

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

BAZALTİK ANA MATERYAL VE ÜZERİNDE OLUŞMUŞ TOPRAKLARDAN
AKTİNOMİSET İZOLASYONLARI VE POLİFAZİK TAKSONOMİSİ

SALİH SARICAOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SAMSUN

2019

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Salih SARICAOĞLU tarafından hazırlanan "Bazaltik Ana Materyal ve Üzerinde Oluşmuş Topraklardan Aktinomiset İzolasyonları ve Polifazik Taksonomisi" adlı tez çalışması 11/02/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

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

Jüri Üyeleri

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

Üye Prof. Dr. Sabriye ÇANAKÇI
Karadeniz Teknik Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

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

Üye Prof. Dr. Orhan DENGİZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı

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

Yukarıdaki sonucu onaylarım./.../2019

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

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

11/02/2019

Salih SARICAOĞLU

ÖZET

Doktora Tezi

BAZALTİK ANA MATERYAL VE ÜZERİNDE OLUŞMUŞ TOPRAKLARDAN
AKTİNOMİSET İZOLASYONLARI VE POLİFAZİK TAKSONOMİSİ

Salih Sarıcaoğlu

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kamil IŞIK

Bu tez çalışmasında Samsun ili Ondokuzmayıs ilçesinde yer alan bazaltik ana materyal ve ana materyal üzerinde oluşmuş yüzey toprak örneklerinin *Actinobacteria* biyoçeşitliliğinin belirlenmesi, olası yeni türlerin tüm genom analizlerinin yapılması ve bu türlerin polifazik yöntemlerle karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla 6 lokaliteden 16 toprak örneği toplanmıştır. Toprak örneklerinin pH, organik madde ve kil miktarları farklı yöntemlerle belirlenmiştir. *Actinobacteria* üyelerinin seçici izolasyonunda kullanılan besi ortamlarından 570 aktinobakteri suşu izole edilmiş ve bu izolatların 159'unun 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yapılmıştır. Dizi analizi yapılan suşların *Actinomadura*, *Actinopolymorpha*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Nonomurae*, *Plantactinospora*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora*, *Streptomyces* ve *Verrucosipora* cinslerine ait olduğu belirlenmiştir. Yeni tür olma potansiyeline sahip *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nonomurae*, *Rhodococcus* ve *Streptomyces* izolatları iki farklı mikroorganizma kültür koleksiyonuna depolanmıştır. Polifazik yöntemlerle tanımlanan *Actinomadura* sp. 14C53 ve *Nonomuraea* sp. 160415 izolatlarının fenotipik, filogenetik ve kemotaksonomik analizleri yapılmıştır. Bu izolatların ve en yakın tip türlerinin tüm genom dizileme analizleri de yapılarak sahip oldukları sekonder metabolit gen kümeleri antiSMASH bakteriyal versiyon uygulamasıyla belirlenmiştir. Polifazik karakterizasyonu tamamlanan bu suşlar yeni aktinobakteri türleri olarak ülkemiz mikrobiyotasına ve literatüre kazandırılacaktır.

Şubat 2019, 212 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Actinobacteria*, Polifazik taksonomi, Bazaltik ana materyal, Tüm genom sekans analizi

ABSTRACT

Doctoral Dissertation

ISOLATION OF ACTINOMYCETES FROM BASALTIC PARENT MATERIAL AND
FORMED ON IT SURFACE SOILS AND POLYPHASIC TAXONOMY

Salih Sarıcaoğlu

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Kamil Isik

In this thesis, it was aimed to determine *Actinobacteria* biodiversity of surface soil samples formed on basaltic parent material and parent material in Ondokuzmayıs district of Samsun province. In addition, all genome analyzes of the possible new species were made and the characterization of these species by polyphasic methods have also been aimed. For this purpose, 16 soil samples were collected from 6 different localities. The pH, organic matter and clay contents of soil samples were determined by applying varied methods. 570 *Actinobacteria* strains were isolated from the media used in selective isolation of *Actinobacteria* members and 16S rRNA gene region sequence analysis of 159 of these isolates were performed. It was determined that the strains belonging to *Actinomadura*, *Actinopolymorpha*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Nonomurae*, *Plantactinospora*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora*, *Streptomyces* and *Verrucosipora* strains. *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nonomurae*, *Rhodococcus* and *Streptomyces* isolates with the potential to be new species have been stored in two different microorganism culture collection. Phenotypic, phylogenetic and chemotaxonomical analysis of *Actinomadura* sp. 14C53 and *Nonomuraea* sp. 160415 isolates identified by polyphasic methods were performed. Whole genomic sequencing analyzes of these isolates and their closest species were also made and their secondary metabolite gene clusters were determined by using antiSMASH bacterial version application. Completed by polyphasic characterization analysis of these strains will be gained to our country's microbiota and literature as new *Actinobacteria* species.

February 2019, 212 pages

Keywords: *Actinobacteria*, Polyphasic taxonomy, Basalt parent material, Whole genome sequence analysis

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim süreçlerimin her aşamasında daima yanımda olan, fikir ve tecrübelerinden istifade ettiğim, akademik duruşunu örnek aldığım, maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim, üzerimde büyük emeği olan çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Kamil IŞIK'a en içten minnet ve şükranlarımı sunarım.

Tez izlemelerimde fikir ve tecrübelerinden faydalandığım kıymetli hocalarım Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN ve Prof. Dr. Orhan DENGİZ'e en kalbi teşekkürlerimi sunarım.

Yağ asidi analizlerinin belirlenmesinde desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Kıymet Güven hocama, elektron mikroskobisi görüntüleme işlemlerinde desteğinden dolayı Prof. Dr. Demet ÇETİN hocama ve kemotaksonomik analizlerde desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ ve Dr. Çiğdem ER ÇALIŞKAN hocalarıma şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım süresince tecrübelerinden istifade ettiğim Dr. Öğr. Üyesi Hilal AY'a; maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim kadim dostlarım Dr. Öğr. Üyesi Ali İMAMOĞLU'na, Arş. Gör. Hayrettin SAYGIN'a, Arş. Gör. Burak SÜRME'ne, Talha GENÇBAY'a, Ahmet Rıdvan TOPKARA'ya ve Cengiz NİGİZ'e teşekkür ederim.

Üzerimdeki emek ve haklarını kelimelerle ifade edemeyeceğim muhterem babam ve muhtereme annem başta olmak üzere her daim bana güç veren tüm aileme; tez çalışmalarım boyunca fazlaca ihmal ettiğim göz aydınlıklarım, sevgili eşime ve kızıma müteşekkirim.

Bu çalışma TOVAG-2130073 numaralı proje ile Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından ve PYO. ZRT. 1905.14.006 numaralı Bilimsel Araştırma Projesi ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Şubat 2019, Samsun

Salih SARICAOĞLU

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tezin Amacı	4
2. LİTERATÜR BİLGİSİ.....	7
2.1. Araştırma Alanının Genel Tanımı	7
2.2. Bazaltik Ana Materyal.....	10
2.3. Toprak Oluşumunda Mikroorganizmaların Etkisine Yönelik Yapılan Çalışmalar	17
2.4. <i>Actinobacteria</i> Sınıflandırması ve Taksonomisi	17
2.4.1. Actinobacterial Taksonomide Güncel Durum	16
2.4.2. Taksonomideki Klasik ve Son Kriterlere Göre Actinobacteria Sınıflandırması	19
2.4.3. <i>Actinomadura</i> Cinsi	20
2.4.4. <i>Actinopolymorpha</i> cinsi	21
2.4.5. <i>Micromonospora</i> Cinsi	22
2.4.6. <i>Nocardia</i> Cinsi	24
2.4.7. <i>Nonomuraea</i> cinsi	25
2.4.8. <i>Plantactinospora</i> cinsi	26
2.4.9. <i>Rhodococcus</i> cinsi	26
2.4.10. <i>Saccharopolyspora</i> Cinsi	27
2.4.11. <i>Streptomyces</i> cinsi	28
2.4.12. <i>Verrucosisspora</i> cinsi	30
2.4.13. Fenotipik Sınıflandırma	32
2.4.14. Fizyolojik / Metabolik Özellikler	35
2.4.15. Moleküler Sınıflandırma	37
2.4.16. Kemotaksonomik Sınıflandırma	43
2.4.17. <i>Actinobacteria</i> 'nın Biyoaktif Bileşikleri	48
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	59
3.1. Toprak örneklerinin toplanması, pH ve organik madde miktarının ölçülmesi....	59
3.2. Toprak örneklerinden aktinomisetlerin seçici izolasyonu.....	60
3.3. İzolatların seçilmesi, saflaştırılması ve saklanması.....	61
3.4. Test Suşlarının Genomik DNA İzolasyonu.....	62
3.5. 16S rRNA geninin PZR amplifikasyonu ve analizi.....	63
3.6. DNA-DNA Homolojisi (DDH)	64
3.7. Tüm Genom Analizleri ve Dijital DNA Homolojisi (dDDH)	65
3.8. Multilokus Sekans Analizi (MLSA)	66
3.8.1. <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> , <i>trpB</i> ve <i>atpD</i> gen bölgeleri PZR amplifikasyonu.....	66
3.8.2. <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> , <i>trpB</i> ve <i>atpD</i> gen bölgeleri PZR amplifikasyonlarının kontrolü ve saflaştırılması	68
3.8.3. <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> , <i>trpB</i> ve <i>atpD</i> gen bölgelerinin dizi analizi	68
3.8.4. <i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> , <i>trpB</i> ve <i>atpD</i> gen bölgelerine dayalı verilerin analizi ve filogenetik dendogramların oluşturulması	69
3.9. Fenotipik Karakterizasyon	69
3.10. Kültürel ve morfolojik özellikler	69
3.11. Nümerik analiz	70
3.11.1. Biyokimyasal testler.....	71

3.11.2. Degradasyon testleri	73
3.11.3. Temel karbon kaynaklarını kullanabilme	75
3.11.4. Temel azot kaynaklarını kullanabilme	75
3.12. Fizyolojik testler	76
3.12.1. pH toleransı	76
3.12.2. Sıcaklığa toleransı	76
3.12.3. NaCl toleransı	76
3.13. Kemotaksonomi	77
3.13.1. Hücresel yağ asitleri	77
3.13.2. Respiratuvar izoprenoit kinonlar	77
3.13.3. Polar lipitler	78
3.13.4. Tüm hücre şekerleri	78
3.14. Antimikrobiyal aktivite testi	79
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	81
4.1. Bulgular	81
4.1.1. İzolasyonda kullanılan ana materyal ve toprak örneklerinin fizikokimyasal özellikleri	81
4.1.2. Toprak örneklerinden izole edilen aktinobakteri suşları	82
4.1.3. 16S rRNA geni dizi analizi ve filogenisi	87
4.1.4. <i>Streptomyces</i> sp. 9C54 izolatının multilokus sekans analizi ve filogenetik dendogram oluşturulması	119
4.1.5. DNA-DNA ve dDNA- dDNA Homolojisi Sonuçları	134
4.1.6. Nümerik Taksonomi	134
4.1.7. Antimikrobiyal Aktivite	140
4.1.8. Kültürel ve morfolojik özelliklerin belirlenmesi	140
4.1.9. Kemotaksonomik karakterizasyon	145
4.1.10 Tüm genom sekans analizleri	149
4.2. Tartışma	151
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	159
KAYNAKLAR	169
EK	205
ÖZGEÇMİŞ	213

SİMGELER VE KISALTMALAR

KISALTMALAR

bç	Baz çifti (base pair)
DDH	DNA-DNA Hibridizasyonu
dDDH	Dijital DNA-DNA Hibridizasyonu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSMZ	Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu
DPG	Difosfatidilgliserol
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ISP	Uluslararası <i>Streptomyces</i> Projesi
KCTC	Kore Tip Kültürleri Koleksiyonu
µl	Mikrolitre
MK	Menakinon
M	Molar
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
nt	Nükleotid
v/v	Hacim/hacim (volume/volume)
w/v	Ağırlık/hacim (weight/volume)
rRNA	Ribozomal RNA
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PE	Fosfatidiletanolamin
PI	Fosfatidilinozitol
PG	Fosfatidilgliserol
PGL	Fosfoglikolipit
PIM	Fosfatidilinozitol mannozit
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
°C	Santigrat Derece

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Çalışma alanı lokasyon haritası	8
Şekil 2.2.	Engiz çayı havzası ve çevresine ait jeolojik harita.....	8
Şekil 2.3.	Bafra'da uzun yıllar aylık yağış ortalaması (mm).....	9
Şekil 2.4.	Bafra ilçesi Newhall modeline göre toprak nem bütçesi dağılımı.....	10
Şekil 2.5.	<i>Actinobacteria</i> filumunun 97 genom dizisi için genom tabanlı filogenetik ağacı (Barka vd, 2016)	18
Şekil 2.6.	Sporlanan <i>Actinobacteria</i> 'nın yaşam döngüsü (Wink vd,2017)	32
Şekil 2.7.	<i>Actinobacteria</i> 'nın farklı cinslerinde sporların morfolojik özellikleri (Barka vd, 2016)	34
Şekil 2.8.	<i>Streptomyces</i> , <i>Corynebacterium</i> ve <i>Mycobacterium</i> 'dan hücre duvarı yapılarının karşılaştırılması (Wink vd, 2017)	44
Şekil 4.1.	Mikroorganizmaların seçici izolasyonu için hazırlanan besiyerleri ve dilüsyon plaka yöntemiyle elde edilen izolasyon petrilere.....	83
Şekil 4.2.	Saf kültür ve yoğun ekim çalışmaları	84
Şekil 4.3.	Ait oldukları cinsleri belirlenen izolatların toprak örneklerine göre dağılımı	85
Şekil 4.4.	İzolatların cinslere göre dağılım grafiği	87
Şekil 4.5.	<i>Actinomadura</i> suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde ≥ 50 değer verilmiştir	89
Şekil 4.6.	<i>Actinopolymorpha</i> suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde ≥ 50 değer verilmiştir.....	91
Şekil 4.7.	<i>Micromonospora</i> suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde ≥ 50 değer verilmiştir.....	93
Şekil 4.8.	<i>Micromonospora</i> 1. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde ≥ 50 değer verilmiştir.....	95
Şekil 4.9.	<i>Micromonospora</i> 2. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline	

- göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 97
- Şekil 4.10. *Nocardia* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 99
- Şekil 4.11. *Nonomuraea* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 101
- Şekil 4.12. *Plantactinospora* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 103
- Şekil 4.13. *Rhodococcus* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 105
- Şekil 4.14. *Saccharopolyspora* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 107
- Şekil 4.15. *Streptomyces* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 109
- Şekil 4.16. *Streptomyces* 1. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 112
- Şekil 4.17. *Streptomyces* 2. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 114
- Şekil 4.18. *Streptomyces* 3. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değer verilmiştir 116
- Şekil 4.19. *Verrucosispora* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değerler gösterilmiştir 118

- Şekil 4.20. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatının ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *atpD* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı123
- Şekil 4.21. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatı ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *gyrB* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı125
- Şekil 4.22. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatı ve ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *recA* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı127
- Şekil 4.23. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatı ve ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *rpoB* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı129
- Şekil 4.24. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatı ve ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *trpB* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı131
- Şekil 4.25. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatı ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı133
- Şekil 4.26. Bazı izolatların fenotipik testlerin uygulandığı besiyeri görüntüleri135
- Şekil 4.27. Bazı izolatların 10 farklı besiyeri gelişim morfolojileri (A- *Actinomadura* sp. 14C53, B- *Nonomuraea* sp. 160415 C- *Nonomuraea* sp.7N207) ..141
- Şekil 4.28. *Actinomadura* sp. 14C53, *Nonomuraea* sp. 160415 ve *Rhodococcus* sp. 14C212 izolatlarının SEM görüntüleri144
- Şekil 4.29. *Nonomuraea* sp. 160415 ve *Actinomadura* sp. 14C53 suşlarının şeker profilleri.....145
- Şekil 4.30. *Actinomadura* sp. 14C53 türünün polar lipit profili. (L, lipid; GL, glycolipid; PL, phospholipid; PI, phosphatidylinositol).....146
- Şekil 4.31. *Nonomuraea* sp. 160415 türünün polar lipit profili. (L, lipit; GL, glikolipit; AL, aminolipit; PL, fosfolipit; PG, fosfotidilgliserol; PGL, fosfoglikolipit; DPG, difosfotidilgliserol)146

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	<i>Actinobacteria</i> 'da farklı hücre duvarı bileşenleri (Barka vd, 2016, Wink vd,2017).....	45
Çizelge 2.2.	<i>Actinobacteria</i> familyalarının major menakinonları (Goodfellow, 2012)	46
Çizelge 2.3.	<i>Actinobacteria</i> hücre membranının fosfolipid tipleri (Lechevalier vd, 1977)	47
Çizelge 2.4.	Aktinobakteriyal cinslerinde yağ asidi modelleri (Wink vd,2017).....	48
Çizelge 2.5.	<i>Actinobacteria</i> üyeleri tarafından üretilen biyoaktif moleküllerin örnekleri ve etkinlikleri (Barka vd, 2016).....	54
Çizelge 3.1.	Toprak örneklerine ait veriler.....	59
Çizelge 3.2.	Aktinobakterlerin seçici olarak izolasyonunda kullanılan besiyerleri .60	
Çizelge 3.3.	16S rRNA gen bölgesinin PZR koşullarında çoğaltılmasında kullanılan reaktiflerin yoğunluk ve miktarları	63
Çizelge 3.4.	16S rDNA'nın PZR amplifikasyonunda ve dizilemede kullanılan primerler.....	64
Çizelge 3.5.	Tüm genom dizi analizi gerçekleştirilen izolat ve yakın akaraba tip suşlarının listesi	65
Çizelge 3.6.	Multi gen dizi analizi çalışmasında amplifikasyon ürününün elde edilmesinde kullanılan primerler (Guo vd, 2008)	67
Çizelge 3.7.	<i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> , <i>trpB</i> ve <i>atpD</i> gen bölgeleri PZR reaksiyon şartları 68	
Çizelge 3.8.	<i>gyrB</i> , <i>rpoB</i> , <i>recA</i> , <i>trpB</i> ve <i>atpD</i> gen bölgeleri baz dizileme analizinde kullanılan oligonükleotit primerler, bu primerlerin nükleotit dizileri (Guo vd, 2008).....	68
Çizelge 3.9.	İzolatların nümerik analizi için uygulanan testler.....	71
Çizelge 3.10.	Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan patojen organizmalar....	79
Çizelge 4.1.	Toprak örneklerine ait veriler.....	81
Çizelge 4.2.	İzolatların toprak örneklerine göre dağılımı	86
Çizelge 4.3.	<i>Actinomadura</i> cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları	88

- Çizelge 4.4. *Actinopolymorpha* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 90
- Çizelge 4.5. *Micromonospora* cinsine ait 1. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 94
- Çizelge 4.6. *Micromonospora* cinsine ait 2. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 96
- Çizelge 4.7. *Nocardia* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları..... 98
- Çizelge 4.8. *Nonomuraea* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları..... 100
- Çizelge 4.9. *Plantactinospora* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 102
- Çizelge 4.10. *Rhodococcus* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 104
- Çizelge 4.11. *Saccharopolyspora* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 106
- Çizelge 4.12. *Streptomyces* cinsine ait 1. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 111
- Çizelge 4.13. *Streptomyces* cinsine ait 2. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 113
- Çizelge 4.14. *Streptomyces* cinsine ait 3. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 115
- Çizelge 4.15. *Verrucosispora* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları 117
- Çizelge 4.16. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki atpD gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri 122
- Çizelge 4.17. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki gryB gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri 124

Çizelge 4.18. <i>Streptomyces</i> sp. 9C54 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>recA</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	126
Çizelge 4.19. <i>Streptomyces</i> sp. 9C54 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>rpoB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	128
Çizelge 4.20. <i>Streptomyces</i> sp. 9C54 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki <i>trpB</i> gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri.....	130
Çizelge 4.21. <i>atpD</i> , <i>gyrB</i> , <i>recA</i> , <i>rpoB</i> ve <i>trpB</i> birleştirilmiş dizileme analizlerine göre <i>Streptomyces</i> sp. 9C54 izolatu ve <i>Streptomyces</i> cinsine ait tip türleri arasındaki distance matrix	132
Çizelge 4.22. <i>Nonomuraea</i> spp. 160415, 7N207, 12C250, 13Z33 izolatlarının en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu	136
Çizelge 4.23. <i>Actinomadura</i> sp. 14C53 izolatının en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu.....	138
Çizelge 4.24. <i>Nonomuraea</i> sp. 160415, 7N207, 12C250, 13Z33 ve tip türlerinin 10 farklı besi yerinde gelişim ve pigment özellikleri	142
Çizelge 4.25. <i>Actinomadura</i> sp. 14C53 ve tip türlerinin 10 farklı besi yerinde gelişim ve pigment özellikleri.....	143
Çizelge 4.26. <i>Actinomadura</i> sp. 14C53 izolatının en yakın tip türlerinin yağ asiti analiz sonuçları	147
Çizelge 4.27. <i>Nonomuraea</i> sp. 160415 izolatının en yakın tip türlerinin yağ asiti analiz sonuçları	148
Çizelge 4.28. Analizi yapılan bazı test izolatlarının kemotaksonomik özellikleri ...	149
Çizelge 4.29. Tüm genom sekans analizi yapılan suşlar ve tip türlerinin tanımlanmış bazı sekonder metabolit gen kümeleri ve yüzde benzerlikleri.....	151
Çizelge 4.30. Genbanka ve kültür koleksiyonlarına depozit edilen türlerin listesi ve depozit numaraları	154

1. GİRİŞ

Hava kürenin en üst katmanlarından okyanusların tabanlarına kadar çok geniş bir alanda yayılım gösteren prokaryotların, yer kürenin toplam biyokütlesinin yarısından fazlasını oluşturduğu tahmin edilmektedir. Besin kaynakları yönünden fakir olan farklı habitatlarda yaşamını sürdürebilme yeteneğine sahip, çeşitli biyokimyasal reaksiyonları gerçekleştirebilen yeni farmasotik bileşiklerin doğal üreticisi olan mikroorganizmaların, %90'ından fazlasının keşfedilmeyi beklediği tahmin edilmektedir (Whitman vd, 1998, Roussel vd, 2008, Santelli vd, 2008, Dhanasekaran vd, 2015).

Hem karasal hem de su ekosistemlerinde yayılan üyeleri, ısıya dayanıklı (refrakter) biyomalzemelerin geri dönüşümünde çok önemli rol oynayan *Actinobacteria* filumu, büyük bir çeşitliliğe sahiptir. Bunun yanında birçok yararlı türü ihtiva etmekte ve bazı patojenik türleri de içermektedir. *Mycobacterium tuberculosis* dünyada 2 milyar insan tarafından taşınmakta ve her yıl birkaç milyon insanı öldüren tüberkülozun etkeni olarak bilinmektedir. Ayrıca, geniş bir konak yelpazesine sahip olan, bitkileri enfekte eden ve patates gibi ekonomik önemi olan kök ve yumru bitkileri üzerinde nekrotik kabuk gibi lezyonlara neden olma kabiliyetleri ile bilinen *Streptomyces* türleri de vardır. Diğer taraftan, *Actinobacteria* üyeleri insanlar için yeni antibiyotikler, antifungaller, antikanser ajanları gibi tıpta uygulanabilen veya bitki büyümesini ve bitki hastalıklarına karşı direncin geliştirilmesi için kullanılan birçok sekonder metabolitin kaynağı olarak önemli potansiyele sahiptirler. Ayrıca bitki büyümesini desteklemeleri ve zararlı böceklerin biyokontrolü amacıyla kullanılmaları çok ümit vericidir. Genomik, sentetik biyolojik ve ekolojik alanlarındaki hızlı gelişmeler ve antimikrobiyal dirençle mücadele için yeni antimikrobiyal bileşiklerin mutlak gerekliliği *Actinobacteria*'nın biyolojisini oldukça etkin bir araştırma alanı olarak bilim insanlarına sunmaktadır (Barka vd, 2016; Wink vd, 2017).

Organizmaları tanımlamak ve belirli kurallara göre düzenlemek amacıyla yapılan bilimsel çalışmalar, sistematik olarak tanımlanabilir. Sistematığın bir diğer tanımı; biyoçeşitliliğin ve organizmaların birbiri arasındaki etkileşimin çalışılması olarak da ifade edilebilir. Nitekim bazı bilim insanları sistematığın; taksonomi, ekoloji, biyokimya, patoloji, genetik ve moleküler biyoloji bilimlerinden faydalandığını belirtmişlerdir (Kämpfer ve Glaeser, 2013).

Tindall vd, (2007) sistematikle sinonim olarak kullanılan taksonomi kavramının, sistematığın bir parçası olarak ele alınmasının daha uygun olacağını belirtmiştir. Aynı zamanda teorik bir sınıflandırma çalışması olan taksonomi, 'biyolojik sınıflandırma sanatı' olarak da tanımlanmıştır (Stanier vd, 1986). Taksonomik sınıflandırma, filogeniyi, genomik tutarlılığı ve taksonun tanımlanmasını garanti eden bir fenotipik özelliği içeren nesnel ölçütlere dayanmaktadır (Wayne vd, 1987; Tindall vd, 2010).

Taksonomi klasik olarak; organizmaları benzerlikleri ya da farklılıklarına göre belirli kurallar dahilinde taksonomik gruplara ayırma yöntemi anlamına gelen sınıflandırma (Trüper ve Schleifer, 2006; Goodfellow ve Fiedler, 2010); sınıflandırma ile belirlenen birimlerin etiketlenmesi anlamına gelen isimlendirme ve incelenen organizmanın daha önce belirli bir taksonomik kategoriye yerleştirilmiş bir organizma olup olmadığının araştırılması işlemi olan tanımlama olmak üzere üçe ayrılmaktadır (Kämpfer ve Glaeser, 2013).

Mikroorganizmaların izlenebilirliği açısından bu organizmalarla yapılan bilimsel çalışmalarda güvenilir bir sınıflandırma sisteminin varolması önemlidir. Mevcut şartlarda uygulanan sınıflandırma, belirli ölçülerde veri-temelli analizlere bağlı, birleştirici bir teoriden köken almayan operasyon temelli bir yaklaşımdır (Kämpfer ve Glaeser, 2013).

19. yüzyılın başlarından günümüze kadar yeni yöntemlerin geliştirilmesiyle birlikte prokaryotların sınıflandırılması konusu, büyük değişiklikler göstermiştir. 19. yüzyılın sonlarında Ferdinand Cohn (1875) tarafından morfolojik benzerliklere dayanarak yaygın olarak bulunan bakteriler ve siyanobakteriler *Schizophyta* içerisinde gruplandırmıştır. Yine aynı zaman dilimi içerisinde iyi bilinen birçok patojenik bakterinin tanımlanması, bu patojenlerin birçok araştırmacının ilgi odağı haline geldiğini göstermektedir. Patojen bakterilerin tanımlanmasındaki bu gelişmeler, bakteri sınıflandırmasında morfolojik özelliklerin yanı sıra patojenik potansiyelleri ve genel gelişim gereksinimleri de önemli taksonomik belirteçler olarak kullanılmasına sebep olmuştur (Tindall vd, 2007).

1950'lere kadar bakterilerin sınıflandırılmasında ve tanımlanmasında morfolojik özelliklerin yanı sıra birçok biyokimyasal ve fizyolojik özellikler kullanılmıştır. Sonrasında ise enzimler ve metabolik yollar keşfedilmiştir (Kämpfer ve Glaeser, 2013).

Yirminci yüzyılın ikinci yarısında, fenotipik verilerin kullanılmasıyla bakterilerin sınıflandırılması amacıyla nümerik çalışmalar başlatılmıştır. Genetik olarak stabil,

çevresel değişimlerden bağımsız ve deneysel ya da gözlemsel belirsizliklere duyarsız, fenotipik karakterler tercih edilir. Genel prosedür tüm genotip ve fenotipi ifade etmek için biyokimyasal, kültürel, morfolojik, besinsel ve fizyolojik karakterlerin seçimini yapmaktır. Böylelikle yapılan analizlerde bu karakterlere eşit olarak ağırlık verilmiş olması sağlanacaktır. Nümerik taksonominin temel gayesi geniş aralıkta fenotipik veri seti kullanarak tek suşları homojen grup ya da kümelere (taxospecies) yerleştirmektir (Sneath ve Sokal, 1973; Stackebrandt vd, 1997; Kämpfer ve Glaeser, 2013).

Çeşitli kemotaksonomik markörlerin karşılaştırılması organizmalar arasındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek için güvenilir bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Komagata ve Suzuki, 1987; Busse vd, 1996). Aslında, önceden sınıflandırılmış taksaların birçoğunun geçerliliği kemotaksonomik veriler sorgulandığında, birçok suşun kimyasal pozisyonlarında büyük farklılık gösterdiği ortaya çıkmıştır. Bunun bir sonucu olarak, birçok suş yeni cinslere dahil edilmiştir (Embley ve Stackebrandt, 1994). *Ad hoc* komitesi önemli kemotaksonomik verilerin yeni bir taksanın oluşturulmasını desteklemek için gerekli olduğunu ifade etmiştir (aynı aile üyeleri arasında tutarlılık olmalıdır) (Wayne vd, 1987).

Son yıllarda sekanslama teknolojilerinin ortaya çıkışı, ribozomal RNA'lar gibi oldukça korunmuş moleküllerin nükleotid dizisini ortaya çıkarmış, bu da mikroorganizmaların soya ait ilişkilerini yansıtan filogenilerin yeniden yapılandırılmasını mümkün kılmıştır (Woese 1987; Ludwig ve Schleifer 1994). Bu filogeniler, hatalı sınıflandırılmış taksonların yeniden tanımlanmasının yanı sıra birçok yeni sınıflandırmaya da imkan sağlamıştır. Bu nedenle, öncelikle soybilimsel kriterlerini takiben, yirmi birinci yüzyılın başında Bergey'in standardize ettiği taksonomik ana hatlarda önemli gelişmeler sağlanmıştır (Garrity, 2001). Bilgilendirici içeriği ve kullanılabilirliği ile ilgili pratik nedenlerden ötürü, 16S rRNA geni prokaryotların sınıflandırılmasında bir öncelik olarak kabul edilmiştir (Stackebrandt vd, 2002; Ludwig vd, 2011). Prokaryotik taksonomide 16S rRNA gen bölgesinden farklı olarak bazı gen bölgeleri de (*rpoB* geni, *gyrA* geni, *recA* geni, *atpD* geni) alternatif veya destekleyici moleküler belirteçler olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu durum, yüksek verimli dizileme yöntemlerinin geliştirilmesi ve genoma dayalı daha fazla genotipik analizlerin yapılmasına imkân vermektedir (Kämpfer ve Glaeser, 2013).

Nükleik asit hibridizasyon tekniklerinin geliştirilmesi ve prokaryotlardaki uygulamaları, tüm genomun ve bakteriyel suşlar arasındaki gen dizi benzerliklerinin

ölçülebilirliğine imkân tanımıştır. DNA-DNA hibridizasyon (DDH) tekniği, nükleotid veri dizilerini kıyaslamak ve bakteriyel taksonlarının sınırlarını belirlemek amacıyla yirminci yüzyılın ikici yarısından itibaren kullanılan en iyi prosedürdür (Wayne vd, 1987). Literatürde, % 70'den daha düşük DDH benzerliğine sahip olan suşlar % 97'nin altında 16S rRNA gen sekansı benzerliğine sahiptir (Gevers vd, 2005; Sohler vd, 2008). Bu % 97 sınırı; sınırlı bir veri seti için DDH değerleri ve 16S rRNA gen sekans benzerliklerinin karşılaştırılmasına dayanmakta (Stackebrandt ve Goebel, 1994) ve ihtiyaç duyulduğunda bir rehber olarak 20 yıldan fazla bir süredir araştırmacılar tarafından türleri ayırmak için kullanılmaktadır (Stackebrandt ve Ebers, 2006). Her iki metot hem 16S rRNA gen sekansı hem de DDH taksonomik tanımlamalar için altın standartlar olarak değerlendirilmektedirler (Zeigler, 2005; Stackebrandt ve Ebers, 2006; Ludwig, 2007). Sonuç olarak, yirminci yüzyılın son on yılında, tanımlanan yeni türlerin yayınlanmasındaki yıllık oranlar, yaklaşık altı kat artmıştır (Tamames and Rossello´-Mo´ ra 2012).

Günümüzde *Bacteria* ve *Archaea* için pratik sonuçlara göre tür (türler) kavramı en sonunda DNA-DNA hibridizasyonuna (DDH) dayandırılmaktadır. Bu teknik taksonomistin, prensip olarak, iki suşun genomları arasındaki genel benzerliğin bir tahminini elde etmesine imkan verirken, uygulamadaki zorluklar ve karşılaştırmalı bir veri tabanı oluşturmak için kullanılmama gibi sorunları da beraberinde taşımaktadır. Genom dizileme alanındaki son teknolojik gelişmeler, in-silico genom-genom karşılaştırmasının DDH'nin yerini alması için biyoinformatik yöntemlerini gerektirmektedir. Dijital olarak türetilen genom-genom mesafeleri, DDH değerlerinden 16S rRNA gen dizisi mesafeleri ile daha iyi bir korelasyon göstermektedir. Bundan dolayı son yıllarda türün tanımlanması amacıyla mikrobiyal taksonomistler rutin olarak tüm genom dizilerini kullanmaya başlamışlardır (Auch vd, 2010). Tamamen dizilenen genomların karşılaştırılmasına dayanan siliko yöntemlerinden bazıları, DDH'ye alternatif olarak önerilmiştir (Konstantinidis ve Tiedje, 2005; Auch vd, 2010). Dijital DNA:DNA hibridizasyonu (dDDH) değerleri, deneysel yöntemlerden türetilen ilgili verilere kıyasla yakından ilişkili türler arasında alaka kurma hususunda daha doğru bir değerlendirme imkanı sağlamaktadır (Auch vd, 2010; Meier-Kolthoff vd, 2013; Nouioui vd, 2018).

1.1. Tezin Amacı

Antibiyotik dirençli patojenlerin ciddi sonuçları ve dinamik doğası nedeniyle yeni biyoaktif yapılara duyulan ihtiyaç günümüzde büyük ölçüde vurgulanmaktadır. Buna uygun olarak, potansiyel tarımsal, farmasötik veya endüstriyel uygulamalarından

dolayı yeni biyoaktif bileşik keşfine duyulan ihtiyaç büyük oranda artış göstermektedir (Thumar vd, 2010). Farmakolojik olarak aktif metabolitlerden ziyade, sanayide ve tarımda uygulama potansiyeli ile Ectoin ve Hidroksektoin gibi kurumaya karşı koruma aktivitesi olan moleküller de *Actinobacteria*'dan tanımlanmış metabolitler arasındadırlar. (Mohammadipanah and Wink, 2016, Wink vd,2017).

Bakteriler kayaçların ayrışmasında önemli bir rol oynar ve henüz karasal kayaçların ayrışmasında çeşitliliği ve potansiyel aktiviteleri yeterince anlaşılmamıştır. Yapılan çalışmalarda kayaların, çeşitli mikrobiyal topluluğa ev sahipliği yaptığı tespit edilmiştir. Literatürler incelendiğinde 16S rDNA gen bölgesine dayalı yürütülen çalışmalarda *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Acidobacteria* üyelerinin kayaçlarda dominant mikroorganizmalar olduğu görülmüştür. Kolonizasyon deneyleri, bazalt / palagonit üzerinde izole edilen aktinobakterinin misel ile büyüme özelliğinin, bazaltik camda kolonize olmasına ve aktif olarak istilacı olmasına izin verdiğini göstermektedir. Bundan yola çıkarak bazı aktinobakterilerin misel ile büyüme özelliği göstermesinin, doğal ortamda sistemik çatlaklar oluşturarak (interstisyel) kaya ayrışmasında aldıkları role önemli bir katkı sağladığını düşündürmektedir (Cockell vd, 2009).

Bu tez çalışmasında; Samsun ili Ondokuzmayıs ilçesinde belirlediğimiz lokasyonlardan aldığımız bazaltik ana materyal ve ana materyal üzerinde oluşmuş yüzey toprak örneklerinden kültüre edilebilir aktinbakteri üyelerinin seçici izolasyon besiyerleri ile izole edilmesi amaçlanmıştır. Daha sonra ise aktinbakteri biyoçeşitliliğinin belirlenmesi için izole edilen aktinomiset üyelerinin genotipik, fenotipik ve kemotaksonomik yöntemler kullanılarak karakterize edilmesi, karakterizasyonu tamamlanan olası tür/türlerin polifazik yaklaşımla isimlendirilmesinin ardından ülkemizden yeni türler olarak literatüre kazandırılması amaçlanmıştır.

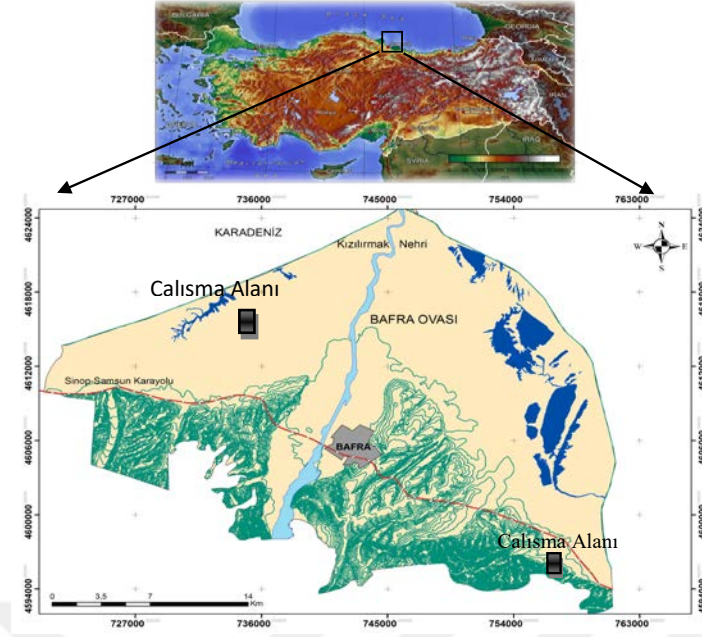
Bunun yanısıra yeni tür olma potansiyeline sahip izolatların tüm genom sekans analizleri gerçekleştirilerek, izole edildikleri ortamlarda kayaç ayrışması gibi rollerinin olup olmadığına ilişkin öngörüle bulunabilmek ve sekonder metabolit potansiyellerinin belirleyebilmek de tezin diğer amaçları arasındadır.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

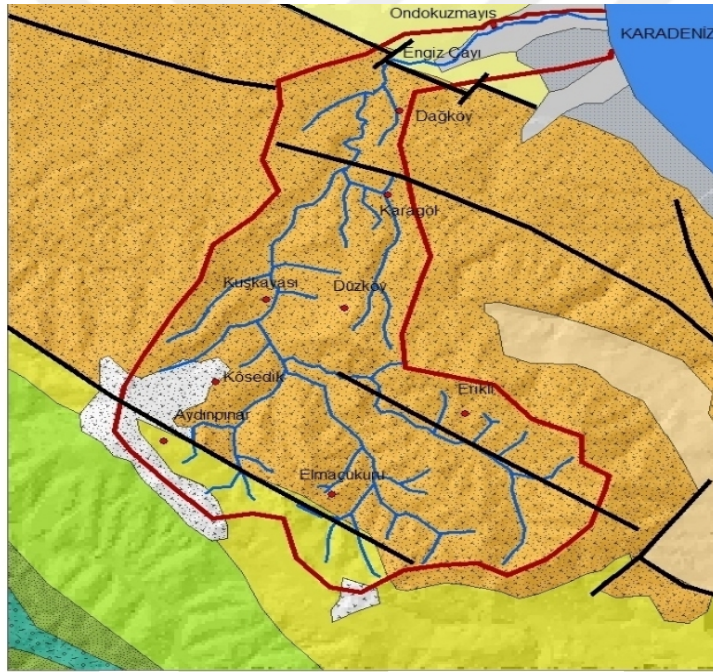
2.1. Araştırma Alanının Genel Tanımı

Engiz Çayı havzası Karadeniz Bölgesi'nin Orta Karadeniz Bölümünde, Bafra Ovasının kuzeyinde, Samsun ili sınırları içerisinde yer alır. Araştırma sahası Engiz Çayı havzası aşağı çığırında Dağköy mevki alanı içerisinde deniz seviyesinden 20 m ile 300 m arasında yükselti değişkenliğinde bulunmaktadır (Şekil 2.1). Sahanın oluşum ve gelişiminde Engiz Çayı büyük rol oynamaktadır. Araştırma sahası ve yakın çevresinde yüzeyleyen en geniş birim Yenikonak formasyonudur. Volkanosedimanter kayalardan oluşmaktadır. Büyük çoğunluğu tüf, tüfit, bazalt, kumlu kireçtaşı ve marn ara seviyeli kumtaşı-şeyl ardışıklanmasından oluşmaktadır. Yenikonak formasyonu içerdiği *Nummulites helveticus* Kaufman, *Discocyclina nummulitice* Gümbel ve *Assilina* sp. gibi fosiller nedeniyle Lütésiyan (Orta Eosen) olarak yaşlandırılmıştır (Gedik ve Korkmaz 1984) (Şekil 2. 2). Dikkate alınacak bazalt ana materyali üzerinde oluşan topraklarda mera alanları ile kuru tarım yapılan alanlar yer almakta olup mera alanlarında yaygın olan başlıca otsu familyalar şunlardır; lahanagiller (*Cruciferae*), buğdaygiller (*Gramineae*), maydonozgiller (*Umbelliferae*), papatyagiller (*Compositae*), baklagiller (*Fabaceae*), gülgiller (*Rosaceae*). Kuru tarım yapılan alanlarda da çoğunlukla buğday tarımı yapılmaktadır.

Engiz Çayı havzasının iklim özelliklerini açıklamak amacıyla sahanın iklimini karakterize eden meteoroloji istasyonları belirlenmiştir. Araştırma sahası içerisinde ölçüm istasyonu bulunmamaktadır. Bu yüzden saha çevresindeki istasyonlar esas alınmıştır. Araştırma sahasında yılın en soğuk ayı Şubat'tır (5.6°C). En sıcak aylar ise Temmuz ve Ağustos aylarıdır (22.6°C). Yılın dört ayında (Aralık, Ocak, Şubat, Mart) ortalama sıcaklıklar 10°C'nin altında kalırken nisan ayından itibaren yükselmektedir. İlkbahar dönemlerinde düzenli bir sıcaklık artışı ve sonbahar dönemlerinde düzenli bir azalma görülmektedir (Çizelge 2. 1). Sıcaklıkların 0°C'nin altına düşmesi don olayları olmasına sebep olur. Don olayları ile bağlantılı olarak fiziksel parçalanma olmaktadır. Bu da özellikle anakayanın ortaya çıktığı yerlerde morfolojik değişimi hızlandırmaktadır.

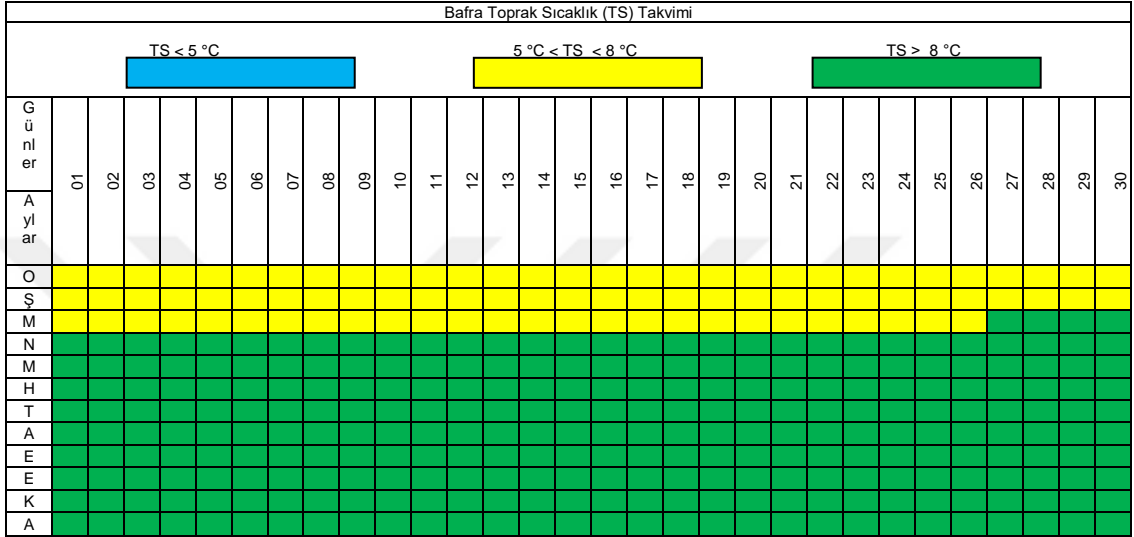


Şekil 2.1. Çalışma alanı lokasyon haritası



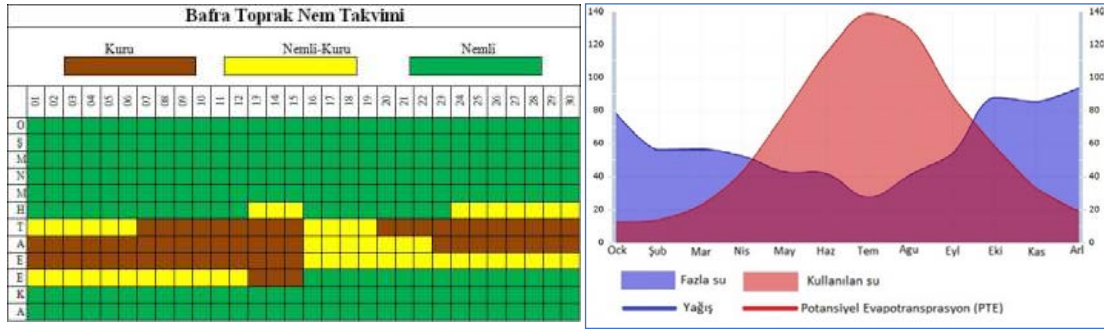
Şekil 2.2. Engiz çayı havzası ve çevresine ait jeolojik harita

Bafra Meteoroloji İstasyonu'nun uzun yıllar meteorolojik ölçümlerine göre ise yıllık ortalama sıcaklığı Atakum ilçesine yakın olup, 13.8°C'dir. Burada da toprak sıcaklığı 5 °C'nin altına düşmemektedir. Özellikle Ocak ayının birinci günü ile Nisan ayının 3'ü arasında 5 °C ila 8 °C derece arasında seyreden toprak sıcaklığı, 04 Nisan tarihinden sonra 8 °C'nin üzerine çıkmaktadır (Şekil 2.3). Newhall model sonucuna göre ilçenin toprak sıcaklık rejimi *Mesic* olarak belirlenmiştir (Turan vd, 2018).



Şekil 2. 3. Bafra'da uzun yıllar aylık yağış ortalaması (mm).

Bafra ilçesi meteoroloji istasyonununun 1963-2016 yılları arasındaki aylık ve yıllık ortalama verilerine göre, yıllık toplam yağışı 717.5 mm olup, Samsun'un doğu sahillerine göre bir miktar daha düşük yağış almaktadır. Sonbahar aylarında yağışların başlaması ile birlikte toprak 16 Ekim'de nemli duruma geçmiş ve bu durum haliyle kış ve bahar aylarında da devam ederek Haziran ayı ortalarında birkaç gün 'kuru-nemli' duruma geçse de 'nemli' durumu 23 Hazirana kadar devam etmiştir. Toprak nemindeki farklıklar 24 Haziran ile 15 Ekim tarihleri arasında görülmekte olup; 'kuru-nemli' ile 'kuru' arasında değişmiştir. Bafra'da toprak 245 gün 'nemli', 54 gün 'kuru-nemli', 61 gün ise 'kuru' kalmış olduğu belirlenmiştir. Toprakta su fazlalığı (yüzey akış) Eylül ayı ortalarında başlamış ve Nisan ayının ilk haftasına kadar devam etmiştir. Bu günlerden sonra evapotranspirasyon ile harcanan su, yağış ile karşılanamamış ve bu su noksanlığı; Temmuz ayında 111.36 mm ile en yüksek değere ulaşmıştır. Toprakta yıllık 34.81 mm su açığı bulunmaktadır (Şekil 2.4). İlçenin toprak nem sınıflaması *Wet Tempustic* olarak belirlenmiştir (Turan vd, 2018).



Şekil 2.4. Bafra ilçesi Newhall modeline göre toprak nem bütçesi dağılımı

Araştırma alanının jeomorfolojik özelliği ise 150 m seviyelerinde bir aşınım yüzeyi bulunmaktadır. Bu aşınım yüzeyi Dağköy ve çevresinde net olarak izlenebilmektedir. Araştırma sahasının batısında Akkan (1970) Kızılırmak Deltası'nı incelerken 120-130 m yükseklikteki düzlüklerden bahsetmiş ve bunların eski delta seviyesinin ana kaya üzerindeki devamı durumunda olmaları nedeniyle, eski deltanın gelişmiş olduğu taban seviyesine göre teşekkül etmiş "kıyı aşınım düzlükler" olduğu sonucuna varmıştır. Bu duruma göre Dağköy aşınım yüzeyinin seviye ve oluşum bakımından benzerlik gösterdiği söylenebilir. Bu yüzey Dağköy aşınım yüzeyi olarak isimlendirilmiştir (Turan vd, 2018).

2.2. Bazaltik Ana Materyal

Kayaçlar; volkanik (püskürük), tortul ve başkalaşım olmak üzere üç sınıfta ele alınır. Toprak örneklerimizi aldığımız ve araştırmamıza konu olan bazalt ise püskürük taşlardan iç püskürük özelliği gösteren bir kayadır. Volkanik kayaçlar araştırmacılar tarafından farklı özelliklerine göre sınıflandırmalara tabi tutulmuştur.

Bağırsakçı vd, (1995)'e göre; yeryüzünde rastlanan volkanik kayaçlar, bileşimindeki SiO_2 (kuvars) oranına göre; bazaltik (%50 SiO_2), andezitik (% 60 SiO_2) ve riolitik (%70 SiO_2) kayaçlar olarak üç gruba ayırmışlardır.

Bazalt, Gabronun yüzey kayacıdır ve uzun mesafeler akma özelliğine sahiptir. Plajiolaz, ojit ve iri kristalli olivin ile diğer yan minerallerden (manyetit, ilmenit, vs.) oluşmuştur. Koyu genellikle kırmızımsı veya siyahımsı renktedir (Arđos ve Pekcan, 1997). Türkiye genç volkanik şekillerin bol olduğu bir ülkedir. Bu yüzden bazaltlara birçok yerde rastlamak mümkündür. Bunların büyük bir kısmı Miosen sonrası ve Kuvaterner başındaki püskürmelerle oluşmuştur (Ünsal, 2001).

Bazaltik anamateryalin hakim olduğu sahalarda farklı sorulara cevap aramak için birçok çalışma yapılmıştır. Bazalttan oluşan anakayanın kil içeriği ile ilgili yapılan

çalışmalar (Ferguson, 1954; Hocoğlu, 1970), toprak oluşumunda etkili faktörler ile ilgili çalışmalar (Dinç vd., 1987; Özcan ve Özaytekin, 2011) diye örnekleri arttırmak mümkündür.

Günümüzde toprakların ve kayaçların kimyasal ayrışmasında karakterize edilmesinde iki farklı yaklaşım bulunmaktadır. Birinci yaklaşım akışkan sulu ortamın jeokimyasal özelliklerinin belirlenmesi (Aiuppa vd, 2000; Phillips ve Rojstaczer, 2001), ikinci yaklaşım ise ayrışmış profilin jeokimyasal ve mineralojik özelliklerinin belirlenmesidir (Nesbitt, 1979; Chesworth vd, 1981; White, 1983; Nesbitt ve Wilson, 1992).

2.3. Toprak Oluşumunda Mikroorganizmaların Etkisine Yönelik Yapılan Çalışmalar

Mikroorganizmalar, gerek toprak açısından ve gerekse de bitkilerin beslenmesinde önemli yer tutan bitki besin elementlerin kayaçlardan-minerallerden açığa çıkartmaları nedeniyle önemlidirler. Toprakta yaşayan makro canlıların yanında, mikroorganizmalar özellikle organik maddelerin ve mineral-kayaçların parçalanmasında önemli rolleri bulunmakta ve bu canlılar bazen mekanik, bazen de kimyasal etki meydana getirerek kayaç-mineralleri ayrıştırarak toprak oluşumuna yardımcı olmaktadır. Kayalık habitatlarda yaygın olarak bulunan bakterilerin *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Bacteroides* üyelerinin oldukları daha önceki çalışmalarla gösterilmiş olmakla birlikte endolitik habitatlarda *Actinobacteria*'nın önemli gruptan olduğu bildirilmiştir (Cockell vd, 2009).

Actinobacteria filumlarından, *Micromonospora* üyeleri özellikle humusça zengin topraklarda yayılış göstermekte ve sahip olduğu hidrolitik enzimler sayesinde organik madde döngüsünde önemli rol oynamaktadır. Selüloz, kitin, lignin ve diğer kompleks polisakkaritleri sahip olduğu hidrolitik enzimlerle parçalayabilmektedir (Erikson, 1941; Wilson, 1992; Gacto vd, 2000; de Menezes vd, 2008). Toprak verimliliğini arttıran ve bitki gelişimine katkıda bulunan bu tip mikroorganizmalar, "biyogübreler" olarak adlandırılmakta olup tarımda mikrobiyal aşı materyallerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Çoğu nadir aktinomisetten olduğu gibi *Micromonospora* türleri de bitki sağlığını arttıran ve yüksek verim alınmasına katkı sağlayan vitaminler ve bitki hormonları gibi maddeleri üretmesi nedeniyle toprakta "fitostimulatör" veya bitki büyüme promotorları olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda *Micromonospora* türleri, bitki köklerinde hastalığa sebep olan toprak kaynaklı pek çok bitki patojenine karşı bitki köklerinde endofitik olarak ürettikleri

antibiyotik ve antifungal ajanlarla bitki gelişimini destekleri için biyokontrol ajanı olarak da kullanılmaktadır (El-Tarabily vd, 1996a, 1996b; El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006; Kurtböke, 2000; Kurtböke vd, 2007).

Streptomyces'ler hem kara hem de su ekosistemlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Karasal ekosistemlerdeki organik madde içeriğinin, toprakta geniş çapta yayılış gösteren mikroorganizmaların sayısı üzerinde büyük etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Özellikle mezofilik *Streptomyces*'ler kompostaki organik madde dekompozisyonunun ilk aşamasında önemli bir bölümü oluşturmaktadır (Schrempf, 2008). Özellikle kil partikülleri ve humikkolloidler bu sayıyı direkt etkilemektedir. Kil partikülleri, toprakta adsorbsiyon özelliği gösterip mikro habitat düzeyinde organik maddeleri biriktirerek *Streptomyces* sayısını artırmaktadır. *Streptomyces* türleri hidrolitik enzimlere sahip oldukları için enerji ve besin ihtiyaçlarını bu organik maddelerden rahatça karşılayabilmektedir. Takahashi ve Omura 2003' te yaptıkları bir çalışmada *Pinus* (Çam), *Pleioblastus* (Bambu), *Cryptomeria* (Kadife Çamı) cinsi ağaçların düşen yapraklarından, tarla ve çöl topraklarından, çeşitli *Streptomyces* suşları izole ettiklerini bildirmişlerdir. *Streptomyces*'lerin bazı üyelerinin kök sisteminde patojen organizmalarla antagonistik ilişki içinde olup bitki hücrelerinde endofitik etkisi araştırılmıştır. Yüzeyi steril edilmiş bitki köklerinden aktinomiset izolasyonuna örnek olarak muz (*Musa* sp.) ve mısır (*Zea mays* L.) bitkilerinin yüzey sterilizasyonu yapılmış köklerinden *Streptomyces* izolasyonu verilebilir (de Araujo vd, 2000; Coombs ve Franco, 2003).

Kurtböke vd 2007 yılında Fraser Adası'nda yaptıkları çalışmada çeşitli kumul vejetasyon zonlarındaki bitkilerden ve kumdan aktinomiset izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Tahrip olmuş, süksesyon geçirmekte olan ve klimaksa ermiş üç farklı vejetasyon zonundan alınan örneklerde tahrip olan bölgeden herhangi bir aktinomiset izolatu elde edemezken, az miktarda organik madde birikiminin olduğu süksesyonal bölgeden yalnızca *Streptomyces* izole edebilmiştir. Klimaksa ermiş (olgun) kumul bölgenin öncesindeki bölgede ise *Streptomyces* kolonilerinin yerini *Micromonospora* kolonileri almıştır. İzole edilen her iki cinsin üyelerinden de bitki gelişimini takviye edici maddelerin elde edilmesi, mikorhizal birlikteliklerin görülmesi, aktinomisetlerin öncül bitkilerin yerleşmesine ve dolayısıyla süksesyonun tamamlanmasına yardımcı olduğu görüşünü desteklemektedir. Buna örnek olarak *Banksia grandis* ağacının kökünü çeşitli mantar enfeksiyonlarından koruduğu bilinen selülaz enzimini üreten *Micromonospora carbonacea* ve antibiyotik üreten *Streptomyces violascens* verilebilir (El-Tarabily vd, 1996). Klimaksa ermiş oldukça asidik (pH 3-4) kumul bölgede ise yine başta *Streptomyces* olmak üzere

Actinomadura, *Nocardia*, *Microbispora* cinsleri ve *Geodermatophilaceae* familyasına mensup cinsleri ile karşılaşmıştır. Mezofilik aktinomisetlerin klimaksa ermiş kumul bölgede bulunması ya da diğer bir deyişle olgun vejetasyon zonundaki bitkilerin bu bölgeye yerleşmesi ve adapte olması, erken dönemde ortama gelen bitkilerin kök sistemlerini çeşitli kök hastalıklarından koruyan bu öncü mikroorganizmalar sayesinde olabileceği düşünülmektedir (Kurtböke vd, 2007; Sembiring ve Goodfellow, 2010).

2013 yılında toprak ayrışması ile ilgili yapılan bir çalışmada laboratuvar şartlarında üzerine yeterli konsantrasyonda C, N ve P elementleri ilave edilen kayalarda farklı taksonlardaki *Actinobacteria* üyelerinin kayaların ayrışmasını artırabileceği gösterilmiştir (Cockell vd, 2013).

Actinobacteria izolatlarının filamentleri kaya yüzeyinde farklı yönlerde büyüyerek veziküler boşluklarda dallanma yeteneğindedir. Bu süreç fungal hiflerin kayalara tutunmasının analoğu bir süreç olarak yorumlanmıştır (Burford vd, 2003). Aynı zamanda filamentli *Actinobacteria* üyelerinin birçok yönde hareket ederek geçirgen kayalarda sistematik olarak kolonize olmasını sağlamaktadır. Bu durum kayalardan elde edilen izolatlardaki *Actinobacteria* yoğunluğunun *Bacterioidetes* üyelerine oranla daha fazla olmasını açıklamaktadır. Bu durum volkanik piroklastik katmandan yapılan izolasyonlarda da gözlenmiştir (Ibekwe vd, 2007). 2007 yılına kadar yapılan tüm çalışmalarda *Actinobacteria* üyelerinin *Acidobacteria* üyelerinden sonra Hawaiian lavlarında bulunan tek filum olduğunu göstermiştir. Bu gözlemler, *Actinobacteria*'nın volkanik kayalarda ve küllerinde ve potansiyel olarak ardışık aşınmalarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Cockell vd, 2009).

Bakteriler, gerek toprak açısından gerekse de bitkilerin beslenmesi yönünden çok önemli yer tutan bitki besin elementlerin kayalardan-minerallerden açığa çıkartmaları yönünden de önemlidirler. Toprakta gözlenen biyokimyasal reaksiyonlar mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilmektedir. Büyük çoğunluğu heterotrof olan toprak mikroorganizmaları, salgıladıkları enzimlerle inorganik-organik maddelerini içinde bulunan elementel bileşimlerine ayrılmasının yanı sıra protein, nişasta, selüloz, lignin ve fosfat esterleri gibi kompleks bileşikler bitkilerin alabileceği formlara da dönüştürmektedir (Hoffmann, 1986; Jonasson vd, 1996).

Tang vd (2012), Çin'in Guizhou Karst alanlarında kireç taşı ve dolomite üzerinde yer alan endolitik bakterilerin belirlenmesine yönelik bir araştırma yapmışlardır. Yapılan çalışmaya göre bu kayalar üzerinde en fazla

Cyanobacteria'nin yaygın olduğu bunu *Alphaproteobacteria*, *Acidobacteria* ve *Actinobacteria* izlediğini belirlemişlerdir.

Demir oksitleyen bakterilerin (FeOB) farklı suşları tarafından Fe (II)'nin mikrobiyal oksidasyonunun, bazaltik kayaların ayrışmasını abiyotik oranlara göre altı ila sekiz kat arttırdığı tespit edilmiştir (Edwards vd, 2004). Wu vd (2007), inorganik koşullara göre bazaltik kayaların mikrobiyal değişimi sırasında elemental salım oranlarının arttığını gözlemlemiştir. Bunun aksine diğer çalışmalarda; mikrobiyal aktivitenin bazaltik cam ayrışma hızları üzerindeki etkisinin önemsiz derecede küçük olduğu bildirilmiştir (Stockmann vd, 2012). Ancak bu tür farklılıkların, farklı deneysel yaklaşımlardan ve bakterilerin başlangıçtaki beslenme durumlarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Perez vd, 2016).

Demir, çoğu organizma için ve enzimatik çeşitli süreçler için gerekli olan bir mikro besindir (Rogers ve Bennett, 2004). Doğada, Fe (II) ve Fe (III) olarak iki oksidan durumda bulunur. Nötr pH'ta ve oksijen açısından zengin ortamlarda Fe, çoğunlukla Fe oksit (hidroksitler) oluşturan çözünmeyen Fe (III) olarak bulunur. Bununla birlikte, mikroorganizmalar mineral veya cam yüzeyinde reaktif mikroçevreler oluşturarak bu problemin üstesinden gelmek için stratejiler geliştirirler. En önemlisi (i) sistemin dengesini değiştiren iyonların kompleksleşmesi veya oksidasyonu / indirgenmesi (Stockmann vd, 2012; Navarrete vd, 2013) ve (ii) çözelti pH'ını değiştiren bakteriyel asit üretimi ve proton tüketimi sayesinde sınırlayıcı besinlerin çözünmesini ve serbest kalmasını arttırırlar (Fe, P v.b.) (Wu vd, 2007). Sulu ve toprak ortamlardaki mikroorganizmaların çoğunluğu (>% 99) yüzeylere bağlanır ve ayrışma çalışmaları yüzeye bağlı mikroorganizmaların, besin elementlerinin çözünmesinde, bağlanmamış mikroorganizmalardan çok daha etkili olduğunu göstermiştir (Ahmed ve Holmström, 2015). Ayrıca, mikroorganizmaların bolluğu, bazaltik kayaların yaşı ve değişim durumu ile pozitif ilişkilidir (Santelli vd, 2009).

Stranghoener vd (2018) farklı doğal bazaltlarda alterasyon ve Fe mobilizasyonunda mikroorganizmaların potansiyel rolünü araştırmak için biyotik (mikroorganizma) ve abiyotik faktörler kullanılarak laboratuvar koşullarında yaptığı çalışmada, biyotik örneklerin bir kısmında abiyotik örneklerden farklı olarak 30 °C'de pH'ın nötrden 4,5-5,5 seviyelerini indiği ve tekrar nötre yaklaştığını, 8 °C'de ise 5,5 seviyelerinde asidik kaldığını tespit etmişlerdir. Öte yandan çözünmüş Fe, tüm biyotik deneylerde kayda değer miktarlarda tespit edilmiştir. Bunun yanında mikroorganizmaların biyotik koşullarda solüsyondan besin elde edememesi

durumunda, organizmanın, gerekli besinleri elde etmek ve böylece çözünme oranını arttırmak için pH'ı düşürerek muhtemelen kayaya ve sentetik bazaltik camlara saldırmaya başladığı görülmüştür. Çözünmüş Fe ve Al sadece biyotik kolonizasyon deneylerinde ölçülmüş ve çözünmüş Fe ve Al konsantrasyonları da aynı şekilde artmıştır. Ayrıca, biyotik deneylerde bazaltik camların yüzeyinin altında ince çatlaklar ağı da gözlemlenmiştir. Buna göre biyotik deney ortamında mikroorganizmaların bazik camların çözülmesiyle temel besinleri kendiliğinden sağlayabildiği ve hücrelerin faydalı besinler içeren doğal bazaltik kayaların cam yüzeylerine tercihen tutunduğu tespit edilmiştir (Stranghoener vd, 2018).

Perez vd (2016) yaptığı çalışmada bazaltik camdaki Fe çeşitlenmesinin (Fe (II), Fe (III) ve Fe (hidroksi) oksitler), siderofor üretimini etkileyebileceğini ortaya koymuş ve sonuç olarak, *Pseudomonas aeruginosa* türünün bazalt çözünme oranlarını etkileyebildiğini ve büyüme için gerekli bir besin olarak Fe'yi serbest bırakabildiğini ortaya koymuştur. Siderofor üretimi, Fe çözünürlüğünün genellikle düşük olduğu derin deniz sularında beslenmede Fe kullanılabilirliğini sağlamak için geliştirilmiş bir mekanizmadır. Buna karşın, hem Fe (II) ve organik maddelerin oksidasyonu yoluyla enerji toplayabilme yeteneğini, hem de mikotoksik dinamik şartlar altında ve jeokimyasal olarak dinamik koşullarda gelişmeyi sağlayan bir uyurlanabilir mekanizmayı temsil edebilmektedir (Sudek vd, 2017).

Xi vd (2018) değişime uğramış kayalar ve topraklar üzerinde yaptığı mikrobiyal topluluklar ve kayaların ayrışması çalışmasında değişmiş kayalardaki oldukça fazla izolatan, kaya ayrıştırma işleminde kültür ortamını önemli ölçüde asitlendirdiğini tespit etmiştir. *Alcaligenes*, *Cupriavidus*, *Enterobacter*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Moraxella*, *Sphingomonas*, *Staphylococcus* ve *Stenotrophomonas* cinslerinin üyeleri sadece yüksek değişime uğramış kayalarda gözlemlenmiştir.

Gleeson vd (2006), farklı ayrışmış minerallerin yüzeyindeki bakteriyal yapının çeşitliliğini ve tüm granit kayaların yüzeylerinde çeşitli bakteri yapılarını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca *Actinobacteria*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria* taksonları içinde mineral-ayrıştırıcı bakterilerin geniş çeşitliliği ortaya çıkartılmıştır (Gleeson vd, 2006).

Bhatti ve diğerleri (2012), *Acidithiobacillus ferrooxidans* kültürlerinin demirce zengin biyotit mineralinin ayrışması üzerine yaptıkları çalışmada, *Acidithiobacillus ferrooxidans* bakterileri ile kültüre edilmiş çözeltileri ince öğütülmüş biyotit mineralini 120 gün süre ile inkübasyona bırakarak biyotit mineralinin ayrışma durumunu belirlemişlerdir. Ayrışma sürecinde açığa çıkan K iyonları ile demir ve sülfat iyonları

ile birleşmeleri sonucu jarosite mineral çökeltilerin oluştuğunu ve biotitin vermiculite dönüşümünü belirlemişlerdir.

Dengiz vd (2013), Kızılırmak nehrinin oluşturduğu farklı flüvial arazi şekli üzerinde oluşmuş Entisol ve Inceptisol ordolarına ait topraklarda organik ve inorganik koloitlerle beraber mikroorganizma faaliyetleri sonucu meydana gelen doğal agregatlarda mikrobiyolojik etkiler üzerine bir çalışma yapmışlardır. Toprakların gelişim ve olgunluk kazanmalarında strüktürel gelişmelere yönelik agregat oluşumu ve agregat büyüklüğü olduğu belirtilerek, elde edilen sonuçlara göre makro agregatların (> 250µm) Typic Haplustept topraklarda daha fazla olduğu bu durumda özellikle gözenek dağılımı ve miktarını arttırarak mikroorganizmaların faaliyetinde olumlu etki yaparak, topraklarda strüktürel gelişmeye olumlu yansıdığını bildirmişlerdir. Ayrıca mikroorganizmalar için diğer çevresel koşullardaki uygunluğun yanı sıra topraktaki organik maddenin gerek mikroorganizmalara ve gerekse de agregat oluşumuna önemli katkı yaptığını da belirtmektedirler.

Tang vd (2012), Çin'in Guizhou Karst alanlarında kireç taşı ve dolomite üzerinde yer alan endolitik bakterilerin belirlenmesine yönelik bir araştırma yapmışlardır. Yapılan çalışmaya göre bu kayalar üzerinde en fazla *Cyanobacteria*'nin yaygın olduğu bunu *Alphaproteobacteria*, *Acidobacteria*, ve *Actinobacteria* izlediğini belirlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, dolomit ve kireç taşları üzerinde Karst toprakların oluşumlarında endolithik bakterilerin önemli rol oynadıklarını belirtmektedirler. Lian vd (2010) bu durumu özellikle mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri sonucu oluşturdukları organik ve inorganik asitlerin yanı sıra ekstraselüler polisakkaridlerin (EPS) etkileri sonucu kalsiyum karbonatın çözünürlüğünü arttırarak kireç taşlarının ayrıştığını belirlemişlerdir.

Xi vd (2018) yaptığı çalışmada, kaya ayrışmasında rol alan bakteri popülasyonlarının çeşitliliği ve farklılığının, bitişik toprakların yanısıra değişime uğramış kayaların yüzeyinde de mevcut olduğunu göstermiştir. Buna ilaveten, değişime uğramış kayalardan ve topraklardan elde edilen kaya ayrıştırıcı türlerin çoğu daha önce bildirilmemiştir. Bu durum ayrıştırıcı bakterilerinin ortamlarına özgü olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, değişime uğramış kayalardaki bakterilerin yarısından fazlasının bitişik topraklarda bulunanlardan farklı olduğunu belirtmişlerdir. Kaya yüzeylerinde, çevreleyen topraklarda yaşayanlardan farklı spesifik bakteri türlerinin kolonize olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, farklı ortamlarda bulunan

kayaçlardaki bakteri topluluklarında önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir (Certini vd, 2004).

Gleeson vd (2006) mineral kimyasının özgül bakteriyel ribotipleri etkilediğini ve Al, Si ve Ca'nın sistem içindeki bakteriyel topluluk yapısı üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermişlerdir. Mevcut K, Ca, Mg ve organik madde miktarları, daha az ve daha fazla değişime uğramış kayalar ve topraklar arasında önemli ölçüde farklı olduğu belirlenmiştir. Değişime uğramış kayalar ve topraklar arasındaki kayaya zarar veren bakteri popülasyonundaki değişimin olabileceği düşünülmektedir. Bu durum farklı edafik faktörler tarafından şekillendirilmiştir. Ayrıca, pH ve mevcut Si, Al, Fe ve P miktarları daha az ve daha fazla değişime uğramış kayaçlar arasında önemli bir farklılıktır. Daha az ve daha fazla değişime uğramış kayaçlar arasındaki kaya ayrıştıran bakteri popülasyonundaki değişimin de bu farklı faktörlerden etkilenebileceğini ileri sürmektedirler. Buna ilaveten, sekonder minerallerdeki farklılığının, daha az ve daha fazla değişime uğramış kayalar arasındaki belirli kaya ayrıştırma özelliğine sahip bakteri popülasyonlarından sorumlu olabileceği rapor edilmiştir (Xi vd, 2018).

