

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

**GÖKÇEADA TOPRAK İZOLATI AKTİNOBAKTERİLERİN 16S rRNA GEN  
BÖLGESİNE GÖRE MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMELERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ahmet Rıdvan TOPKARA**

**Biyoloji Anabilim Dalı  
Moleküler Biyoloji**

**ARALIK 2015  
SAMSUN**





T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GÖKÇEADA TOPRAK İZOLATI AKTİNOBAKTERİLERİN 16S rRNA GEN  
BÖLGESİNE GÖRE MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMELERİ**

**YÜKSEKLİSANS TEZİ**

**Ahmet Rıdvan TOPKARA  
(12210807)**

**Tezin Savuma Tarihi : 30 Aralık 2015**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Kamil IŞIK**



Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

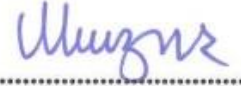
Biyoloji Anabilim Dalında

Ahmet Rıdvan TOPKARA Tarafından Hazırlanan

**GÖKÇEADA TOPRAK İZOLATI AKTİNOBAKTERİLERİN  
16S rRNA GEN BÖLGESİNE GÖRE MOLEKÜLER  
TİPLENDİRİLMELERİ**

başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 30 / 12 / 2015 tarihinde yapılan sınav ile  
YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

**Başkan** : **Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN**  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



**Jüri Üyeleri** : **Prof. Dr. Kamil IŞIK**  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



**Doç. Dr. Ergin KARİPTAŞ**  
Ahi Evran Üniversitesi



.... / .... / 2016

**Prof. Dr. Hüseyin DEMİR**

Enstitü Müdürü





*Merhum Mete SARIKOCA'nın aziz hatrasına,*





## ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmalarımın her aşamasında beni yönlendirip fikir ve tecrübelerini aktaran, sabır ve özveri ile bana doğru yolu gösteren, akademik duruş ve terbiyeyi aşıl原因an, maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim, üzerimde büyük emeği olan danışmanım, çok kıymetli hocam Prof. Dr. Kamil İŞİK'a en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Fikir ve tecrübelerinden her daim faydalandığım kıymetli hocam Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN hocama çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan ve çalışkanlığıyla örnek aldığım çok değerli hocam Arş. Gör. Hilal AY'a en samimi duygularıyla minnettarlığımı ifade etmek isterim. Çalışmalarım boyunca samimi desteklerini esirgemeyen kıymetli hocalarımın yine bu süreçte; maddi manevi desteklerini esirgemeyen, laboratuvar çalışmalarımın bana yardımcı olan sevgili arkadaşlarım, Talha GENÇBAY'a ve Salih SARICAOĞLU'na; her durum ve şartta yardımlarını esirgemeyen kuzenlerime ve tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisans çalışmalarımın danışman hocamla birlikte yürüttükleri projeden (PYO.ZRT.1905.14.006) sağladıkları desteklerinden dolayı Sn. Prof. Dr. Orhan DENGİZ hocama da en içten teşekkürlerimi sunarım.

Üzerimdeki emek ve haklarını buraya yazacağım kelimeler ile asla ödeyemeyeceğim kıymetli annem, babam ve kardeşime her türlü desteklerinden dolayı minnettarlığımı sunarım.

Aralık 2015

Ahmet Rıdvan TOPKARA



## 1. İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR .....	xv
GÖKÇEADA TOPRAK İZOLATI AKTİNOBAKTERİLERİN 16S rRNA GEN BÖLGESİNE GÖRE MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMELERİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
MOLECULAR IDENTIFICATION OF ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM GÖKÇEADA SOIL SAMPLES BY 16S rRNA GENE REGION .....	xvii
ABSTRACT .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	11
2.1 Genel Bilgiler.....	11
2.1.1. <i>Actinomadura</i> Cinsinin Sistematığı, Tarihçesi ve Genel Özellikleri .....	11
2.1.2. <i>Amycolatopsis</i> Cinsinin Sistematığı, Tarihçesi ve Genel Özellikleri.....	15
2.1.2.1. <i>Amycolatopsis</i> Cinsinin Biyoteknolojik Önemi .....	16
2.1.3. <i>Nocardia</i> Cinsinin Sistematığı, Tarihçesi ve Genel Özellikleri.....	18
2.1.4. <i>Nonomuraea</i> Cinsinin Sistematığı, Tarihçesi ve Genel Özellikleri .....	23
2.1.5. <i>Streptomyces</i> Cinsinin Sistematığı, Tarihçesi ve Genel Özellikleri.....	25
2.1.6. <i>Microbispora</i> Cinsinin Sistematığı, Tarihçesi ve Genel Özellikleri .....	30
2.2. Prokaryotik Sistematik .....	31
2.2.1. Moleküler Sistematik .....	34
2.2.1.1. Mikrobiyal çeşitlilik.....	35
2.2.1.2. Doğal ürünler .....	36
2.2.1.3. Filogenetik ilişkileri belirlemede kullanılan parametreler .....	36
2.2.1.4. 16S rRNA gen bölgesi .....	37
3. MATERYAL-METOT .....	41
3.1 Toprak Örneklerinin Seçimi ve Kaynakları.....	41
3.2. Toprakların pH'sı .....	41
3.3. Mikroorganizmaların İzolasyonu .....	42
3.3.1 Dilüsyon Plaka Yöntemi.....	42
3.3.2 İzolatların Seçimi ve Saflaştırılması.....	43
3.3.3 İzolatların Stoklanması .....	43
3.4 DNA İzolasyonu .....	44
3.4.1 Genomik DNA İzolasyonu.....	44
3.4.2 DNA İzolasyon Kontrolü .....	46
3.4.3 16S rDNA'nın PZR Çoğaltması .....	46

3.4.4.16S rRNA Sekans Verilerinin Eldesi, Analizi ve Filogenetik Dendrogramların Oluşturulması .....	47
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>49</b>
4.1 Mikroorganizmaların Farklı Lokalitelerden İzolasyonu.....	49
4.2 DNA İzolasyonu ve Agaroz Jel Elektroforez Yöntemiyle DNA'ların Görüntülenmesi .....	56
4.3 16S rRNA'nın PZR Amplifikasyonu .....	56
4.4 16S rRNA Sekans Verilerinin Eldesi, Analizi ve Filogenetik Soyağaçlarının Oluşturulması .....	57
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>75</b>
5.1 Gökçeada'nın Genel Özellikleri .....	76
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>83</b>
6.1 Sonuçlar .....	83
6.2 Öneriler.....	86
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>87</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>121</b>
EK A. Kültür Ortamlarının Bileşimi ve Hazırlanışı .....	122
EK-B. Çözeltilerin Bileşimi ve Hazırlanışı .....	129
EK-C. Farklı Besiyerleri ile Yapılan Toprak İzolasyonundan Petri Görüntüleri ...	135
EK-D. Cinslerle İlgili Yüzde Yensterlik ve Nükleotit Farklılığı Tabloları.....	138
EK-E. İzolatların Renk Grupları Tablosu.....	147
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>148</b>

## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa

<b>Çizelge 1.1.</b> Karasal aktinomisetlerden elde edilen aktif bileşikler.....	6
<b>Çizelge 2.1.</b> Bakterilerin sınıflandırılmasında kullanılan tekniklerin taksonomik seviyelerdeki kullanımı.....	39
<b>Çizelge 3.1.</b> <i>Actinobacteria</i> sınıfı mikroorganizmaların izolasyon çalışmasının yapıldığı toprak örneklerinin laboratuvar kodu, toprak tipi ve lokaliteleri .....	41
<b>Çizelge 3.2.</b> Ege Bölgesi'ndeki Gökçeada'dan alınan toprak örneklerinin ortalama pH değerleri.....	42
<b>Çizelge 3.3.</b> 16S rRNA gen bölgesinin PZR koşullarında çoğaltılmasında kullanılan reaktiflerin yoğunluk ve miktarları .....	47
<b>Çizelge 3.4.</b> 16S rRNA gen bölgesi amplifikasyonu için optimize edilmiş PZR sıcaklık döngü düzeni. ....	47
<b>Çizelge 3.5.</b> 16S rRNA gen bölgesi amplifikasyon ve sekans primerleri.....	48
<b>Çizelge 4.1.</b> Toprak örneklerinden seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri .....	51
<b>Çizelge 4.2.</b> Toprak izolasyonu ile Gökçeada'dan elde edilen aktinomiset izolatları.....	52
<b>Çizelge 4.3.</b> 16S rRNA dizi analizleri yapılan <i>Actinomyces</i> izolatları .....	55
<b>Çizelge 4.4.</b> <i>Actinomadura</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	63
<b>Çizelge 4.5.</b> <i>Microbispora</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	65
<b>Çizelge 4.6.</b> <i>Nocardia</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	67
<b>Çizelge 4.7.</b> <i>Nonomuraea</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	69
<b>Çizelge 4.8.</b> <i>Saccharopolyspora</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	71
<b>Çizelge 4.9.</b> <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	73
<b>Çizelge 4.10.</b> <i>Amycolatopsis</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri.....	74



## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 1.1.</b> List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature'da <i>Actinobacteria</i> Filumu için güncel taksonomik tablo ( <a href="http://www.bacterio.cict.fr/classifphyla.html#Actinobacteria">http://www.bacterio.cict.fr/classifphyla.html#Actinobacteria</a> ) (A) ve <i>Bergey's Manual of Systematic Bacteriology</i> 'de mevcut önerilen taksonomi (B) (Gao ve Gupta, 2012)	3
<b>Şekil 1.2.</b> Ezbiocloud veri tabanında Bacteria domaini ait genom çalışmaları yapılmış organizma gruplarına ait sayı ve yüzdeleri gösteren grafik ( <a href="http://ezgenome.ezbiocloud.net/">http://ezgenome.ezbiocloud.net/</a> Ekim-2014)	5
<b>Şekil 2.1.</b> <i>Nocardia</i> cinsinin diğer cinslerle filogenetik ilişkisini gösteren akış diyagramı	18
<b>Şekil 2.2.</b> Bakteriyal bir suşun karakterizasyonu ve sınıflandırılması arasındaki ilişkiyi gösteren akış diyagramı	33
<b>Şekil 2.3.</b> 16S rDNA gen dizilimi karşılaştırmasına dayanan evrensel filogenetik ağaç	37
<b>Şekil 3.1.</b> SM3 seçici izolasyon besiyerlerinde gelişen kolonilerin seçilimi ve yoğun ekimleri	43
<b>Şekil 4.1.</b> Bakteri izolasyonunda kullanılan toprak örnekleri	50
<b>Şekil 4.2.</b> SM2 ve HV seçici izolasyon besiyerlerinin petri görüntüsü	51
<b>Şekil 4.3.</b> Farklı lokalitelerden izole edilmiş aktinomisetlerin 16S rRNA gen bölgesinin PZR metodu ile amplifikasyonu. M, DNA Markör (Fermentas™; 100kb Gene Ruler)	56
<b>Şekil 4.4.</b> MacroGen firmasına okutulan baz dizilerinin Finch TV programındaki görüntüsü.	57
<b>Şekil 4.5.</b> 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre test izolatlarının cinslere göre dağılımı	58
<b>Şekil 4.6.</b> <i>Actinomadura</i> cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining filogenetik soyağacı	62
<b>Şekil 4.7.</b> <i>Microbispora</i> cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining filogenetik soyağacı	64
<b>Şekil 4.8.</b> <i>Nocardia</i> cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining filogenetik soyağacı	66
<b>Şekil 4.9.</b> <i>Nonomuraea</i> cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining filogenetik soyağacı	68
<b>Şekil 4.10.</b> <i>Saccharopolyspora</i> cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining filogenetik soyağacı	70
<b>Şekil 4.11.</b> <i>Streptomyces</i> cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining filogenetik soyağacı	72
<b>Şekil 4.12.</b> <i>Amycolatopsis</i> cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining filogenetik soyağacı	74

<b>Şekil 5.1.</b> Gökçeada'nın genel görüntüsü.	77
<b>Şekil 5.2.</b> Kullanılan seçici izolasyon besiyerlerinden kaç izolatın elde edildiğini gösteren dairesel grafik.	80
<b>Şekil C.1.</b> Farklı toprak örneklerinin dilüsyon plak görüntüleri.	135
<b>Şekil C.2.</b> Bazı izolatların saflaştırma ekimleri.	136
<b>Şekil C.3.</b> Bazı izolatların yoğun ekim görüntüleri.	137





## KISALTMALAR

<b>SC</b>	: Nisasta Kazein Agar
<b>HV</b>	: Humik Asit Vitamin Agar
<b>Mg</b>	: Mikrogram
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>µM</b>	: Mikromolar
<b>ATCC</b>	: Amerika Tip Tür Kültür Koleksiyonu
<b>bç</b>	: Baz Çifti
<b>C</b>	: Santigrat
<b>DAP</b>	: Diaminopimelik Asit
<b>DDH</b>	: DNA:DNA Hibridizasyonu
<b>dk</b>	: Dakika
<b>dNTP</b>	: Deoksiribonükleotit trifosfat
<b>DSMZ</b>	: Almanya Mikroorganizma Kültür Koleksiyonu
<b>g</b>	: Gram
<b>IJSEM</b>	: International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology
<b>KCTC</b>	: Güney Kore Tip Tür Kültür Koleksiyonu
<b>M</b>	: Molarite
<b>mA</b>	: Miliamper
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>NCBI</b>	: Uluslararası Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
<b>NRRL</b>	: Amerika ARS (Agricultural Research Service)Kültür Koleksiyonu
<b>Nt</b>	: Nükleotit
<b>PZR</b>	: Polimerize Zincir Reaksiyonu
<b>rRNA</b>	: Ribozomal Ribonükleik Asit
<b>TBE</b>	: Tris-Borik Asit-EDTA
<b>TE</b>	: Tris-EDTA
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>ISP5</b>	: Glycerol asparagine Agar
<b>CD</b>	: Czapek Dox Agar
<b>%</b>	: Yüzde
<b>nt</b>	: Nükleotit
<b>sp.</b>	: Tür (Tek)



## GÖKÇEADA TOPRAK İZOLATI AKTİNOBAKTERİLERİN 16S rRNA GEN BÖLGESİNE GÖRE MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMELERİ

### ÖZET

Bu çalışmada, Ege Bölgesi'nde bulunan Gökçeada'nın 6 farklı lokalitesinden alınan toprak örneklerinden aktinomiset izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolatların 16S rRNA gen bölgesine ait nükleotit dizileri elde edilmiş ve filogenetik analizlerle moleküler tiplendirilmeleri yapılmıştır.

