
27. Jelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28. Lipolizis	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29. Pektin Hidrolizi	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
30. Lesitinaz	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31. Pepton	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
Gelişme (%w/v)																										
32. 5 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34. 45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. pH 4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. NaCl (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. NaCl (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS079	HS080	HS081	HS082	HS083	HS084	HS085	HS086	HS087	HS088	HS089	HS090	HS091	HS092	HS093	HS094	HS095	HS096	HS097	HS098	HS099	HS100	HS101	HS102	HS103	HS104
Gelişme (%w/v)																										
40. Sodyum azit (0.01)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
41. Fenol (0.1)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
42. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43. Sodyum sitrat (0.1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Azot Kaynakları																										
44. L- Asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45. L - Sistein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
46. L - Valin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
47. L -Trozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
48. L - Sistin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49. L - Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50. L - Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
51. L - Metionin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
52. L - Triptofan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
54. L – Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55. L- Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
Karbon Kaynakları																										
56. Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
57. Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
58. Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
59. Fruktoz	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+
60. Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
61. Mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS079	HS080	HS081	HS082	HS083	HS084	HS085	HS086	HS087	HS088	HS089	HS090	HS091	HS092	HS093	HS094	HS095	HS096	HS097	HS098	HS099	HS100	HS101	HS102	HS103	HS104	
Karbon Kaynakları																											
62. Arabinoz	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	
63. Xyloze	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	
64. Ksilitol	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	
65. Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
66. Ramnoz	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
67. Arabitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
68. Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
69. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
70. Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
71. Trahelez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
72. Eritritol	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
73. Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
Antibiyotik Duyarlılığı																											
74. Rifamisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
75. Penisilin	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	
76. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
77. Oleandomisin	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS105	HS106	HS107	HS108	HS109	HS110	HS111	HS112	HS113	HS114	HS115	HS116	HS117	HS118	HS119	HS120	HS121	HS122	HS123	HS124	HS125	HS126	HS127	HS128	HS129	HS130	
Morfoloji																											
Havasal Spor Üretimi																											
1. Krem	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
2.Sarı	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
4. Beyaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
5. Gri	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6. Mavi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Substrat Misel Oluşumu																											
7. Sarı	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
8. Krem	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	
9. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
10. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11. Beyaz	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
12. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13. Yeşil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Difüziye Pigment Oluşumu																											
14. Kahverengi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
15. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
16. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
17. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
18. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	



Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS105	HS106	HS107	HS108	HS109	HS110	HS111	HS112	HS113	HS114	HS115	HS116	HS117	HS118	HS119	HS120	HS121	HS122	HS123	HS124	HS125	HS126	HS127	HS128	HS129	HS130	
Antimikrobiyal aktivite																											
19. <i>Esherichia coli</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Degredasyon testleri																											
22. Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. Kazein	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
25. Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26. Üre	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
27. Jelatin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28. Lipolizis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
29. Pektin Hidrolizi	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
30. Lesitinaz	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
31. Pepton	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
Gelişme (%w/v)																											
32. 5 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34. 45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. pH 4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. NaCl (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. NaCl (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS105	HS106	HS107	HS108	HS109	HS110	HS111	HS112	HS113	HS114	HS115	HS116	HS117	HS118	HS119	HS120	HS121	HS122	HS123	HS124	HS125	HS126	HS127	HS128	HS129	HS130	
Gelişme (%w/v)																											
40. Sodyum azit (0.01)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
41. Fenol (0.1)	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
42. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43. Sodyum sitrat (0.1)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Azot Kaynakları																											
44. L- Asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45. L - Sistein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
46. L - Valin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
47. L -Trozin	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48. L - Sistin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49. L - Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50. L - Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
51. L - Metionin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
52. L - Triptofan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54. L – Hidroksiprolin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55. L- Fenilalanin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Karbon Kaynakları																											
56. Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
57. Maltoz	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
58. Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
59. Fruktoz	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
60. Galaktoz	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
61. Mannoz	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS105	HS106	HS107	HS108	HS109	HS110	HS111	HS112	HS113	HS114	HS115	HS116	HS117	HS118	HS119	HS120	HS121	HS122	HS123	HS124	HS125	HS126	HS127	HS128	HS129	HS130	
Karbon Kaynakları																											
62. Arabinoz	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
63. Xylose	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
64. Ksilitol	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
65. Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
66. Ramnoz	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
67. Arabitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
68. Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70. Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
71. Traheloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72. Eritritol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
73. Cellobiose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Antibiyotik Duyarlılığı																											
74. Rifamisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75. Penisilin	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
76. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
77. Oleandomisin	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HSI31	HSI32	HSI33	HSI34	HSI35	HSI36	HSI37	HSI38	HSI39	HSI40	HSI41	HSI42	HSI43	HSI44	HSI45	HSI46	HSI47	HSI48	HSI49	HSI50	HSI51	HSI52	HSI53	HSI54	HSI55	HSI56
Morfoloji																										
Havasal Spor Üretimi																										
1. Krem	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
2.Sarı	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3.Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. Beyaz	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-
5. Gri	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
6. Mavi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Substrat Misel Oluşumu																										
7. Sarı	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
8. Krem	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
9. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
11. Beyaz	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
12. Kahverengi	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13. Yeşil	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Difüziye Pigment Oluşumu																										
14. Kahverengi	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
18. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS131	HS132	HS133	HS134	HS135	HS136	HS137	HS138	HS139	HS140	HS141	HS142	HS143	HS144	HS145	HS146	HS147	HS148	HS149	HS150	HS151	HS152	HS153	HS154	HS155	HS156
Antimikrobiyal aktivite																										
19. <i>Esherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Degredasyon testleri																										
22. Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. Kazein	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-
25. Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26. Üre	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+
27. Jelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28. Lipolizis	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29. Pektin Hidrolizi	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
30. Lesitinaz	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
31. Pepton	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
Gelişme (%w/v)																										
32. 5 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34. 45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. pH 4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. NaCl (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. NaCl (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS131	HS132	HS133	HS134	HS135	HS136	HS137	HS138	HS139	HS140	HS141	HS142	HS143	HS144	HS145	HS146	HS147	HS148	HS149	HS150	HS151	HS152	HS153	HS154	HS155	HS156	
Gelişme (%w/v)																											
40. Sodyum azit (0.01)	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	
41. Fenol (0.1)	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	
42. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
43. Sodyum sitrat (0.1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Azot Kaynakları																											
44. L- Asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
45. L - Sistein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
46. L - Valin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
47. L -Trozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
48. L - Sistin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
49. L - Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
50. L - Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
51. L - Metionin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
52. L - Triptofan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
54. L – Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
55. L- Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	
Karbon Kaynakları																											
56. Laktoz	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
57. Maltoz	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
58. Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
59. Fruktoz	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	
60. Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
61. Mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS131	HS132	HS133	HS134	HS135	HS136	HS137	HS138	HS139	HS140	HS141	HS142	HS143	HS144	HS145	HS146	HS147	HS148	HS149	HS150	HS151	HS152	HS153	HS154	HS155	HS156	
Karbon Kaynakları																											
62. Arabinoz	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-
63. Xyloze	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
64. Ksilitol	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
65. Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
66. Ramnoz	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
67. Arabitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
68. Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70. Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
71. Trahelez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72. Eritritol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
73. Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Antibiyotik Duyarlılığı																											
74. Rifamisin	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
75. Penisilin	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
76. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
77. Oleandomisin	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HSI57	HSI58	HSI59	HSI60	HSI61	HSI62	HSI63	HSI64	HSI65	HSI66	HSI67	HSI68	HSI69	HSI70	HSI71	HSI72	HSI73	HSI74	HSI75	HSI76	HSI77	HSI78	HSI79	
Morfoloji																								
Havasal Spor Üretimi																								
1. Krem	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	
2. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4. Beyaz	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
5. Gri	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
6. Mavi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Substrat Misel Oluşumu																								
7. Sarı	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	
8. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	
9. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
10. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11. Beyaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
12. Kahverengi	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
13. Yeşil	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Difüziye Pigment Oluşumu																								
14. Kahverengi	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
15. Turuncu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
16. Krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
17. Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
18. Sarı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	



Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS157	HS158	HS159	HS160	HS161	HS162	HS163	HS164	HS165	HS166	HS167	HS168	HS169	HS170	HS171	HS172	HS173	HS174	HS175	HS176	HS177	HS178	HS179	
Antimikrobiyal aktivite																								
19. <i>Esheria coli</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Degredasyon testleri																								
22. Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. Kazein	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
25. Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26. Üre	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+
27. Jelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28. Lipolizis	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29. Pektin Hidrolizi	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
30. Lesitinaz	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
31. Pepton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Gelişme (%w/v)																								
32. 5 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33. 27 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34. 45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. pH 4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36. pH 7.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37. NaCl (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. NaCl (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. NaCl (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS157	HS158	HS159	HS160	HS161	HS162	HS163	HS164	HS165	HS166	HS167	HS168	HS169	HS170	HS171	HS172	HS173	HS174	HS175	HS176	HS177	HS178	HS179	
Gelişme (%w/v)																								
40. Sodyum azit (0.01)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
41. Fenol (0.1)	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
42. Sodyum asetat (0.001)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43. Sodyum sitrat (0.1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Azot Kaynakları																								
44. L- Asparagin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45. L - Sistein	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
46. L - Valin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
47. L -Trozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48. L - Sistin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49. L - Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50. L - Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
51. L - Metionin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
52. L - Triptofan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54. L – Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55. L- Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Karbon Kaynakları																								
56. Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
57. Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
58. Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
59. Fruktoz	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
60. Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
61. Mannoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

Ek 4. İzole edilen *Streptomyces* türlerine uygulanan test sonuçları (Devamı)

Testler	HS157	HS158	HS159	HS160	HS161	HS162	HS163	HS164	HS165	HS166	HS167	HS168	HS169	HS170	HS171	HS172	HS173	HS174	HS175	HS176	HS177	HS178	HS179
Karbon Kaynakları																							
62. Arabinoz	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
63. Xylose	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
64. Ksilitol	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
65. Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
66. Ramnoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
67. Arabitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
68. Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69. Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70. Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
71. Trahelez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72. Eritritol	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
73. Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Antibiyotik Duyarlılığı																							
74. Rifamisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75. Penisilin	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
76. Neomisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
77. Oleandomisin	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-

**Ek 5. 16S rDNA Gen Dizleri**HS007

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATACCGGATAC—TGACCGGCCTGGGCATCC—AGGCGGGTTCGAAAG——CTCCGGCGG  
 TGAA——GGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGAC  
 GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGG  
 AGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATG  
 ACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GAC  
 GGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAG  
 CGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTTCGGTTGTGAAAGCCCG  
 GGGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTC  
 CTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGC  
 CGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG  
 CCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAA  
 GTGCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACA  
 AGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACC  
 GG—AAAGCATAGAGATAGTGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAG  
 CTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAG  
 GCCCTT—GTGGTGTGGGGACTCACAGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGA  
 CGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCT  
 GCGATGCCGAAAGGCGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACT  
 CGACCCCATGAAGT

HS008

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATACCGGATAA—AGACTGTCGCAGGCATGT—GAGAGGGTTAAAAG——CTCCGGCGG  
 TGAA——GGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCTTACCAAGGCGACGACG  
 GGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGA  
 GGCACCAGTGGGGAATATTGCACAATCGGCAAAAGCCTGCTGCAGCAACACCGCATGAGGGATGA  
 CGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACG  
 GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGC  
 GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTTCGGTTGTGAAAGCCCGG  
 GGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCT  
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCG  
 AACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 GTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAAAGT  
 GCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAG  
 CGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGG  
 —AAAGCATCAGAGATGGTGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAAGCC  
 CTTCCGGGGTGTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
 ATACCGCAAGGTGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
 CCCCATGAAGT

HS027

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACCGGATAA—CACTCTGTCCTGCATGG—GACGGGGTTAAAAG—CTCCGGCGGT  
 GAA—GGATGAGCCC GCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACG  
 GGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA  
 GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGA  
 CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACG  
 GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGC  
 GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGGTCGTAGGCGGCTTGTACAGTCGGATGTGAAAGCCCGG  
 GGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCT  
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCA  
 TTA CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 GTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGT  
 TCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAG  
 CGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGG  
 —AAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTATA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCC  
 CTTTCGGGGTGTAGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGG—CTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGA  
 TGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGGTCTGCAACTCGAC  
 CCCATGAAGT