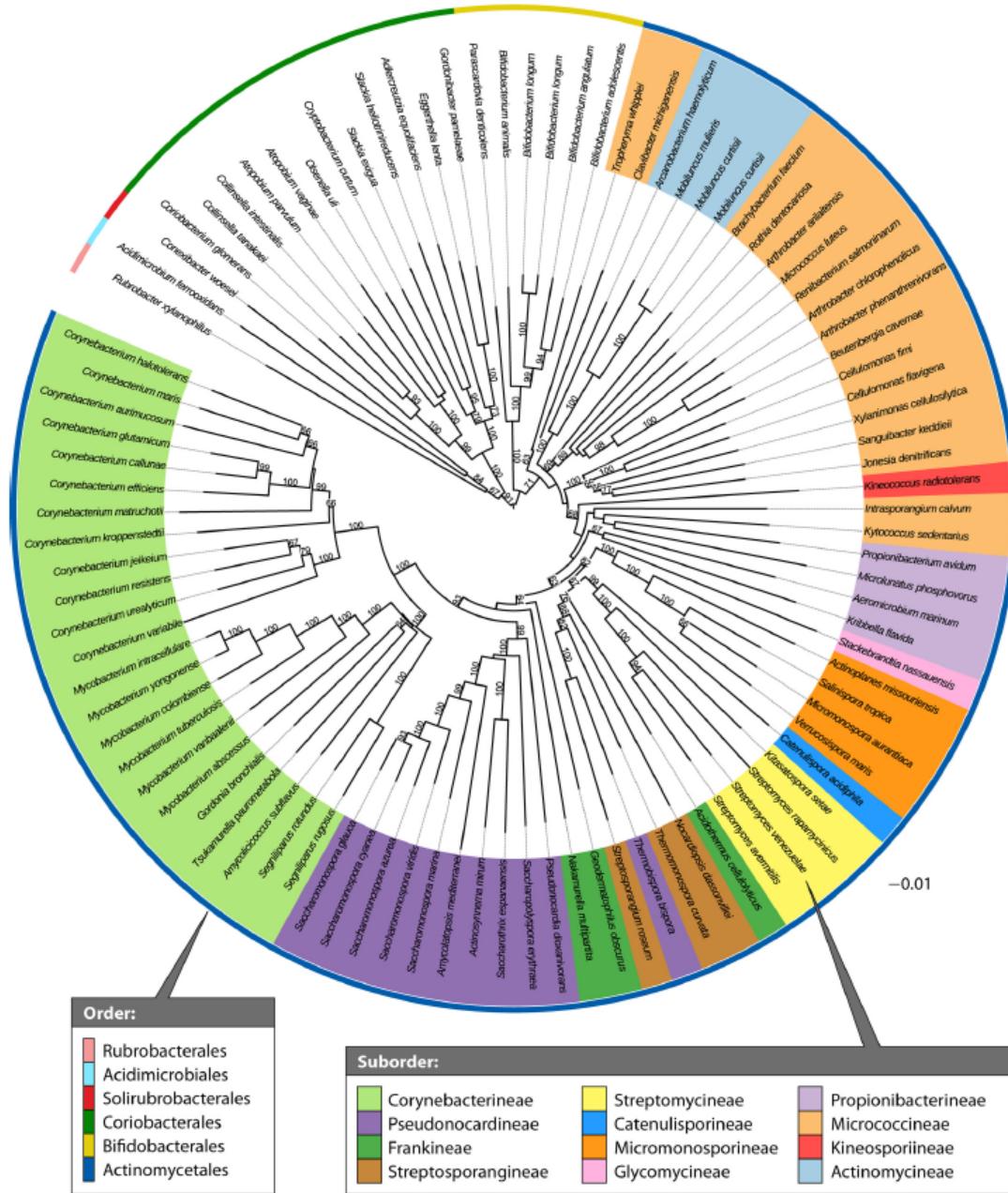
2.4. *Actinobacteria* Sınıflandırması ve Taksonomisi

2.4.1. Aktinobakteriyal taksonomide güncel durum

Actinobacteria'nın taksonomik konumu, 16S rRNA analizleri ile iyi bir şekilde ortaya koyulmuştur. *Actinobacteria* filumunda 5 alt sınıf, 9 takım ve 14 alt takım içeren *Acidimicrobiia*, *Actinobacteria*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria* ve *Thermoleophilia* olmak üzere altı sınıf vardır. *Actinomycetales* takımı, şimdi *Actinomycetaceae* familyasının üyeleriyle sınırlı olan *Actinobacteria* sınıfına aittir. Bu nedenle, *Actinobacteria* filumu içindeki 43 aile *Actinobacteria* sınıfında sınıflandırılırken, diğer 5 sınıfı sadece 10 aile oluşturmaktadır (Ludwig vd, 2012). Son zamanlarda genom dizi verilerinin elde edilmesindeki gelişmeler, genom filogenisinin ayrıntılı olarak anlaşılmasını sağlamış ve mikroorganizmaların cins ve aile düzeyinde doğru bir şekilde sınıflandırılmasını kolaylaştırmıştır. Şekil 2.5, aktinobakterial cinslerinin filogenetik ağacını göstermektedir.

Actinobacteria sınıfı daha önce *Bifidobacteriales* ve *Jiangellales* gibi *Actinomycetales* ordosu içinde alt ordolar olarak organize edilmiş taksonlardan oluşmaktaydı (Zhi vd, 2009; Tang vd, 2011). Bu sınıfta, iki klade (küme) mevcuttu; ilk klade *Actinopolysporales*, *Corynebacteriales*, *Glycomycetales*, *Jiangellales*, *Micromonosporales*, *Propionibacteriales* ve *Pseudonocardiales* ordolarını içerir ve

ikinci kladeide *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales*, *Kineosporiales* ve *Micrococcales* ordolarını içermektedir. Buna ek olarak, *Frankiales* düzenli bir klade olarak kabul edilmekte ve *Acidothermaceae*, *Cryptosporangiaceae*, *Frankiaceae*, *Geodermatophilaceae*, *Nakamurellaceae* ve *Sporichthyaceae* familyaları da dahil olmak üzere filogenetik ağaçta bağımsız soylar oluşturduğu görülmektedir (Ludwig vd, 2012).



Şekil 2.5. *Actinobacteria* filumunun 97 genom dizisi için genom tabanlı filogenetik ağacı (Barka vd, 2016)

2.4.2. Taksonomideki klasik ve son kriterlere göre *Actinobacteria* sınıflandırması

Actinobacteria'nın sınıflandırılması ve taksonomisi esas olarak; morfolojik, kimyasal ve fizyolojik gibi belirli özelliklerinin araştırıldığı fenotipik kriterlere dayanmaktadır. Koloni morfolojisi, spor zincirleri, substrat ve hava miselyumlarının rengi ve yayılabilir pigmentleri, cinslerin farklılaşmasında hala önemli faktörlerdir. Ancak bu filumun sınıflandırılması için yeterli bilgi sağlamamaktadır. *Actinobacteria*'nın mevcut sınıflandırması, 16S rRNA dizilerine dayanmaktadır. Bununla birlikte, filogenetik ağaçları inşa etmek ve 16S rRNA gen temelli sınıflandırma ile sınırlılıklarını gidermek için diğer moleküler belirteçlerin kullanımına da büyük ilgi vardır. Çok sayıda rRNA operonunda mevcut olan nükleotid varyasyonları ve 16S rRNA genlerinin yatay gen transferleri, filogenetik ağaçlarda bulunan taksonlar arasında nispeten kararsız ilişkilerin ortaya çıkma eğilimini artırmaktadır (Sentausa ve Fournier, 2013).

Prokaryotların sınıflandırması şu anda polifazik taksonomi denilen fenotipik, kemotaksonomik ve genotipik bilginin kombinasyonuna dayanmaktadır (Schleifer, 2009). Taksonomi analizi için uygulanan fenotipik yöntemler arasında morfoloji, antijenik özellikler, büyüme aralığı, metabolik üretim, patogenez ve mikroorganizmanın ekolojisi bulunmaktadır. Polifazik taksonomik yaklaşımların yaygın kullanımı *Actinobacteria* filumunun taksonomisi çözümünü geliştirirken, *Micromonospora* ve *Streptomyces* gibi cinslerde 16S rRNA geninin ve fenotipik özelliklerin yeni türlerin tanımlanması için her zaman yeterli olmadığı yönünde kayda değer problemleri de ortadan kaldıramamaktadır (Girard vd, 2013).

Bakterilerin tüm genom dizileri, bakteriyel sistematik hakkında daha doğru ve güncel bilgi sağlamaktadır. Taksonomik analiz için DDH gibi birçok genetik endeks kullanılmıştır. DDH'nin %70'lik değeri, tür üyelerinin tanımlanması için bir eşik değeri olarak önerilmiştir. Buna ilaveten, genetik taksonomik kriterler olarak ortalama nükleotid özdeşliği (ANI) ve multilokus sekansı tiplendirme / multilokus sekans analizi (MLSA) önerilmiştir (Konstantinidis ve Tiedje, 2005; Goris vd, 2007).

Bakteri veri dizilerinin, bir veri tabanında muhafazasını hızlandıran daha pratik bir yaklaşım olan yeni nesil dizileme (NGS) yöntemi, genomu dizilenen bakteri sayısını hızla arttırmaktadır. Tüm genom kullanılarak yeniden yapılandırılan filogenetik ağaçlar, daha fazla bilgi sağlamakta ve taksonlar arasındaki ilişkilerin ayırımını daha net olarak artırmaktadır (Wink vd, 2017).

2.4.3. *Actinomadura* cinsi

Thermomonosporaceae familyası içerisinde yer alan *Actinomadura* cinsi, *Actinocorallina*, *Spirillospora* ve *Thermomonospora* cinsleriyle birlikte sistematize edilmektedir. Bu cinslerin üyeleri morfolojik, fizyolojik ve kimyasal özelliklerin birlikte kullanılmasıyla birbirinden ayrılabilen ve 16S rRNA gen dizisine dayalı filogenetik ağaçlarda ayrı bir filetik yol oluşturmaktadır (Trujillo, 2012).

Son yıllarda literatüre kazandırılan *Actinomadura montaniterrae* KCTC 39784^T (Songsumanus vd, 2016), *Actinomadura alkaliterrae* DSM 101185^T (Ay vd, 2017), *Actinomadura rhizosphaerae* KCTC 39965^T (Malisorn vd, 2018) ve *Actinomadura barringtoniae* NBRC 113074^T (Rachniyom vd, 2018) türlerinin de dahil olması ile *Actinomadura* cinsi güncel ve geçerli olarak tanımlanmış 88 türü ve iki alttürü ihtiva etmektedir (URL-1: <http://www.bacterio.net/actinomadura.html> - Kasım 2018). Cins üyeleri karakteristik açıdan yaygın olarak dallanmış substrat miselyumu ve 1 – 50 artrospor bulunduran hava hifleri oluşturmaktadır. Spor zincirleri düz, çengelli (açık halkalar) ya da düzensiz spiraller biçiminde olmasının yanı sıra spor yüzeyleri ise katlanmış, düzensiz, pürüzsüz, dikensi veya yumru biçimindedir. Gelişim açısından ideal sıcaklık aralığı 10° C – 60°C'dir. *Actinomadura* türleri büyük oranda 9 izopren birimi bulunduran, 2., 3. ve 7. pozisyonlarda doymuş heksahidrojenli menakinonlar ve heksadekanoik, 14-metilpentadekanoik (*izo*-16:0) ve tuberkulostearik asit yağ asitlerini (yağ asidi tipi 3a, Kroppenstedt, 1985) muhtevasında bulundurmaktadır. *A. rubrobrunea* DSM 43750^T ve *A. viridilutea* 44433^T termofilik türler olarak tanımlanmakta ve yağ asidi bileşimlerinin farklı olması bakımından mezofilik türlerden ayrılabilir. Bu türler nispeten yüksek oranda *izo*-dallanmış yağ asitleri ve düşük miktarda 10-metil-dallanmış yağ asitleri içermektedir. Suşların bu farklılıklarının termofilik karakterlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer bir durum, bu suşların bütün-hücre hidrolizatında galaktoz, glukoz, mannoz, riboz ve eser miktarda maduroz gibi şeker bileşenlerini içermesinde de söz konusudur (Trujillo, 2012). *Actinomadura* türleri, yaygın olarak buldukları toprakta muhtemelen organik maddenin dönüşümünde rol oynamaktadır. Aktinomisetomaya neden olan türler *Actinomadura latina* DSM 43382^T, *A. madurae* DSM 43067^T ve *A. pelletieri* DSM 43383^T türleridir. Sadece klinik materyalden izole edilen *Actinomadura latina* DSM 43382^T ve *A. pelletieri* DSM 43383^T türlerinin aksine *A. madurae* DSM 43067^T türü yaygın olarak toprakta bulunmaktadır (Gerber, 1971, 1973; Lechevalier vd, 1971).

Gelişim ortamlarına antifungal etkili antibiyotikler olan, aktidion ve sikloheksimid gibi antibiyotiklerin eklenmesiyle farklı numunelerden *Actinomadura* üyeleri izole edilebilmektedir. Bu cinsin üyeleri genelde modifiye Bennett's agar (Jones, 1949), glukoz-maya özütü (Athalye vd, 1981) ve ISP besi ortamlarında (Shirling ve Gottlieb, 1966) kültüre edilebilmektedir (Nonomura ve Ohara, 1971).

Bu cinse ait bir organizmanın diaminopimelik asit içerip içermediği, içerdiği diaminopimelik asidin LL- veya *mezo*- formunda mı olduğunu belirlemek için tek-boyutlu ince-tabaka kromatografisi kullanılmaktadır (Kroppenstedt ve Goodfellow, 2006). Yağ asidi bileşiminin ölçülebilir analizleri, bu cinsini mezofilik üyelerinin *Microtetraspora*, *Nocardiosis*, *Saccharothrix* ve *Thermomonospora* üyelerinden ayırt edilmesine olanak tanımaktadır (Kroppenstedt, 1987). *Actinomadura* ve *Microtetraspora* üyeleri menakinon ve polar lipit profillerinde de farklılık göstermektedir (Kroppenstedt ve Goodfellow, 2006).

Actinomadura cinsinin genetiği ile ilgili olarak yapılan çalışmalar genel olarak cins üyeleri, *Thermomonosporaceae* familyası için karakteristik olan 16S rRNA sinyal moleküllerini içermektedir (Stackebrandt vd, 1997). Yapılan çalışmalarda bilim insanları *Actinomadura* türleri arasında DNA-DNA hibridizasyon analizleri yaparak türler arasındaki homoloji değerlerinin %18-100 arasında değiştiğini ifade etmişlerdir (Fischer vd, 1983).

Son zamanlarda tanımlanan *Actinomadura* türleriyle yapılan DNA-DNA homolojisi çalışmaları, bu cinsin üyeleri arasında karmaşık genetik ilişkilerin mevcudiyetini göstermektedir. Örneğin, *A. kijaniata* DSM 43764^T ve *A. namibiensis* DSM 44197^T türleri arasında DNA-DNA hibridizasyon değerinin %72 olarak tespit edilmesinin yanısıra her iki tür de, özellikle tanımlayıcı karbon kullanımı ve enzim profili temelinde, fenotipik verilerin kullanılmasıyla ayırt edilebilmektedir (Wink vd, 2003).

2.4.4. *Actinopolymorpha* cinsi

Actinopolymorpha cinsi içerisinde sınıflandırılan türler, Gram (+) ve aerobiktir. Hava miselyumu oluşturmeyen türlerin vejetatif miselleri katı kültür ortamlarının çoğunda agar yüzeyinde gelişebilmekte ancak ISP3 besiyerinde zayıf gelişmektedir. Triptik soy broth (TSB) sıvı kültür ortamında %15 NaCl konsantrasyonunda gelişebilmektedirler. Hücre duvarı DAP testlerinde LL-diaminopimelik asit (LL-DAP) içerdikleri tespit edilmiştir. Baskın menakinonu MK-9(H₆)' dir ve farklı oranlarda MK-9(H₄), MK-9(H₈) ve MK-10(H₄) menakinonlarına da rastlanabilmektedir. Hücre duvarı

tüm şeker analizlerinde glikoz, ramnoz ve riboz baskın şekerler olarak tespit edilmiştir. Yapılan polar lipit analizlerinde cinsin üyelerinin fosfatidilinozitol mannozitol (PIM), fosfatidilinozitol (PI), difosfatidilgliserol (DPG) ve fosfatidilgliserol (PG) fosfolipitlerini bulundurduğu belirlenmiştir. Cins 16S rRNA gen dizi analizi temel alınarak *Nocardioideae* familyasına yerleştirilmiştir (Wang vd, 2001). Bu cins içerisinde güncel olarak 5 tür tanımlanmıştır (URL-2 <http://www.bacterio.net/actinopolymorpha.html-Kasim-2018>). Bunlar *Actinopolymorpha singaporensis* DSM 22024^T (Wang vd, 2001), *A. rutila* DSM 18448^T (Wang vd, 2008), *A. alba* DSM 45243^T (Cao vd, 2009), *A. cephalotaxi* DSM 45117^T (Yuan vd, 2010) ve *A. pittospori* 45354^T (Kaewkla ve Franco, 2011)' dir.

Bu cinsin üyeleri en çok test edilen kültür ortamlarında genellikle yavaş gelişim gösterir. *Actinopolymorpha cephalotaxi* DSM 45117^T de apikal ve lateral tomurcuklanmayla bölünen ve bölünmeden sonra bağlı kaldığı görülen düzensiz hücreler vardır (Yuan vd, 2010). Sıklıkla kısa zincirler halinde bulunurlar ya da gelişimlerinin erken dönemlerinde agregat oluştururlar. Hücreler daha sonra farklı derecelerde uzar ve şişebilir, eşit kalınlıkta olmayan dallanmış hifler oluşur. Tuz sıklıkla gelişimleri için gereklidir; *A. singaporensis* DSM 22024^T (Wang vd, 2001) %15 NaCl konsantrasyonunu tolere eder. Çoğu türleri mezofilik ve nötrofillerdir. Hepsisi katalaz pozitif ve jelatini ayrıştırabilir, tek karbon kaynağı olarak glukozu kullanır ve arabinoz, glukoz ve trehalozdan asit üretebilirler. Tüm suşlar 1,2-propanediolden asit üretme açısından negatiftir. *Actinopolymorpha* cinsi içerisinde *A. cephalotaxi* DSM 45117^T, *A. rutila* DSM 18448^T ve *A. alba* DSM 45243^T'nin enzimleri detaylı olarak test edilmiştir (API ZYM). Tümü esteraz (C4), α- ve β-glukozidazlar ve α- mannosidaz için pozitifdir (Wang vd, 2008; Cao vd, 2009; Yuan vd, 2010).

2.4.5. *Micromonospora* cinsi

Micromonospora türleri, farklı ortamlarda yaşamakta ve doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Uzun süredir tıbbi uygulamalar için sekonder metabolitlerin önemli bir kaynağı olarak bilinmektedirler ve son zamanlarda *Micromonospora* türlerinin bitki büyümesini ve gelişimini etkileyebileceği gösterilmiştir. Bitki gelişimi ve verimliliği üzerindeki etkilerinin, kesin tabiatı ve mekanizması halen belirsiz olmasına rağmen; *Micromonospora* suşları, baklagil nodüllerinin doğal endofitleri olarak tanımlanmıştır (Hirsch ve Valdés, 2009).

Micromonospora cinsi önemli oranda fizyolojik ve biyokimyasal çeşitlilik gösterirken; morfoloji, filogenetik ve kemotaksonomik bakımdan iyi tanımlanmış bir gruptur. Kolonileri beyaz, turuncu, gül veya kahverengiden oluşan çeşitli renklerde olabilir. Bununla birlikte, *Micromonospora* cinsinin türlerinin tek başına morfoloji temelinde ayırt edilmesi her zaman kolay değildir. Tür tanımlamalarında 16S rRNA geninin ve/veya *gyrB*'nin (DNA topoizomerası kodlayan gen) sekanslarının analiz edilmesiyle, filogeninin oluşturulması daha yaygın olarak uygulanmaktadır.

Micromonospora cinsi, "Bergey's manual"de bulunan türlerinin çoğu alkali veya nötr topraklardan ve nispeten de sucul ortamlardan izole edilmiştir (Genilloud, 2012). *M. echinospora*'nın spor popülasyonunun, ısı tepki özelliklerine göre heterojen olduğu bilinmektedir. Bu durum türün ve akrabalarının popülasyonları içinde var olan doğal değişkenliği ortadan kaldırmak için rutin ısı aktivasyonunun kullanılabileceğini düşündürmektedir (Hoskisson vd, 2000). Ayrıca, *M. lupini* Lupac 08'in genomunun analizi, bakterinin toprakta veya bitki dokularında hayatta kalmasına yardımcı olabilecek çeşitli gen dizilerini ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, organizmanın bitki materyalini bozan enzimleri kodlayan birçok geni olmasına rağmen, bu bakteri bir bitki patojeni olarak kabul edilmemektedir (Trujillo vd, 2014). Ek olarak genom karşılaştırmaları, *M. lupini* Lupac 08'in, *Frankia* sp. suşları ACN14a, Ccl3 ve EAN1pec ile metabolik olarak yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, *Micromonospora* cinsinin, önceden tanımlanmamış bir adaptasyon sürecinin ardından tamamen karasal bir yaşam tarzından fakültatif endofitik bir yaşam tarzına geçtiğini göstermektedir (Barka vd, 2016; Wink vd,2017).

Cinsin çok sayıda antibiyotik ürettiği de bildirilmiştir (Berdy, 2005). Bu bağlamda çeşitli özelliklere sahip 500'e kadar farklı molekülü sentezleyen *Streptomyces* cinsinden sonra ikincidir (Genilloud, 2012). *Micromonospora* türleri, doğal habitatlarında organik maddenin bozulmasında aktif rol oynamalarına izin veren hidrolitik enzimler üretebilirler. Denizlerdeki *Micromonospora* türleri son zamanlarda geniş dağılımları ve probiyotik olarak kullanım potansiyelleri açısından çalışılmıştır (Hirsch ve Valdés2009; Das vd, 2008). Diğer endofitik aktinobakteriler gibi, *Micromonospora* üyelerinde de sistemik kazanılmış direnç (SAR) veya jasmonat / etilen (JA / ET) yollarındaki anahtar genleri aktive ederek hem in vitro hem de bitkide birçok patojeni baskılayabilmektedir. *Micromonospora* türleri üzerinde çok az sayıda genomik çalışma bulunmasına rağmen sekonder metabolit üretimi için kabul edilmiş kapasitelerini gösteren genetik analizleri için eksikliklerin mevcut olduğu bildirilmiştir (Hirsch ve Valdés, 2009).

Micromonospora profunda DSM 45981^T (Veyisoğlu vd, 2016) *Micromonospora phytophila* DSM 105363^T (Carro vd, 2017), *Micromonospora parathelypteridis* DSM 103125^T (Zhao vd, 2017), *Micromonospora globispora* DSM 45936^T (Carro vd, 2018) ve *Micromonospora azadirachtae* KCTC 39941^T (Kuncharoen vd, 2018) türlerinin literatüre kazandırılması ile cinsin güncel olarak tanımlanmış 84 tür, 7 alt türü mevcuttur (URL-3 <http://www.bacterio.net/micromonospora.html> Kasım-2018).

2.4.6. *Nocardia* cinsi

Nocardia cinsi, immün sistemi baskılanmış konakçılarda en yaygın fırsatçı enfeksiyonların etkeni olarak bilinen geniş yayılışa sahip bakteri grubudur. *Nocardiaceae* familyasına ait *Nocardia* türleri, en az 33'ü patojenik olan ve birçok çevrede bulunabilen toprak kaynaklı aerobik aktinomisetlerdir (Brown-Elliott vd, 2006). *Nocardia* enfeksiyonlarının temel olarak çevresel kaynaklardan inhalasyon veya derialtı inokülasyon yoluyla yayıldığı bilinir. Ancak hastane kaynaklı enfeksiyonu da bildirilmiştir (Abreu vd, 2015). Patojen, beyin ve böbreklere, eklemlere, kemiklere, yumuşak dokulara ve gözlere yayılarak, insanlarda ve hayvanlarda nocardiozise neden olabilir (Simpson ve Read, 2014). *Nocardia* türleri nadir olmakla birlikte, rapor edilen tüm beyin apselerinin %1 ila 2'sini oluşturmaktadır. Bununla birlikte, *Nocardia* enfeksiyonu ile ilişkili beyin apsesi ölüm oranı, genel beyin apsesi ölümünden (%10) daha yüksektir (%31) (Yorke ve Rouah, 2003).

Buna ilaveten *Nocardia* türleri antibiyotikler ve enzimler gibi endüstriyel olarak önemli biyoaktif moleküller üretirler (Shigemori vd, 1998; Coco vd, 2001). *Nocardia* cinsi içerisinde iki klade vardır; Biri *Nocardia asteroides* ve birleşik taksa, ikincisi ise *Nocardia otitidiscaviarum* ve ilgili türlerden oluşmaktadır. Birçok insanda klinik nokardiyal enfeksiyona sebep *N. asteroides* grubunun ilaca yatkınlık modelleri temel alınarak birden fazla türü yeniden düzenlenmiştir: *N. apsesi*, *N. brevicatena*-*N. paucivorans* kompleksi, *N. nova* kompleksi, *N. transvalensis* kompleksi, *N. farcinica* ve *N. asteroides* (Brown-Elliott vd, 2006). Son olarak, *N. cyriacigeorgica*, *N. asteroides*'den farklılaşmıştır (Schlaberg vd, 2008).

Son 20 yılda, *Nocardia* enfeksiyonları, patojenin izolasyon ve moleküler tanımlama metodlarının geliştirilmesi ve immün sistem baskılayıcıların artan popülasyondan dolayı dünya çapında insanlar ve evcil hayvanlar arasında ortaya çıkan bir hastalık olarak kabul edilmesine neden olmuştur (Bennett vd, 2014). *Nocardia* türleri, fırsatçı patojenler olarak kabul edilir ve bağışıklık fonksiyonunu

tehlikeye attığı bilinmektedir (Bennett vd, 2014). Ayrıca, organ ve kemik iliği transplantları (Wiesmayr vd, 2005), uzun süreli steroid kullanımı, bağ dokusu hastalıkları, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonları, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, alkolizm, siroz, sistemik vaskülit, ülseratif kolit ve böbrek yetmezliği ile de ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Matulionyte vd, 2004).

Nocardia arizonensis DSM 45748^T (Lasker vd, 2015), *Nocardia rayongensis* JCM 19832^T (Tanasupawat vd, 2016), *Nocardia xestospongiae* NBRC 109069^T (Thawai vd, 2017) ve *Nocardia aurea* DSM 103986^T (Fang vd, 2018) tip suşlarının tanımlanmasıyla cinsin güncel olarak tanımlanmış 119 türü mevcuttur (URL-4 <http://www.bacterio.net/nocardia.html> Kasım-2018)

2.4.7. *Nonomuraea* cinsi

Streptosporangiaceae familyasının üyesi olan *Nonomuraea* cinsi 1998 yılında Zhang vd tarafından önerilmiştir (Fischer vd, 1983; Goodfellow vd, 1988; Kroppenstedt vd, 1990). Cinsin üyeleri aerobik, Gram (+), non-asit-fast, aşırı dallanmış substrat ve hava miselyumlarına sahip hareketsiz aktinomisetlerdir. Hava hifleri; çengel, spiral ya da katlanmış, düzensiz, pürüzsüz ve değişen yüzey görünümüne sahip uzun spor zincirleri şeklinde farklılaşabilir. Gelişim sıcaklık aralığı 20-45 °C'dir ve bazı suşlar 55 °C'de gelişmektedir. Maduroz tüm organizmalardaki hidrolizatlarda mevcuttur. Baskın menakinonlar MK-9 (H₀, H₂, H₄)'dur (Zhang vd, 1998; Kampfer vd, 2010; Zhao vd, 2011; Li vd, 2012). Polarlipid analizlerinde glukozamin içeren fosfotidiletanolamin, fosfotidimetiletanolamin, difosfotidilgliserol ve fosfotidilinositol gibi lipidler tespit edilmiştir (Lechevalier vd, 1977) ve baskın yağ asitleri 10- metil-17- ve *iso*-16-dallanmış moleküllerdir (Kroppenstedt, 1985).

Nonomuraea cinsinin türlerinin çoğunun kökeni topraktır. Bu familyanın üyelerinin topraktaki bitki materyallerinin ilk ayrışmasında rol aldığı muhtemeldir (Nonomura ve Ohara, 1971; Galatenko vd, 1981).

Streptosporangiaceae familyasının üyeleri primer ve sekonder metabolitleri bakımından zengindir ve bu durumdan da kayda değer bir antibiyotik ve enzim üreticisi oldukları düşünülmektedir. *N. pusilla*, actinotiocin (Tamura vd, 1973), *N. rubra*, maduromycin (Fleck vd, 1978), *N. roseoviolacea*, carminomicin (Nakagawa vd, 1989); ve *N. spiralis*, pyralomicin (Naganawa vd, 2002) gibi antibiyotikleri sentezlemektedirler.

Nonomuraea cinsinin güncel olarak tanımlanmış 50 türü ve 2 alt türü bulunmaktadır (URL-5: <http://www.bacterio.net/nonomuraea.html> - Kasım-2018). Cinsin en güncel tanımlanmış tip türleri; *Nonomuraea purpurea* NBRC 109647^T (Suksaard vd, 2016), *Nonomuraea zeae* DSM 100528^T (Shen vd, 2016), *Nonomuraea glycinis* DSM 104838^T (Li vd, 2017) ve *Nonomuraea insulae* DSM 102915^T (Saricaoglu vd, 2018) olarak bildirilmiştir.

2.4.8. *Plantactinospira* cinsi

Plantactinospira (Qin vd, 2009) cinsinin de içerisinde bulunduğu *Micromonosporaceae* familyası Krasil'nikov (1938) tarafından tanımlanmış ve 16S rRNA gen dizi analizi ve kemotaksonomik veriler temel alınarak daha sonradan Goodfellow vd (1990), Koch vd (1996) ve Stackebrandt vd (1997) tarafından yeniden düzenlenmiştir.

Plantactinospira cinsi ilk kez Qin vd, (2009) tarafından tip türü olarak *Plantactinospira mayteni* DSM 45238^T organizması ile tanımlanmıştır. Son olarak tanımlanmış *Plantactinospira solanidaricis* DSM 100596^T (Li vd, 2018) türü ile birlikte cins içerisinde güncel olarak tanımlanmış 7 tür vardır (URL-6: <http://www.bacterio.net/plantactinospira.html> - Kasım-2018). *Plantactinospira* üyesi olan bazı türler bitki dokularından izole edilen sporlu aktinomisetlerdir. Aerobik, Gram (+) olup asit-fast özellik göstermezler. Hareketsiz sporlara sahiptirler. Aerial miselleri beyaz ve seyrek. Hücre duvarı karakteristik diamino asit olarak mezo-diaminopimelik asite (*mezo*-DAP) sahiptirler. Tüm hücre şeker analizinde arabinoz, ksiloz, galaktoz ve glikoz karakteristik şekerler olarak tanımlanmıştır. Polar lipid olarak fosfatidiletanolamin (PE), difosfatidilgliserol (DPG) ve fosfatidilinositol (PI) içermektedirler. Mikolik asite sahip değildirler. Baskın menakinonlar MK-10(H₆), MK-10(H₈) ve MK-10(H₄)' dür. iso-C_{15:0}, anteiso-C_{15:0}, C_{17:0}, anteiso-C_{17:0} ve iso-C_{16:0} majör yağ asitleridir (Qin vd, 2009).

2.4.9. *Rhodococcus* cinsi

Rhodococcus cinsi üyeleri, *Mycobacterium* cinsi üyelerinden ziyade *Nocardia* cinsinin üyeleri ile daha yakından ilişkili olan heterojen bir mikroorganizma grubudur. *Rhodococcus* türleri arasında simbiyontlar (*Rhodococcus rhodnii*) ve hayvan (*R. equi*), bitki (*R. fascians*) ve insan (*R. equi*, *R. rhodochrous* ve *R. erythropolis*) patojenleri bulunmaktadır (Bell vd, 1998). *Rhodococcus equi*, genç atlarda ve HIV ile

enfekte olmuş insanlarda pulmoner bir patojen olarak davranması en muhtemel olan *Rhodococcus* türüdür (Prescott, 1991).

Rhodococcus cinsi uzun ve karışık bir taksonomik soy ağacına sahiptir (Goodfellow ve Cross, 1984; Goodfellow ve Lechevalier, 1989). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* kitabının son baskısında, rodokoklar öncelikle kimyasal ve serolojik özelliklere dayalı olarak iki gruba ayrılmıştır (Goodfellow vd, 2012). *Rhodococci* için ana karakteristikler, 34 ve 64 karbon atomu uzunluğuna sahip mikotoksik asitler, tüberkülostearik asit ve sekiz izoprenoid birimine sahip dihidrojenlenmiş menakuinonların ana menakuinone tipi olarak varlığıdır (Bell vd, 1998).

Rhodococcus cinsinin üyeleri; aerobik, Gram (+), katalaz-pozitif, kısmen asit-fast, hareketsiz çubuk şeklinde de büyüeyebilen; fakat aynı zamanda geniş ölçüde dallanmış substrat hiflerine de sahip olabilen aktinomisetlerdir. Bazı suşlar, dallanmış veya seyrek hava hifleri üretir (Goodfellow, 1992). *Rhodococcus* suşları, katabolik çok yönlülüğe sahip oldukça önemli organizmalardır. Çünkü ksenobiyotik ve organik bileşiği parçalayabilen enzimleri kodlayan bir dizi genler taşırlar (Larkin vd, 2005). Biyoremediasyon potansiyeline ek olarak; karotenoidler, biyosümfaktanlar ve biyolojik çökeltme ajanları gibi endüstriyel potansiyelli metabolitleri üretirler (Jones ve Goodfellow, 2012). *Rhodococcus rhodochrous* gibi bazı türlerin de akrilamid gibi ticari olarak değerli ürünleri sentezlediği tespit edilmiştir (Bell vd, 1998).

Rhodococcus cinsinin güncel olarak tanımlanmış 65 türü bulunmaktadır (URL-7: <http://www.bacterio.net/rhodococcus.html> Kasım-2018). *Rhodococcus psychrotolerans* DSM 104532^T (Silva vd, 2018), *Rhodococcus electrodiphilus* KCTC 39856^T (Ramaprasad vd, 2018) ve *Rhodococcus daqingensis* DSM 107227^T (Wang vd, 2018) türleri cinsin en güncel olarak tanımlanmış tip türleridir.

2.4.10. *Saccharopolyspora* cinsi

Saccharopolyspora cinsi ilk olarak 1975'te önerilmiş ve cinsin üyeleri hava miselyumlarında tüysü bir kılıfta boncuk benzeri spor zincirleri üretimi ile ayırt edilebiliyorlardı (Lacey ve Goodfellow 1975). 16S rRNA genlerinin sekans analizleri, *Pseudonocardiaceae* ailesinde sınıflandırılması gerektiğini ortaya koymuştur (Labeda vd, 2010; Lu vd, 2001). Güncel literatürde *Saccharopolyspora hattusasensis* CR3506^T (Veyisoğlu vd, 2018), *Saccharopolyspora deserti* SYSU D8010^T (Yang vd, 2018) ve *Saccharopolyspora aidingensis* TRM 46074^T (Xia vd,

2017) gibi türlerin de eklenmesiyle 20 tanesi son 10 yılda tanımlanmış 31 tür ve 3 alt tür mevcuttur (URL-8: <http://www.bacterio.net/saccharopolyspora.html>-Kasım-2018).

Saccharopolyspora cinsinin üyeleri çeşitli habitatlardan nişasta-kazein-arginin agar (Iwasaki vd, 1979), R8 agar (Amner vd, 1989), oatmeal agar (Lu vd, 2001) ve ketokonazol ve nalidiksik asit ile desteklenmiş nişasta-kazein agar (Duangmal vd, 2010) gibi farklı kültür ortamlarından izole edilmiştir.

Saccharopolyspora kültürleri, çubuk şeklindeki ve / veya kokoid yapıda dallanmış substrat miselyumundan oluşur. Koloniler katı kültür ortamının yüzeyine yayılır; ince, kabarık veya dışbükey olabilmektedir. Substrat hifleri ten renginde, kahverengimsi kırmızı, turuncu veya sarı renkte ve mukoid veya jelatinimsi olabilmektedir. Hava hifi segmentlerinde pürüzsüz bir kese içinde boncuk benzeri spor zincirleri vardır. Hava hifleri beyaz, gri veya pembemsi beyazdır. Spor zincirleri düz, çengelli, halka veya gevşek spiraller şeklindedir. Sporlar; tüylü, pürüzsüz, dikenli, pürüzlü veya oval şekillere sahiptir (Franco ve Labeda, 2014).

Saccharopolyspora erythraea DSM 40517^T'nin eritromisin biyosentezi ve direnç genleri haritalanmış, klonlanmış ve aynı kromozom üzerinde birlikte buldukları gösterilmiştir (Weber vd, 1985; Baltz vd, 1986; Vanden Boom 2000). *Saccharopolyspora spinosa* biyosentetik gen kümelenmesi spinosinleri sentezlemede rol oynayabilen genleri içerir (Matsushima ve Baltz 1994; Waldron vd, 2001) ve spinosin biyosentez yolunda yer alan genler, özellikle D-forozamin sentezinde rol oynayanlar olarak karakterize edilmiştir (Hong vd, 2008).

Saccharopolyspora rectivirgula çiftçi akciğeri olarak bilinen ekstresek allerjik alveolit durumunun bilinen bir etkenidir (Campbell 1932; Pepys vd, 1963). Hastalık vejetatif materyalin bozulmasında salınan çok sayıda sporun solunmasından kaynaklanır (Lacey, 1981). *Saccharopolyspora* cinsinin üyelerinde en fazla 75 bireysel antijenik bileşen tanımlanmıştır (Lacey, 1989).

2.4.11. *Streptomyces* cinsi

1943 yılında Waksman ve Henrici tarafından önerilen *Streptomyces* cinsinin tip türü *Streptomyces albus* ATCC 25426^T'dur ve *Streptomyceaceae* familyasının tip cinsi olarak önermişlerdir.

Metabolizma olarak aerobik solunum tipine sahip olan ve kemoorganotrof olarak tanımlanan *Streptomyces* üyeleri Gram (+), asit-fast olmayan, katalaz pozitif, aerobik organizmalardır. Nadiren fragment oluşturan türler yoğun olarak dallanmış

vegetatif miseller üretirler. Hava miselleri, koloniler olgunlaşırken çok çekirdekli hava filamentlerinde (sporofor) artrospor zincirleri içinde gelişerek üretilirler (Anderson ve Wellington, 2001) ve bu süreci bireysel hücrelerin ayrılması takip eder (Wildermuth ve Hopwood,1970). Farklı renklerde pigmentler üretebilmektedirler ve pH indikatörü olarak çözünen pigment sentezleyen oldukça fazla türün substrat ve hava miselyumları canlı renklere sahiptir. Olgun hava misel renkleri taksonomik açıdan öneme sahiptir ve genellikle suşları renk gruplarına göre ayırt etme imkanı vermektedir. Substrat miselyumunun rengi genellikle kültür ortamına, pH değerine ve kültür yaşına bağlı olarak farklılık gösterebilmekte ve bu nedenle spor rengi gibi kullanışlı olmamaktadır (Williams vd, 1989; Goodfellow vd, 1996; Anderson ve Wellington, 2001).

Streptomyces cinsi türlerinin anahtar kemotaksonomik özelliği hücre duvarında glisin ve LL-DAP bulundurması olup buna karşılık ise hücre duvarında tanınan hiçbir şekeri bulundurmamasıdır. Suşlarda mikolik asit bulunmaması ve baskın menakinonları 9 izopren üniteli hekza- ya da okta-hidrojenaz' dır. Yağ asidi analiz sonuçlarına göre majör olarak doymuş *izo-* ve *anteizo-* yağ asitlerini içerir. Hücre membranlarının fosfolipit muhtevası fosfatidilgliserol (PG), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinozitol (PI) ve fosfatidilinositol mannozitol (PIM)' dir (Kutzner, 1981; Williams vd, 1989; Anderson ve Wellington, 2001).

Streptomyces türlerinin çoğu topraklardan izole edilmelerine karşın, bu cinsin üyelerinin sucul ve karasal habitatlarda oldukça geniş dağılıma sahip olduğu düşünülmektedir (Kutzner, 1981; Williams vd, 1989). Dünyanın birçok farklı bölgesinden suşların izole edilmesiyle bu durum açıklanmıştır. Bu izolasyon kaynaklarının bazılarını örnek olarak kompost ve gübre yığınları, hayvan yemleri, açık su örnekleri (akarsu ve göl) ve sedimentleri (Kutzner, 1981); çeşitli bitkilerin yaprakları, kökleri ve sapları (endofitlerde olduğu gibi) (Hasegawa vd, 2006); süngerler gibi deniz organizmaları (Xin vd, 2008); termitlerin bağırsakları (Watanabe vd, 2003); hastalıklı bitkiler, insan ve hayvan klinik örnekleri (Kutzner, 1981; Williams vd, 1989) verilebilmektedir. Son yıllarda farklı ortamlardan literatüre kazandırılan *Streptomyces yangpuensis* fd2-tb^T (Tang vd, 2016), *Streptomyces solisilvae* HNM0141^T (Zhou vd, 2017), *Streptomyces aqsuensis* TRM46399^T (Wang vd, 2018) ve *Streptomyces sediminis* MKSP12^T (Ay vd, 2018) gibi türler ile *Streptomyces* cinsinin tanımlanmış tür sayısı 848'e yükselmiştir. Buna ilave olarak 38 tane de alt türü tanımlanmıştır (URL-9: <http://www.bacterio.net/streptomyces.html> Kasım-2018).

Saprotit olduğu düşünölen karasal *Streptomyces* türlerini doğal polimerlerin haricinde bitki kısımlarının ayrıştırılmasında da önemli bir role sahip olduğu yapılan çalışmalarda ortaya koyulmuştur. Bundan hareketle besin döngüsüne ve dönüştürölmesine katkı sağladığı düşünölmektedir (Williams vd, 1989). Ayrıca son yıllarda bu organizmaların sucul habitatlarda bulunun mikrobiyal habitatların bir parçası olduğuna ve organik maddenin ayrıştırılmasına aktif rol oynadıkları literatürde bildirilmektedir (Kutzner, 1981; Williams, 2008). Rezervuarlar ve su kaynaklarındaki toprak kokusu ve farklı aromaların gelişimi streptomisetler tarafından geosmin ve methylisoborneol sentezi ile gerçekleşmektedir (Kutzner, 1981; Williams vd, 1989).

Biyolojik olarak aktif bileşiklerin en önemli kaynağını oluşturduğu düşünölen *Streptomyces* türleri aktinobakteriler içinde ekonomik açıdan önemli bir grup olarak değerlendirilmektedir (Berdy, 2005). Günümüzde tıbbi ve ticari olarak kullanılan antibiyotiklerin (Kieser vd, 2000) ve tarımsal alanlarda önemli çeşitli bileşiklerin (Okami ve Hotta, 1988) %75'inin streptomisetlerden elde edildiği bilinmektedir. Buna ilaveten, tarımda kullanılan ve 1990 yılında keşfedilen antibiyotiklerin yaklaşık %60' ı *Streptomyces* cinsi tarafından sentezlenmektedir (Tanaka ve Omura, 1993). Bu cinsin üyeleri antibakteriyel (Berdy, 2005; Ramesh ve Mathivanan, 2009), antifungal (Prapagdee vd, 2008; Ramesh ve Mathivanan, 2009), böcek öldürücü (Pimentel-Elardo vd, 2010), antitümör (Hong vd, 2009), antienflamatuar (Renner vd, 1999), antiparazitik (Pimentel-Elardo vd, 2010), antiviral (Sacramento vd, 2004), çürüme önleyici (Xu vd, 2010), anti-infektif (Rahman vd, 2010), herbisitler ve bitki büyümesini teşvik eden bileşiklere (Sousa vd, 2008) ilaveten enzim inhibitörleri (Hong vd, 2009) ve vitaminler (Atta, 2007) gibi birçok ajanı sentezleme yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur. Bu özellikleri *Streptomyces* cinsinin üyelerini endüstriyel ve akademik açıdan önemli bir araştırma konusu olma özelliği kazandırmaktadır (Barka vd, 2016; Wink vd,2017).

2.4.12. *Verrucosipora* cinsi

Verrucosipora cinsi Rheims vd, (1998) tarafından morfolojik, fizyolojik, kemotaksonomik ve filogenetik karakterlerine dayalı olarak *Micromonosporaceae* familyası içerisinde tanımlanmıştır. *Verrucosipora* cinsinin tip türü *Verrucosipora gifhornensis* DSM 44337^T suşudur ve günümüze kadar literatüre kazandırılmış 10 türü mevcuttur (URL-10: <http://www.bacterio.net/verrucosipora.html> - Kasım-2018).

Verrucosispora cinsi üyeleri Gram (+), asit-fast olmayan ve aerobik bakterilerdir. İyi gelişmiş bölmeli miseller dallanmış hiflerden oluşturmaktadır ve hava misel oluşumu ya hiç yoktur ya da nadirdir. Substrat miselyumunda tek sporlar ya uzantısız ve kısa ya da uzun sporoforların üzerinde bulunmaktadır. Yaşlandıkça tüysü bir yapı kazanan sporlar hareketsizdir ve siğilimsi bir yüzey görünümüne sahiptirler. Sarıdan turuncuya değişen renklerde görünen koloniler, şayet çözünür pigment üretirlerse benzer renkleri de gösterebilirler. Cinsin üyelerinin hücre duvarı mezo-DAP ve glisin (tip II hücre duvarı) içermektedir. Hücre duvar şeker analizlerinde mannoz ve ksiloz içerdikleri fakat arabinoz içermedikleri tespit edilmiştir. Baskın yağ asitleri izo-C_{15:0}, izo-C_{16:0} ve anteizo-C_{17:0}' dir. Aynı zamanda baskın olan menakinonları 9 izopren birimli tetra-hidrojenazdır. Bunun yanında az oranda MK- 9(H₂), MK-9(H₆) ve MK-10(H₄)' de bulunabilmektedir. Fosfolipit profilleri fosfatidiletanolamin (PE), difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilinozitolmannozit (PIM) ve fosfatidilserin (PS) (PII tip fosfolipit) içermektedir (Rheims vd, 1998; Liao vd, 2009).

Micromonosporaceae familyasındaki diğer cinslerde olduğu gibi bu cinsin üyeleri de büyük çoğunlukla sucul ortamlardan izole edilmiştir. *Verrucosispora gifhornensis* turba bataklıklardan (Rheims vd, 1998), *V. lutea* mangrov sedimentinden (Liao vd, 2009), *V. sediminis* Kuzey Çin Deniz' inin derin dip sedimentinden (Dai vd, 2010), *V. andamanensis* deniz süngerinden (Supong vd, 2013), *V. maris* marin sedimentinden (Goodfellow vd, 2012) ve *V. qiuiae* mangrov bataklık sedimentinden (Xi vd, 2012) izole edilmişlerdir. Bunun yanında son yıllarda *Verrucosispora sonchi* NEAU-QY3^T (Ma vd, 2016) ve *Verrucosispora endophytica* A-T 7972^T (Ngaemthao vd, 2017) gibi bitkilerden izole edilen cins üyeleri de tanımlanmıştır.

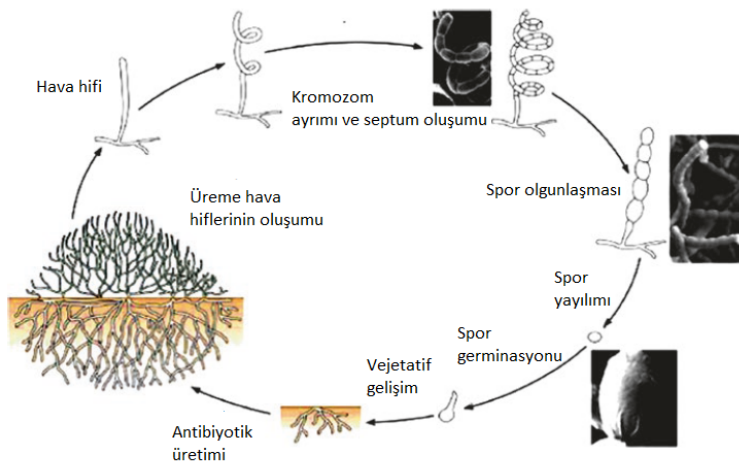
Verrucosispora cinsinin üyeleri antimikrobiyal sekonder metabolitler üretebilme kabiliyetine de sahiptirler. Güçlü bir polisiklik poliketid antimikrobiyal ajan olan abissomisin C (Gram-pozitif bakterilerde folik asit sentezini baskılar), bu cinse mensup bir suş tarafından sentezlenmektedir (Riedlinger vd, 2004; Lam, 2006; Williams, 2008). Sıvı besiyerinde geliştirilmiş *V. sediminis*'in süpernatantı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Dai vd, 2010). *V. gifhornensis* ve *V. lutea* türleri herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Rheims vd, 1998; Liao vd, 2009).

2.4.13. Fenotipik sınıflandırma

Mikroskopik ve makroskopik morfoloji

Actinobacteria cinslerinin sınıflandırılması öncelikle morfolojik özelliklere dayanmaktaydı (Barka vd, 2016). Ancak farklı taksonların tanımlanmasında morfolojik özellikler hala temel kriterler olmakla birlikte, farklılıkları tanımlamak için yeterli belirleyici unsurlar olarak kabul edilmemektedirler. Uluslararası *Streptomyces* Projesi'nde kullanılan standart besiyerleri *Streptomyces* türlerinin kültüre edilmesini ve karakterizasyonu temin etmek için uygulanmıştır (Shirling ve Gottlieb, 1966). Bu besi ortamları kolonilerin rengi, spor, hava ve substrat miselyumu ve yayılabilir pigment karakteristikleri gibi suşun özelliklerini tanımlamak amacıyla kullanılmıştır (Wink vd, 2017).

Gelişim, substrat rengi, hava miselyumu, spor üretimi ve çözünebilir pigment RAL (Reichsausschuß für Lieferbedingungen – Deutsches Institut für Gütesicherung und Kennzeichnung e.V. – Alman Kalite Güvence ve Sertifikasyon Enstitüsü) renk kodu kullanılarak açıklanmaktadır. Tirozinaz enzimi melanin biyosentezindeki ilk adımdan sorumludur ve sadece ISP 6 ve ISP 7 ortamı üzerinde üremenin değerlendirmesi neticesinde melanin pozitif suşlar tespit edilmektedir. *Actinobacteria* suşlarının bazı örneklerinde, *Micrococcus* ve *Arthrobacter*'de kokoid veya rod-kokoid, *Nocardia* spp.'de parçalanmış hifler ve *Streptomyces* spp. oldukça farklılaşmış dallı miselyum içeren çeşitli morfolojiler göstermektedir. Şekil 1.2, spor üreten *Actinobacteria*'nın yaşam döngüsünü temsil etmektedir.

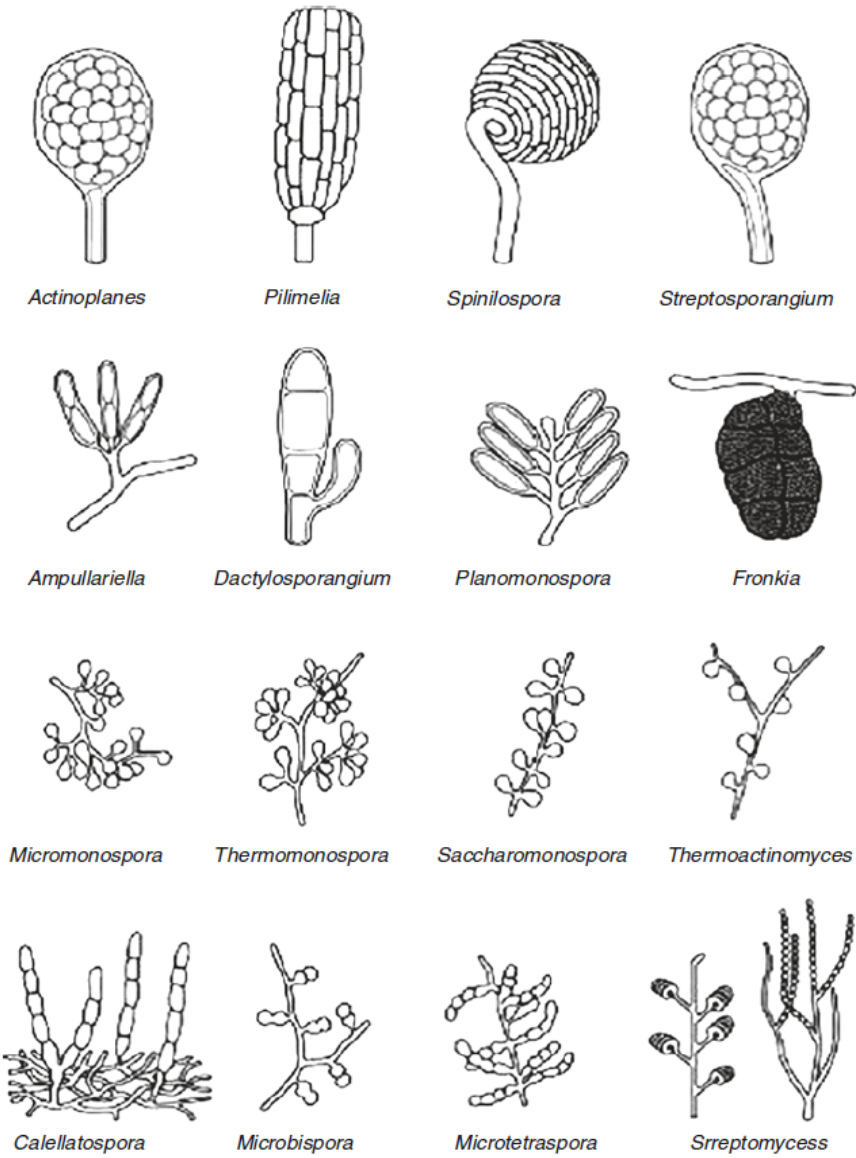


Şekil 2.6. Sporlanan *Actinobacteria*'nin yaşam döngüsü (Wink vd, 2017)

Misellerin şekli ve yapısı, cinslere göre çeşitlilik arz etmektedir. Örneğin, *Corynebacteria* miselyum oluşturmazken, *Rhodococcus* gerçek miselyum olmaksızın sadece uzatılmış filamentler üretilmektedir (Locci ve Schaal, 1980; Flårdh, 2003). Bazı *Actinomyces* türlerinde, farklı derecelerde dallanma ile tamamen düz veya dalgalı olabilen çeşitli filament morfolojileri gözlemlenebilmektedir. *Actinopolyspora*'da çok dallı bir substrat miselyumu, çoğunlukla bölünmemiş substrat hifleri ile birlikte bulunmaktadır. *Nocardia* üyelerinde, genellikle çubuk şekilli ve hareketsiz yapılara bölünmüş karmaşık dallanmış substrat hifleri meydana gelmektedir. Spor zincirinin mevcudiyeti, spor keseleri ya da tek sporlar, hava veya substrat miselyumun fragmentasyonu ya da sporların morfolojisi (*recti-flexibilis*, *retinaculum-apertum spira*, *verticillus*) ışık mikroskopisi karakterizasyonu ile araştırılmıştır (Goodfellow, 2012).

Actinobacteria üyeleri, *Actinobacteria*'nın taksonomisinde önemli bir karakter olan spor keselerinde (Şekil 1.3) kapsüllenmiş ya da kapsüllenmemiş çeşitli spor türleri üretmektedir (Goodfellow vd, 1984). Çoğunlukla, farklı uzunluklardaki zincirlerde bulunabilecek hifsel kökenli sporlar oluşturmaktadırlar (Cross, 1968).

Farklı türleri birbirinden ayırmada sporların yüzeyindeki farklılıkları ayırt etmek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılabilir. Sporlar pürüzsüz, siğil, dikenli veya tüylü olabilirler (Pridham vd, 1958). *Streptomyces* cinsinin bazı türlerinde hava miselyumlarının üzerinde kısa zincirli sporlar mevcut olmasına rağmen; bu cinsin üyeleri ile *Nocardiopsis* ve *Kitasatospora* cinslerinin hava miselyumları üzerinde uzun spor zincirlerinin olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Bazı *Actinobacteria* cinsleri; hareketli spor keselerine (*Oerskovia*, *Promicromonospora*, *Actinoplanes*), flagellalı sporlara (*Ampullariella*) ve koloni yüzeyinde küresel sporlara (*Actinoplanes*) sahipken, *Cattellatospora* ve *Glycomyces* spor kesesi olmaksızın kısa konidyum zincirleri oluşturmaktadır (Goodfellow, 2012). Spor zincirinde oluşmuş sporların sayısı cinsleri ayırt etmek için kritik bir faktör olarak kabul edilmektedir. *Microtetraspora* cinsi 2-6 sporlu konidyum zincirleri üretirken, *Microbispora* uzunlamasına çiftleri olan spor zincirleri oluşturmaktadır. *Streptomyces* türleri uzun spor zincirlerine sahipken, *Saccharopolyspora*, *Sporichthya* ve *Actinomadura* cinsleri kısa spor zincirlerine sahiptir (Pridham vd, 1958).



Şekil 2.7. Actinobacteria'nın farklı cinslerinde sporların morfolojik özellikleri (Barka vd, 2016)

Actinobacteria üyeleri, üredikleri sıvı ortamlarda hava miselyumları üzerinde, kolonilerde ve katı besiyeri ortamlarının renginde farklılıklar oluşturan çeşitli pigmentler üretmektedir. Bu pigmentler kırmızı, mor, yeşil, sarı, gri, kahverengi ve siyah dahil olmak üzere çeşitli renklerde olabilmektedir. Pigmentlerin üretimi üreme ortamında bulunan maddeler, kültür durumu ve suşun yaşına bağlıdır. *Actinobacteria* üyeleri, taksonomik ilişki açısından değerli kabul edilen koyu renkli bir pigment olan melanin üretirler (Arai ve Mikami, 1972). Melaninler, çeşitli yapılaraya sahip polimerlerdir ve çok çeşitli organizmalar tarafından üretilmektedirler. Bu pigmentlerin renkleri genellikle kahverengiden siyaha kadar değişmekte, kozmetik ve farmasötik ürünlerde de kullanılmaktadırlar (Dastager vd, 2006).

2.4.14. Fizyolojik / metabolik özellikler

Fizyolojik karakteristikler, *Actinobacteria* türlerinin fizyolojik özelliklerindeki farklılıklarına göre tanımlanması için kullanılır. *Actinobacteria*'nın fizyolojik ve metabolik özellikleri bir türden diğerine farklılık göstermektedir. *Actinobacteria* üyeleri, geniş bir ekosistem yelpazesinde bulunan mikroorganizmalar olup, bu organizmalar proteinler, lignin, hemiselüloz, kitin ve selüloz gibi makromolekülleri kullanabilmektedirler. Ayrıca *Actinobacteria* üyeleri, çeşitli organik bileşikleri tüketme ve çeşitli substratlar üzerinde üreyebilme özelliğine sahiptirler. Jenerasyonların çoğu mezofildir, fakat yüksek ve düşük sıcaklıklarda gelişen türleri de vardır. Bazıları asidik veya alkali koşullar altında üreyebilirken, genellikle nötr pH'ı (7.0-7.5) tercih ederler. Fizyolojik özellikleri; mikropilaka formatında ve API® firması tarafından üretilen API Coryne, API ZYM veya API 20E gibi hazır kitlerin biyolojik sistemlerde otomatik olarak izlenmesi ile tespit edilebilmektedir (Vaas vd, 2013).

Beslenme gereksinimleri

Çoğu *Actinobacteria* üyeleri kemoorganotrofik olup üreme bakımından çok fazla seçici olmayan mikroorganizmalardır. Tüm *Actinobacteria* üyeleri glikoliz yoluna (Embden-Meyerhof-Parnas) sahiptir (Cochrane, 1961). Öte yandan, Entino-Doudoroff yolu *Actinobacteria* üyeleri tarafından kullanılmamaktadır (Kieser vd, 2000). Tek karbon kaynağı olarak fruktoz, galaktoz, glikoz, gliserol, maltoz, mannitol, rafinoz, ramnoz, sükroz ve ksiloz gibi disakkaritleri ve nişasta ve selüloz gibi polisakaritleri kullanabilmektedirler. Gelişim için inorganik (NH_4^+ veya NO_3^-) ve organik azot (üre) kaynaklarını kullanabilirler. Birkaç cinsten esculin, Tween 80, ksantin, jelatin ve kazein gibi bileşiklerin degradasyonu gözlemlenmiştir (Goodfellow 2012). Bunların yanı sıra *Actinobacteria* türleri, organik bileşikleri ve makromolekülleri hidrolize etmek için çeşitli enzimleri sentezler. Bu nedenle malt ekstresi, yulaf ezmesi ve maya özütü gibi kompleks bileşikler bu türlerin büyüme oranlarını arttırmaktadır (Dworkin vd, 2005).

Gelişim şartları

Sıcaklık

Termofilik bakteriler, üreme sıcaklığına göre kategorize edilir. Fakültatif termofiller 50°C ila 65°C arasında, termofiller ise 65°C ila 70°C arasındaki sıcaklıklarda üreyebilirler. Ancak 40°C'nin altında üreyemezler. Sıcaklık varyasyonu, termofilik *Actinobacteria*'nın sporlarının çimlenmesi üzerinde etkilidir. Sporların çimlenmesi,

yüksek sıcaklıkların çimlenme süreçlerinde azalmaya yol açtığından, 55°C'nin üzerindeki ve altındaki sıcaklıklarda değişiklik göstermektedir (Foerster, 1978).

pH

Çoğu *Actinobacteria* suşu nötrofilik koşullarda ve pH'ın 5.0 ila 9.0 arasında olduğu, en ideal aralık olarak da pH'ın 6.5–8.0 olduğu aralıkta gelişebilmektedir. Bununla birlikte, asidofilik ve alkalifilik cinsler de tanımlanmıştır. pH değerleri 1.8-4 arasında optimal olarak üreyen asidofilik *Actinobacteria* üyeleri, *Acidimicrobium*, *Aciditerrimonas*, *Acidothrmus*, *Catenulispora*, *Ferrimicrobium*, *Ferrithrix*, *Streptacidiphilus* ve *Streptomyces* cinslerine mensuptur (Rosenberg vd, 2014). Çalışmalar asidik topraklarda bulunan asidotolerant aktinomisetlerde çoğunlukla *Micromonospora* ve *Streptomyces* üyelerinin baskın olduğunu göstermiştir (Zakalyukina vd, 2002).

Alkalifilik *Actinobacteria* üyeleri üç kategoride sınıflandırılır: alkalifilik (pH 10–11'de en iyi şekilde), orta derecede alkalifilik (7–10 pH aralığında) ve alkalitolerant *Actinobacteria* (6 ila 11 arasında pH aralığında). Alkalifilik *Actinobacteria* üyeleri haloalkalifilik ve haloalkalotolerant organizmalar olarak termobiyotik ortamlarda da bulunabilmektedirler (Shivlata ve Satyanarayana 2015). Alkalifilik cinsler *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Gordonida*, *Janibacter*, *Jiangella*, *Kocuria*, *Marmoricola*, *Nesterenkonia*, *Nocardiopsis*, *Nitriliruptor*, *Streptomyces* ve *Zihengliuella* üyelerini içerir (Rosenberg vd, 2014). Son yıllarda alkali ortamlardan izole edilen *Actinomadura alkaliterrae* D310AT^T gibi *Actinobacteria* üyesi türler literatüre kazandırılmıştır (Ay vd, 2017).

Tuz toleransı

Halofilik ve halotolerant *Actinobacteria* araştırmaları, farklı cinsler arasındaki nispeten heterojen fizyolojik özellikleri açıkça göstermektedir. Halotolerant veya halofilik karakteristiklere ve çeşitli miktarda tuz gereksinimine sahip aktinobakterilerin 28 familyada 66'dan fazla cinsten bulunabileceği rapor edilmiştir. Halotolerant türlerin en yüksek yüzdesi, 16 halofilik tür ile *Nocardiopsis* cinsine aittir. En yüksek tuz toleransı %32'ye kadar NaCl (w / v) varlığında üreme kabiliyeti ile *Actinopolyspora algeriensis* ve *A. mzabensis* türlerinde gözlemlenmiştir. *A. saharensis*, *A. halophila*, *A. egyptensis* ve *A. righensis* dahil olmak üzere bu cinsin diğer türleri %15-20 NaCl (w / v) içinde optimum üremeye sahiptir. NaCl toleransı için en geniş aralık %3-30 (w / v) tuz konsantrasyonunu tolere eden *Rubrobacter bracaraensis*'te bildirilmiştir (Hamedi vd, 2015).

Antibiyotik hassasiyeti

Farklı antibiyotiklere karşı duyarlılık, *Actinobacteria* türleri arasında ayırım yapmak için faydalı bir araçtır. Suşların antibiyotik duyarlılık modeli, *Actinobacteria*'nın sınıflandırılması için kullanılabilecek fizyolojik parametrelerden biridir (Wink vd, 2017).

Enzimatik aktivite ve bozunma etkinliği

Actinobacteria üyeleri, türler arasındaki farklılaşma açısından önemli olan çok çeşitli ekstraselüler enzimler üretirler. Lipaz, β -glukozidaz, β -galaktosidaz, α -maltosidaz, N-asetil- β -glukozaminidaz, üreaz, tripsin, alkalın fosfataz, esteraz, lösin arilamidaz, sistin arilamidaz, asit fosfataz ve α -fukosidaz gibi enzimlerin üretimi *Actinobacteria* suşlarının tanımlanması için kullanılmıştır. Lignosellüolitik enzimler, yeryüzündeki en bol biyokütle olan lignoselülozu hidrolize etmek için *Actinobacteria* suşları tarafından salgılanmaktadır. Lignosellulaz üreten *Actinobacteria* üyeleri arasında *Cellulomonas fimi*, *Microbispora bispora* ve *Thermobifida fusca* yaygın olarak bilinenlerdendir (Saini vd, 2015). Alkalın proteazları ise *Streptomyces clavuligerus* (Thumar ve Singh, 2009), *Nocardiosis sp.* (Moreira vd, 2003), *Cellulosimicrobium cellulans* (Ferracini-Santos ve Sato, 2009) ve *Saccharomonospora viridis* (Jani vd, 2012) gibi bazı *Actinobacteria* üyeleri tarafından üretilmektedir. Çoğu *Streptomyces* türünün kitinaz genlerine sahip olması, kitinin doğada hidrolize olmasında bu grup bakterilerin etkinliğini göstermektedir (Chater vd, 2010). *Actinoplanes philippinensis*, *A. missouriensis* ve *Streptomyces clavuligerus*'un kitinolitik aktivitesi de biyo-kontrol ajanı olarak kullanılmıştır (Gadelhak vd, 2005).

2.4.15. Moleküler sınıflandırma

16S rRNA gen dizisi

16S rRNA'daki gen benzerliği, evrensel, nispeten stabil ve yüksek ölçüde korunmuş olması nedeniyle prokaryotların taksonomisinde önemli bir moleküler belirteç olarak düşünülmüştür. Bu nedenle, 16S rRNA dizilerinin analizi, bakteriyel izolatların sınıflandırılması için tercih edilen önemli bir yaklaşım olarak tutulmuştur (Ramasamy vd, 2014). Bilinmeyen bir taksonun cinsinin tayin edilmesinde kullanılan en pratik yöntem birçok durumda 16S rRNA gen dizisine dayanan ayrıntılı filogenetik analizlerdir. Bu analizleri, yeni suşun yakın ilişkili olduğu türlerle olan filogenetik akrabalığının seviyesini tanımlamak amacıyla, 16S rRNA gen dizilerinin benzerlik oranlarının hesaplanması ve filogenetik dendogramların oluşturulması takip

etmektedir. Genel olarak 16S rRNA gen dizi benzerliği analizleri neticesinde elde edilen sonuçlardan, izole edilmiş bir suşun yeni bir tür veya yeni bir cins olup olmadığını belirlemek için kullanılmaktadır. Böylelikle, bu analizler, devam eden ayrıntılı taksonomik araştırmaların da yönünü belirlemektedir (Wayne vd, 1987; Stackebrandt vd, 2002).

16S rRNA dizisinin cins düzeyinde ayırım gücüne ciddi bir itibar varken, farklı türleri ayırt etmede kullanılabilecek eşik değeri sınırlı olarak değerlendirilmektedir. Bazı cinsler içerisinde yüksek 16S rRNA gen dizi benzerlikleri görülmektedir (Stackbrandt ve Ebers, 2006; Yarza vd, 2008; Tindall vd, 2010). Ancak, bir türün sınırlandırılması sadece 16S rRNA gen dizi benzerliğine dayandırılmamalı; diğer yöntemlerin kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar kıyaslanmalıdır (Kämpfer ve Glaeser, 2013).

16S rRNA gen dizisine dayanan filogenetik analizlerin prokaryotların tanımlanması ve sınıflandırılması için önemli moleküler bir belirteç olması nedeniyle, imkanlar dahilinde 16S rRNA gen dizi analizi standardize edilmelidir. Dizi kalitesi, dizi hizalama ve ikili dizi benzerlikleri ile filogenetik ağaçların hesaplanması gibi bazı önemli aşamalar 16S rRNA gen dizilerinin analizinde göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan analizlerde sadece genin tamamına yakın uzunluğuna sahip (en az 1450 nükleotid) yüksek kaliteli diziler kullanılmalıdır (Kämpfer ve Glaeser, 2013).

16S rRNA geninin çözünürlük gücü genellikle cins düzeyinde ayırım yapmaya imkân vermektedir. Tür düzeyinde ayırım için DDH ve tek gen veya gen seti olarak diğer moleküler belirteçlerin analizi de uygulanmalıdır (Kämpfer ve Glaeser, 2013). Taksonomik çalışmaların birçoğunda, alt taksonomik düzeylerde daha yüksek çözünürlük elde etmek amacıyla 16S rRNA gen dizisine dayanan filogenetik analizlerin yanı sıra alternatif genetik belirteçler de kullanılmaktadır (Curtis ve Meyers, 2012).

Bununla birlikte 16S rRNA geni, bazı jenerasyonlarda yüksek oranda korunan, çoklu rRNA operonları arasında nükleotid varyasyonları ve bu genlerin taksonları arasında yatay gen transferi (HGT) olasılığını da içeren bir moleküler belirteç olarak sınırlamalar göstermektedir (Ramasamy vd, 2014). Yeni türlerin tanımlanması için 16S rRNA geninin benzerlik değeri %97 olarak önerilmiştir (Stackebrandt ve Goebel, 1994), ancak son zamanlarda farklı veriler için %98.7–99'luk bir eşik değeri önerilmiştir (Stackebrandt ve Ebers, 2006; Chun vd, 2018). Veri setlerinin değerlendirilmesinde EzTaxon sunucusu, filogenetik ağaç yapımında çift yönlü benzerlik, çoklu dizi hizalama ve filogenetik algoritmaların hesaplanmasını da

sağlayan tüm geçerli dizilerin toplanmasını içerecek şekilde geliştirilmiştir (Chun vd, 2007).

Multilokus genler ve sekans dizileme (MLST)

Multilokus sekans dizileme (MLST), housekeeping gen fragmanlarındaki varyasyonları kullanarak bakteriyel türlerin karakterizasyonunda uygulanan moleküler bir tekniktir. MLST, bakterilerin filogeni ve populasyon yapısını araştırmak için fırsat sağlamaktadır (Maiden, 2006). MLST; *Bifidobacterium*, *Microbacterium*, *Microbispora*, *Mycobacterium* ve *Streptomyces* dahil olmak üzere *Actinobacteridae* alt sınıfında bazı cinslerin tanımlanmasına ve sınıflandırılmasına yardımcı olmak için bir yaklaşım sunmuştur. *rpoB*, *recA*, *dnaK*, *grpE*, *gyrB*, *groEL*, *ychF* ve *secY* genleri bifidobakteriler, mikobakteriler ve *Streptomyces* üyeleri gibi *Actinobacteria* grupları arasında filogenetik ilişkiler kurmak için kullanılmıştır (Leblond-Bourget vd, 1996; Shivannavar vd, 1996; Devulder vd, 2005; Guo vd, 2008; Adékambi vd, 2011).

Actinobacteridae alt sınıfının MLST analizinde bir çekirdek gen setinin; bu alt sınıfın tanımlanması ve taksonomik analizi için geçerli bir araç olduğu gösterilen *ychF*, *rpoB* ve *secY* genlerini içerdiği önerilmiştir (Adékambi vd, 2011). *Streptomyces*, *Actinobacteria* filumunda bulunan karmaşık bir cinstir ve bu grubun sistematiği, endüstriyel önemi nedeniyle son derece önemlidir. *Streptomyces griseus* için, 53 geçerli suştan *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, *trpB* ve 16S rRNA'yı içeren altı ev sahibi (housekeeping) genini kullanan bir multilokus sekans analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar, multilokus sekans analizinin doğru olduğunu ve diğer *Streptomyces* türlerinin tanımlanması için kullanılabileceğini göstermiştir (Guo vd, 2008).

Devulder vd, (2005) tarafından mikobakteri türlerinin filogenetik analizinde multigen yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada, bakteriler arasında evrensel ve konservatif gen olarak 16S rRNA geni, tüm mikobakterilerde mevcut olan bir ısı şoku proteini (Hsp) genine ait *hsp65* geni, *rpoB* geni (RNA polimerazın β -alt birimi) ve *sod* geni (metalloenzim) filogenetik analize tabi tutulmuştur. Sonuçlar, farklı genlerin kombinasyonunun, *Mycobacterium* cinsinden filogenetik ağacın güvenilirliğinde kayda değer artışlara neden olduğunu göstermiştir (Devulder vd, 2005). *rpoB* geni tabanlı sınıflandırma yaklaşımı da *Frankia* suşlarının filogenetik ilişkileri için kullanılmıştır (Bernèche-D'Amours vd, 2011). *gyrB* geni (DNA girazın β -alt birimi), 16S rRNA genine kıyasla daha yüksek bir çözünürlük sağlayan *Kribbella* üyelerinin arasındaki ayırım için kullanılmıştır (Kirby vd, 2010).

Streptomyces albus subsp. *albus* NRRL B-1811^T; *S. almquistii*, *S. flocculus*, *S. gibsonii* ve *S. rangoonensis* dahil olmak üzere dört farklı tür ile birlikte bir küme oluşturur. *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB*'nin housekeeping genleri kullanılarak yapılan multilokus sekans analizi, tıpkı 16S rRNA gen türlerini ayırt etmek için kullanılmış ve *Streptomyces* türlerinin yeniden sınıflandırılmasında önerilmiştir (Labeda vd, 2014).

Ayrıca fitopatojenik *Streptomyces* üyeleri; *atpD*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* genlerini içeren dört housekeeping gen ile MLST yöntemi kullanılarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca bu yöntem, DNA-DNA hibridizasyonuna gerek kalmadan bitkilerden izole edilen türlerin tanımlanmasında uygulanmıştır (Labeda, 2011).