Toprak örneklerine dilüsyon plaka yöntemi uygulanarak sekiz farklı besiyeri ortamı kullanılmış ve test suşlarının izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen 150 organizma içerisinde 40 organizmanın 16S rRNA gen bölgesinin PZR çalışmaları tamamlanmıştır. 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizi analizi sonuçlarına göre, izolatların *Actinomadura*, *Amycolatopsis*, *Microbispora*, *Nocardia*, *Nonomuraea*, *Saccharopolyspora* ve *Streptomyces* olmak üzere 7 farklı aktinomiset cinsinin üyesi oldukları belirlenmiştir. MEGA 6 paket programı kullanılarak bu izolatlar içerisinde 40 tanesinin en yakın tip türleri ile filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. PHYDIT 3.1 programı kullanılarak izolatların en yakın tip türleri ile yüzde benzerlik ve nükleotit farklılık tabloları oluşturulmuştur.

MEGA 6 programı kullanılarak oluşturulan dendogramlar ve PHYDIT 3.1 programı ile oluşturulan tabloların verileri birlikte yorumlanarak yeni tür olma ihtimali yüksek olan izolatlar belirlenmiştir.

16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerine göre; AI238, AI239, AS21, AYDS4 (*Actinomadura* sp.), ZIZ37, AYDS25 (*Nonomuraea* sp.), AZ5, EZ3 (*Microbispora* sp.) ve ZEYZ1 (*Streptomyces* sp.) izolatlarının olası yeni türler olarak ülkemiz adasından literatüre girecekleri tahmin edilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Actinomycetes*; 16S rRNA; Moleküler Karakterizasyon.



## MOLECULAR IDENTIFICATION OF ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM GÖKÇEADA SOIL SAMPLES BY 16S rRNA GENE REGION

### ABSTRACT

In this study, actinomycetes isolation from soil samples taken from six different localities of Gökçeada in Ege Region was carried out. 16S rRNA gene sequence data of isolates was obtained and molecular typing by phylogenetic analyses was performed.

Isolation of test strains was performed by applying dilution plate to soil samples using eight different media. Out of 150 isolates, PCR amplification of 16S rRNA gene region of 40 isolates was completed. With respect to 16S rRNA gene sequence analyses, the isolates were determined to belong to the genera of *Actinomadura*, *Amycolatopsis*, *Microbispora*, *Nocardia*, *Nonomuraea*, *Saccharopolyspora* and *Streptomyces*. Phylogenetic analyses of 40 isolates with the closest type species were performed by using MEGA 6 pocket programme. Similarity indices and nucleotide differences tables of isolates compared to the closest type species were constructed by using PHYDIT 3.1 programme.

The isolates probably new for the literature were determined by interpreting data obtained from dendrograms constructed by MEGA 6 and tables composed by PHYDIT.

According to the phylogenetic analyses of 16S rRNA gene region, the isolates of AI238, AS21, AI239, AYDS4 (*Actinomadura* sp.), ZIZ37, AYDS25 (*Nonomuraea* sp.), ZEYZ1 (*Streptomyces* sp.) and AZ5, EZ3 (*Microbispora* sp.) from our country's island are estimated to have potential to be novel for the literature.

**Key Words:** *Actinomycetes*, 16S rRNA, Molecular Identification.



## 1. GİRİŞ

Actinomycete ismi *Actinomycetales* ordosunun filamentli üyelerini ifade etmek için yaygın olarak kullanılmaktaydı, ancak bu kullanım son yıllarda yaygınlığını kaybetmeye başlamış ve actinomycete yerine *Actinobacteria* ismi daha fazla kullanılmaya başlanmıştır (Ward ve Bora, 2006). Actinomycete kelimesi Yunanca'dan türetilmiştir, "ışın-fungus"ları anlamındadır ve funguslarla bu bakterilerin tarihsel karışıklığı, morfolojilerindeki yakın benzerlikten kaynaklanmıştır (Lechevalier ve Lechevalier, 1981).

Aktinomisetler monopodial nadiren de dikotomik dallı, ışınsal yapıda koloniler oluşturan yaklaşık 1 µ çapında bakterilerdir. Kültüre edildikleri ortam üzerinde substrat ve havasal misel oluşturlar. Yaygın olarak sadece substrat miseli oluşumu gözlenirken sadece havasal misel oluşturan aktinomisetlere de rastlanmaktadır. Substrat miselleri batık koloni oluşumuna, havasal miseller de kireçsi kolonilerin oluşumuna neden olur. Çoğu aktinomiset spor oluşturur, sporulasyon genellikle parçalanma ya da segmentasyon oluşumu şeklindedir. Sporlar genelde kullanılan ortam üzerinde pudramsı şekilde gözlenirler. Koloni morfolojileri değişkendir. Pembeden yeşile, beyazdan siyaha farklı renklerde kolonilere rastlamak mümkündür. Kullanılan ortama ve inkübasyon süresine göre de koloni renkleri değişmektedir (Waksman, 1989).

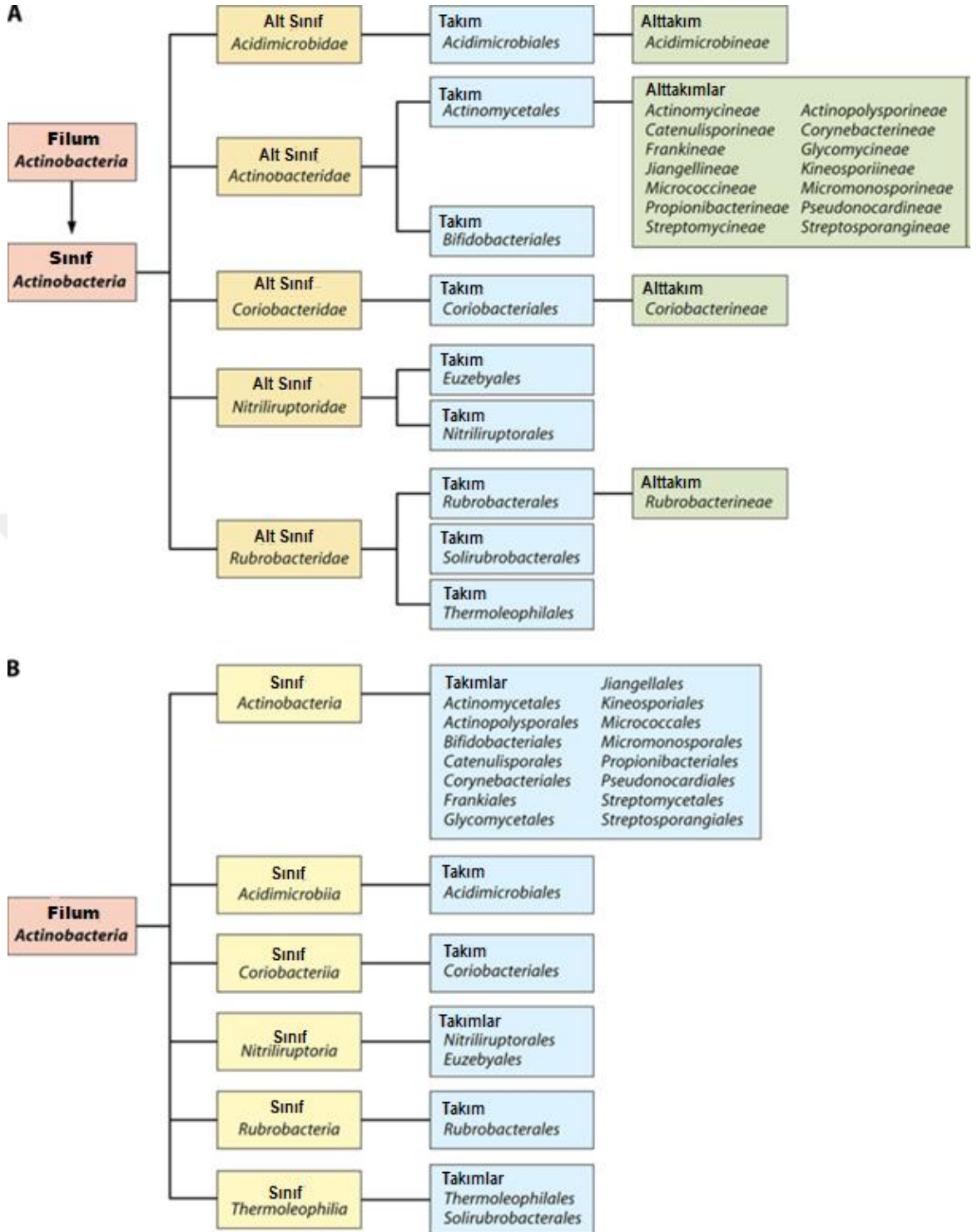
Aktinomisetler yavaş büyüme eğiliminde olan ipliksi bakterilerdir. İnkübasyon süreleri 4-5 gündür. Aktinomiset kolonileri katıdır, sıvı kültürde büyümeleri diğer bakteri gruplarından farklıdır. Besiyerinde bulanıklık oluşturmayıp dipte veya yüzeyde kümeler halinde büyürler (Waksman, 1989).

Kültüre edilen aktinomisetlerin çoğu mezofildir. 10 °C ve 37 °C sıcaklık aralığında büyürler. Fakat optimal büyümesi 27 °C'den yüksek organizmalara rastlansa da bunların çoğunluğu termotoleranttır (Williams ve diğ., 1983). Fakat ekstrem koşullardan da izolasyonlar yapılmıştır. Çoğunluğu aerobik olduğundan oksijen ihtiyaçları fazladır. Tercihen pH 5.0-9.0 koşullarında büyürler (Waksman, 1989).

Aktinomisetler özellikle de streptomisetler çoğu ortamda büyüebilmelerine rağmen spor oluşumları için karbon ve azot içeriği yüksek özel ortamlara ihtiyaç duyarlar (Kutzner, 1991). Glukoz-maya özütü-malt özütü, yulaf unu, nişasta ve gliserol-asparajin agar sporulasyon için uygun ortamlardır (Shirling and Gottlieb, 1966).

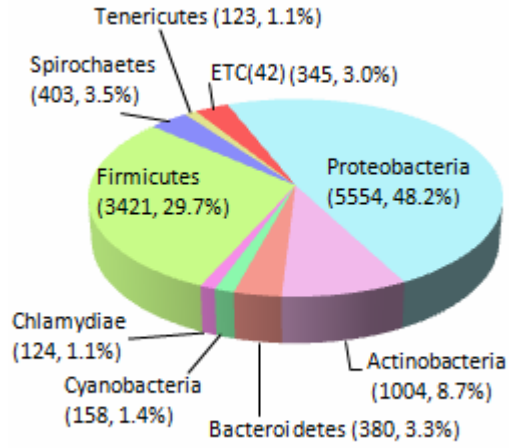
*Actinobacteria* sınıfsal sistemi 2009 yılında Zhi ve diğerleri tarafından kemotaksonomik, moleküler ve nümerik taksonomik metodların uygulanmasıyla yeniden gözden geçirilmiştir. Güncel hiyerarşik sınıflandırmaya göre *Actinobacteria* sınıfı beş alt sınıf, dokuz takım, elli beş familya, iki yüz kırk cins ve üç binden fazla türden oluşan *Bacteria* üstaleminde bulunan en büyük ve en önemli alemlerden biridir. Aktinobakter terimi *Actinobacteria* aleminin tamamını tanımlarken, aktinomiset terimi *Actinomycetales* ordusuna ait suşları tanımlamakta kullanılmaktadır (Goodfellow ve diğ., 2010). J. P. Euzéby tarafından sürdürülen taksonomi çalışmalarının güncel versiyonunda (<http://www.bacterio.cict.fr>) *Actinobacteria* filumu en üst seviyede *Actinobacteridae*, *Acidimicrobidae*, *Coriobacteridae*, *Nitriliruptoridae* ve *Rubrobacteridae* olarak adlandırılan beş alt sınıfa ayrılır. Bu alt sınıflar çok sayıda takım ve alt takımlara ayrılmaktadır. Son zamanlarda 16S rRNA ağaçlarına dayalı olarak *Actinobacteria* filumunun diğer güncel taksonomisi *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*'de *Actinobacteria* filumu en üst seviyede *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria* ve *Thermoleophilia* adında altı alt sınıfa ayrılmaktadır. *Actinobacteria* sınıfı toplamda 15 takım içermektedir (Zhi ve diğ., 2009) (Şekil 1.1).





**Şekil 1.1.** List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature'da *Actinobacteria* Filumu için güncel taksonomik tablo ([http://www.bacterio .cict.fr/classifphyla.html#Actinobacteria](http://www.bacterio.cict.fr/classifphyla.html#Actinobacteria)) (A) ve *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*'de mevcut önerilen taksonomi (B) (Gao ve Gupta, 2012).

*Actinobacteria* grubu temsil eden en kapsamlı çalışmalarda en büyük antibiyotik üreticisi olan *Streptomyces spp.* (Bentley ve diğ., 2002; Chater, 2006; Hopwood, 2006; Hopwood, 2007; Ventura ve diğ., 2007) ve bakteriyel enfeksiyonlar ile çok sayıda insan ölümüne sebep olan önemli insan patojeni *Mycobacterium* cinsinin (*M. tuberculosis* ve *M. leprae*) toprakta bulunduğu tespit edilmiştir (Bentley ve diğ., 2004). Bunlara ilaveten; yaygın olarak toprakta bulunan aktinomiset üyelerinin aynı zamanda suda, derin denizlerde ya da kutup buzu, kimyasal olarak kontamine olmuş yerler ve radyoaktif çevreler gibi ekstrem ortamlarda veya hayvanlar, insanlar ve bitkilerle faydalı ya da patojen olarak bulunabildikleri belirlenmiştir (Barabote ve diğ., 2009; Bull ve diğ., 2005; Smith ve diğ., 2006; Ventura ve diğ., 2007). Son yıllarda; genom dizileme teknolojilerindeki hızlı ilerlemeden dolayı *Actinobacteria*'nın biyolojisi ve çeşitliliği üzerindeki çalışmalar hızlı bir şekilde artmıştır. Bu çalışmaların ana odağında; üretken ve faydalı yeni doğal ürünlerin keşfi için potansiyele sahip olan bakteriler (*Streptomyces*, *Salinispora*, *Saccharopolyspora*, *Cellulomonas*, *Verrucosispora*, *Pseudonocardia* ve *Micromonospora*) (Baltz, 2008; Behal, 2000; Berdy, 2005; Bull ve Stach, 2007; Olano ve diğ., 2009) ya da ciddi insan ve hayvan hastalıkları ile zirai kayıplara sebebiyet veren bakteriler (*Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Renibacterium*, *Atopobium*, *Gordonia*, *Gardnerella*, *Leifsonia* ve *Clavibacter*) vardır (Bull ve Stach, 2007; Demangel ve diğ., 2009). Bunlara ilaveten diğer endüstriyel öneme sahip türlerin (*Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Acidothermus*, *Thermobifida* ve *Nocardioides*) ve çevresel olarak faydalı türlerin (*Arthrobacter*, *Kocuria*, *Frankia*, *Kineococcus*, *Pseudonocardia* ve *Rubrobacter*) keşfi yeni biyokaynaklar ve teknolojilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır (Bagwell ve diğ., 2008, Barabote ve diğ. 2009; Little ve Currie, 2007) (Şekil 1.2).