HS029

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACCGGATA—TGA CTATCCGCCGCATGG—TGGATGGTGTAAAG—CTCCGGCGGT  
 GCA—GGATGAGCCC GCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGTAAGTGGCTACCAAGGCGACGACG  
 GGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA  
 GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGA  
 CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACG  
 GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGC  
 GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGATCTCGTAGGCGGCTTGTACAGTCGGATGTGTAAGCCCGG  
 GGCTTAGCCCTTGTCTGCGGCCCTACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCT  
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCG  
 ATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 GTAAACGGTGGGCACTAGGTGTTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGT  
 GCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAG  
 CGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGG  
 —AAACGTCTGGAGACAGGCGCCCCCTTGTGGTCGGTGTA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAGGCC  
 CTT—GTGGTGCTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
 ATACCGCGAGGTGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
 CCCATGAAGT

HS031

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACCGGATAA—CACTCTGTCCCGCATGG—GACGGGGTTAAAAG—CTCCGGCGGT  
 GTA—GGATGAGCCCGTGGCCGACCAGTTTGTGGTGGGTTATGGCATATCAAGG—GATAAGGG  
 GTAGGCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAG  
 GCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCCCGGACGCCCGGTGAGGGATGAC  
 GGCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAAGT———GACGG  
 TACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGCGCAAGCG  
 TTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCCGATGTGAAAGCCCGG  
 GCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTG  
 GTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCAT  
 TACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 TAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGACGCTAACGCATTAAGTT  
 CC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGC  
 AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGG—  
 AAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTATA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCC  
 CTTCCGGGGTGTATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
 ATGCCGCGAGGGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
 CCCCATGAAGT

HS040

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACCCGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACCGGATAA—CACTCTGTCCCGCATGG—GACGGGGTTAAAAG—CTCCGGCGGT  
 GAA—GGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCATATCAAGACGACAAGG  
 GGTAGCAGGACTGAGAGGTCGATCGGCCACCCTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGA  
 GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGGGATGA  
 CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAGAGT———GACG  
 GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGCGCAAGC  
 GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCCGATGTGAAAGCCCGG  
 GGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCT  
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCA  
 TTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 GTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGACGCTAACGCATTAAGT  
 TCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAG  
 CAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGG  
 —AAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTATA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCC  
 CTTCCGGGGTGTATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
 ATGCCGCGAGGGGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
 CCCCATGAAGT

HS050

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACCGGATAA—TACTTTCTCTCCTGG—GAGAAGGTTGAAAAG——GTCCGGCGGT  
 GTA——GGATGAGCCCGTGGCCTATCAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACG  
 GGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA  
 GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACCATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGA  
 CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACG  
 GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGC  
 GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACAGTCGGTTGTGAAAAGCCCG  
 GGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCT  
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCA  
 TTA CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGACCAGGGTTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 GTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGT  
 TCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAG  
 CAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGG  
 —AAAGCATCAGAGATGGTGGCCCCCTTGTGGTCGGTGTA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCC  
 CTTTCGGGGTGTAGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
 ATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
 CCCCATGAAGT

HS052

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACCGGATAC—TGACCGGCCTGGGCATCC—AGGCGGGTTCGAAAAG——ATTCGGCGG  
 TAAA——CAGTGAGTCCGCGGCCGATCAGTTTGTAGTGACGTAATGGCACCCCAAGGCCATGACG  
 GGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA  
 GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGA  
 CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTC AACAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACG  
 GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGC  
 ATTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACAGTCGGTTGTGAAAAGCCCG  
 GGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCT  
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGACGGATCTCTGGGCCG  
 ATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 GTAAACGGTGGGCACTAGGTGTTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGT  
 GCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAG  
 CGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGG  
 —AAAGCATTAGAGATAGTGGCCCCCTTGTGGTCGGTGTA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAGGCC  
 CTT—GTGGTGCTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
 ATACCGCGAGGTGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
 CCCCATGAAGT