Kribbella cinsinin üyesi olan *K. sindirgiensis* FSN23^T (Özdemir-Koçak vd, 2017a) ve *K. soli* FMN22^T (Özdemir-Koçak vd, 2017b) türlerin tanımlanmasında da *gyrB*, *rpoB*, *relA*, *recA* ve *atpD* genlerini içeren gen bölgeleri MLST yöntemi kullanılarak tanımlanmıştır.

Micromonospora phytophila SG15^T ve *M. luteiviridis* SGB14^T türlerinin sınıflandırılmasında 16S rRNA gen bölgesi dizi analizlerinin yanında *atpD*, *gyrB*, *recA* ve *rpoB* gen bölgelerinin MLST yöntemi ile yapılan analizleri birlikte kullanılmıştır (Carro vd, 2017).

Microbispora cinsinin sınıflandırılması 16S rRNA genlerine dayanmasına rağmen, bu cinsin taksonomik analizinde filogenetik ağaçlar oluşturulurken zorluklar yaşanmakta ve güvenilir sonuçlar alınamamaktadır. *Microbispora* türlerinin sınıflandırılmasında 16S rRNA-*gyrB*-*rpoB* genlerinin birleştirilmiş dizileri de kullanılmıştır (Savi vd, 2016).

DNA-DNA hibridizasyonu ve ANI değeri

Genomik yaklaşımlar, bakterilerin tanımlanmasında doğru bir yöntem sağlamaktadır. Bakterilerin taksonomik ilişkisini değerlendirmek için 1960'lardan beri DNA-DNA hibridizasyonu (DDH) yöntemleri kullanılmıştır. Wayne vd, (1987) türlerin belirlenmesi için bir eşik değeri olarak %70'lik bir hibridizasyon değeri sundular. DDH ana gereklilikleri şunlardır: (1) test bakterisinin genomik DNA'sı (gDNA) ile tip suş bakterilerinin gDNA'sı arasındaki karşılaştırma, (2) DNA çift ipliklerinin ve DNA fragmanlarının her ikisinin ayrılması ve (3) sıcaklık azalmasıyla fragmanların yeniden birleşmesi (Auch vd, 2010). Genom BLAST mesafe filogenisi (GBDP) (Henz vd, 2005), ortalama nükleotid kimliği (ANI) ve maksimum eşleşme indeksini (MUMi) (Deloger vd, 2009) içeren DDH değeri ile ilişkili benzerlik endeksleri iki genom

dizisini kıyaslamada daha fazla etkinlik göstermiştir. Bunlar arasında Konstantinidis ve Tiedje (2007), ANI ve DDH değerleri arasındaki korelasyona dayanan genom dizilerinin, ortalama nükleotid kimliğine (ANI) göre daha yüksek eşik değeri aralığına sahip olduğunu (Goris vd, 2007; Chan vd, 2012) ve buna göre % 95-96 arasındaki ANI değerlerinin, % 70'lik DDH değerine eşit olduğunu ve bunu da tür ayırımında kabul edilebilir bir değer olduğunu önermişlerdir (Goris vd, 2007; Richter ve Rosselló-Móra 2009; Chun vd, 2018).

Tüm genom dizileme

Prokaryot filogenisinin anlaşılması temelde, oldukça korunmuş küçük alt birim olan rRNA'nın gen bölgesi dizi analizlerine dayanmaktadır (Woese, 1987). Ancak günümüzde, tüm genom dizilimi prokaryot sistematğinde güçlü bir araç olarak kabul edilmektedir. Aktinobakteriyal türler arasında *M. tuberculosis*'in tüm genomu ilk kez 1998 yılında sekanslanmıştır (Cole vd, 1998). *Actinobacteria* hem dairesel hem de lineer genoma sahiptir. Aktinobakterial genomların çoğu, dairesel genetik form gösterirken; *Actinomyces*, *Amycolatopsis*, *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Streptomyces* ve *Streptoverticillium* gibi bazı cinslerde genomlar lineer olabilmektedir (Redenbach vd, 2000).

Uzun zamandır, prokaryotik filogenetik ağacın yapılandırılması için bir moleküler belirteç olarak kullanılan 16S rRNA geni son yıllarda tek gene bağlı filogeninin kararsız bir görüntü vermesi ve karmaşık grupların gerçek filogenetik tarihini yansıtmaması açısından tartışılmaktadır (Woese ve Fox, 1977; Alam vd, 2010). Gelişen sekanslama teknolojileri ile genom temelli filogenetik analizler, iç dalların tür düzeyinde daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğunu ve ek olarak tek genli taksonomik analizlerde ortaya çıkan kısıtlamaların ortadan kalktığını göstermektedir. Verma vd (2013), tek genlere (16S rRNA genleri, 23S rRNA genleri ve tek-bazlı gen filogenisi için 94 korunmuş genin protein dizileri) ve tüm genom dizilerine dayanan 90 aktinobakteriyal genomun filogenetik ağacını yeniden yapılandırmıştır. Bu yaklaşımın sonuçları, birbiriyle uyum içinde olmadıkları için, *Frankiales* ve *Propionibacteriales* üyelerinin hem maximum-likelihood ağaçlarında hem de neighbor-joining ağaçlarında tutarsızlıklar göstermiştir (Verma vd, 2013).

Özellikle moleküler sistemikte meydana gelen yeni gelişmeler, taksonomik hiyerarşideki tüm seviyelerde gerçekleştirilen sınıflandırmaların, genotipik ve fenotipik verilerin entegre kullanımına dayandırılması gerekliliğini ortaya çıkartmıştır (Wayne vd, 1987; Stackebrandt, 1992). Polifazik taksonomi olarak bilinen bu yaklaşım (Colwell, 1970), prokaryotik sistematğin mihenk taşı olmuştur (Kämpfer ve

Glaeser, 2012). Polifazik alışmalar için seçilen uygulama ve yöntemler mevcut taksonların biyolojisini yansıttıkları için öznel olma eğilimindedir. Bununla birlikte, bu tür çalışmalarda hakim olan yöntem, cinse ait ve cins üstü suşlar arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak için 16S rRNA gen dizilerinin karşılaştırmalı analizlerinin gerçekleştirilmesidir (Kim and Chun, 2014; Yarza ve Munoz, 2014).

Prokaryotların sınıflandırılması için filogenetik bir omurga sağlamadaki 16S rRNA gen dizilişinin başarisına rağmen (Ludwig ve Klenk, 2005), aktinobakteriyel taksonlarda filum ve cinse ait seviyelerde dahi sorunlar devam etmektedir. Halihazırda yürütülen polifazik çalışmalar büyük ölçüde 16S rRNA genine bağlı olarak devam etmektedir (Montero-Calasanz vd, 2017). Fakat tek gen geçmişte taksonomik sorunların üzümünde yararlı olmasına rağmen; sadece sınırlı sayıda karakter içermesi nedeniyle bir filogenetik ağaçta istatistiki değeri düşük birçok dal oluşturabilmektedir (Breider vd, 2014).

Ayrıca biyoteknolojik, ekolojik ve temel araştırmalarla ilgi alanlara yönlendirilmiş ve aktinobakterilerin doğru şekilde sınıflandırılması için tasarlanmış bir çerçevenin geliştirilmesi zorunludur (Bull vd, 2016; Katz ve Baltz, 2016; Benito vd, 2017; Wink vd, 2017). Dizileme teknolojilerindeki hızlı ve süreğen ilerleme göz önüne alındığında, bütün genom dizilerine ve ilgili biyoinformatik araçlara dayanan sınıflandırmalar milyonlarca karaktere dayanarak bu ihtiyaçları ele almaktadır. Bundan dolayı filogenomik ağaçlarda önemli ölçüde yüksek ortalamaya sahip bootstrap değerleri elde edildiği için güvenilirlikte de bir adım daha ileri gidebilmektedir (Breider vd, 2014; Meier-Kolthoff vd, 2014). Buna karşılık, birçok bin nükleotide dayanan filogenetik ağaçlarda (Tang vd, 2016) düşük bootstrap değerlerinde dalların oluşma eğilimini artırmaktadır (Glaeser ve Kmpfer, 2015).

Dijital DNA:DNA hibridizasyonu (dDDH) değerleri yakın akraba türler arasındaki ilişkinin ortaya konulmasında; deneysel yöntemlerden türetilen ilgili verilere kıyasla daha doğru bir yol sunmaktadır (Meier-Kolthoff vd, 2013). Yeni teknolojilerin sistematığe dahil edilmesi neticesinde elde edilen sonuçlar, çoğu zaman eski sonuçların sorgulanmasına sebep olur. Eğer eski ve yeni sonuçlar arasında bir uyumsuzluk varsa, bu durumun fenotip karakterler mi, tek genlere dayalı sınıflandırmalardan mı veya farklı taksonomik veri tarzları arasındaki çelişkili yorumlamalardan mı kaynaklanıp kaynaklanmadığını sorgular (Klenk ve Göker, 2010).

Nouioui vd tarafından 2018 yılında tüm genom analizine dayalı olarak yapılan çalışma; filogenetik sistematığın prensiplerine dayanan aktinobakteriyel

sınıflandırmaya özel geliştirilmiş bir çerçeve sağlamak üzere tasarlanmıştır (Hahnke vd, 2016). Bu amaçla, genom-ölçekli filogenetik ağaçların yapılandırılması aktinobakteriyel tip suşlarının kamuya açık bütün genom dizilerinin kapsamlı bir örnekleme kullanılmıştır ve bu çalışma ile taksonların çoğunluğunun monofiletik dayandığı anlaşılmış, ancak birçok ordo, filum ve cinslerin yanı sıra birçok türün ve birkaç alttürün revizyon ihtiyacı olduğu gösterilmiştir (Nouioui vd, 2018).

Bu çalışmanın sonuçları mevcut sınıflandırma ile kıyaslandığında uyumsuzlukların çoğunun tespit edildiği ve tüm genom filogenisi aracılığıyla 16S rRNA gen ağaçlardan daha iyi çözüm sunulduğu kabul edilmiştir (Nouioui vd, 2018).

2.4.16. Kemotaksonomik sınıflandırma

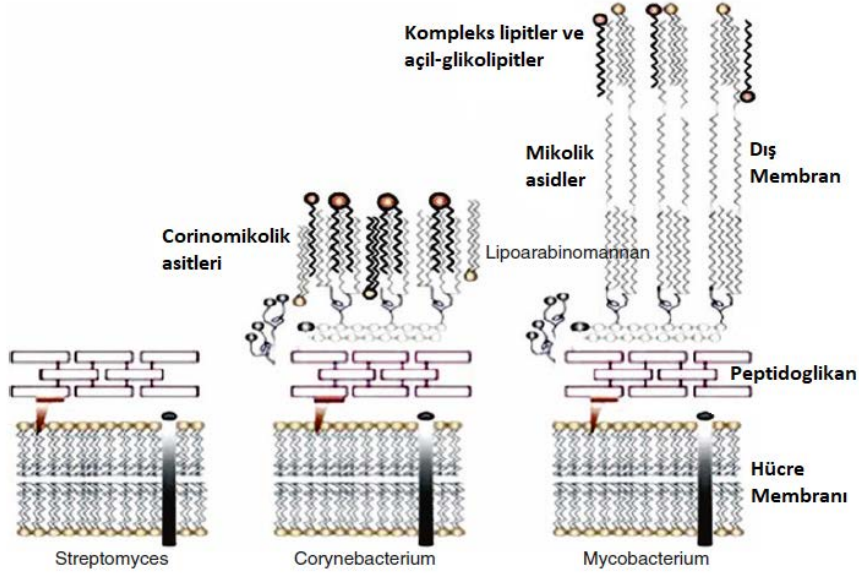
Kemotaksonomi, mikroorganizmaların sınıflandırılmasında kullanılan hücrelerin kimyasal bileşenlerinin incelenmesi anlamına gelmektedir (Goodfellow ve Minnikin, 1985). Aktinobakteriyel hücrelerin kimyasal bileşenleri, Gram-pozitif bakterilerin sınıflandırılmasında önemli bir rol oynamıştır (Lechevalier vd, 1971). Kemotaksonomi çalışmalarındaki en önemli bakteriyel hücre bileşenleri, hücre duvarı yağ asitleri, amino asitler, menakinonlar, şekerler ve DNA bazlarının oranıdır (Goodfellow ve O'Donnell, 1989; Williams, 1989).

Hücre duvarı kimyasal kompozisyonu

Actinobacteria, hücre duvarı bileşimlerine dayalı olarak farklı gruplara ayrılabilirler. Bu sınıflandırma için, hücre duvarı amino asitleri ve tüm hücre şekerleri taksonomik markörler olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Prauser, 1976).

Aktinobakteriyel türlerin hücre duvarları, diğer Gram-pozitif bakterilerin olağan yapısını ve kimyasal bileşenlerini göstermektedir (Schleifer ve Kandler, 1972). Elektron mikroskobu altında 16-35 nm kalınlığında homojen bir tabaka görülür. Hücre kuru ağırlığının %20'sine oluşturan peptidoglikan, β 1-4 bağlı N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit içerir (Schleifer ve Kandler, 1972). *Actinobacteria*'nın peptit yan zincirinde lizin, meso-DAP veya LL-DAP üç pozisyonda yerleşir (Takahashi vd, 1984).

Diğer Gram-pozitif bakterilerde olduğu gibi *Actinobacteria* hücre duvarı bir peptidoglikandan oluşur, ancak *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* ve *Rhodococcus* gibi bazı cinslerde, arabinogalaktanla bağlantılı kalın bir tabaka mezo-diaminopimelik asit içeren bu peptidoglikandan tabaka, mikoik asitler olarak bilinen uzun zincirli yağ asitleri ile esterleştirilir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. *Streptomyces*, *Corynebacterium* ve *Mycobacterium*'dan hücre duvarı yapılarının karşılaştırılması. *Streptomyces*'te, diğer Gram-pozitif bakterilerde olduğu gibi, hücre duvarı sitoplazmik membranı (PM) kaplayan bir peptidoglikan tabakasından (PG) oluşur (Wink vd, 2017).

Hücre duvarı polisakaritlerinin bir parçası olan şekerler *Actinobacteria*'da bilinen dört şeker modeline dayalı olarak tüm hücre hidrolizatlarında tespit edilebilirler. Bazı durumlarda ksiloz, galaktoz ve arabinoz tanımlayıcı şekerler olarak rapor edilmiştir. *Streptomyces* üyelerinde tipik olarak mannoz, riboz ve glikoz düşük miktarlarda kaydedilmiştir (Dworkin vd, 2005). Genel olarak *Actinobacteria* üyelerini ayırt etme de sekiz hücre duvarı kemotipi, amino asitler ve hücre duvar şekerlerinin kombinasyonuna göre tanımlar yapılmıştır (Çizelge 2.1) (Lechevalier vd, 1971).

Çizelge 2.1. *Actinobacteria*'da farklı hücre duvarı bileşenleri (Barka vd, 2016, Wink vd, 2017)

Hücre duvar tipi	Ana bileşenleri	Cins
I	LL-DAP, glisin, şeker yok	<i>Arachnia</i> , <i>Nocardioides</i> , <i>Pimelobacter</i> , <i>Streptomyces</i>
II	meso-DAP, glisin, arabinoz, ksiloz	<i>Actinomyces</i> , <i>Actinoplanes</i> , <i>Ampulariella</i> , <i>Catellatosporia</i> , <i>Dactylosporangium</i> , <i>Glycomyces</i> , <i>Micromonospora</i> , <i>Pilimelia</i>
III	meso-DAP, maduroz (3-O-metil-d-galactoz)	<i>Actinocorallia</i> , <i>Actinomadura</i> , Bazı <i>Frankia spp.</i> , <i>Dermatophylus</i> , <i>Frankia</i> , <i>Geodermatophilus</i> , <i>Kitasatospora</i> , <i>Maduromyces</i> , <i>Microbispora</i> , <i>Microtetraspora</i> , <i>Nonomuraea</i> , <i>Planobispora</i> , <i>Planomonospora</i> , <i>Planotetraspora</i> , <i>Spirillosporina</i> , <i>Streptosporangium</i> , <i>Thermoactinomyces</i> , <i>Thermomonospora</i>
VI	meso-DAP, arabinoz, galaktoz	<i>Micropolyspora</i> , <i>Nocardioforms</i>
V	DAP yok; lizin ve ornitin	<i>Actinomyces</i>
VI	DAP yok; değişken aspartik asid, galactoz	<i>Arcanobacterium</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Oerskovia</i> , <i>Promicromonospora</i>
VII	DAP yok; diaminobutirik asid, glisin, lizin değişken	<i>Agromyces</i> , <i>Clavibacter</i>
VII	DAP yok; ornitin	<i>Aureobacterium</i> , <i>Curtobacterium</i> , <i>Cellulomonas</i>

Hücre membranı izoprenoid kinonları

Menakinonlar birçok bakterinin sitoplazmik zarlarında bulunan ve elektron taşıma zincirinde önemli bir rol oynayan solunum bileşenleri olarak sınıflandırılır ve *Actinobacteria*'da bulunan tek tip izoprenoid kinonlar olarak tanımlanırlar. Bununla birlikte, bu bileşiklerin yapısal tipi aktinobakteriyal taksonomiye uygulanabilir (Collins ve Jones, 1981). Taksonomik açıdan önemli olan parametreler; metilasyon ve dimetilasyon, C-3 yan zincirinin doyma derecesi ve uzunluğu ile menakinonların yan zincir siklizasyonunu kapsamaktadır (Collins vd, 1988). Çoğu *Actinobacteria*'da naftokinon halkasının 3. pozisyonunda doymuş izoprenoid yan zincirine sahip kinonlar görünür. *Streptomyces* üyeleri, yüksek derecede hidrojene edilmiş izoprenoid zincirlerine sahiptir ve genellikle üç ila dört izopren birimi doymuştur (Dworkin vd, 2005). Çizelge 2.2, farklı *Actinobacteria* ailelerinin majör menakinonlarını göstermektedir.

Çizelge 2.2. *Actinobacteria* familyalarının majör menakinonları (Goodfellow, 2012)

Familya	Majör menakinon
<i>Actinomycetaceae</i>	MK-9, MK-10(H ₄), MK-9(H ₄), MK-8
<i>Actinopolysporaceae</i>	MK-9(H ₄)
<i>Corynebacteriaceae</i>	MK-8(H ₂), MK-9(H ₂)
<i>Dermatophilaceae</i>	MK-8(H ₄)
<i>Dietziaceae</i>	MK-8(H ₂)
<i>Geodermatophilaceae</i>	MK-9(H ₄)
<i>Micrococcaceae</i>	MK-7, MK-8, MK-9, MK-10
<i>Micromonosporaceae</i>	MK-9, MK-10
<i>Mycobacteriaceae</i>	MK-9(H ₂)
<i>Nocardiaceae</i>	MK-8(H ₄) cyclo, MK-9(H ₂), MK-8(H ₂)
<i>Nocardioideae</i>	MK-8(H ₄), MK9(H ₆), MK-10(H ₆)
<i>Promicromonosporaceae</i>	MK-9(H ₄)
<i>Pseudonocardiaceae</i>	MK-9(H ₄)
<i>Streptomycetaceae</i>	MK-9(H ₆), MK-9(H ₈)
<i>Streptosporangiaceae</i>	MK-9(H ₂), MK-9(H ₄), MK-9(H ₆)
<i>Tsukamurellaceae</i>	MK-9

Hücre membran fosfolipidleri

Fosfolidipolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilgliserol, difosfatidilgliserol, fosfatidilserin, fosfatidilinositol ve diğer fosfatidilkolipidler de dahil olmak üzere fosfolipidler, bakteriyel hücre zarlarında en önemli polar lipidlerdir (Wang ve Jiang, 2016). *Actinobacteria*'nın taksonomik sınıflandırması için hücre zarının fosfolipit bileşimi incelenmiş ve beş ana fosfolipit tipi grup tanımlanmıştır (Çizelge 2.3). Fosfatidilkolin *Actinobacteria* üyelerinde nadiren bulunurken difosfatidilgliserolün, *Actinobacteria* üyelerinin çoğunda bulunduğu tespit edilmiştir. Fosfatidilgliserol daha az miktarda bulunurken, fosfatidiletanolamin, fosfatidilinositol ve fosfatidilinositol mannosidleri *Actinobacteria* türlerinin çoğunda bulunur. *Actinoplanes*, *Microellbosporia*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Nocardia* ve *Streptomyces* cinslerinin üyeleri, majör fosfolipid olarak fosfatidiletanolamin içerir. Fosfatidilkolin ise *Actinomadura*, *Micropolyspora*, *Nocardia* ve *Pseudonocardia* cinslerinde bulunur ve fosfatidil metiletanolamin de bu grupta bulunur. Glukozamin içeren fosfolipitler ise *Microbispora*, *Streptosporangium*, *Oerskovia* ve *Promicromonospora* cinslerinde

ortak olarak mevcuttur (Lechevalier vd, 1977). Buna karşılık, heptadekenoik asit, *Actinobacteria*'daki ana fosfolipid formlarında bulunmamıştır, fakat diğer bakterilerde mevcuttur (O'Leary, 1975). *Actinomadura* türlerinin bazıları, *Corynebacterium*, *Microtetraspora* ve *Nocardioides* büyük miktarda azot içeren fosfolipitler içerdiği rapor edilmiştir (Lechevalier vd, 1977).

Çizelge 2.3. *Actinobacteria* hücre membranının fosfolipid tipleri (Lechevalier vd, 1977)

Fosfolipid tipleri	Karakteristik fosfolipit	Cins
P I	Nitrojensis fosfolipitler	<i>Actinomadura</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Microtetraspora</i> , <i>Nocardioides</i>
P II	Sadece bir nitrojen içeren fosfolipit, fosfotidiletanolamin	<i>Actinoplanes</i> , <i>Chania</i> , <i>Dactylosporangium</i> , <i>Microellobosporia</i> , <i>Micromonospora</i> , <i>Micropolyspora</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Streptomyces</i>
P III	Fosfotidilkolin ve karakteristik fosfolipit	<i>Actinomadura</i> , <i>Micropolyspora</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Pseudonocardia</i>
P VI	Glukozamin içeren fosfolipitler	<i>Intrasporangium</i> , <i>Microbispora</i> , <i>Streptosporangium</i> ,
P V	Fosfotidilgliserol ve glukozamin içeren fosfolipitler	<i>Oerskovia</i> , <i>Promicromonospora</i>

Hücre zarı yağ asidi profili

Hücre zarının yağ asidi analizi, *Actinobacteria*'nın karakterizasyonuna ve sınıflandırılmasına katkı sağlamaktadır. Karbon zinciri uzunluğundaki farklılık, doymuş ve doymamış yağ asitlerinin varlığı, metil grupları, siklopropan ve hidroksil yağ asitlerinin varlığındaki farklılıkların tümü taksonomik değerler olarak kabul edilir. Tanımlanan yağ asitleri, suşun yağ asidi içeriğinin %2'sinden fazlasını oluşturmalıdır. Yağ asitlerinin biyosentetik yolları, dallanmış yağ asitleri sentezinin *Actinobacteria* üyelerinde mevcut olduğunu ortaya çıkarmıştır. Eşit ve tek sayıdaki karbon atomu olan izo-dallanmış yağ asitleri sırasıyla izovalerat ve izobütirattan oluşurken; substrat olarak 2-metilbutirat bulunması, anteiso-dallı yağ asitlerinin oluşmasına yol açar (Gago vd, 2011). Çizelge 1.4, *Actinobacteria*'da bulunan farklı yağ asidi modellerini göstermektedir.

Çizelge 2.4. Aktinobakteriyal cinslerinde yağ asidi modelleri (Wink vd,2017).

	Tip	1a	1b	1c	2a	2b	2c	2d	3a	3b	3c	3d	3e	3f	3g
Yağ asidi															
Izo-15:	-	-	-	1	4 ^a	2	3	-	4 ^a	2	1	2	2	2	2
Anteizo-15:0	-	-	-	-	2	3	2	-	1	1	1	-	1	1	1
Izo-16:0	-	-	-	3 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	2 ^a	2 ^a	3 ^a	3 ^a	4 ^a	4 ^a	4 ^a	4 ^a
16:0	3 ^a	3 ^a	3 ^a	2	1	1	2	3	-	1	1	1	1	1	1
10-Metil 16:0	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Izo-17:0	-	-	-	1 ^a	3 ^a	1 ^a	2 ^a	1	2	1	1	1	1	1	1
Anteizo-17:0	-	-	-	1 ^a	1 ^a	2 ^a	2 ^a	-	2	1	3 ^a	1	1	1	2
17:0	-	-	-	1	-	-	1	1	1	2	1	-	2	1	1
17:1	-	-	-	1	-	-	1	1 ^a	2 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a
10- Metil 17:0	-	1	-	-	-	-	-	1 ^a	1 ^a	2 ^a	2 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a
Izo:18:0	-	-	-	1	-	-	1 ^a	1	-	1	1	-	-	-	-
18:0	1 ^a	1 ^a	1 ^a	-	-	-	1 ^a	1	-	1	1	-	-	-	-
18:1	3 ^a	3 ^a	2 ^a	-	-	-	2 ^a	2 ^a	1	-	2 ^a	-	-	-	-
10- Metil 18:0	-	3 ^a	-	-	-	-	-	2 ^a	-	-	2 ^a	-	-	-	-
OH₂	-	-	-	2 ^a	-	v	-	-	-	-	2 ^a	-	-	1 ^a	1 ^a
Siklo 19	-	-	2 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1 =% 1-5, 2 =% 5-15, 3 =% 15-25, % 4> 25, v = değişken, genellikle% 2'den az

^a Tanımlayıcı yağ asidi

2.4.17. *Actinobacteria*'nın biyoaktif bileşikleri

Antibiyotiklerin kaynağı olarak aktinobakteriler

Actinobacteria, biyoteknoloji alanında, geniş endüstriyel, tıbbi ve tarımsal uygulamalara sahip çok sayıda biyoaktif sekonder metabolit üreticisi olarak büyük önem taşımaktadır (Çizelge 2.5). *Actinobacteria* üyeleri, doğal olarak oluşan antibiyotiklerin çoğunu üretmektedir. *Actinobacteria*'da keşfedilen ilk antibiyotikler 1940 yılında Waksman vd, tarafından keşfedilmiş olup; bunlar *Streptomyces* kültüründen aktinomisin (Waksman ve Woodruff, 1940), 1942'de *Streptomyces lavendula*'dan streptotrisin (Waksman ve Woodruff, 1942) ve 1944'te *Streptomyces griseus*'tan streptomisindir (Schatz ve Waksman, 1944). *Streptomyces* başlıca klinik antibiyotik kaynağı olarak neredeyse tüm aktinobakteriyel antibiyotiklerin %80'inden sorumludur (Ilic vd, 2007). Aktinomisin, streptomisin ve streptotrisinin ilk saptanan antibiyotikler arasında olup, diğer birçok antibiyotikten çok daha yüksek

frekanslarda sentezlenmektedir. Örneğin, streptotrisin, topraktan rastgele izole edilen tüm *Streptomyces*'lerin %10'unda, streptomisin %1'inde, aktinomisin ise % 0.1 oranında bulunur. Bunun aksine eritromisin ve vankomisin yaklaşık 10^{-5} toprak izolatında bulunurken ve daptomisin sadece yaklaşık olarak 10^{-7} frekansta bulunur (Baltz, 2007).

Aktinomisetler tarafından üretilen başlıca klinik antibiyotik sınıfları şunlardır: aminoglikozidler (neomisin, kanamisin, streptomisin) (Busscher vd, 2005; Vakulenko ve Mobashery, 2003), anguisiklinler (auricin, ayrıca, araziomisin ve moromisin gibi antitümör maddeler (Kharel vd, 2012), ansamisinler (rifamisin, geldanamisin) (Kang vd, 2012) antrasiklinler (başta antitümör ajanlar, örneğin, daunorubisin) (Minotti vd, 2004; Nitiss, 2009), β -laktamlar (sefamisinler) (Liras, 1999) ve ayrıca önemli olan β laktamaz inhibitörü klavulanik asit (Jensen ve Paradkar, 1999; Saudagar vd, 2008), kloramfenikol (Vining ve Stuttard, 1994), glutarimidler (sikloheksimid) (Kominek, 1975), glikopeptidler (vankomisin, teikoplanin) (Butler vd, 2014; Van Bambeke vd, 2003), lipopeptidler (daptomisin) (Baltz, 2010), lantibiyotikler (mersasidin, aktagardin) (Willey ve Donk, 2007), makrolitler (sistitromisin, eritromisin, tilosin, klaritromisin) (Gaynor ve Mankin, 2003; 429), oksazolidinonlar (sikloserin) (Mulinos, 1955), streptograminler (streptogramin) (Johnston vd, 2002) ve tetrasiklinlerdir (Okami ve Hotta, 1988). Aktinomisetlerin bireysel üretim kapasitesi de büyük ölçüde artırılabilir. Bazı *Streptomyces* türleri tek bir antibiyotik üretirken, diğerlerinin bir dizi farklı bileşikler ve bileşik sınıflarının ürettikleri görülmüştür.

Actinobacteria üyeleri antibiyotiklerin yanı sıra, herbisit, antifungaller, antitümör veya immünsüpresan ilaçlar ve antelmintik ajanlar gibi aktiviteleri olan çok çeşitli diğer sekonder metabolitleri üretmektedirler (Behal, 2000; Tindall vd, 2006).

Insektisit kaynakları olarak aktinobakteriler

Çeşitli *Streptomyces* türleri tarafından üretilen makrotetrolidler akarlar, böceklere (Jizba vd, 1991; Sagawa vd, 1972), koksoidalara (Sakamoto vd, 1978) ve helmintlere (Nippon Kayaku ve Chugai Pharm, 1981) karşı aktiftir ve ayrıca immünsüpresif etkiler gösterirler (Shichi vd, 1989; Jizba vd, 1991). Bununla birlikte, makrotetrolid kompleksi bileşimi ile ilgili olarak, dinaktin ve trinaktin (Oishi vd, 1970; Ando vd, 1971) ile bir tetranaktin karışımını üreten (bileşik grubunun en aktif üyesi) sadece bir *Staphylococcus aureus* S-3466 (Ando vd, 1971) vardır ve bu ürün ticari amaçlar için kullanılmıştır (Misato, 1982). *Streptomyces aureus* tarafından siklosporine bağlı moleküler bir yapı ile üretilen siklik bir antibiyotik olan tetranaktin, meyve ve çayın karmin akarlarına karşı emülsiyon olarak kullanılır. Antihelmintikler açısından gerçek

bir başarı öyküsü, avermektinin bir dehidro türevi olan ve *Streptomyces avermitilis* tarafından üretilen ivermektindir (Omura ve Crump, 2014). 1970'lerin sonlarında ortaya çıkmasından sonra ivermektin, hem iç hem de dış nematodlara ve eklembacaklılara karşı güçlü ve geniş spektrumlu bir aktiviteye sahip, tamamen yeni bir antiparaziter maddeydi. Yakın zamanda, 2015 yılı Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülü avermektini keşfettikleri için Sajih Omura ve William C. Campbell'e ve antimalarial ilaç artemisinin keşfi için de Youyou Tu'ya birlikte verilmiştir (Barka vd, 2016; Wink vd, 2017).

Biyoherbisid ajanı olarak aktinobakteriler

Streptoverticillium rimofaciens Niida'nın kültürlerinden izole edilen antifungal bir metabolit olan mildiomisin, çeşitli ekinlerdeki (Harada ve Kishi, 1978) farklı tozlu küflere karşı kuvvetli bir şekilde aktiftir ve mantar protein biyosentezini inhibe eder (Feduchi vd, 1985). Bu antifungallerin birincil etki alanları, hücre duvarında kitin sentezinin meydana geldiği yerlerde, mitokondriden katyon sızıntısı, inositol biyosentezin meydana geldiği veya protein ve DNA sentezi alanlarının olduğu yerlerdir. Bahsedilen bileşik, *Actinobacteria*'dan izole edilmiş agroaktif bileşiklere bir örnektir. Validamycin A, pirinç ve diğer bitkilerde patojenlerin kontrolü için ve sebze fidelerinde hastalıkların giderilmesi için bir araç olarak Takeda tarafından ticarileştirilmiştir. Öte yandan, bazı salgılanmış metabolitler sitotoksiktir ve makrolidler, -pirronlar, laktonlar, indoller, terpenler ve kinonlar gibi kimyasal yapıları içerebilirler (Dharmaraj, 2010). Örneğin, kinon ile ilgili bir antibiyotik olan resistomisin, eşsiz bir yapıya sahip olup RNA ve protein sentezinin inhibisyonuna dayanan bakterisidal ve vazokonstrüktif aktiviteye sahiptir (Arora, 1985; Barac vd, 2004).

Son yıllara kadar yapılan çalışmalarda önemli *Actinobacteria* üyelerinin genom sekansları, bu organizmaların biyokimyasal potansiyellerinin ancak %10'unun keşfedildiğini ve keşfedilmeyen genetik lokusların çoğunun kodlandığı biyosentetik mekanizmanın deneysel şartlarda aktive olabileceğini göstermektedir (Wu vd, 2012). Watve vd, bu biyokimyasallar içinde sadece *Streptomyces* cinsinden 150.000'in üzerinde biyoaktif metabolitin keşfedilmeyi beklediğini ileri sürmüştür (Watve vd, 2001; Baltz, 2005; Baltz, 2006). Bununla birlikte kombinasyonel biyosentez gibi moleküler tekniklerin, doğal olarak bulunamayan ilaçların keşfine ve eşsiz özellikleri olan biyoaktif ürünler üretmek için değiştirilebilen ve modifiye edilebilen biyosentetik bileşenlerin keşfine imkan sunacağı önerilmiştir (Barka vd, 2016; Wink vd, 2017).

Antifungal maddelerin kaynakları olarak aktinobakteriler

Kasugamisin; memeli protein sentezini inhibe etmeyip mikroorganizmalarda protein biyosentezinin inhibitörü olarak görev yapan, *Streptomyces kasugaensis* (Umezawa vd, 1965) tarafından salgılanan bakterisidal ve fungisidal bir metabolittir. Sistemik olarak aktif kasugamisin, çeltik yanığı (*Pyricularia oryzae cavara*) ve çeşitli ürünlerdeki bakteriyel *Pseudomonas* hastalıklarını kontrol etmek üzere piyasaya sürülmüştür. 1965 yılında Isono vd, *Streptomyces cacaoi var. asoensis* metabolitlerinden yeni bir doğal fungusit olan, polioksin B ve D sınıfının ilk üyelerini izole etmiştir (Isono vd, 1965). Bu maddeler, kitin sentezini inhibe ederek fungal hücre duvarı sentezini engelleyerek etki göstermektedirler (Endo ve Misato, 1969). Polyoxin B, meyveler, sebzeler ve süs bitkilerinde birçok mantar patojenine karşı uygulanırken; polioksin D, *Rhizoctonia solani* organizmasının sebep olduğu pirinç kılıfı yanığı hastalığının etken maddesini kontrol etmek için kullanılmaktadır (British Crop Protection Council, 1994).

Validamycin familyası 1968 yılında, *Rhizoctonia solani*'nin neden olduğu pirinç bitkilerinde kılıf yanıklığı hastalığının tedavisi için Takeda Chemical Industries'teki araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Kompleksin en büyük ve en aktif bileşeni olan Validamycin A, *Streptomyces hygroscopicus var. limoneus*'dan izole edilmiştir. Fungal hücrede validamisin, hücre içi trehalozun parçalanmasını baskılayan özellikle güçlü bir trehaloz inhibitörü olan validoksilamin A'ya dönüştürülür. Trehaloz iyi bir depolama karbohidratı olarak bilinir ve trehalaz, böceklerde ve mantarlarda glukoz taşınmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu etki şekli, validamisin A'ya biyolojik bir seçicilik vermektedir. Çünkü omurgalılar metabolizmaları için disakkarit trehalozun hidrolizine bağımlı değillerdir (Elbein vd, 2003).

Aktinobakterler ve diğer organizmalar arası etkileşimler

Böcek-bakteri simbiyozları doğal çevrede yaygındır (Wu vd, 2006) ve antibiyotik üreten bakteriyel simbiyotlar konakçıyı ve/veya kaynaklarını korumak için sıklıkla kullanılmaktadır (Seipke vd, 2012a; Seipke vd, 2012b). Birçok böcek (örneğin karıncalar, termitler, safra kesesi ve böcekler) mikrobik toplulukları ile spesifik bir ilişki geliştirmiştir. Bu etkileşimler, antagonizm ve komensalizmden, mutualizme ve zorunluluktan fakültatifliğe kadar çeşitlilik göstermektedir (Leung ve Poulin, 2008).

Birçok böcek grubunun mikrobiyal topluluklar ile ilişkisi geniş çapta çalışılmış (Brauman vd, 2001) ve özellikle bağırsak bakterileri ile böcekler arasında karmaşık ilişkiler ortaya konmuştur (Breznak, 1982; Hongoh, 2011). Attine karıncaları yuvalarındaki mantar bahçelerini diğer mikroplardan arındırmak için yabancı otların

gelişimini önlemek amacıyla antibiyotik üreten *Actinobacteria* üyeleri ile mutualistik bir ilişki geliştirmiştir (Seipke vd, 2012b, Dejean vd, 2005). Özellikle ağaç kabukları ve ağaç yapraklarıyla beslenen böcek gruplarının bağırsak florasında selülozun sindirilmesine yardımcı olan *Ponticoccus gilvus* ve *Kocuria marina* gibi *Actinobacteria* üyeleri tespit edilmiştir (Morales-Jimenez vd, 2013).

Mycobacterium ulcerans hayatta kalmak için, taşıyıcı olarak serbest yaşayan amipleri kullanarak daha korumalı bir nişe adapte olmuştur. “Gizli” mikobakterilerin bağışıklık tepkimelerinden kaçmak ve omurgalı son konakçıları daha kolay enfekte etmek için Protozoon konakçıları içinde geliştikleri tespit edilmiştir (Greub ve Raoult, 2004).

Daha önce de belirtildiği gibi, aktinomisetler topraklarda bol miktarda bulunur ve rizosferin mikrobiyal florasında yüksek bir oranda temsil edilirler (Bulgarelli vd, 2013). *Actinobacteria* üyeleri böylelikle bitki kaynaklı mikrobiyal topluluklarda çeşitli rollere sahiptir. Bazı jenerasyonlar ağırlıklı olarak besin döngüsünde önemli rollere sahip toprak saprofitler olarak görülürken, diğerleri endofitler, faydalı simbiyonlar ve hatta bitki patojenleri olabilirler (Barka vd, 2016; Wink vd,2017).

Actinobacteria üyeleri diğer toprak mikroorganizmaları ile ilgili antagonistik ve rekabetçi özellikleri ile rizosferlerde kolonize olabilmeye yeteneğine sahip mikroorganizmalardır (Bulgarelli vd, 2013). Diğer yararlı mikroorganizmalar gibi, *Actinobacteria* suşları da bitki büyümesini doğrudan ya da dolaylı olarak iki genel yolla etkileyebilirler. Dolaylı etkileri, bir veya daha fazla zararlı mikroorganizmanın zararlı etkilerini önlediğinde ortaya çıkar. Bu, esas olarak bitkinin patojenlerine karşı biyokontrol veya antagonizm yoluyla gerçekleşir. Spesifik olarak, kolonizasyon veya antibiyotiklerin ve diğer sekonder metabolitlerin biyosentezi patojen invazyonunu ve oluşumunu önleyebilir (Fenton vd, 1992). Bitki büyümesinin doğrudan desteklenmeleri ise; bakteriler tarafından sentezlenen bir bileşik ile bitkiye sağlandığında ya da toprakta bulunan bitki besin maddelerinin bitkiye alınımının bakteriler tarafından kolaylaştırıldığında ortaya çıkar. *Actinobacteria* suşlarının muhtemel katkıları; azot fiksasyonunu, yan-kök sentezini, fitohormon sentezini ve minerallerin alımı ve kullanımını sağlamak için minerallerin çözünmelerine katkı sağlamalarıdır (Glick, 1995).

Aktinobakteriler önemli biyoaktif bileşik üreticileri olduğu için biyo-kontrol potansiyelleri yaygın olarak kabul edilmektedir (Gomes vd, 2000; Ouhdouch vd, 2001; El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006). Geçtiğimiz 50 yıl boyunca, *Actinobacteria*'nın antibiyosis özelliği, besin rekabeti, degradatif enzim üretimi,

topraktaki patojenlerin gelişimini baskılayabilme, azot oksit üretimi ve mikroorganizmaların sayısını sınırlandırabilme mekanizmalar hakkında pek çok çalışma yapılmıştır (Cohen ve Mazzola, 2006; Mahmoudi vd, 2011). Rizosferde farklı ortamlara uyum kabiliyetleri, onları topraktaki diğer mikroorganizma toplulukları için güçlü bir rakip haline getirmiştir. Bazılarının; bitkiler için önemli bir mikro besin elementi olan demirin diğer organizmalar tarafından alınmasını önlemek amacıyla demirin bağlanmasından ve taşınımından sorumlu bir molekül olan sideroforları ürettiği bilinir (Cao vd, 2005; Getha vd, 2005). Ayrıca bazı çalışmalarda *Actinobacteria* üyelerinin parazit mantarların misel hücre duvarlarını parçalayan enzimleri salgıladığı bildirilmiştir (Xiao vd, 2002; El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006; Errakhi vd, 2007). *Streptomyces lydicus* WYEC 108^T suşundan elde edilen bir biyofungisit Natural Industries Inc., TX, ABD ve 2004 yılında Actinovate çözünür olarak kaydedilmiştir (EPA kayıt numarası 73314-1). Tamamen suda çözünür olan bu ürün, birçok yaygın yaprak ve toprak kaynaklı hastalığa karşı etkili bir biyofungisittir (Barka vd, 2016).

Actinobacteria'nın, bitki patojenlerini inhibe eden antibiyotikler üretme yetenekleri de yaygın olarak bilinen bir durumdur (Emmert ve Handelsman, 1999; Barakate vd, 2002; El-Tarabily ve Sivasithamparam, 2006). *Streptomyces violaceusniger* YCED9 suşu, bitki patojenlerine karşı etkili nigrekin, geltanamisin ve guanidilfingcin de dahil olmak üzere üç antifungal bileşik üretir (Trejo-Estrada vd, 1998). Benzer şekilde, *Actinobacteria* tarafından üretilen antibiyotikler şu anda biyolojik kontrolde kullanılmaktadır (Çizelge 1.5).

Çizelge 2.5. *Actinobacteria* üyeleri tarafından üretilen biyoaktif moleküllerin örnekleri ve etkinlikleri (Barka vd, 2016).

Bileşiğin tipi ve Biyoaktif ajan üretici tür	Bileşiğin tipi ve üretici	Biyolojik ajan tür	Biyolojik ajan tür
Antibakteriyel ajan üreticileri		Antifungal ajan üreticileri	
<i>Verrucospora</i> spp.	Abyssomycin	<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotericin B
<i>Streptomyces anulatus</i>	Actinomycins	<i>Streptomyces griseus</i>	Candididin
<i>Micromonospora</i> spp.	Anthracyclin	<i>Streptomyces violaceusniger</i> YCED-9	Guanidylfungin
<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	Erythromycin (Ilotycin)	<i>Streptomyces cacaoi</i>	Polyoxin B
<i>Nocardia lurida</i>	Ristocetin	<i>Streptomyces canus</i>	Tetracenomycin
<i>Amycolatopsis orientalis</i>	Vancomycin	<i>Nocardia transvalensis</i>	Validamycin
Biyoherbisid / biyopestisit üreticileri		Antiparaziter ajan üreticileri	
<i>Actinomadura</i> spp.	β-D-ribofuranosyl-Herbisid	<i>Streptomyces avermitili</i>	Avermectins
<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Herbimycin	<i>Streptomyces coelicolor</i>	Prodiginine
<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	Spinosad (nörötoksik insektisid)	<i>Streptomyces bottropensis</i>	Trioxacarcin
Antiviral ajan üreticileri		Hiperkolesterolemi ajan üreticisi	
<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Hygromycin	<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Rapamycin
<i>Streptomyces</i> spp.	Panosialins		
Antitümör ajan üreticileri		İmmunostimülatör ajan üreticileri	
<i>Nocardia asteroides</i>	Asterobactine	<i>Nocardia rubra</i>	Rubratin
<i>Micromonospora</i> spp.	Diazepinomicin	<i>Streptomyces olivoreticuli</i>	Bestatin
<i>Salinispora tropica</i>	Salinosporamide	<i>Kitasatospora kifunense</i>	FR-900494
İmmünsüpresif ajan üreticileri		Terapötik enzim (antitümör) üreticileri	
<i>Nocardia brasiliensis</i>	Brasilicardin	<i>Streptomyces</i> spp.	L-Asparaginase
<i>Streptomyces filipinensis</i>	Pentalenolactone	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	L-Glutaminase

Patates yumruları için patojen olan *Streptomyces scabiei* organizmasının zararlı etkilerine karşı Millard ve Taylor, 1927'de yaptıkları çalışmada, patojenik olmayan saprofitik *Actinomycetes* izolatları ile inoküle olmuş toprağın, hem hastalıklı patates kabuklarının hem de patojen popülasyonunun önemli ölçüde azaltabildiğini, inoküle edilmiş saprofitik suşun topraktaki patojeni aştığını ve böylece bitki hastalığını azalttığını göstermiştir (Millard ve Taylor, 1927).

Patojenlerin antibiyotik aracılı inhibisyonu genellikle bitki hastalıklarını bastırmaya yönelik çalışmalarda birincil odak noktasını teşkil etmektedir. Bununla birlikte; *Streptomyces* ve diğer cinsin üyeleri tarafından üretilen sekonder metabolitlerin çeşitliliği mantar, bakteri, oomiset ve nematod patojenlerinin baskılanması için büyük bir potansiyel oluşturmaktadır (Barka vd, 2016).

Rizobakterileri kullanarak ticari biyo-kontrol ve bitki büyümesi sağlayan ürünler geliştirmeye yönelik girişimlerde, mevcut spesifik zorlukları tanımak önemlidir.

Başlangıç olarak, bitki büyümesini teşvik eden rhizobacteria türleri ve bitki simbiyontları arasındaki etkileşim, bir ürün veya kültür ortamında dahi spesifik görünmektedir (Glick, 1995; Kloepper, 1996). Büyümenin teşvik edilmesi için çalışılan bir rizobakteri, bir ürün üzerinde olumlu etkileri ortaya koyarken, bir diğerinin büyümesini etkilemeyebilir veya geciktirebilir (Gardner vd, 1984; O'Neill vd, 1992). Rizobakterilerin yararlı özelliklerinden yararlanmaya yönelik çabalarımızda zorluklarla karşılaşsak da, biyo-kontrol için bu bakterileri kullanarak tarımın iyileştirilmesi olasılığı bir o kadar mükemmel görünmektedir. Bitki büyümesini arttırmak için rizobakter türlerinden istifade etmeye yönelik ilk adım, onların verimli bitki büyümesi arttırıcıları olarak hareket etmelerini sağlayan sistemleri daha iyi anlamak olacaktır (Barka vd, 2016).

Tek karbon ve enerji kaynağı olarak 1,4-dioksan üzerinde üreyebilen *Pseudonocardia dioksanivoralar* CB1190 izolatının da dinitrojeni fikse ettiği gösterilmiştir (Mahendra ve Alvarez-Cohen, 2005). *Streptomyces*'in biyokontrolde ve bitki büyümesini artırma kapasitesine ilişkin belgelenmiş ön kanıtlara rağmen (Aldesuquy vd, 1998), *Streptomyces* türlerinin rizobakter olarak potansiyeli geniş çapta araştırılmamıştır. Bu durum genellikle toprak mikroflorasının büyük kısmını teşkil eden, özellikle bitki kök sistemlerinde etkili bir şekilde kolonize olan ve sporlar oluşturarak olumsuz büyüme koşullarına dayanabilen *Streptomyces* türleri için şaşırtıcıdır (Alexander, 1977). Merriman vd, 1974'te arpa, yulaf, buğday ve havuç tohumlarını tedavi etmek ve büyümelerini arttırmak için Waksman ve Henrici izolatı olan *Streptomyces griseus* kullanmışlardır. İzolat başlangıçta patojen *Rhizoctonia solani*'nin biyolojik kontrolü için seçilmiştir. *S. griseus* izolatı, ortalama tane verimini, kuru otu ağırlığı, filiz sayısını ve kontrollere göre hem buğday hem de yulaf için kafa çıkmasını artırmaya rağmen, farklılıklar istatistiksel olarak yeterli olmamıştır. Ancak izolat havuçlara tohum muamelesinde çok daha başarılı olduğu bildirilmiştir. İki ayrı saha denemesinde ölçülebilen verim kontrollere göre % 17 ve % 15 artmıştır (Merriman vd, 1974). El-Abyad vd, (1994) ve Merriman vd, (1974), bitki büyümesinde *Streptomyces* ile toprağı aşılamanın önemli bir fonksiyonu olduğunu bildirmişlerdir. Ancak *Streptomyces* aracılı büyüme gelişiminin olası mekanizmaların daha fazla araştırılması gerekmektedir (El-Abyad vd, 1993).

Bu özellikleri dışında *Frankia* cinsinden azot fikse edebilen aktinobakteriler, toprak saprofitleri olarak ve 200'ün üzerinde bitki türünde endofitik simbiyotik olarak yaşamaktadır (Roy vd, 2007). *Frankia* cinsi, *Alnus*, *Casuarina* ve *Elaeagnus* gibi bitki cinsleri başta olmak üzere simbiyotik ilişki içindedir ve azot fikse etme partneri

olarak özel bir öneme sahiptir. Böylece bu bitkilerin azotça fakir topraklarda iyi gelişmesine yardımcı olmaktadır (Pawlowski ve Demchenko, 2012).

Endofitik *Actinobacteria* üyeleri çok çeşitli bitkilerden izole edilmiştir. En sık gözlenen türler *Microbispora*, *Nocardia*, *Micromonospora* ve *Streptomyces* cinslerine aittir (Sardi vd, 1992; Taechowisan vd, 2003). Patojenik *Streptomyces* üyelerinden farklı olarak endofitik türler bitkide gözlemlenebilir bozukluk semptomlarına sebebiyet vermeden uzun süre boyunca bitkide kalmaya devam eder (Bulgarelli vd, 2013). Endofitik *Streptomyces*, kök büyümesini ve gelişimini destekleyen oksinler üreterek bitki konakçılarının gelişimini artırabilmektedir (Coombs vd, 2004; Overvoorde vd, 2010). Üstelik, endofitik *S. lydicus* ile *Pisum sativumun* endofitik kolonizasyonu, *Rhizobium* spp. tarafından kök nodülasyon sıklığını arttırmakta, bu da demir ve molibden asimilasyonunu ve güçlü bitki büyümesini teşvik etmektedir (Tokala vd, 2002).

Bunlara ilave olarak *Streptomyces* türlerinin diğer mikroporganizmalar üzerinde doğrudan toksik etki göstermelerinin yanı sıra azot oksit üreterek bitki savunmasını etkinleştirdiği ve bitkinin patojenlere karşı korunmasını sağladığı öne sürülmüştür (Couillerot vd, 2014). Mahmoudi vd, yaptığı çalışmada (2011), *Streptomyces* suşlarının *Pectobacterium carotovorum*'da patojenite için gerekli olan genlerin ekspresyonunu koordine eden sinyalleme bileşiklerini bozabildiğini ve bunun da hastalık baskılanması için bir başka mekanizma olduğunu düşündüğünü bildirmiştir. Ek olarak, kitinaz veya bitki büyümesini teşvik eden bileşiklerin üretiminin bazı *Streptomyces* izolatları tarafından hastalıkların baskılanmasına katkı sağlayacağı bildirilmiştir (Berg vd, 2001; Mahmoudi vd, 2011; Verma vd, 2011).

Zirai uygulamalarda ekin dayanıklılığı ve ürün verimini artırmak amacıyla genetiği değiştirilmiş tohum kullanımı ve kimyasal gübrelerin uzun vadeli kullanımı yaygınlaşmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda genetiği değiştirilmiş organizmaların kullanımının insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri ve kimyasal gübrelerin topraktaki kalıcılıklarına bağlı biyoakümüülasyonlar nedeniyle çevre için bir tehdit oluşturdukları ortaya koyulmuştur (Gunnell vd, 2007; Leach ve Mumford, 2008).

Bu nedenle, ekin üretiminin iyileştirilmesine yönelik daha temiz ve daha çevreci bir yaklaşım esastır ve bu durum doğal olarak mevcut bitki büyüme düzenleyicilerinin veya bu düzenleyicilerin üreticilerinin kullanılmasını gerektirecektir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda kök büyümesinde ve kökler ile bağlantılı olarak

rizosferde bulunan heterojen bakteri grubu için Kloepper ve Schroth (1978) tarafından tanımlanan bir terim olan bitki büyümesini teşvik eden rizobakterilerin (PGPR) kullanımlarına olan ilgi artmıştır. Yapılan çalışmalarda PGPR'lerin bitki büyümesi için gerekli besinleri sağladıkları, bitki büyümesini teşvik eden hormon ve besin elementlerini üretimlerini uyardıkları ve aynı zamanda fitopatojenlere karşı sistemik dirence neden oldukları bildirilmiştir (Glick 1995, Subramaniam vd, 2016).

Aktinobakterilerin bitki gelişimini teşvik eden özellikleri her zaman var olmasına rağmen bu özelliklerinden nadiren bahsedilmiştir (Sadeghi vd, 2012). Birçok aktinobakteri, çevresel strese karşı direnç gösterebilen ve yayılabilen sporlar üretmektedir (Chater 1993). Bu nedenle, aktinobakteriler gelecekteki tarım uygulamaları için en umut verici biyo-kontrol PGPR ajanları arasında düşünülmektedir (Franco-Correa vd, 2010).

Mikroorganizmaların bitki gelişimini teşvik (PGP) aktiviteleri doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki farklı açıdan görülebilir. Doğrudan bitki büyüme teşviki, bitkinin büyümesi için gerekli olan temel faktörlerin üretimini veya takviyesini gerektirir. Bu faktörler arasında, biyolojik azot fiksasyonu (BNF) ve fosfatların çözündürülmesi önemlidir. Çünkü bu süreçler en kolay bulunan fakat kullanılmayan azot ve fosfor kaynaklarını, yani dinitrojen gazı ve mineral fosfatı daha kolay erişilebilir biçimlere dönüştürür (Meunchang vd, 2006).

Bir başka önemli doğrudan PGP faktörü de, çeşitli biyokimyasal yollar için gerekli olan demir, çinko, vb. eser elementlerin mevcudiyetidir. Topraktaki demir, siderofor üreten birçok mikroorganizma tarafından tutulmakta ve böylece bitkilerin kullanabileceği hale dönüştürülebilmektedir (Nassar vd, 2003). Sideroforlar, demir kompleksine olan güçlü yakınlıklarından dolayı, büyük olasılıkla demir cevherinin mineral cevherlerden biyolojik olarak ayrılmasında rol oynarlar (Rogers ve Bennett 2004).

Çok çeşitli uygulama alanlarına sahip olan sideroforların, biyoteknoloji dünyasında da önemli olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Elena ve Villegas, 2007). Bundan dolayı sideroforlar; özellikle sağlık, tarım ve kozmetik gibi biyoteknolojik alanlarda kullanılmaktadır (Winkelmann, 2002). Protein yapılı bu moleküller; özellikle kanser ve malaria gibi hastalıkların tedavisinde demir taşıyıcısı olarak kullanılmasının yanında antibiyotik olarak da kullanılmaktadırlar (Miethke ve Marahiel, 2007, Erdem, 2013). Fitohormonlar gibi bitki büyüme düzenleyicileri de, bitkilerin büyümesini doğrudan etkileyen birkaç mikroorganizma tarafından üretilmiştir (Hayat vd, 2010).

Dolaylı PGP mekanizmaları arasında PGPR'ler, çeşitli bitki patojenlerine karşı antimikrobiyal bileşikler ve hücre dışı enzimler üreterek biyo-kontrol maddeleri olarak görev yapmaktadır (Glick, 2012). *Actinobacteria* içerisinde özellikle *Streptomyces* cinsi, biyoaktif metabolitlerin ana üreticisi olmuştur (Alexander, 1977) ve bir dizi fitopatogene karşı büyük bir biyolojik kontrol etkisi gösterilmiştir (Wang vd, 2013). Bununla birlikte tarımsal açıdan önemli antibiyotiklerin üretiminin yaklaşık% 60'ını oluşturmaktadırlar (Ilic vd, 2007; Subramaniam vd, 2016).

Solanum lycopersicum bitkisine etki eden bir bitki patojeni olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* organizması üzerinde yapılan bir çalışmada; *Streptomyces* sp. SNL2 suşunun patojen üzerindeki biyokontrol ve domates bitkisi üzerinde gelişimi teşvik etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda SNL2 suşunun patojenin etkisini %88.5'ten %13.2'ye düşürdüğü, Thiram® ile kimyasal tohum tedavisinin hastalık insidansını %14.6'ya düşürdüğü görülmüştür (Goudjal vd, 2016).

Boukaya vd (2018) tarafından yapılan çalışmada; buğday bitkisinde kök çürüğü hastalığına sebebiyet veren ve ökaryotik bir bitki patojeni olan *Fusarium culmorum* organizması üzerinde farklı *Actinobacteria* üyelerinin biyokontrol potansiyelleri ve bitki gelişiminin desteklenmesi konuları araştırılmıştır. Bu çalışmada *Streptosporangium becharense* SG1 suşunun (Chaabane vd, 2016) tüm denemelerde dikkate değer pozitif sonuçlar verdiği ve patojene karşı herhangi bir uygulama yapılmayan buğday tohumu ile karşılaştırıldığında, tüm tohum bakteri uygulamalarında kök çürüklüğü indeksi önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte SG1 suşu, yüksek koruyucu etki göstererek, hastalık şiddeti indeksini % 77.8'den % 16'ya düşürürken Dividend® ile kimyasal muamelesi yapılan tohumlarda hastalık şiddeti indeksi sadece% 24.2'ye düşürülmüştür. Buna ilaveten SG1 suşunun; sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve bitkilerin kuru ağırlığı açısından önemli artışlar sağladığı da tespit edilmiştir (Boukaya vd, 2018).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Toprak Örneklerinin Toplanması, pH ve Organik Madde Miktarının Ölçülmesi

Araştırma sahası Samsun Ondokuzmayıs ilçesi Engiz Çayı havzası aşağı çığırında yer almaktadır. Çalışma materyalleri, Dağköy mevki alanı içerisinde deniz seviyesinden 20 m ile 300 m arasında yükselti değişkenliği içerisindeki farklı topografik pozisyonlarda (tepe üstü düzlük, yamaç, taban vb. araziler) yer alan bazaltik ana materyal üzerinde oluşmuş toprakların, topografik pozisyon ve kullanım amaçlarına göre 6 farklı noktada açılan toprak profillerinden, horizonlaşmaya göre farklı horizonlardan alınıp, steril torbalara konuldu ve kullanıma kadar +4 °C'de OMÜ, Fen Edebiyat Fakültesi araştırma laboratuvarında bekletilmiştir.

Araştırma alanı toprak reaksiyonu (pH): saturasyon çamurunda pH metre kullanılarak (Soil Survey Labrotory, 1992, 2004), Organik madde: Walkley-Black yönteminin Jackson tarafından modifiye edilmiş şekli ile yapılmıştır (Jackson, 1958). Kil mineralleri belirlenmesi için giderme, kil ayırma, kilin doyurulması ve kilin serilmesi işlemleri uygulanarak kurutulan preparatların 2-13 2θ aralığında X-Ray difraksiyonları elde edilmiştir (Jackson, 1979). Lokalitelerin özellikleri, lokalitelerin koordinatları, toprak örneklerinin laboratuvar numaraları ve örneklerin alındığı derinlikler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Toprak örneklerine ait veriler

Profil no:	Derinlik (cm)	Laboratuvar no	Lokalite özellikleri	Koordinat
1	0-23	1	Taban Arazi	4597065 N 253437 E
	65-106	3	h:25m	
	106+	4	Kuru Tarım	
3	0-15	7	Etek arazi	4596028 N 252900 E
	15-66	8	h:50m	
	66+	9	Kuru tarım	
5	0-11	12	Üst yamaç	4593435 N 2532140 E
	11+	13	h:190m Orman	
6	0-12	14	Tepe üstü düzlük	4593886 N 252364 E
	41-84	16	h:251m	
	84+	17	Mera	
7	0-16	18	Üst Yamaç	4595005 N 251693 E
	16+	19	h:185m Mera	
9	0-18	24	Alçak plato düzlüğü	4595604 N 252921 E
	18-57	25	h:160m	
	57+	26	Orman	

3.2. Toprak Örneklerinden Aktinomisetlerin Seçici İzolasyonu

Toprak örneklerinden aktinomisetlerin seçici olarak izolasyonu gerçekleştirmek amacıyla 8 farklı besiyeri kullanılmış ve besiyerlerine ait özellikler Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Aktinomisetlerin seçici olarak izolasyonunda kullanılan besiyerleri

Besiyeri (kısaltma)	Antibiyotik	Referans
1 Czapek-Dox Agar (Z)	Nystatin (50 µg/ml) + Rifampicin (5 µg/ml)	Weyland (1969)
2 Glycerol-asparagine Agar (ISP5) (I)	Nystatin (50 µg/ml) + Rifampicin (5 µg/ml)	Pridham vd, (1956/1957)
3 Rafinoz-Histidin Agar (R)	Nystatin (50 µg/ml) + Rifampicin (5 µg/ml)	Vicker vd, (1984)
4 Nişasta-Kazein Agar (N)	Nystatin (50 µg/ml) + Rifampicin (5 µg/ml) + Nalidixic acid (10 µg/ml)	Küster ve Williams, (1964)
5 Humik Asit-Vitamin Agar (H)	Nystatin (50 µg/ml) + Rifampicin (5 µg/ml)	Hayakawa ve Nonomura, (1987)
6 SM1 Agar (A)	Cycloheximide (50 µg/ml) + Neomycin sulphate (4 µg/ml) + Nystatin (50 µg/ml)	Tan vd, (2006)
7 SM2 Agar (B)	Cycloheximide (50 µg/ml) + Neomycin sulphate (4 µg/ml) + Nystatin (50 µg/ml)	Tan vd, (2006)
8 SM3 Agar (C)	Cycloheximide (50 µg/ml) + Nalidixic acid (10 µg/ml) + Novobiocin (10 µg/ml) + Nystatin (50 µg/ml)	Tan vd, (2006)

Dilüsyon plaka yöntemine tabi tutulan 20-25 g kütleye sahip her bir toprak örneği, etiketli petripler içinde oda ısısında 2 hafta bekletildi ve kuruyan toprak numuneleri, birbirine karıştırılmadan havanda dövülerek toz haline getirildi.

İzolasyona hazır hale gelen her bir toprak örneğinden 1 g tartılarak daha önce steril olarak hazırlanan ve içinde 9 ml Ringer çözeltisi ve cam boncuk bulunan 15 ml'lik şişelere konuldu. 10^{-1} 'lik dilüsyonların her biri yarım saat süresince çalkalandı. İzolasyon dilüsyonları $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlı Benmari'de 20 dakika bekletildi.

10^{-2} dilüsyonunu hazırlamak için, içerisinde steril 4,5 ml Ringer çözeltisi bulunan tüplere vorteks karıştırıcı ile karıştırılan 10^{-1} dilüsyonundan, otomatik pipet ile alınan 0,5 ml toprak çözeltisi ilave edildi. Aynı işlem 10^{-3} 'lük ve 10^{-4} 'lük dilüsyon için de tekrarlandı (Sembiring, 2000; Sivakumar, 2008).

10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} 'lük dilüsyonlardan otomatik pipet yardımıyla alınan toprak-ringer çözeltisinin (0,2 ml), cycloheximide, rifampicin, nystatin, novobiocin, neomycin ve nalidixic asit gibi antibiyotiklerin ilave edildiği Czapek-Dox Agar (Weyland, 1969), Bennett's Agar (Jones, 1949), Glycerol-asparagine Agar (Pridham vd, 1956/1957), Rafinoz-Histidin Agar (Vicker vd, 1984), Nişasta-Kazein Agar (Küster ve Williams, 1964), Humik Asit-Vitamin Agar (Hayakawa ve

Nonomura,1987), SM1 Agar (Tan vd, 2006), SM2 Agar (Tan vd, 2006) ve SM3 Agar (Tan vd, 2006) gibi farklı besi yerlerinin yüzeyine ekimi gerçekleştirildi.

Steril eküvyon çubuklar yardımı ile toprak çözeltileri farklı besi yeri yüzeylerine yayıldı. Her bir dilüsyon için 2 plak hazırlandı. Ekim yapılan plaklar, oksijen girişine izin verecek şekilde 28°C'deki etüvde 10-14 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Çalışma boyunca tek kullanımlık steril plastik petripler (90 mm ve 60 mm, disposable petri dishes, Sterillin, UK) kullanıldı.

3.3. İzolatların Seçilmesi, Saflaştırılması Ve Saklanması

Seçici izolasyon kültür ortamlarında 28 °C ve 14-21 gün inkübasyon sonunda gelişen aktinobakteri ve benzeri koloniler steril kürdanlar kullanılarak cycloheximide (50 g/ml-1) ilaveli glukoz yeast extract agar (GYEA; Gordon ve Mihm, 1962), tryptone yeast glucose extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930) ve NZ-Amin agar yüzeyine transfer edildi. 28 °C'de 14 günlük inkübasyon sonrasında transferi yapılmış plaklardan saf izolatlar elde edildi.

Saflaştırıldıktan sonra, substrat ve hava miselyum renkleri ile çözünür pigment renginin tanımlanmasında RAL (Reichsausschuß für Lieferbedingungen – Deutsches Institut für Gütesicherung und Kennzeichnung e.V. – Alman Kalite Güvence ve Sertifikasyon Enstitüsü) renk kodları kullanılarak renk gruplarına ayrıldı.

Toprak izolasyonu sonucunda gelişen izolatlardan araştırma laboratuvarımızda mevcut tip ve referans kültürlerle makroskopik ve mikroskopik görüntülerine göre karşılaştırılarak seçilen toplam 570 tanesi cycloheximide (50 µg ml⁻¹) ve rifampisin (0,5µg ml⁻¹) ilaveli glukoz- yeast extrat agar (GYEA, Gordon ve Mihm, 1962), tryptone yeast glukoz extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930) veya NZ-amin agar üzerine yoğunlaştırılarak ekildi ve 27°C'de ve 14 gün boyunca inkübasyona tabi tutuldu.

Saflaştırılmış 570 izolat 32 farklı renk grubuna ayrılarak (RAL) bu renk gruplarını temsil eden 159 tanesi moleküler çalışmalar için seçilerek izolatların her biri % 20'lik gliserol içeren otoklavlanabilir 1,5 ml'lik vidalı kapaklı tüpler içerisine steril bir öze veya kürdan yardımı ile transfer edildi ve duplike olarak -18 °C de stoklandı (Wellington ve Williams, 1978).

Bu 159 mikroorganizmanın tamamı öncelikle katı besiyeri olan tryptone yeast glucose extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930) ortamında aktifleştirilme amacıyla ekildi ve tryptone yeast glucose extract broth ortamında geliştirildi. Sıvı

besi yeri ortamında gelişen izolatlar 1.5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak santrifüjlendi ve TE (Tris- EDTA) tamponu ile yıkandı. Elde edilen pelletler DNA izolasyon işleminde kadar -18 °C'de stoklanarak bekletildi.

3.4. Test Suşlarının Genomik DNA İzolasyonu

Test organizmalarının genomik DNA'ları PureLink® Genomik DNA İzolasyon Kiti (Invitrogen, USA) kullanılarak elde edilmiştir.

İşlem Basamakları

Lizatin Hazırlanması;

1. Hücre pelletini lizozim içeren 180 µl lizozim sindirim tamponunda süspanse edildi ve kısa vortekslemeyle iyice karıştırılarak ve 37 °C 'de 12 saat bekletildi.
2. İki ayrı su banyosu (veya ısıtıcı bloku) 37 °C ve 55 °C sıcaklığa ayarlandı.
3. 2 µl Triton-X ilave edilip pipetaj yapıldı ve 30 dk 37 °C'de bekletildi.
4. 20 µl RNaz eklendi ve kısa vortekslemeyle iyice karıştırıldı.
5. 20 µl Proteinaz K eklendikten sonra kısa vortekslemeyle iyice karıştırıldı.
6. 200 µl PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer (Parçalama/Bağlama Tamponu) eklendi ve kısa vortekslemeyle iyice karıştırıldı.
7. 55 °C'de 30 dakika bekletildi.
8. Lizata 200 µl % 96-100'lük etanol eklendikten sonra homojen bir çözelti elde etmek amacıyla 5 sn vorteksleyerek iyice karıştırıldı.

Uygulama;

1. PureLink genomik parçalama/bağlama tamponu ve etanolla hazırlanan lizat (yaklaşık 640 µl) PureLink spin kolona aktarıldı.
2. Kolon oda sıcaklığında 10,000 x g'de 1 dk santrifüjlendi.
3. Toplama tüpü atıldı ve spin kolon temiz bir PureLink toplama tüpüne yerleştirildi.
4. Kolona, daha önceden etanolla hazırlanan yıkama tamponu 1'den 500 µl eklendi.
5. Kolon oda sıcaklığında 10,000 x g'de 1 dk santrifüjlendi.
6. Toplama tüpü atıldı ve spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi.
7. Kolona, daha önceden etanolla hazırlanan yıkama tamponu 2'den 500 µl eklendi.

8. Kolon, oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dk santrifüjlendi ve toplama tüpü atıldı.
9. Spin kolon temiz bir 1.5 ml' lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
10. Kolona 25-200 µl PureLink genomik ayırma tamponu (Genomic Elution Buffer) eklendi.
11. Kolon oda sıcaklığında maksimum hızda 1.5 dk santrifüjlendi ve böylece saf olarak test organizmalarının genomik DNA'sı elde edildi.
12. Saflaştırılan genomik DNA -20 °C'de saklandı.

3.5. 16S rRNA geninin PZR amplifikasyonu ve analizi

Genomik DNA izolasyonu tamamlanan örneklerin 16S rRNA gen bölgesinin PZR amplifikasyonu 27F ve 1525R evrensel primerleri kullanılarak gerçekleştirildi. PZR için GoTaq Hot Start Master Mix (Promega, USA) kullanıldı. Hazırlık aşamasında 50 µl çözelti için 25 µl Hot Start Master Mix, 1 µl 27F primeri (10 µM), 1 µl 1525R primeri (10 µM), 2 µl kalıp DNA (~100 ng) ve 21 µl nükleaz içermeyen su kullanıldı (Çizelge 3.3 ve 3.4).

Çizelge 3.3. 16S rRNA gen bölgesinin PZR koşullarında çoğaltılmasında kullanılan reaktiflerin yoğunluk ve miktarları.

Reaktif	Stok Yoğunluğu	Miktar (µl)
Hot Start Master Mix (Promega)	2x	25
27f primeri (AlfaDNA)	10 pmol	1
1525r primeri (Alfa DNA)	10 pmol	1
Kalıp DNA	50-100 ng	2
Nükleaz içermeyen Su		21

PZR reaksiyon koşulları 94°C'de 2 dk (ön denatürasyon), 94°C'de 1 dk, 55°C'de 2 dk, 72°C'de 3 dk (35 döngü) ve 72°C'de 8 dk olarak gerçekleştirildi. %1'lik kontrol agarozunda (Agaroz Serva) 3 µl PZR ürünü DNA markör ile yürütülerek hedef bölgenin varlığı tespit edildi. PZR amplifikasyon ürünlerinin dizileme işlemi hizmet alımı kapsamında Macrogen Inc. (Güney Kore) firmasına yaptırıldı (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. 16S rDNA'nın PZR amplifikasyonunda ve dizilemede kullanılan primerler

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

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

Elde edilen 16S rDNA dizi verileri ChromasPro Version 1.7.6 (Technelysium Pty Ltd) programı kullanılarak hizalandı ve EzTaxon (URL-13: <http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim vd, 2012) sunucusunda bulunan global hizalama algoritmaları kullanılarak, izolatların en yakın akraba organizmalarla olan 16S rDNA dizi benzerliği belirlendi. Filogenetik analizler için MEGA 7 programında (Kumar vd, 2016), bir hizalama yöntemi olan CLUSTAL_W seçeneği (Thompson vd, 1994) kullanıldı. Filogenetik ağaçların çizilmesinde Neighbour-Joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanıldı. Neighbour-Joining analizinde filogenetik uzaklık matrisi Jukes & Cantor (1969) modeline göre gerçekleştirildi. Oluşturulan ağaçların topolojileri veri setlerinin 1000 kez tekrar edildiği bootstrap analizi (Felsenstein, 1985) ile değerlendirildi.

3.6. DNA-DNA Homolojisi (DDH)

16S rRNA dizi analizlerine göre en yakın filogenetik komşusu ile nükleotit farklılığı en fazla ve dizi farklılığı %3'den daha düşük olan suşlardan başlamak üzere yeni tür olma potansiyeli yüksek izolatların DNA-DNA hibridizasyon deneyleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi. G + C içeriğinin belirlenmesi için suşların genomik DNA'sı ekstrakte edilmiş ve referans suşu olarak *Escherichia coli* JM109 kullanılarak Mandel ve Marmur (1968) tarafından tarif edilen termal denatürasyon (T_m) yöntemi ile sağlanmıştır.