**Şekil 1.2.** Ezbiocloud veri tabanında Bacteria domaini ait genom çalışmaları yapılmış organizma gruplarına ait sayı ve yüzdeleri gösteren grafik (<http://ezgenome.ezbiocloud.net/> Kasım-2014).

Farmakolojik aktif metabolitlerin ve özellikle yeni antibiyotiklerin şüphesiz en önemli üreticileri aktinomisetlerdir (Kumar, 2007). Patojenlerin ilaçlara karşı hızla direnç kazanması, kullanılan bileşiklerin toksik etkisi ve yetersiz oluşu nedeniyle yeni antibiyotiklerin keşfine ihtiyaç duyulmaktadır (Demain, 1998; Wright, 2007). Bundan dolayı farmakolojik araştırmalar ve keşif programlarında uygun biyolojik materyali seçebilmek için actinomycetes taksonomisi ve onların biyoaktif bileşik üretme yetenekleri arasındaki ilişkiyi anlamak önemlidir (Kumar, 2007).

Toprak ekosisteminde aktinomisetlerin yaygın olması ve sekonder metabolit üretimi açısından oldukça verimli olmaları nedeniyle, topraktan sekonder metabolit taramaları yoğun bir şekilde günümüze kadar yapılmıştır. Fakat yapılan çalışmalarda yeni aktif madde bulma ihtimali gittikçe azalmaktadır. Çalışmalar sıklıkla bilinen metabolitlerin tekrar izolasyonu ile sonuçlanmaktadır (Fenical ve diğ., 1999; Mincer ve diğ., 2002).

Karasal aktinomisetlerden, 1940'lerden günümüze oldukça fazla aktif bileşik elde edilmiştir. Aktinomisetlerden elde edilen aktif bileşiklerin %70-80'i *Streptomyces* cinsi tarafından üretilmektedir (Çizelge 1.1).

Filamentli actinomycetes üyelerinin 10000'den fazla biyoaktif bileşik ürettiği belirlenmiş ve bunlarında yaklaşık 7600'ünün *Streptomyces* cinsine ait türlerden elde edildiği tespit edilmiştir (Sanglier ve diğ. 1996; Watve ve diğ., 2001; Bentley ve diğ., 2002; Ikeda ve diğ., 2003; Ward ve Goodfellow, 2004). Bundan dolayı, ticari olarak

önemli sekonder metabolitler için bu organizmaların izolasyonu ve sekonder metabolitler bakımından araştırılmasına devam edilmektedir (Bérdy, 2005; Fiedler ve diğ., 2005). Bununla birlikte; *Streptomycetaceae* familyasının dışında *Actinomycetales* ordosuna ait değişik cins ve familyalar arasında en çok sekonder metabolit üreticisi olan aktinomiset familyaları *Micromonosporaceae*, *Thermomonosporaceae*, *Nocardiaceae* ve *Streptosporangiaceae* familyaları olarak sıralanmaktadır (Choi ve diğ., 2003).

**Çizelge 1.1** Karasal aktinomisetlerden elde edilen aktif bileşikler (Solanki ve diğ., 2008'den modifiye).

<b>Biyoaktif bileşik</b>	<b>Üretici organizma</b>	<b>Aktivitesi</b>	<b>Kaynak</b>
Erythromycin	<i>Saccharopolyspora erythrae</i>	Anti-bakteriyel	Reeves ve diğ., 1998
Rhamnose	<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	Böcek kontrol ajanı Spinosad'ın temel maddesi	Madduri ve diğ., 2001
Zorbamycin	<i>Streptomyces flavovirdis</i>	Anti-tümöral	Wanq ve diğ., 2007
Kanamycin	<i>Streptomyces kanamyceticus</i> 12-6	Anti-bakteriyel	Okami ve diğ., 1959
Kanglemycin C (K-C)	<i>Nocardia mediterranei</i> var. <i>kanglensis</i> 1747-64	İmmünosupresif	Zhou ve diğ., 2006
Rapamycin	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Anti-fungal	Lomovskaya ve diğ., 1997
Pandavir (nigericin)	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	İyon taşınımı ve ATPaz aktivitesi	Steinrauf ve diğ., 1968
FK520 Ascomycin	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> var. <i>Ascomyceticus</i>	Antifungal, immünosupresif	Wu ve diğ., 2000
Streptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>	Anti-bakteriyel	Nomi, 1963
Valinomycin	<i>Streptomyces griseus</i>	Anti-bakteriyel	Perkins ve diğ., 1990
Himastatin	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Anti-tümöral	Lam ve diğ., 1990
Spiramycin	<i>Streptomyces ambofaciens</i>	Anti-bakteriyel	Ikeda ve diğ., 1982
Leptomycin	<i>Streptomyces lividans</i>	Anti-fungal, Anti-tümöral	Hu ve diğ., 2005
Verucopeptin	<i>Actinomadura verrucosospora</i>	Anti-tümöral	Nishiyama ve diğ., 1993
Medecamycin	<i>Streptomyces mycarofaciens</i>	Anti-bakteriyel	Xia ve diğ., 1994, Schlegel ve diğ., 2001
Oxytetracycline	<i>Streptomyces rimosus</i>	Anti-bakteriyel	Petkovic ve diğ., 2006
Fosfomysin	<i>Streptomyces fradiae</i>	Anti-bakteriyel	Rorers ve Birnbaum, 1974
Benzanthrins A and B	<i>Nocardia lurida</i>	Anti-bakteriyel	Therhault ve diğ., 1986

*Thermomonosporaceae* familyasının bir üyesi olan *Actinomadura* cinsinin üyeleri organik madde döngüsünde rol oynadıkları için toprakta bol miktarda bulunmaktadır (Trujillo ve diğ., 2003). *Actinomadura* cinsinin zengin bir antibiyotik kaynağı olduğunun keşfedilmesi ile *Actinomadura* suşlarının metabolizmaları ve genetikleri hakkındaki bilgiler son on yıl içerisinde artmıştır. Bu cinse ait organizmaların önceleri mantar oldukları kabul edilmesine karşın son zamanlarda *Actinomadura* hakkında elde edilen bilgiler ışığında, oksijenli solunum yapan aktinomisetlere ait bir cins olduğu belirlenmiştir. *Actinomadura* üyelerinin genellikle mezofilik bir yapıya sahip olup 25-40 °C’de gelişim gösterirken bazı türleri termofilik olup 50-65 °C’de optimum sıcaklığa ihtiyaç duydukları ve kırmızı, pembe, sarı, portakal ve beyaz gibi farklı koloni renklerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970; Kroppenstedt ve Goodfellow, 2006).

*Microbispora* cinsi, Nonomura ve Ohara (1957) tarafından aerial miselyumları üzerinde boyuna eşleşmiş sporlar üreten *Actinomycetales* ordosunun bir cinsi olarak tanımlanmıştır. *Microbispora rosea* ATCC 12950<sup>T</sup> bu cinsin tip türüdür (Nonomura ve Ohara, 1957). Aynı yıl içerisinde bağımsız olarak Lechevalier ve Lechevalier (1957) tarafından *Waksmania* cinsi (tip türü *Waksmania rosea*) önerilmiştir. Henssen (1957) *Thermopolyspora bispora* (= *Microbispora bispora*) adlı yeni bir tür tanımlamıştır. Bu iki cins günümüzde *Microbispora* (Lechevalier, 1965)’nin sinonimi olarak kabul edilmektedir. Daha sonraları bu cinse dahil edilen *Microbispora echinospora* ve *Microbispora viridis* türleri kemotaksonomik özellikleri dikkate alınarak Kroppenstedt ve diğ. (1990) ve Miyadoh ve diğ. (1990) tarafından *Actinomadura* cinsine transfer edilmiştir.

*Nocardia* cinsi üyeleri akuatik ve karasal habitatlarda yaygın olarak bulunduğu gibi çok farklı ekstrem ortamlarda da bulunabilmektedir (Orchard, 1981; Maldonado ve diğ., 2000). Farklı *Nocardia* populasyonları aktif çamur kirli su arıtım tesislerinde havalandırma tanklarının yüzeylerindeki köpük içerisinde ve çamur sedimentlerinin içinde bulunmuştur (Goodfellow ve diğ., 1996; Pagilla ve diğ., 1998; Yamamura ve diğ., 2005). *Nocardia*; aerobik, dallanmış filamentleri bir arada bulduran, Gram pozitif, hareketsiz, katalaz pozitif, gelişme döngüsünün bazı evrelerinde tipik asit alkol direncine sahip olan aktinomisetlerdir. *Nocardia* suşları insan ve hayvanlarda çeşitli cerahatli enfeksiyonlar (Nokardiozis) oluşturmaktadırlar. Enfeksiyon genellikle solumla ve bulaşmış bir yaraya temas ile gerçekleşmektedir

(Schaal ve Lee, 1992; McNeil ve Brown, 1994; Goodfellow ve diğ., 1998; Saubolle ve Sussland, 2003; Munoz ve diğ., 2007; Jinno ve diğ., 2007).

*Nonomuraea* cinsi Zhang ve diğ. tarafından 1998 yılında önerilmiştir ve *Streptosporangiaceae* familyasının bir üyesidir. Bu cinsin üyeleri aerobik, Gram-pozitif, non-asit-fast, aşırı dallanmış substrat ve hava miselyumlarına sahip hareketsiz aktinomisetlerdir. Hava hifleri çengel, spiral yada katlanmış, düzensiz, pürüzsüz ve değişen yüzey görünümlerine sahip uzun spor zincirleri şeklinde farklılaşabilir. Bu cins kemotaksonomik olarak hücre duvarında meso-diaminopimelik asit mevcudiyeti, tüm hücre lizatlarında karakteristik şeker olarak maduroz bulundurması, baskın izoprenolog olarak dokuz izopren alt birimi ile di-tetra ve hekza-hidrojen atomuna sahip menakinonlara sahip olmasıyla karakterize edilmektedir. *Streptosporangiaceae* familyası içinde antibiyotik üreten cinsler arasında yer almaktadır (Zhang ve diğ., 1998; Chiba ve diğ., 1999; Stackebrandt ve diğ., 2001; Ara ve diğ., 2007a, b; Le Roes ve Meyers, 2008; Qin ve diğ., 2009; Wang ve diğ., 2011; Nakaew ve diğ., 2012; Camas ve diğ., 2013).

*Streptomyces* türleri; tıp, ekoloji ve biyoteknoloji endüstrisindeki önemli rollerinden dolayı en iyi çalışılmış ve karakterize edilmiş bakterilerdir (Bentley ve diğ., 2002; Alam ve diğ., 2010). *Streptomyces* cinsi üyeleri, oldukça karmaşık bir sekonder metabolizmaya sahip olup, çok miktarda biyolojik açıdan kullanışlı bileşikler üretmektedirler. Tüm mikrobiyal biyoaktif sekonder metabolitlerin yaklaşık % 45'inin kaynağı aktinomisetlerdir ve bu metabolitlerin (7600 bileşik) % 80'ini de *Streptomyces* üyeleri tarafından üretilmektedir (Berdy, 2005). Bu bileşenlerden en önemlileri tıp ve veterinerlikte kullanılan antibiyotik, antifungal, antiparazitik ajanlar, herbisitler, immünbaskılayıcılar ile gıda endüstrisi ve diğer alanlarda kullanılan çeşitli önemli enzimlerdir (Ilic ve diğ., 2007; Savic ve diğ., 2007; Sembiring ve diğ., 2008; Anzai ve diğ., 2008; Alam ve diğ., 2010). *Streptomyces*'ler toprakta baskın olarak bulunan actinomycetesler olarak anılırsa da son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki, *Streptomyces* üyeleri bitki köklerindeki rizosfer, bitki dokuları, yaprakla beslenen karıncalar, kümes hayvanı dışkı ve deniz süngeri gibi farklı habitatlarda da bulunabilmektedir (Kim ve diğ., 2000; Castillo ve diğ., 2002; Tokala ve diğ., 2002; Strap ve diğ., 2006; Kost ve diğ., 2007; Zhang ve diğ., 2008; Sazak, 2009; Sembiring, 2009; Şahin ve diğ., 2010).

Bu alışmada Ege Denizi'nde bulunan Gökçeada'nın Aydınıcık, Eēekek Barajı, Eēekek köyü, Yıldız koyu, Zirve ve Zeytinliköyü topraklarından farklı aktinomiset üyelerinin izolasyonu, moleküler metotlardan 16S rRNA gen bölgesi ile moleküler tiplendirmesi ve olası yeni aktinomisetlerin literatüre kazandırılması amaçlanmıştır.







## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1 Genel Bilgiler

#### 2.1.1 *Actinomadura* cinsinin sistematığı, tarihçesi ve genel özellikleri

**Üstalem:** *Bacteria*

**Sınıf:** *Actinobacteria*

**Altsınıf:** *Actinobacteridae*

**Takım:** *Actinomycetales* (Buchanan, 1918) (Zhi ve diğ., 2009)

**Alttakım:** *Streptosporangineae* (Ward-Rainey ve diğ., 1997) (Zhi ve diğ., 2009)

**Familiya:** *Thermomonosporaceae* (Rainey ve diğ., 1997) (Zhi ve diğ., 2009)

**Cins:** *Actinomadura* (Lechevalier ve Lechevalier, 1970)

1970 yılında Lechevalier ve Lechevalier cinsi tanımlarken kullandıkları “aerobik, Gram pozitif, asit-fast özellik göstermeyen, hareketsiz, hücre duvarı *mezo*-diamilopimelik asitçe (*mezo*-A<sub>2</sub>pm) zengin fakat karakteristik hücre duvar şekeri içermez (hücre duvar tipi III) tanımı üzerine *Actinomadura* cinsi pek çok farklı cinsin üyelerini bir dönem bünyesinde barındırmıştır (Lechevalier ve Lechevalier, 1970; Lu ve diğ., 2003). İzleyen süreçte *Actinomadura* cinsi endospor oluşturmadığı için *Thermomonosporaceae* familyasına geçmiştir (Cross ve Goodfellow, 1973). *Actinomadura* cinsinin *Nocardia* cinsinden ayrılması nümerik analizler, DDH, faj tiplendirmesi, kimyasal ve serolojik verilerle yapılmaya çalışılmıştır (Tsukamura, 1969; Goodfellow, 1971; Prauser, 1978; Mordarski ve diğ., 1978; Goodfellow ve Minnikin, 1978). Bunlara rağmen cinsin içerdiği türler ve taksonomik tarihçesindeki belirsizlik sebebiyle *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*'nin sekizinci baskısında *Actinomadura* “*incertae sedis*” (Lat. taksonomik yeri belirsiz) bir cins olarak tanımlanmıştır (Lacey ve diğ., 1978; Goodfellow ve Alderson, 1979).

Miyadoh ve diğerleri 1989 yılında yaptıkları çalışmayla *Microtetraspora viridis* türünün (Nonomura ve Ohara, 1971) kemotaksonomik özellikleri bakımından

*Microtetraspora* cinsinden oldukça farklı olduğunu görmüşler, ayrıca *Actinomadura malachitica* ile sinonim olduğunu ve *Actinomadura viridis* olarak sınıflandırılmasını önermişlerdir. 1990 yılında Kroppenstedt ve diğerleri *Microbispora echinospora* türünün kimyasal özelliklerinin *Actinomadura* cinsine benzerliği bakımından bu cins içerisinde sınıflandırılmasını önermişlerdir. 1992 yılında *Thermomonosporaceae* ve *Streptosporangiaceae* familyaları Kroppenstedt ve Goodfellow tarafından taksonomik olarak yeniden düzenlenmiştir. Ardından Miyadoh ve diğerleri 1997’de Atlas of Actinomycetes’de bu familyalar arasındaki morfolojik farklılıkları göstermişlerdir (Kroppenstedt ve Goodfellow, 1992).

1997 yılına gelindiğinde Stackebrandt ve diğerleri her bir taksonu 16S rRNA gen dizisini kriter olarak analiz etmişler ve sonuç olarak, *Actinobacteria* sınıfını önermiş ve tanımlamışlardır. *Thermomonosporaceae* familyasının taksonomik pozisyonu kemosisematik ve moleküler sistematik metotların beraber uygulanmaya başlaması ile birlikte netlik kazanmaya başlamıştır. Bu takson *Nocardiopsaceae* ve *Streptosporangineae* familyaları ile birlikte, *Actinomycetales* takımının 13 alt takımından biri olan *Streptosporangineae* alttakımında sınıflandırılmıştır. (Stackebrandt ve diğ., 1997). *Thermomonosporaceae* familyası; *Actinomadura* (Lechevalier ve Lechevalier, 1970), *Actinocorallina* (Inuma ve diğ., 1994), *Spirillospora* (Couch, 1963) ve tip cinsi *Thermomonospora* (Henssen, 1957) Zhang ve diğerleri tarafından 2001’de yeniden düzenlenmiştir. Bu taksonun üyeleri 16S rRNA gen ağacında farklı bir filogenetik hat oluşturduğundan, morfolojik, fizyolojik ve kimyasal özelliklerin kombinasyonları kullanılarak birbirinden ve yakın akraba familyalar olan *Nocardiopsaceae* (Rainey ve diğ., 1996) ve *Streptosporangiaceae* (Goodfellow ve diğ., 1990) familyalarından ayrılabilir (Stackebrandt ve diğ., 1997; Zhang ve diğ., 1998, 2001; Miyadoh ve Miyara, 2001; Trujillo ve Goodfellow, 2003).

Kemotaksonomik ve moleküler tekniklerin bir arada kullanımının yaygınlaşmaya başlamasıyla *Actinomadura* cinsi içindeki pek çok türün taksonomik yeri değişmiştir. Buna en iyi örnek olarak Zhang ve diğerlerinin 1998 yılında 16S rRNA analizlerini temel olarak gerçekleştirdikleri çalışma verilebilir. Toplam on iki adet *Actinomadura* türü yeni bir aktinomiset cinsi olarak önerilen *Nonomuria* cinsine geçirilmiştir. Chiba ve diğerleri ise 1999 yılında *International Code of Nomenclature of Bacteria* kurallarına göre *Nonomuria* ismini *Nonomuraea* olarak değiştirmiştir. Zhang ve diğerlerinin 1998 yılında yaptıkları bu çalışma ile kimyasal, moleküler ve

nümerik metotların birlikte uygulanmasının önemi bir kez daha vurgulanırken, cinsin taksonomik revizyona ihtiyacı olduğunu da açıkça gösterilmiştir (Zhang ve diğ., 1998, 2001).

Zhang ve diğerlerinin 2001 yılında yaptığı yeni bir çalışmada ise *Actinomadura* cinsi içindeki dört türün *Actinocorallina* cinsine, *Thermomonospora* cinsine ait iki türün de *Actinomadura* cinsine transferi önerilmiştir. Ayrıca *Excellospora viridilutea* *Actinomadura* cinsine geçip *Actinomadura viridilutea* olarak değiştirilince *Excellospora* cinsi taksonomik statüsünü kaybetmiştir (Zhang ve diğ., 2001; Zhi ve diğ., 2009). Yine Gauze ve diğerlerinin 1973’de tanımladıkları *Actinomadura carminata* Gyobu ve Miyadoh tarafından 2001 yılında *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* olarak yeniden isimlendirilmiştir ve böylece cins morfolojik ve kemotaksonomik açıdan daha homojen hale gelmiştir.

*Actinobacteria* sınıfının 16S rRNA gen dizisini kriter alan tanımlaması 2009 yılında Yunnan Üniversitesin’den Zhi ve diğerlerinin, Stackebrandt’la gerçekleştirdikleri ortak çalışma ile güncelleştirilmesi sağlanmıştır (Zhi ve diğ., 2009). 2011 yılında ise Promnuan ve diğerlerinin yaptıkları çalışmadan elde ettikleri genotipik ve fenotipik verilerle *Actinomadura cremea* subsp. *rifamycini*’nin taksonomik pozisyonunun yeniden düzenlenip, *A. rifamycini* olarak tür düzeyinde isimlendirilmesini önerilmiş ve bu öneri komisyon tarafından kabul edilmiştir (Promnuan ve diğ., 2011).

*Actinomadura* cinsi aerobik, gram pozitif, asit-fast negatif ve hareketsiz aktinomisetlerden oluşmaktadır. DNA’nın % G+C içeriği % 66-72 mol’dür (Kroppenstedt ve diğ., 1990; Lu ve diğ., 2003; Wink ve diğ., 2003; Wang ve diğ., 2007; Ara ve diğ., 2008b). Kemoorganotrofik aktinomisetlerden olan *Actinomadura* dallanmış substrat misellerine sahip olmasının yanı sıra tek veya kısa zincirli 15 veya daha fazla arthrosporlar taşıyan hava miselyumuna sahiptir. Yüzeydeki spor zincirleri farklı uzunluklara sahip olup düz, kanca veya spiral şekilli olan düzenli, pürüzsüz, dairesel sporlara sahiptir (Lu ve diğ., 2003; Tseng ve diğ., 2009).

Çoğu mezofilik olan cins üyeleri 25-40°C’de gelişim gösterirken, gelişmek için 50-65°C’de optimum sıcaklığa ihtiyaç duyan termofilik türleri de mevcuttur. Toprak izolatlarının büyük bir kısmı optimum 28°C’de gelişmektedir. Termofilik *Actinomadura* olan *Actinomadura rubrobrunea* optimum sıcaklık olarak 55°C’ye, *A. viridilutea* ise 45°C’de ihtiyaç duymaktadır ve bu iki termofilik tür, mezofilik *Actinomadura* üyelerinden ağır asit kompozisyonundaki farklılıklarla

ayrılabilir. Polar lipitleri difosfotidil gliserol, fosfotidilinositol ve fosfotidilinositol mannositleridir. *Actinomadura* cinsi üyeleri kemotaksonomik olarak mezo-diaminopimelik asit ve maduroz gibi şekerleri içeren tip III-B hücre duvarına sahiptir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970).

*Actinomadura* cinsinin üyeleri gelişimleri sırasında enerji kaynağı olarak şekerleri kullanmakta ve proteolitik aktivite olarak çoğu suşu kazein, jelatin ve lignoselülozu parçalamaktadır; ancak kitin, ksantin ve ksilan gibi maddeleri metabolize edememektedir (Kroppenstedt ve Goodfellow, 2006). Bunların dışında, Puhl ve diğerleri 2009 yılında Kanada'da sığır gübresinden pek çok bakterinin parçalayamadığı bir polimer olan keratini degrade edebilen bir *Actinomadura* türü (*A. keratinilytica*) izole etmeyi başarmış ve yine aynı yıl Tseng ve diğerleri termotolerant poliester degrade edebilen bir *Actinomadura* türü (*A. miaoliensis*) izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Cins bu özelliklerinin dışında iyi bir antibiyotik üreticisi olarak da bilinmektedir. Toprakta izole edilen bazı türleri antibiyotik endüstrisinde kullanılan çeşitli antibiyotikleri üretmektedir. 1991 yılında Fiji adalarındaki topraktan izole edilen *Actinomadura hibisca*, *A. kijaniata*, *A. macra*, *A. oligospora* antibiyotik üreticisi olarak bilinen türlerden bazılarıdır (Huang, 1980; Mertz ve diğ., 1986; Tomita ve diğ., 1990; Waitz ve diğ., 1981;).

İlk tanımlanan *Actinomadura* örnekleri klinik izolatlardan elde edilmiştir. Cinsin tip türü olan daha çok topraktan izole edilen *Actinomadura madurae* ve *A. pelletieri* insanda misetomanın birincil ajanlarıdır. Klinik önemi olan *Actinomadura* türlerine ek olarak *Actinomadura chibensis*, *A. latina*, *A. pelletieri*, *A. sputi* verilebilir (Trujillo ve Goodfellow, 1997; Hanafy ve diğ., 2006). *A. latina* ve *A. pelletieri* sadece klinik materyallerden izole edilmiştir.

*Actinomadura* cinsi üyeleri organik madde döngüsünde rol oynadıkları toprakta bol miktarda bulunur (Trujillo ve Goodfellow, 2003). *Actinomadura alba*, *A. bangladeshensis*, *A. chokoriensis*, *A. fibrosa* habitatı toprak olan *Actinomadura* türlerine örnek olarak verilebilir (Mertz ve Yao, 1990; Wang ve diğ., 2007; Ara ve diğ., 2008b). Baskın olan kırmızı renk pigmenti siylononilprodigin, nonilprodigin ve andesilprodigin olarak tanımlanan tripyrol iskeletiyle karakterizedir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970).

*Actinomadura* cinsi insan dışında bitkilerden de izole edildiği rapor edilmiştir. Qin ve diğerleri 2009 yılında Çin'nin Yunnan bölgesindeki bir yağmur ormanında bulunan *Maytenus austroyunnanensis* bitkisinin yapraklarından endofitik *Actinomadura* türü izole etmiş ve bu yeni türü *A. flavalba* olarak isimlendirmişlerdir.

Amonyak içeren atık gazların işlendiği tesislerde toksik bir bileşik olan nitrit üretimi görülmektedir. Nitrit ortamın pH'sını düşürerek biyofiltrelerin verimliliğini düşürmektedir. Nitrit üreten bir *Actinomadura* türü olan *A. nitritigenes*'in böyle biyofiltreden izole edildiği 1995 yılında Lipski ve Altendorf tarafından bildirilmiştir.

Lechevalier ve Lechevalier tarafından 1970'de tanımlanan *Actinomadura* cinsi Zhang ve diğerleri (1998, 2001) ve Miyadoh ve Miyara (2001) tarafından yeniden düzenlenmiş olup, günümüzde geçerli olarak tanımlanmış 78 tür ve 2 alt türü bünyesinde barındırmaktadır (<http://www.bacterio.cict.fr/a/actinomadura.html> Aralık-2015).

### 2.1.2. *Amycolatopsis* cinsinin sistematigi, tarihçesi ve genel özellikleri

**Üstalem:** *Bacteria*

**Şube:** *Actinobacteria*

**Sınıf:** *Actinobacteridae*

**Takım:** *Actinomycetales*

**Familya:** *Pseudonocardiaceae* (Embley ve diğ., 1988)

**Cins:** *Amycolatopsis* (Lechevalier ve diğ., 1986)

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

*Amycolatopsis* cinsi, *Actinopolyspora* (Gochnauer ve diğ., 1975), *Kibdelosporangium* Shearer ve diğ. 1986, *Prauserella* (Kim ve Goodfellow 1999), *Pseudonocardia* (Hennessen 1957), *Saccharomonospora* (Nonomura ve Ohara 1969), *Saccharopolyspora* (Lacey ve Goodfellow 1975), *Thermobispora* (Wang ve diğ. 1996) ve *Thermocrispum* (Korn-Wendisch ve diğ. 1995) cinslerini de içeren *Pseudonocardiaceae* (Embley ve diğ., 1988) ailesi içerisinde sınıflandırılır.

Cinsin üyeleri aerobik, Gram reaksiyonu pozitif, katalaz pozitif, non-acid fast, hücre duvarı peptidoglikanında mezo-diamino-pimelik asit, arabinoz ve galaktoz içeren, diagnostik fosfolipit olarak fosfatidiletanolamin içeren, mikolik asitlerden yoksun, dallanmış substrat miselyum (0.2-2µm) oluşturan hareketsiz aktinomisetlerdir. Spor zincirleri vejetatif hifler üzerinde oluşur.