HS092

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACGGGATA—TGA CTGTCCATCGCATGG—TGGATGGTGTACAG——CTTCGGCGGT  
 ACA——GGATGTGCCCGCGCCCTATCAGCTTGTAGTGACGTAGTGGCAGACCAAGGCGACAACGG  
 GTAGCCTGCCTGAGAGGGCCGCTGCCACATTGGGACTGAGTCTCGGCCAGACTCCTACGGCAGG  
 CAGCCGTGGGGAATATTGCAGAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCGGGGTGAGGGATGACG  
 GCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACGGT  
 AGCTACAGAAGACGCGTCCGCTAACTACATGCGAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGCGT  
 TGTCGGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCCGTTGTGAAAGCCCGGG  
 CTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGG  
 TGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGAT  
 ACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT  
 AAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTGC  
 C—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCG  
 GCGGAGCATGTGGCTTAATTTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGG—A  
 AACGTCTGGAGACAGGCGCCCCCTTGTGGTCGGTGTA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCG  
 TGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAGGCC  
 TT—GTGGTGTCTGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTC  
 AAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGA  
 TACCGCGAGGTGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACTCGAC  
 CCCATGAAGT

HS099

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
 CGGGGTCTAATAACGGGATAA—CACTCTGTCCCGCATGG—GACGGGGTTGAAAG——CTCCGGCGGT  
 GAA——GGATGAGCCCGCGCCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACG  
 GGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACGCTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA  
 GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGA  
 CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACG  
 GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGC  
 GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCCGATGTGAAAGCCCGG  
 GGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCT  
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCA  
 TTA CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTTGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
 CTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGT  
 TCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAG  
 CAGCGGAGCATGTGGCTTAATTTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATAACCGG  
 —AAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTATA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
 GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCC  
 CTTCCGGGGTGTAGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
 CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
 ATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
 CCCCATGAAGT



HS129

TAGT—GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAA  
CGGGGTCTAATACCGGATA—TGACCGTCTGCCGCATGG—TGGATGGTGTAAAG——CTCCGGCGGT  
GCA——GGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGAGGTAGTGGCTCACCAAGGCGACGACG  
GGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA  
GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGGGATGA  
CGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA—GCGAAAGT———GACG  
GTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGCGCAAGC  
GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACAGTCGGATGTGAAAGCCCGG  
GGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCT  
GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCG  
ATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC  
GTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGT  
GCC—CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAG  
CGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAAC—GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGG  
—AAACGTCTGGAGACAGGCGCCCCCTTGTGGTCGGTGTA—CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTC  
GTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAGGCC  
CTT—GTGGTGCTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGT  
CAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCG  
ATACCGTGAGGTGGAGCGAATCTCAA—AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGG—TCTGCAACTCGA  
CCCCATGAAGT



## ÖZ GEÇMİŞ

1979 yılında Diyarbakır'da doğdu. İlköğrenimini Diyarbakır Birlik ilköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise öğrenimini ise Diyarbakır Namık Kemal Lisesi'nde 1996 yılında tamamladı. 1998 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'ne kaydoldu. 2003 yılında mezun oldu. 2007 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisansa başladı. 2014 yılında doktora başladı.



**T.C**  
**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU**

**Tarih: 21/05/2018**

Tez Başlığı:

**VAN GÖLÜNE DÖKÜLEN AKARSULARDAN *STREPTOMYCES* TÜRLERİNİN İZOLASYONU  
TEŞHİSİ VE MOLEKÜLER TANISI**

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 43 sayfalık kısmına ilişkin, 21/05/2018 tarihinde şahsım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 6 (Yüzde altı) dır.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

21/05/2018

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Hamdullah SEÇKİN

Öğrenci No: 139102090

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

**DANIŞMAN ONAYI**  
UYGUNDUR

Dr. Öğr. Üyesi Kerem ÖZDEMİR

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

**ENSTİTÜ ONAYI**  
UYGUNDUR

(Unvan, Ad Soyad, İmza)