DNA-DNA hibridizasyonu, modifikasyon şartları Huss vd, (1983) tarafından tanımlanan ve De Ley vd (1970) tarafından tarif edildiği gibi DNA yeniden birleştirme kinetikleri ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Suşların genomik DNA'ları, Marmur (1961) yöntemine göre hazırlanmış; her bir DNA preparatının saflığı ve kalitesi, 260/280 nm (1.8 ila 1.9) ve 260/230 nm'de (2.0 ila 2.3) absorbands

oranlarının ve erime eğrilerinin belirlenmesiyle kontrol edilmiştir. Hiperkromisite değerleri %30 ila %40 arasındadır (Mandel ve Marmur, 1968). Saflaştırılmış genomik DNA'lar, 400 ila 800 bp arasında DNA fragmanları üretmek için Sartorius Labsonic M kullanılarak sonike edildi. Her numuneden parçalanmış genomik DNA (yaklaşık 100 mg), 2 X SSC tamponuna eklenmiş ve daha sonra sıcaklık 100 ° C'ye yükseltilerek denatüre edilmiş ve spektrofotometrede erime sıcaklığına kadar soğutulmuştur.

Numuneler 3 dakika boyunca optimum renatürasyon sıcaklığında tutuldu ve 260 nm'de absorbans 30 sn aralıklarla toplam yarım saat süreyle kaydedildi. Doğrusal regresyon analizi kullanılarak ilk yeniden birleşme kinetiği belirlenmiştir. Bu mikroorganizmalar için DNA hibridizasyon değerleri (%), De Ley vd (1970)'e göre hesaplanmıştır. Hibridizasyonlar, her örnek için beş kez tekrarlandı. Her bir örnek için en yüksek ve en düşük değerler hariç tutuldu ve kalan üç değer, ortalama DNA-DNA hibritleşme oranının hesaplanması için değerlendirildi.

3.7. Tüm Genom Analizleri ve Dijital DNA Homolojisi (dDDH)

16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği en düşük izolatlardan başlamak üzere tez kapsamında iki izolatın ve bu izolatların yakın akrabası 4 tip suşunun tüm genom dizi analizleri Birmingham Üniversitesi MicrobesNG servisinden hizmet alımı yoluyla temin edildi. Tüm genom dizi analizi gerçekleştirilen türlerin listesi Çizelge 3.5'te verilmiştir. *Nonomuraea candida* DSM 45086^T tip suşunun NCBI'da kayıtlı genom dizisi olduğundan tüm genom dizilemesi tekrar yapılmamıştır.

Çizelge 3.5. Tüm genom dizi analizi gerçekleştirilen izolat ve yakın akrabası tip suşlarının listesi

No	Organizma
1	<i>Actinomadura</i> sp. 14C53
2	<i>Actinomadura geliboluensis</i> A8036 ^T
3	<i>Nonomuraea</i> sp. 160415
4	<i>Nonomuraea zaeae</i> DSM 100528 ^T
5	<i>Nonomuraea turkmeniaca</i> DSM 43926 ^T

Türlerin genom analizi genomu, 250-bç eşleştirilmiş sonlanma protokolü ile Illumina HiSeq 2500 yeni nesil dizileme platformu kullanılarak, 30x'lik kapsama değeri ile dizilendi. Dizilerde yer alan adaptörler Trimmomatic 0.30 kullanılarak kesilmiştir (Bolger vd, 2014). Dizilerin birleştirilmesi, SPAdes sürüm 3.7 (Bankevich vd, 2012) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve kontektler Prokka 1.11 (Seeman, 2014) kullanılarak açıklanmıştır.

Okunan sekans dizileri ve bu dizilerin fonksiyonları hakkında detaylı bilgiler RAST server ile analiz edilmiştir (URL 14: <http://rast.nmpdr.org/rast.cgi> ; Brettin vd, 2015). Dijital DNA-DNA homoloji analizleri German Collection of Microorganisms and Cell Cultures'ın (DSMZ) digital ortamda sunduğu bir hizmet olan Genom to Genom Distance Calculator (URL 15: <http://ggdc.dsmz.de/>) web sunucusunda formül 2 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm genom sekans dizilemesi yapılan suşların sentezlemiş oldukları biyosentetik gen kümeleri antiSMASH bacterial version uygulamasında (URL 16: <https://antismash.secondarymetabolites.org#!/start>; Weber vd, 2015) belirlenmiştir. Türlerle ait genom dizileri, genbank numarası elde etmek amacıyla NCBI (URL 15: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)'ya yüklenmiştir.

3.8. Multilokus Sekans Analizi (MLSA)

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

gyrB, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin reaksiyon işlemleri 0.2 ml'lik PZR tüplerinde Thermal Block (Bioneer, MyGenie96 Thermal Block, Korea)'da yapıldı. *Streptomyces* sp. 9C54 suşundan izole edilmiş ve varlığı ile saflığı kontrol edilmiş DNA örneklerinin *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerini kodlayan DNA bölgesinin amplifikasyonu için Çizelge 3.6'da verilen primerler kullanılmıştır.

Çizelge 3.6. Multi gen dizi analizi çalışmasında amplifikasyon ürününün elde edilmesinde kullanılan primerler (Guo vd, 2008).

Primer Kodu	Sekans dizisi (5'-3')	Bağlanma sıcaklığı (°C)	Ürün büyüklüğü (bp)
<i>gyrBPF</i>	GAGGTCGTGCTGACCGTGCTGCACGC GGGCGGCAAGTTCGGC	65	1305
<i>gyrBPR</i>	GTTGATGTGCTGGCCGTCGACGTCGG CGTCCGCCAT		
<i>rpoBPF</i>	GAGCGCATGACCACCCAGGACGTCGA GGC	65	994
<i>rpoBPR</i>	CCTCGTAGTTGTGACCCTCCCACGGCA TGA		
<i>trpBPF</i>	GCGCGAGGACCTGAACCACACCGGCT CACACAAGATCAACA	66	822
<i>trpBPR</i>	TCGATGGCCGGGATGATGCCCTCGGT GCGCGACAGCAGGC		
<i>recAPF</i>	CCGCRCTCGCACAGATTGAACGSCAA TTC	60	913
<i>recAPR</i>	GCSAGGTCGGGGTTGTCCTTSAGGAA GTTGCG		
<i>atpDPF</i>	GTCGGCGACTTCACCAAGGGCAAGGT GTTCAACACC	63	998
<i>atpDPR</i>	GTGAAGTCTGGCGACGTGGGTGTT CTGGGACAGGAA		

R: A,G; S: C,G

Uygulama:

1. Master mix, primer solüsyonları gereksinim duyuluncaya kadar -20°C'de saklandı.
2. PZR amplifikasyonu için kullanılan bir örnek için 50 µl ölçüdeki bir reaksiyon karışımı:
Master mix (Promega) 25 µl
Gen bölgesi için uygun forward primer (20µM) 1 µl
Gen bölgesi için uygun reverse primer (20µM) 1 µl
DDH₂O 17 µl
DNA (50-300 ng) 1 µl
DMSO 5 µl
Toplam 50 µl
3. 0.5 ml'lik PZR tüplerine 1 µl ilave edildi.
4. Üzerine 17 µl DDH₂O ilave edildi.
5. Her bir reaksiyon tüpüne 25 µl master mix ilave edildi.
6. Her bir gen bölgesi için uygun forward ve reverse primerlerden 1 µl PZR tüpüne ilave edildi.

7. 5 µl DMSO ilave edildi ve her gen bölgesi için uygun bağlanma sıcaklıklarında PZR reaksiyonu (Bioneer, MyGenie96 Thermal Block, Korea) gerçekleştirildi. PZR reaksiyon şartları Çizelge 3.7'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.7. *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgeleri PZR reaksiyon şartları.

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

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

Amplifikasyon ürünleri % 1,5'luk agaroz jelde PZR markör (Biolabs, 1kb) ile birlikte 100 voltta 40 dakika yürütülerek UV-transillüminatör (DNR, MiniLumi Bio- Imaging Systems, Israel) üzerinde kontrol edildi. UV-transillüminatörde istenilen büyüklükte bantların oluştuğu gözlemlendi. Her bir gen bölgesinin belirli olan büyüklüğü ile markörün ürün büyüklükleri karşılaştırılarak PZR amplifikasyonu kontrol edildi. PZR amplifikasyon ürünleri elde edildikten sonra test izolatlarının *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin saflaştırılması Macrogen Inc. (Güney Kore) Firmasında hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

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

Streptomyces sp. 9C54 izolatının *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin baz dizileri Macrogen Inc. (Güney Kore) Firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin baz dizilimi, her gen bölgesine ait farklı 2 oligonükleotit primer ile Macrogen firması tarafında ABI 3730XL (otomatik baz dizileme) cihazı ile okunmuştur (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgeleri baz dizileme analizinde kullanılan oligonükleotit primerler ve nükleotit dizileri (Guo vd, 2008).

Primer kodu	Sekans dizisi (5'-3')
<i>gyrBF</i> -1	GAGGTCGTGCTGACCGTGCTGCA
<i>gyrBR</i> -4	CGCTCCTTGTCTCGGCCTC
<i>rpoBF</i> 1	TTCATGGACCAGAACACC
<i>rpoBR</i> 1	CGTAGTTGTGACCCTCCC
<i>trpBF</i>	GGCTCACACAAGATCAACAA
<i>trpBR</i>	TCGATGGCCGGGATGATGCC
<i>recAF</i>	ACAGATTGAACGGCAATTCG
<i>recAR</i>	ACCTTGTTCTTGACCACCTT
<i>atpDF</i>	ACCAAGGGCAAGGTGTTCAA
<i>atpDR</i>	GCCGGGTAGATGCCCTTCTC

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

İzolatanın macrogen Inc.firmasından hizmet alımı ile elde edilen *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin baz dizileri, tip türlerinin <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> adresinden elde edilen *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* dizileri ile MEGA7.0 (Kumar vd, 2016) programı kullanılarak hizalanmış ve elde edilen diziler filogenetik analizlerde kullanılmıştır.

Streptomyces cinsine ait 9C54 izolatının ve tip türlerinin toplu hizalaması yapıldı ve filogenetik analizleri gerçekleştirildi. Test organizması ve ilgili tip türlerinin dizi analizine bağlı filogenetik dendogramları Neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanılarak oluşturuldu. Neighbour-joining algoritmasında filogenetik uzaklık matrisi olarak p-distance metodu kullanıldı (Jukes ve Cantor, 1969). Filogenetik analizler için oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri 1000 tekrarlı olarak Mega 7.0'de (Kumar vd, 2016) ve nükleotit farklılığı çizelgeleri PHYDIT 3.1 (Chun, 2001) paket programlarında gerçekleştirildi.

3.9. Fenotipik Karakterizasyon

Yeni tür olma potansiyeli yüksek olan bazı suşların fenotipik karakterizasyonu amacıyla farklı besi ortamlarındaki gelişim, temel karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme, belirli bileşikler hidroliz edebilme, sodyum klorür varlığında gelişebilme ve farklı sıcaklık ve pH değerlerine tolerans gibi fenotipik karakterizasyon özelliklerinin testleri gerçekleştirilmiştir.

3.10. Kültürel ve Morfolojik Özellikler

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

Test suşlarının spor zincir morfolojisi Pridham vd, (1958)'ne göre taramalı elektron mikroskopu (JEOL JSM 6060, JEOL Ltd. Tokyo, Japan) kullanılarak Gazi Üniversitesi araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrasında organizmaların yoğun olarak sporlandığı kısımlardan 5 mm çapında agar bloklar

alınarak %2'lik gluteraldehit içerisinde +4°C'de 24 saat bekletilerek fikse edildi. Fiksasyondan sonra her bir agar blok dehidrasyon işlemi için 10 dk süre ile etanol serilerinden (%10 – 100) geçirildi. Daha sonra örnekler sıvı CO₂ ile Critical Point Dryer (Polaron, CPD 7501) cihazında kurutuldu. Kurumuş agar bloklar Gold Sputter ile altın kaplanarak elektron mikroskopunda spor yüzey morfolojilerinin araştırılması için hazır hale getirildi. Taramalı elektron mikroskobu ile spor yüzey morfolojileri görüntülendi.

3.11. Nümerik Analiz

Test suşlarından yeni tür olma ihtimali yüksek olan organizmaların inokülasyonu biyokimyasal testler için 5 ml'lik cam tüplere; degradasyon, besinsel ve tolerans testleri (Çizelge 3.8) için 90 mm çapındaki petrilere yapıldı. İnokülasyon için kullanılan test suşları N-Z-Amin besi ortamında (DSMZ medium no: 554) 28°C sıcaklıkta 21 gün süresince geliştirildi. Steril kürdanlarla agar üzerinden alınan spor örnekleri 5 ml Ringer çözeltisi içeren küçük vidalı tüplere alındı. Her bir suş için hazırlanan spor çözeltisinden 3 µl alınarak test ortamına multipointer inokülatör kullanılarak inoküle edildi. Gelişim özellikleri inkübasyonun 7. ve 14. günlerinde kontrol edilerek kaydedildi.

Çizelge 3.9. İzolatların nümerik analizi için uygulanan testler

A. Biyokimyasal testler		Karbon kaynakları (%1, w/v)		D.Tolerans testleri
1	Allantoin hidrolizi	27	D(-)Arabinoz	Sıcaklık
2	Arbutin hidrolizi	28	D(-)Fruktoz	53 4°C
3	Üreaz üretimi	29	D(-)Sorbitol	54 10°C
4	Nitrat indirgenmesi	30	D(+) <i>Riboz</i>	55 28°C
		31	D(+) <i>Sellobiyoz</i>	56 37°C
	B. Degradasyon testleri (% w/v)	32	D(+) <i>Galaktoz</i>	57 45°C
5	Adenin (0.5)	33	D(+) <i>Mannoz</i>	58 50°C
6	Guanin(0.5)	34	D(+) <i>Melezitoz</i>	pH
7	Hipoksantin (0.4)	35	D(+) <i>Melibiyoz</i>	59 4
8	Nişasta(1)	36	Dekstran	60 5
9	Tween 20(%1, v/v)	37	Dextrin	61 6
10	Tween 40 (%1, v/v)	38	Glikoz	62 7
11	Tween 80 (%1, v/v)	39	İnulin	63 8
12	Ksantin (0.4)	40	L(-) <i>Sorboz</i>	64 9
13	Ksilan (0.4)	41	L(+) <i>Arabinoz</i>	64 10
	C. Besinsel testler Azot kaynakları (%0.1, w/v)	42	L(+) <i>Ramnoz</i>	66 11
		43	Laktoz	67 12
14	Alfa-iso-lösin	44	L-glutamin	
15	DL-Fenilalanin	45	Maltoz	NaCl
16	Glisin	46	Mannitol	68 %0
17	L-Alanin	47	<i>myo</i> -inositol	69 %1
18	L-Arjinin	48	Starch	70 %2
19	L-Asparajin	49	Suksinik asit (%0.1)	71 %3
20	L-Sistein	50	Sukroz	72 %4
21	L-Histidin	51	Ksilitol	73 %5
22	L-Hidroksiprolin	52	Ksiloz	74 %6
23	L-Metiyonin			75 %7
24	L-Prolin			76 %8
25	L-Serin			77 %9
26	L-Treonin			78 %10
27	L-Tirozin			
28	L-Lizin			

3.11.1. Biyokimyasal testler

Arbutin hidrolizi

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

Allantoin hidrolizi

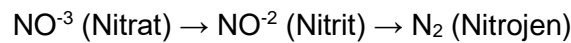
Allantoin hidrolizi, Korn-Wendisch ve Kutzner (1992) tarafından tanımlanan bazal besiyeri kullanılarak tespit edildi. Hazırlanan bazal ortama % 1 (w/v) konsantrasyonunda allantoin ilave edildi ve 5 ml'lik tüplere 2'şer ml olacak şekilde konulup otoklavla sterilizasyonu sağlandı. Pozitif kontrol olarak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

Üre hidrolizi

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

Nirat indirgenmesi

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



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

3.11.2. Degradasyon testleri

Adenin (% 0,5 w/v), elastin (% 0,3 w/v), kazein (% 1,0 w/v), hipoksantin (% 0,4 w/v), guanin (% 0,05 w/v), nişasta (% 1 w/v), L-tirozin (% 0,5 w/v), ksantin (% 0,4 w/v), ksilan (% 0,4 w/v) ve jelatin (% 0,4 w/v) degradasyonları Williams vd, (1983) tarafından tanımlanmış metotlarla belirlendi. Bu degradasyon testleri için, bazal ortam olarak Bennett"s Agar (Jones, 1949) kullanıldı. RNA (% 0,5 w/v) degradasyonu Goodfellow vd, (1979) tarafından tanımlanan bazal ortam, kitin (% 0.4 w/v) degradasyonu Hsu ve Lockwood, (1975) tarafından tanımlanan bazal ortam ve Tween 80 (Polysorbate-80; % 1 w/v) degradasyonu, Nash ve Krenz (1991) tarafından tanımlanan pepton agar bazal ortamı kullanılarak değerlendirildi. Nişasta ve kitin hariç diğer maddeler tinalizasyon ile steril edildikten sonra steril bazal ortama katıldı ve petrilere döküldü. Test suşlarının inokülasyonu, Multipoint Inokulator (SCAN 400, Mast Group Ltd., Merseyside, UK)'de her petriye 12 test organizması olacak şekilde yapıldı.

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

Nişasta degradasyonu testinde bazal ortam olarak Bennett"s Agar (Jones, 1949) kullanıldı. Nişasta (Starch: 1%, w/v), 50 ml saf su içerisinde çözüldükten sonra bazal ortam içeriğine katıldı ve besiyeri otoklav ile steril edildi. İnokülasyon sonrası, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. İnokülasyon sonunda Lugol's iodin eriyiği petri yüzeyine ince bir tabaka oluşturacak şekilde dökülerek nişasta

degradasyonu değerlendirilmesi yapıldı. Nişasta, α -1,4 bağılı düz zincirli amiloz ve hem α -1,4 hem de α -1,6 bağılı dallanmış amilopektin olmak üzere iki farklı yapısal şekilde olan α -D-glikoopiranoz alt ünitelerinden meydana gelmiş bir polisakkarittir. α -ve β -amilaz enzimlerinin her ikisi de bu polisakkariti degrade edebilmektedir. Nişasta degradasyonu değerlendirilmesinde ortama dökülen iodin ortamda nişasta varsa nişastayla birleşip koyu mavi bir kompleks oluşturur. Nişasta molekülleri amilaz enzimleri ile oligosakkarit ve diğer basit şekerlere parçalandığında ise meydana gelen bu küçük moleküller iodinle kompleks oluşturamaz. Bu nedenle, oligosakkarit ve diğer basit şekerlerin ortamda varlıkları büyüme alanı etrafındaki açık zon olarak belirlenmekte ve değerlendirme sırasında bu durum pozitif (+) olarak kaydedilmektedir.

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

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

RNA (% 0,5 w/v) degradasyonu testinde, Goodfellow vd, (1979) tarafından tanımlanan bazal ortam kullanıldı. % 0.5 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanan RNA,

tindalizasyon ile steril edildikten sonra steril bazal ortam içeriğine katıldı ve besiyeri aseptik olarak petrilere döküldü. İnokülasyon sonrası, 28 °C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı. Değerlendirme öncesi, besiyeri ortam yüzeyine 1 M HCl döküldü. Bu test, ribonükleazların yarı saflaştırılmış nükleik asit özütü solüsyonlarının vizkozitesini azaltma yeteneklerine dayanır. 1 M HCl ilavesi nükleik asitlerin fibröz bir kütle olarak çökelmelerine sebep olur. Bu nedenle, test suşlarının büyüdüğü alanın altında ve çevresinde açık zon pozitif (+) olarak değerlendirildi.

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

3.11.3. Temel karbon kaynaklarını kullanabilme

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

3.11.4. Temel azot kaynaklarını kullanabilme

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

ile karşılaştırılarak yapıldı. Test suşlarının gelişmesi, negatif kontrol plağındaki gelişmelerden daha geniş veya pozitif kontrol plağındaki gelişmelere daha yakın ise pozitif (+); negatif kontrol plağındaki gelişmelere eşit veya gelişme daha az ise negatif (-) olarak kaydedildi.

3.12. Fizyolojik Testler

3.12.1. pH toleransı

İzolatların pH toleransı, pH 4-12 aralığında gerçekleştirildi. Bazal ortam olarak modifiye edilmiş Bennett's agar (Jones, 1949) kullanıldı. pH ayarlaması, pH 4, 5 ve 6 için, 1 M HCl, pH 8, 9 ve 10 için % 20'lik Na₂CO₃ kullanarak cam elektrotlu pH metre (Model 292, Unicam Ltd.) ile yapıldı. İnokülasyon, multipoint inokülatör vasıtasıyla gerçekleştirildi ve inokülasyonlu plaklar 28 °C'de 7 ve 14 gün inkübasyondan sonra okundu. Test plağında gelişme gösteren suşlar pozitif (+), gelişme gösteremeyenler (-) olarak değerlendirildi.

3.12.2. Sıcaklığa tolerans

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

3.12.3. NaCl toleransı

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

3.13. Kemotaksonomi

Çeşitli kemotaksonomik markörlerin karşılaştırılmasının organizmalar arasındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek için güvenilir bir yöntem olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Komagata ve Suzuki, 1987; Busse vd, 1996). Aslında, önceden sınıflandırılmış taksaların birçoğunun geçerliliği kemotaksonomik veriler

sorgulandığında, birçok suşun kimyasal pozisyonlarında büyük farklılık gösterdiği ortaya çıkmıştır. Bunun bir sonucu olarak, birçok suş yeni cinslere dahil edilmiştir (Embley ve Stackebrandt, 1994). *Ad hoc* komitesi önemli kemotaksonomik verilerin yeni bir taksanın oluşturulmasını desteklemek için gerekli olduğunu ifade etmiştir (aynı aile üyeleri arasında tutarlılık olmalıdır) (Wayne vd, 1987).

Hücre, taksonomik markörler olarak kullanılmak üzere yeterince stabil olan çok sayıda kimyasal maddenin bir koleksiyonu olarak görülmektedir. Bu çok sayıdaki kimyasal maddeler belirli bakteri gruplarında ortaktır ve hücrede yüksek ölçüde düzenlenmiş enzimatik sistemler tarafından kodlanmaktadır (Komagata ve Suzuki, 1987).

3.13.1. Hüresel yağ asitleri

Hücrelerde lipitlerin en önemli bileşenlerinden biri olan yağ asitleri esas olarak sitoplazmik ve dış membranda yer almaktadır. Gram-pozitif bakterilerde fosfolipitler ve lipoteikoik asitler, Gram-negatif bakterilerde lipopolisakkaritler ve fosfolipitlerin bileşenleri gibi (Busse vd, 1996) lokalize olmuştur (Komagata ve Suzuki, 1987). Yağ asitlerinin çeşitli tiplerinin mevcudiyeti ve nisbi bolluğu referans türlerle karşılaştırılarak analiz edilmekte ve hem tanımlama hem de sınıflandırma amacıyla kullanılmaktadır (Huys vd, 1994; Busse vd, 1996). Bazı yağ asiti profilleri ya da spesifik bir yağ asitinin tesbiti belirli filogenetik bir grup için karakteristik olabilmekte (Komagata ve Suzuki, 1987; Busse vd, 1996) ve hatta yakın akraba türler arasındaki farklılığı ortaya çıkarabilmektedir (Huys vd, 1994). Sınıflandırma ve tanımlama için veri tabanlarıyla yağ asiti profilleri karşılaştırıldığında dikkate alınması gereken en önemli faktör, yağ asiti kompozisyonunun büyüme şartlarına bağlı olduğu ve bu nedenle de yapılan karşılaştırmaların anlamlı olması için standart şartlar altında hücrelerin üretilmesinin gerekliliğidir (Busse vd, 1996).

3.13.2. Respiratuar izoprenoit kinonlar

Hem sitoplazmik hem de mitokondriyal membranların bileşeni olan respiratuar izoprenoit kinonlar elektron taşıma zincirinde önemli bir rol oynamaktadır ve bakteriyel karakterizasyon için izoprenoit kinonların analizleri kinonların tiplerinin tanımlanmasına dayalıdır. Kinon tiplerinin tanımlanması doymuş izoprenoit birimlerinin sayısının yanısıra izoprenit yan zincirlerinin uzunluğu ile yapılmaktadır. Kinonların farklı tiplerinin varlığı (ya da bunların kompozisyonları) bakterilerin farklı sınıflarının karakteristiğidir ve kinonların yan zincirlerinin analizi (hem uzunluk hem de doymuluk düzeyi) tanımlama ve farklılaşma için çok önemli bilgi sağlamaktadır.

Örneğin, menakinonların sadece Gram-pozitif bakterilerde mevcut olduğu bilinmektedir (daha ayrıntılı farklılaşmaya izin veren yan zincirlerin doygunluk düzeyi ile), *Proteobacteria*'nın α -, β - ve γ - alt sınıfının ubikinon içerdiği, δ - ve ϵ - alt sınıfının ise menakinon ve ubikinon içerdiği bilinmektedir (Busse vd, 1996).

3.13.3. Polar lipitler

Polar lipitler genellikle iki yağ asidine bağlanarak, polar bir grupla bakteriyel membranların ana bileşenini oluşturmaktadırlar. Bakteriyel membranlarda polar lipitlerin çok farklı tipleri vardır ve fosfolipitler en yaygın bulunanıdır. Fakat aynı zamanda ornitin ya da serin içeren polar lipitler ve fosfor içermeyen glikolipitlerde bulunmaktadır. Tek bir polar lipitin ya da belirli bir kombinasyonun varlığı bazı taksaların karakteristiği olabilmektedir. Gram-pozitif bakterilerin farklılaşması ve tanımlanması için kullanılan beş tanınmış fosfolipit örneği (PI-V) bulunmaktadır. Farklı lipitlerin tanımlanması referans ile tanımlanan suşun Rf değeri ve boyanarak spot oluşumlarının (ince tabaka kromatografisi (TLC) tarafından ayrıldıktan sonra) karşılaştırılması ile yapılmaktadır. Ancak, polar lipitlerin tanımlanmasında genellikle zorluklarla karşılaşmaktadır (Busse vd, 1996).

3.13.4. Tüm hücre şekerleri

Bakterilerin hücre duvarlarının peptidoglikan tabakalarındaki muramik asit ve glikozamin varlığına ek olarak çeşitli şekerler bulunmaktadır (Komagata ve Suzuki, 1987). Hücre duvarlarının şeker bileşenlerinin karşılaştırılması bakterilerin tanımlanması ve sınıflandırılması için önemli bilgi sağlamakta ve Gram-pozitif bakterileri tanımlamakta yaygın olarak kullanılmaktadır (Busse vd, 1996). Bazı bakteri gruplarının tüm hücre şeker profilleri farklı karakteristiktir. Örneğin, filamentli aktinomisetlerde tanımlanmış beş şeker profili bulunmaktadır (tanısal olmayan bir şeker ile). Ancak bazı taksonların standart bir şeker profili yoktur (Komagata ve Suzuki, 1987; Busse vd, 1996). Şekerlerin varlığı, referans standartlarla TLC'de ayrıldıktan sonra Rf değerlerinin karşılaştırılması ve boyanma farklılıkları ile belirlenebilmektedir. Bilinmeyen şekerlerin tanımlanmasında karşılaştırma için uygun standartların bulunmaması nedeniyle zorluklar bulunmaktadır (Busse vd, 1996).

3.14. Antimikrobiyal aktivite testi

16S rRNA gen dizi analizine göre yeni tür olma olasılığı bulunan test izolatları, başta Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler, maya ve filamentli fungus olmak üzere 6

patojen organizmanın (Çizelge 3.10) gelişmelerini inhibe etme kabiliyetlerine göre incelendi (Williams vd, 1983). Test izolatlarının kültür ortamına inokülasyonu, otomatik pipetle (P1000: Nichipet EX, Nichiryō Co.,Ltd, Tokyo 101-0038, Japan) nokta ekim yöntemiyle gerçekleştirildi. Her bir izolat için, ağzı kapaklı küçük şişelere 1,5 ml ringer çözeltisi ilave edilip 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. ISP 2 agar ortamında 28 °C'de gelişen izolatların spor ve substrat miselleri, steril öze yardımı ile etiketlenmiş, içerisinde ringer bulunan küçük cam şişelere aseptik koşullarda transfer edildi. Daha sonra vorteksle karıştırılarak homojenize edilen bakteri solüsyonlarından otomatik pipet ile 7µl alınarak antibiyotik ilavesiz modifiye edilmiş Bennett's Agar (Jones, 1949) yüzeyine 5'li gruplar halinde nokta ekim yoluyla inoküle edildi. İnokülasyonlu plaklar, 28 °C'de 3 gün süreyle inkübasyona bırakıldı ve 3. günün sonunda gelişen koloniler üzerine, steril enjektör yardımıyla 3-5 ml kloroform döküldü ve kloroformun buharlaşması için petri plaklarının kapağı, 40 dakika boyunca yarı açık bir şekilde tutuldu. Bu şekilde öldürülen koloniler üzerine, her biri % 5' lik nutrient agar içerisinde 2 gün süreyle gelişen patojen test organizmaları yayma plak yöntemi ile inoküle edildi. İnokülasyonlu plakların, 37 °C'de 48 saatlik inkübasyonun sonrasında koloniler etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçüldü.

Çizelge 3.10. Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan patojen organizmalar

Patojen organizma suşu	
1	<i>Aspergillus niger</i> -izolat
2	<i>Bacillus subtilis</i> NRRL-B 209 ^T
3	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231 ^T
4	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^T
5	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 ^T
6	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ^T

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. İzolasyonda kullanılan ana materyal ve toprak örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Çalışma alanından 6 farklı lokaliteden alınan 16 farklı ana materyal ve üzerinde oluşmuş toprak örneklerinin toprak reaksiyonu (pH); saturasyon çamurunda pH metre kullanılarak (Soil Survey Laboratory, 1992, 2004), organik madde miktarı ise Walkley-Black yönteminin Jackson tarafından modifiye edilmiş şekli ile yapıldı (Jackson, 1958). Buna göre çalışma matreyallerinde 6,27 ve 8,64 aralığında pH değerleri belirlenmiştir. Organik madde miktarı ise en yüksek değer olarak %4,5 ile mera alanından aldığımız 14 numaralı toprak örneğinde, en düşük değer olarak % 0,1 ile orman bölgesinden aldığımız 25 numaralı toprak örneğinde belirlenmiştir. Örneklerin kil miktarının ise en yüksek değer olan %78,45 ve en düşük değer olan %14,64 değerleri arasında dağılım gösterdiği yaptığımız ölçümlerde belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Toprak örneklerine ait veriler

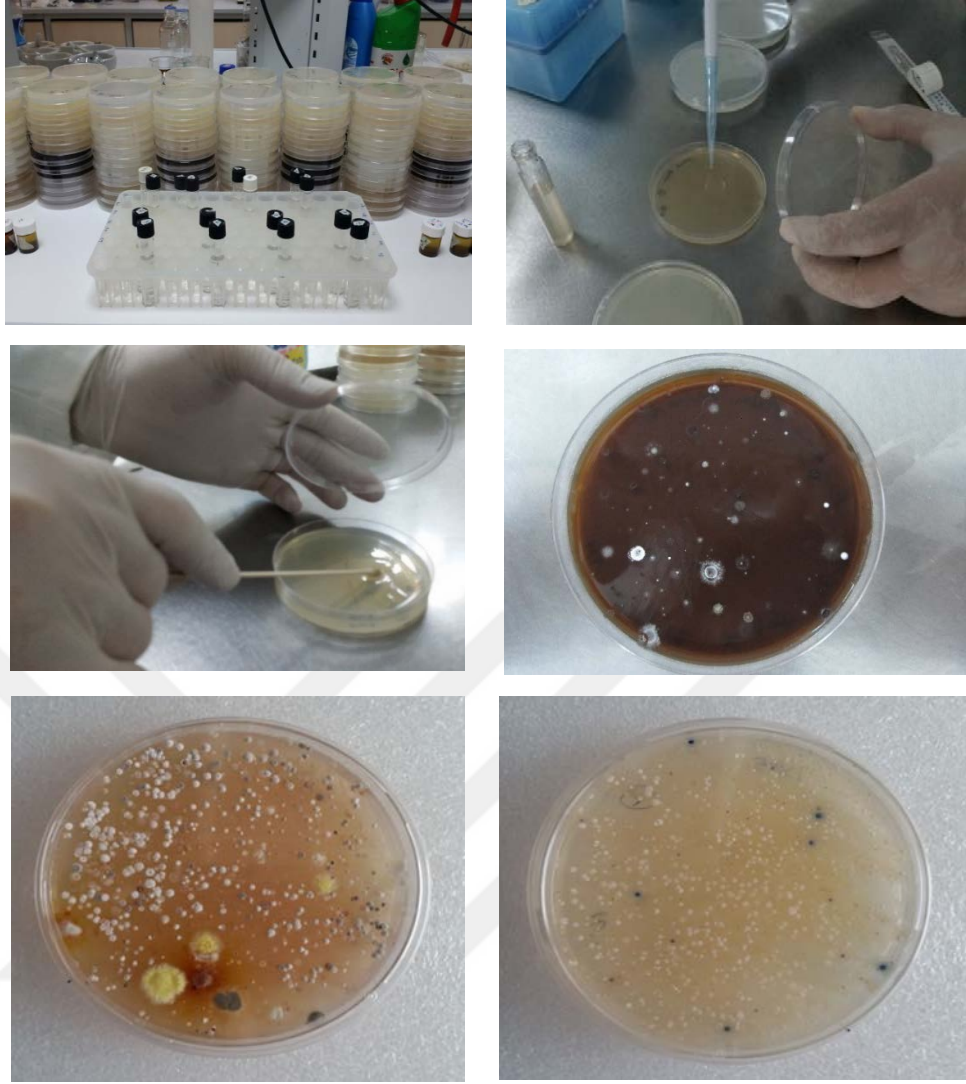
Profil no:	Derinlik (cm)	Laboratuvar no	pH	%CaCO ₃	Org. mad. %	Kil miktarı %	Lokalite özellikleri
1	0-23	1	6,55	0,2	3,3	56,25	Taban Arazi
	65-106	3	8,64	11,09	1,1	68,44	h:25m
	106+	4	8,31	12,66	1,1	78,45	Kuru Tarım
3	0-15	7	8,28	0,785	2,2	58,26	Etek arazi
	15-66	8	8,52	2,258	0,7	61,92	h:50m
	66+	9	8,4	2,749	0,5	37,28	Kuru tarım
5	0-11	12	6,74	0,589	1,5	22,05	Üst yamaç
	11+	13	7,11	0,687	0,9	14,64	h:190m Orman
6	0-12	14	8,14	0,687	4,5	61,93	Tepe üstü düzlük
	41-84	16	6,92	0,981	1,4	37,93	h:251m
	84+	17	7,94	34,365	1,3	30,01	Mera
7	0-16	18	6,27	0,196	2,3	34,40	Üst Yamaç
	16+	19	7,03	0,196	0,4	17,11	h:185m Mera
9	0-18	24	6,27	1,080	1,9	54,37	Alçak plato
	18-57	25	6,65	1,080	0,1	61,10	düzlüğü
	57+	26	6,61	0,392	0,6	57,52	h:160m Orman

Toprak örneklerinin kalsiyum karbonat içeriği Scheibler kalsimetre yöntemi (Jackson, 1958) kullanılarak tayin edilmiştir. Buna göre meralık alandan temin ettiğimiz 17 numaralı toprağın kireç oranı (%34) ile kuru tarım arazisinden alınan 3

(%11) ve 4 (%12) numaralı toprak örneklerinin kireç oranları çalışma materyalleri içerisinde en yüksek kireç oranına sahip numuneler olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

4.1.2. Toprak örneklerinden izole edilen aktinobakteri suşları

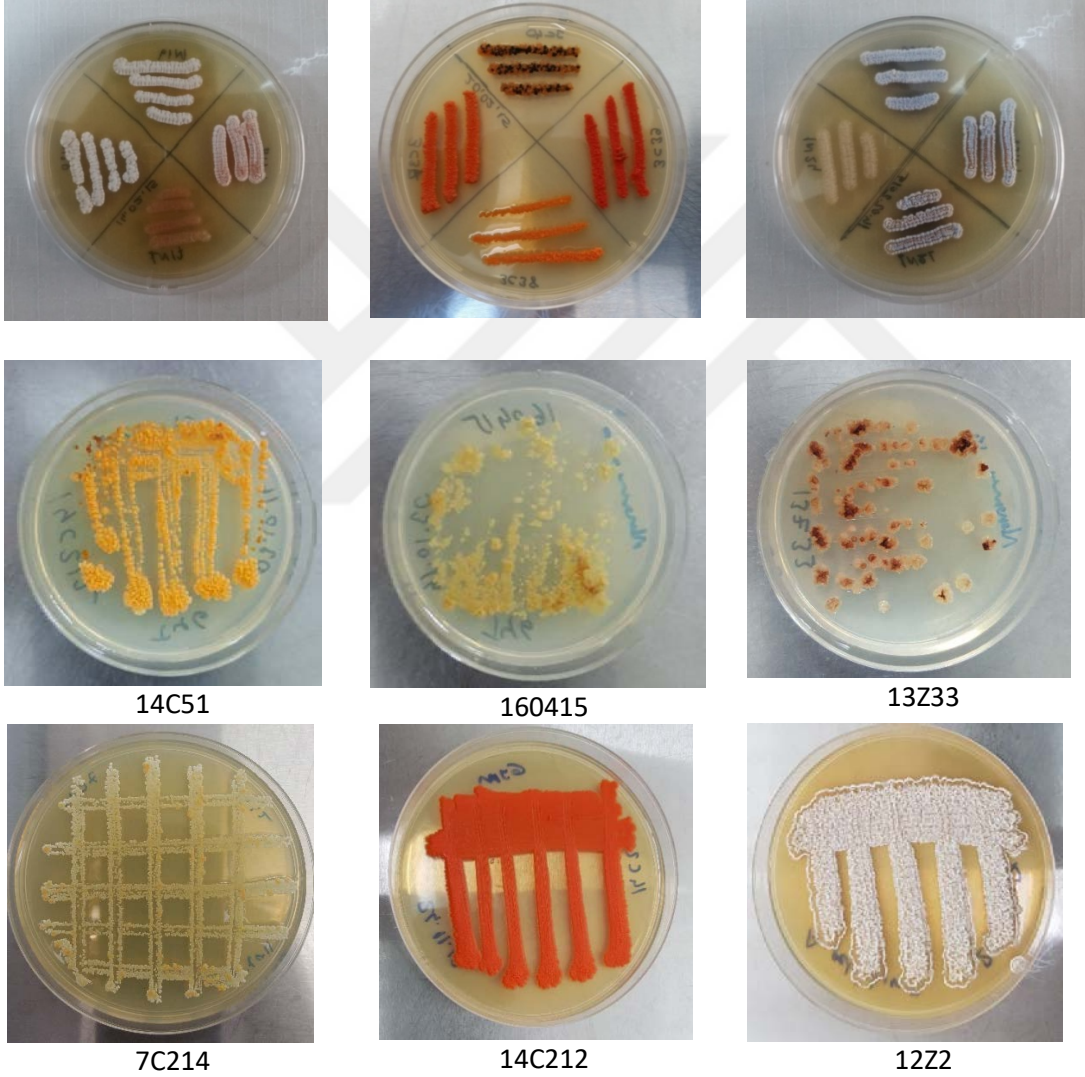
Altı farklı profil noktasından toprak tabakalaşmasına göre alınan toprak örneklerinden aktinomisetlerin seçici olarak izolasyonu amacıyla 9 farklı besiyeri kullanılmak suretiyle 570 izolat elde edildi (Şekil 4.1, 4.2). İzolatlar ISP2 ve TYGA (Tryptone Yeast Glucose Extract Agar) besi ortalarında substrat ve hava miselyum rengi, çözümlü pigment ve melanin üretimi özellikleri dikkate alınarak 32 farklı renk grubuna ayrıldı. Bu renk gruplarından temsilci olarak her birinden en az bir suş olacak şekilde 159 tane test izolatı seçildi ve 16S rRNA gen dizi analizi ile cins düzeyinde tanımlandı. Buna göre 16S rRNA gen dizi analizi gerçekleştirilen 159 izolatın 62 tanesi *Streptomyces* cinsi, 57 tanesi *Micromonospora* cinsi, 16 tanesi *Actinomadura* cinsi, 12 tanesi *Nonomurae* cinsi, 4 tanesi *Actinopolymorpha* cinsi, 4 tanesi *Nocardia* cinsi, 1 tanesi *Rhodococcus* cinsi, 1 tanesi *Saccharopolyspora* cinsi, 1 tanesi *Palantactinospora* ve 1 tanesi de *Verrucosispora* cinsi olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3, Çizelge 4.2).



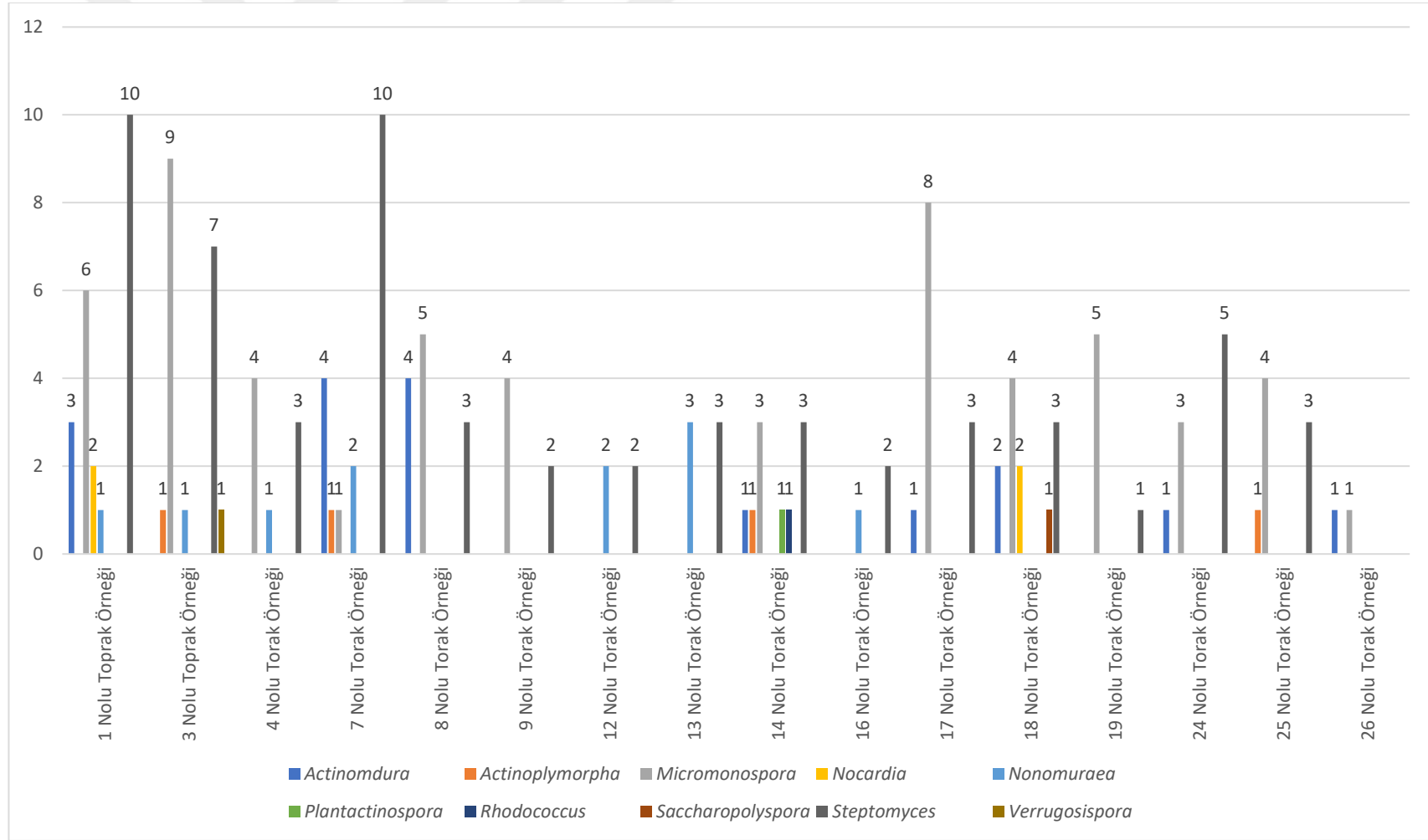
Şekil 4.1. Mikroorganizmaların seçici izolasyonu için hazırlanan besiyerleri ve dilusyon plaka yöntemiyle elde edilen izolasyon petripleri

1 numaralı toprak örneğinden; 3 *Actinomadura*, 6 *Micromonospora*, 2 *Nocardia*, 1 *Nonomuraea* ve 10 *Streptomyces* suşu; 3 numaralı toprak örneğinden; 1 *Actinoplymorpha*, 9 *Micromonospora*, 1 *Nonomuraea*, 7 *Streptomyces* ve 1 *Verrugosispora* suşu; 4 numaralı toprak örneğinden; 4 *Micromonospora*, 1 *Nonomuraea* ve 3 *Streptomyces* suşu; 7 numaralı toprak örneğinden; 4 *Actinomadura*, 1 *Actinoplymorpha*, 1 *Micromonospora*, 2 *Nonomuraea*, 10 *Streptomyces* suşu; 8 numaralı toprak örneğinden; 4 *Actinomadura*, 5 *Micromonospora* ve 3 *Streptomyces* suşu; 9 numaralı toprak örneğinden; 4 *Micromonospora* ve 2 *Streptomyces* suşu; 12 numaralı toprak örneğinden; 2 *Nonomuraea* ve 2 *Streptomyces* suşu; 13 numaralı toprak örneğinden örneğinden; 3 *Nonomuraea* ve 3 *Streptomyces* suşu; 14 numaralı toprak örneğinden; 1 *Actinomadura*, 1 *Actinoplymorpha*, 3 *Micromonospora*, 1 *Plantactinospora*, 1 *Rhodococcus* ve 3 *Streptomyces* suşu; 16 numaralı toprak örneğinden; 1

Nonomuraea ve 2 *Streptomyces* suşu; 17 numaralı toprak örneğinden; 1 *Actinomadura*, 8 *Micromonospora* ve 3 *Streptomyces* suşu; 18 numaralı toprak örneğinden; 2 *Actinomadura*, 4 *Micromonospora*, 2 *Nocardia*, 1 *Saccharopolyspora* ve 3 *Streptomyces* suşu; 19 numaralı toprak örneğinden; 5 *Micromonospora* ve 1 *Streptomyces* suşu; 24 numaralı toprak örneğinden; 1 *Actinomadura*, 3 *Micromonospora* ve 5 *Streptomyces* suşu; 25 numaralı toprak örneğinden; 1 *Actinoplymorpha*, 4 *Micromonospora* ve 3 *Streptomyces* suşu; 26 numaralı toprak örneğinden; ise 1 *Actinomadura*, 1 *Micromonospora* ve 2 *Streptomyces* suşu olmak üzere toplamda 159 *Actinobacteria* suşu izole edilmiştir (Şekil 4.4, Çizelge 4.2).



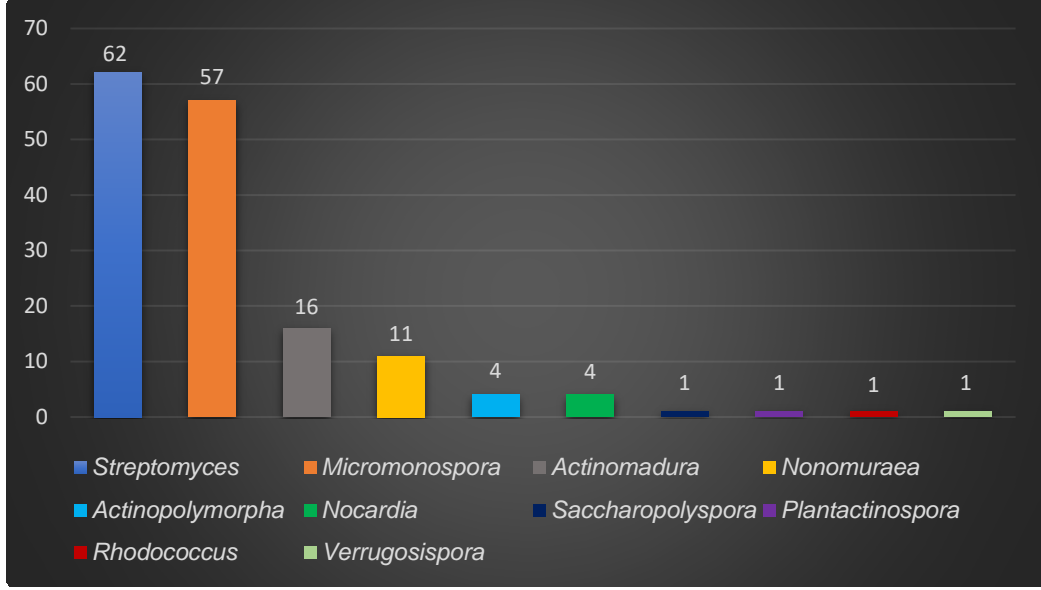
Şekil 4.2. Saf kültür ve yoğun ekim çalışmaları



Şekil 4.3. Ait oldukları cinsleri belirlenen izolatların toprak örneklerine göre dağılımı

Çizelge 4.2. İzolatların toprak örneklerine göre dağılımı

Toprak no	1	3	4	7	8	9	12	13	14	16	17	18	19	24	25	26
Cins																
Actinomadura	1C51 1C52 1C55				7C214 7C221 7C222 7C229	8C21 8C37 8C39 8C22			14C53		17H5	18C64 18C74		24C3		26R4
Actinoplymorpha	1C39 1C62 1C138 1C148 1C149 1C151	3H75 3C13 3C22 3C26 3C28 3C29 3C38 3C40 3C77 3C83	4C7 4C13 4C14 4C18	7A210 7C216	8C17 8C20 8C40 8C41 8C24	9C50 9C51 9C53 9C225			14C7 14C4 14C6 14C6-1		17H7 17C12 17C13 17C18 17N24 17C24 17C30 17H32	18C55 18C58 18C68	19C1 19C2 19C12 19C16 19C161	24C2 24C5T 24C9	25B202 25C1 25C2 25C3 25C39	26C14
Nocardia	1C145 1C61 1N79	3C42	4N11	7N204 7N207			12N61 12C250	13A200 13Z41 13Z33	14Z2	160415		18C54-1 18Z208				
Nonomuraea																
Plantactinospora									14C51 14C212							
Rhodococcus												18N54				
Saccharopolyspora	1N18 1N80 1R70 1Z81	3R69 3Z50 3Z77 3I72	4N5 4R5 4Z3	7C109 7C113 7G103 7G106	8C19 8I26 8I27	9C54 9C61	12Z2 12H61	13Z43 13Z36 13I25	14Z1 14G2 14Z205	16Z36 16I29	17G2 17H28 17B4	18C50 18N50 18H51	19Z26	24I3 24I6 24I12 24C5B 24I15 24I16	25R30 25R31 25Z24 25Z22	26H66 26H3 26H52
Streptomyces	1R29 1R30 1R37 1Z104 1R36	3C10 3I68 3R72		7C103 7C110 7C119 7N206 7G109												
Verrugosispora		3C81														
TOPLAM	21	18	8	17	12	6	4	6	11	3	12	11	6	10	9	5



Şekil 4.4. İzolatların cinslere göre dağılım grafiği

4.1.3. 16S rRNA geni dizi analizi ve filogenisi

Actinomadura cinsi

16S rRNA gen dizi analizi yapılan 159 izolattan 16 tanesinin *Actinomadura* cinsi üyesi olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların elde edildikleri toprak kodları, izolat numaraları, en yakın tip türleri ve benzerlik oranlarına ilişkin bilgiler Çizelge 4.3'te verilmiştir.

16S rRNA gen bölgesine dayalı olarak oluşturulan filogenetik dendogramda 1C51, 1C55, 1C52, 7C214, 8C21, 8C37, 8C39 ve 18C74 suşları *Actinomadura maheshkhaliensis* 13-12-50^T tip türü ile birlikte kümelenmiştir. Aynı filogenetik dendogramda 7C221, 7C229, 8C22, 17H5, 18C64 ve 24C3 izolatları da *Actinomadura nitritigenes* DSM 44137^T tip türü ile birlikte kümelenmişlerdir (Şekil 4.5).

Actinomadura sp. 14C53 izolatu *Actinomadura geliboluensis* A8036^T tip türü ile 16S rRNA gen bölgesi açısından %98.54 (1440 nükleotitte 21 nükleotit farklılığı) dizi benzerliği göstermiştir. *Actinomadura yumaensis* JCM 3369^T türü ile %98.46 (1430 nükleotitte 22 nükleotit farklılığı), *Actinomadura latina* NBRC 106108^T türü ile de %98.33 (1440 nükleotitte 24 nükleotit farklılığı) dizi benzerliği göstermiştir (Şekil 4.5).

Actinomadura sp. 26R4 izolatu *Actinomadura madurae* DSM 43067^T tip türü ile %99.86 (1439 nükleotitte 2 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermiştir. *Actinomadura* sp. 7C222 izolatu 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği

bakımından *Actinomadura montaniterrae* CYP1-1B^T tip türü ile %99.44 (1439 nükleotitte 8 nükleotit farklılığı) benzerliğe sahiptir (Şekil 4.5).

Actinomadura sp. 8C22 ve *Actinomadura* sp.18C64 suşları 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bakımından *Actinomadura nitritigenes* DSM 44137^T tip türü ile %99.86 benzerlik göstermiştir. *Actinomadura* sp. 17H5 ve *Actinomadura* sp. 24C3 izolatları aynı tip türü ile %99.79; *Actinomadura* sp. 7C221 ve *Actinomadura* sp. 7C229 izolatlarının ise %99.72 (1420 nükleotitte 4 nükleotit farklılığı) benzerliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).

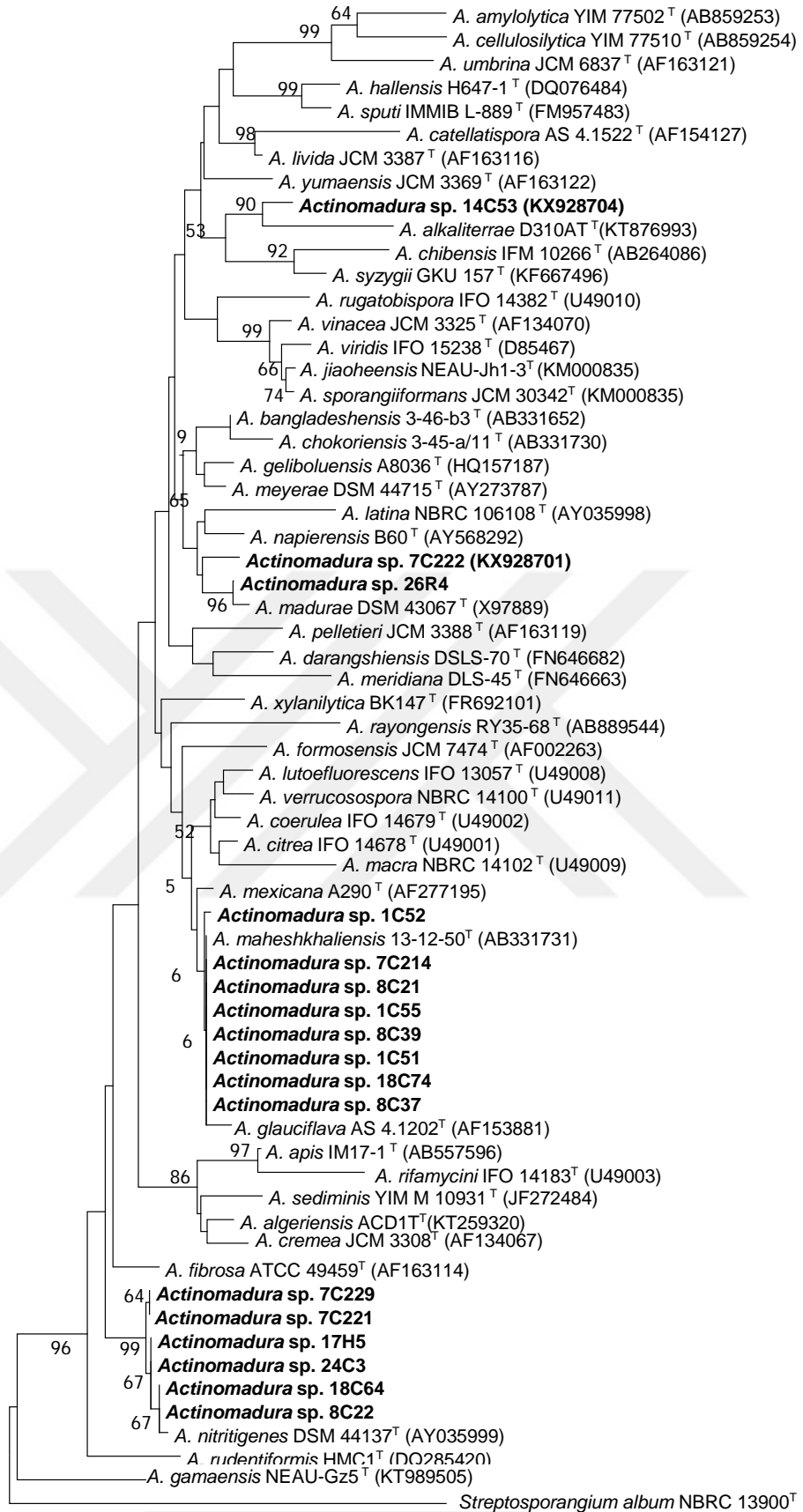
Actinomadura maheshkhaliensis 13-12-50^T tip türü ile *Actinomadura* sp.1C52 ve *Actinomadura* sp. 1C55 izolatının 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği %99.93; *Actinomadura* sp. 7C214 izolatının ise %99.72 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

Actinomadura sp. 1C51, *Actinomadura* sp.8C21, *Actinomadura* sp. 8C37, *Actinomadura* sp. 8C39 ve *Actinomadura* sp.18C74 suşları ile *Actinomadura maheshkhaliensis* 13-12-50^T tip türü arasında 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği %100'dür (Şekil 4.5).

Çizelge 4.3. *Actinomadura* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
1C51	1	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	100
1C52	1	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	99.93
1C55	1	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	99.93
7C214	7	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	99.72
7C221	7	<i>Actinomadura nitritigenes</i> DSM 44137 ^T	99.72
7C222	7	<i>Actinomadura montaniterrae</i> CYP1-1B ^T	99.44
7C229	7	<i>Actinomadura nitritigenes</i> DSM 44137 ^T	99.72
8C21	8	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	100
8C37	8	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	100
8C39	8	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	100
8C22	8	<i>Actinomadura nitritigenes</i> DSM 44137 ^T	99.86
14C53	14	<i>Actinomadura geliboluensis</i> A8036 ^T	98.54
17H5	17	<i>Actinomadura nitritigenes</i> DSM 44137 ^T	99.79
18C64	18	<i>Actinomadura nitritigenes</i> DSM 44137 ^T	99.86
18C74	18	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i> 13-12-50 ^T	100
24C3	24	<i>Actinomadura nitritigenes</i> DSM 44137 ^T	99.79
26R4	26	<i>Actinomadura madurae</i> DSM 43067 ^T	99.86

Actinomadura cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour Joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritmasına göre belirlenmiştir. Filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak *Streptosporangium album* NBRC 13900^T tip suşu kullanılmıştır.



Şekil 4.5. *Actinomadura* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değer verilmiştir.

Actinopolymorpha cinsi

16S rRNA gen dizi analizi yapılan 159 izolattan 3H75, 7A210, 14C7 ve 25B202 koduna sahip olan 4 tanesinin *Actinopolymorpha* cinsi üyesi olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların elde edildikleri toprak kodları, izolat numaraları, en yakın tip türleri ve benzerlik oranlarına ilişkin bilgiler Çizelge 4.4'te verilmiştir.

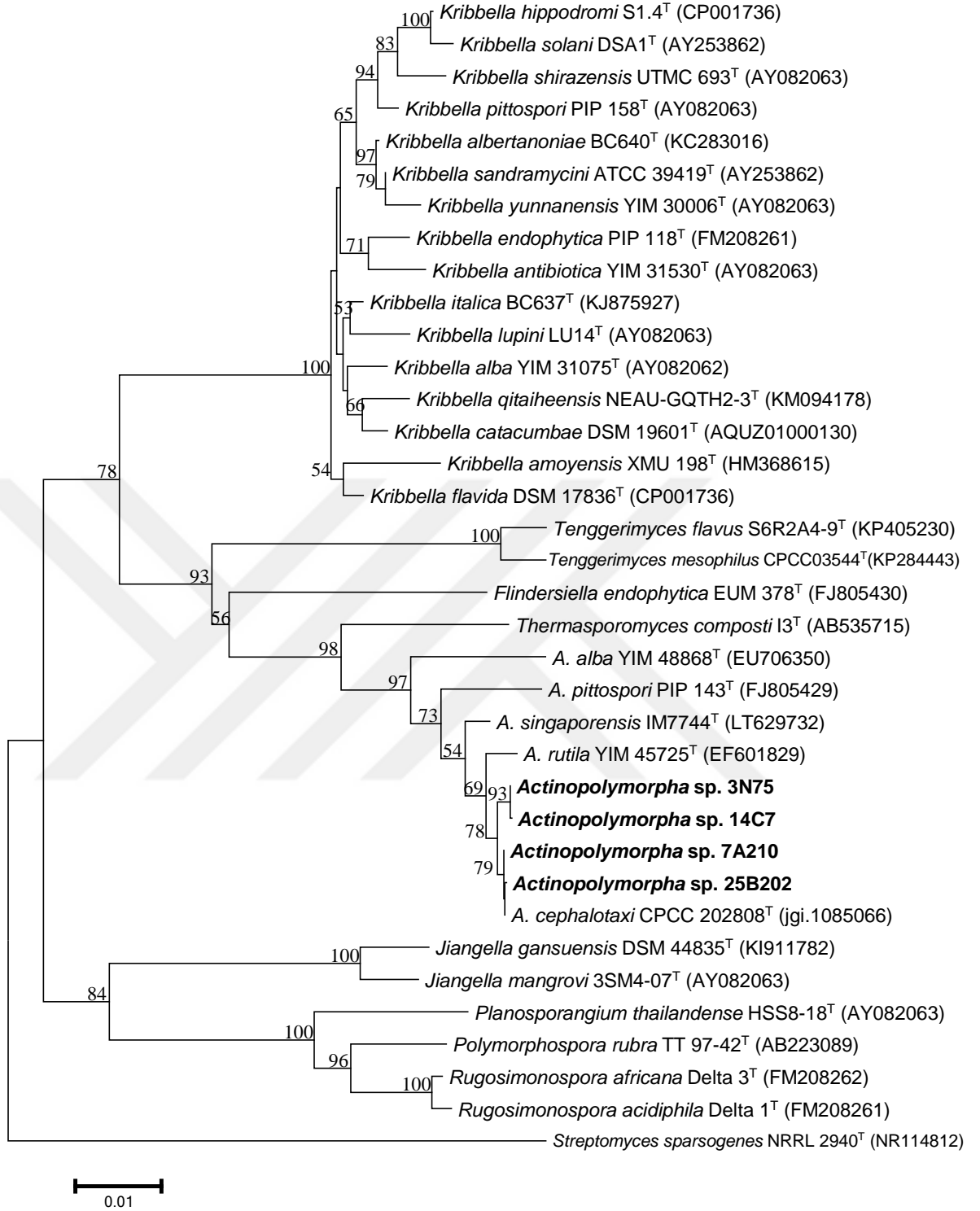
Tüm *Actinopolymorpha* izolatları 16S rRNA gen bölgesine dayalı olarak oluşturulan filogenetik dendogramda *Actinopolymorpha cephalotaxi* CPCC 202808^T tip türü ile kümelenmiştir.

3N75, 14C7, 7A210 ve 25B202 suşları 16S rRNA gen bölgesine dizi benzerliği bakımından *Actinopolymorpha cephalotaxi* CPCC 202808^T tip türü ile yakın benzerlik göstermiştir. Bu benzerliğin oranı 3N75 ve 14C7 izolatları için %99.86 (1438 nükleotitte 2 nükleotit farklılığı), 7A210 ve 25B202 izolatları için ise %100 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. *Actinopolymorpha* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
3N75	3	<i>Actinopolymorpha cephalotaxi</i> CPCC 202808 ^T	99.86
7A210	7	<i>Actinopolymorpha cephalotaxi</i> CPCC 202808 ^T	100.0
14C7	14	<i>Actinopolymorpha cephalotaxi</i> CPCC 202808 ^T	99.86
25B202	25	<i>Actinopolymorpha cephalotaxi</i> CPCC 202808 ^T	100.0

Actinopolymorpha cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Streptomyces sparsogenes* NRRL 2940^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır.



Şekil 4.6. *Actinopolymorpha* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

Micromonospora cinsi

16S rRNA gen dizi analizi yapılan 159 izolattan 57 tanesinin *Micromonospora* cinsi üyesi olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların elde edildikleri toprak kodları, izolat numaraları, en yakın tip türleri ve benzerlik oranlarına ilişkin bilgiler Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da verilmiştir.

16S rRNA gen bölgesine dizi benzerliği açısından 17C24,17H24 izolatları *Micromonospora costi* CS1-12^T tip türü ile %99.37 (1438 nükleotitte 9 nükleotit farklılığı); 19C16, 19C161 ve 25C2 izolatları da %99.51 (1435 nükleotitte 7 nükleotit farklılığı) benzerlik göstermektedir(Şekil 4.7).

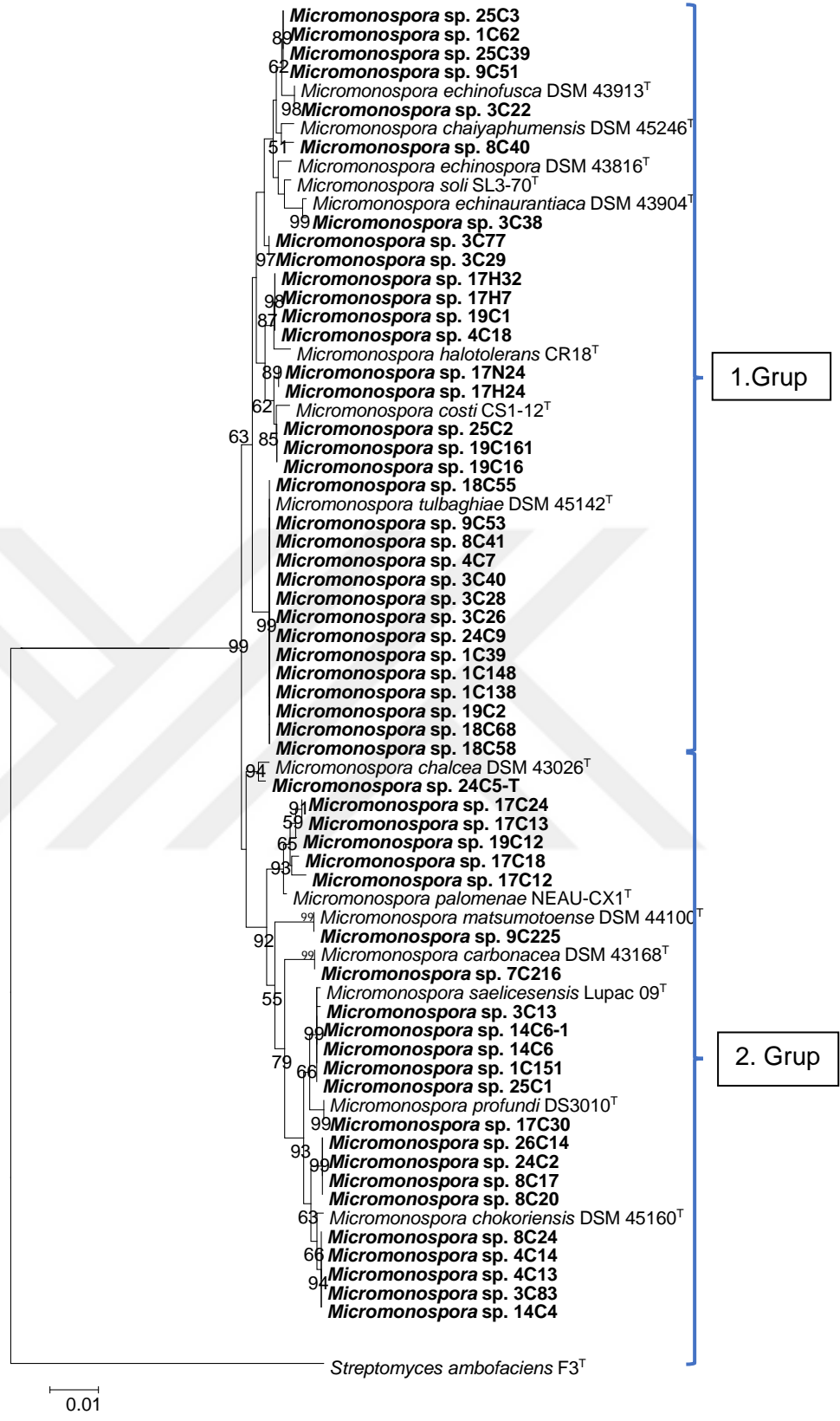
8C17, 8C20, 24C2 ve 24C14 izolatları *Micromonospora chokoriensis* 2-19/6^T tip türü 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği açısından %99.58 (1436 nükleotitte 6 nükleotit farklılığı); 3C83, 4C13,4C14, 8C24,8C50 ve 14C4 izolatları ise %99.79 (1436 nükleotitte 3 nükleotit farklılığı) benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 8C40 izolatı *Micromonospora chaiyaphumensis* DSM 45246^T tip türü ile %99.51 (1437 nükleotitte 7 nükleotit farklılığı) benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Micromonospora sp. 24C5T izolatı 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde *Micromonospora chalcea* DSM 43026^T tip türü ile %99.65 (1427 nükleotitte 5 nükleotit farklılığı) benzerlik göstermiştir.

Gerçekleştirilen 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 7C216 izolatı *Micromonospora carbonacea* DSM 43168^T tip türü ile %100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Micromonospora cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Streptomyces ambofaciens* F3^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır.



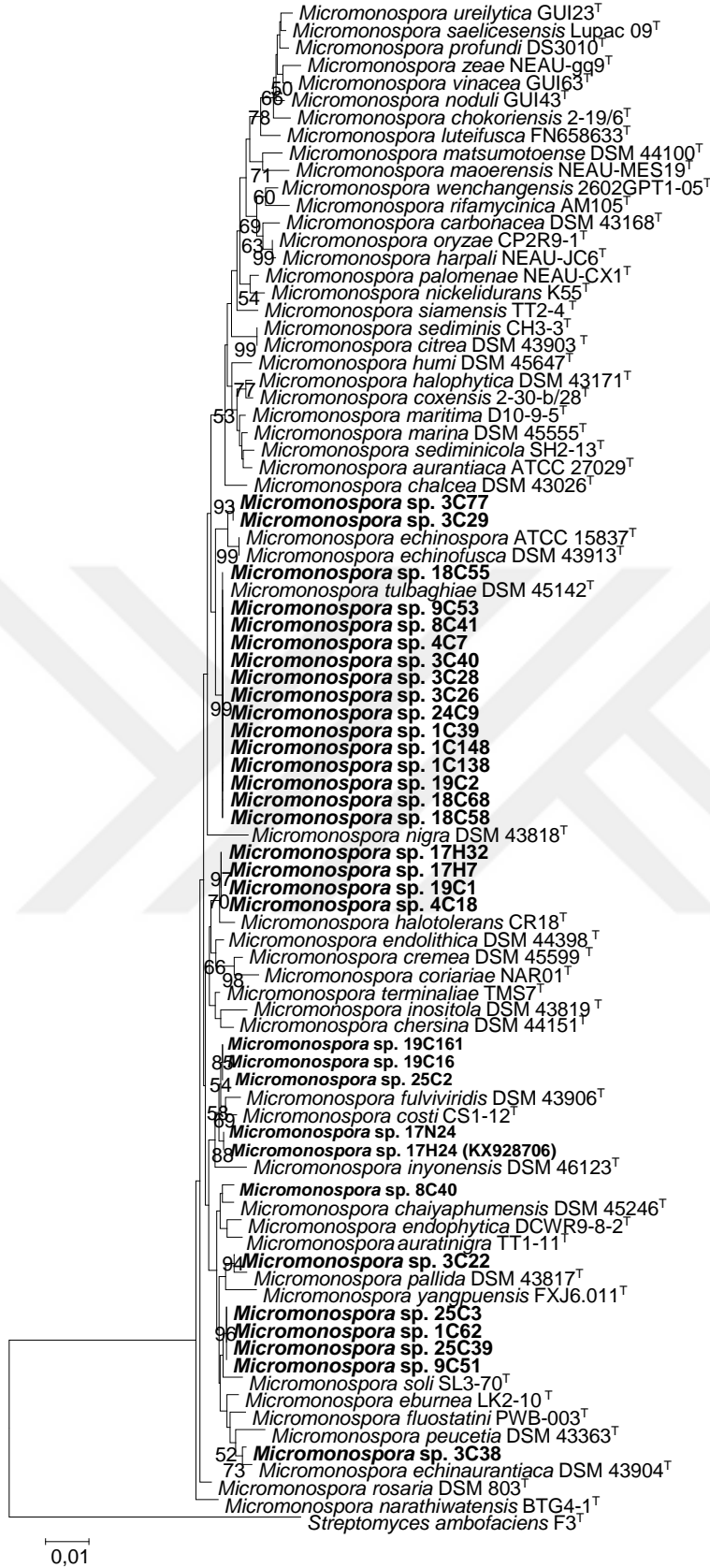
Şekil 4.7. *Micromonospora* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde ≥ 50 değerler gösterilmiştir.

Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 1C62 ve 3C22 izolatları sırasıyla *Micromonospora echinofusca* DSM 43913^T tip türü ile %99.58 ve %99.93 benzerlik göstermiştir. 3C29 izolatının 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği açısından *Micromonospora echinospora* ATCC 15837^T tip türü ile %99.64 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. 3C38 izolatı *Micromonospora echinaurantiaca* DSM 43904^T tip türü ile %99.72 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermiştir. 19C1 izolatı *Micromonospora halotolerans* CR18^T tip türü ile %99.51; 4C18 ve 17H17 izolatları ise %99.65 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.8).

16S rRNA gen bölgesi dizi analizlerine göre 9C225 izolatı *Micromonospora matsumotoense* DSM 44100^T tip türü ile %100 benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4.5. *Micromonospora* cinsine ait 1. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
1C39	1	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
1C62	1	<i>Micromonospora echinofusca</i> DSM 43913 ^T	99.58
1C138	1	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
1C148	1	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
1C149	1	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
3C22	3	<i>Micromonospora echinofusca</i> DSM 43913 ^T	99.93
3C26	3	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
3C28	3	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
3C29	3	<i>Micromonospora echinospora</i> ATCC 15837 ^T	99.64
3C40	3	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
3C77	3	<i>Micromonospora echinospora</i> ATCC 15837 ^T	99.64
3C83	3	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.79
4C7	4	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
4C18	4	<i>Micromonospora halotolerans</i> CR18 ^T	99.65
8C40	8	<i>Micromonospora chalyphumensis</i> DSM 45246 ^T	99.51
8C41	8	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
9C50	9	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.79
9C51	9	<i>Micromonospora soli</i> SL3-70 ^T	99.51
9C53	9	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
14C6	14	<i>Micromonospora saelicesensis</i> Lupac 09 ^T	99.93
17H7	17	<i>Micromonospora halotolerans</i> CR18 ^T	99.65
17H24	17	<i>Micromonospora costii</i> CS1-12 ^T	99.37
17C24	17	<i>Micromonospora costii</i> CS1-12 ^T	99.37
17H32	17	<i>Micromonospora halotolerans</i> CR18 ^T	99.65
18C55	18	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
18C58	18	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
18C68	18	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
19C1	19	<i>Micromonospora halotolerans</i> CR18 ^T	99.51
19C2	19	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
19C16	19	<i>Micromonospora costii</i> CS1-12 ^T	99.51
19C161	19	<i>Micromonospora costii</i> CS1-12 ^T	99.51
24C5T	24	<i>Micromonospora chalycea</i> DSM 43026 ^T	99.65
24C9	24	<i>Micromonospora tulbaghiaie</i> DSM 45142 ^T	100.00
25C2	25	<i>Micromonospora costii</i> CS1-12 ^T	99.51
25C3	25	<i>Micromonospora soli</i> SL3-70 ^T	99.51
25C39	25	<i>Micromonospora soli</i> SL3-70 ^T	99.51

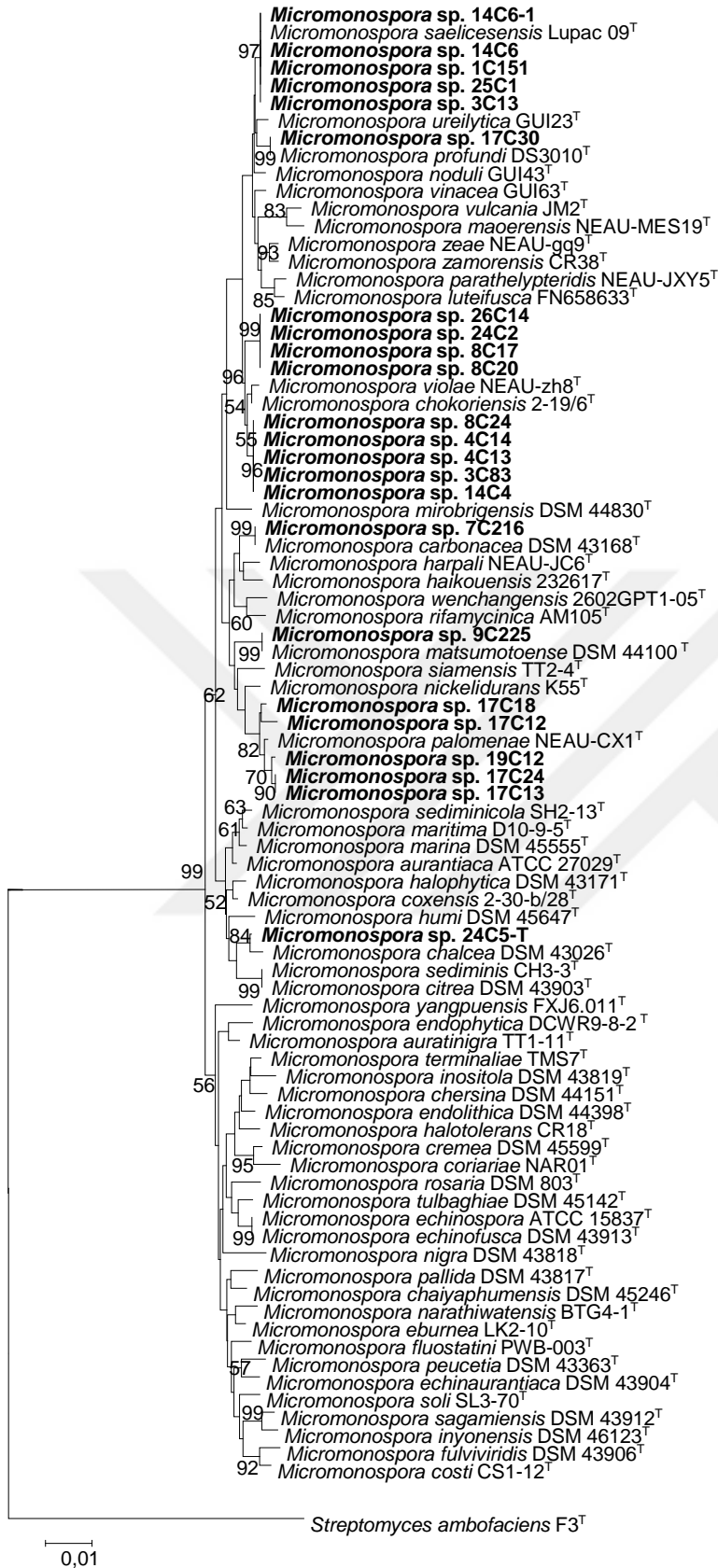


Şekil 4.8. *Micromonospora* 1. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

17C12, 17C18, 17C13 ve 19C12 izolatları yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi analizlerinde sırasıyla *Micromonospora palomenae* NEAU-CX1^T tip türü ile %99.37, %99.58, %99.65 ve %99.79 benzerlik göstermiştir. 17C30 izolatu 16S rRNA gen bölgesi dizi analizlerinde *Micromonospora profundi* DS3010^T tip türü ile %100 benzerlik göstermiştir. 3C13 izolatu *Micromonospora saelicesensis* Lupac 09^T tip türü ile %99.86; 1C151, 14C6,14C61 ve 25C1 izolatları ise %99.93 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermiştir. 9C51, 25C3 ve 25C39 izolatları *Micromonospora soli* SL3-70^T tip türü ile %99.51 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermiştir. 1C39, 1C138, 1C148, 1C149, 3C26, 3C28, 3C40, 4C7, 8C41, 9C53, 18C55, 18C58, 18C68, 19C2 ve 24C9 izolatları *Micromonospora tulbaghia* DSM 45142^T tip türü ile %100 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermiştir (Şekil 4.9).

Çizelge 4.6. *Micromonospora* cinsine ait 2. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
1C151	1	<i>Micromonospora saelicesensis</i> Lupac 09 ^T	99.93
3C13	3	<i>Micromonospora saelicesensis</i> Lupac 09 ^T	99.86
3C38	3	<i>Micromonospora echinaurantiaca</i> DSM 43904 ^T	99.72
4C13	4	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.79
4C14	4	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.79
7C216	7	<i>Micromonospora carbonacea</i> DSM 43168 ^T	100.00
8C17	8	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.58
8C20	8	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.58
8C24	8	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.79
9C225	9	<i>Micromonospora matsumotoense</i> DSM 44100 ^T	100.00
14C4	14	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.79
14C61	14	<i>Micromonospora saelicesensis</i> Lupac 09 ^T	99.93
17C12	17	<i>Micromonospora palomenae</i> NEAU-CX1 ^T	99.37
17C13	17	<i>Micromonospora palomenae</i> NEAU-CX1 ^T	99.65
17C18	17	<i>Micromonospora palomenae</i> NEAU-CX1 ^T	99.58
17C30	17	<i>Micromonospora profundi</i> DS3010 ^T	100.00
19C12	19	<i>Micromonospora palomenae</i> NEAU-CX1 ^T	99.79
24C2	24	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.58
25C1	25	<i>Micromonospora saelicesensis</i> Lupac 09 ^T	99.93
26C14	26	<i>Micromonospora chokoriensis</i> 2-19/6 ^T	99.58



Şekil 4.9. *Micromonospora* 2. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

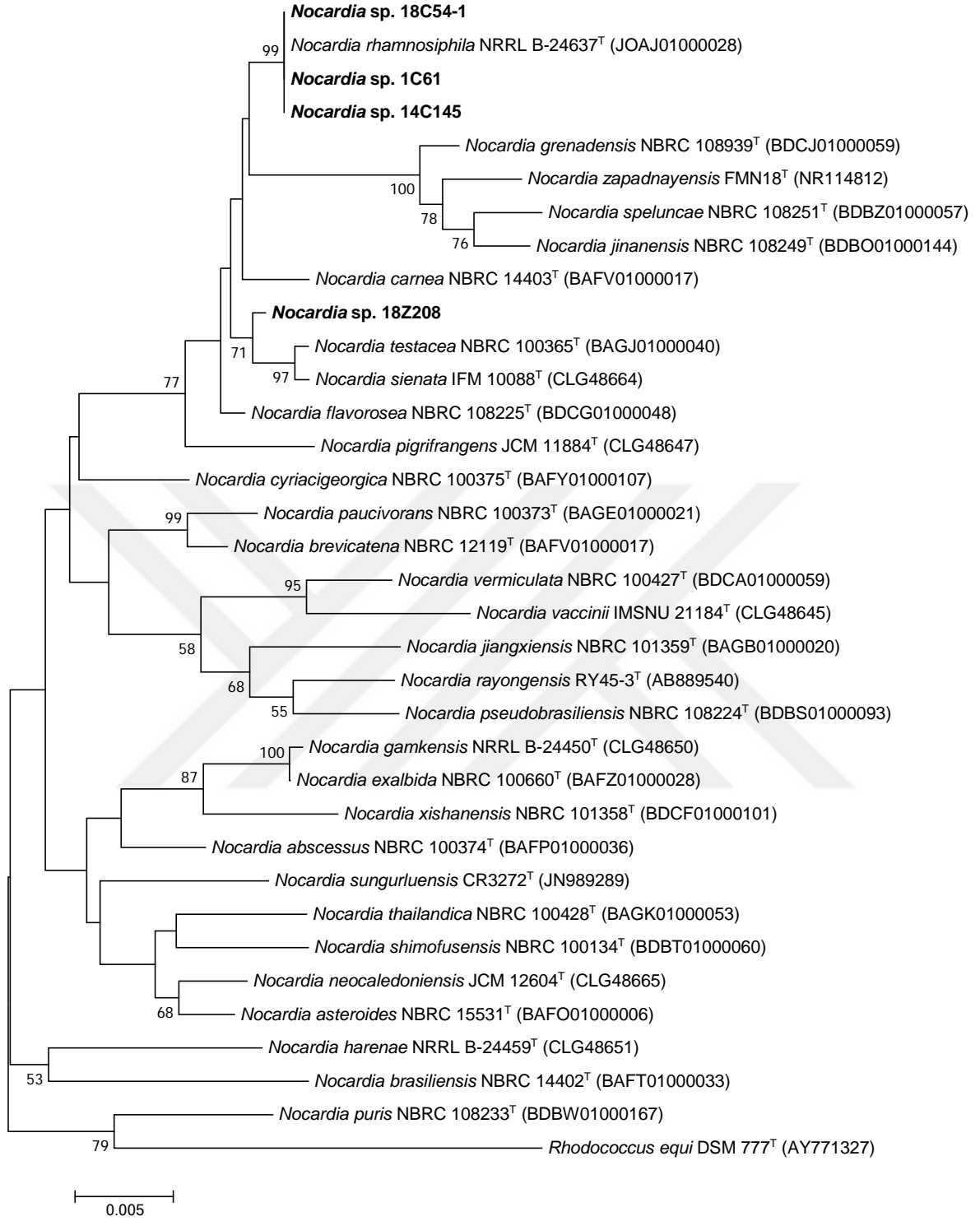
Nocardia cinsi

Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 18Z208 izolatı *Nocardia flavorosea* NBRC 108225^T tip türün ile %99.72 (1439 nükleotide 4 nükleotit farklılığı) baz dizi benzerliği göstermiştir. 1C61, 1C145 ve 18C54-1 izolatları ise *Nocardia rhamnosiphila* NRRL B-24637^T tip türü ile %100 benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. *Nocardia* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
1C61	1	<i>Nocardia rhamnosiphila</i> NRRL B-24637 ^T	100.00
1C145	1	<i>Nocardia rhamnosiphila</i> NRRL B-24637 ^T	100.00
18C54-1	18	<i>Nocardia rhamnosiphila</i> NRRL B-24637 ^T	100.00
18Z208	18	<i>Nocardia flavorosea</i> NBRC 108225 ^T	99.72

Nocardia cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Rhodococcus equi* DSM 777^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *Nocardia* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

Nonomuraea cinsi

Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde *Nonomuraea candida* HMC10^T tip türü ile 160415 izolatu %98.86 (1398 nükleotitte 16 nükleotit farklılığı), 12C250 izolatu %99.21 (1398 nükleotitte 11 nükleotit farklılığı); 14Z2 izolatu %99.28 (1388 nükleotitte 10 nükleotit farklılığı); 12N61, 13A200 ve 13Z33 izolatları ile de %99.36 (1397 nükleotitte 9 nükleotit farklılığı) baz dizi benzerliği göstermiştir (Çizelge 4.8).

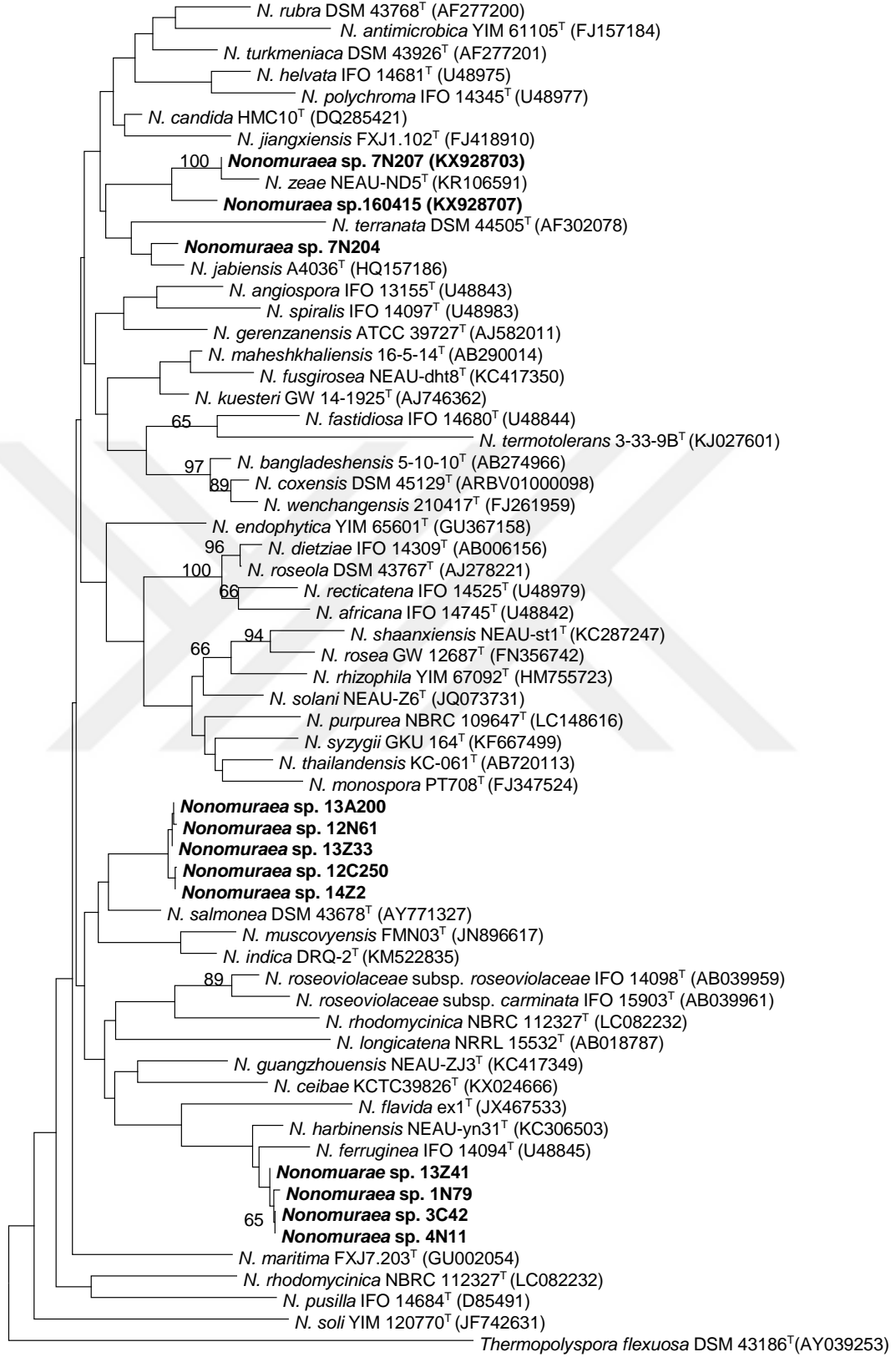
7N204 izolatu yapılan analizlerde *Nonomuraea jabiensis* A4036^T tip türü ile %99.45 (1442 nükleotitte 8 nükleotit farklılığı), 7N207 izolatu *Nonomuraea zeae* NEAU-ND5^T tip türü ile %99.65 (1443 nükleotitte 5 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Nonomuraea harbinensis NEAU-yn31^T tip türü ise 1N79, 3C42, 4N11 ve 13Z41 izolatları ile sırasıyla %99.59 (1447 nükleotitte 6 nükleotit farklılığı), %99.65 (1446 nükleotitte 5 nükleotit farklılığı), %99.65 (1446 nükleotitte 5 nükleotit farklılığı) ve %99.72 (1435 nükleotitte 4 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği göstermiştir (Çizelge 4.8).

Nonomuraea cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Thermopolyspora flexuosa* DSM 43186^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır (Şekil 4.11).

Çizelge 4.8. *Nonomuraea* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
1N79	1	<i>Nonomuraea harbinensis</i> NEAU-yn31 ^T	99.59
3C42	3	<i>Nonomuraea harbinensis</i> NEAU-yn31 ^T	99.65
4N11	4	<i>Nonomuraea harbinensis</i> NEAU-yn31 ^T	99.65
7N204	7	<i>Nonomuraea jabiensis</i> A4036 ^T	99.45
7N207	7	<i>Nonomuraea zeae</i> NEAU-ND5 ^T	99.65
12N61	12	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 ^T	99.36
12C250	12	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 ^T	99.21
13A200	13	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 ^T	99.36
13Z41	13	<i>Nonomuraea harbinensis</i> NEAU-yn31 ^T	99.72
13Z33	13	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 ^T	99.36
14Z2	14	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 ^T	99.28
160415	16	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 ^T	98.86



Şekil 4.11. *Nonomuraea* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

Plantactinospora cinsi

Gerçekleştirilen 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 14C51 izolatu *Plantactinospora endophytica* YIM 68255^T tip türü %99.51 (1428 nükleotitte 7 nükleotit farklılığı) benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Buna ilaveten *Plantactinospora sonchi* NEAU-QY2^T tip türü ile %99.09 (1428 nükleotitte 13 nükleotit farklılığı), *Plantactinospora veratri* NEAU-FHS4^T tip türü ile de %99.02 (1428 nükleotitte 14 nükleotit farklılığı) benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. *Plantactinospora* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
14C51	14	<i>Plantactinospora endophytica</i> YIM 68255 ^T	99.51
	14	<i>Plantactinospora sonchi</i> NEAU-QY2 ^T	99.09
	14	<i>Plantactinospora veratri</i> NEAU-FHS4 ^T	99.02

Plantactinospora cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Glycomyces rutgersensis* IMSNU 22074^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *Plantactinospora* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde ≥ 50 değerler gösterilmiştir.

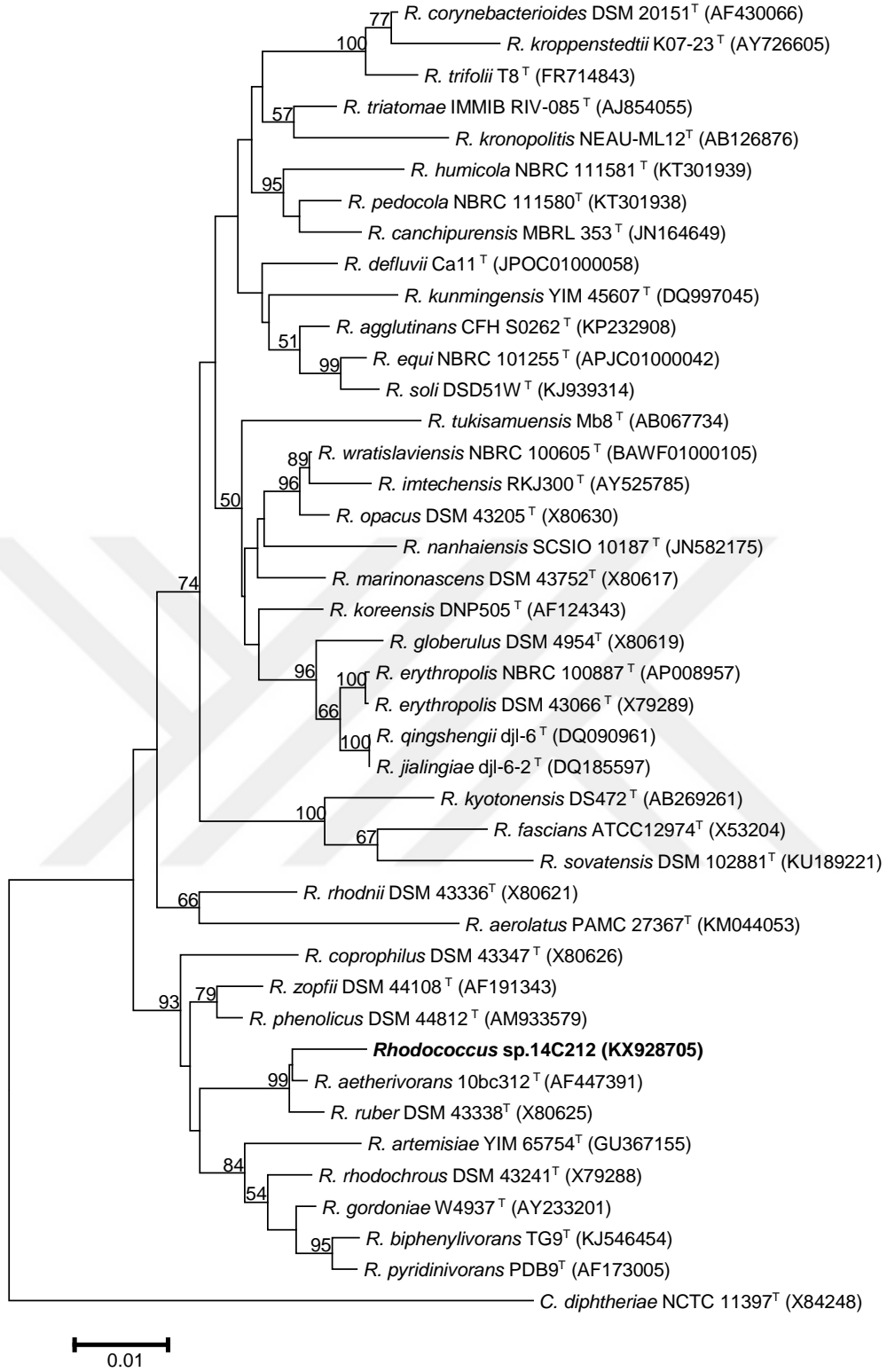
Rhodococcus cinsi

Rhodococcus sp. 14C212 izolatu ile en yakın tip türleri arasında gerçekleştirilen 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde bu izolatın *Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T tip türü ile %99.04 benzerlik (1359 nükleotide 13 nükleotit farklılığı), *Rhodococcus ruber* DSM 43338^T tip türü ile %98.75 benzerlik (1359 nükleotide 18 nükleotit farklılığı), *Rhodococcus zopfii* DSM 44108^T tip türü ile %97.78 benzerlik (1359 nükleotide 32 nükleotit farklılığı) gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. *Rhodococcus* cinsine ait izolatın izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
	14	<i>Rhodococcus aetherivorans</i> 10bc312 ^T	99.04
14C212	14	<i>Rhodococcus ruber</i> DSM 43338 ^T	98.75
	14	<i>Rhodococcus zopfii</i> DSM 44108 ^T	97.78

Rhodococcus cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Corynebacterium diphtheriae* NCTC 11397^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. *Rhodococcus* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde ≥ 50 değerler gösterilmiştir.

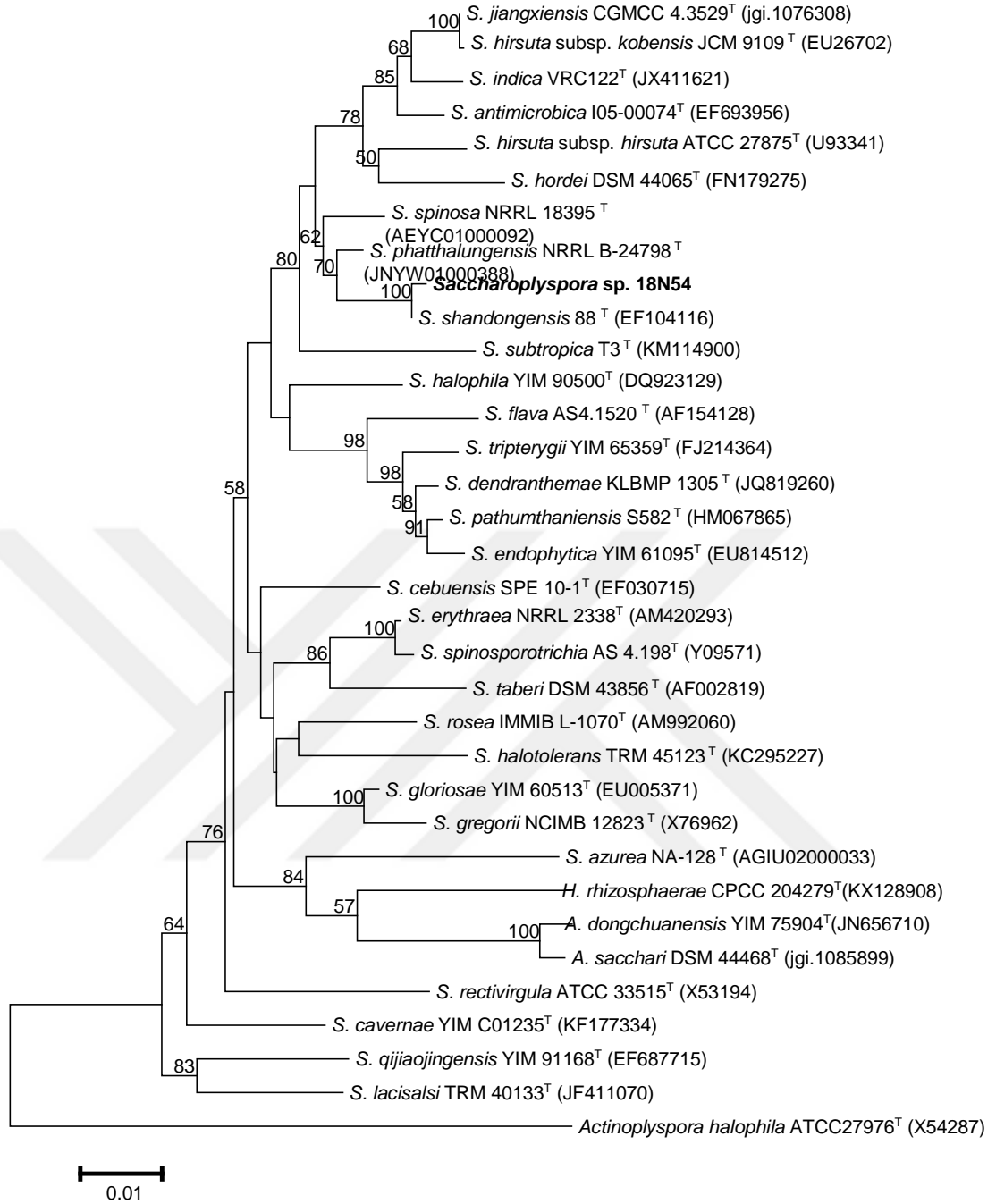
Saccharopolyspora cinsi

Cinse ait izolat ile en yakın tip türleri arasında gerçekleştirilen 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 18N54 izolatının *Saccharopolyspora shandongensis* 88^T tip türü ile %99.93 (1417 nükleotitte 1 nükleotit farklılığı), *Saccharopolyspora phatthalungensis* NRRL B-24798^T tip türü ile %98.82 (1444 nükleotitte 17 nükleotit farklılığı), *Saccharopolyspora spinosa* NRRL 18395^T tip türü ile % 98.34 (1444 nükleotitte 24 nükleotit farklılığı) benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. *Saccharopolyspora* cinsine ait izolatın izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
	18	<i>S. shandongensis</i> 88 ^T	99.93
18N54	18	<i>S. phatthalungensis</i> NRRL B-24798 ^T	98.82
	18	<i>S. spinosa</i> NRRL 18395 ^T	98.34

Saccharopolyspora cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Actinopolyspora halophila* ATCC27976^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. *Saccharopolyspora* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

Streptomyces cinsi

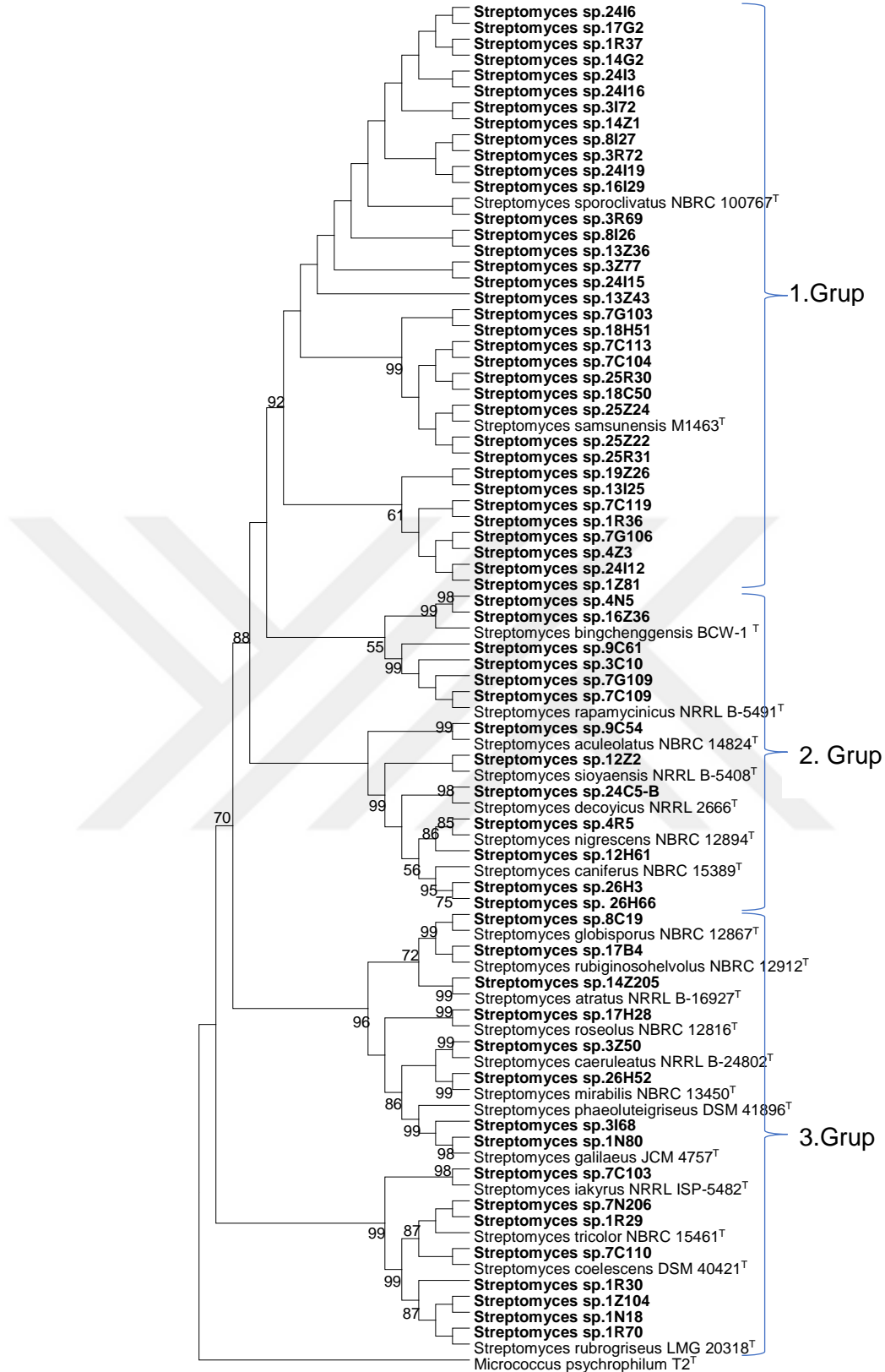
Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 9C54 izolatu *Streptomyces aculeolatus* NBRC 14824^T tip türü ile %99.16 (1437 nükleotitte 12 nükleotit farklılığı), *Streptomyces synnematoformans* S155^T tip türü ile %98.77 (1385 nükleotitte 17 nükleotit farklılığı) ve *Streptomyces morookaense* LMG 20074^T

tip türü ile %97.70 (1435 nükleotitte 33 nükleotit farklılığı) baz dizi benzerliği göstermiştir.

Streptomyces sp. 16Z36 ve 4N5 izolatlarının yapılan analizlerde *Streptomyces bingchengensis* BCW-1^T tip türü ile %99.38 (1450 nükleotitte 9 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği gösterdiği belirlenmiştir.

Streptomyces sp. 17H28 izolatının yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde *Streptomyces roseolus* NBRC 12816^T tip türü ile %99.51 (1432 nükleotitte 7 nükleotit farklılığı) baz dizi benzerliği gösterdiği görülmüştür.

Streptomyces cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Micrococcus psychrophilum* T2^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır (Şekil 4.15, 4.16, 4.17, 4.18).



Şekil 4.15. *Streptomyces* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

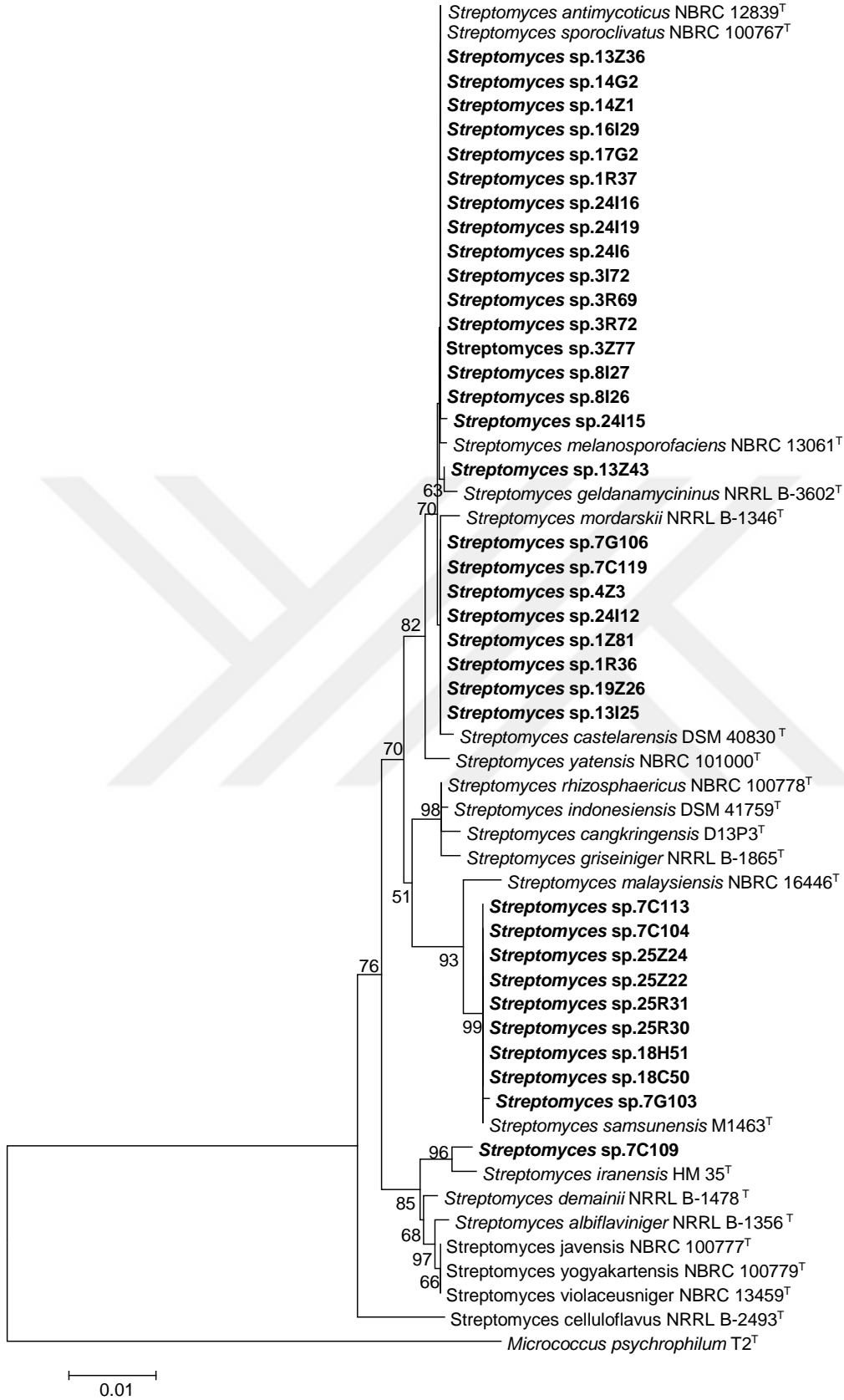
Yapılan analizlerde 7C103 izolatının *Streptomyces iakyrus* NRRL ISP-5482^T tip türü ile, 3Z50 izolatının da *Streptomyces caeruleatus* NRRL B-24802^T tip türü ile %99.52 (1448 nükleotitte 7 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.12).

Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 12Z2 ve 12H61 izolatlarının *Streptomyces sioyaensis* NRRL B-5408^T tip türü ile (1439 nükleotitte 5 nükleotit farklılığı), 26H52 izolatının da *Streptomyces mirabilis* NBRC 13450^T tip türü ile (1445 nükleotitte 5 nükleotit farklılığı) %99.65 baz dizi benzerliği gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 3I68 izolatı *Streptomyces phaeoluteigriseus* DSM 41896^T tip türü ile %99.72 (1438 nükleotitte 4 nükleotit farklılığı), 1N18 izolatı *Streptomyces rubrogriseus* LMG 20318^T tip türü ile (1448 nükleotitte 3 nükleotit farklılığı) ve 18C50 izolatı da *Streptomyces samsunensis* M1463^T tip türü ile (1425 nükleotitte 3 nükleotit farklılığı) %99.79 baz dizi benzerliği göstermiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. *Streptomyces* cinsine ait 1. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
1Z81	1	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
1R37	1	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
1R36	1	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
3R69	3	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
3Z77	3	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
3I72	3	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
3R72	3	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
4Z3	4	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
7C113	7	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	100.00
7G103	7	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	99.93
7G106	7	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
7C104	7	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	100.00
7C119	7	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
8I26	8	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
8I27	8	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
13Z43	13	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
13Z36	13	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
13I25	13	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
14Z1	14	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
14G2	14	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
16I29	16	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
17G2	17	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
18C50	18	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	99.79
18N50	18	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	100.00
18H51	18	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	99.93
19Z26	19	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
24I3	24	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
24I12	24	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
24I16	24	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	100.00
24I15	24	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 ^T	99.93
25Z22	25	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	100.00
25R30	25	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	100.00
25R31	25	<i>Streptomyces samsunensis</i> M1463 ^T	100.00

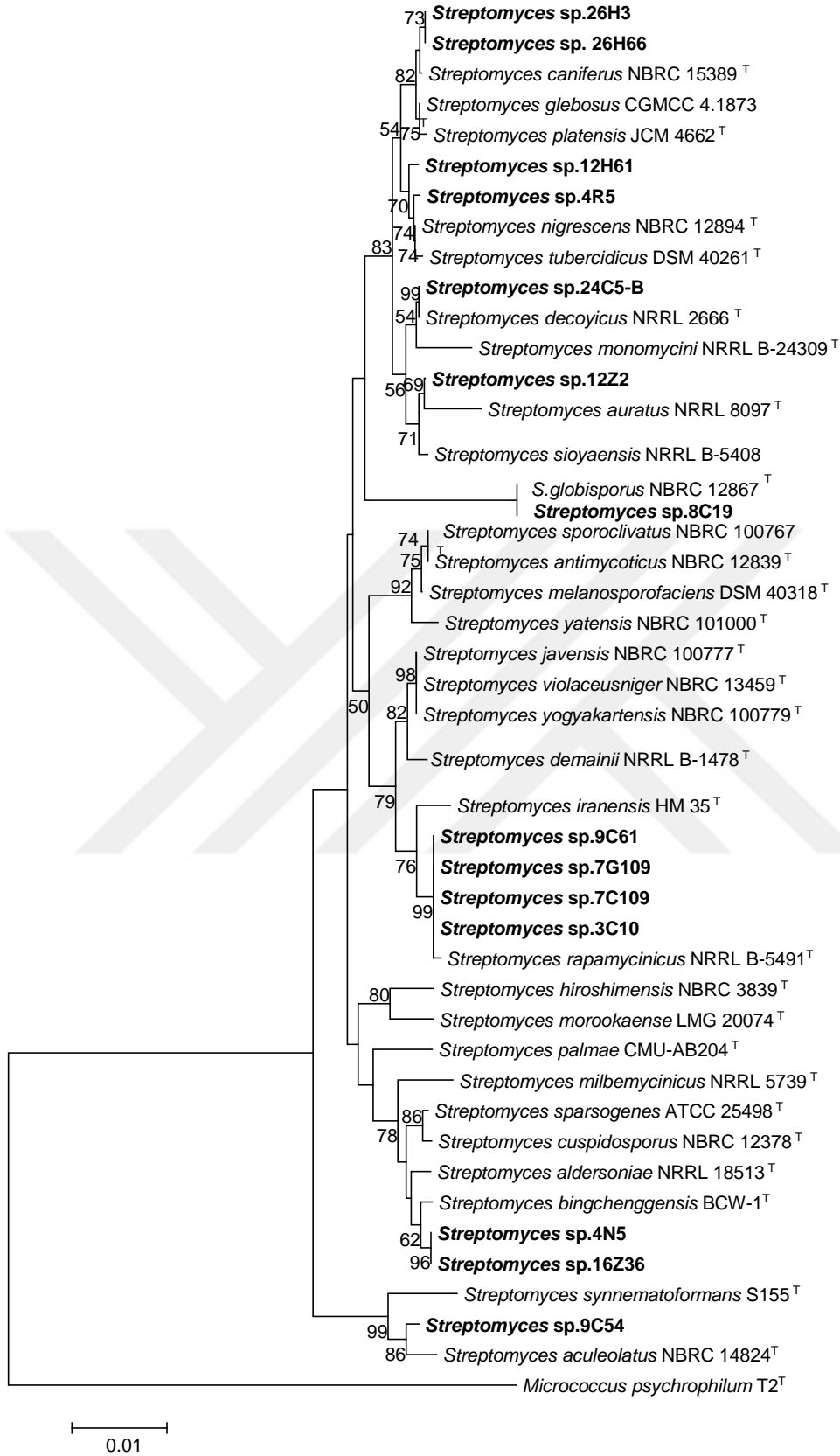


Şekil 4.16. *Streptomyces* 1. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

Yapılan 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği analizlerinde 4R5 izolatı *Streptomyces nigrescens* NBRC 12894^T tip türü ile, 3C10 ve 7G109 izolatları *Streptomyces rapamycinicus* NRRL B-5491^T tip türü ile, 26H3 ve 26H66 izolatları *Streptomyces caniferus* NBRC 15389^T tip türü ile, 7G103 ve 18H51 izolatları *Streptomyces samsunensis* M1463^T tip türü ile, 1R36, 1Z81, 4Z3, 7G106, 7C119, 13Z43,13I25, 19Z26, 24I12 ve 24I15 izolatları da *Streptomyces sporoclivatus* NBRC 100767^T tip türü ile %99.93 baz dizi benzerliği göstermiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. *Streptomyces* cinsine ait 2. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
4N5	4	<i>Streptomyces bingchenggensis</i> BCW-1 ^T	99.38
4R5	4	<i>Streptomyces nigrescens</i> NBRC 12894 ^T	99.93
7G109	7	<i>Streptomyces rapamycinicus</i> NRRL B-5491 ^T	99.93
7C109	7	<i>Streptomyces rapamycinicus</i> NRRL B-5491 ^T	99.93
8C19	8	<i>Streptomyces globisporus</i> NBRC 12867 ^T	100.00
9C54	9	<i>Streptomyces aculeolatus</i> NBRC 14824 ^T	99.16
9C61	9	<i>Streptomyces rapamycinicus</i> NRRL B-5491 ^T	99.93
12Z2	12	<i>Streptomyces sioyaensis</i> NRRL B-5408 ^T	99.65
12H61	12	<i>Streptomyces sioyaensis</i> NRRL B-5408 ^T	99.65
16Z36	16	<i>Streptomyces bingchenggensis</i> BCW-1 ^T	99.38
24C5B	24	<i>Streptomyces decoyicus</i> NRRL 2666 ^T	100.00
26H66	26	<i>Streptomyces caniferus</i> NBRC 15389 ^T	99.93
26H3	26	<i>Streptomyces caniferus</i> NBRC 15389 ^T	99.93

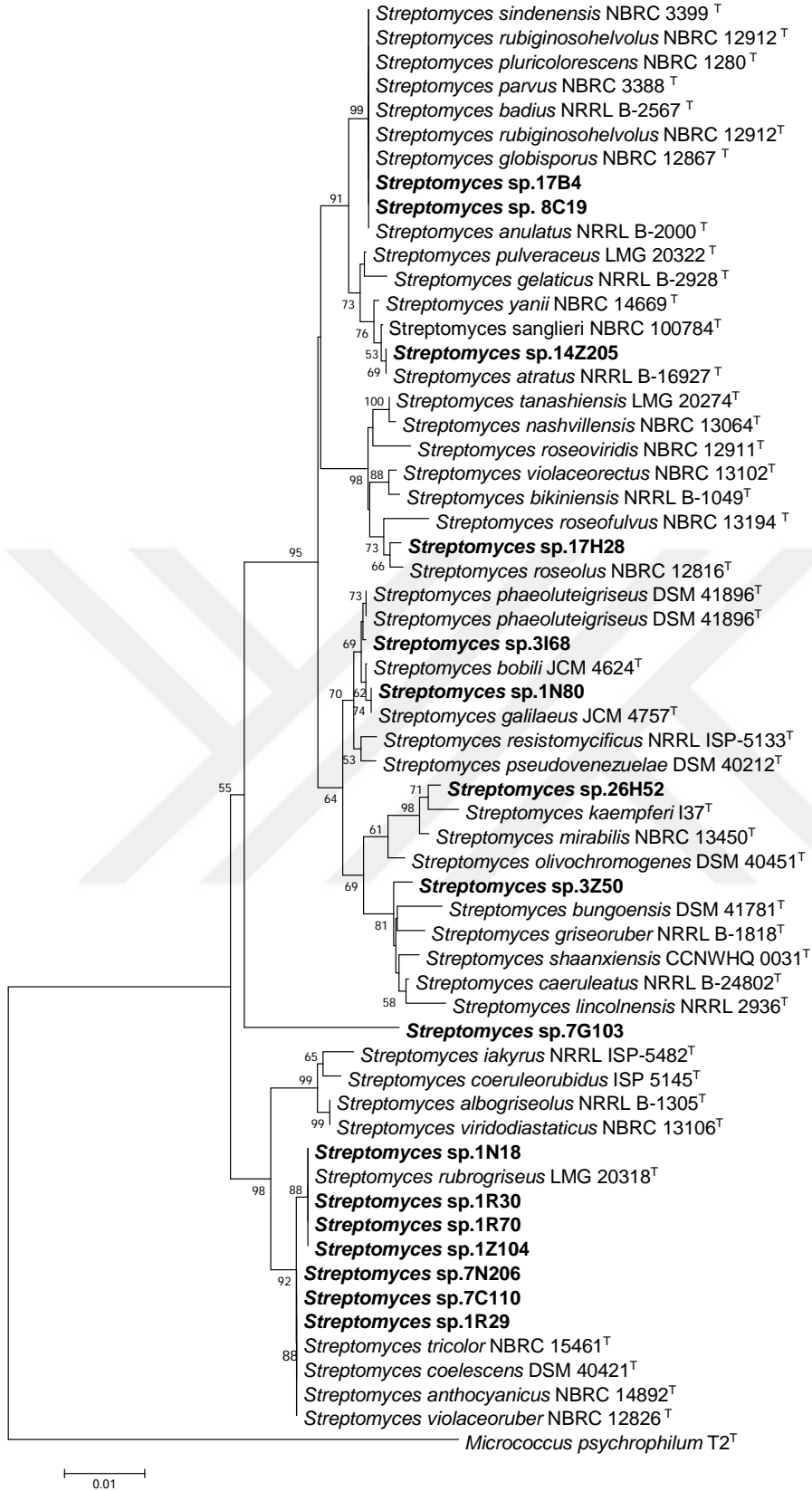


Şekil 4.17. *Streptomyces* 2. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq\%50$ değerler gösterilmiştir.

Streptomyces sp. 1N80 izolatu *Streptomyces galilaeus* JCM 4757^T tip türü ile, 1R30, 1R70 ve 1Z104 izolatları *Streptomyces rubrogriseus* LMG 20318^T tip türü ile, 7C110 izolatu *Streptomyces tricolor* NBRC 15461^T tip türü ile, 1R29 ve 7N206 izolatları *Streptomyces coelestiens* DSM 40421^T tip türü ile, 14Z205 izolatu *Streptomyces atratus* NRRL B-16927^T tip türü ile, 17B4 izolatu *Streptomyces rubiginosohelvolus* NBRC 12912^T tip türü ile, 24C5B izolatu *Streptomyces decoyicus* NRRL 2666^T tip türü ile, 7C14, 7C113, 18N50, 25Z22, 25Z24, 25R30, 25R31 izolatları *Streptomyces samsunensis* M1463^T tip türü ile ve 1R37, 3R72, 3I72, 3Z77, 8I26, 8I27, 13Z36, 14Z1, 14G2, 16I29, 17G2, 24I3, 24I16 izolatları da *Streptomyces sporoclivatus* NBRC 100767^T tip türü ile %100 16S rRNA gen bölgesi sekans benzerliği göstermiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. *Streptomyces* cinsine ait 3. Grup izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
1N18	1	<i>Streptomyces rubrogriseus</i> LMG 20318 ^T	99.79
1N80	1	<i>Streptomyces galilaeus</i> JCM 4757 ^T	100.00
1R70	1	<i>Streptomyces rubrogriseus</i> LMG 20318 ^T	100.00
1R29	1	<i>Streptomyces coelestiens</i> DSM 40421 ^T	100.00
1R30	1	<i>Streptomyces rubrogriseus</i> LMG 20318 ^T	100.00
1Z104	1	<i>Streptomyces rubrogriseus</i> LMG 20318 ^T	100.00
3Z50	3	<i>Streptomyces caeruleatus</i> NRRL B-24802 ^T	99.52
3C10	3	<i>Streptomyces rapamycinicus</i> NRRL B-5491 ^T	99.93
3I68	3	<i>Streptomyces phaeoluteigriseus</i> DSM 41896 ^T	99.72
7C103	7	<i>Streptomyces iakyrus</i> NRRL ISP-5482 ^T	99.52
7C110	7	<i>Streptomyces tricolor</i> NBRC 15461 ^T	100.00
7N206	7	<i>Streptomyces coelestiens</i> DSM 40421 ^T	100.00
14Z205	14	<i>Streptomyces atratus</i> NRRL B-16927 ^T	100.00
17H28	17	<i>Streptomyces roseolus</i> NBRC 12816 ^T	99.51
17B4	17	<i>Streptomyces rubiginosohelvolus</i> NBRC 12912 ^T	100.00
26H52	26	<i>Streptomyces mirabilis</i> NBRC 13450 ^T	99.65



Şekil 4.18. *Streptomyces* 3. Grup suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

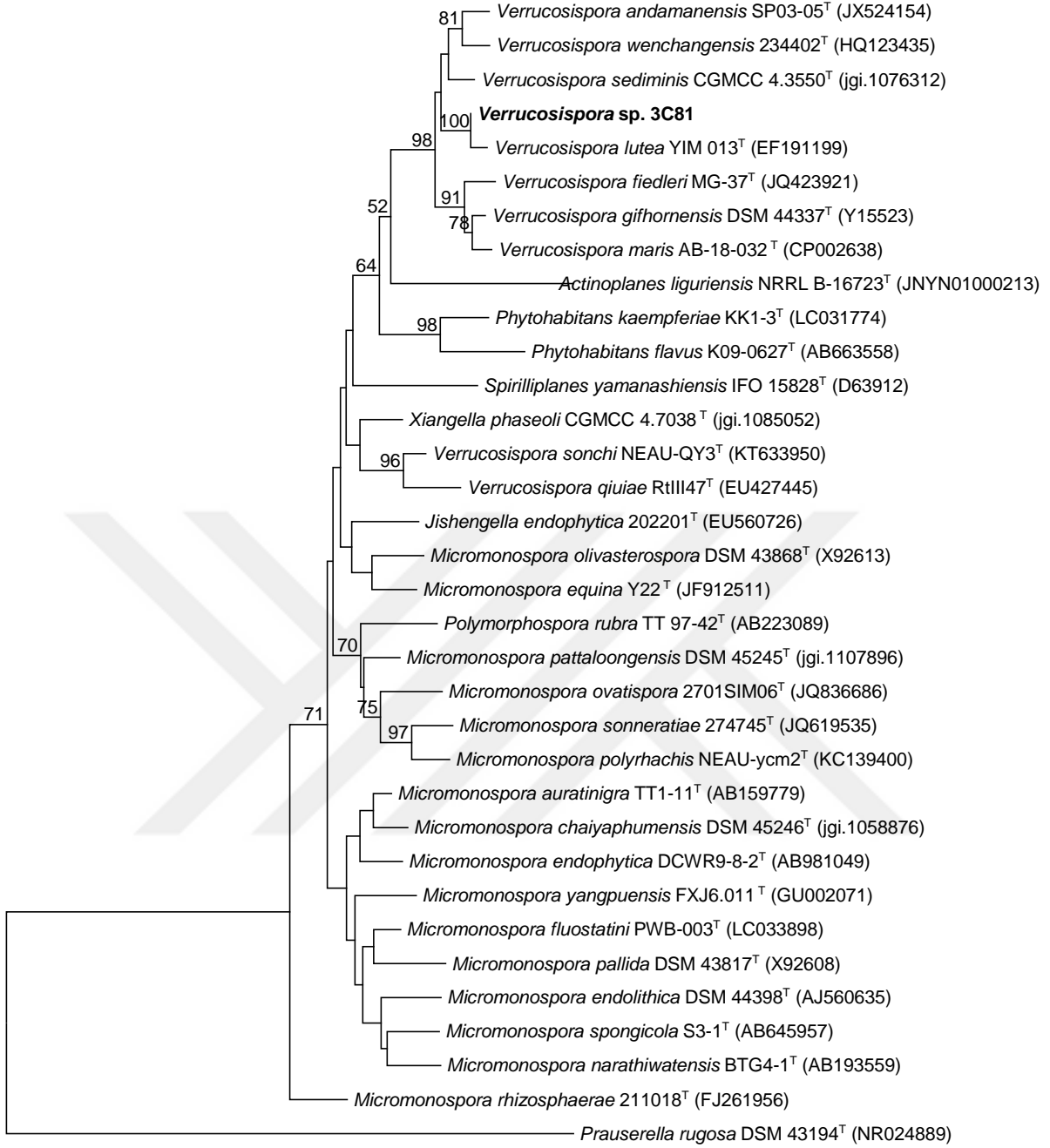
Verrucosipora cinsi

Verrucosipora sp. 3C81 izolatu ile en yakin tip turleri arasinda gerceklestirilen 16S rRNA gen bolgesi dizi benzerligi analizlerinde bu izolatin *Verrucosipora lutea* YIM 013^T tip turu ile %99.86 benzerlik (1407 nukleotitte 2 nukleotit farklilik), *Verrucosipora andamanensis* SP03-05^T tip turu ile %99.35 benzerlik (1395 nukleotitte 9 nukleotit farklilik), *Verrucosipora sediminis* CGMCC 4.3550^T tip turu ile %99.23 benzerlik (1437 nukleotitte 11 nukleotit farklilik) gosterdigi tespit edilmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. *Verrucosipora* cinsine ait izolatların izole edildikleri toprak numaraları, izolat numaraları, 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın tip türleri ve benzerlik oranları

İzolat no	Toprak kodu	En yakın tip türü	Benzerlik (%)
3C81	3	<i>Verrucosipora lutea</i> YIM 013 ^T	99.86
	3	<i>Verrucosipora andamanensis</i> SP03-05 ^T	99.35
	3	<i>Verrucosipora sediminis</i> CGMCC 4.3550 ^T	99.23

Verrucosipora cinsine ait izolatların arasındaki filogenetik ilişki Neighbour-Joining algoritmasına göre belirlenmiştir. *Prauserella rugosa* DSM 43194^T tip suşu filogenetik ilişkileri belirlemede dış grup olarak yer almıştır (Şekil 4.19)



Şekil 4.19. *Verrucospora* suşları arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Neighbour joining ağacı Jukes-Cantor (Jukes ve Cantor, 1969) modeline göre oluşturuldu. Bootstrap analizi 1000 kez tekrar edildi ve nodlar üzerinde $\geq 50\%$ değerler gösterilmiştir.

4.1.4. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatının multilokus sekans analizi ve filogenetik dendogram oluşturulması

16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi analizi sonucu *Streptomyces* cinsine ait ve yeni tür olma potansiyeli yüksek olduğu belirlenen 9C54 izolatının *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* gen bölgeleri ilgili primerler kullanılarak amplifiye edildi ve dizi eldesinde her bir gen bölgesi için iki oligonükleotit primeri kullanıldı (Kim vd, 2003). 9C54 izolatının ve izolatın en yakın oldukları tip türlerinin NCBI/GenBank (Benson vd, 2004) gibi veritabanlarından *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* gen bölgesi nükleotit baz dizileri MEGA 7.0 (Kumar vd, 2016) programı kullanılarak hizalandı ve elde edilen diziler filogenetik analizlerde kullanıldı. Buna ilaveten *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* gen bölgesi nükleotit farklılıkları PHYDIT 3.1 (Chun, 2001) programları kullanılarak karşılaştırmalı bir şekilde manuel olarak analiz edilmiştir.

Forward ve revers primerleri kullanılarak elde edilen baz dizi verileri yan yana getirilerek yaklaşık 496 bç'den oluşan *atpD* gen bölgesi, 471 bç'den oluşan *gyrB* gen bölgesi, 572 bç'den oluşan *rpoB* bölgesi, 504 bç'den oluşan *recA* gen bölgesi ve 571 bç'den oluşan *trpB* gen bölgesi nükleotit baz dizileri elde edildi. Baz dizilim farklılıkları ve yüzde benzerlikleri Çizelge 4.16-20'de verilmiştir. Tek dizi haline dönüştürülen *rpoB*, *gyrB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin nükleotit baz dizileri filogenetik dendogramın oluşturulması için kullanılmıştır.

Test izolatu ve *Streptomyces* tip türlerinin *rpoB*, *gyrB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin sekans analizine bağlı filogenetik dendogramları için filogenetik uzaklık matrisi olarak Jukes ve Cantor (1969) modeli ve dış grup olarak *Streptomyces megasporus* TDI-21^T tip türü kullanıldı. Test izolatının *rpoB*, *gyrB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgeleri nükleotit dizilerine dayalı oluşturulan Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik dendogramları Şekil 4.18-23'de verilmiştir.

Streptomyces sp. 9C54 izolatu %99.16 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği ve 1437 nükleotitte 12 nükleotit farklılığı gösterdiği *S. aculeolatus* NRRL B-24312^T tip türü ile %98.59 *atpD* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği ve 496 nükleotitte 7 nükleotit farklılığı göstermiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından %98.77 benzerlik ve 1385 nükleotitte 17 nükleotit farklılığı gösteren *S. synnematoformans* DSM 41902^T tip türü ile *atpD* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği bakımından %96.37 benzerlik ve 496 nükleotitte 18 baz farklılığı göstermiştir. *S. morookaense* NRRL B-12429^T tip türü ile de aynı gen bölgesi bakımından %90.52 benzerlik ve 496 nükleotitte 47 baz farklılığı göstermiştir (Çizelge 4.16, Şekil 4.18).

Streptomyces sp. 9C54 izolatu %99.16 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği ve 1437 nükleotitte 12 nükleotit farklılığı gösterdiği *S. aculeolatus* NRRL B-24312^T

tip türü ile %96.57 *gryB* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği ve 408 nükleotitte 14 nükleotit farklılığı göstermiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından %98.77 benzerlik ve 1385 nükleotitte 17 nükleotit farklılığı gösteren *S. synnematoformans* DSM 41902^T tip türü ile *gryB* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği bakımından %83.33 benzerlik ve 378 nükleotitte 63 baz farklılığı göstermiştir. *S. morookaense* NRRL B-12429^T tip türü ile de aynı gen bölgesi bakımından %82.45 benzerlik ve 376 nükleotitte 66 baz farklılığı göstermiştir (Çizelge 4.17, Şekil 4.19).

Streptomyces sp. 9C54 izolatu %99.16 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği ve 1437 nükleotitte 12 nükleotit farklılığı gösterdiği *S. aculeolatus* NRRL B-24312^T tip türü ile %97.42 *recA* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği ve 504 nükleotitte 13 nükleotit farklılığı göstermiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından %98.77 benzerlik ve 1385 nükleotitte 17 nükleotit farklılığı gösteren *S. synnematoformans* DSM 41902^T tip türü ile *recA* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği bakımından %96.83 benzerlik ve 504 nükleotitte 16 baz farklılığı göstermiştir. *S. morookaense* NRRL B-12429^T tip türü ile de aynı gen bölgesi bakımından %89.68 benzerlik ve 504 nükleotitte 52 baz farklılığı göstermiştir (Çizelge 4.18, Şekil 4.20).

Streptomyces sp. 9C54 izolatu %99.16 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği ve 1437 nükleotitte 12 nükleotit farklılığı gösterdiği *S. aculeolatus* NRRL B-24312^T tip türü ile %97.59 *rpoB* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği ve 540 nükleotitte 13 nükleotit farklılığı göstermiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından %98.77 benzerlik ve 1385 nükleotitte 17 nükleotit farklılığı gösteren *S. synnematoformans* DSM 41902^T tip türü ile *rpoB* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği bakımından %98.15 benzerlik ve 540 nükleotitte 10 baz farklılığı göstermiştir. *S. morookaense* NRRL B-12429^T tip türü ile de aynı gen bölgesi bakımından %90.15 benzerlik ve 540 nükleotitte 53 baz farklılığı göstermiştir (Çizelge 4.19, Şekil 4.21).

Streptomyces sp. 9C54 izolatu %99.16 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği ve 1437 nükleotitte 12 nükleotit farklılığı gösterdiği *S. aculeolatus* NRRL B-24312^T tip türü ile %96.85 *trpB* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği ve 571 nükleotitte 18 nükleotit farklılığı göstermiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakımından %98.77 benzerlik ve 1385 nükleotitte 17 nükleotit farklılığı gösteren *S. synnematoformans* DSM 41902^T tip türü ile *trpB* gen bölgesi nükleotit dizi benzerliği bakımından %89.46 benzerlik ve 569 nükleotitte 60 baz farklılığı göstermiştir. *S. morookaense* NRRL B-12429^T tip türü ile de aynı gen bölgesi bakımından %86.51 benzerlik ve 571 nükleotitte 77 baz farklılığı göstermiştir (Çizelge 4.20, Şekil 4.22).

16S rRNA, *rpoB*, *gryB*, *recA*, *trpB* ve *atpD* gen bölgelerinin birleştirilmesiyle elde edilen nükleotit dizilerine dayalı oluşturulan Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik dendogramı Şekil 4.23'te verilmiştir.

Oluşturulan dendogramda *Streptomyces* sp. 9C54 izoladı en yakın ilişkili olduğu *S. aculeolatus* NRRL B-24312^T ve *S. synnematoformans* DSM 41902^T tip turleri ile aynı pozisyonda yer almışlardır (şekil 4.23).

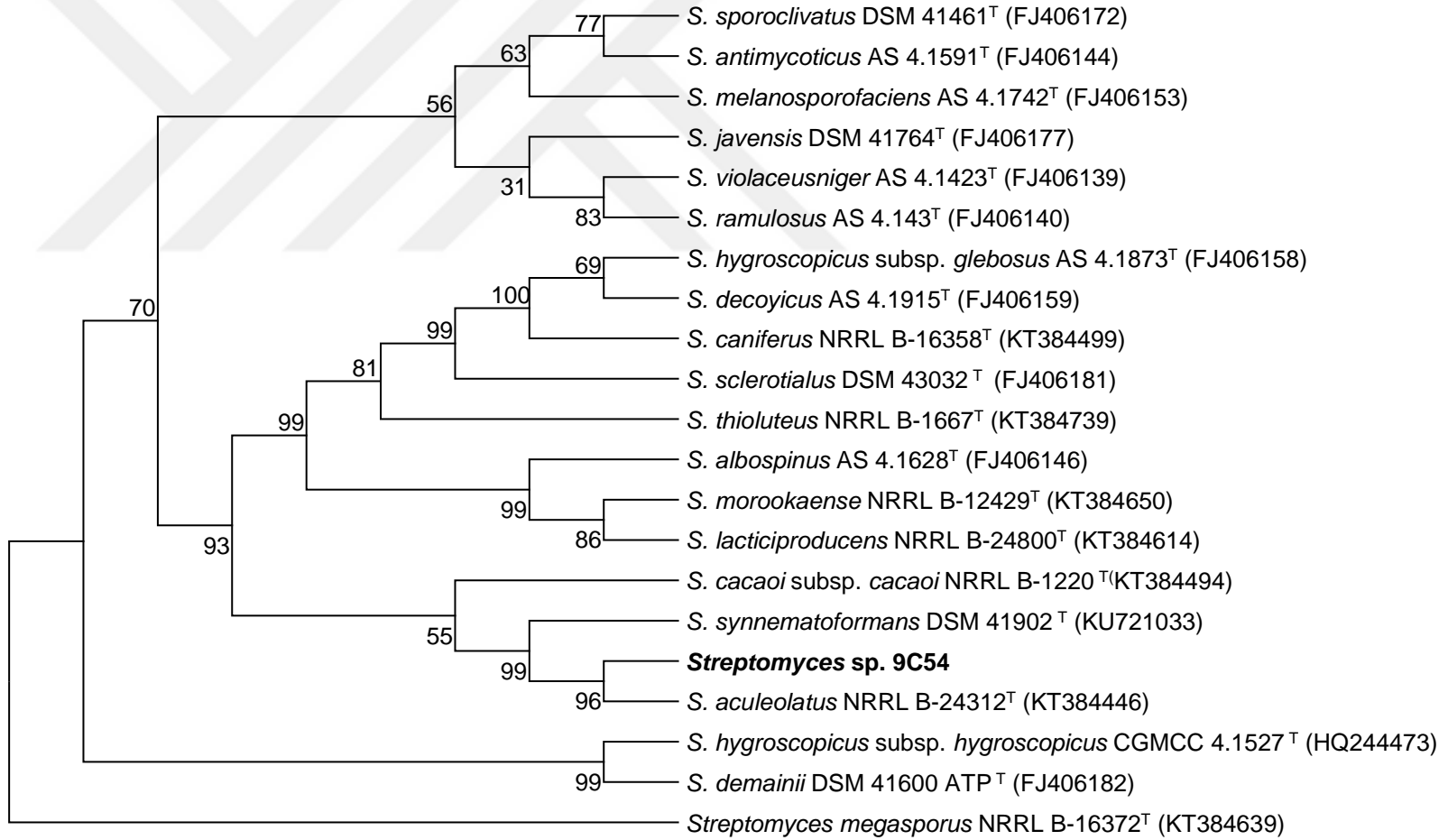
MLSA bağlı filogenetik uzaklık matrisi (p. distance) *Streptomyces* sp. 9C54 izoladı ve 13 tip turlu arasındaki Mega 7 programı (Kimura vd, 2016) kullanılarak oluşturulmuştur. Uzaklık matrisi sonuçları izelge 4.21'de verilmiştir. *Streptomyces* sp. 9C54 izoladı yakın ilişkili olduğu tip turlerinden MLSA bağlı filogenetik uzaklık bakımından yuğsek değerler vermiştir. *Streptomyces* sp. 9C54 suşu; *S. aculeolatus* NRRL_B-24312^T tip turlu ile 0.024, *S. synnematoformans* DSM_41902^T tip turlu ile 0.049, *S. morookaense* NRRL B-12429^T tip turlu ile 0.108 MLSA bağlı filogenetik uzaklık değerine sahiptir.