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

#### **2.1.2.1 *Amycolatopsis* cinsinin biyoteknolojik önemi**

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

*Amycolatopsis* cinsi üyeleri, rifamisin ve vankomisin antibiyotiklerinin kaynağı olarak bilinmesinin yanı sıra, biyoteknolojik önemi olan yeni biyoaktif bileşenlerin üreticileri olarak son zamanlarda dikkatleri üzerine çekmektedir (Tang ve diğ., 1998; Wink ve diğ., 2003; Xu ve diğ., 2003). Glikopeptid bir antibiyotik olan Vankomisin, ilk defa *Amycolatopsis orientalis* strain M43-05865 - Eli Lilly ve Co; den izole edilmiştir. Bu bileşikler peptidoglikan sentezini inhibe eder, enterococci ve staphylococci'nin neden olduğu şiddetli bakteri enfeksiyonlarına müdahalede klinik olarak kullanılmaktadır. Rifamisin, rifamisin A, B, C, D ve E (Margalith ve Beretta,

1960) ismiyle en az 5 bileşenli bir kompleks olarak ilk defa *Amycolatopsis mediterranei*'den izole edilmiştir. Bu bileşik DNA-bağımlı RNA sentezini inhibe eden ansamycin antibiyotığıdır. Rifamisin'in bir analogu olan Rifampisin, Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı aktiftir. Tüberküloz, lepra ve AIDS-ilişkili mikobakteriyal enfeksiyonların (Floss ve Yu, 2005) tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

*Amycolatopsis* cinsi günümüzde sistematikte geçerli olarak tanımlanmış 68 tür ve 4 alt türü bünyesinde barındırmaktadır ([www.bacterio.cict.fr/a/amycolatopsis.html](http://www.bacterio.cict.fr/a/amycolatopsis.html) Aralık-2015).



### 2.1.3. *Nocardia* cinsinin sistematığı, tarihçesi ve genel özellikleri

**Üstalem:** *Bacteria*

**Sınıf:** *Actinobacteria*

**Altsınıf:** *Actinobacteridae*

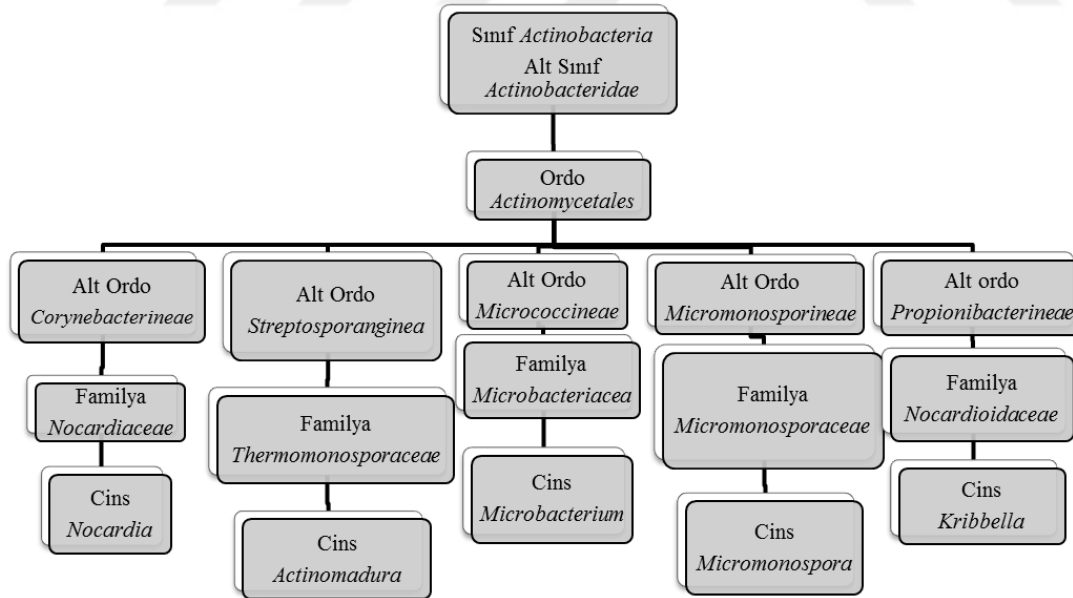
**Takım:** *Actinomycetales* (Buchanan, 1917) (Zhi ve diğ., 2009)

**Alttakım:** *Corynebacterineae* (Stackebrandt ve diğ.,1997) (Zhi ve diğ., 2009)

**Familya:** *Nocardiaceae* (Castellani ve Chalmers, 1919) (Zhi ve diğ., 2009)

**Cins:** *Nocardia* (Trevisan, 1889)

Günümüzde *Nocardia* cinsi başta kemotaksonomik özellikler kullanılarak tanımlanmaktadır (Goodfellow ve Lechevalier, 1989; Goodfellow, 1992). Goodfellow "*Nocardia* ve İlişkili Cinsler" adlı yayınında *Nocardia* cinsine ait kemotaksonomik özellikleri belirtmiştir (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** *Nocardia* cinsinin diğer cinslerle filogenetik ilişkisini gösteren diyafram (Zhi ve diğ., 2009).



1889 yılında Trevisan; Fransız bir veteriner olan Edmond Nocard'ın ismine atfen *Nocardia* ismi ile anılan bu cinsin *N. actinomyces* ve Harz'ın teşhis ettiği *Actinomyces bovis* dahil olmak üzere 5 tür içerdiğini açıklamıştır. Ancak *Actinomyces bovis* anaerobik bir türdür ve zorunlu aerobik bir tür olan *N. farcinica* ile birlikte sınıflandırılmış olması birçok araştırmacıyı herhangi bir çelişkiye düşürmemiştir (Buchanan, 1918; Orskov, 1923; Jensen, 1931). Fakat diğer araştırmacılardan farklı olarak Wright anaerobik patojenik aktinomisetlerin, hava miselyumu ve spor üreten aerobik aktinomisetlerden (*Nocardia+Streptomyces*) olan *Nocardia* cinsinden ayrılıp *Actinomyces* cinsi içinde sınıflandırılması gerektiğini önermiştir.

1891'de Eppinger tarafından beyin absesinden izole edilen ve aerobik, gram pozitif, asit-alkol dirençli bir organizma olan *Cladothrix asteroides* olarak adlandırıldığı organizma, 1896 yılında, Blanchard tarafından *N. asteroides* olarak yeniden adlandırılmıştır. Yine Brezilyalı bir hastanın bacağından izole edilen ve Lindenberg tarafından *Discomyces brasiliensis* olarak adlandırılan organizma daha sonra Pinoy tarafından *N. brasiliensis* olarak yeniden adlandırılmıştır. 1891'de Rossi-Doria'nın *Streptothrix carnea* adını verdiği toprak organizmasını, Castellani ve Chalmers *N. carnea* olarak yeniden adlandırmışlardır.

*Nocardia* cinsinin uzun ve karışık taksonomi tarihi Lechevalier tarafından ana hatlarıyla açıklanmıştır. Waksman (1961)'in çalışmasıyla, *Nocardia*'nın heterojenitesinin altını çizen modern taksonomik tekniklerin kullanımı, cinsin sınıflandırılmasında gelişmelere ve gelecek çalışmalar için sağlam bir temel oluşturmuştur (Tsukamura, 1969, 1977; Bradley ve Mordarski, 1976; Mordarski ve diğ., 1978; Goodfellow ve Minnikin, 1978; Orchard ve Goodfellow, 1980; Goodfellow ve diğ., 1982).

Nümerik çalışmalar neticesinde *Nocardia* cinsinin aerobik nocardioform aktinomisetlerin oldukça geniş heterojen bir grubu olduğu dikkat çekicidir. McClung (1974) 31 *Nocardia* türünü tanımlayıp listeleyerek Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'nin 8. baskısında durumla ilgili düşüncelerini açıklamıştır. McClung, cins üyelerini misel gelişimi derecesine göre 3 morfolojik gruba ayırmakla beraber; bazı kültürlerin genç kolonilerin mikroskopik mikromorfolojileri ve kültürel özelliklerindeki ağırlıklarından dolayı eşit geçerlilikle *Corynebacterium*, *Mycobacterium* ya da *Nocardia* cinslerine yerleştirilebileceğine de dikkat çekmiştir.

Hücre duvarı majör şeker ve aminoasit kompozisyonu ile peptidoglikan yapısının saptanması aktinomiset sistematığının yeniden gözden geçirilmesine ve çeşitli duvar kemotipleri ve peptidoglikan tiplerine göre taksonların belirlenmesini sağlamıştır (Lechevalier ve Lechevalier, 1970; Schleifer ve Kandler, 1972). Ayrıca, hücre duvarında nitel duvar kompozisyon analizleri *Corynebacteria*, *Mycobacteria* ve *Nocardia* arasındaki yakın ilişki için anlamlı ve açık bir delil sağlamıştır (Cummins ve Harris, 1956, 1958). Bu organizmaların tümü büyük miktarda mezo-diaminopimelik asit (meso-A2pm), arabinoz ve galaktoz içermekte; Kemotip-IV hücre duvarı ve A1 $\gamma$  peptidoglikan tipine sahiptir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970; Schleifer ve Kandler, 1972). Bu taksonlar arasındaki yakın ilişki, onların mikolik asit yani yüksek moleküler ağırlıklı 2-alkil-3-hidroksi dallanmış zincirli yağ asitlerini içerdiklerinin keşfedilmesi ile daha ileri düzey kazanmıştır. Mikolik asit içeren aktinomisetler “Mycolata” olarak adlandırılmakta ve çoğunlukla, Mycolata grubu üyesi organizmaların hücre zarflarında esterlenmiş mikolik asitlere bağlanan peptidoglikan-arabinogalaktan hücre duvarı iskeletleri yapıyı oluşturmaktadır (Chun ve diğ., 1996).

*Nocardia*'lar dallanmış filamentlileri bir arada bulunduran, aerobik, katalaz pozitif, hareketsiz, Gram boyamada gram pozitif sonuç veren ve tipik olarak da büyüme devrinin bazı safhalarında asit-alkol dirençli mikroorganizmalardır (Goodfellow ve Cross, 1984). *Nocardia* cinsi üyeleri 0,5-1,2  $\mu$ m çapında, besi yeri yüzeyinde veya derinliklerinde genişçe dallanarak vejetatif hiflerle büyümektedirler. Genelde koloniler sert, kolayca kırılan bir yoğunluğa, çok iyi bir biçimde kıvrımlı bir yüzey ile kıvrımlı bir görünüme sahiptir. Bazen koloninin gerçek rengini maskeleyen bir hava miselyumu ya da sekonder miselyum tarafından çevrelenmektedir (Goodfellow ve diğ., 1999).

Oksidatif tipte karbonhidrat metabolizmasına sahip kemoorganotropik organizmalardır. *Nocardia* hücre duvarı A1 $\gamma$  tipinde mezo-diaminopimelik asit içeren peptidoglikana sahiptir. *Nocardia* cinsinin hücre duvarı mikolik asit bulundurmaktadır. *Nocardia*'ların hücre duvar tipi Kemotip IV A'dır ve karakteristik hücre duvar polisakariti olarak arabinoz ve galaktoz içermektedir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970). DNA'nın G+C oranı % 64-72 mol' dür.

Aktinomiset sistematığında değerli olduğu gösterilen diğer kimyasal belirleyiciler hücresel yağ asitleri, izoprenoid quinonlar ve polar lipit analizlerinden

belirlenmiştir (Lechevalier ve diğ., 1977; Minnikin ve Goodfellow, 1980; Kroppenstedt, 1985; Baba ve diğ., 1997). Mikolik asit içeren aktinomisetlerin, özellikle *Corynebacteria*, *Mycobacteria* ve *Nocardia*'nın sahip olduğu mikolik asitlerin yapısı ve tüm boyutundaki farklılıklarla, hücresel yağ asitleri, menaquinon ve polar lipit kompozisyonu ile tanımlanıp ayırt edilebildiği sonradan ortaya çıkarılmıştır (Cross ve Goodfellow, 1973; Goodfellow ve Minnikin, 1977, 1981a, b, 1984; Keddie ve Cure, 1977; Minnikin ve diğ., 1978; Baba ve diğ., 1997). Yeni *Nocardia* türlerinin durumunu belirlemek için ilave karşılaştırmalı çalışmalara gereksinim duyulmuştur. Bu sebeple 1990'da Yano ve diğ., DNA:DNA benzerliği, mikolik asit ve nümerik taksonomi verilerini kullanarak *N. nova*'yı *N. asteroides* ve *N. farcinica*'dan ayırmıştır.

Gen dizileme çalışmalarının laboratuvarlarda rutin kullanıma girmesiyle *Nocardia asteroides* olarak tanımlanan pek çok klinik *Nocardia* izolatının aslında fdiğli *Nocardia* türleri olduğunu ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak *Nocardia asteroides* (ATCC 19247<sup>T</sup>) “sensu stricto” yani gen dizilimi ile tanımlanan tip örneğinin, aslında önemli bir insan patojeni olmadığı düşünülmektedir (Conville ve Witebsky, 2010).

*Nocardia* türleri doğada oldukça yaygındır ve toprakta bol miktarda bulunurlar. Bazı suşlar insan ve hayvanlar için fırsatçı patojendir (Gürtler ve diğ., 2001; Jannat-Khah ve diğ., 2010; Moser ve diğ., 2011). Kan emici arthropodlarla mutualistik birliktelik oluşturdıkları gibi su ve pis su boruları ile doğal kauçuk birleşim yerlerinde biyolojik bozulmalarda da rol almaktadırlar (Hutchinson ve diğ., 1977; Orchard, 1981; Maldonado ve diğ., 2000). *N. amarae* ve *N. otitidiscaviarum* populasyonları aktif çamur kirli su arıtım tesislerinde havalandırma tanklarının yüzeylerindeki köpük içerisinde bulunmuştur (Lechevalier ve Lechevalier, 1974; Cross, 1981; Lemmer ve Kroppenstedt, 1984; Sezgin ve diğ., 1988; Goodfellow ve diğ., 1996; Soddell ve Seviour, 1990; Pagilla ve diğ., 1998).

Denizel habitatlarda da *Nocardia* türlerine rastlanmıştır (Peela ve diğ., 2005; Bredholdt ve diğ., 2007; El-Gendy ve diğ., 2008). Derin denizlerde ve deniz sedimentlerinde yapılan çalışmalar sanıldığından çok daha fazla aktinomiset çeşitliliğinin olduğunu göstermiştir (Kokare ve diğ., 2004). Zhang ve diğerlerinin (2008) Çin'de yaptıkları çalışmada *N. abscessus*, *N. shimofusensis* ve *N. asteroides* türlerini deniz süngerinden izole etmeyi başarmışlardır.

*Nocardia*'nın doğal habitatu topraktır ve pH 6,8-7,2 arası optimum büyüme göstermektedirler. Bunun dışında asidik ve bazik topraklardan da *Nocardia* izolasyonu gerçekleşmiştir. *Nocardia jiangxiensis* ve *Nocardia miyunensis* asidik topraktan, *N. neocaledoniensis* ise ultrabazik yüksek miktarda magnezyum içeren topraktan, yine topraktan izole edilen *Nocardia goodfellowii* ve *Nocardia thraciensis* yeni *Nocardia* türleri olarak literatüre kazandırılmışlardır (Saintpierre- Bonaccio ve diğ., 2004; Cui ve diğ., 2005; Sazak ve diğ., 2012).

*Nocardia* mezofilik aktinomisetlerden olmakla birlikte Takahashi ve Omura, 2003 yılında yayınladıkları çalışmada çöl kumundan 50 °C'de gelişebilen *Nocardia* suşunu izole etmeyi başardıklarını bildirmişlerdir. Bunu takiben 2006 yılında Seo ve Lee deniz kumundan yeni bir *Nocardia* türü izole etmiş ve *Nocardia harenae* olarak literatüre kazandırmışlardır. Kampfer ve diğ. ise 2012 yılında Karayip Deniz kumundan *Nocardia agrenadensis* türünü izole etmiştir.

*Nocardia* cinsi genellikle yaz aylarında arıtım tanklarında köpürmeye sebep olan bir bakteridir ve *N. pinensis* ile *N. takadensis* aktif çamur'dan izole edilerek literatüre kazandırılmış türlerdir (Blackall ve diğ., 1989; Yamamura ve diğ., 2005). Genellikle karanlık, organik madde açısından fakir ve sıcaklık açısından nispeten stabil özellik gösteren yaşam ortamları olarak tanımlanan mağaralarda yaşayan aktinomiset cinslerinden biri de *Nocardia* cinsidir. *N. jejuensis*, *N. speluncae* ve *N. altamirensis* gibi *Nocardia* türleri çeşitli mağaralardan izole edilip literatüre kazandırılmışlardır (Lee, 2006; Seo ve diğ., 2007; Jurado ve diğ., 2008).

Sekonder aktif metabolit üretimi yönünden zengin *Nocardia* türlerine örnek olarak 2009 yılında literatüre kazandırılmış, amicoumacin B üreten *N. jinnensis* ve nitrik oksit sentetaz enziminin zengin *N. iowensis* türleri verilebilir (Lamm ve diğ., 2009; Sun ve diğ., 2009).

2010 yılında Kaewkla ve Franco, ananas ağacının kökünde patojen organizmlarla antagonistik ilişki içinde olan *Nocardia callitridis* türünü izole ettiklerini bildirmişlerdir. Böylece endofitik önemi olan yeni bir aktinomiset türü literatüre eklenmiştir. 2011 yılında Zhao ve diğ. *Artemisia annua* bitkisinin gövdesinden endofitik *Nocardia artemisiae* türünü, Xing ve diğ. *Jatropha curcas* bitkisinin yağlı tohumundan endofitik *Nocardia endophytica* türünü izole etmiştir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda *Nocardia* cinsi üyelerinin antibiyotik üreticisi olduğu tespit edilmiştir. Patojen bir organizma olan *Vibrio damsela* türünü gelişimini inhibe etme potansiyeline sahip türler üzerine yapılan bir çalışmada, 16 aktinomiset üyesi suş içerisinde *Nocardia brasiliensis* türünün en geniş inhibisyon zonunu oluşturduğu tespit edilmiştir (El-sersy ve Abou-Elela, 2006). *Nocardia brasiliensis* türü üzerine yapılan çalışmalarda bu organizmanın bir indol alkaloid olan brasilikardin A ile brasiliquinon A, B, C29 olarak adlandırılan sitotoksin antifungal ve antibakteriyel antibiyotikleri sentezlediği tespit edilmiştir. Bunun yanında *Nocardia transvalensis* IFM 10065 türünden çinko kompleksli bir antibiyotik olan Transvalensis A'yı sentezlediği rapor edilmiştir (Hoshino, 2004).

*Nocardia* cinsi günümüzde sistematikte geçerli olarak tanımlanmış 105 türü bünyesinde barındırmaktadır ([www.bacterio.cict.fr/n/nocardia.html](http://www.bacterio.cict.fr/n/nocardia.html) Aralık-2015).

#### **2.1.4. *Nonomuraea* cinsinin sistematığı, tarihçesi ve genel özellikleri**

**Üstalem:** *Bacteria*

**Sınıf:** *Actinobacteria*

**Alt sınıf:** *Actinobacteridae*

**Takım:** *Actinomycetales* (Buchanan, 1917) (Zhi ve diğ., 2009)

**Alttakım:** *Streptosporangineae* (Ward-Rainey ve diğ., 1997) (Zhi ve diğ., 2009)

**Familiya:** *Streptosporangiaceae* (Goodfellow ve diğ., 1990) (Zhi ve diğ., 2009)

**Cins:** *Nonomuraea* (Zhang ve diğ., 1998)

*Nonomuraea* cinsi Zhang ve diğerleri tarafından 1998 yılında önerilmiştir ve *Streptosporangiaceae* familyasının bir üyesidir. Bu takson *Microtetraspora pusilla* olarak tanımlanan türün yeniden tanımlanmasıyla ortaya çıkmıştır (Fischer ve diğ., 1983; Poschner ve diğ., 1985; Goodfellow ve diğ., 1988; Kroppenstedt ve diğ., 1990). *Nonomuraea* cinsi üyeleri aerobik, Gram-pozitif, 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. Hücre duvarları *meso*-A2pm içerir ve maduroz

tüm organizmalardaki hidrolizatlarda mevcuttur. Baskın menakinonlar MK-9 (H<sub>0</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>)'dur (Zhang ve diğ., 1998; Chiba ve diğ., 1999; Stackebrandt ve diğ., 2001; Ara ve diğ., 2007a, b; Le Roes ve Meyers, 2008; Qin ve diğ., 2009; Kampfer ve diğ., 2005, 2010; Wang ve diğ., 2011; Zhao ve diğ., 2011; Li ve diğ., 2011, 2012; Nakaew ve diğ., 2012; Cao ve diğ., 2012; Camas ve diğ., 2013). Fosfolipid şekilleri glukozamin içeren fosfotidiletanolamin, fosfotidilmetiletanolamin, difosfotidilgliserol ve fosfotidilinositol gibi lipidler ile karakterize edilmiştir (Lechevalier ve diğ., 1977) ve baskın yağ asitleri 10- methyl-17- ve iso-16-dallanmış bileşikleridir (Kroppenstedt, 1985). DNA'nın G+C içeriği 64-69 mol%'dür. Tip türü; Zhang ve diğerleri tarafından 1998 yılında tanımlanan *Nonomuraea pusila* ATCC 27296<sup>T</sup>=DSM 43357<sup>T</sup> türüdür.

*Streptosporangiaceae* familyasının üyeleri genellikle toprak ile ilişkilidir, fakat bu ortamdaki rolleri hakkında çok az şey bilinir. Bunun yanında seçici izolasyon prosedürlerindeki gelişmeler doğal habitatlarındaki aktinomiset taksonlarının varoluşları, dağılımları, sayıları ve aktiviteleri hakkında yeni bilgiler sunmaktadır (Suzuki ve diğ., 2001a, b). Bu familyanın üyelerinin topraktaki bitki materyallerinin ilk ayrışmasında rol aldığı muhtemeldir.

*Nonomuraea* cinsinin türlerinin çoğunun kökeni topraktır (Nonomura ve Ohara, 1971c; Meyer, 1979; Galatenko ve diğ., 1981).

*Nonomuraea* suşları hava hifleri üzerinde yalancı kesecikler ve spor zincirleri oluşturabilmeleriyle aynı familyadaki cinslerin üyelerinden ayırt edilir. Bu cinsi oluşturan türler spor zincir morfolojileri, spor duvar şekilleri, olgun sporlanmış hava miselyumlarının rengi ve substrat miselyumlarının pigmentasyonu vasıtasıyla ayırt edilebilir. Fakat bu türlerin çoğunun tanımlanması zordur. Çünkü yalnızca bir suş ya da birkaç suş örneklenmiş durumdadır. Hatta bazı suşlar çalışıldığında biyokimyasal ve fizyolojik testlerin sonuçları literatür verileri ile kıyaslandığı zaman bunların literatürdeki veriler ile tutarlı ya da tutarsız olabileceği belirlenmiştir. Fakat nümerik taksonomi verileri takson içinde tanımlanan türlerin çoğunun yerinin doğru olduğunu göstermiştir (Goodfellow ve diğ., 1979; Goodfellow ve Pirouz, 1982).

*Nonomuraea* ATCC 39727 suşundaki glikopeptid antibiyotiğinin biosentezini kodlayan gen kümesi 2003 yılında Sosio ve diğerleri tarafından izole edilmiş ve karakterize edilmiştir. Glikopeptidlerin teikoplanin ailesinin bir üyesi olan

bu glikopeptid Sosio ve diğerleri tarafından deklorommannozil-A40926 aglikanını yeni bir bileşik olarak izole edilmiştir.

*Streptosporangiaceae* familyasının üyelerinin zengin bir ticari ürün, kayda değer bir antibiyotik ve enzim üreticisi olduğu düşünülmektedir. *N. roseoviolacea*, carminomicin (Nakagawa ve diğ., 1983; Nakagawa ve diğ., 1989); *N. rubra*, maduromycin (Fleck ve diğ., 1978), *N. pusilla*, actinotiocin (Tamura ve diğ., 1973) ve *N. spiralis*, pyralomicin (Naganawa ve diğ., 2002) gibi antibiyotikleri sentezlemektedir.

*Nonomuraea* cinsi tanımlanmış 37 tür ve 2 alt türü içermektedir (<http://www.bacterio.net/nonomuraea.html> Aralık-2015).

### 2.1.5. *Streptomyces* cinsinin sistematığı, tarihçesi ve genel özellikleri

**Üstalem:** *Bacteria*

**Sınıf:** *Actinobacteria*

**Alt sınıf:** *Actinobacteridae*

**Takım:** *Actinomycetales* (Buchanan, 1917) (Zhi ve diğ., 2009)

**Alt takım:** *Streptomycineae* (Rainey ve diğ., 1997) (Zhi ve diğ., 2009)

**Familya:** *Streptomyetaceae* (Waksman ve Henrici, 1943) (Zhi ve diğ., 2009)

**Cins:** *Streptomyces* (Waksman ve Henrici, 1943)

Waksman ve Henrici tarafından 1943 yılında tanımlanan *Streptomyces* cinsi günümüze kadar tanımlanmış 778 tür ve 38 alttür ile aktinomisetlerin en geniş grubunu oluşturmaktadır (<http://www.bacterio.cict.fr/s/streptomycesa.html> Aralık-2015). Waksman ve Henrici yayınladıkları çalışmada, *Streptomyetaceae* familyasını dallanma gösteren ince miselyumlara sahip, spor oluşturan, nadiren bölmeli ya da bölmesiz hava hiflerine sahip, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinslerini içeren bir takson olarak tanımlamıştır. *Streptomyces* isminin; aerobik, saprofitik ve spor oluşturan bu bakteri cinsi için uygun olduğunu önermiştir (Waksman ve Henrici, 1943).

*Streptomyces* cinsinin 1943 yılında Waskman ve Henrici tarafından tanımlanmasını da kapsayan süreç içerisinde (1940-1957 yılları arasında) kısıtlı

fenotipik özelliklere dayalı olarak yapılan çalışmalarda binin üzerinde *Streptomyces* cinsine ait tür tanımlanmıştır (Pridham ve diğ., 1958). 1958’de Pridham ve diğerleri *Streptomyces* cinsini morfolojik özelliklerine göre değerlendirmiş, *Streptomyces* cinsinin morfolojik olarak bakterilerden çok mikrofungalara benzediğini görüp, botaniksel kodlamaya göre cins ve tür düzeyinde ikili adlandırmaya gitmişlerdir (Wellington, 2009).

1960’lı yıllara gelindiğinde *Streptomyces*’lerin yetersiz tanımlanması nedeniyle *Streptomyces* cinsi için tanımlayıcı standart kriterler, metotlar ve besiyerleri geliştirmek amacıyla “Taxonomy of Actinomycetes, American Society for Microbiology ve International Committee on Bacteriological Nomenclature” gibi komitelerin denetimi altında International Streptomyces Project (ISP) olarak adlandırılan kapsamlı bir çalışma başlatılmıştır. 1964- 1972 yılları arasında yapılan bu çalışmayla *Streptomyces* cinsinin, spor yüzey ve spor zincir morfolojileri, koloni rengi, melanin pigmenti üretilip üretilmediği ve karbon kullanımı gibi fenotipik özellikleri belirlenmiştir (Gotlieb, 1961; Shirling ve Gotlieb, 1967, 68a, 68b, 69, 72).

ISP projesini, 1983 yılında tamamlanan ve *Streptomyces* cinsinin nümerik sınıflandırmasını içeren çalışma takip etmiştir (Williams ve diğ., 1983). 1992 yılında Goodfellow ve diğerlerinin 252 *Streptomyces* türüne 273 birim karakterden oluşan nümerik taksonomik çalışmasıyla *Streptomyces* cinsi oldukça iyi tanımlanmıştır. 2001 yılında Anderson ve diğerlerinin “Taxonomy of *Streptomyces* and Related Genera” adlı çalışması *Streptomyces* literatürüne ışık tutmuştur.