Çizelge 4.16. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *atpD* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	---	7/496	18/496	47/496	25/495	30/495	33/495	25/495	25/495	30/496	25/495	25/495	51/496	49/496
2	98.59	---	17/496	48/496	28/495	34/495	37/495	30/495	30/495	35/496	30/495	30/495	52/496	50/496
3	96.37	96.57	---	44/496	23/495	27/495	29/495	25/495	25/495	29/496	23/495	25/495	49/496	46/496
4	90.52	90.32	91.13	---	25/495	34/495	36/495	25/495	25/495	37/496	27/495	27/495	41/496	6/496
5	94.95	94.34	95.35	94.95	---	12/495	16/495	2/495	2/495	21/495	4/495	4/495	42/495	28/495
6	93.94	93.13	94.55	93.13	97.58	---	7/495	12/495	12/495	27/495	12/495	10/495	47/495	37/495
7	93.33	92.53	94.14	92.73	96.77	98.59	---	14/495	14/495	29/495	14/495	12/495	49/495	39/495
8	94.95	93.94	94.95	94.95	99.60	97.58	97.17	---	0/495	19/495	2/495	2/495	40/495	28/495
9	94.95	93.94	94.95	94.95	99.60	97.58	97.17	100.00	---	19/495	2/495	2/495	40/495	28/495
10	93.95	92.94	94.15	92.54	95.76	94.55	94.14	96.16	96.16	---	17/495	19/495	43/496	35/496
11	94.95	93.94	95.35	94.55	99.19	97.58	97.17	99.60	99.60	96.57	---	2/495	42/495	30/495
12	94.95	93.94	94.95	94.55	99.19	97.98	97.58	99.60	99.60	96.16	99.60	---	42/495	30/495
13	89.72	89.52	90.12	91.73	91.52	90.51	90.10	91.92	91.92	91.33	91.52	91.52	---	45/496
14	90.12	89.92	90.73	98.79	94.34	92.53	92.12	94.34	94.34	92.94	93.94	93.94	90.93	---

*1-*Streptomyces* sp. 9C54 *atpD*, 2-*S. aculeolatus* NRRL B-24312^T, 3-*S. synnematoformans* DSM 41902^T, 4-*S. morookaense* NRRL B-12429^T, 5-*S. melanosporofaciens* AS 4.1742^T, 6-*S. hygrosopicus subsp. hydr* CGMCC 4.1527^T, 7-*S. demainii* DSM 41600^T, 8-*S. sporoclivatus* DSM 41461^T, 9-*S. antimycoticus* AS 4.1591^T, 10-*S. cacaoi subsp. cacaoi* NRRL B-1220^T, 11-*S. violaceusniger* AS 4.1423^T, 12-*S. javensis* DSM 41764^T, 13-*S. thioluteus* NRRL B-1667^T

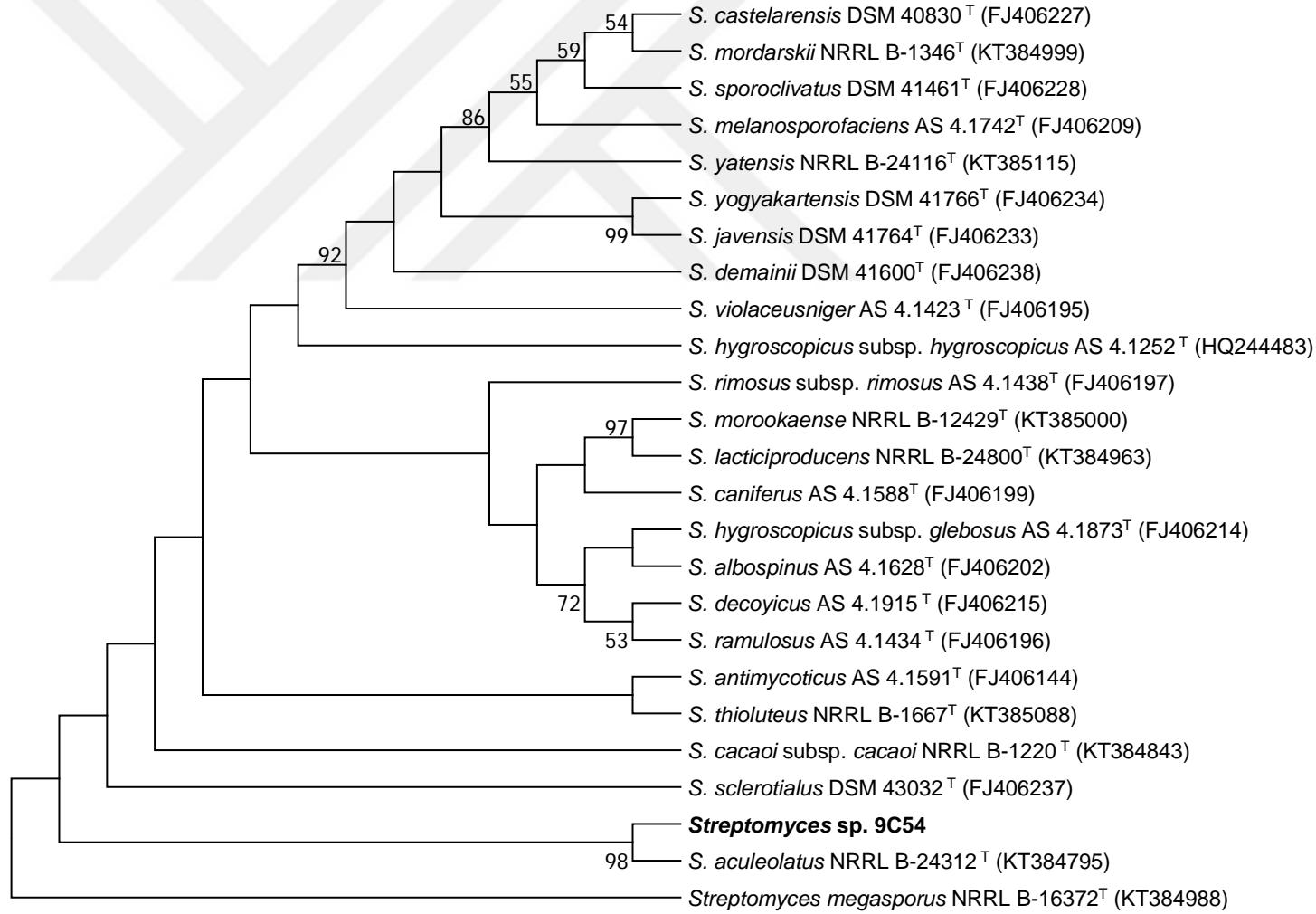


Şekil 4.20. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatının ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *atpD* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı. Ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces megasporus* NRRL B-16372^T organizması kullanıldı.

Çizelge 4.17. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki **gryB** gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14
1	---	14/408	63/378	66/376	74/376	65/376	68/376	70/378	67/376	53/309	67/376	66/378	66/376
2	96.57	---	61/378	69/376	69/376	67/376	71/376	65/378	70/376	56/309	65/376	69/378	66/376
3	83.33	83.86	---	50/376	54/376	49/376	53/376	66/378	52/376	42/309	56/376	48/378	48/376
4	82.45	81.65	86.70	---	59/498	11/498	5/498	67/376	3/498	1/309	61/498	2/376	10/498
5	80.32	81.65	85.64	88.15	---	58/498	61/498	74/376	60/498	38/309	65/498	43/376	60/498
6	82.71	82.18	86.97	97.79	88.35	---	16/498	68/376	14/498	9/309	58/498	8/376	9/498
7	81.91	81.12	85.90	99.00	87.75	96.79	---	66/376	4/498	2/309	62/498	6/376	15/498
9	81.48	82.80	82.54	82.18	80.32	81.91	82.45	---	65/376	53/309	69/376	67/378	67/376
10	82.18	81.38	86.17	99.40	87.95	97.19	99.20	82.71	---	0/309	62/498	4/376	13/498
11	82.85	81.88	86.41	99.68	87.70	97.09	99.35	82.85	100.00	---	42/309	2/309	9/309
12	82.18	82.71	85.11	87.75	86.95	88.35	87.55	81.65	87.55	86.41	---	47/376	59/498
13	82.54	81.75	87.30	99.47	88.56	97.87	98.40	82.28	98.94	99.35	87.50	---	8/376
14	82.45	82.45	87.23	97.99	87.95	98.19	96.99	82.18	97.39	97.09	88.15	97.87	---

*1-*Streptomyces* sp. 9C54 **gryB**, 2-*S. aculeolatus* NRRL B-24312^T, 3-*S. synnematoformans* DSM 41902^T, 4-*S. morookaense* NRRL B-12429^T, 5-*S. melanosporofaciens* AS 4.1742^T, 6-*S. hygrosopicus subsp. hydr* CGMCC 4.1527^T, 7-*S. demainii* DSM 41600^T, 8-*S. sporoclivatus* DSM 41461^T, 9-*S. antimycoticus* AS 4.1591^T, 10-*S. cacaoi subsp. cacaoi* NRRL B-1220^T, 11-*S. violaceusniger* AS 4.1423^T, 12-*S. javensis* DSM 41764^T, 13-*S. thioluteus* NRRL B-1667^T

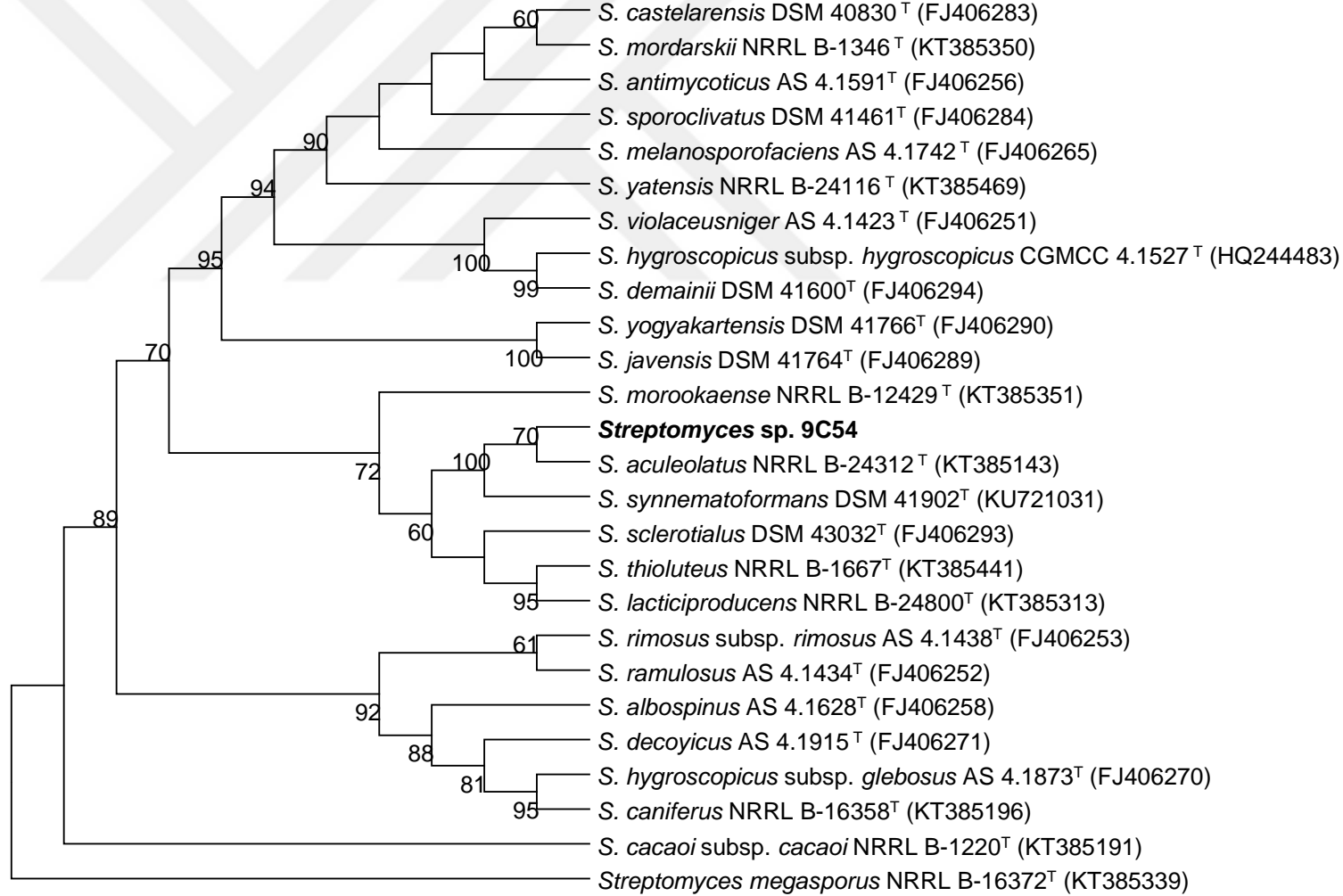


Şekil 4.21. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *gyrB* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı. Ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces megasporus* NRRL B-16372^T organizması kullanıldı.

Çizelge 4.18. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *recA* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	---	13/504	16/504	52/504	51/504	62/504	62/504	52/504	52/504	75/504	53/504	52/504	62/504
2	97.42	---	19/504	51/504	46/504	57/504	57/504	47/504	47/504	70/504	48/504	47/504	60/504
3	96.83	96.23	---	46/504	47/504	56/504	56/504	49/504	47/504	75/504	48/504	47/504	60/504
4	89.68	89.88	90.87	---	38/504	46/504	46/504	40/504	38/504	68/504	39/504	38/504	50/504
5	89.88	90.87	90.67	92.46	---	17/504	17/504	3/504	1/504	62/504	3/504	2/504	42/504
6	87.70	88.69	88.89	90.87	96.63	---	0/504	20/504	18/504	58/504	20/504	19/504	53/504
7	87.70	88.69	88.89	90.87	96.63	100.00	---	20/504	18/504	58/504	20/504	19/504	53/504
8	89.68	90.67	90.28	92.06	99.40	96.03	96.03	---	2/504	65/504	4/504	3/504	45/504
9	89.68	90.67	90.67	92.46	99.80	96.43	96.43	99.60	---	63/504	2/504	1/504	43/504
10	85.12	86.11	85.12	86.51	87.70	88.49	88.49	87.10	87.50	---	64/504	63/504	60/504
11	89.48	90.48	90.48	92.26	99.40	96.03	96.03	99.21	99.60	87.30	---	1/504	44/504
12	89.68	90.67	90.67	92.46	99.60	96.23	96.23	99.40	99.80	87.50	99.80	---	43/504
13	87.70	88.10	88.10	90.08	91.67	89.48	89.48	91.07	91.47	88.10	91.27	91.47	---

*1-*Streptomyces* sp. 9C54 *recA*, 2-*S. aculeolatus* NRRL B-24312^T, 3-*S. synnematoformans* DSM 41902^T, 4-*S. morookaense* NRRL B-12429^T, 5-*S. melanosporofaciens* AS 4.1742^T, 6-*S. hygroscopicus* subsp. *hygr* CGMCC 4.1527^T, 7-*S. demainii* DSM 41600^T, 8-*S. sporoclivatus* DSM 41461^T, 9-*S. antimycoticus* AS 4.1591^T, 10-*S. cacaui* subsp. *cacaui* NRRL B-1220^T, 11-*S. violaceusniger* AS 4.1423^T, 12-*S. javensis* DSM 41764^T, 13-*S. thioluteus* NRRL B-1667^T

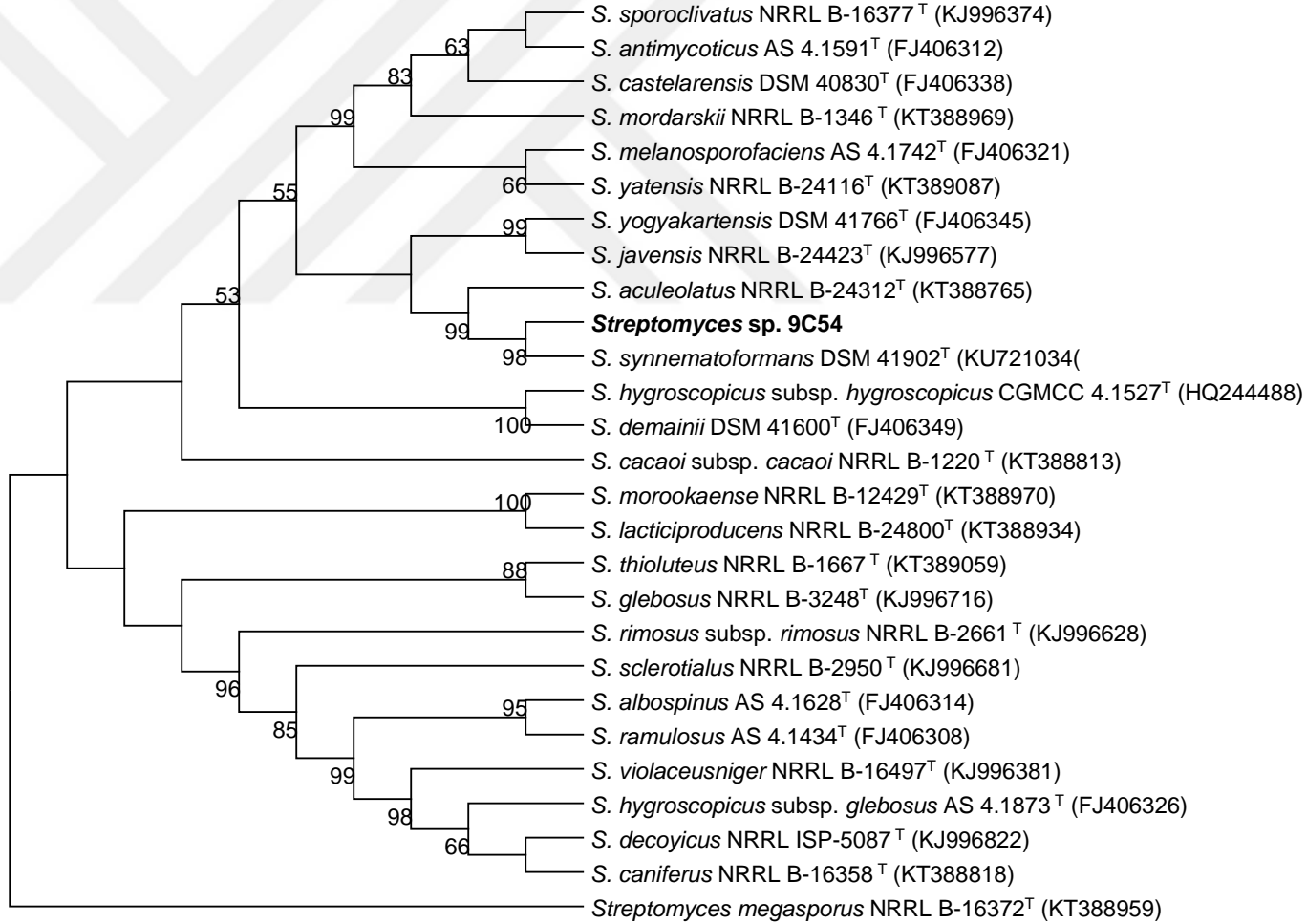


Şekil 4.22. *Streptomyces sp. 9C54* izolatu ve ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *recA* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı. Ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces megasporus* NRRL B-16372^T organizması kullanıldı.

Çizelge 4.19. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *rpoB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	---	13/540	10/540	53/540	37/540	59/540	58/540	33/540	35/540	58/540	33/540	35/540	54/540
2	97.59	---	11/540	46/540	28/540	50/540	49/540	24/540	26/540	57/540	24/540	26/540	55/540
3	98.15	97.96	---	53/540	37/540	55/540	54/540	33/540	35/540	60/540	33/540	35/540	60/540
4	90.19	91.48	90.19	---	48/540	43/540	42/540	46/540	48/540	55/540	46/540	47/540	54/540
5	93.15	94.81	93.15	91.11	---	39/540	38/540	4/540	6/540	54/540	4/540	6/540	63/540
6	89.07	90.74	89.81	92.04	92.78	---	1/540	37/540	39/540	55/540	37/540	38/540	61/540
7	89.26	90.93	90.00	92.22	92.96	99.81	---	36/540	38/540	54/540	36/540	37/540	60/540
8	93.89	95.56	93.89	91.48	99.26	93.15	93.33	---	2/540	53/540	0/540	2/540	61/540
9	93.52	95.19	93.52	91.11	98.89	92.78	92.96	99.63	---	55/540	2/540	4/540	62/540
10	89.26	89.44	88.89	89.81	90.00	89.81	90.00	90.19	89.81	---	53/540	54/540	62/540
11	93.89	95.56	93.89	91.48	99.26	93.15	93.33	100.00	99.63	90.19	---	2/540	61/540
12	93.52	95.19	93.52	91.30	98.89	92.96	93.15	99.63	99.26	90.00	99.63	---	62/540
13	90.00	89.81	88.89	90.00	88.33	88.70	88.89	88.70	88.52	88.52	88.70	88.52	---

1-*Streptomyces* sp. 9C54 *rpoB, **2-*S. aculeolatus* NRRL B-24312^T**, **3-*S. synnematoformans* DSM 41902^T**, **4-*S. morookaense* NRRL B-12429^T**, **5-*S. melanosporofaciens* AS 4.1742^T**, **6-*S. hygrosopicus subsp. hydr* CGMCC 4.1527^T**, **7-*S. demainii* DSM 41600^T**, **8-*S. sporoclivatus* DSM 41461^T**, **9-*S. antimycoticus* AS 4.1591^T**, **10-*S. cacaoi subsp. cacaoi* NRRL B-1220^T**, **11-*S. violaceusniger* AS 4.1423^T**, **12-*S. javensis* DSM 41764^T**, **13-*S. thioluteus* NRRL B-1667^T**

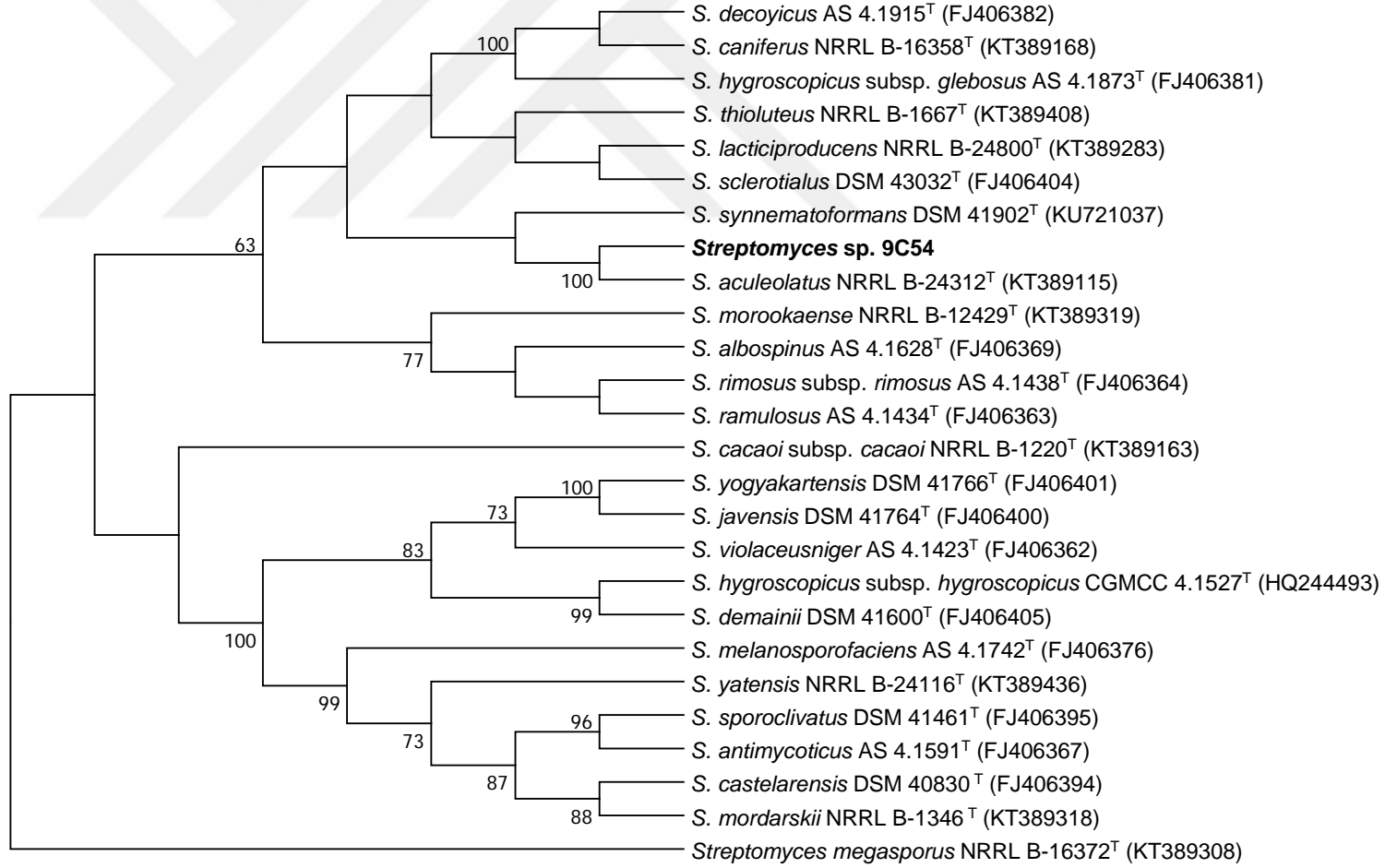


Şekil 4.23. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *rpoB* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı. Ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces megasporus* NRRL B-16372^T organizması kullanıldı.

Çizelge 4.20. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki *trpB* gen bölgesinin nükleotit sayısı farklılıkları ve dizi benzerlik % değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	---	18/571	60/569	77/571	86/567	83/567	84/567	90/567	87/567	94/571	86/567	88/571	73/567	82/567
2	96.85	---	62/569	72/571	74/567	76/567	77/567	80/567	77/567	90/571	76/567	78/571	69/567	77/567
3	89.46	89.10	---	60/569	71/567	79/567	80/567	78/567	75/567	73/569	74/567	74/569	56/567	52/567
4	86.51	87.39	89.46	---	84/567	81/567	82/567	85/567	82/567	75/571	83/567	84/571	50/567	63/567
5	84.83	86.95	87.48	85.19	---	26/567	29/567	16/567	13/567	75/567	12/567	13/567	74/567	81/567
6	85.36	86.60	86.07	85.71	95.41	---	3/567	22/567	19/567	72/567	20/567	21/567	74/567	80/567
7	85.19	86.42	85.89	85.54	94.89	99.47	---	23/567	22/567	73/567	23/567	24/567	75/567	81/567
8	84.13	85.89	86.24	85.01	97.18	96.12	95.94	---	3/567	81/567	6/567	7/567	81/567	85/567
9	84.66	86.42	86.77	85.54	97.71	96.65	96.12	99.47	---	78/567	3/567	4/567	78/567	82/567
10	83.54	84.24	87.17	86.87	86.77	87.30	87.13	85.71	86.24	---	75/567	76/571	74/567	74/567
11	84.83	86.60	86.95	85.36	97.88	96.47	95.94	98.94	99.47	86.77	---	1/567	76/567	81/567
12	84.59	86.34	86.99	85.29	97.71	96.30	95.77	98.77	99.29	86.69	99.82	---	77/567	81/567
13	87.13	87.83	90.12	91.18	86.95	86.95	86.77	85.71	86.24	86.95	86.60	86.42	---	59/567
14	85.54	86.42	90.83	88.89	85.71	85.89	85.71	85.01	85.54	86.95	85.71	85.71	89.59	---

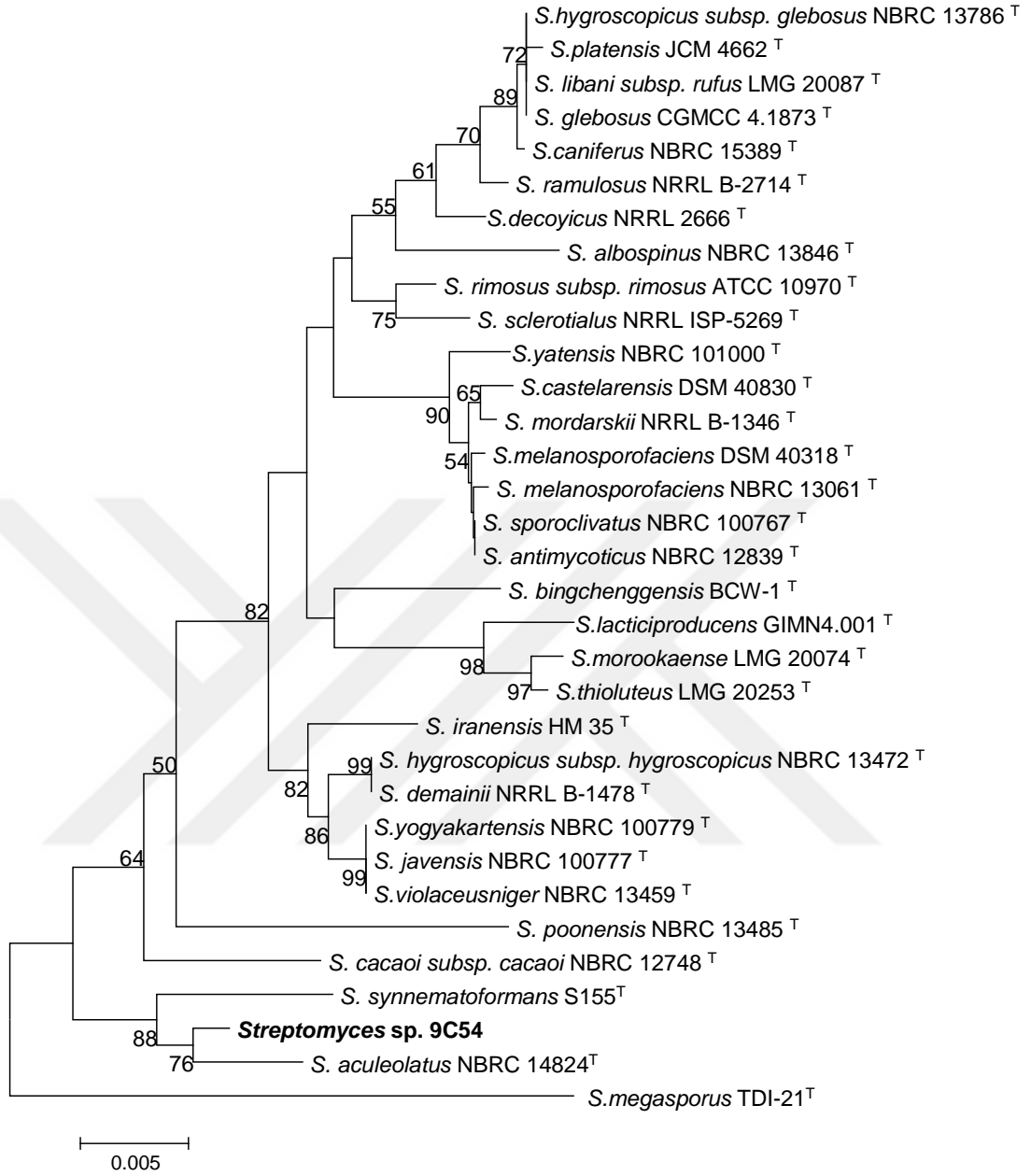
*1-*Streptomyces* sp. 9C54 *trpB*, 2-*S. aculeolatus* NRRL B-24312^T, 3-*S. synnematoformans* DSM 41902^T, 4-*S. morookaense* NRRL B-12429^T, 5-*S. melanosporofaciens* AS 4.1742^T, 6-*S. hygrosopicus* subsp. *hygr* CGMCC 4.1527^T, 7-*S. demainii* DSM 41600^T, 8-*S. sporoclivatus* DSM 41461^T, 9-*S. antimycoticus* AS 4.1591^T, 10-*S. cacaoui* subsp. *cacaoui* NRRL B-1220^T, 11-*S. violaceusniger* AS 4.1423^T, 12-*S. javensis* DSM 41764^T, 13-*S. thioluteus* NRRL B-1667^T



Şekil 4.24. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve ve yakın ilişkili tip tür örneklerinin *trpB* gen bölgesi sekansına dayalı Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı. Ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış grup olarak *Streptomyces megasporus* NRRL B-16372^T organizması kullanıldı.

Çizelge 4.21. *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizlerine göre *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve *Streptomyces* cinsine ait tip türleri arasındaki distance matrix

<i>Streptomyces</i> sp. 9C54 atpD														
<i>S. aculeolatus</i> NRRL_B-24312^T	0,024													
<i>S. synnematoformans</i> DSM_41902^T	0,049	0,052												
<i>S. morookaense</i> NRRL B-12429^T	0,108	0,103	0,097											
<i>S. melanosporofaciens</i> AS 4.1742^T	0,095	0,084	0,085	0,093										
<i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>hygr</i> CGMCC 4.1527^T	0,111	0,103	0,103	0,097	0,045									
<i>S. demainii</i> DSM 41600^T	0,113	0,105	0,104	0,097	0,047	0,006								
<i>S. sporoclivatus</i> DSM 41461^T	0,095	0,086	0,088	0,093	0,011	0,044	0,044							
<i>S. antimycoticus</i> AS 4.1591^T	0,095	0,085	0,086	0,092	0,010	0,042	0,044	0,004						
<i>S. cacaoi</i> subsp. <i>Cacaoi</i> NRRL B-1220^T	0,122	0,119	0,113	0,112	0,101	0,101	0,102	0,104	0,102					
<i>S. violaceusniger</i> AS 4.1423^T	0,104	0,104	0,102	0,100	0,051	0,046	0,047	0,051	0,049	0,100				
<i>S. javensis</i> DSM 41764^T	0,087	0,081	0,084	0,090	0,036	0,044	0,044	0,033	0,032	0,094	0,049			
<i>S. thioluteus</i> NRRL B-1667^T	0,117	0,114	0,101	0,100	0,114	0,120	0,122	0,115	0,113	0,134	0,118	0,114		
<i>S. lacticiproducens</i> NRRL B-24800^T	0,103	0,099	0,093	0,051	0,093	0,100	0,101	0,095	0,093	0,114	0,104	0,090	0,086	
<i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>glebosus</i> AS 4.1873^T	0,124	0,121	0,110	0,099	0,107	0,113	0,114	0,108	0,107	0,124	0,087	0,110	0,111	0,097



Şekil 4.25. *Streptomyces* sp. 9C54 izolatu ve tip türlerinin *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* birleştirilmiş dizileme analizleri Neighbour-joining (Jukes ve Cantor, 1969; Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soy ağacı. 1000 tekrarlı uygulanan bootstrap değeri %50 ve üzerinde olan nodlar verilmiştir.

4.1.5. DNA-DNA ve dDNA- dDNA homolojisi sonuçları

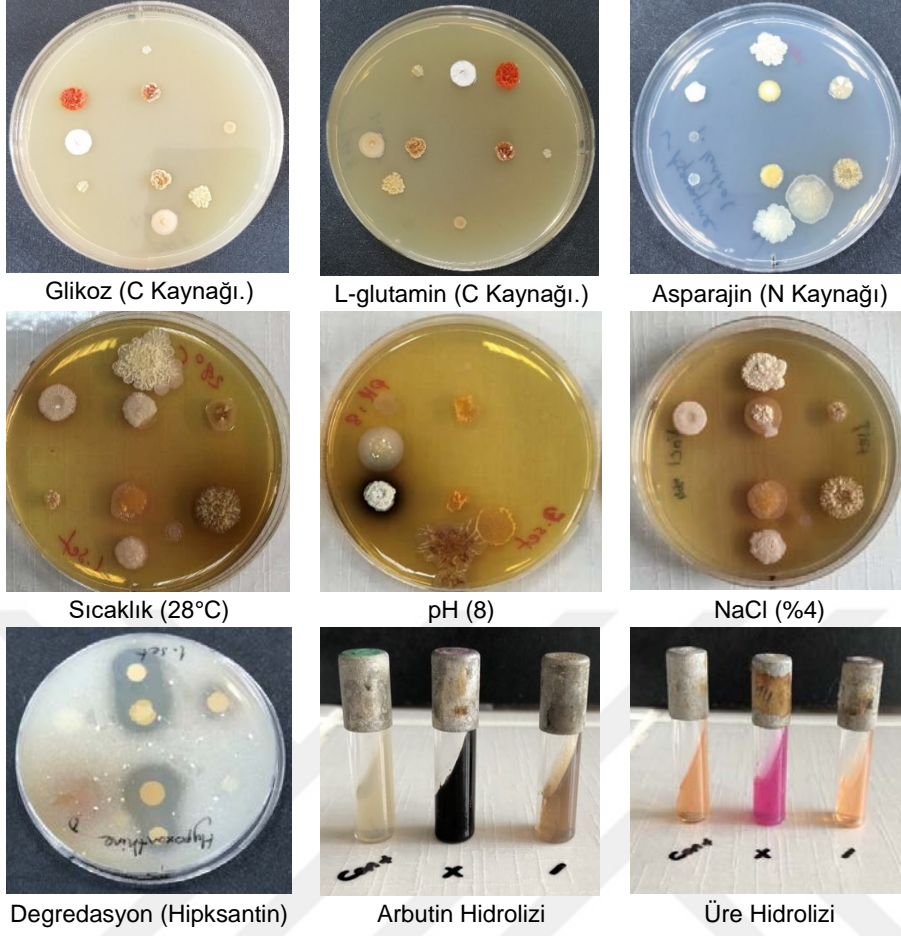
Chun vd (2018) yaptığı çalışmalarda 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerlikleri bakımından suşların, ilgili tip türleri ile benzerliklerinde yeni tür olma potansiyellerini ifade eden eşik değerinin %98.7 olarak ortaya koyulduğu literatür bilgisine dayanarak *Actinomadura geliboluensis* A8036^T tip türü ile %98.54 benzerlik gösteren *Actinomadura* sp. 14C53 izolatının DNA homolojisi analizine ihtiyaç görülmemiştir.

Nonomuraea sp. 160415 izolatının *Nonomuraea candida* NRRL B-24552^T tip türü ile dijital DNA-DNA değeri %25.7, *Nonomuraea zae* DSM 100528^T tip türü ile %27.7, *Nonomuraea turkmeniaca* DSM43926^T tip türü ile %29.30 olarak belirlenmiştir.

Rhodococcus sp.14C212 izolatının *R. aetherivorans* 10bc312^T tip türü ile homoloji sonucu %73, *R. ruber* DSM 43338^T tip türü ile homoloji sonucu ise % 60 olarak tespit edilmiştir.

4.1.6. Nümerik taksonomi

16S rRNA dizi benzerliği analizleri ve filogenetik pozisyonlanmalarına göre yeni tür olma ihtimali yüksek olan test suşları ve bunların en yakın tip türleri 80 birim karakter üzerinden fenotipik değerlendirmeye tabi tutuldu. Test seçimleri, suşlar arasındaki morfolojik, besinsel, biyokimyasal ve fizyolojik farklılıkları en iyi ortaya koyacak şekilde yapıldı. Bazı izolatların fenotipik testlerin uygulandığı petri görüntüleri Şekil 4.26'de verilmiştir. İzolatların azot ve karbon kaynağında gelişim testleri negatif ve pozitif kontrol petrileri ile kıyaslanarak tespit edildi. Biyokimyasal testler yapılırken küçük deney tüpleri 5 ml'lik yatık agarlar halinde hazırlandı. Suşların ekimi gerçekleştirildi ve test ortamının renk değişimine göre pozitif ve negatif olarak değerlendirildi. Bazı izolatların ve tip türlerinin fenotipik özellikleri Çizelge 4.22-4.23'de verildi.



Şekil 4.26. Bazı izolatların fenotipik testlerin uygulandığı besiyeri görüntüleri

Çizelge 4.22. *Nonomuræa spp.* 160415, 7N207, 12C250, 13Z33 izolatlarının en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Azot kaynakları									
Alfa-iso-lösin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DL-Fenilalanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glisin	-	+	+	+	+	-	+	+	+
L-Alanin	+	+	+	+	+	-	+	+	+
L-Arjinin	-	-	+	+	+	+	+	+	+
L-Asparajin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Sistein	-	+	+	+	+	+	-	+	+
L-Histidin	-	-	+	+	+	+	-	+	+
L-Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Metiyonin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Prolin	+	+	+	+	+	-	+	+	+
L-Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Treonin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Tirozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Lizin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Karbon kaynakları									
D(-)Arabinoz	+	-	+	+	-	-	-	+	+
D(-)Fruktoz	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D(-)Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+	-	-
D(+)Riboz	-	-	-	-	-	-	-	+	+
D(+) Sellobiyoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D(+)Galaktoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+
D(+)Mannoz	+	+	+	+	+	-	-	-	+
D(+)Melezitoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D(+)Melibiyoz	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Dekstran	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Dextrin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glikoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+
İnulin	+	+	+	+	-	-	+	+	+
L(-)Sorboz	-	-	-	-	+	-	+	-	-
L(+)Arabinoz	+	+	+	+	-	-	-	-	+
L(+)Ramnoz	+	+	+	+	+	-	-	+	-
Laktoz	+	+	+	+	+	-	-	+	-
L-glutamin	+	-	+	-	+	-	-	+	+
Maltoz	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>myo</i> -inositol	+	+	+	+	+	-	-	+	-
Starch	+	+	+	+	+	-	+	-	+
Suksinik asit (%0.1)	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Sukroz	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ksilitol	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Ksiloz	+	+	+	+	+	-	+	+	+

Çizelge 4.22. (Devamı) *Nonomuraea* spp. 160415, 7N207, 12C250, 13Z33 izolatlarının en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Degradasyon testleri									
Adenin	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Guanin	+	+	+	-	+	+	-	-	-
Hipoksantin	+	+	+	-	+	-	-	-	-
Nişasta	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Tween 20	-	-	-	+	+	-	+	+	+
Tween 40	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Tween 80	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Ksantin	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ksilan	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Tolerans testleri									
Sıcaklık (°C)									
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	-	+	-	-	+	-	+	+
28	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45	-	-	-	-	+	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH									
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	+	-	+	+	-	-	-	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	-	+	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	+	+	-	+	+
11	-	-	-	-	+	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl (% w/v)									
0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	-	-	-	+	+	-	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Biyokimyasal testler									
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arbutin	+	+	+	+	-	-	+	-	+
Üre	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Nitrat	+	-	+	+	-	-	-	+	-
1 <i>Nonomuraea</i> sp. 160415 2 <i>Nonomuraea</i> sp.7N207 3 <i>Nonomuraea</i> sp.12C2504 <i>Nonomuraea</i> sp.13Z33 5 <i>N. candida</i> DSM 45086 ^T 6 <i>N. salmonea</i> DSM 43678 ^T 7 <i>N.</i> <i>turkmeniaca</i> DSM 43926 ^T 8 <i>N. kuesteri</i> DSM 44753 ^T 9 <i>N. zeae</i> DSM 100528 ^T									

Çizelge 4.23. *Actinomadura* sp. 14C53 izolatının en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu

	1	2	3
Azot kaynakları			
Alfa-iso-lösin	+	+	+
DL-	+	+	+
Fenilalanin			
Glisin	+	+	+
L-Alanin	+	+	+
L-Arjinin	+	+	+
L-Asparajin	+	+	+
L-Sistein	+	+	+
L-Histidin	+	+	+
L-	+	+	+
Hidroksiprolin			
L-Metiyonin	+	+	+
L-Prolin	+	+	+
L-Serin	+	+	+
L-Treonin	+	+	+
L-Tirozin	+	+	+
L-Lizin	+	+	+
Karbon kaynakları			
D(-)Arabinoz	-	-	-
D(-)Fruktoz	-	+	-
D(-)Sorbitol	-	-	-
D(+)Riboz	-	-	-
D(+)	-	+	-
Sellobiyoz			
D(+)Galaktoz	-	-	-
D(+)Mannoz	-	+	-
D(+)Melezitoz	+	+	-
D(+)Melibiyoz	-	-	-
Dekstran	-	-	-
Dextrin	+	+	+
Glikoz	+	+	-
İnulin	-	+	-
L(-)Sorboz	-	-	-
L(+)Arabinoz	-	+	-
L(+)Ramnoz	-	-	-
Laktoz	-	-	-
L-glutamin	+	+	+
Maltoz	+	-	+
Mannitol	-	+	-
myo-inositol	-	-	-
Starch	-	+	-
Suksinik asit	-	+	-
(%0.1)			
Sukroz	+	+	-
Ksilitol	-	-	-
Ksiloz	+	+	-

Çizelge 4.23. (Devamı) *Actinomadura* sp. 14C53 izolatının en yakın tip türleri ile fenotipik karakterizasyonu

	1	2	3
Degradasyon testleri			
Adenin	-	-	-
Kazein	-	-	-
Kitin	-	-	-
Jelatin	-	-	-
Hipoksantin	+	-	-
Nişasta	-	+	-
Tween 20	+	+	+
Tween 40	+	+	+
Tween 80	+	+	+
Ksilan	-	-	-
Tolerans testleri			
Sıcaklık (°C)			
4	-	-	-
10	-	-	-
28	+	+	-
37	+	+	+
45	-	-	-
50	-	-	-
pH			
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	+	-
7	-	+	-
8	+	+	+
9	-	+	+
10	-	+	-
11	-	-	-
12	-	-	-
NaCl (% w/v)			
0	+	+	+
1	+	+	-
2	-	+	-
3	-	+	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
Biyokimyasal testler			
Allantoin	+	+	+
Arbutin	-	-	-
Üre	-	+	+
Nitrat	+	+	+
1 <i>Actinomadura</i> sp. 14C53	2 <i>A. geliboluensis</i> A8036^T	3 <i>A. alkaliterrae</i> D310AT^T	

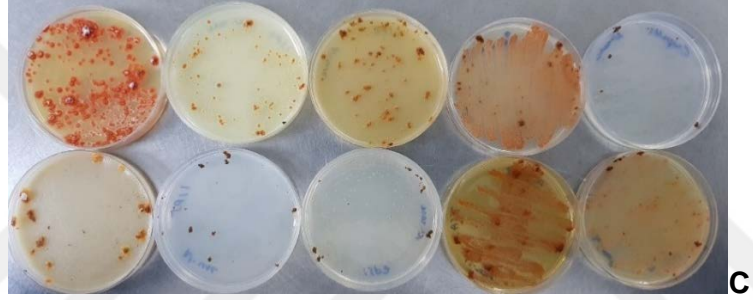
4.1.7. Antimikrobiyal aktivite

Nonomuraea sp. 160415, *N. candida* DSM 45086^T, *N. turkmeniaca* DSM 43926^T, *N. zea* DSM 100528^T, *Actinomadura* sp. 14C53, *A. geliboluensis* A8036^T, *A. alkaliterrae* D310AT^T izolatları ve tip türlerinin *Aspergillus niger*-izolat, *Bacillus subtilis* NRRL-B 209 T, *Candida albicans* ATCC 10231^T, *Escherichia coli* ATCC 25922^T, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433^T ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923^T patojenleri üzerinde antimikrobiyal aktivitesi test edilmiş ancak bir zon çapı ölçülememiştir.

4.1.8. Kültürel ve morfolojik özelliklerin belirlenmesi

İzolatların farklı besiyerlerindeki büyüme ve gelişimleri

İzolasyon agarlarından saflaştırılan ve kültüre alınan bazı izolatların (14C53, 160415, 7N207, 12C250, 13Z33) on farklı besiyerlerindeki kültürel ve morfolojik özellikleri incelenmek üzere en yakın akraba tip türleriyle birlikte büyüme ve gelişmeleri sağlandı. On farklı besiyerinde izolatların gelişimi, spor rengi, substrat miselyum ve çözünür pigment rengi özellikleri belirlendi (Çizelge 4.24-4.25). İzolatlardan bazılarının farklı besiyerlerindeki gelişim morfolojileri Şekil 4.27'de verildi.



Şekil 4.27. Bazı izolatların 10 farklı besiyeri gelişim morfolojileri (**A-** *Actinomadura* sp. 14C53, **B-** *Nonomuraea* sp. 160415 **C-** *Nonomuraea* sp.7N207)

Çizelge 4.24. *Nonomuraea* spp. izolatları ve tip türlerinin 10 farklı besi yerinde gelişim ve pigment özellikleri

	ISP2	ISP3	ISP4	ISP5	ISP6	ISP7	Bennett's A	TSA	Czapek's A	Nütrient A
<i>Nonomuraea</i> sp. 160415	G:+++ R: - A: Açikkah. S:-	G:+ ++ R: bej A: Kah S:-	G:+ R:- A: Kah S: -	G:++ R: - A: Koy.kah S: -	G:- +++ R:- A:-Kah. S:-	G:++ R:- A:Kah S:-	G:+++ R: - A: Kah S:-	G:+ R:- A:Kah S:-	G:+++ R: - A: Kah S:-	G:++ R:- A:Kah S:-
<i>Nonomuraea</i> sp.7N207	G:+++ R: - A:Aç. Kah S: -	G:+++ R: - A: Aç. Kah S: -	G:++ R: - A: kahve S: -	G:- R:- A:- S:-	G:+++ R:- A: kahve S: -	G:+ R: mor A: mor S: kırmızı	G:+++ R: siyah A: beton S: siyah	G:+++ R:kahve A:kahve S: bazalt	Gelişim yok	G:+++ R:- A:Kahve S:-
<i>Nonomuraea</i> sp.12C250	G:+ ++ R:- A: Kahve S:Turuncu	G:+++ R: Bej A: Krem S:-	Gelişim yok	G:++ R: - A: Kahve S:-	G:+++ R: - A:kahve S:-	G:+++ R: - A: Kahve S:-	G:+++ R: - A: Kahve S: -	G:++ + R: - A:Kahve S:-	Gelişim yok	G:++ + R: - A: Kahve S:-
<i>Nonomuraea</i> sp.13Z33	G:++ + R: A: kahve S:-Turuncu	G:+ ++ R: Krem A: Kahve S:-	Gelişim yok	G:++ R: - A: Kahve S: -	G:++ + R: - A: Kahve S: -	G:+++ R:- A:Koyu Kah S:-	G:+++ R: - A: Kah S: Açık kah	G:+++ R: - A:Kahve S:-	Gelişim yok	G:+++ R:- A:Kahve S:-
<i>N. candida</i> DSM 45086 ^T	G:++ + R: krem A: KoyuKah S:Kahve	G:+++ R:Krem A:Kahve S:-	Gelişim yok	Gelişim yok	G:+++ R: - A: Siyah S:Açık Kah	G:++ + R: Krem A: Turuncu S:-	G:+++ R: Gri A: KoyuKah S:Sarı	G:+++ R: - A:Turuncu S:-	Gelişim yok	G:+++ R: - A: KoyuKah S:Açık Kah
<i>N. salmonea</i> DSM 43678 ^T	G:+ ++ R: Krem A: Kahve S:-	G:+++ R: Bej A: Koyu kırmızı S:-	Gelişim yok	Gelişim yok	G:+ R: - A: Kahve S:-	G:+ R: Krem A: Açık kah S:-	G:+++ R: - A: Koyu Bordo S:Bordo	G:++ R: - A: Turuncu S:-	Gelişim yok	G:++ R: - A: Açık Turuncu S:-
<i>N. turkmeniaca</i> DSM 43926 ^T	G:++ + R: - A: Kahve S:-	G:+ ++ R: Krem A: Mor S:Açık mor	Gelişim yok	Gelişim yok	Gelişim yok	G:+ R: - A: Koyu yeş S:-	G:++ R: - A: Açık kah S: -	G:- R: - A: - S:-	G:++ + R: - A: Truncu S:-	G:++ R: - A: Truncu S:-
<i>N. zaeae</i> DSM 100528 ^T	G:+++ R:Koyu kahve A: beyaz S:-	G:++ R: Gri A: Beyaz S:-	G:++ R: Bordo A:- S:-	Gelişim yok	G:++ R: Kahve A:- S:-	G:+ R: Turuncu A:- S:-	G:+++ R: Kahve A:- S:-	G:+++ R:Mor A:- S:-	Gelişim yok	G:++ R: Kırmızı A:- S:

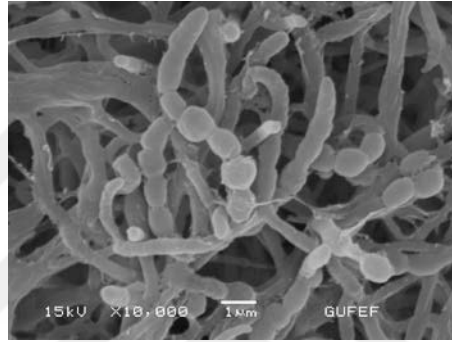
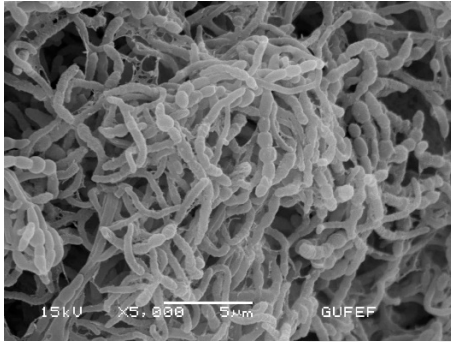
Çizelge 4.25. *Actinomadura* sp. 14C53 ve tip türlerinin 10 farklı besi yerinde gelişim ve pigment özellikleri

	ISP2	ISP3	ISP4	ISP5	ISP6	ISP7	Bennett's A	TSA	Czapek's A	Nütrient A
<i>Actinomadura</i> sp. 14C53	G:+++ R:Açık turuncu A: krem S:-	G:++ R:Beyaz A:Krem S:-	G:+ R:Sarı A: Beyaz S:-	G:+++ R:Krem A: Krem S:-	G:+++ R: Açık turuncu A:Krem S:-	G:++ R:Bordo A:Krem S:-	G:+++ R:Pudra A: Krem S:-	G:+++ R Açık turuncu A:Krem S:-	Gelişim yok	G:++ R:Açık sarı A: Beyaz S:-
<i>A.</i> <i>geliboluensis</i> <i>A8036^T</i>	G:+++ R: Sarı A: Beyaz S: -	G: +++ R: Yeşilimsi gri A: Beyaz S:-	G: +++ R:Açık gri A: Beyaz S:-	G:+++ R: Krem A: Beyaz S: -	G:+++ R: Açık turuncu A: beyaz S:-	G:+++ R: Bej S:-	G:+++ R: Krem A: Beyaz S:-	G:+++ R:Sarı A: Beyaz S:-	G:+++ R: Krem A: Beyaz S:-	G:+++ R Sarı A: Beyaz S:
<i>A. alkaliterrae</i> <i>D310AT^T</i>	G:+++ R:Bej A:- S:beyaz	Gelişim yok	Gelişim yok	G:+ R:Pudra A:- S:	G:++ R:Sarı A:Beyaz S:-	G:+ R:Gri A:- S:-	G:+++ R: Krem A: Krem S:-	G:+++ R:AçıkTuruncu A:- S:-	Gelişim yok	G:+++ R:Sarı A: Beyaz S:Beyaz

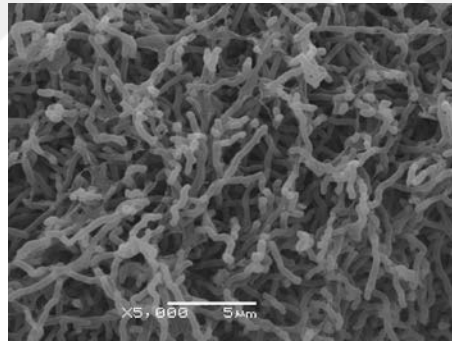
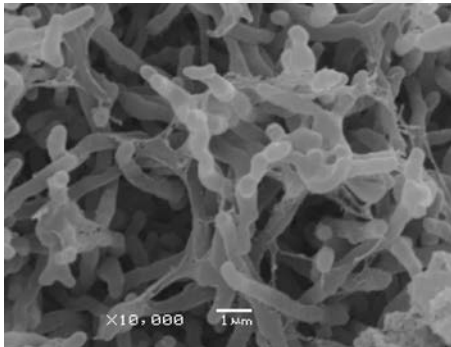
Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile spor morfolojisi

16S rRNA gen dizi analizine göre yeni tür olma potansiyeli daha fazla olan *Actinomadura* sp. 14C53, *Nonomuraea* sp. 160415 ve *Rhodococcus* sp. 14C212 izolatlarının aerial miselyum morfolojileri taramalı elektron mikroskopu ile belirlenmiş ve görselleri Şekil 4.28'de verilmiştir.

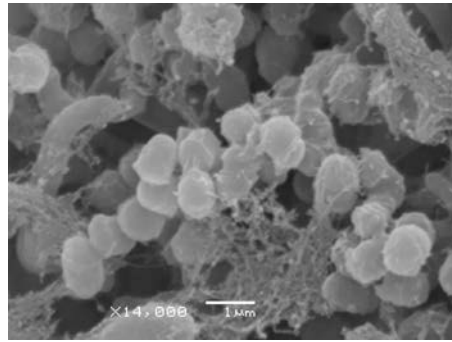
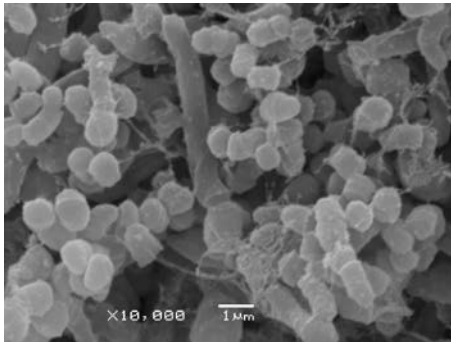
Actinomadura sp. 14C53 suşu spor yüzeyi pürüzsüz ve kısa spor zincirlerine sahiptir. *Nonomuraea* sp. 160415 izolatının kısa spor zincirlerini oluşturan sporların yüzeyleri pürüzsüzdür. *Rhodococcus* sp. 14C212 izolatının sporları ise yuvarlak şekilli ve yüzeyleri pürüzsüz olarak belirlenmiştir.



Actinomadura sp. 14C53



Nonomuraea sp. 160415



Rhodococcus sp. 14C212

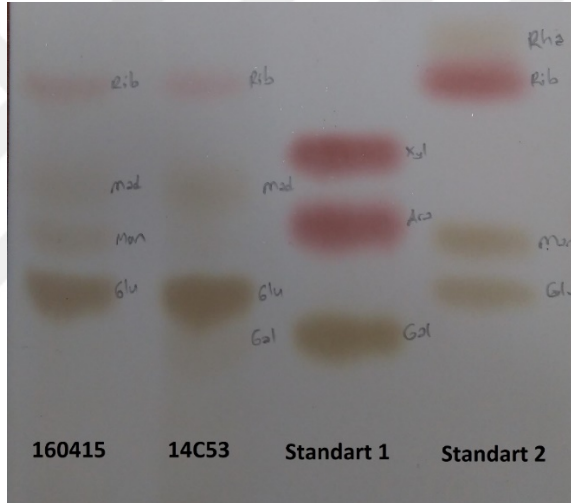
Şekil 4.28. *Actinomadura* sp. 14C53, *Nonomuraea* sp. 160415 ve *Rhodococcus* sp. 14C212 izolatlarının SEM görüntüleri

4.1.9. Kemotaksonomik karakterizasyon

İzolatların, ait oldukları cinslerin karakteristik kimyasal özelliklerinin belirlenmesi için kemotaksonomik analizleri gerçekleştirildi. Bu analizler diaminopimelik asit, şeker, yağ asiti profili, polar lipit ve menakinon analizlerini kapsamaktadır (Çizelge 4.28).

Şeker analizi

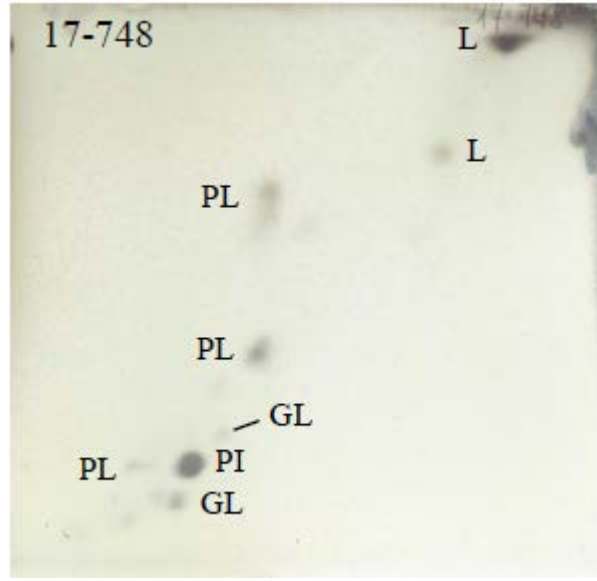
Yeni tür olma ihtimali yüksek olan *Nonomuraea* sp. 160415 ve *Actinomadura* sp. 14C53 izolatlarının tüm-hücre şeker hidrolizatları tek boyutlu ince tabaka kromatografisi ile analiz edildi. Standart olarak glukoz (%1, w/v), galaktoz (%1, w/v), arabinoz (%1, w/v), mannoz (%1, w/v), ksiloz (%1, w/v), riboz (%1, w/v) ve ramnoz (%1, w/v) şekerlerini içeren çözelti kullanıldı. İzolatların şeker profili, tüm-hücre şeker hidrolizatlarının kromatografi plakası üzerindeki hareketlerinin ve renk profillerinin standart şekerler ile karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.



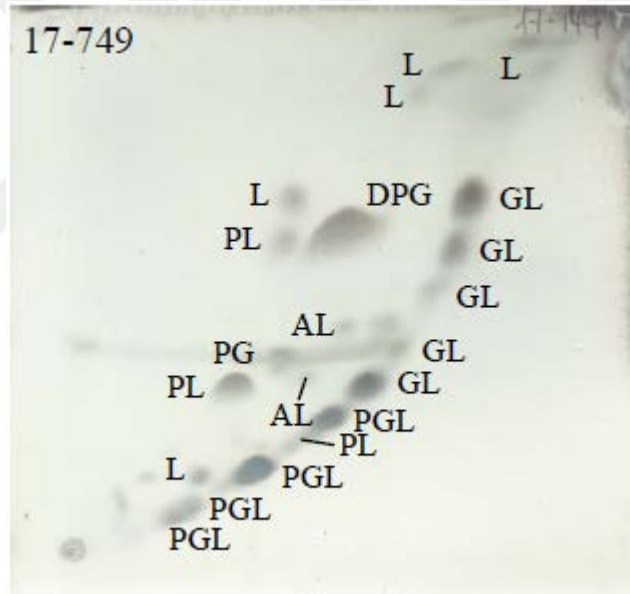
Şekil 4.29. *Nonomuraea* sp. 160415 ve *Actinomadura* sp. 14C53 suşlarının şeker profilleri. (Std 1: Gal; galaktoz; Ara; arabinoz; Xyl; ksiloz; Std 2: Glu; glikoz; Man, mannoz; Rib, riboz; Rham, ramnoz; Mad, maduroz)

Polar lipid analizi

Actinomadura sp. 14C53 ve *Nonomuraea* sp. 160415 suşlarının DSMZ firmasından hizmet alımı yoluyla elde edilen molibdofosforik asitle boyanmış tüm lipit profilleri Şekil 4.30 ve 4.31'de görülmektedir. Amino grupları ninhidrin ile, glikolipitler α -naftol ile ve fosfat grupları molibden blue ile ayrıca boyanmış ancak TLC kromatogramları analiz işlemlerinde kullanıldığı ve firma kural ve şartları nedenleriyle tarafımıza sunulmamıştır.



Şekil 4.30. *Actinomadura* sp. 14C53 türünün polar lipit profili. (L, lipit; GL, glikolipit; PL, fosfolipit; PI, fosfotidilinositol)



Şekil 4.31. *Nonomuraea* sp. 160415 türünün polar lipit profili. (L, lipit; GL, glikolipit; AL, aminolipit; PL, fosfolipit; PG, fosfotidilgliserol; PGL, fosfoglikolipit; DPG, difosfotidilgliserol)

Menakinon analizi

Actinomadura sp. 14C53 ve *Nonomuraea* sp. 160415 izolatların menakinon analizleri Almanya'nın Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) firmasından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Menakinonların belirlenmesinde literatür olarak Collins vd, (1977) ve Tamaoka vd, (1983)'e göre gerçekleştirilmiştir.

Actinomadura sp. 14C53 suşunun baskın menakinon olarak MK9(H₄) (2%), MK9(H₆) (20%), MK9(H₈) (43%) ve MK9(H₁₀) (4%) bileşiklerini içermektedir. *Nonomuraea* sp. 160415 suşunun ise MK9 (4%), MK9(H₂) (5%), MK9(H₄) (69%) ve MK9(H₆) (14%) menakinonlarını içerdiği belirlenmiştir.

Yağ asiti analizi

Gaz kromatografisi verilerine göre test suşları ve en yakın akraba tip türlerinin yağ asiti metil esteri profilleri Çizelge 4.26 ve 4.27’de verilmiştir. *Actinomadura* sp. 14C53 izolatının majör yağ asiti olarak *iso* C_{16:0} (%37.82) ve C_{16:0} (%23.15) yağ asitlerini içerdiği belirlenmiştir. *Nonomuraea* sp. 160415 izolatının majör yağ asitleri ise *iso* C_{16:0} (%31.59), C_{17:0} 10-*metil* (%17.9), *iso* C_{16:1} G (%14,64) ve *iso* C_{15:0} (%10.02) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.26. *Actinomadura* sp. 14C53 izolatının en yakın tip türlerinin yağ asiti analiz sonuçları

Yağ asidleri	1	2	3
Doymuş			
C _{14:0}	1.0	5.63	3.09
C _{15:0}	4.32	1.25	0.79
C _{16:0}	23.15	22.82	71.26
C _{17:0}	3.75	1.04	1.03
C _{18:0}	0.72	8.13	5.30
C _{20:0}	-	1.33	-
Doymamış			
C _{15:0} 3OH	6.07	-	-
C _{16:0} 3OH	-	3.45	-
C _{16:1} B	-	1.27	0.51
C _{16:1} <i>cis</i> 9	2.44	1.64	5.34
C _{17:1} <i>cis</i> 9	0.66	-	-
C _{18:1} <i>cis</i> 9	0.81	6.41	2.54
Dallanmış			
<i>iso</i> C _{14:0}	0.76	2.90	-
<i>iso</i> C _{16:0}	37.82	20.07	3.32
<i>iso</i> C _{18:0}	1.82	1.22	-
<i>iso</i> C _{17:0} 2OH	1.47	-	-
<i>iso</i> C _{15:1} F	-	2.07	1.98
<i>iso</i> C _{18:1} H	0.96	-	-
C _{16:0} 9- <i>methyl</i>	-	2.58	-
C _{16:0} 10- <i>methyl</i>	2.39	-	4.40
C _{17:0} 10- <i>methyl</i>	3.47	1.17	0.44
C _{18:0} 10- <i>methyl</i> (TBSA)	2.01	11.65	-
Summed Feature 6	-	3.43	-
Summed Feature 9	1.04	0.98	-
Unknown 14.966	6.31	-	-

*1, *Actinomadura* sp. 14C53; 2, *A. geliboluensis* A8036^T; 3, *A. alkaliterrae* D310A^T

*Summed Feature 6 comprised *anteiso* C_{18:0} /18:2c, Summed Feature 9 comprised un 18.858/.846/19cy

Çizelge 4.27. *Nonomuræa* sp. 160415 izolatının en yakın tip türlerinin yağ asiti analiz sonuçları

Yağ asitleri	1	2	3	4	5
Doymuş					
C _{13:0}	0.37	-	0.78	-	0.44
C _{14:0}	1.03	2.46	2.18	1.60	1.91
C _{15:0}	2.74	2.47	6.53	3.22	4.61
C _{16:0}	1.55	4.01	5.82	1.61	4.61
C _{17:0}	1.63	1.03	4.81	4.10	7.73
C _{18:0}	2.58	-	-	-	3.43
Doymamış					
C _{15:0} 2OH	-	-	1.40	0.78	1.12
C _{15:0} 3OH	-	6.28	1.26	2.77	-
C _{16:0} 2OH	-	-	1.17	1.14	1.42
C _{17:0} 2OH	-	-	0.31	2.07	-
C _{16:1} <i>cis</i> 9	0.81	-	1.38	1.41	1.34
C _{17:1} <i>cis</i> 9	-	0.96	2.54	4.52	1.83
C _{18:1} <i>cis</i> 9	-	3.01	0.43	0.88	0.36
Dallanmış					
<i>iso</i> C _{12:0}	0.31	-	-	-	-
<i>iso</i> C _{14:0}	2.34	0.67	0.94	0.48	0.80
<i>iso</i> C _{15:0}	10.02	9.71	3.30	5.53	3.59
<i>iso</i> C _{16:0}	31.59	14.89	22.85	14.82	23.12
<i>iso</i> C _{17:0}	0.76	-	0.63	-	0.61
<i>iso</i> C _{18:0}	1.42	0.61	0.50	0.63	1.21
<i>iso</i> C _{16:0} 2OH	4.12	4.10	9.77	9.88	11.96
<i>iso</i> C _{17:0} 2OH	-	-	0.29	0.60	1.52
<i>iso</i> C _{16:1} G	14.64	4.11	3.08	7.53	2.76
<i>iso</i> C _{18:1} H	0.19	-	-	-	0.43
C _{16:0} 10- <i>methyl</i>	1.80	1.52	2.82	1.07	-
C _{17:0} 10- <i>methyl</i>	17.90	7.88	20.09	26.22	18.90
C _{18:0} 10- <i>methyl</i> (TBSA)	0.58	0.94	1.76	1.68	1.58
<i>iso</i> C _{18:0} 10- <i>methyl</i>	-	8.35	2.46	3.46	-
<i>anteiso</i> C _{15:0}	-	-	0.45	0.54	-
<i>anteiso</i> C _{17:0}	0.96	-	0.66	1.35	0.84
Summed Feature 6	-	19.04	-	-	0.56
Unknown 16.048	1.68	-	0.49	-	-
Unknown 14.966	-	7.06	1.29	2.11	-

*1; *Nonomuræa* sp. 160415; 2, *N. candida* DSM 45086^T; 3, *N. zæae* DSM 100528^T; 4, *N. turkmeniaca* DSM 43926^T; 5, *N. kuesteri* DSM 44753^T

* Summed Feature 6 comprised *anteiso* C_{18:0}/18:2c

Çizelge 4.28. Analizi yapılan *Actinomadura* sp. 14C53 ve *Nonomuraea* sp. 160415 izolatlarının kemotaksonomik özellikleri

izolat		Şeker profili	Majör yağ asitleri	Polar lipitler	Baskın menakinonlar
<i>Actinomadura</i> 14C53 ^T	sp.	Glukoz, Maduroz, Mannoz, Riboz,	<i>iso</i> C _{16:0} , C _{16:0}	L, GL, PL, PI	MK9(H ₆), MK9(H ₈)
<i>Nonomuraea</i> 160415 ^T	sp.	Galaktoz, Glukoz, Maduroz, Riboz,	<i>iso</i> C _{16:0} , C _{17:0} 10- <i>methyl, iso</i> C _{16:1} G, <i>iso</i> C _{15:0}	L, GL, AL, PL, PG, PGL, DPG	MK9(H ₄), MK9(H ₆)

*L(lipit), GL (glikolipit), AL (aminolipit), PI (fosfotidilinositol), PL fosfolipit), PG (fosfotidilgliserol), PGL (fosfoglikolipit), DPG (difosfotidilgliserol)

4.1.10. Tüm genom sekans analizleri

Tüm genom sekans dizilemeleri sonucunda elde edilen tüm genom verileri draft olarak elde edilmiş olup, yüksek sayıda kontiklerden oluşmaktadır. Tüm genom dizilemesi yapılan *Actinomadura* sp. 14C53 izolatının genom verilerinin RAST server (URL 14: <http://rast.nmpdr.org/rast.cgi>; Brettin vd, 2015) ile analizi sonucunda 623 kontikten oluşan toplam 9042531 baz içerdiği belirlendi. Ayrıca izolatın G+C içeriğinin %71.3 olduğu, 9117 adet protein kodlaması yapabildiği ve 73 adet RNA'ya sahip olduğu tespit edildi. *Actinomadura* sp. 14C53 suşunun 16S rRNA gen bölgesi bakımından en yakın tip türü olan *A. geliboluensis* A8036^T tip suşunun analizinde ise 798 kontik sayısına, 9423243 baz içeriğine, %72.2 G+C içeriğine, 73 adet RNA'ya sahip olduğu ve 9457 adet protein kodladığı tespit edildi.

Tüm genom sekansı yapılan bir diğer izolat *Nonomuraea* sp. 160415 izolatının genom verilerinin RAST server (URL 14: <http://rast.nmpdr.org/rast.cgi>; Brettin vd, 2015) ile analizi sonucunda 671 kontikten oluşan toplam 14338389 baz içerdiği belirlendi. Ayrıca izolatın G+C içeriğinin %69.6 olduğu, 15205 adet protein kodlayabildiği ve 75 adet RNA'ya sahip olduğu tespit edildi. *Nonomuraea zae* DSM 100528^T suşunun 756 kontikten oluşan toplam 13620107 baz içerdiği belirlendi. Ayrıca izolatın G+C içeriğinin %71.0 olduğu, 13212 adet protein kodladığı ve 71 adet RNA'ya sahip olduğu tespit edildi. *Nonomuraea turkmeniaca* DSM 43926^T suşunun 592 kontikten oluşan toplam 11352082 baz içerdiği belirlendi. Ayrıca izolatın G+C içeriğinin %69.7 olduğu, 11739 adet protein kodladığı ve 70 adet RNA'ya sahip olduğu tespit edildi.

Tüm genom sekans dizilemesi yapılan *Actinomadura* sp. 14C53 suşunun genom verilerinin antiSMASH bacterial version uygulamasında (URL 16: <https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>; Weber vd, 2015) gerçekleştirilen analizlerinde; *Actinomadura* sp. 14C53 suşunun 9042531 baz çiftinde (623 kontik) 68 tanımlanmamış 36 tanımlanmış olmak üzere toplam 104

sekonder metabolit gen kümesine sahip olduğu ve bunların ribozomal olmayan peptit sentetaz (NRPS), poliketit sentaz (PKS) gen bölgeleri ile terpen, lantipeptit, siderofor, bakteriyosin ve ektin gibi metabolitlerin yanında farklı sekonder metabolitleri de kodladığı belirlenmiştir.

Nonomuraea sp. 160415 suşunda 14338389 baz çiftinde (671 kontik) toplamda 173 olmak üzere 137'si tanımlanmamış, 36'sı tanımlanmış sekonder metabolit gen kümesine sahip olduğu yapılan analizlerde belirlenmiştir. *N. zea* DSM 100528^T tip türünde tanımlanmış 67, tanımlanmamış 104 olmak üzere toplam 171, *N. turkmeniaca* DSM 43926^T tip türünde tanımlanmış 44 tanımlanmamış 92 olmak üzere toplam 136 sekonder metabolit gen kümesi belirlenmiştir. Bu gen kümelerinin NRPS, PKS gen bölgeleri ile terpen, lantipeptit, lassopeptit, siderofor, indol ve bakteriyosin gibi metabolitleri de kapsayan farklı sekonder metabolitleri içerdiği tespit edilmiştir. Bu sekonder metabolit gen kümelerinin bazıları ve bunların bezerlik oranları Çizelge 4.29'da verilmiştir. Buna ilaveten düşük yüzde benzerlik oranlarında da olsa (<%10); alnumycin, enduracidin, salinomycin, thiotetronate (antibiyotik), fostriecin, herboxidiene (antitümör ajan), enterocin (antiviral), cinerubin B (antiparazitik), fengycin (antifungal), simocyclinone (DNA giraz inhibitörü) gibi tanımlanmamış sekonder metabolit gen kümelerinin varlığı da tespit edilmiştir.