Woese ve Fox’un rRNA molekülünün moleküler sistematiğe kullanılmasıyla birlikte tür tanımlamasında olmazsa olmaz taksonomik kriterlerden biri olan 16S rRNA gen bölgesi analizi eklenmiştir (Fox ve diğ., 1977; Woese, 1987; Jansen, 2006, Tindall, 2010). Ayrıca modern taksonomik prosedürlerin uygulanmasıyla *Streptomyces* cinsinin sınıflandırılmasında önemli gelişmeler olmuştur (Anderson ve Wellington, 2001; Hatano ve diğ., 2003; Lanoot ve diğ., 2004, 2005). Tanımlı türlerin birçoğu hem fenotipik hem de genotipik metodların beraberce kullanılmasıyla iyi şekilde tanımlanmıştır. Ancak yapılan çalışmalar 16S rRNA gen dizisinin çok yakın akraba türler arasındaki ayrımı yapmakta yetersiz kaldığını göstermektedir. Bu vesileyle özellikle DNA-DNA hibridizasyonu (DDH), çoklu gen bölgesi analizleri (MLSA) gibi diğer moleküler tekniklerle de çalışılması gerektiği vurgulanmaktadır (Rong ve diğ., 2009). Ayrıca son on beş yılda gelişen moleküler



teknikler sadece 16S rRNA gen bölgesinin değil tüm genomun dizi analizini yapmaya olanak sağlamıştır.

*Streptomyces*'lerin birçoğu kemoorganotroftir ve enerji gereksinimlerini karşılayıp gelişebilmek için temel karbon ve azot kaynağı olarak organik bileşikleri geniş çapta kullanabilirler. Bu organizmalar oksidatif metabolizmaya sahiptir ve DNA'nın yüzde G+C mol oranı, % 69-78 mol arasındadır (Kim ve diğ., 1999).

Çoğu *Streptomyces* mezofilik olmakla birlikte, psikrofilik ve termofilik *Streptomyces*'ler de mevcuttur. pH 6,5-8'de optimum gelişme gözlenirken asidik ya da alkali pH'da gelişen türlere de rastlanmaktadır.

*Streptomyces*'ler Kematip II hücre duvarına sahip olup hücre duvarı LL-DAP ve glisin içerirken karakteristik bir polisakkarite sahip değildir (Lechevalier ve Lechevalier, 1970). A3 $\gamma$  tipinde peptidoglikan yapısındadır (Schleifer ve Kandler, 1972). Aynı zamanda teikoik asitleri de içerir fakat mikolik asitleri içermezler (Naumova ve diğ., 1978; Vylegzhanina ve diğ., 1986; Goodfellow, 1989; Korn-Wendisch ve Kutzner, 1992).

*Streptomyces* türleri çok iyi gelişmiş bir miselyum yapısına sahiptir. Yaşam döngüsü boyunca morfolojik özellikleri birbirinden farklı üç yapı oluşturur. Bu üç yapıdan substrat miselyumu ortama çok kuvvetli bir şekilde tutunma özelliği göstererek ortamdaki besin maddelerini alır. Ardından yine toprak yüzeyine doğru gelişen diğer bir morfolojik yapı olan hava miselyumları oluşur. Substrat miselyumlarının üzerinde pek spor oluşumu gözlenmezken hava miselyumlarının üzerinde veya içinde spor zincirleri oluşur. Üreme bu hareketsiz sporlarla gerçekleşir ve yaşam döngüsü tamamlanır.

Hava miselyumları ince, uzun, oval veya küre şeklinde olup hareketsizlerdir. Cins 0,5-2  $\mu$ m çapında hifler üretir ve genellikle hava miselyumları substrat miselyumlarına göre daha kalındır. Hava miselyumu bol miktarda spor (conidia) ihtiva eder. Bazı suşların sporları düz olduğu halde bazılarının dikenlidir. Bunlarla birlikte tüyümsü veya siğilimsi olanlar da bulunabilmektedir (Anderson ve Wellington, 2001).

*Streptomyces*'lerin pigment üretme yeteneği sayesinde substrat ve hava miselyumları çok farklı renklerde olabilir. Aynı zamanda bu cins çözünür pigmentte üretmektedir ve böylece petri kapları üzerinde *Streptomyces* kolonileri mikromantar

ve aktinomiset dışındaki diğer bakterilerden kolayca ayırt edilebilmektedirler (Goodfellow ve Simpson, 1987).

*Streptomyces* cinsinin sınıflandırılmasına ilişkin bu kadar çalışma yapılmasına karşın ekolojisi ile ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır. *Streptomyces* türlerinin coğrafik dağılımı, mevsimsel, iklimsel farklılıkların ya da tarım ve çiftçilik uygulamaları ile insan müdahalesinin *Streptomyces* populasyonları üzerindeki etkisi hakkında bilgi sınırlıdır. Bu sınırlılığın sebeplerinden bir tanesi sayısız seçici olmayan besiyerinin *Streptomyces* izolasyonu için kullanılmasıdır. Seçici olmayan besiyerleri izolasyon yapılan bölgedeki gerçek *Streptomyces* oranının belirlenmesini engellemektedir. Doğal habitatlardan yapılacak ekolojik çalışmalarda seçici besiyerinin kullanılması ile bu sorunun aşılacağı düşünülmektedir (Sembring ve Goodfellow, 2008).

Toprağa kokusunu veren geosmin denilen seskiterpen bileşikleri sentezleyen *Streptomyces* cinsinin üyeleri toprak bakterileri olarak bilinmelerine rağmen, doğada hem sucul hem de karasal ortamlarda yoğun olarak bulunabilmektedir (Cao ve diğ., 2004; Semêdo ve diğ., 2004). Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki *Streptomyces* üyeleri bitki köklerindeki rizosfer, göl ve deniz sedimenti, bitki dokuları, yaprakla beslenen karıncalar gibi farklı habitatlarda da bulunabilmektedir (Jiang ve Xu, 1996; Castillo ve diğ., 2002; Tokala ve diğ., 2002; Ward ve Bora, 2006; Strap ve Crawford, 2006; Kost ve diğ., 2007; Ray ve diğ., 2013; Sembiring, 2009; Sazak, 2009; Şahin ve diğ., 2010; Veyisoglu ve Şahin, 2013).

*Streptomyces*'lerin toprak içerisinde dağılımını, gelişimini ve aktivitesini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler; besine ulaşılabilirlik, nem, sıcaklık, pH, toprak tipi ve mevsimsel değişimlerdir (Williams ve diğ., 1972; Williams, 1978; Atalan, 1993; Upton, 1994; Basilio ve diğ., 2003). *Streptomyces* türleri toprak içerisinde düşük oksijen konsantrasyonunda da gelişebilmektedir. Fakat karbondioksit oranı % 10'u aştığında mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmektedir. *Streptomyces* sporları kuraklığa dayanıklı olduğu için diğer bakterilerin toprakta bulunan vejetatif formdaki üyelerine oranla *Streptomyces* sayısı daha fazladır (Sembiring ve Goodfellow, 2008).

*Streptomyces* cinsinin termofilik, psikrofilik, asidofilik ve alkolofilik türleri de mevcuttur. Şahin 1995 yılında, kurak ve tropikal toprak örneklerinden termofilik *Streptomyces* türleri izole etmiştir. Ekstrem ortamlarda varolan bu bakteriler besin

durumuna göre sporulasyon ve çimlenme periyodunu izlerler (Vionis ve diğ., 1998). *Streptomyces* cinsine ait bazı türler insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde hastalık etkeni olarak bilinmektedir. Bir çok araştırmacı *Actinomycetes* bakterilerinin bitkilerle ilişkili olduğunu belirtmiştir (Coombs ve Franco, 2003; Qin ve diğ., 2009). Örneğin *Streptomyces scabies* patates, havuç ve turp gibi bitkilerde hastalık etkenidir (Hiltunen ve diğ., 2005). Bu türe ek olarak benzer etkileri olan *S. acidiscabies*, *S. turgidiscabies*, *S. europaeiscabiei*, *S. stelliscabiei* ve *S. reticuliscabiei* örnek olarak verilebilir (Miyajima ve diğ., 1998; Lambert ve Loria, 1989b; Bouchek-Mechiche ve diğ., 2000).

Asidik topraklara uyum sağlamış bir *Streptomyces* türü olan *Streptomyces asidophilus* genellikle 25-35 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişme göstermektedir. Buna karşılık +4 °C'de gelişebilen psikrofilik ve 45-55 °C'de gelişebilen termofilik türlerine de rastlanmaktadır (Goodfellow ve diğ., 1987; Kim ve diğ., 1996).

Son zamanlarda *Actinomycetales* takımına ait bakterilerin izolasyonu, teşhisi, karakterizasyonu ve biyoteknolojik açıdan üretmiş oldukları primer ve sekonder metabolitlerden dolayı geçmiş yıllarda özellikle *Streptomyces* türleri başta olmak üzere önemli çalışmalar yapılmıştır (Goodfellow ve diğ., 2007; Özdemir, 2008).

*Streptomyces* cinsi üyeleri en iyi bilinen antibiyotik ve biyoaktif sekonder metabolit üreticisidirler. Bu cinsi üyeleri kimyasal savaş için potansiyel olarak donatılmış olup doğal habitatlarda bakteriyal ve fungal rakiplerine karşı rekabet edebilmelerini sağlayan birçok antimikrobiyal bileşik üretme yeteneğine sahiptirler (Thompson ve diğ., 2002). Eritromisin, tetrasiklin gibi antibiyotikler, daunorubisin gibi antitümör ajanlar, rapamisin gibi immün baskılayıcı ve avermektin gibi antihelmantikler bu sekonder metabolitlerden sadece birkaç tanesini oluşturmaktadır (Chater, 1993). Üzerinde daha önce çalışılmamış bitki kök sistemi (Sembring ve diğ., 2000), derin deniz sedimentleri (Bull ve Goodfellow, 2000) gibi habitatlardan izole edilen *Streptomyces* cinsi üyelerinin ticari olarak önemli yeni biyoaktif bileşikler için potansiyel birer kaynak olduğu rapor edilmiştir (Qin ve diğ., 2009).

*Streptomyces* cinsinin üyeleri topraktaki biyopolimerlerin degradasyonunda önemli rol oynamaktadır (Wang ve diğ., 1989; McCarthy ve Williams, 1990). Bu sebeplerden dolayı endüstriyel öneme sahip ekstrasellüler karakterdeki; ksilanaz, sellülaz ve lipaz gibi birçok enzimin sentezinden sorumludurlar (Liu ve diğ., 1986;

Baker ve diğ., 2000; Guo ve diğ., 2002). Bu açıdan da endüstriyel ve biyoteknolojik öneme sahip organizma grubundadırlar.

Ayrıca birçok parçalanması zor bitki ve hayvan materyalini ve ksenobiyotik polimerik maddeleri parçalayarak karbon çevrimine katkıda bulunan az sayıda mikroorganizma grubundan birini oluşturmaktadırlar. Parçalayabildikleri polimerik maddeler arasında; (i) Polisakkaritler: nişasta, pektin, selüloz, kitin, lignoselüloz, (ii) Kopolimer (kazein, jelatin, hipoksantin), (iii) Proteinler (keratin, elastin) ve (iv) aromatik bileşikler gelmektedir (Kämpfer, 2006).

*Streptomyces violaceusniger*, *Streptomyces griseus* ve *Streptomyces hygroscopicus* suşlarının çok sayıda biyoaktif metabolit üretme yetenekleri yönünden diğer *Streptomyces* türlerine üstünlük sağladığı görülmektedir (Hayakawa ve diğ., 2004). Genom projesi tamamlanmış olan *Streptomyces coelicolor* türünün sekonder metabolit üretiminden sorumlu 29 gen kümesinin olduğu tahmin edilmektedir (Nett ve diğ., 2009). Bu nedenle nadir bulunan ve yaygın olmayan *Streptomyces* türlerinin izolasyonu ve sekonder metabolitler açısından taranması, doğal ürünlerin keşfinin çok önemli bir parçasıdır (Goodfellow ve Williams, 1986). Yapılan çalışmalar sonucunda cinsin üyelerinden yaklaşık 8000 kadar doğal biyoaktif sekonder metabolit elde edilmiştir (Berdy, 2005).

#### **2.1.6. *Microbispora* cinsinin sistematigi**

**Üstalem:** *Bacteria*

**Sınıf:** *Actinobacteria*

**Altsınıf:** *Actinobacteridae*

**Takım:** *Actinomycetales* (Buchanan, 1917) (Zhi ve diğ., 2009)

**Familiya:** *Streptosporangiaceae* (Goodfellow ve diğ., 1990) (Zhi ve diğ., 2009)

**Cins:** *Microbispora* (Nonomura ve Ohara, 1957)

*Microbispora* cinsi, Nonomura ve Ohara (1957) tarafından aerial miselyumları üzerinde boyuna eşleşmiş sporlar üreten *Actinomycetales* ordosunun bir cinsi olarak tanımlanmıştır. *Microbispora rosea* ATCC 12950<sup>T</sup> bu cinsin tip türüdür (Nonomura ve Ohara, 1957). Aynı yıl içerisinde bağımsız olarak Lechevalier ve Lechevalier (1957) tarafından *Waksmania* cinsi (tip türü *Waksmania rosea*)

önerilmiştir. Henssen (1957) *Thermopolyspora bispora* (= *Microbispora bispora*) adlı yeni bir tür tanımlamıştır. Bu iki cins günümüzde *Microbispora* (Lechevalier, 1965)'nın sinonimi olarak kabul edilmektedir. Daha sonraları bu cinse dahil edilen *Microbispora echinospora* ve *Microbispora viridis* türleri kemotaksonomik özellikleri dikkate alınarak Kroppenstedt ve diğ. (1990) ve Miyadoh ve diğ. (1990) tarafından *Actinomadura* cinsine transfer edilmiştir. Günümüzde 17 tür ve 2 alt türü bulunmaktadır (<http://www.bacterio.net/microbispora.html> Aralık-2015).

## 2.2 Prokaryotik Sistematik

Mikroorganizmalar geçmişten günümüze kadar çok çeşitli habitatlarda bulunmakta ve muazzam çeşitlilik göstermektedir. Her geçen gün artan mikroorganizma sayısı, onları belli özelliklerine göre tanımlama ve gruplandırma ihtiyacını doğurmuştur. Bu çalışmaların ilki mikroorganizmaların **filogenetik akrabalıklarını** belirleme yönündedir.

Nükleik asitlerin moleküler biyoloji teknikleri ile çalışılmasına dayalı olarak, mikroorganizmaların filogenisi incelenmektedir. Buradaki temel konu ise ribozomların yapısal RNA moleküllerinin karşılaştırmalı sekansları olacaktır. Bu çalışmaların sonucunda elde edilen veriler ise mikrobiyal filogeninin ilk gerçek görüntüsü hakkındaki bilgileri ortaya koymuştur. Aynı zamanda, ribozomların yapısal RNA moleküllerinin çalışılması, mikrobiyal ekoloji ve klinik tanımlar için de yeni araştırma araçlarını oluşturmuştur.