Çizelge 4.29. Tüm genom sekans analizi yapılan suşlar ve tip türlerinin tanımlanmış bazı sekonder metabolit gen kümeleri ve yüzde benzerlikleri

Biyosentetik gen kümesi	1	2	3	4
Ectoine	%100	-	-	-
Lantipeptide (%)	Catenulipeptin (60), Venezuelin (50)	-	Catenulipeptin (60)	-
Terpene (%)	2-methylisoborneol (50), Hopene (46, 38)	Frankiamicin (21), Geosmin (100)	2-methylisoborneol (100), Geosmin (100)	2-methylisoborneol (100), Geosmin (100)
NRPS (%)	Kauitamsin (33), Mirubaktin (78)	-	Coelichelin (54)	Coelibactin (72), Scabichelin (100)
T1PKS (%)	Marinopirol (48)	Heronamide (41), Vicenistatin (25)	Nigericin (55)	-
T3PKS (%)	-	Alkilresorsinol (60)	Alkilresorsinol (66)	Alkilresorsinol (100)
Siderofor (%)	Tanımlanmamış	Macrotetrolide (33), Tanımlanmamış (2 adet)	Tanımlanmamış (2 adet)	Tanımlanmamış (2 adet)
Indigoidine	-	-	%80	-

1-*Actinomadura* sp. 14C53, 2-*Nonomurea* sp. 160415, 3-*N. zae* NEAU-ND5^T, 4-*N. turkmeniaca* DSM 43926^T

4.2. Tartışma

Toprakta yaşayan makro canlıların yanında, mikroorganizmalarında organik maddelerin ve mineral-kayaçların parçalanmasında önemli rolleri bulunmakta ve bu canlılar bazen mekanik, bazen de kimyasal etki meydana getirerek kayaç-mineralleri ayrıştırarak toprak oluşumuna yardımcı olmaktadır. Kayalık habitatlarda yaygın olarak bulunan bakterilerin *Actinobacteria*, *Bacteroides* ve *Proteobacteria* üyelerinin oldukları daha önceki çalışmalarla gösterilmiş olmakla birlikte endolitik habitatlarda *Actinobacteria*'nın önemli gruplardan biri olduğu bildirilmiştir (Cockell vd, 2009).

Actinobacteria filumlarından, *Micromonospora* üyeleri özellikle humusça zengin topraklarda yayılış göstermekte ve sahip olduğu hidrolitik enzimler sayesinde organik madde döngüsünde önemli rol oynamaktadırlar. Selüloz, kitin, lignin ve diğer kompleks polisakkaritleri sahip olduğu hidrolitik enzimlerle parçalayabilmektedir (Erikson, 1941; Wilson, 1992; Gacto vd, 2000; Menezes vd, 2008).

Actinobacteria izolatlarının filamentleri kaya yüzeyinde farklı yönlerde büyüyerek veziküler boşluklarda dallanma yeteneğindedir. Bu süreç fungal hiflerin kayalara tutunmasının analoğu bir süreç olarak yorumlanmıştır (Burford vd, 2003). Aynı zamanda filamentli *Actinobacteria* üyelerinin birçok yönde hareket ederek geçirgen kayalarda sistematik olarak kolonize olmasını sağlamaktadır. Bu durum kayalardan elde edilen izolatlardaki *Actinobacteria* yoğunluğunun *Bacterioidetes*

üyelerine oranla daha fazla olmasını açıklamaktadır. Benzer şekilde volkanik piroklastik katmandan yapılan izolasyonlarda da gözlenmiştir (Ibekwe vd, 2007). 2007 yılına kadar yapılan tüm çalışmalarda *Actinobacteria* üyelerinin *Acidobacteria* üyelerinden sonra Hawaiian lavlarında bulunan tek filum olduğunu göstermiştir. Bu gözlemler, *Actinobacteria*'nın volkanik kayalarda ve küllerinde ve potansiyel olarak ardışık aşınmalarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Cockell vd, 2009).

Tang vd (2012), Çin'in Guizhou Karst alanlarında kireç taşı ve dolomite üzerinde yer alan endolithik bakterilerin belirlenmesine yönelik bir araştırma yapmışlardır. Yapılan çalışmaya göre bu kayalar üzerinde en fazla *Cyanobacteria*'nın yaygın olduğu bunu *Alphaproteobacteria*, *Acidobacteria* ve *Actinobacteria* izlediğini belirlemiştir.

2016 yılında bazaltik cam üzerinde Henri vd yaptığı çalışmada tüm örneklerde temsil edilen organizma grupları; *Actinobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria* ve *Gammaproteobacteria* olarak belirlenmiştir. Öte yandan Dias vd (2018) tarafından yapılan ve doğal kireç taşında meydana gelen renk değişikliği ile ilgili olan çalışmada baskın filum olarak *Actinobacteria* (% 87.2) ve *Proteobacteria* (% 7.1) tespit edilirken, prokaryotik popülasyonda yaygın familyaların *Geodermatophilaceae* (% 36.8), *Micrococcaceae* (% 19.4) ve *Nocardioidaceae* (% 10.9) taksaları olduğu belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, kayaların ayrışma süreçlerinde mikroorganizmaların rollerini araştıran bilim insanlarının çalışmalarının sınırlı kaldığı ve aktinobakteriyel çeşitliliğinin yeterli düzeyde ortaya konulmadığı bazaltik ana materyal ve üzerinde oluşmuş yüzey toprak ve ana materyal örneklerinden *Actinobacteria* sınıfına ait 10 farklı cinsten izolatlar elde edilmiştir. *Actinomadura*, *Actinopolymorpha*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Nonomurae*, *Plantactinospora*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora*, *Streptomyces* ve *Verrucosipora* cinslerine mensup bu test izolatları 9, 13, 17, 19 ve 26 kodlu ana materyal örneklerinden ve 1, 3, 4, 7, 8, 12, 14, 16, 18, 24 ve 25 kodlu bazaltik ana materyal üzerinde oluşmuş yüzey toprak örneklerinden izole edilmiştir.

Xi vd (2018) yaptığı çalışmada, kaya ayrışmasında rol alan bakteri popülasyonlarının çeşitliliği ve farklılığının, bitişik toprakların yanısıra değişme uğramış kayaların yüzeyinde de mevcut olduğunu göstermiştir. Buna ilaveten, değişime uğramış kayalardan ve topraklarda bulunan kaya ayrıştırıcı türlerin çoğu daha önce bildirilmemiştir. Bu durum ayrıştırıcı bakterilerinin ortamlarına özgü olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, değişime uğramış kayalardaki bakterilerin yarısından fazlasının bitişik topraklarda bulunanlardan farklı olduğunu belirtmişlerdir (Xi vd, 2018). Certini vd (2004), kaya yüzeylerinde ve bu yüzeyleri çevreleyen

topraklarda yaşayanlardan farklı spesifik bakteri türlerinin kolonize olduğunu göstermiştir.

Bu literatür bilgisi ile uyumlu olarak tez çalışmamızda 9, 13, 17, 19 ve 26 kodlu ana materyal örneklerinden *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nonomuraea* ve *Streptomyces* cinslerine ait suşlar izole edilmişken, bunlardan farklı olarak 1, 3, 4, 7, 8, 12, 14, 16, 18, 24 ve 25 kodlu ana materyal üzerinde oluşmuş yüzey toprak örneklerinden *Actinopolymorpha*, *Nocardia*, *Plantactinospira*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora* ve *Verrucosipora* cinslerine ait suşlar izole edilmiştir.

Son yıllara kadar yeni türlerin tanımlanması için 16S rRNA geninin benzerlik değeri %97 olarak önerilmiştir (Stackebrandt ve Goebel, 1994), ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu eşik değeri %98.7–99 olarak önerilmiş ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Meier-Kolthoff vd, 2013, Chun vd, 2018). Bu literatür bilgisi ışığında, çalışmada elde edilen izolatlardan 16S rRNA gen dizi benzerliği %98.7–99 olan izolatlar yeni tür olma potansiyeli yüksek olan izolatlar olarak belirlenmiştir. 16S rRNA gen dizi benzerliği %98.7–99 değerinin arasında olan izolatların yeni tür olma durumlarının doğrulanabilmesi için MLSA, DDH-DDH ve dDDH-dDDH analizleri yapılmıştır. 16S rRNA gen dizi benzerliği %99'un üzerinde olan izolatların yeni tür statülerinin doğrulanabilmesi in silico DDH analizleri en kısa sürede yapılacaktır.

Deniz seviyesinden 251 m yüksekliğe sahip tepe üstü düzlük alanı ve mera olarak kullanılan 6 numaralı toprak profilinin yüzey toprağı olan ve 14 laboratuvar kodu verilen örnekten *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Plantactinospira*, *Rhodococcus* ve *Streptomyces* cinslerine ait suşlar izole edilmiştir. Bunların içerisinde *Actinomadura* sp. 14C53 izolatı, 16S rRNA gen dizi benzerliği en yakın tip türü ile 16S rRNA gen dizi benzerlik oranının %98,7'in altında (%98,54) olması nedeniyle yeni tür olma potansiyeli en yüksek olan izolat olarak değerlendirilmektedir. Bu izolatın Genbank accesion numarası alınmış, Almanya Mikroorganizma ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu'nda (DSMZ – Almanya) ve Kore Tip Kültürleri Koleksiyonu'nda (KCTC – Güney Kore) depolanmış (Çizelge 4.30), kemotaksonomik ve nümerik karakterizasyonu tamamlanmıştır. Tüm hücre duvar şeker analizinde karakteristik şeker olarak galaktoz, glukoz, maduroz ve riboz şekerleri belirlenmiştir. Polar lipit profilinde L, GL, PL, PI bulunmaktadır. Kemotaksonomik açıdan *Actinomadura* cinsinin genel özellikleri ile kıyaslandığında, cins ile uyumlu özellikler gösterdiği görülmektedir. En yakın tip türleri ile yapılan fenotipik karşılaştırmada *Actinomadura* sp. 14C53 izolatı melezitoz, sukroz ve ksilozu karbon kaynağı olarak kullanabilme bakımından *A. alkaliterrae* D310AT^T tip türü ile farklılık göstermektedir. Maltozu karbon kaynağı olarak kullanabilmekte, *A.*

geliboluensis A8036^T tip türü ise kullanamamaktadır. Hipoksantini degrades edebilmesi bakımından en yakın tip türlerinden farklılık göstermiştir. Özellikle pH 8 dışında herhangi bir pH değerinde gelişim göstermemesi tip türlerinin gösterdiği pH gelişim aralıklarına göre oldukça farklıdır.

Çizelge 4.30. Genbanka ve kültür koleksiyonlarına depozit edilen türlerin listesi ve depozit numaraları

İzolat	Accesion numarası	DSMZ kült. no.	KCTC kült. no
<i>Nonomuraea</i> sp. 160415	KX928707	DSM 104309	KCTC 39875
<i>Nonomuraea</i> sp. 7N207	KX928703	DSM 104310	KCTC 39877
<i>Actinomadura</i> sp. 14C53	KX928704	DSM 104447	KCTC 39878
<i>Actinomadura</i> sp. 7C222	KX928701	DSM 104315	KCTC 39879
<i>Micromonospora</i> sp. 17H24	KX928706	DSM 104279	KCTC 39882
<i>Rhododccus</i> sp. 14C212	KX928705	DSM 104641	KCTC 39883

Büyük bir bölümü antimikrobiyal aktiviteye sahip olan *Nonomuraea* cinsinin sekonder metabolitleri *N. pusilla* IFO 14684^T tarafından üretilen aktinotiyosinin, *N. rubra* DSM 43768^T tarafından üretilen ve Gram-pozitif organizmalar üzerinde etkili olan maduromisin gibi farmakolojik kullanım alanları geniş olan bileşikleridir (Sebek ve Dolak, 1984).

Nonomuraea cinsine ait olan 160415 izolatının 16S rRNA gen dizi benzerlik oranının %98.7–99 değerlerinin arasında olması bu suşun yeni tür olma durumunun belirlenmesinin polifazik taksonomik yaklaşımla ve DNA-DNA homolojisi ile ortaya koyulmasını gerektirmektedir. Yapılan nümerik analizlerde *Nonomuraea* sp. 160415 suşunun D(-) arabinoz, L(+) arabinoz, inulini karbon kaynağı olarak kullanabilirken *Nonomuraea candida* HMC10^T tip türünün kullanamadığı; laktoz, *myo*-inositol, ramnoz ve sorbitolü karbon kaynağı olarak kullanabilirken *N. zae* DSM 100528^T tip türünün kullanamadığı; D(-) arabinoz, dekstran, L(+) arabinoz, laktoz, L-glutamin, mannoz, melibiyoz, *myo*-inositol, ramnoz ve sukrozu kullanabilirken *N. turkmeniaca* DSM 43926^T tip türünün kullanamadığı tespit edilmiştir. Degredasyon testlerinde ise *Nonomuraea* sp. 160415 izolatı guanin ve hipoksantini degrades edebilirken *N. zae* DSM 100528^T ve *N. turkmeniaca* DSM 43926^T tip türlerinin bu maddeleri degrades edemediği belirlenmiştir. *Nonomuraea* sp. 160415 suşu 10°C' de ve pH 6' da gelişim gösterirken *Nonomuraea candida* HMC10^T ve *N. turkmeniaca* DSM 43926^T tip türleri bu sıcaklık ve pH'da gelişim gösterememiştir. Ayrıca nitrat redüksiyonu için tip türlerinden farklı olarak pozitif sonuç vermiştir. En yakın tip türleri ile yapılan dDDH-dDDH analizlerinde %29.30 ile %25.7 aralığında dijital homoloji değeri göstermiştir. Kemotaksonomik analizlerde cinsin diğer üyeleri ile olan hücre duvar şeker profili, polar lipid profili ve bileşiklerinde oransal farklılıklar olmakla birlikte benzer yağ asidi profiline sahip olduğu belirlenmiştir. Nümerik testleri tamamlanan *Nonomuraea* sp.

12C250 izolatının en yakın tip türü ile %99.21 16S rRNA gen dizi benzerlik oranına sahip olması ve 1389 nükleotide 11 nükleotit farklılığı göstermesi yeni tür olma potansiyeline sahip olup olmadığının belirlenmesi için DNA-DNA homolojisi analizine ve kemotaksonomik özelliklerinin ortaya koyulmasına gerek duyulduğunu göstermektedir. L(-) sorboz ve L(+) arabinoz karbon kaynağı olarak kullanıp kullanamama özelliği bakımından tip türleri ile benzerlik ve farklılıklar göstermektedir. Nümerik testleri tamamlanan bir diğer organizma olan ve en yakın tip türü *Nonomuraea candida* HMC10^T ile %99.36 16S rRNA gen dizi benzerliği gösteren *Nonomuraea* sp. 13Z33 izolatının yeni tür olma potansiyeline sahip olup olmadığının belirlenmesi için DNA-DNA homolojisi analizine ve kemotaksonomik analizlerinin tamamlanmasına gerek duyulmaktadır. *Nonomuraea* sp. 13Z33 izolatı en yakın tip türleri ile arbutin hidrolizi ve nitrat redüksiyonu bakımında farklılık göstermektedir. Guanini hidrolize edememekte ve tip türlerinden farklı olarak pH 6 değerinde gelişim gösterebilmektedir.

Rhodococcus suşları, katabolik çok yönlülüğe sahip oldukça önemli organizmalardır. Çünkü ksenobiyotik ve organik bileşiği parçalayabilen enzimleri kodlayan bir dizi genler taşırlar (Larkin vd, 2005). Biyoremediasyon potansiyeline ek olarak; karotenoidler, biyosümfaktanlar ve biyolojik çökeltme ajanları gibi endüstriyel potansiyelli metabolitleri üretirler (Jones ve Goodfellow, 2012). *Rhodococcus rhodochrous* gibi bazı türlerin de akrilamid gibi ticari olarak değerli ürünleri sentezlediği tespit edilmiştir (Bell vd, 1998).

Rhodococcus sp. 14C212 izolatı en yakın tip türü (*Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T) ile 16S rRNA gen bölgesi dizileri açısından %99.04 olan benzerlik ve 1359 nükleotide 13 nükleotit farklılığı nedeniyle, en yakın tip türleriyle DNA-DNA homoloji testi uygulanmış, elde edilen değerler *R. aetherivorans* 10bc312^T tip türü ile homoloji sonucu %73, *R. ruber* DSM 43338^T tip türü ile homoloji sonucu ise % 60 olarak belirlenmiştir. Bu değerler *Rhodococcus* sp.14C212 izolatının yeni tür olmadığı düşündürmektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda dijital DNA-DNA homoloji çalışmalarının daha güvenli olarak tanımlanması nedeniyle *Rhodococcus* sp.14C212 izolatının tüm genom dizilemesi yapılarak dijital homoloji değerlerinin elde edilmesine gerek duyulmaktadır.

Rong ve Huang 2010 yılında yaptıkları çalışmada birbirleri ile yakın ilişkili oldukları bilinen *Streptomyces griseus* 16S rRNA gen kümesine ait türlerin DNA:DNA hibridizasyon ve multi gen dizi analizi sonuçlarını kıyaslamıştır. Bu çalışma sonucunda DNA:DNA hibridizasyon değeri ve multi gen dizi analizi filogenetik uzaklığı arasında sınır değer olarak MLSA bağlı filogenetik uzaklığı 0.007 olarak bulmuşlardır. Rong ve Huang (2012), *Streptomyces hygrosopicus* 16S rRNA

gen kümesi 58 organizma ile *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* ve *trpB* gen bölgelerini kullanarak multi gen dizi analizi çalışmaları gerçekleştirmiş elde ettikleri sonuçlar ışığında MLSA bağlı filogenetik uzaklığı 0.007 ve altındaki değerlere sahip türler arasında DNA:DNA hibridizasyon değerinin % 70'in üzerinde çıktığını, MLSA bağlı filogenetik uzaklığı 0.007'den yüksek değerlere sahip türler arasında DNA:DNA hibridizasyon değerinin % 70'in altında çıktığını belirlemişlerdir.

En yakın tip türü olan *Streptomyces aculeolatus* NBRC 14824^T ile %99.16 benzerlik gösteren *Streptomyces* sp. 9C54 izolatının yeni tür olma ihtimalinin kuvvetlendirilmesine yönelik multilokus sekan analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu izolatın *Streptomyces aculeolatus* NBRC 14824^T tip türü ile MLSA bağlı filogenetik uzaklığı 0,024 olarak belirlenmiştir. Diğer yakın tip türleri olan MLSA bağlı filogenetik uzaklığı da *S. synnematoformans* DSM 41902^T ile 0.049, *S. morookaense* NRRL B-12429^T ile de 0.108 olarak belirlendi. Bu sonuçlar dikkate alındığında fenotipik ve kemotaksonomik analizlerin tamamlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Micromonosporaceae içerisinde sistematize edilen birçok yeni suş için DNA-DNA hibridizasyon analizi yapılmıştır. Genel olarak, DNA-DNA homoloji değerleri 16S rRNA gen dizi benzerliği değerleri ile kıyaslandığında oldukça düşük değerlere sahip oldukları görülmektedir (Trujillo vd, 2014).

Micromonospora inyonensis ve *M. sagamiensis* tip türleri arasındaki 16S rRNA gen sekans benzerliği oranı %99.4 iken DNA-DNA hibridizasyon oranının (%61.3) olarak belirlenmiş ve bu değer cins içerisindeki en yüksek DDH oranı olduğu bildirilmiştir (Kroppenstedt vd, 2005). Benzer bir şekilde, 16S rRNA gen dizi benzerliği oranının %99.1'in üzerinde olduğu belirlenen *M. chersina* ve *M. endolithica* (%33.5) (Hirsch vd, 2004), *M. aurantiaca* ve *M. chalicea* (%44) (Kasai vd, 2000), *M. echinospora* ve *M. sagamiensis* (%52), *M. citrea* ve *M. echinofusca* (%53), *M. echinoaurantiaca* ve *M. viridifaciens* (%53) (Kroppenstedt vd, 2005) tip türleri arasında da benzer homoloji değerleri tespit edilmiştir (Trujillo vd, 2014).

Bu literatür bilgisi ışığında en yakın tip türleri olan *Micromonospora costi* CS1-12^T ve *Micromonospora palomenae* NEAU-CX1^T tip türleri ile %99.37 16S rRNA gen dizi benzerliği oranına sahip olan sırasıyla *Micromonospora* sp. 17H25 ve *Micromonospora* sp. 17C12 izolatlarının nümerik, kemotaksonomik, MLSA ve DNA homolojisi çalışmalarının tamamlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Nonomuraea sp. 160415, *N. candida* DSM 45086^T, *N. turkmeniaca* DSM 43926^T, *N. zae* DSM 100528^T, *Actinomadura* sp. 14C53, *A. geliboluensis* A8036^T, *A. alkaliterrae* D310AT^T izolatları ve tip türlerinin *Aspergillus niger*-izolat, *Bacillus subtilis* NRRL-B 209^T, *Candida albicans* ATCC 10231^T, *Escherichia coli* ATCC

25922^T, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433^T ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923^T patojenleri üzerinde antimikrobiyal aktivitesinin olmadığı tespit edildimiştir.

Nonomuraea sp. 160415 ve *Actinomadura* sp. 14C53 suşları ile tip türleri olan *N. turkmeniaca* DSM 43926^T, *N. zae* NEAU-ND5^T ve *A. geliboluensis* A8036^T organizmalarının tüm genom sekans dizileme çalışmaları Birmingham Üniversitesi'nden hizmet alımı yoluyla yapılmış ve *A. geliboluensis* A8036^T tip türü dışındaki organizmaların sekans dizileme sonuçları analizleri yapılabilecek kalitede elde edilmiştir. German Collection of Microorganisms and Cell Cultures'ın (DSMZ) digital ortamda sunduğu bir hizmet olan Genom to Genom Distance Calculator (URL 15: <http://ggdc.dsmz.de/>) uygulamasında yapılan dijital DNA-DNA homoloji analizlerine göre *Nonomuraea* sp. 160415 izolatının dijital DNA-DNA homoloji değerleri *Nonomuraea candida* NRRL B-24552^T tip türü ile %25.7, *Nonomuraea zae* DSM 100528^T tip türü ile %27.7, *Nonomuraea turkmeniaca* DSM43926^T tip türü ile %29.30 olarak belirlenmiştir. Bu değerler yeni tür tanımlamasında eşik değeri olarak kabul edilen %70 değerinin çok altında olması nedeniyle, *Nonomuraea* sp. 160415 suşunun yeni tür olduğunu göstermektedir.

Tüm genom sekans dizilemesi yapılan *Actinomadura* sp. 14C53 ve *Nonomuraea* sp. 160415 suşlarının genom analizleri antiSMASH bakteriyel version uygulamasında (URL 16: <https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>; Weber vd, 2015) gerçekleştirilmiştir. Bu analizlere göre test izolatlarında ectoine, lantipeptide (Katenulepeptin, Venezuelin), terpene (2-metilisoborneol, Frankiamisin, Geosmin, Hopene), NRPS (Koelibaktin, Koeliselin, Kauitamsin, Mirubaktin, Skabiselin), T1PKS (Heronamid, Marinopirol, Nigerisin, Visenistatin), T3PKS (Alkilresorsinol) ve Siderofor (Macrotetrolide ve % benzerliği belirlenmemiş) gibi tanımlanmış sekonder metabolit gen kümeleri ile beraber alnumisin, endurasidin, salinomycin, thiotetronat (antibiyotik), fostriesin, herboksidien (antitümör ajan), enterosin (antiviral), sinerubin B (antiparazitik), fengycin (antifungal), simocyclinone (DNA giraz inhibitörü) gibi tanımlanmamış sekonder metabolit gen kümeleri de tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Actinobacteria üyeleri toprak, tatlı su, durgun su, göl, kompost, kanalizasyon ve deniz ortamları gibi çeşitli ekolojik habitatlardan izole edilmiştir (Goodfellow ve Williams, 1983; Manivasagan vd, 2014). İlk olarak, çalışmalar tüm karasal ve sucul ortamlarda yaşayan *Actinobacteria* üyelerinin % 20 ila % 50'sinin antibakteriyel ve antifungal faktörler üretebildiğini ve selüloz, hemiselüloz, pektin ve kitin gibi organik maddeleri ayrıştırdığını göstermiştir. Son 50 yıldan daha uzun süredir yapılan çalışmalarda yer kürenin farklı bölgelerindeki topraklar yoğun bir şekilde taranmasına rağmen gezegenimizdeki *Actinobacteria* türlerinin sadece % 10'unun fiilen izole edilmiş olması tahmin edilmektedir (Enright, 2003; Dhanasekaran vd, 2015).

Aktinobakteriler farklı biyolojik aktiviteleri olan çeşitli antibiyotikler ve terapötik olarak faydalı bileşikler ürettikleri için oldukça değerli sayılırlar. Bu metabolitlerin büyük bir çoğunluğu (%70), aktinobakterilerden elde edilmektedir. Günümüzde insan tedavilerinde ve tarımda yaklaşık 160 antibiyotik kullanılmış ve streptomisin, eritromisin, gentamisin ve avermektin de dahil olmak üzere bu bileşiklerin 100-120'si aktinomisetler tarafından üretilmiştir (Bérdy, 2005). Bundan dolayı aktinobakterilerin, ilaçların ve diğer biyoaktif metabolitlerin keşfi için kapsamlı olarak çalışılan organizmalar içerisinde belki de en önemli grubu olduğu bilinmektedir (Prabavathy vd, 2006; Dhanasekaran vd, 2015).

Çeşitli insan, hayvan ve bitki patojenlerine karşı etkili, bitki gelişimini teşvik eden molekülleri sentezleme kabiliyetinde olan ve kayaç ayrışması üzerinde etkili olan siderofor gibi yeni sekonder metabolitlerin kaynağını oluşturacak *Actinobacteria* üyelerinin literatüre kazandırılması önem kazanmaktadır. Son zamanlarda yaygınlaşan tüm genom dizi analizi çalışmaları ile bu mikroorganizmaların sekonder metabolit gen kümelerinin taranması ve tanımlanması da biyoteknolojik potansiyellerinin ortaya çıkartılması bakımından önemlidir. Yeni *Actinobacteria* üyelerinin ülkemiz mikrobiyotasına kazandırılması ve daha önceki çalışmalarda *Actinobacteria* çeşitliliğinin yeterli ölçüde ortaya konulmayan bazaltik ana materyal ve ana materyal üzerinde oluşmuş yüzey toprak örneklerinin aktinobakteriyel çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla yaptığımız çalışmada; 570 izolat içerisinde seçilen 159 organizmanın *Actinomadura*, *Actinoplymorpha*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Nonomuraea*, *Plantactinospora*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora*,

Streptomyces ve *Verrugosipora* cinslerinin üyesi oldukları belirlenmiştir. Literatür taramalarında bazaltik ana materyalden izole edilen aktinobakterilerin *Geodermatophilaceae* ve *Nocardioideae* familyası ile *Streptomyces*, *Kocuria* ve *Microbacterium* cinslerine üye olduğu bildirilmiştir (Gorbushina, 2007; Cockell vd, 2009, 2013; Dias vd, 2018; Xi vd, 2018). Çalışmamızda bazaltik ana materyal örneklerimizi teşkil eden ve farklı derinliklerde bulunan 9 (>66 cm), 13 (>11 cm), 17 (>84 cm), 19 (>16 cm) ve 24 (>57 cm) örneklerden izole edilen suşların *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nonomuraea* ve *Streptomyces* cinslerine üye oldukları belirlenmiştir. Yukarıda verilen literatür bilgisine göre *Actinomadura*, *Micromonospora* ve *Nonomuraea* cinslerine ait suşlar bazaltik ana materyalden ilk defa izole edilmiştir.

Deniz seviyesinden 251 m yüksekliğe sahip tepe üstü düzlük alanı olan ve mera olarak kullanılan toprak profilinin yüzey toprağı olan ve 14 laboratuvar kodu verilen örnekten izole edilen *Actinomadura* sp. 14C53 izolatu 16S rRNA gen dizi benzerliği en yakın tip türü olan *A. geliboluensis* A8036^T tip türü ile %98.54 benzerlik göstermiş ve polifazik karakterizasyonu tamamlanmıştır. DSMZ (Almanya) ve KCTC (Güney Kore) kültür koleksiyonlarında depolanan ve tüm genom sekans dizilimi de tamamlanan bu izolat en kısa zamanda Türkiye mikrobiyotasından dünya literatürüne kazandırılacaktır.

Tüm genom sekans dizilemesi yapılmış olan *Nonomuraea* sp. 160415 izolatının German Collection of Microorganisms and Cell Cultures'ın (DSMZ) digital ortamda sunduğı bir hizmet olan Genom to Genom Distance Calculator (URL 15: <http://ggdc.dsmz.de/>) uygulamasında yapılan dijital DNA-DNA homoloji analizlerine göre *Nonomuraea candida* NRRL B-24552^T tip türü ile dijital DNA-DNA homoloji değeri %25.7, *Nonomuraea zeae* NEAU-ND5^T tip türü ile %27.7, *Nonomuraea turkmeniaca* DSM43926^T tip türü ile %29.30 olarak belirlenmiştir. DNA-DNA homoloji değeri için eşik sayılan %70'lik değerin altındaki benzerlik oranı bu suşun yeni tür olduğunu göstermektedir. Polifazik karakterizasyonu da tamamlanan ve DSMZ (Almanya) ve KCTC (Güney Kore) kültür koleksiyonlarında depolanan bu suş, en kısa zamanda ülkemiz mikrobiyotasından literatüre kazandırılacak türler arasında yerini alacaktır.

Rhodococcus sp. 14C212 izolatu en yakın tip türü (*Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T) ile gösterdiği 16S rRNA gen bölgesi dizileri açısından %99.04 olan benzerlik ve 1359 nükleotitte 13 nükleotit farklılığı nedeniyle, DNA-DNA homolojisi uygulanmıştır. Elde edilen değerler *R. aetherivorans* 10bc312^T tip türü ile homoloji

sonucu %73, *R. ruber* DSM 43338^T tip türü ile homoloji sonucu ise % 60'dır. Uluslararası Sistematik Bakteriyoloji Komitesi'nin standart tür sınırının kriteri olarak belirlendiği DNA-DNA hibridizasyon değerinin ≥ 70 olması gerektiği (Wayne vd, 1987) bilgisine göre *Rhodococcus* sp.14C212 izolatının yeni tür olmadığı görülmektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda dijital DNA-DNA homoloji çalışmalarının daha güvenli olarak tanımlanması nedeniyle *Rhodococcus* sp.14C212 izolatının tüm genom dizilemesi yapılarak dijital homoloji değerlerinin elde edilmesinden sonra yeni tür olup olmadığına karar verilmesinin daha güvenilir olacağı düşünülmektedir.

Streptomyces sp. 9C54 izolatının en yakın tip türü olan *Streptomyces aculeolatus* NBRC 14824^T tip türü ile %99.16 benzerlik göstermesi yeni tür olma ihtimalinin kuvvetlendirilmesi açısından farklı testlere ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir. Bu bağlamda suşun en yakın tip türleri ile multilokus sekan analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu izolatın *Streptomyces aculeolatus* NBRC 14824^T tip türü ile MLSA bağlı filogenetik uzaklığı 0,024 olarak belirlenmiştir. Diğer yakın tip türleri olan MLSA bağlı filogenetik uzaklığı da *S. synnematoformans* DSM 41902^T ile 0.049, *S. morookaense* NRRL B-12429^T ile de 0.108 olarak belirlenmiştir. MLSA bağlı filogenetik uzaklığı 0.007'den yüksek değerlere sahip türler arasında DNA:DNA hibridizasyon değerinin % 70'in altında çıktığı (Rong ve Huang, 2010) literatür bilgisine dayanarak *Streptomyces* sp. 9C54 suşunun yeni tür olma ihtimalinin yüksek olduğu düşünülmektedir. Polifazik karakterizasyonu tamamlandıktan ve kültür koleksiyonlarına depolandıktan sonra bu suş en kısa zamanda ülkemiz mikrobiyotasından literatüre kazandırılacaktır.

Micromonospora costi CS1-12^T ve *Micromonospora palomenae* NEAU-CX1^T tip türleri ile %99.37 16S rRNA gen dizi benzerliği oranına sahip olan sırasıyla *Micromonospora* sp. 17H25 ve *Micromonospora* sp. 17C12 izolatları polifazik karakterizasyonları ve tüm genom sekans analizleri yapılarak literatüre kazandırılacaktır.

Biyoaktif bileşiklerin taranması için klasik kültür temelli stratejilerle kombinasyon halinde uygulanan verimliliği yüksek yöntemler, yeni metabolik yollara ve yeni metabolitlere karşılık gelen gen dizilerinin taranmasını ve keşfini içermektedir (Bull vd, 2005; Goodfellow ve Fiedler, 2010; Lawson, 2018). Bu amaçla gerçekleştirdiğimiz tüm genom sekans dizileme çalışmalarından elde ettiğimiz *Actinomadura* sp. 14C53 ve *Nonomurae* sp. 160415 suşlarının genom dizilerinin analizini antiSMASH bakteriyel version uygulamasında (URL 16:

<https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>; Weber vd, 2015) gerçekleştirilmiştir.

Ektoin; proteinlerin, nükleik asitlerin ve tüm hücrelerin evrensel bir biyoprotektanıdır. İlk olarak mikroorganizmalar ve makromoleküller için tanımlanan ektoinin çok işlevli özellikleri daha sonra çeşitli nesnelere doğrulanmıştır. Bu bileşiğin ilaç, kozmetik, bilimsel uygulama ve ilgili alanlarda kullanım için ümit verici olduğu keşfedilmiştir (Trotsenko ve Khmelenina, 2008; Jebbar vd, 2005). Diğer düşük moleküler ağırlıktaki şaperoninlere (betain, trehaloz ve sitrulin) benzer şekilde ektoin, in vitro amiloid plaklarının oluşumunu inhibe eder, nöroblastomun hücreler üzerindeki toksik etkisini azaltır ve diyabet ve Alzheimer hastalığının tedavisi için potansiyel bir ilaçtır (Kanapathipillai vd, 2005). Ektoin ayrıca kas-iskelet sistemi hastalıklarının tedavisinde de kullanılabilir, çünkü suyu muhafaza eder ve kıkırdaklarda sinovyal sıvının oluşumunu uyarır. Buna ilaveten ektoin daha etkin bir şekilde kozmetik alanında da kullanılır. Çünkü kolayca hücrelere nüfuz eder ve turgorunu artırır, toksisite ve immünojenite göstermez. Ektoinin lokal uygulanması erken yaşlanmayı önler. Ektoin, epidermal hücreleri ultraviyole ışına karşı korur ve cildin oksidatif hasarını önemli ölçüde azaltır. Ektoinin yüzeyden su kaybını önleyebileceği ve gliserolden çok daha etkili bir nemlendirici olduğu gösterilmiştir (Doronina vd, 2010). Ektoin ayrıca yumurta, spermatozoid, doku ve tüm organların korunmasında bir kriyoprotektan olarak kullanılır. Hayvanlara bir besin takviyesi olarak uygulandığında, ektoin hastalıklara karşı direncin önemli ölçüde artırır ve hayvanların biyokütlesinde artışı uyarır. Bu bilgilere göre, bu değerli metabolitin yeni üreticilerinin araştırılması önemlidir (Doronina vd, 2010).

Lantipeptidler bir dizi Gram-pozitif bakteriyle üretilir ve genellikle güçlü antibakteriyel aktivitelerle karakterize edilirler (Willey ve Donk, 2007; Goto vd, 2010). Antimikrobiyal aktiviteleri olan lantipeptidler, lantibiyotik olarak adlandırılırlar (Schnell vd, 1988; Shi vd, 2010). Lantionin içeren bu peptidler (lanthipeptidler), lantionin (metil) kalıntıları içeren ribozomal olarak sentezlenmiş ve translasyon sonrası modifiye edilmiş peptidlerin bir ailesidir (Zhang vd, 2012). Yeni hedef moleküller ile mevcut antibiyotik ihtiyacı, gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen ribozomal olarak sentezlenen peptidler olan bu sekonder metabolitlerin yapısal ve fonksiyonel analizi için teknik yaklaşımlardaki ilerlemelerle örtüşmüştür. Bu peptidler, antibiyotik veya morfogenetik aktiviteye sahiptir ve yapısal olarak, translasyon sonrası modifikasyon ile ortaya konulan sıra dışı amino asitlerin varlığıyla tanımlanırlar. Daha önemlisi, lantibiyotiklerin yapısal ve fonksiyonel çeşitliliği, önceden düşünüldüğünden çok daha geniştir (Willey ve Donk, 2007; Goto vd, 2010).

Aktinomisetlerde; *Streptomycetaceae*, *Micromonosporaceae* ve *Pseudonocardiaceae* familyalarına ait türler tarafından çok sayıda peptit ve poliketit sentezlenmektedir. Poliketit sentazların (PKS) ve ribozomal olmayan peptit sentetazların (NRPS) biyosentetik sistemleri, aktinomisetlerle birlikte; mikobakterilerde, siyanobakterilerde ve filamentöz mantarlarda da yoğun olarak tanımlanmıştır (Beyer vd, 1999; Sauser vd, 2002). Tıpta, tarımda ve biyokimyasal araştırmalarda dahil geniş alandaki uygulamalara sahip; biyolojik olarak aktif poliketit ve peptit bileşikleri, tip I poliketit sentazlar (PKS-I) ve ribozomal olmayan peptit sentetazlar (NRPS) tarafından sentezlendiği bilinmektedir. Yapısal olarak çeşitliliğe sahip olan bu metabolitler; antifungaller (örneğin nystatin-poliketit), antitümör ajanlar (örneğin ansamitosin-poliketit, bleomisin-hibrit poliketit peptit), antihelmintikler (örneğin avermektin-poliketit), immun sistemi baskılayıcı ajanlar (örneğin rapamisin-poliketit ile FK506-poliketit) ve diğer antibiyotikler gibi (örneğin penisilinler-peptit, vankomisin-peptit ve eritromisin-poliketit) farklı sekonder metabolitler arasında yer alır (Ayuso-Sacido ve Genilloud, 2005).

AntiSMASH (Weber vd, 2015) bakteriyel version uygulamasında gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre; *Actinomadura* sp. 14C53 suşunun 9042531 baz çiftlik (623 kontik) genemunda ilgili gen bölgesi itibariyle %100 ektoinik, %50 ve %60 oranlarında benzerliğe sahip lantipeptid (Catenulipeptin, Venezuelin), %50 terpen (2-methylisoborneol), %78 NRPS (Mirubaktin), %48 T1PKS (Marinopiol) benzerliğe sahip olduğu ve yüzde benzerliği belirlenememiş bir siderofor gen kümesi başta olmak üzere sekonder metabolit gen kümelerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Ektoinin biyoprotektan özelliği itibariyle ilaç, kozmetik, bilimsel uygulama ve ilgili alanlarda yaygın kullanımı, bu sekonder metabolit bakımından %100 benzerliğe sahip gen bölgesi ihtiva eden *Actinomadura* sp. 14C53 suşunun biyoteknolojik açıdan potansiyelinin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Bunun yanı sıra antimikrobiyal aktiviteleri ile karakterize olan lantipeptidlerden gen bölgesi itibariyle %50 ve %60 oranları ile katenulipeptin ve venezuelini kodlayan benzer gen kümelerine sahip olması, ve yine gen bölgesi itibariyle %78 benzerliğe NRPS (Mirubaktin) ile, %48 benzerliğe de T1PKS (Marinopiol) ile sekonder metabolit gen kümelerine sahip olması; *Actinomadura* sp. 14C53 suşunun yeni sekonder metabolitlerin üreticisi olabileceğinin göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Bakteriyel orijinli kokulu terpen metabolitleri uzun zamandır bilinmektedir. Genomları sekanslanmış *Streptomycetaceae* familyasının üyesi olan mikroorganizmaların büyük çoğunluğu indirgenmiş bir seskiterpen alkolü olan

jeosmini üretir. 50.000 terpenoid metaboliti hem karasal hem de deniz bitkilerinden ve mantarlardan izole edilmiştir. Aksine, prokaryotlarda bu yaygın olarak oluşan metabolitlerin nispeten küçük bir kısmı tanımlanmıştır (Yamada vd, 2015).

Terpenler doğada yüksek varlıklarından ötürü; kokuların, parfümlerin, aromalar ve farmasötiklerin yanı sıra yararlı sentetik ara maddeler ve kiral yapıları bileşiklerin endüstriyel üretimi için ticari açıdan önemli olan, yeni ve değerli bileşiklere dönüştürülebilir bir doğal ürün sınıfı olarak dikkat çekmektedir (Schwab vd, 2013). Önemli terpenler arasında; mentol (tatlandırıcı, reçetesiz ilaç), kafur (tatlandırıcı, kovucu, reçetesiz ilaç), piretrinler (insektisitler), limonen (tatlandırıcı, insektisit), karvon (lezzet), geraniol (tatlandırıcı), linalool (lezzet, A), a- ve b-pinen (aroma kimyasallarının öncülleri), a-borneol (aroma), farneshen (aroma, önerilen biyoyakıt), a-trans-bergamoten (tat), nerolidol (lezzet), absisik asit (fitohormon, bitki koruma), hecogenin (deterjan), taksol (ilaç), retinoik asit (ilaç), digitoksigenin (ilaç) ve zeaksantin (gıda katkı maddesi, hayvan yemi) sayılabilir. Bazı terpenlerdeki antimikrobiyal etki, 1980'lerden beri ciddi olarak incelenmiştir (Trombetta vd, 2005). Terpenler, antibakteriyel sabunlar, kozmetikler ve ev ürünleri içine dahil edilmiştir (Yamada vd, 2015). Bir *Amycolatopsis* sp. tarafından üretilen Vancoremycinisa C65 yüksek oksijenli terpenoid glikozittir. Hopmann vd (2002) tarafından terpenlerin özellikle vankomisin antibiyotiğine (çoğunlukla dirençli bakterilerin tedavisi için son çare olarak görülen antibiyotik kabul edilir) dirençli türlere ve çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Hopmann vd, 2002; Kügler vd, 2015). Terpen glikozitleri, literatürde geçen aktinobakteriyel cinslerin üyelerinden elde edilen ürünler olarak bildirilmiş olup bu cinsler; *Arthrobacter* (Arpin vd, 1972), *Corynebacterium* (Weeks ve Andrewes, 1970), *Micrococcus* (Osawa vd, 2010) ve *Rhodococcus* (Takaichi vd, 1997).

Sideroforlar doğa haricinde bulunmayan, pek çok değişik amino asitleri yapısında bulunduran 400-1500 Da molekül ağırlığındaki demir bağlayan proteinlerdendir. Siderofların yapısı, mikrobiyal türler arasında oldukça büyük farklılıklar göstermektedir. 2000'li yılların başına kadar yaklaşık 500 siderofor değişik mikroorganizmalardan izole edilmiştir (Boukhalfa ve Crumbliss, 2002). *Streptomyces pilosus* türünden desferrioksamin B, *Streptomyces coelicolor* türünden desferrioksamin E ve *Actinomadura madurae* türünden de maduraferriin sideroforları *Actinobacteria* üyelerinden izole edilmiş sideroforlardır (Erdem, 2013).

Çok hücreli organizmaların demiri çözmesi çok zor olmasına karşın, prokaryotlar kendilerine gerekli olan demiri kullanmak için farklı stratejiler

geliştirmişlerdir. Demirin Fe-III formundaki çözünürlüğü çok düşüktür. Bundan dolayı organizmalar tarafından kullanılamazlar. Oksijensiz şartlarda demir (Fe-II) suda çözünür, fakat oksik şartlarda ise demir genelde (Fe-III) suda çözünemezler. Bu ortamlarda bulunan bakteriler demir ihtiyaçlarını karşılamak için siderefor olarak bilinen şelat ajanları kullanırlar. Sidereforlar bakterinin yaşadığı ortamda kompleks olarak bulunan demir elementlerinin çözünmesini sağlarlar. Böylelikle bu çözünmüş kompleksler aktif taşıma ile hücre içine alınırlar (Kraemer, 2004).

Nonomuraea sp. 160415 suşunun 14338389 baz çiftlik (671 kontik) genomunda ise ilgili gen bölgesi itibariyle %100 benzerliğe sahip terpene (Geosmin), %60 benzerliğe sahip T3PKS (Alkilresorsinol), %41 benzerliğe sahip T1PKS (Heronamide), bir tanesinin %33 benzerliğe sahip 2 tane de yüzde benzerliği belirlenememiş siderofor (Macrotetrolide) gen kümeleri belirlenmiştir.

Terpenlerin farklı alanlardaki yaygın kullanımı göz önünde bulundurulduğunda hem *Actinomadura* sp. 14C53 hem de *Nonomuraea* sp. 160415 izolatının tüm genom analizlerinde bu molekül bakımından potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca NRPS ve PKS gen bölgelerinin sahip olduğu yüksek benzerlik her iki suşun da yeni antibiyotiklerin keşfinde bu özelliklerinin ortaya çıkartılması gerektiğini düşündürmektedir.

Stranghoener vd (2018) farklı doğal bazaltlarda alterasyon ve Fe mobilizasyonunda mikroorganizmaların potansiyel rolünü araştırmak için biyotik (mikroorganizma) ve abiyotik faktörler kullanılarak laboratuvar koşullarında yaptığı çalışmada, biyotik örneklerin bir kısmında abiyotik örneklerden farklı olarak 30 °C'de pH'ın nötrden 4,5 -5.5 seviyelerini indiği ve tekrar nötre yaklaştığı, 8 °C'de ise 5.5 seviyelerinde asidik kaldığı tespit edilmiştir. Öte yandan çözünmüş Fe, tüm biyotik deneylerde kayda değer miktarlarda tespit edilmiştir. Bunun yanında mikroorganizmaların biyotik koşullarda solüsyondan besin elde edememesi durumunda, organizmanın, gerekli besinleri elde etmek ve böylece çözünme oranını arttırmak için pH'ı düşürerek muhtemelen kayaya ve sentetik bazaltik camlara saldırıya başladığı görülmüştür. Bu literatür bilgisine ilave olarak; sidereforlar bakterinin yaşadığı ortamda kompleks olarak bulunan demir elementlerinin çözünmesini sağladıkları (Kraemer, 2004) bilgisi de göz önünde bulundurulduğunda *Nonomuraea* sp. 160415 izolatında bir tanesinin %33 benzerliğe sahip, 2 tane de yüzde benzerliği belirlenememiş, *Actinomadura* sp. 14C53 suşunda da yüzde benzerliği belirlenememiş bir siderofor gen kümesinin tespit edilmiş olması bu organizmaların demir içeriği yüksek olan bazaltik ana materyalin ayrışma süreçlerine

katkı sağladığı düşüncemizin literatürle uyumlu olduğunu göstermiştir. *N. zae* DSM 100528^T ve *N. turkmeniaca* DSM 43926^T tip türlerinin de ikişer tane yüzde benzerliği belirlenememiş siderefor gen kümesine sahip olduklarının görülmesi bu düşünceyi daha da kuvvetlendirmektedir. Buna ilaveten tez çalışmamız kapsamında *Actinomadura* ve *Nonomuraea* cinslerinin üyelerinin bazaltik ana materyalden ilk defa izole edilmiş olmaları, bu cinslerin siderefor üretim özelliklerinin ve bazaltik ana materyal ayrışma süreçlerine katkısının ayrıca araştırılması gerektiğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Buna ilaveten hem *Actinomadura* sp. 14C53 suşunda hem de *Nonomuraea* sp. 160415 suşunda tanımlanmamış sekonder metabolit gen kümelerinin varlığı belirlenmiştir. Genomda %10'un altında baz dizi benzerliği gösteren bu sekonder metabolit gen kümelerinin alnumycin, enduracidin, salinomycin, thiotetronate (antibiyotik), fostriecin, herboxidiene (antitümör ajan), enterocin (antiviral), cinerubin B (antiparazitik), fengycin (antifungal), simocyclinone (DNA giraz inhibitörü) gibi tanımlanmamış sekonder metabolit gen kümeleri olduğu yapılan analizlerde tespit edilmiş olması oldukça ümit veren sonuçlar arasındadır.

Polifazik karakterizasyonu tamamlanan *Actinomadura* sp. 14C53 ve *Nonomuraea* sp. 160415 izolatlarının makale yazım süreçleri tamamlanarak bir an önce ülkemizden literatüre kazandırılan yeni aktinobakteri türleri arasındaki yerlerini almaları sağlanmalıdır.

Rhodococcus sp. 14C212 izolatının ve en yakın tip türleri olan *R. aetherivorans* 10bc312^T ve *R. ruber* DSM 43338^T organizmaları ile tüm genom dizileme işlemleri gerçekleştirilip dijital DNA-DNA homolojileri yapıldıktan sonra yeni tür olma durumları belirlenerek polifazik karakterizasyonları tamamlandıktan sonra literature kazandırılmalıdırlar.

Streptomyces sp. 9C54 suşunun polifazik karakterasyonu ve dijital DNA-DNA homoloji analizleri gerçekleştirilerek ivedi olarak literatüre kazandırılma süreçleri tamamlanmalıdır. Buna ilaveten; en yakın tip türleri ile 16S rRNA gen dizi benzerliği oranı bakımından yeni tür olma potansiyeli gösteren *Micromonospora* sp. 17H25 ve *Micromonospora* sp. 17C12 izolatlarının polifazik karakterizasyonları ve tüm genom sekans analizleri yapılarak literatüre kazandırılması sağlanmalıdır.

Actinomadura sp. 14C53 ve *Nonomuraea* sp. 160415 suşlarının ektoin, lantipeptid ve terpenin yanısıra çeşitli antibakteriyel, antikanser, antiviral, antifungal ve antiparazitik ajanların sentezini kodlayan gen bölgelerine sahip olmalarından kaynaklı biyoteknolojik ürün sentezleyebilme potansiyelleri yeni deneysel

çalışmalarla ortaya koyulmalıdır. Her iki suşun da siderofor sentezinden sorumlu tanımlanmış gen kümelerine sahip oluşunun görülmesi bu mikroorganizmaların bazaltik ana materyalin ayrışma süreçlerinde rol sahibi olma potansiyellerini akla getirmiştir. Bu potansiyelleri yeni laboratuvar çalışmalarıyla uygulamalı olarak açığa çıkartılmalı ve izolasyon çalışmaları kapsamında elde edilen diğer *Actinobacteria* üyelerinin siderofor gen kümelerine sahip olup olmadıklarına ilişkin tüm genom sekans analizleri yapılarak ana materyal ayrışma süreçlerine etki potansiyelleri ortaya koyacak olan yeni araştırma projeleri ivedilikle planlanmalıdır.



KAYNAKLAR

- Abreu, C., Rocha-Pereira, N., Sarmiento, A. and Magro, F. 2015. *Nocardia* infections among immunomodulated inflammatory bowel disease patients: a review. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 21(21), 6491.
- Adékambi, T., Butler, R. W., Hanrahan, F., Delcher, A. L., Drancourt, M. and Shinnick, T. M. 2011. Core gene set as the basis of multilocus sequence analysis of the subclass *Actinobacteridae*. *PLoS One*, 6(3), e14792.
- Ahmed, E. and Holmström, S. J. 2015. Microbe–mineral interactions: The impact of surface attachment on mineral weathering and element selectivity by microorganisms. *Chemical Geology*, 403, 13-23.
- Aiuppa, A., Allard, P., D'Alessandro, W., Michel, A., Parello, F., Treuil, M. and Valenza, M. 2000. Mobility and fluxes of major, minor and trace metals during basalt weathering and groundwater transport at Mt. Etna volcano (Sicily). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(11), 1827-1841.
- Akkan, E. 1970. Bafra burnu-delice kavşağı arasında kızılırmak vadisinin jeomorfolojisi (Vol. 191). Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Alam, M. T., Merlo, M. E., Takano, E. and Breitling, R. 2010. Genome-based phylogenetic analysis of *Streptomyces* and its relatives. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(3), 763-772.
- Aldesuquy, H. S., Mansour, F. A. and Abo-Hamed, S. A. 1998. Effect of the culture filtrates of *Streptomyces* on growth and productivity of wheat plants. *Folia Microbiologica*, 43(5), 465-470.
- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology-2. Krieger Publishing Company, New York- USA.
- Alonso, A. N., Pomposiello, P. J. and Leschine, S. B. 2008. Biofilm formation in the life cycle of the cellulolytic actinomycete *Thermobifida fusca*. *Biofilms*, 1-11.
- Amner, W. E. N. D. Y., Edwards, C. L. I. V. E. and McCarthy, A. J. 1989. Improved medium for recovery and enumeration of the farmer's lung organism, *Saccharomonospora viridis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(10), 2669-2674.
- Anderson, A. S. and Wellington, E. M. 2001. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(3), 797-814.
- Ando, K., Oishi, H., Hirano, S., Okutomi, T., Suzuki, K., Okazaki, H., ... & Sagawa, T. 1971. Tetractin, a new mitocidal antibiotic. *The Journal of Antibiotics*, 24(6), 347-352.
- Arai, T. (Ed.). 1976. *Actinomycetes: the boundary microorganisms*. University Park Press.
- Arai, T. and Mikami, Y. 1972. Chromogenicity of *Streptomyces*. *Applied Microbiology*, 23(2), 402-406.

- Araújo, J. M. D., Silva, A. C. D. and Azevedo, J. L. 2000. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea mays* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 43(4), 0-0.
- Ardos, M., Pekcan N. 1997. Jeomorfoloji Sözlüğü, (kısmen diğer yer bilimleri) Genişletilmiş baskı, Çantay Kitabevi İstanbul.
- Arpin, N., Liaaen-Jensen, S. and Trouilloud, M. 1972. Bacterial carotenoids. XXXVIII. C 50-Carotenoids. 9. Isolation of decaprenoxanthin mono-and diglucoside from an *Arthrobacter* sp. *Acta Chemistry Scand*, 26(6).
- Athalye, M., Lacey, J. and Goodfellow, M. 1981. Selective isolation and enumeration of actinomycetes using rifampicin. *Journal of Applied Bacteriology*, 51(2), 289-297.
- Atta, H. M. 2007. Production Of Vitamin B 12 By *Streptomyces Fulvissimus*. *Egyptian Journal of Biomedical Sciences*, 23(1), 166-184.
- Auch, A. F., Jan, M., Klenk, H. P. and Göker, M. 2010. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. *Standards in Genomic Sciences*, 2(1), 117.
- Auch, A. F., Klenk, H. P. and Göker, M. 2010. Standard operating procedure for calculating genome-to-genome distances based on high-scoring segment pairs. *Standards in Genomic Sciences*, 2(1), 142.
- Ay, H., Nouioui, I., del Carmen Montero-Calasanz, M., Carro, L., Klenk, H. P., Goodfellow, M., and Işık, K. 2017. *Actinomadura alkaliterrae* sp. nov., isolated from an alkaline soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(6), 787-794.
- Ay, H., Nouioui, I., del Carmen Montero-Calasanz, M., Klenk, H. P., Isik, K., Cetin, D. and Sahin, N. 2018. *Streptomyces sediminis* sp. nov. isolated from crater lake sediment. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(4), 493-500.
- Ayuso-Sacido, A. and Genilloud, O. 2005. New PCR primers for the screening of NRPS and PKS-I systems in actinomycetes: detection and distribution of these biosynthetic gene sequences in major taxonomic groups. *Microbial Ecology*, 49(1), 10-24.
- Bağırsakçı, S., Akçay, E.A., Manav, E., Polat, C. 1995. Diyarbakır, Ergani, Çınar, alanı jeolojisi raporu. MTA Genel Müdürlüğü Jeoloji Etütleri Dairesi yayını, 1-4.
- Baltz, R. H. 2007. Antimicrobials from actinomycetes: back to the future. *Microbe-American Society For Microbiology*, 2(3), 125.
- Baltz, R. H. 2010. Genomics and the ancient origins of the daptomycin biosynthetic gene cluster. *The Journal of Antibiotics*, 63(8), 506.
- Baltz, R. H., Matsushima, P., Stanzak, R., Schoner, B. E. and Rao, R. N. 1986. Efficient transformation in *Streptomyces* and cloning of erythromycin biosynthesis genes. *Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes* (edited by Szabó, Biró and Goodfellow). *Akadémiai Kiadó, Budapest*, 55-66.
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., and Pyskin, A. V. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology*, 19(5), 455-477.

- Barakate, M., Ouhdouch, Y., Oufdou, K. H. and Beaulieu, C. 2002. Characterization of rhizospheric soil streptomycetes from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(1), 49-54.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., and van Wezel, G. P. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43.
- Béhal, V. 2000. Bioactive products from *Streptomyces*. *Advances in Applied Microbiology* 47:113–157.
- Bell, K. S., Philp, J. C., Aw, D. W. J. and Christofi, N. 1998. The genus *Rhodococcus*. *Journal of Applied Microbiology*, 85(2), 195-210.
- Benito, P., Alonso-Vega, P., Aguado, C., Luján, R., Anzai, Y., Hirsch, A. M. and Trujillo, M. E. 2017. Monitoring the colonization and infection of legume nodules by *Micromonospora* in co-inoculation experiments with rhizobia. *Scientific Reports*, 7(1), 11051.
- Bennett, J. E., Dolin, R. and Blaser, M. J. 2014. Principles and practice of infectious diseases (Vol. 1). Elsevier Health Sciences.
- Benson, D. A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., Rapp, B. A. and Wheeler, D. L. 2000. GenBank. *Nucleic acids research*, 28(1), 15-18.
- Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1.
- Berg, G., Marten, P., Minkwitz, A., Bruckner, S. and Luth, P. 2001. Efficient Biological Control of fungal plant diseases by *Streptomyces rimosus* DSMZ 12424. *IOBC WPRS BULLETIN*, 24(1), 9-14.
- Bernèche-D'Amours, A., Ghinet, M. G., Beaudin, J., Brzezinski, R. and Roy, S. 2011. Sequence analysis of *rpoB* and *rpoD* gene fragments reveals the phylogenetic diversity of actinobacteria of genus *Frankia*. *Canadian journal of microbiology*, 57(3), 244-249.
- Beyer, S., Kunze, B., Silakowski, B. and Müller, R. 1999. Metabolic diversity in myxobacteria: identification of the myxalamid and the stigmatellin biosynthetic gene cluster of *Stigmatella aurantiaca* Sg a15 and a combined polyketide-(poly) peptide gene cluster from the epothilone producing strain *Sorangium cellulosum* So ce90. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1445(2), 185-195.
- Bhatti, M.T., Bigham, M., Vuorinen A., Tuovinen, O. 2012. Weathering of Biotite in *Acidithiobacillus ferrooxidans* Cultures. *Geomicrobiology Journal*, 28:130-134.
- Blackall, L. L., Parlett, J. H., Hayward, A. C., Minnikin, D. E., Greenfield, P. F. and Harbers, A. E. 1989. *Nocardia pinensis* sp. nov., an actinomycete found in activated sludge foams in Australia. *Microbiology*, 135(6), 1547-1558.
- Bolger, A. M., Lohse, M. and Usadel, B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120.

- Boom, T. J. V. 2000. Recent developments in the molecular genetics of the erythromycin-producing organism *Saccharopolyspora erythraea*. *Advances in Applied Microbiology* 47:79–111.
- Boukaya, N., Goudjal, Y., Zamoum, M., Chaabane Chaouch, F., Sabaou, N., Mathieu, F. and Zitouni, A. 2018. Biocontrol and plant-growth-promoting capacities of actinobacterial strains from the Algerian Sahara and characterisation of *Streptosporangium becharensense* SG1 as a promising biocontrol agent. *Biocontrol Science and Technology*, 28(9), 858-873.
- Boukhalfa, H. and Crumbliss, A. L. 2002. Chemical aspects of siderophore mediated iron transport. *Biometals*, 15(4), 325-339.
- Bower, C.S., Hucker, G.J. 1930. Tech. Bull. 228. New York State Agr. Exp. Sta., Geneva, N.Y.
- Brauman, A., Doré, J., Eggleton, P., Bignell, D., Breznak, J. A. and Kane, M. D. 2001. Molecular phylogenetic profiling of prokaryotic communities in guts of termites with different feeding habits. *FEMS Microbiology Ecology*, 35(1), 27-36.
- Breider, S., Scheuner, C., Schumann, P., Fiebig, A., Petersen, J., Pradella, S., and Göker, M. 2014. Genome-scale data suggest reclassifications in the Leisingera-Phaeobacter cluster including proposals for *Sedimentitalea* gen. nov. and *Pseudophaeobacter* gen. nov. *Frontiers in Microbiology*, 5, 416.
- Brettin, T., Davis, J. J., Disz, T., Edwards, R. A., Gerdes, S., Olsen, G. J., and Shukla, M. 2015. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. *Scientific Reports*, 5, 8365.
- Breznak, J. A. 1982. Intestinal microbiota of termites and other xylophagous insects. *Annual Reviews in Microbiology*, 36(1), 323-323.
- Brown-Elliott, B. A., Brown, J. M., Conville, P. S. and Wallace, R. J. 2006. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(2), 259-282.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E. V. L. and Schulze-Lefert, P. 2013. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Piology*, 64, 807-838.
- Bull, A. T., Asenjo, J. A., Goodfellow, M. and Gomez-Silva, B. 2016. The Atacama Desert: technical resources and the growing importance of novel microbial diversity. *Annual Review of Microbiology*, 70, 215-234.
- Burford, E. P., Kierans, M. and GADD, G. M. 2003. Geomycology: fungi in mineral substrata. *Mycologist*, 17(3), 98-107.
- Busscher, G. F., Rutjes, F. P. and Van Delft, F. L. 2005. 2-Deoxystreptamine: central scaffold of aminoglycoside antibiotics. *Chemical Reviews*, 105(3), 775-792.
- Busse, H. J., Denner, E. B. and Lubitz, W. 1996. Classification and identification of bacteria: current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. *Journal of Biotechnology*, 47(1), 3-38.

- Butler, M. S., Hansford, K. A., Blaskovich, M. A., Halai, R. and Cooper, M. A. 2014. Glycopeptide antibiotics: back to the future. *The Journal of Antibiotics*, 67(9), 631.
- Campbell, J. M. 1932. Acute symptoms following work with hay. *British Medical Journal*, 1143-4.
- Cao, L., Qiu, Z., You, J., Tan, H. and Zhou, S. 2005. Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of *Fusarium* wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. *FEMS Microbiology Letters*, 247(2), 147-152.
- Cao, Y. R., Jiang, Y., Wu, J. Y., Xu, L. H. and Jiang, C. L. 2009. *Actinopolymorpha alba* sp. nov., isolated from a rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(9), 2200-2203.
- Carro, L., Veyisoglu, A., Riesco, R., Spröer, C., Klenk, H. P., Sahin, N. and Trujillo, M. E. 2017. *Micromonospora phytophila* sp. nov. and *Micromonospora luteiviridis* sp. nov., isolated as natural inhabitants of plant nodules. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(1), 248-253.
- Carro, L., Veyisoglu, A., Cetin, D., Igual, J. M., Klenk, H. P., Trujillo, M. E. and Sahin, N. 2018. A study of three bacteria isolated from marine sediment and description of *Micromonospora globispora* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*.
- Certini, G., Campbell, C. D. and Edwards, A. C. 2004. Rock fragments in soil support a different microbial community from the fine earth. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(7), 1119-1128.
- Chaabane, F. C., Bouras, N., Mokrane, S., Zitouni, A., Schumann, P., Spröer, C. and Klenk, H. P. 2016. *Streptosporangium bechareense* sp. nov., an actinobacterium isolated from desert soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(7), 2484-2490.
- Chan, J. Z., Halachev, M. R., Loman, N. J., Constantinidou, C. and Pallen, M. J. 2012. Defining bacterial species in the genomic era: insights from the genus *Acinetobacter*. *BMC Microbiology*, 12(1), 302.
- Chater, K. F. 1993. Genetics of differentiation in *Streptomyces*. *Annual Reviews in Microbiology*, 47(1), 685-711.
- Chater, K. F., Biro, S., Lee, K. J., Palmer, T. and Schrempf, H. 2010. The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(2), 171-198.
- Chesworth, W., Dejou, J. and Larroque, P. 1981. The weathering of basalt and relative mobilities of the major elements at Belbex, France. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45(7), 1235-1243.
- Chun, W. 2001. Bacterial blight. Pp. 22-23 in Kraft, J. M. and Pflieger, F. L. *Compendium of pea diseases and pests* (No. Ed. 2). *American Phytopathological Society*.
- Chun, J. and Goodfellow, M. 1995. A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(2), 240-245.

- Chun, J., Lee, J. H., Jung, Y., Kim, M., Kim, S., Kim, B. K. and Lim, Y. W. 2007. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2259-2261.
- Chun, J., Oren, A., Ventosa, A., Christensen, H., Arahal, D. R., da Costa, M. S. And Trujillo, M. E. 2018. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(1), 461-466.
- Cochrane, V. W. 1961. Physiology of actinomycetes. *Annual Reviews in Microbiology*, 15(1), 1-24.
- Cockell, C. S., Kelly, L. C. and Marteinson, V. 2013. Actinobacteria an ancient phylum active in volcanic rock weathering. *Geomicrobiology Journal*, 30(8), 706-720.
- Cockell, C. S., Olsson, K., Knowles, F., Kelly, L., Herrera, A., Thorsteinsson, T. and Marteinson, V. 2009. *Bacteria* in weathered basaltic glass, Iceland. *Geomicrobiology Journal*, 26(7), 491-507.
- Coco, W. M., Levinson, W. E., Crist, M. J., Hektor, H. J., Darzins, A., Pienkos, P. T. And Monticello, D. J. 2001. DNA shuffling method for generating highly recombined genes and evolved enzymes. *Nature Biotechnology*, 19(4), 354.
- Cohen, M. F. and Mazzola, M. 2006. Resident bacteria, nitric oxide emission and particle size modulate the effect of Brassica napus seed meal on disease incited by *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Plant and Soil*, 286(1-2), 75-86.
- Cohn, F. 1875. *Untersuchungen über Bacterien: I.* JU Kern.
- Cole, S., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D. And Tekaia, F. 1998. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 393(6685), 537.
- Collins, M. D. and Jones, D. 1981. Distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implication. *Microbiological Reviews*, 45(2), 316.
- Collins, M. D., Kroppenstedt, R. M., Tamaoka, J., Komagata, K. and Kinoshita, T. 1988. Structures of the tetrahydrogenated menaquinones from *Actinomyces angiospora*, *Faenia rectivirgula*, and *Saccharothrix australiensis*. *Current Microbiology*, 17(5), 275-279.
- Colwell, R. R. 1970. Polyphasic taxonomy of the genus *Vibrio*: numerical taxonomy of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and related *Vibrio* species. *Journal of Bacteriology*, 104(1), 410-433.
- Coombs, J. T. and Franco, C. M. 2003. Isolation and identification of *Actinobacteria* from surface-sterilized wheat roots. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9), 5603-5608.
- Coombs, J. T., Michelsen, P. P. and Franco, C. M. 2004. Evaluation of endophytic *Actinobacteria* as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. *Biological Control*, 29(3), 359-366.

- Couillerot, O., Loqman, S., Toribio, A., Hubert, J., Gandner, L., Nuzillard, J. M. and Renault, J. H. 2014. Purification of antibiotics from the biocontrol agent *Streptomyces anulatus* S37 by centrifugal partition chromatography. *Journal of Chromatography B*, 944, 30-34.
- Cross, T. 1968. Thermophilic actinomycetes. *Journal of Applied Bacteriology*, 31(1), 36-53.
- Curtis, S. M. and Meyers, P. R. 2012. Multilocus sequence analysis of the actinobacterial genus *Kribbella*. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(7), 441-446.
- Dalmastri, C., Gastaldo, L., Marcone, G. L., Binda, E., Congiu, T. and Marinelli, F. 2016. *Nonomuraea gerenzanensis* sp. nov., an actinomycete producing the glycopeptide antibiotic A40926 (emended classification of *Nonomuraea* sp. ATCC 39727). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66, 912-921.
- Das, S., Ward, L. R. and Burke, C. 2008. Prospects of using marine *Actinobacteria* as probiotics in aquaculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(3), 419-429.
- Dastager, S. G., Li, W. J., Dayanand, A., Tang, S. K., Tian, X. P., Zhi, X. Y. and Jiang, C. L. 2006. Separation, identification and analysis of pigment (melanin) production in *Streptomyces*. *African Journal of Biotechnology*, 5(11).
- Dejean, A., Solano, P. J., Ayroles, J., Corbara, B. and Orivel, J. 2005. Insect behaviour: arboreal ants build traps to capture prey. *Nature*, 434(7036), 973.
- Devulder, G., De Montclos, M. P. and Flandrois, J. P. 2005. A multigene approach to phylogenetic analysis using the genus *Mycobacterium* as a model. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 293-302.
- Dengiz, O., Kizilkaya, R., Erkocak, A. and Durmus, M. 2013. Variables of microbial response in natural soil aggregates for soil characterization in different fluvial land shapes. *Geomicrobiology Journal*, 30(2), 100-107.
- Dhanasekaran, D., Thajuddin, N. and Panneerselvam, A. (Eds.). 2015. *Antimicrobials: Synthetic and Natural Compounds*. CRC Press.
- Dias, L., Rosado, T., Coelho, A., Barrulas, P., Lopes, L., Moita, P., and Caldeira, A. T. (2018). Natural limestone discolouration triggered by microbial activity a contribution. *AIMS Microbiology*, 4(4), 594-607.
- Dinç, U., Kapur, S., Özbek, H. and Şenol, S. 1987. Toprak Genesisi ve Sınıflandırılması. *Çukurova Üniversitesi Yayınları Ders Kitabı*, 7(3).
- Doronina, N. V., Ezhov, V. A., Beschastnyi, A. P. and Trotsenko, Y. A. 2010. Biosynthesis of the bioprotectant ectoin by aerobic methylotrophic bacteria from methanol. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46(2), 173-176.
- Doumbou, C. L., Hamby Salove, M. K., Crawford, D. L. and Beaulieu, C. 2001. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*, 82(3), 85-102.
- Duangmal, K., Mingma, R., Thamchaipenet, A., Matsumoto, A. and Takahashi, Y. 2010. *Saccharopolyspora phatthalungensis* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of Hevea

- brasiliensis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(8), 1904-1908.
- Dworkin, M. M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H. and Stacebrandt, E. 2005. The Prokaryotes, vol. 3, *Archaea and Bacteria: Firmicutes. Actinomycetes*, 998.
- Edwards, K. J., Bach, W., McCollom, T. M. and Rogers, D. R. 2004. Neutrophilic iron-oxidizing bacteria in the ocean: their habitats, diversity, and roles in mineral deposition, rock alteration, and biomass production in the deep-sea. *Geomicrobiology Journal*, 21(6), 393-404.
- El-Abyad, M. S., El-Sayed, M. A., El-Shanshoury, A. R. and El-Sabbagh, S. M. 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. *Plant and Soil*, 149(2), 185-195.
- Elena, M. and de Villegas, D. 2007. Biotechnological production of siderophores. In *Microbial Siderophores* (pp. 219-231). Springer, Berlin, Heidelberg.
- El-Tarabily, K. A. and Sivasithamparam, K. 2006. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(7), 1505-1520.
- El-Tarabily, K. A. and Sivasithamparam, K. 2006. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(7), 1505-1520.
- El-Tarabily, K. A., Hardy, G. E. S. J., Sivasithamparam, K. and Kurtböke, I. D. 1996. Microbiological differences between limed and unlimed soils and their relationship with cavity spot disease of carrots (*Daucus carota* L.) caused by *Pythium coloratum* in Western Australia. *Plant and Soil*, 183(2), 279-290.
- El-Tarabily, K. A., Sykes, M. L., Kurtböke, I. D., Hardy, G. E. S. J., Barbosa, A. M. and Dekker, R. F. 1996. Synergistic effects of a cellulase-producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic-producing *Streptomyces violascens* on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis*. *Canadian Journal of Botany*, 74(4), 618-624.
- Emmert, E. A. and Handelsman, J. 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 171(1), 1-9.
- Enright, M. C. 2003. The evolution of a resistant pathogen—the case of MRSA. *Current Opinion in Pharmacology*, 3(5), 474-479.
- Erdem, B. 2013. Mikrobiyal Sideroforlar ve Biyoteknolojideki Uygulama Alanları. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 3(8), 77-88.
- Erikson, D. 1941. Studies on some lake-mud strains of *Micromonospora*. *Journal of Bacteriology*, 41(3), 277.
- Errakhi, R., Bouteau, F., Lebrihi, A. and Barakate, M. 2007. Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(11), 1503-1509.

- Fang, B. Z., Han, M. X., Zhang, L. Y., Jiao, J. Y., Zhang, X. T., Zhang, Z. T. and Li, W. J. 2018. *Nocardia aurea* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a karstic subterranean environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fenton, A. M., Stephens, P. M., Crowley, J., O'callaghan, M. and O'gara, F. 1992. Exploitation of gene (s) involved in 2, 4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(12), 3873-3878.
- Ferguson J.A. 1954) Transformation of Clay Minerals in black earths and red loems of basaltic origin Aust. *Journal Agriculture Research* 5:98-108.
- Ferracini-Santos, L. and Sato, H. H. 2009. Production of alkaline protease from *Cellulosimicrobium cellulans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(1), 54-60.
- Fischer, A., Kroppenstedt, R. M. and Stackebrandt, E. 1983. Molecular-genetic and chemotaxonomic studies on *Actinomadura* and *Nocardiopsis*. *Microbiology*, 129(11), 3433-3446.
- Flårdh, K. 2003. Growth polarity and cell division in *Streptomyces*. *Current Opinion in Microbiology*, 6(6), 564-571.
- Fleck, W. F., Strauss, D. G., Meyer, J. and Porstendorfer, G. 1978. Fermentation, isolation, and biological activity of maduramycin: a new antibiotic from *Actinomadura rubra*. *Zeitschrift Für Allgemeine Mikrobiologie*, 18(6), 389-398.
- Foerster, H. F. 1978. Effects of temperature on the spores of thermophilic actinomycetes. *Archives of Microbiology*, 118(3), 257-264.
- Franco, C. M. and Labeda, D. P. 2014. The order *Pseudonocardiales*. In *The Prokaryotes* (pp. 743-860). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodríguez, M. X. and Barea, J. M. 2010. Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology*, 45(3), 209-217.
- Fuhrmann, C., Soedarmanto, I. and Lämmler, C. 1997. Studies on the Rod-Coccus Life Cycle of *Rhodococcus equi*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 44(1-10), 287-294.
- Gacto, M., Vicente-Soler, J., Cansado, J. and Villa, T. G. 2000. Characterization of an extracellular enzyme system produced by *Micromonospora chalcea* with lytic activity on yeast cells. *Journal of Applied Microbiology*, 88(6), 961-967.
- Gadelhak, G. G., El-Tarabily, K. A. and Al-Kaabi, F. K. 2005. Insect control using chitinolytic soil actinomycetes as biocontrol agents. *International Journal Agriculture Biology*, 7(4), 627-633.
- Gago, G., Diacovich, L., Arabolaza, A., Tsai, S. C. and Gramajo, H. 2011. Fatty acid biosynthesis in actinomycetes. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(3), 475-497.

- Galatenko O. A., Terekhova L. P. ve Preobrazhenskaya T. P. 1981. New *Actinomadura* species isolated from Turkmen soil samples and their antagonistic properties [in Russian], *Antibiotiki* 26:803–807.
- Gardner, J. M., Chandler, J. L. and Feldman, A. W. 1984. Growth promotion and inhibition by antibiotic-producing fluorescent pseudomonads on citrus roots. *Plant and Soil*, 77(1), 103-113.
- Garrity, G. M. 2001. Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd edn (pp 49–65). Springer, New York.
- Gaynor, M. and Mankin, A. S. 2003. Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 3(9), 949-960.
- Gedik, A. and Korkmaz, S. 1984. Sinop havzasının jeolojisi ve petrol olanakları. *Jeoloji Mühendisliği Dergisi*, 8(1), 53-80.
- Genilloud, O. 2012. Genus I. *Micromonospora*, p 1039–1057. *Bergey's manual of systematic bacteriology: the Actinobacteria*, 2nd ed. Springer, New York.
- Gerber, N. N. 1971. Prodigiosin-like pigments from *Actinomadura (Nocardia) pelletieri*. *The Journal of Antibiotics*, 24(9), 636-640.
- Gerber, N. N. 1973. Minor prodiginine pigments from *Actinomadura madurae* and *Actinomadura pelletieri*. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 10(6), 925-929.
- Getha, K., Vikineswary, S., Wong, W. H., Seki, T., Ward, A. and Goodfellow, M. 2005. Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of *Fusarium* wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(1), 24-32.
- Gevers, D., Cohan, F. M., Lawrence, J. G., Spratt, B. G., Coenye, T., Feil, E. J. And Swings, J. 2005. Re-evaluating prokaryotic species. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 733.
- Girard, G., Traag, B. A., Sangal, V., Mascini, N., Hoskisson, P. A., Goodfellow, M. and van Wezel, G. P. 2013. A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes. *Open biology*, 3(10), 130073.
- Glaeser, S. P. and Kämpfer, P. 2015. Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. *Systematic and Applied Microbiology*, 38(4), 237-245.
- Gleeson, D. B., Kennedy, N. M., Clipson, N., Melville, K., Gadd, G. M. and Mc Dermott, F. P. 2006. Characterization of bacterial community structure on a weathered pegmatitic granite. *Microbial Ecology*, 51(4), 526-534.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109-117.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109-117.
- Glick, B. R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012.

- Gomes, R. C., Semedo, L. T. A. S., Soares, R. M. A., Alviano, C. S., And, L. L. and Coelho, R. R. R. 2000. Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. *Letters in Applied Microbiology*, 30(2), 146-150.
- Goodfellow M, Lechevalier MP. 1989. Genus *Nocardia*, p 235–236. In Williams ST, Sharpe ME, Holt JG (ed), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 4. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Goodfellow M., Stackebrandt E. & Kroppenstedt R. M. 1988. Chemotaxonomy and actinomycete systematics. In: Y. Okami, T. Beppu, and H. Ogawara (Eds.) Biology of Actinomycetes, *Japan Scientific Societies Press*. Tokyo, Japan. 233–238.
- Goodfellow, M. 1971. Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *Microbiology*, 69(1), 33-80.
- Goodfellow, M. 1989. Search and discovery of industrially significant actinomycetes. *Microbial Products: New Approaches*.
- Goodfellow, M. 1999. *Actinomycetes: Actinomyces, Actinomadura, Nocardia, Streptomyces* and related genera. *Mackie & McCartney: Practical medical microbiology, Edinburgh: Churchill Livingstone*, 343-8.
- Goodfellow, M. and Fiedler, H. P. 2010. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 98(2), 119-142.
- Goodfellow, M. and Williams, S. T. 1983. Ecology of actinomycetes. *Annual Reviews in Microbiology*, 37(1), 189-216.
- Goodfellow, M., Alderson, G. and Chun, J. 1999. Rhodococcal systematics: problems and developments. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 74(1-3), 3-20.
- Goodfellow, M., Alderson, G. and Lacey, J. 1979. Numerical taxonomy of *Actinomadura* and related actinomycetes. *Microbiology*, 112(1), 95-111.
- Goodfellow, M., Minnikin, D.E., 1985. Chemical Methods in Bacterial Systematics. *Academic Press*.
- Goodfellow, M., Mordarski, M. and Williams, S. T. 1984. *Biology of the actinomycetes*. *Academic Press*.
- Goodfellow, M., Stach, J. E., Brown, R., Bonda, A. N. V., Jones, A. L., Mexson, J. And Bull, A. T. 2012. *Verrucosispora maris* sp. nov., a novel deep-sea actinomycete isolated from a marine sediment which produces abyssomicins. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 101(1), 185-193.
- Goodfellow, M., Stanton, L. J., Simpson, K. E. and Minnikin, D. E. 1990. Numerical and chemical classification of Actinoplanes and some related actinomycetes. *Microbiology*, 136(1), 19-36.
- Gorbushina, A. A. 2007. Life on the rocks. *Environmental Microbiology*, 9(7), 1613-1631.
- Gordon, R. E. and Mihm, J. M. 1962. The type species of the genus *Nocardia*. *Microbiology*, 27(1), 1-10.

- Goris, J., Konstantinidis, K. T., Klappenbach, J. A., Coenye, T., Vandamme, P. and Tiedje, J. M. 2007. DNA–DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(1), 81-91.
- Goto, Y., Li, B., Claesen, J., Shi, Y., Bibb, M. J. and van der Donk, W. A. 2010. Discovery of unique lanthionine synthetases reveals new mechanistic and evolutionary insights. *PLOS Biology*, 8(3), e1000339.
- Goudjal, Y., Zamoum, M., Sabaou, N., Mathieu, F. and Zitouni, A. 2016. Potential of endophytic *Streptomyces* spp. for biocontrol of Fusarium root rot disease and growth promotion of tomato seedlings. *Biocontrol Science and Technology*, 26(12), 1691-1705.
- Greub, G. and Raoult, D. 2004. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(2), 413-433.
- Gunnell, D., Eddleston, M., Phillips, M. R. and Konradsen, F. 2007. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review. *BMC Public Health*, 7(1), 357.
- Guo, Y., Zheng, W., Rong, X. and Huang, Y. 2008. A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S rRNA gene clade: use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(1), 149-159.
- Hahnke, R. L., Meier-Kolthoff, J. P., García-López, M., Mukherjee, S., Huntemann, M., Ivanova, N. N. and Göker, M. 2016. Genome-based taxonomic classification of *Bacteroidetes*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2003.
- Hamedi, J., Mohammadipanah, F. and Panahi, H. K. S. 2015. Biotechnological exploitation of Actinobacterial members. In *Halophiles* (pp. 57-143). Springer, Cham.
- Hasegawa, S., Meguro, A., Shimizu, M., Nishimura, T. and Kunoh, H. 2006. Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. *Actinomycetologica*, 20(2), 72-81.
- Hayakawa, M. and Nonomura, H. 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, 65(5), 501-509.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, I. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579-598.
- Henri, P. A., Rommevaux-Jestin, C., Lesongeur, F., Mumford, A., Emerson, D., Godfroy, A. and Ménez, B. 2016. Structural iron (II) of basaltic glass as an energy source for *Zetaproteobacteria* in an abyssal plain environment, off the Mid Atlantic Ridge. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1518.
- Henz, S. R., Huson, D. H., Auch, A. F., Nieselt-Struwe, K. and Schuster, S. C. 2004. Whole-genome prokaryotic phylogeny. *Bioinformatics*, 21(10), 2329-2335.
- Hirsch, A. M. and Valdés, M. 2011. *Micromonospora*: an important microbe for biomedicine and potentially for biocontrol and biofuels. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(4), 536-542.

- Hocaoğlu Ö.L. 1970. Diyarbakır Erzurum ve Rize Bölgelerinde Bazalt Kayalardan Oluşan Topraklardaki Kil Mineralleri Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 86 Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum-1970
- Hoffmann, G. Bodenenzyme als Charakteristika Bioloischen Aktivitat und von Stoffumsatzen in Böden. II. In *Seminar: Die Anwendung Enzymatischer und Mikrobiologischer Methoden in der Bodenanalyse* (pp. 5-6).
- Hong, K., Gao, A. H., Xie, Q. Y., Gao, H. G., Zhuang, L., Lin, H. P. and Ruan, J. S. 2009. Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China. *Marine Drugs*, 7(1), 24-44.
- Hong, L., Zhao, Z., Melançon, C. E., Zhang, H. and Liu, H. W. 2008. In vitro characterization of the enzymes involved in TDP-D-foresamine biosynthesis in the spinosyn pathway of *Saccharopolyspora spinosa*. *Journal of the American Chemical Society*, 130(14), 4954-4967.
- Hongoh, Y. 2011. Toward the functional analysis of uncultivable, symbiotic microorganisms in the termite gut. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(8), 1311-1325.
- Hopmann, C., Kurz, M., Brönstrup, M., Wink, J. and LeBeller, D. 2002. Isolation and structure elucidation of vancoresmycin a new antibiotic from *Amycolatopsis* sp. ST 101170. *Tetrahedron Letters*, 43(3), 435-438.
- Hoskisson, P. A., Hobbs, G. and Sharples, G. P. 2000. Response of *Micromonospora echinospora* (NCIMB 12744) spores to heat treatment with evidence of a heat activation phenomenon. *Letters in Applied Microbiology*, 30(2), 114-117.
- Hsu, S. C. and Lockwood, J. L. 1975. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Applied Microbiology*, 29(3), 422-426.
- Huss, V. A., Festl, H. and Schleifer, K. H. 1983. Studies on the spectrophotometric determination of DNA hybridization from renaturation rates. *Systematic and Applied Microbiology*, 4(2), 184-192.
- Ibekwe, A. M., Kennedy, A. C., Halvorson, J. J. and Yang, C. H. 2007. Characterization of developing microbial communities in Mount St. Helens pyroclastic substrate. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(10), 2496-2507.
- Ilic, S. B., Konstantinovic, S. S., Todorovic, Z. B., Lazic, M. L., Veljkovic, V. B., Jokovic, N. and Radovanovic, B. C. 2007. Characterization and antimicrobial activity of the bioactive metabolites in streptomycete isolates. *Microbiology*, 76(4), 421-428.
- Iwasaki, A., Itoh, H. and Mori, T. 1979. A new broad-spectrum aminoglycoside antibiotic complex, sporaricin. *The Journal of Antibiotics*, 32(3), 180-186.
- Jackson, M. L. 1979. Soil Chemical Analysis: Advanced Course. Madison: Department of Soil Science University of Wisconsin.
- Jackson, M. L. L. 1958. Soil chemical analysis. *Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, NJ* p, 45, 46.

- Jebbar, M., Sohn-Bösser, L., Bremer, E., Bernard, T. and Blanco, C. 2005. Ectoine-induced proteins in *Sinorhizobium meliloti* include an ectoine ABC-type transporter involved in osmoprotection and ectoine catabolism. *Journal of Bacteriology*, 187(4), 1293-1304.
- Jensen, S. E. and Paradkar, A. S. 1999. Biosynthesis and molecular genetics of clavulanic acid. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 75(1-2), 125-133.
- Johnston, N. J., Mukhtar, T. A. and Wright, G. D. 2002. Streptogramin antibiotics: mode of action and resistance. *Current Drug Targets*, 3(4), 335-344.
- Jonasson, S., Michelsen, A., Schmidt, I. K., Nielsen, E. V. and Callaghan, T. V. 1996. Microbial biomass C, N and P in two arctic soils and responses to addition of NPK fertilizer and sugar: implications for plant nutrient uptake. *Oecologia*, 106(4), 507-515.
- Jones, A. and Goodfellow, M. 2012. Genus IV *Rhodococcus* (Zopf 1891) emend. Goodfellow, Alderson and Chun 1998a.
- Jones, K. L. 1949. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelia is a fluctuating characteristic. *Journal of Bacteriology*, 57(2), 141.
- Jukes, T. H. and Cantor, C. R. (1969). Evolution of protein molecules. In 'Mammalian Protein Metabolism, Volume III'. (Ed. HN Munro.) pp. 21–132. Academic Press, New York.
- Kaewkla, O. and Franco, C. M. 2011. *Actinopolymorpha pittospori* sp. nov., an endophyte isolated from surface-sterilized leaves of an apricot tree (*Pittosporum phylliraeoides*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(11), 2616-2620.
- Kämpfer, P. 2012. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Actinobacteria*. M. Goodfellow, H. J. Busse, M. E. Trujillo, K. I. Suzuki, W. Ludwig and W. B. Whitman (Eds.). New York: Springer.
- Kämpfer, P. and Glaeser, S. P. 2012. Prokaryotic taxonomy in the sequencing era—the polyphasic approach revisited. *Environmental Microbiology*, 14(2), 291-317.
- Kämpfer, P. and Glaeser, S. P. 2013. Prokaryote characterization and identification. In *The Prokaryotes* (pp. 123-147). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kämpfer, P., Busse, H. J., Tindall, B. J., Nimtz, M. and Grün-Wollny, I. 2010. *Nonomuraea rosea* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(5), 1118-1124.
- Kanapathipillai, M., Lentzen, G., Sierks, M. and Park, C. B. 2005. Ectoine and hydroxyectoine inhibit aggregation and neurotoxicity of Alzheimer's β -amyloid. *FEBS Letters*, 579(21), 4775-4780.
- Kang, Q., Shen, Y. and Bai, L. 2012. Biosynthesis of 3, 5-AHBA-derived natural products. *Natural Product Reports*, 29(2), 243-263.
- Katz, L. and Baltz, R. H. 2016. Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 43(2-3), 155-176.
- Keiser, T. 2000. Practical streptomyces genetics. *The John Innes Foundation*.

- Kharel, M. K., Pahari, P., Shepherd, M. D., Tibrewal, N., Nybo, S. E., Shaaban, K. A. and Rohr, J. 2012. Angucyclines: Biosynthesis, mode-of-action, new natural products, and synthesis. *Natural Product Reports*, 29(2), 264-325.
- Kieser, T., Bibb, M. J., Butner, M. J., Charter, K. F. and Hopwood, D. A., 2000. Preparation and analysis of the genomic and plasmid DNA. In: Practical *Streptomyces* genetics. Norwich, England: *The John Innes Foundation*, p. 162-170.
- Kim, B. S., Moon, S. S. and Hwang, B. K. 2000. Structure Elucidation and Antifungal Activity of an Anthracycline Antibiotic, Daunomycin, Isolated from *Actinomadura roseola*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1875-1881.
- Kim, M. and Chun, J. 2014. 16S rRNA gene-based identification of bacteria and archaea using the EzTaxon server. In *Methods in Microbiology* (Vol. 41, pp. 61-74). Academic Press.
- Kim, O. S., Cho, Y. J., Lee, K., Yoon, S. H., Kim, M., Na, H. and Won, S. 2012. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(3), 716-721.
- Kirby, B. M., Everest, G. J. and Meyers, P. R. 2010. Phylogenetic analysis of the genus *Kribbella* based on the *gyrB* gene: proposal of a *gyrB*-sequence threshold for species delineation in the genus *Kribbella*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 97(2), 131-142.
- Klenk, H. P. and Göker, M. 2010. En route to a genome-based classification of *Archaea* and *Bacteria*?. *Systematic and Applied Microbiology*, 33(4), 175-182.
- Kloepper, J. W. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In *Proc. of the 4th Internat. Conf. on Plant Pathogenic Bacter*, Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie, INRA, Angers, France, 1978 (Vol. 2, pp. 879-882).
- Kloepper, J. W. 1996. Host specificity in microbe-microbe interactions. *Bioscience*, 46(6), 406-409.
- Koch, C., Kroppenstedt, R. M. and Stackebrandt, E. 1996. Intrageneric relationships of the actinomycete genus *Micromonospora*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(2), 383-387.
- Komagata, K. and Suzuki, K. I. 1988. 4 Lipid and cell-wall analysis in bacterial systematics. In *Methods in microbiology*(Vol. 19, pp. 161-207). Academic Press.
- Kominek, L. A. 1975. Cycloheximide production by *Streptomyces griseus*: control mechanisms of cycloheximide biosynthesis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 7(6), 856-860.
- Konstantinidis, K. T. and Tiedje, J. M. 2005. Genomic insights that advance the species definition for prokaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(7), 2567-2572.
- Korn-Wendisch, F. and Kutzner, H. J. 1992. The family *Streptomycetaceae*. The Prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications, Chapter 41.

- Kraemer, S. M. 2004. Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores. *Aquatic sciences*, 66(1), 3-18.
- Krasil'nikov, N. A. 1938. Ray Fungi and Related Organisms—Actinomycetales. Moscow: *Akademii Nauk SSSR (in Russian)*.
- Kroppenstedt, R. M. 1985. Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*, 173-199.
- Kroppenstedt, R. M. 1987. Chemische Untersuchungen an Actinomycetales und verwandten Taxa, Korrelation von Chemosystematik und Phylogenie (Doctoral dissertation, Verlag nicht ermittelbar).
- Kroppenstedt, R. M. and Goodfellow, M. 2006. The family *Thermomonosporaceae*: *Actinocorallia*, *Actinomadura*, *Spirillospora* and *Thermomonospora*. In *The prokaryotes* (pp. 682-724). Springer, New York, NY.
- Kroppenstedt, R. M., Mayilraj, S., Wink, J. M., Kallow, W., Schumann, P., Secondini, C. and Stackebrandt, E. 2005. Eight new species of the genus *Micromonospora*, *Micromonospora citrea* sp. nov., *Micromonospora echinaurantiaca* sp. nov., *Micromonospora echinofusca* sp. nov., *Micromonospora fulviviridis* sp. nov., *Micromonospora inyonensis* sp. nov., *Micromonospora peucetia* sp. nov., *Micromonospora sagamiensis* sp. nov., and *Micromonospora viridifaciens* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(4), 328-339.
- Kroppenstedt, R. M., Stackebrandt, E. and Goodfellow, M. 1990. Taxonomic revision of the actinomycete genera *Actinomadura* and *Microtetraspora*. *Systematic and Applied Microbiology*, 13(2), 148-160.
- Kumar S., Stecher G., and Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33:1870-1874.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Kuncharoen, N., Kudo, T., Ohkuma, M. and Tanasupawat, S. 2018. *Micromonospora azadirachtae* sp. nov., isolated from roots of *Azadirachta indica* A. Juss. var. *siamensis* Valeton. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1-10.
- Kurtboke, I. 2000. Australian actinomycetes: An unexhausted source for biotechnological applications. *Actinomycetologica*, 14(2), 43-53.
- Kurtböke, D. I., Neller, R. J. and Bellgard, S. E. 2007. Mesophilic actinomycetes in the natural and reconstructed sand dune vegetation zones of Fraser Island, Australia. *Microbial Ecology*, 54(2), 332-340.
- Kügler, J. H., Roes-Hill, L., Sylđatk, C. and Hausmann, R. 2015. Surfactants tailored by the class *Actinobacteria*. *Frontiers in Microbiology*, 6, 212.
- Küster, E. and Williams, S. T. 1964. Selection of media for isolation of streptomycetes. *Nature*, 202(4935), 928.

- Labeda, D. P. 2011. Multilocus sequence analysis of phytopathogenic species of the genus *Streptomyces*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(10), 2525-2531.
- Labeda, D. P., Doroghazi, J. R., Ju, K. S. and Metcalf, W. W. 2014. Taxonomic evaluation of *Streptomyces albus* and related species using multilocus sequence analysis and proposals to emend the description of *Streptomyces albus* and describe *Streptomyces pathocidini* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(3), 894-900.
- Lacey, J. 1981. Airborne actinomycete spores as respiratory allergens. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. I. Abt.: Supplemente*.
- Lacey, J. 1989. Genus *Saccharopolyspora* Lacey & Goodfellow 1975, 77AL. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 4, 2382-2386.
- Lam, K. S. 2006. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. *Current opinion in microbiology*, 9(3), 245-251.
- Lane, D. J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In 'Nucleic acid techniques in bacterial systematics'. (Eds E Stackebrandt, M Goodfellow) pp. 115–175.
- Larkin, M. J., Kulakov, L. A. and Allen, C. C. 2005. Biodegradation and *Rhodococcus*—masters of catabolic versatility. *Current opinion in Biotechnology*, 16(3), 282-290.
- Lasker, B. A., Bell, M., Klenk, H. P., Schumann, P. and Brown, J. M. 2015. *Nocardia arizonensis* sp. nov., obtained from human respiratory specimens. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 108(5), 1129-1137.
- Lawson, P. A. 2018. The Phylum *Actinobacteria*. In *The Bifidobacteria and Related Organisms* (pp. 1-8).
- Leach, A. W. and Mumford, J. D. 2008. Pesticide environmental accounting: a method for assessing the external costs of individual pesticide applications. *Environmental Pollution*, 151(1), 139-147.
- Leblond-Bourget, N., Philippe, H., Mangin, I. and Decaris, B. 1996. 16S rRNA and 16S to 23S internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter- and intraspecific *Bifidobacterium* phylogeny. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(1), 102-111.
- Lechevalier, H. A., Lechevalier, M. P. and Gerber, N. N. 1971. Chemical composition as a criterion in the classification of actinomycetes. *Advance Applied Microbiology*, 14, 47-72.
- Lechevalier, M. P., De Bievre, C. and Lechevalier, H. 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5(4), 249-260.
- Lechevalier, M. P., Horan, A. C. and Lechevalier, H. 1971. Lipid composition in the classification of *Nocardiae* and *Mycobacteria*. *Journal of Bacteriology*, 105(1), 313-318.

- Leung, T. L. F. and Poulin, R. 2008. Parasitism, commensalism, and mutualism: exploring the many shades of symbioses. *Vie et Milieu*, 58(2), 107.
- Ley, J. D., Cattoir, H. and Reynaerts, A. 1970. The quantitative measurement of DNA hybridization from renaturation rates. *European Journal of Biochemistry*, 12(1), 133-142.
- Li, W., Guo, X., Shi, L., Zhao, J., Yan, L., Zhong, X. and Xiang, W. 2018. *Plantactinospora solaniradicis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the root of a tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.). *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(2), 227-235.
- Li, Z., Song, W., Zhao, J., Zhuang, X., Zhao, Y., Wang, X. and Xiang, W. (2017). *Nonomuraea glycinis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the root of black soya bean [*Glycine max* (L.) Merr]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(12), 5026-5031.
- Li, X., Zhang, L., Ding, Y., Gao, Y., Ruan, J. and Huang, Y. 2012. *Nonomuraea jiangxiensis* sp. nov., isolated from acidic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(6), 1409-1413.
- Liao, Z. L., Tang, S. K., Guo, L., Zhang, Y. Q., Tian, X. P., Jiang, C. L. and Li, W. J. 2009. *Verrucosipora lutea* sp. nov., isolated from a mangrove sediment sample. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(9), 2269-2273.
- Liras, P. 1999. Biosynthesis and molecular genetics of cephamycins. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 75(1-2), 109-124.
- Locci, R. and Schaal, K. P. 1980. Apical growth in facultative anaerobic actinomycetes as determined by immunofluorescent labeling. *Zentralblatt für Bakteriologie. 1. Abt. Originale A, Medizinische Mikrobiologie, Infektionskrankheiten und Parasitologie*, 246(1), 112-118.
- Lu, Z., Liu, Z., Wang, L., Zhang, Y., Qi, W. and Goodfellow, M. 2001. *Saccharopolyspora flava* sp. nov. and *Saccharopolyspora thermophila* sp. nov., novel actinomycetes from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(2), 319-325.
- Ludwig, W. 2008. Reprint of "Nucleic acid techniques in bacterial systematics and identification"[*Int. J. Food Microbiol.*, 120 (2007) 225–236]. *International journal of food microbiology*, 125(1), I-XII.
- Ludwig, W. and Klenk, H. P. 2005. Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for prokaryotic systematics. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (pp. 49-66). Springer, Boston, MA.
- Ludwig, W. and Schleifer, K. H. 1994. Bacterial phylogeny based on 16S and 23S rRNA sequence analysis. *FEMS Microbiology Reviews*, 15(2-3), 155-173.
- Ludwig, W., Gloeckner, F. O. and Yilmaz, P. 2011. The use of rRNA gene sequence data in the classification and identification of prokaryotes. In *Methods in microbiology* (Vol. 38, pp. 349-384). Academic Press.

- Ma, Z., Zhao, S., Cao, T., Liu, C., Huang, Y., Gao, Y. and Wang, X. 2016. *Verrucosipora sonchi* sp. nov., a novel endophytic actinobacterium isolated from the leaves of common sowthistle (*Sonchus oleraceus* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 5430-5436.
- Mahendra, S. and Alvarez-Cohen, L. 2005. *Pseudonocardia dioxanivorans* sp. nov., a novel actinomycete that grows on 1, 4-dioxane. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(2), 593-598.
- Mahmoudi, E., Tabatabaei, B. E. S. and Venturi, V. 2011. Virulence attenuation of *Pectobacterium carotovorum* using N-acyl-homoserine lactone degrading bacteria isolated from potato rhizosphere. *The Plant Pathology Journal*, 27(3), 242-248.
- Malisorn, K., Kanchanasin, P., Phongsopitanun, W. and Tanasupawat, S. 2018. *Actinomadura rhizosphaerae* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of the plant *Azadirachta indica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68, 5430-5436.
- Mandel, M. and Marmur, J. 1968. [109] Use of ultraviolet absorbance-temperature profile for determining the guanine plus cytosine content of DNA. In *Methods in enzymology* (Vol. 12, pp. 195-206). Academic Press.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K. and Kim, S. K. 2014. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 262-278.
- Marmur, J. 1961. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. *Journal of Molecular Biology*, 3(2), 208-IN1.
- Matsushima, P. and Baltz, R. H. 1994. Transformation of *Saccharopolyspora spinosa* protoplasts with plasmid DNA modified in vitro to avoid host restriction. *Microbiology*, 140(1), 139-143.
- Matulionyte, R., Rohner, P., Uckay, I., Lew, D. and Garbino, J. 2004. Secular trends of nocardia infection over 15 years in a tertiary care hospital. *Journal of Clinical Pathology*, 57(8), 807-812.
- Meier-Kolthoff, J. P., Auch, A. F., Klenk, H. P. and Göker, M. 2013. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics*, 14(1), 60.
- Meier-Kolthoff, J. P., Auch, A. F., Klenk, H. P. and Göker, M. 2014. Highly parallelized inference of large genome-based phylogenies. *Concurrency and Computation: Practice and Experience*, 26(10), 1715-1729.
- Meier-Kolthoff, J. P., Auch, A. F., Klenk, H.-P. and Göker, M. 2013. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics*, 14(1), 1.
- Menezes, R. A., Amaral, C., Batista-Nascimento, L., Santos, C., Ferreira, R. B., Devaux, F. and Rodrigues-Pousada, C. 2008. Contribution of Yap1 towards *Saccharomyces cerevisiae* adaptation to arsenic-mediated oxidative stress. *Biochemical Journal*, 414(2), 301-311.

- Merriman, P. R., Price, R. D., Kollmorgen, J. F., Piggott, T. and Ridge, E. H. 1974. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. *Australian Journal of Agricultural Research*, 25(2), 219-226.
- Meunchang, S., Panichsakpatana, S. and Weaver, R. W. 2006. Tomato growth in soil amended with sugar mill by-products compost. *Plant and Soil*, 280(1-2), 171-176.
- Miethke, M. and Marahiel, M. A. 2007. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3), 413-451.
- Millard, W. A. and Taylor, C. B. 1927. Antagonism of micro-organisms as the controlling factor in the inhibition of scab by green-manuring. *Annals of Applied Biology*, 14(2), 202-216.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G. and Gianni, L. 2004. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*, 56(2), 185-229.
- Mohammadipanah, F. and Wink, J. 2016. *Actinobacteria* from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1541.
- Montero-Calasanz, M. D. C., Meier-Kolthoff, J. P., Zhang, D. F., Yaramis, A., Rohde, M., Woyke, T. and Göker, M. 2017. Genome-scale data call for a taxonomic rearrangement of *Geodermatophilaceae*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2501.
- Morales-Jiménez, J., de León, A. V. P., García-Domínguez, A., Martínez-Romero, E., Zúñiga, G. and Hernández-Rodríguez, C. 2013. Nitrogen-fixing and uricolytic bacteria associated with the gut of *Dendroctonus rhizophagus* and *Dendroctonus valens* (Curculionidae: Scolytinae). *Microbial Ecology*, 66(1), 200-210.
- Moreira, K. A., Porto, T. S., Teixeira, M. F. S., Porto, A. L. F. and Lima Filho, J. L. 2003. New alkaline protease from *Nocardioopsis* sp.: partial purification and characterization. *Process Biochemistry*, 39(1), 67-72.
- Mulinos, M. G. 1955. Cycloserine: an antibiotic paradox. *Antibiotics Annual*, 3, 131-135.
- Naganawa H., Hashizume H., Kubota Y., Sawa R., Takahashi Y., Arakawa K., Bowers S. G. and Mahmud T., 2002. Biosynthesis of the aminocyclitol moiety of pyralomicin 1a in *Nonomuraea spiralis* MI178-34F18. *The Journal of Antibiotics*. 55:578–584.
- Nakagawa, M., Hayakawa, Y., Imamura, K., Seto, H. and Otake, N. 1989. Microbial conversion of anthracyclines to carminomycins by a blocked mutant of *Actinomadura roseoviolacea*. *The Journal of Antibiotics*, 42(11), 1698-1703.
- Nash, P. and Krenz, M. M. 1991. Culture media. Editory: A. Balows, W. J. Hausler, Jr., K. L. Hermann, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy. Washington, D.C.
- Nassar, A. H., El-Tarabily, K. A. and Sivasithamparan, K. 2003. Growth promotion of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a polyamine-producing isolate of *Streptomyces griseoluteus*. *Plant Growth Regulation*, 40(2), 97-106.
- Navarrete, J. U., Cappelle, I. J., Schnittker, K. and Borrok, D. M. 2013. Bioleaching of ilmenite and basalt in the presence of iron-oxidizing and iron-scavenging bacteria. *International Journal of Astrobiology*, 12(2), 123-134.

- Nesbitt, H. W. 1979. Mobility and fractionation of rare earth elements during weathering of a granodiorite. *Nature*, 279(5710), 206-210.
- Nesbitt, H. W. and Wilson, R. E. 1992. Recent chemical weathering of basalts. *American Journal of Science*, 292(10), 740-777.
- Ngaemthao, W., Pujchakarn, T., Chunhametha, S. and Suriyachadkun, C. 2017. *Verrucosipora endophytica* sp. nov., isolated from the root of wild orchid (*Grosourdyia appendiculata* (Blume) Rchb. f.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(12), 5114-5119.
- Nitiss, J. L. 2009. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 9(5), 338.
- Nonomura, H. and Ohara, Y. 1971. Distribution of actinomycetes in soil. XI. Some new species of. *Journal of Fermentation Technology*. 49, 904-912.
- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J., Woyke, T., Kyrpides, N. and Göker, M. 2018. Genome-based taxonomic classification of the phylum *Actinobacteria*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2007.
- Okami, Y., Hotta, K., Good, M., Williams, S. T. and Mordarski, M. 1988. Actinomycetes in biotechnology. *Go-odfellow, M., Williams, S. T., Mordarski, M., Eds*, 33-68.
- O'Leary, W. M. 1975. The chemistry of microbial lipids. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 4(1), 41-63.
- O'Neill, G. A., Radley, R. A. and Chanway, C. P. 1992. Variable effects of emergence-promoting rhizobacteria on conifer seedling growth under nursery conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 13(1), 45-49.
- Ortiz-Ortiz, L., Bojalil, L. F. and Yakoleff, V. (Eds.). 2013. Biological, biochemical, and biomedical aspects of actinomycetes. Elsevier.
- Osawa, A., Ishii, Y., Sasamura, N., Morita, M., Kasai, H., Maoka, T. and Shindo, K. 2010. Characterization and antioxidative activities of rare C50 carotenoids-sarcinaxanthin, sarcinaxanthin monoglucoside, and sarcinaxanthin diglucoside-obtained from *Micrococcus yunnanensis*. *Journal of Oleo Science*, 59(12), 653-659.
- Ouhdouch, Y., Barakate, M. and Finance, C. 2001. Actinomycetes of Moroccan habitats: isolation and screening for antifungal activities. *European Journal of Soil Biology*, 37(2), 69-74.
- Overvoorde, P., Fukaki, H. and Beeckman, T. 2010. Auxin control of root development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, a001537.
- Ozdemir-Kocak, F., Isik, K., Saricaoglu, S., Saygin, H., Inan-Bektas, K., Cetin, D. and Sahin, N. 2017a. *Kribbella sindirgiensis* sp. nov. isolated from soil. *Archives of Microbiology*, 199(10), 1399-1407.
- Ozdemir-Kocak, F., Saygin, H., Saricaoglu, S., Cetin, D., Guven, K., Spröer, C. and Isik, K. 2017b. *Kribbella soli* sp. nov., isolated from soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(5), 641-649.

- Özcan, S. and Özaytekin, H. H. 2011. Soil formation overlying volcanic materials at Mount Erenler, Konya, Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35(5), 545-562.
- Park, S. R., Park, J. W., Ban, Y. H., Sohng, J. K. and Yoon, Y. J. 2013. 2-Deoxystreptamine-containing aminoglycoside antibiotics: recent advances in the characterization and manipulation of their biosynthetic pathways. *Natural Product Reports*, 30(1), 11-20.
- Pawlowski, K. and Demchenko, K. N. 2012. The diversity of actinorhizal symbiosis. *Protoplasma*, 249(4), 967-979.
- Pepys, J., Jenkins, P. A., Festenstein, G. N., Gregory, P. H., Lacey, M. E. and Skinner, F. A. 1963. Farmer's lung. *Thermophilic actinomycetes* as a source of "farmer's lung hay" antigen. *Lancet*, 2(7308), 607-611.
- Perez, A., Rossano, S., Trcera, N., Huguenot, D., Fourdrin, C., Verney-Carron, A. and Guyot, F. 2016. Bioalteration of synthetic Fe (III)-, Fe (II)-bearing basaltic glasses and Fe-free glass in the presence of the heterotrophic bacteria strain *Pseudomonas aeruginosa*: impact of siderophores. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 188, 147-162.
- Phillips, R. D. and Rojstaczer, S. 2001. Chemical weathering in a region of active orogeny: Pescadero Creek Watershed, California. *Global Biogeochemical Cycles*, 15(2), 383-391.
- Pimentel-Elardo, S. M., Kozytska, S., Bugni, T. S., Ireland, C. M., Moll, H. and Hentschel, U. 2010. Anti-parasitic compounds from *Streptomyces* sp. strains isolated from Mediterranean sponges. *Marine Drugs*, 8(2), 373-380.
- Poehlsgaard, J. and Douthwaite, S. 2003. Macrolide antibiotic interaction and resistance on the bacterial ribosome. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 4(2), 140-148.
- Prabavathy, V. R., Mathivanan, N. and Murugesan, K. 2006. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5. *Biological Control*, 39(3), 313-319.
- Prapagdee, B., Kuekulvong, C. and Mongkolsuk, S. 2008. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Sciences*, 4(5), 330.
- Prescott, J. F. 1991. *Rhodococcus equi*: an animal and human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 4(1), 20-34.
- Pridham, T. G., Anderson, P., Foley, C., Lindenfelser, L. A., Hesseltine, C. W. and Benedict, R. G. 1956/1957. A selection of media for maintenance and taxonomic study of *Streptomyces*. *A selection of media for maintenance and taxonomic study of streptomyces*.
- Pridham, T. G., Hesseltine, C. W. and Benedict, R. G. 1958. A guide for the classification of *Streptomyces* according to selected groups. Placement of strains in morphological sections. *Applied Microbiology*, 6(1), 52.
- Qin, S., Li, J., Zhang, Y. Q., Zhu, W. Y., Zhao, G. Z., Xu, L. H. and Li, W. J. 2009. *Plantactinospora mayteni* gen. nov., sp. nov., a member of the family

- Micromonosporaceae. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(10), 2527-2533.
- Rachniyom, H., Matsumoto, A., Inahashi, Y., Take, A., Takahashi, Y. and Thamchaipenet, A. 2018. *Actinomadura barringtoniae* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the roots of *Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Rahman, H., Austin, B., Mitchell, W., Morris, P., Jamieson, D., Adams, D. and Schweizer, M. 2010. Novel anti-infective compounds from marine bacteria. *Marine Drugs*, 8(3), 498-518.
- Ramaprasad, E. V. V., Mahidhara, G., Sasikala, C. and Ramana, C. V. 2018. *Rhodococcus electrophilus* sp. nov., a marine electro active actinobacterium isolated from coral reef. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Ramasamy, D., Mishra, A. K., Lagier, J. C., Padhmanabhan, R., Rossi, M., Sentausa, E. and Fournier, P. E. 2014. A polyphasic strategy incorporating genomic data for the taxonomic description of novel bacterial species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(2), 384-391.
- Ramesh, S., Rajesh, M. and Mathivanan, N. 2009. Characterization of a thermostable alkaline protease produced by marine *Streptomyces fungicidicus* MML1614. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32(6), 791-800.
- Rapp, M. 1974. Indikatorzusätze zur Keimdifferenzierung auf Wurze und Malzextrakt-Agar. *Milchwissenschaft*.
- Redenbach, M., Scheel, J. and Schmidt, U. 2000. Chromosome topology and genome size of selected actinomycetes species. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 78(3-4), 227-235.
- Rheims, H., Schumann, P., Rohde, M. and Stackebrandt, E. 1998. *Verrucosipora giffhornensis* gen. nov., sp. nov., a new member of the actinobacterial family *Micromonosporaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(4), 1119-1127.
- Richter, M. and Rosselló-Móra, R. 2009. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(45), 19126-19131.
- Riedlinger, J., Reicke, A., Zähner, H., Krismer, B., Bull, A. T., Maldonado, L. A. and Sussmuth, R. D. 2004. Abyssomicins, inhibitors of the para-aminobenzoic acid pathway produced by the marine *Verrucosipora* strain AB-18-032. *The Journal of Antibiotics*, 57(4), 271-279.
- Rogers, J. R. and Bennett, P. C. 2004. Mineral stimulation of subsurface microorganisms: release of limiting nutrients from silicates. *Chemical Geology*, 203(1-2), 91-108.
- Rong, X. and Huang, Y. 2010. Taxonomic evaluation of the *Streptomyces griseus* clade using multilocus sequence analysis and DNA–DNA hybridization, with proposal to combine 29 species and three subspecies as 11 genomic species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(3), 696-703.

- Rong, X. and Huang, Y. 2012. Taxonomic evaluation of the *Streptomyces hygrosopicus* clade using multilocus sequence analysis and DNA–DNA hybridization, validating the MLSA scheme for systematics of the whole genus. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(1), 7-18.
- Rosenberg, E., DeLong, E. F., Lory, S., Stackebrandt, E. and Thompson, F. (Eds.). 2014. *The Prokaryotes: Gammaproteobacteria*. Berlin: Springer.
- Roussel, E. G., Bonavita, M. A. C., Querellou, J., Cragg, B. A., Webster, G., Prieur, D. and Parkes, R. J. 2008. Extending the sub-sea-floor biosphere. *Science*, 320(5879), 1046-1046.
- Roy, S., Khasa, D. P. and Greer, C. W. 2007. Combining alders, frankiae, and mycorrhizae for the revegetation and remediation of contaminated ecosystems. *Botany*, 85(3), 237-251.
- Ruan, J. S., Li, W. J. and Zhang, L. X. 2010. *Verrucosispora sediminis* sp. nov., a novel cyclodipeptide-producing actinomycete from the South China Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 1807-1812.
- Sacramento, D. R., Coelho, R. R. R., Wigg, M. D., Linhares, L. F. D. T. L., dos Santos, M. G. M., Semêdo, L. T. D. A. S. and da Silva, A. J. R. 2004. Antimicrobial and antiviral activities of an actinomycete (*Streptomyces* sp.) isolated from a Brazilian tropical forest soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(3), 225-229.
- Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P. A., Javid, M. G., Dalvand, Y. and Askari, H. 2012. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1503-1509.
- Saini, J. K., Saini, R. and Tewari, L. 2015. Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. *3 Biotech*, 5(4), 337-353.
- Saitou N. and Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
- Sanford, G. B. 2006. Some factors affecting the pathogenicity of *Actinomyces scabies*. *Phytopathology* 16:525–547.
- Santelli, C. M., Edgcomb, V. P., Bach, W. and Edwards, K. J. 2009. The diversity and abundance of bacteria inhabiting seafloor lavas positively correlate with rock alteration. *Environmental Microbiology*, 11(1), 86-98.
- Santelli, C. M., Orcutt, B. N., Banning, E., Bach, W., Moyer, C. L., Sogin, M. L. and Edwards, K. J. 2008. Abundance and diversity of microbial life in ocean crust. *Nature*, 453(7195), 653.
- Sardi, P., Saracchi, M., Quaroni, S., Petrolini, B., Borgonovi, G. E. and Merli, S. 1992. Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized roots. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8), 2691-2693.

- Saricaoglu, S., Nouioui, I., Ay, H., Saygin, H., Bektas, K. I., Guven, K. and Sahin, N. 2018. *Nonomuraea insulae* sp. nov., isolated from forest soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1-9.
- Saudagar, P. S., Survase, S. A. and Singhal, R. S. 2008. Clavulanic acid: a review. *Biotechnology Advances*, 26(4), 335-351.
- Sauer, M., Ping, L. U., Sangari, R., Kennedy, S., Polishook, J., Bills, G. and Zhiqiang, A. N. 2002. Estimating polyketide metabolic potential among non-sporulating fungal endophytes of *Vaccinium macrocarpon*. *Mycological Research*, 106(4), 460-470.
- Savi, D. C., Aluizio, R., Galli-Terasawa, L., Kava, V. and Glienke, C. 2016. 16S-*gyrB-rpoB* multilocus sequence analysis for species identification in the genus *Microbispora*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 109(6), 801-815.
- Schatz, A. and Waksman, S. A. 1944. Effect of Streptomycin and Other Antibiotic Substances upon *Mycobacterium tuberculosis* and Related Organisms. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 57(2), 244-248.
- Schlager, R., Huard, R. C. and Della-Latta, P. 2008. *Nocardia cyriacigeorgica*, an emerging pathogen in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(1), 265-273.
- Schleifer, K. H. 2009. Classification of Bacteria and Archaea: past, present and future. *Systematic and Applied Microbiology*, 32(8), 533-542.
- Schleifer, K. H. and Kandler, O. 1972. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriological Reviews*, 36(4), 407.
- Schnell, N., Entian, K. D., Schneider, U., Götz, F., Zähler, H., Kellner, R. and Jung, G. 1988. Prepeptide sequence of epidermin, a ribosomally synthesized antibiotic with four sulphide-rings. *Nature*, 333(6170), 276.
- Schrempf, H. 2008. Streptomycetaceae: Life Style, Genome, Metabolism and Habitats. *Encyclopedia of Life Sciences*.
- Schwab, W., Fuchs, C. and Huang, F. C. 2013. Transformation of terpenes into fine chemicals. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(1), 3-8.
- Sebek, O. and Dolak, L. 1984. Microbial hydroxylation of novobiocin and related compounds. *The Journal of Antibiotics*, 37(2), 136-142.
- Seemann T (2014) Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 30(14):2068-9
- Seipke, R. F., Barke, J., Ruiz-Gonzalez, M. X., Orivel, J., Douglas, W. Y. and Hutchings, M. I. 2012. Fungus-growing Allomerus ants are associated with antibiotic-producing actinobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 101(2), 443-447.
- Seipke, R. F., Kaltenpoth, M. and Hutchings, M. I. 2012. *Streptomyces* as symbionts: an emerging and widespread theme?. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 862-876.
- Sembiring, L. 2000. Selective isolation and characterisation of *Streptomyces* associated with the rhizosphere of the tropical legume, *Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen (Doctoral dissertation, University of Newcastle upon Tyne).

- Sembinging, L. and Goodfellow, M. 2010. Ecological approach to unravel streptomycete diversity as an unsurpassed sources of natural bioactive products. *Microbiology Indonesia*, 2(2), 49-56.
- Sentausa, E. and Fournier, P. E. 2013. Advantages and limitations of genomics in prokaryotic taxonomy. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(9), 790-795.
- Shen, Y., Jia, F., Liu, C., Li, J., Guo, S., Zhou, S. and Xiang, W. 2016. *Nonomuraea zea* sp. nov., isolated from the rhizosphere of corn (*Zea mays* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(6), 2259-2264.
- Shi, Y., Yang, X., Garg, N. and Van Der Donk, W. A. 2010. Production of lantipeptides in *Escherichia coli*. *Journal of the American Chemical Society*, 133(8), 2338-2341.
- Shigemori, H., Komaki, H., Yazawa, K., Mikami, Y., Nemoto, A., Tanaka, Y. and Kobayashi, J. I. 1998. Brasilicardin A. A Novel Tricyclic Metabolite with Potent Immunosuppressive Activity from Actinomycete *Nocardia brasiliensis*. *The Journal of Organic Chemistry*, 63(20), 6900-6904.
- Shirling, E. T. and Gottlieb, D. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16(3), 313-340.
- Shivannavar, C. T., Katoch, V. M., Sharma, V. D., Patil, M. A., Katoch, K., Bharadwaj, V. P. and Agrawal, B. M. 1996. Determination of mycobacterial phylogeny on the basis of immunological relatedness of superoxide dismutases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(4), 1164-1169.
- Shivlata, L. and Tulasi, S. 2015. Thermophilic and alkaliphilic *Actinobacteria*: biology and potential applications. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1014.
- Silva, L. J., Souza, D. T., Genuario, D. B., Hoyos, H. A. V., Santos, S. N., Rosa, L. H. and Melo, I. S. 2018. *Rhodococcus psychrotolerans* sp. nov., isolated from rhizosphere of *Deschampsia antarctica*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(4), 629-636.
- Simpson, R. S. and Read, R. C. 2014. *Nocardiosis* and actinomycosis. *Medicine*, 42(1), 23-25.
- Sivakumar K., 2008. Actinomycetes. In Centre of Advanced Study in Marine Biology Annamalai University.
- Sneath, P. H. and Sokal, R. R. 1973. *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification*. W. H. Freeman: San Fransisco.
- Soil Survey Staff, 1992. *Procedures for collecting soil samples and methods of analysis for soil survey*. US Department of Agriculture, Soil Conservation Service.
- Soil Survey Staff, 2004. Soil survey laboratory methods manual. *Soil survey investigations report*, 42.
- Songsumanus, A., Kudo, T., Ohkuma, M., Phongsopitanun, W. and Tanasupawat, S. 2016. *Actinomadura montaniterrae* sp. nov., isolated from mountain soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(9), 3310-3316.

- Sousa, C. D. S., Soares, A. C. F. and Garrido, M. D. S. 2008. Characterization of streptomycetes with potential to promote plant growth and biocontrol. *Scientia Agricola*, 65(1), 50-55.
- Stackebrandt, E and Ebers, J. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today*, 33, 152-155.
- Stackebrandt, E. 1992. "Unifying phylogeny and phenotypic diversity," in *The Prokaryotes*, eds A. Balows, H. G. Trueper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer (New York, NY: Springer), 19–47.
- Stackebrandt, E. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today*, 33, 152-155.
- Stackebrandt, E. and Ebers, J. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today*, 33(4), 152.
- Stackebrandt, E. and Goebel, B. M. 1994. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44(4), 846-849.
- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G. M., Grimont, P. A., Kämpfer, P., Maiden, M. C. and Vauterin, L. 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3), 1043-1047.
- Stackebrandt, E., Rainey, F. A. and Ward-Rainey, N. L. 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 479-491.
- Stanier, R. Y., Adelberg, E. A. and Ingraham, J. L. 1976. *The Microbial World*. Prentice Hall. Inc. New Jersey p276.
- Stockmann, G. J., Shirokova, L. S., Pokrovsky, O. S., Bénézech, P., Bovet, N., Gislason, S. R. and Oelkers, E. H. 2012. Does the presence of heterotrophic bacterium *Pseudomonas reactans* affect basaltic glass dissolution rates?. *Chemical Geology*, 296, 1-18.
- Stranghoener, M., Schippers, A., Dultz, S. and Behrens, H. 2018. Experimental microbial alteration and Fe mobilization from basaltic rocks of the ICDP HSDP2 drill core, Hilo, Hawaii. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-17.
- Subramaniam, G., Arumugam, S. and Rajendran, V. 2016. *Plant Growth Promoting Actinobacteria*. Springer, Singapore, Singapore.
- Sudek, L. A., Wanger, G., Templeton, A. S., Staudigel, H. and Tebo, B. M. 2017. Submarine basaltic glass colonization by the heterotrophic Fe (II)-oxidizing and siderophore-producing deep-sea bacterium *Pseudomonas stutzeri* VS-10: The potential role of basalt in enhancing growth. *Frontiers in Microbiology*, 8, 363.
- Suksaard, P., Mingma, R., Srisuk, N., Matsumoto, A., Takahashi, Y. and Duangmal, K. (2016). *Nonomuraea purpurea* sp. nov., an actinomycete isolated from mangrove

- sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 4987-4992.
- Supong, K., Suriyachadkun, C., Suwanborirux, K., Pittayakhajonwut, P. and Thawai, C. 2013. *Verrucosispora andamanensis* sp. nov., isolated from a marine sponge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(11), 3970-3974.
- Taechowisan, T., Peberdy, J. F. and Lumyong, S. 2003. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(4), 381-385.
- Takahashi, Y. and Omura, S. 2003. Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *The Journal of general and Applied Microbiology*, 49(3), 141-154.
- Takahashi, Y., Kuwana, T., Iwai, Y. and Omura, S. 1984. Some characteristics of aerial and submerged spores of *Kitasatospora setalba*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 30(3), 223-229.
- Takaichi, S., Tamura, Y., Azegami, K., Yamamoto, Y. and Ishidsu, J. I. 1997. Carotenoid glucoside mycolic acid esters from the nocardioform actinomycetes, *Rhodococcus rhodochrous*. *Phytochemistry*, 45(3), 505-508.
- Tamames, J. and Rosselló-Móra, R. 2012. On the fitness of microbial taxonomy. *Trends in Microbiology*, 20(11), 514-516.
- Tamura, A., Furuta, R., Naruto, S. and Ishii, H. 1973. Actinotiocin, a new sulfur-containing peptide antibiotic from *Actinomadura pusilla*. *The Journal of Antibiotics*, 26(6), 343-350.
- Tan, G. Y. A., Ward, A. C. and 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.
- Tanaka, Y. and Omura, S. 1993. Agroactive compounds of microbial origin. *Annual Reviews in Microbiology*, 47(1), 57-87.
- Tanasupawat, S., Phongsopitanun, W., Suwanborirux, K., Ohkuma, M. and Kudo, T. 2016. *Nocardia rayongensis* sp. nov., isolated from Thai peat swamp forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(5), 1950-1955.
- Tang, B., Yu, Y., Zhi, X., Yang, L., Cen, X., Zhao, G. and Ding, X. 2016. *Streptomyces yangpuensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(3), 1224-1229.
- Tang, S. K., Zhi, X. Y., Wang, Y., Shi, R., Lou, K., Xu, L. H. and Li, W. J. 2011. *Haloactinopolyspora alba* gen. nov., sp. nov., a halophilic filamentous actinomycete isolated from a salt lake, with proposal of *Jiangellaceae* fam. nov. and *Jiangellineae* subord. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(1), 194-200.

- Tang, Y., Lian, B., Dong, H., Liu, D. and Hou, W. 2012. Endolithic bacterial communities in dolomite and limestone rocks from the Nanjiang Canyon in Guizhou karst area (China). *Geomicrobiology Journal*, 29(3), 213-225.
- Thawai, C., Rungjindamai, N., Klanbut, K. and Tanasupawat, S. 2017. *Nocardia xestospongiae* sp. nov., isolated from a marine sponge in the Andaman Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(5), 1451-1456.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673-4680.
- Thumar, J. T. and Singh, S. P. 2009. Organic solvent tolerance of an alkaline protease from salt-tolerant alkaliphilic *Streptomyces clavuligerus* strain Mit-1. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36(2), 211.
- 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 Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(11), 2081-2087.
- Tindall, B. J., Kämpfer, P., Euzéby, J. P. and Oren, A. 2006. Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: past history and current practice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(11), 2715-2720.
- Tindall, B. J., Rosselló-Mora, R., Busse, H. J., Ludwig, W. and Kämpfer, P. 2010. Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(1), 249-266.
- Tindall, B. J., Sikorski, J., Smibert, R. A. and Krieg, N. R. 2007. Phenotypic characterization and the principles of comparative systematics. In *Methods for General and Molecular Microbiology, Third Edition* (pp. 330-393). American Society of Microbiology.
- Tokala, R. K., Strap, J. L., Jung, C. M., Crawford, D. L., Salove, M. H., Deobald, L. A. and Morra, M. J. 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5), 2161-2171.
- Trejo-Estrada, S. R., Paszczynski, A. and Crawford, D. L. 1998. Antibiotics and enzymes produced by the biocontrol agent *Streptomyces violaceusniger* YCED-9. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 21(1-2), 81-90.
- Trotsenko, Y. A. and Khmelenina, V. N. 2008. Ekstremofil'nye metanotrofy (Extremophilic Methanotrophs), Gal'chenko, VF, Ed. *Pushchino: Onti Pnts Ran*.
- Trujillo, M. E. 2012. Genus III. *Actinomadura* Lechevalier and Lechevalier 1970, 400AL emend. Kroppenstedt, Stackebrandt and Goodfellow 1990, 156. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 5, 1940-1959.
- Trujillo, M. E., Bacigalupe, R., Pujic, P., Igarashi, Y., Benito, P., Riesco, R. and Normand, P. 2014. Genome features of the endophytic actinobacterium *Micromonospora lupini*

strain Lupac 08: on the process of adaptation to an endophytic life style?. *PLOS One*, 9(9), e108522.

Trujillo, M. E., Hong, K. and Genilloud, O. 2014. The Family *Micromonosporaceae*. *The Prokaryotes: Actinobacteria*, 499-569.

Trüper, H. G. and Schleifer, K. H. 2006. Prokaryote characterization and identification. In *The prokaryotes* (pp. 58-79). Springer, New York, NY.

Turan, M., Dengiz, O. and Turan, İ. D. 2018 Samsun İlinin Newhall Modeline Göre Toprak Sıcaklık ve Nem Rejimlerinin Belirlenmesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 5(2), 131-142.

URL-1: <http://www.bacterio.net/actinomadura.html> Kasım 2018

URL-2 <http://www.bacterio.net/actinopolymorpha.html> Kasım-2018

URL-3 <http://www.bacterio.net/micromonospora.html> Kasım-2018

URL-4 <http://www.bacterio.net/nocardia.html> Kasım-2018

URL-5: <http://www.bacterio.net/nonomuraea.html> Kasım-2018

URL-6: <http://www.bacterio.net/plantactinospora.html> Kasım-2018

URL-7: <http://www.bacterio.net/rhodococcus.html> Kasım-2018

URL-8: <http://www.bacterio.net/saccharopolyspora.html> Kasım-2018

URL-9: <http://www.bacterio.net/streptomyces.html> Kasım-2018

URL-10: <http://www.bacterio.net/verrucosispora.html> Kasım-2018

URL-13: <http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>

Ünsal, N. 2001. *İnşaat mühendisleri için jeoloji*. Alp Kırtasiye& Kitabevi Limited Şti.

Vaas, L. A., Sikorski, J., Hofner, B., Fiebig, A., Buddruhs, N., Klenk, H. P. and Göker, M. 2013. opm: an R package for analysing OmniLog® phenotype microarray data. *Bioinformatics*, 29(14), 1823-1824.

Vakulenko, S. B. and Mobashery, S. 2003. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 430-450.

Van Bambeke, F. 2006. Glycopeptides and glycodepsipeptides in clinical development: a comparative review of their antibacterial spectrum, pharmacokinetics and clinical efficacy. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 7(8), 740.

Verma, M., Lal, D., Kaur, J., Saxena, A., Kaur, J., Anand, S. and Lal, R. 2013. Phylogenetic analyses of phylum *Actinobacteria* based on whole genome sequences. *Research in Microbiology*, 164(7), 718-728.

- Verma, V. C., Singh, S. K. and Prakash, S. 2011. Bio-control and plant growth promotion potential of siderophore producing endophytic *Streptomyces* from *Azadirachta indica* A. Juss. *Journal of Basic Microbiology*, 51(5), 550-556.
- Veyisoglu, A., Saygin, H., Tatar, D., Bektas, K. I. and Sahin, N. 2017. *Saccharopolyspora hattusasensis* sp. nov., isolated from soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(12), 1719-1727.
- Veyisoglu, A., Carro, L., Cetin, D., Guven, K., Spröer, C., Pötter, G. and Goodfellow, M. 2016. *Micromonospora profundi* sp. nov., isolated from deep marine sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(11), 4735-4743.
- Vickers J. C., Williams S. T., Ross G. W., 1984. A taxonomic approach to selective isolation of streptomycetes from soil. In: Ortiz-Ortiz L, Bojalil LF, Yakoleff V (eds) Biological, biochemical and biomedical aspects of actinomycetes. *Academic Press*, London, 553-561.
- Vining, L. and Stuttard, C. 2014. *Genetics and biochemistry of antibiotic production* (Vol. 28).
- Wadaan, M. A., Yang, Z. W., Salam, N., Asem, M. D., Fang, B. Z., Lan, L., Xiao, M., Li, W. J., 2018. *Saccharopolyspora deserti* sp. nov., a novel halotolerant actinobacterium isolated from a desert. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68, 860-864.
- Waksman, S. A. 1950. *The actinomycetes*. Chronica Botanica Company; USA.
- Waksman, S. A. and Henrici, A. T. 1943. The nomenclature and classification of the actinomycetes. *Journal of Bacteriology*, 46(4), 337.
- Waksman, S. A. and Woodruff, H. B. 1940. Bacteriostatic and bactericidal substances produced by a soil Actinomyces. *Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine*, 45(2), 609-614.
- Waksman, S. A. and Woodruff, H. B. 1942. Selective antibiotic action of various substances of microbial origin. *Journal of Bacteriology*, 44(3), 373.
- Waldron, C., Matsushima, P., Rosteck Jr, P. R., Broughton, M. C., Turner, J., Madduri, K. and Baltz, R. H. 2001. Cloning and analysis of the spinosad biosynthetic gene cluster of *Saccharopolyspora spinosa*1. *Chemistry & Biology*, 8(5), 487-499.
- Wang, C., Wang, Z., Qiao, X., Li, Z., Li, F., Chen, M. and Cui, H. 2013. Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1. *FEMS Microbiology Letters*, 341(1), 45-51.
- Wang, J., Zhang, Q., Wang, Y., Qin, S. and Luo, X. 2018. *Streptomyces aqsuensis* sp. nov., isolated from ditch sediment in Xinjiang, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68, 2178-2182.
- Wang, Y. M., Zhang, Z. S., Xu, X. L., Ruan, J. S. and Wang, Y. 2001. *Actinopolymorpha singaporensis* gen. nov., sp. nov., a novel actinomycete from the tropical rainforest of Singapore. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(2), 467-473.

- Wang, Y. X., Zhang, Y. Q., Xu, L. H. and Li, W. J. 2008. *Actinopolymorpha rutila* sp. nov., isolated from a forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(10), 2443-2446.
- Wang, L., Zhang, L., Zhang, X., Zhang, S., Yang, L., Yuan, H. and Zhao, Y. 2018. *Rhodococcus daqingensis* sp. nov., isolated from petroleum-contaminated soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1-8.
- Wang, Y. and Jiang, Y. 2016. Chemotaxonomy of Actinobacteria. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. InTech.
- Watanabe, Y., Shinzato, N. and Fukatsu, T. 2003. Isolation of actinomycetes from termites' guts. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(8), 1797-1801.
- Wayne, L. G., Brenner, D. J., Colwell, R. R., Grimont, P. A. D., Kandler, O., Krichevsky, M. I. and Starr, M. P. 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(4), 463-464.
- Wayne, L., Brenner, D., Colwell, R., Grimont, P., Kandler, O., Krichevsky, M. and Stackebrandt, E. 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(4), 463-464.
- Weber, J. M., Wierman, C. K. and Hutchinson, C. R. 1985. Genetic analysis of erythromycin production in *Streptomyces erythreus*. *Journal of Bacteriology*, 164(1), 425-433.
- Weber, T., Blin, K., Duddela, S., Krug, D., Kim, H. U., Brucoleri, R. and Breitling, R. 2015. antiSMASH 3.0—a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W237-W243.
- Weeks, O. B. and Andrewes, A. G. 1970. Structure of the glycosidic carotenoid corynexanthin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 137(1), 284-286.
- Wellington, E.M.H., Williams, S. T. 1978. "Preservation of actinomycete inoculum in frozen glycerol". *Microbios Letters*, 6, 151-159.
- Weyland, H. 1969. *Actinomycetes* in North sea and Atlantic ocean sediments. *Nature*, 223, 858.
- White, A. F. 1983. Surface chemistry and dissolution kinetics of glassy rocks at 25 C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 47(4), 805-815.
- Whitman, W. B., Coleman, D. C. and Wiebe, W. J. 1998. Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 6578-6583.
- Wiesmayr, S., Stelzmüller, I., Tabarelli, W., Bargehr, D., Graziadei, I., Freund, M. and Margreiter, R. 2005. *Nocardiosis* following solid organ transplantation: a single-centre experience. *Transplant International*, 18(9), 1048-1053.
- Wildermuth, H. and Hopwood, D. A. 1970. Septation during sporulation in *Streptomyces coelicolor*. *Microbiology*, 60(1), 51-59.

- Willey, J. M. and Van Der Donk, W. A. 2007. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function. *Annual Review Microbiology*, 61, 477-501.
- Williams, P. G. 2009. Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics. *Trends in Biotechnology*, 27(1), 45-52.
- Williams, S. T. 1989. Genus *Streptomyces* waksman and henrici 1943. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 4, 2452-2492.
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M. H., Sneath, P. H. A. and Sackin, M. J. 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Microbiology*, 129(6), 1743-1813.
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M. H., Sneath, P. H. A. and Sackin, M. J. 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Microbiology*, 129(6), 1743-1813.
- Wilson, D. B. 1992. Biochemistry and genetics of actinomycete cellulases. *Critical Reviews in Biotechnology*, 12(1-2), 45-63.
- Wink, J., Kroppenstedt, R. M., Seibert, G. and Stackebrandt, E. 2003. *Actinomadura namibiensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(3), 721-724.
- Wink, J., Mohammadipanah, F. and Panahi, H. K. S. 2017. Practical Aspects of Working with *Actinobacteria*. In *Biology and Biotechnology of Actinobacteria* (pp. 329-376). Springer, Cham.
- Winkelmann, G. 2002. Microbial siderophore-mediated transport. *Biochemical Society Trans* 30: 691–696.
- Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*, 51(2), 221.
- Woese, C. R. and Fox, G. E. 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(11), 5088-5090.
- Wu, D., Daugherty, S. C., Van Aken, S. E., Pai, G. H., Watkins, K. L., Khouri, H. and Moran, N. A. 2006. Metabolic complementarity and genomics of the dual bacterial symbiosis of sharpshooters. *PLoS Biology*, 4(6), e188.
- Wu, L., Jacobson, A. D., Chen, H. C. and Hausner, M. 2007. Characterization of elemental release during microbe–basalt interactions at T= 28 C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(9), 2224-2239.
- Xi, J., Wei, M. and Tang, B. 2018. Differences in weathering pattern, stress resistance and community structure of culturable rock-weathering bacteria between altered rocks and soils. *RSC Advances*, 8(26), 14201-14211.
- Xi, L., Zhang, L., Ruan, J. and Huang, Y. 2012. Description of *Verrucosipora qiui* sp. nov., isolated from mangrove swamp sediment, and emended description of the genus *Verrucosipora*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(7), 1564-1569.

- Xia, Z. F., Luo, X. X., Wan, C. X. and Zhang, L. L. 2017. *Saccharopolyspora aidingensis* sp. nov., an actinomycete isolated from a salt lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(3), 687-691.
- Xiao, K., Kinkel, L. L. and Samac, D. A. 2002. Biological control of Phytophthora root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biological Control*, 23(3), 285-295.
- Xin, Y., Huang, J., Deng, M. and Zhang, W. 2008. Culture-independent nested PCR method reveals high diversity of actinobacteria associated with the marine sponges *Hymeniacion perleve* and *Sponge* sp. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 94(4), 533-542.
- Xu, Y., He, H., Schulz, S., Liu, X., Fusetani, N., Xiong, H. and Qian, P. Y. 2010. Potent antifouling compounds produced by marine *Streptomyces*. *Bioresource Technology*, 101(4), 1331-1336.
- Yamada, Y., Kuzuyama, T., Komatsu, M., Shin-ya, K., Omura, S., Cane, D. E. and Ikeda, H. 2015. Terpene synthases are widely distributed in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(3), 857-862.
- Yamamura, H., Hayakawa, M. and Imura, Y. 2003. Application of sucrose-gradient centrifugation for selective isolation of *Nocardia* spp. from soil. *Journal of Applied Microbiology*, 95(4), 677-685.
- Yarza, P., Richter, M., Peplies, J., Euzéby, J., Amann, R., Schleifer, K. H. and Rosselló-Móra, R. 2008. The All-Species Living Tree project: a 16S rRNA-based phylogenetic tree of all sequenced type strains. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(4), 241-250.
- Yorke, R. F. and Rouah, E. 2003. Nocardiosis with brain abscess due to an unusual species, *Nocardia transvalensis*. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 127(2), 224-226.
- Yuan, L. J., Zhang, Y. Q., Yu, L. Y., Sun, C. H., Wei, Y. Z., Liu, H. Y. and Zhang, Y. Q. 2010. *Actinopolymorpha cephalotaxi* sp. nov., a novel actinomycete isolated from rhizosphere soil of the plant *Cephalotaxus fortunei*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(1), 51-54.
- Zakalyukina, Y. V., Zenova, G. M. and Zvyagintsev, D. G. 2002. Acidophilic soil actinomycetes. *Microbiology*, 71(3), 342-345.
- Zeigler, D. R. 2005. Application of a recN sequence similarity analysis to the identification of species within the bacterial genus *Geobacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(3), 1171-1179.
- Zhang, Q., Yu, Y., Velásquez, J. E. and Van Der Donk, W. A. 2012. Evolution of lanthipeptide synthetases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(45), 18361-18366.
- Zhang, Z., Wang, Y. and Ruan, J. 1998. Reclassification of *Thermomonospora* and *Microtetraspora*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(2), 411-422.
- Zhao, G. Z., Li, J., Zhu, W. Y., Klenk, H. P., Xu, L. H. and Li, W. J. 2011. *Nocardia artemisiae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from a surface-sterilized stem of

Artemisia annua L. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(12), 2933-2937.

Zhao, S., Liu, C., Zheng, W., Ma, Z., Cao, T., Zhao, J. and Wang, X. 2017. *Micromonospora parathelypteridis* sp. nov., an endophytic actinomycete with antifungal activity isolated from the root of *Parathelypteris beddomei* (Bak.) Ching. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(2), 268-274.

Zhi, X. Y., Li, W. J. and Stackebrandt, E. 2009. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class *Actinobacteria*, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(3), 589-608.

Zhou, S., Yang, X., Huang, D. and Huang, X. 2017. *Streptomyces solisilvae* sp. nov., isolated from tropical forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(9), 3553-3558.



EKLER: Besi ortamları ve Çözeltiler

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

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

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

**Vitamin Stok Çözeltisi

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

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

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

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

Czapek – Dox Agar (Weyland, 1969)

Sükroz	30 g
NaNO ₃	3 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar	13 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2
Antibiyotikler	
Nistatin	50 µg/ml
Rifampisin	5 µg/ml

Rafinoz – Histidin Agar (Vicker vd, 1984)

Rafinoz	10 g
L-histidin	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2
Antibiyotikler	
Nistatin	50 µg/ml
Rifampisin	5 µg/ml

SM1 Agar (Tan vd, 2006)

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

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

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

SM2 Agar (Tan vd, 2006)

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

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

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

SM3 Agar (Tan vd, 2006)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Modifiye Bennett's Agar (Jones, 1949)

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

Yulaf Agar (ISP3; Shirling ve Gottlieb, 1966)

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

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

İz element tuz çözeltisi

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

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

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

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

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

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

Tirozin Agar (ISP7; Shirling ve Gottlieb, 1966)

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

Eskulin / Arbutin degradasyonu (Kutzner 1976)

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

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

Allantoin degradasyonu (Gordon vd, 1974)

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

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

Azot Kaynağı Kullanım Ortamı (Williams ve diğ. 1983)

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

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

Nitrat Redüksiyon Ortamı (Gordon ve Mihm, 1962)

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

Otoklavda (121°C 20 dakika) steril edildi.

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

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

Üre Degradasyonu

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

Üre filtre ile (0.45 µm) steril edildikten sonra son konsantrasyonu %2 olacak şekilde bazal ortama eklendi.

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

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

***Pridham & Gottlieb iz element çözeltisi**

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

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

Asidik Civa Klorür (Jelatin degradasyonu için)

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

EDTA Tampon Çözeltisi (0.5 M, pH 8.0)

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

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

Lugol Çözeltisi (nişasta degradasyonu için)

İyodin	5 g
Potasyum iyodit	10 g
Distile su	100 ml

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

Nitrat Redüksiyon Ayıraçları

Ayıraç A:	
Sülfanilik asit	0.8 g
Asetik asit (5N)	100 ml
Ayıraç B:	
α-Naftilamin	0.8 g
Asetik asit (5N)	100 ml

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

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

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

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

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

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



ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : Salih SARICAOĞLU
- Doğum Yeri ve Tarihi** : Of /1987
- E-Posta** : salihzarica61@gmail.com
- Lisans** : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğt. Fak. Biy. Öğr. / 2010
- Yüksek Lisans** : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü / 2014
- Çalıştığı Kurum** : Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi- Öğr. Gör. (2015-Devam)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- 1- **Saricaoglu S.**, Isik K., Topkara A. R., Ay H., Gencbay T., Dengiz O., 2017. Molecular Identification of *Nonomuræa* sp. 12C250 Isolated from Bedrock Material, Samsun. International Dna Day And Genome Congress, 24-28 Nisan, 2017, Kırşehir
- 2- **Saricaoglu S.**, Saygin H., Topkara A. R., Gencbay T., Sahin N., Dengiz O., Isik K., 2018. Isolation and Molecular Typing of *Nonomuræa* Strains from Basaltic Parent Material. 2. Uluslararası UNIDOKAP Karadeniz Sempozyumu, 28-30 Kasım, 2018, Samsun
- 3- **Saricaoglu S.**, Topkara A. R., Gencbay T., Saygin H., Sahin N., Dengiz O., Isik K., 2018. Polyphasic Taxonomy of A Novel *Actinomadura* sp. 14C53, Isolated from Basaltic Parent Material. 2. Uluslararası UNIDOKAP Karadeniz Sempozyumu, 28-30 Kasım, 2018, Samsun

TEZ DIŞI TÜRETİLEN YAYINLAR

- 1- **Saricaoglu S.**, Isik K., Veyisoglu A., Saygin H., Cetin D., Guven K., Spröer C., Klenk H. P. and Sahin N. 2014. *Streptomyces burgazadensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64: 4043-4048. (Yüksek Lisans Tezinden)
- 2- Ozdemir-Kocak F., Saygin H., **Saricaoglu S.**, Cetin D., Pötter G., Spröer C., Guven K., Isik K., Klenk H.P., Sahin N. 2016. *Nocardia zapadnayensis* sp. nov., isolated from soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, Vol. 109, Issue 1, pp 95-103.
- 3- Ozdemir K. F., Saygin H., **Saricaoglu S.**, Cetin D., Guven K., Spröer C., Schumann P., Klenk H. P., Sahin N., Isik K. 2017. *Kribbella soli* sp. nov., isolated from soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(5), 641-649.
- 4- Ozdemir-Kocak, F., Isik, K., **Saricaoglu, S.**, Saygin, H., Inan-Bektas, K., Cetin, D., Guven, K. and Sahin, N. 2017. *Kribbella sindirgiensis* sp. nov. isolated from soil. *Archives of Microbiology*, 199(10), 1399-1407.
- 5- IŞık, K., Gençbay, T., Topkara, A. R., **Saricaoglu, S.**, Saygin, H., Ay, H., Cetin, D., Guven, K. and Şahin, N. 2018. *Amycolatopsis cappadoca* sp. nov., isolated from soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1-8.

- 6- **Saricaoglu, S.**, Nouioui, I., Ay, H., Saygin, H., Bektas, K. I., Guven, K., Cetin, D., Klenk H. P., Isik, K. and Sahin, N. 2018. *Nonomuraea insulae* sp. nov., isolated from forest soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1-9. (Yüksek Lisans Tezinden)