Mikroorganizmalar arasındaki filogenetik akrabalıkları belirleme çalışmaları ilk defa protein dizilerinin karşılaştırılması ile gerçekleştirilmiştir (Fitch ve Yasunobu, 1975; Schwartz ve Dayhof, 1978).

Bundan sonraki dönemde özellikle rRNA moleküllerinin dizi analizleri ile canlılar günümüzde *Archea*, *Bacteria* ve *Eucarya* olmak üzere üç farklı domaine ayrılmıştır (Woese, 1987). Bakteri sistematigi bacteria domainindeki canlıların *isimlendirilmesi*, *sınıflandırılması* ve *tanımlanması* prensibine dayanmaktadır (Şekil 2.2).

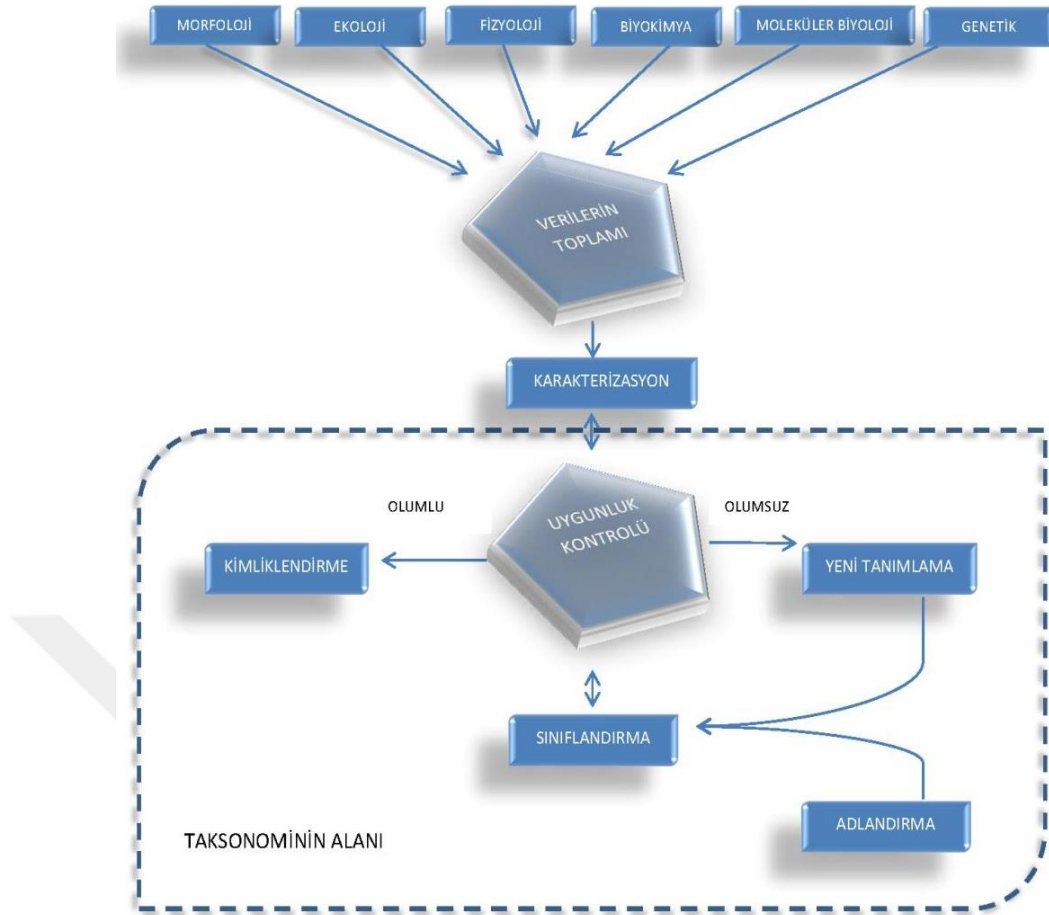
- **İsimlendirme** mikroorganizmaların taksonomik hiyerarşiye uygun olarak uluslararası nomenklatur kurallarına göre isim atanması işlemidir.
- **Sınıflandırma** organizmaların benzerlik ve farklılıklarına göre uygun taksonomik gruplara yerleştirilmesi işlemidir.

- **Tanımlama** ise organizmanın genotipik ve fenotipik veriler ışığında teşhis edilmesidir.

Birçok habitatta bulunan mikroorganizmaların yaklaşık % 99,8'i tanımlanamadığı için biyosentetik potansiyalleri de ortaya çıkarılamamaktadır (Wenzel ve Müller, 2005).

**İsmlendirme;** tür, cins, familya gibi taksonomik bir hiyerarşinin oluşturulmasında kullanılan terimlerden ve kurallardan oluşmaktadır. İsmlendirilmenin doğru şekilde yapılması için International Nomenclature of Bacteria (Lapage ve diğ., 1992)'nin birbirini izleyen basımlarında uluslararası kurallar ve tanımlanan isimlere değinilmektedir. Lapage ve diğerleri tarafından 1975 yılında yayımlanan "Bacteriological Code" daki iki yeniliğin prokaryotik nomenclature (adlandırma) üzerinde geniş kapsamlı etkileri olmuştur. 1 Haziran 1980'den itibaren uluslararası literatüre girmiş olan türlerin tanınması için "Bakteri isimlerinin onaylanmış listesi" (Approved lists of bacterial names)"nde yayınlanma zorunluluğu gelmiştir. Ayrıca yeni takson isimleri International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM; eski ismi International Journal of Systematic Bacteriology) adlı dergide yayımlandığında geçerli olmaktadır. Bu düzenleme tür, cins ve diğer taksonomik seviyelerin onaylı yeni isimlerinin kabul edilmesi işleminin tümünün IJSEM tarafından üstlenildiğini ifade etmektedir (Goodfellow ve Fiedler, 2010).

**Sınıflandırma;** organizmaları benzerlikleri ya da farklılıklarına göre taksonomik gruplara ayırma yöntemi olup sonuçta sistematik bir düzen oluşmaktadır. İki takson arasındaki akrabalık ilişkilerini göstermek için en kısa ve akılcı yol olan sınıflandırma, sabit bir isimlendirme ve güvenilir bir tanımlama için ön koşuldur ve genellikle tanımlama ile karıştırılmaktadır. (Trüper ve Schleifer, 2006; Goodfellow ve Fiedler, 2010) (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Bakteriyal bir izolatanın karakterizasyonu ve sınıflandırılması arasındaki ilişkiyi gösteren akış diyagramı. Beşgen şekli karakterizasyon ve sınıflandırma arasındaki iki önemli adımı temsil etmektedir (Trüper ve Schleifer 2006'dan uyarlanmıştır).

**Tanımlama;** incelenen organizmanın daha önce belirli bir taksonomik kategoriye yerleştirilmiş bir organizma olup olmadığının araştırılması işlemidir. Bir organizma tanımlanırken kemotaksonomik, moleküler sistematik, nümerik taksonomik metodların uygulanmasıyla elde edilen fenetik ve genetik özellikler temel alınmaktadır. Polifazik taksonomi olarak adlandırılan bu uygulama Colwell tarafından 1970 yılında yüksek kaliteli veri setleri elde etmek amacıyla literatüre kazandırılmıştır (Vandamme ve diğ., 1996; Goodfellow ve diğ., 1997; Gillis ve diğ., 2005). Polifazik taksonominin kullanılması, sınırlarının sürekli revize edildiği *Actinobacteria* ve *Cyanobacteria* gibi prokaryot grupların sınıflandırılmasında nitelikli gelişmelere yol açmıştır (Goodfellow ve diğ., 2006; Kroppenstedt ve diğ., 2006; Gupta, 2009; Goodfellow ve diğ., 2010). Son derece korunmuş makromoleküllerin dizilenmesi özellikle 16S rRNA gen bölgesinin dizilenmesi cins ve üzeri taksonomik seviyelerde filogeninin belirlenmesinde değerli bilgiler

sağlamıştır (Woose, 1987; Rossello-Mora ve Amann, 2001; Ludwig ve diğ., 2005). Bununla birlikte DNA:DNA homolojisi, moleküler parmak izi ve fenotipik tekniklerin birlikte kullanılmasıyla tür ve alt tür düzeyinde sınıflandırma yapmak mümkün olmuştur (Bassam ve diğ., 1992; Rosseló- Mora ve diğ., 2001; Stackebrandt ve diğ., 2002; Coenye ve diğ., 2005; Tindall ve diğ., 2010).

Archaea ve Bacteria domainlerine mensup cinslerin, çeşitliliğinin ve birbirleriyle ilişkilerinin araştırılıp, incelendiği çalışmalar prokaryotik sistematigi oluşturmaktadır. Taksonomi ve sistematik kelimeleri genellikle eş anlamlı kullanılmasına rağmen birbirinden farklı iki biyolojik terimdir. Sistematik; organizmaları düzenli biçimde karakterize edip sıraya koyan bilimsel bir çalışmadır (Madigan ve Martinko, 2009). Taksonomi genelde biyolojik sınıflandırma bilimi olarak tanımlanmaktadır. Cowan (1968), taksonominin bileşenlerini; sınıflandırma, isimlendirme ve tanımlama şeklinde belirtmiştir.

### **2.2.1. Moleküler sistematik**

Nümerik taksonomi; nümerik olarak kodlanan ve birer karakter şeklinde ifade edilen veriler için matematiksel yöntemlerin uygulanması ve organizmaların kapsamlı benzerliğine dayanarak kümelere yerleştirilmesiyle, dendogram şeklinde ilişkilerin ortaya konması iken (Manfio, 1995), moleküler sistematikte farklı mikroorganizmalardaki nükleotitler arasındaki farklılıklar, sınıflandırma ve filogeni arasındaki ilişkiyi açıklamada bir görüş sağlamıştır. Mikrobiyal sistematikte tarihi dönüm noktası olarak görülmüş en değerli gelişim; milyonlarca yıl önce ortak bir atadan ayrılma sonucunda meydana gelen mikroorganizmalarla, genomlarında kaydedilir bir farklılığa sahip mikroorganizmalar arasındaki ilişkinin belirlenmesi olmuştur. Ökaryotlarla karşılaştırıldığında prokaryotlardaki nükleik asitlerin korunmuş bölgelerinin çok daha fazla olduğu bilinmektedir (Koçak, 2012).

Bakterilerin filogenetik akrabalıklarının ortaya çıkarılmasında fenotipik yöntemler yeterli olmadığından moleküler tekniklere ihtiyaç duyulmuştur. Canlılığı oluşturan genetik yapının çözülmesi ve bu genlerin yerlerinin saptanması, işlevlerinin anlaşılması, ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu çalışmalarla geliştirilen yöntemlerin en önemlilerinden birisi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR)'dur.



Prokaryotik türlerin tanımlanmasıyla ilgili bir standardın oluşturulması amacıyla 2002 yılında Ad-Hoc komitesi tarafından araştırmacılara çeşitli önerilerde bulunulmuş ve prokaryotik sistematığın gelişmesine önemli katkıda bulunulmuştur. Bu komitenin aldığı kararlardan biri prokaryotik tür tanımlanırken % 70 ve üzeri DNA:DNA hibridizasyonu, % 97'nin üzerinde 16S rRNA gen dizisi özdeşliği ve belirli derecede fenotipik tutarlılığın temel alınması önerilmiştir. Ayrıca yeni tanımlanan bakteri türlerinin en az iki kültür koleksiyonuna depozit edilmesi de karara bağlanmıştır (Stackebrandt ve diğ., 2002; Coenye ve diğ., 2005).

Son yıllarda; genom dizileme teknolojisindeki gelişmeler sayesinde prokaryotik organizmaların tüm genomunun analizine olanak sağlamıştır. Ekim 2013'te 11512 prokaryotik genom analizi tamamlanmıştır (Fleischmann ve diğ., 1995; Fraser ve diğ., 1995; Lagesen ve diğ., 2010). Prokaryotik taksonların tanımlanmasında kullanılan yöntemler Tindall ve diğerleri tarafından ayrıntılı olarak ele alınmış, genomik metodların güçlü ve zayıf yönleri Schleifer tarafından aydınlatılmıştır (Tindall ve diğ., 2010; Schleifer, 2010 ).

### 2.2.1.1 Mikrobiyal çeşitlilik

Mikroorganizma genomları yeryüzündeki genetik çeşitliliğin önemli bir kaynağını oluşturmaktadır (Whitman ve diğ., 1998; Ferrer ve diğ., 2009).

Her geçen gün tanımlanarak literatüre kazandırılan mikroorganizma sayısı artmaktadır. Mikroorganizmalar yeryüzündeki yaşam için gerekli olan biyosfer döngülerinin muhtemel dönüştürücüleridir (Whitman ve diğ., 1998). Mikroorganizmalar yeryüzündeki her habitatta su, toprak, hava, asidik, sıcak bölgeler, buz kütleleri ve aşırı kirlenmiş çevrelerde bulunur. Üstelik bu canlılar bitki ve hayvanların canlı yapılarında ve organik maddelerde bulunur. Örneğin insan vücudundaki hücrelerden ( $10^{13}$ ) çok daha fazla sayıda ( $10^{14}$ ) bakteri hücresi bulunmaktadır (Savage, 1977). Yeryüzündeki bakteri ve arke hücrelerinin toplam sayısının  $4-6 \cdot 10^{30}$  tahmin edilmekte ve 70 filumdan daha fazlası içinde  $10^6$  farklı **genotür**'den daha fazlasını kapsamaktadır (Curtis ve diğ., 2002; Pace, 2009; Whitman ve diğ., 1998). Üstelik bakteri ve arkelerin karbon miktarı, bitkilerin toplam karbon sayısı ile neredeyse aynı olduğu tahmin edilmektedir. Mikroorganizmaların büyük çoğunluğu deniz suyu ( $10^4-10^7$ ), toprak ( $10^6-10^9$ ), sediment ( $10^5-10^8$ ) ve toprak alt yüzeyinde bulunur.

Bu nedenle yeryüzü biyotasının önemli bir bölümü mikroorganizmalardan oluşur ve bu organizmalar hakkındaki giderek artan bilgi gezegendeki yaşamın sürdürülebilirliğini ve gelişimini tamamen anlamak için esastır (Singh, 2009). Yeryüzündeki genetik çeşitliliğe ulaşmanın geleneksel yolu istenilen bir özelliği ifade eden organizmaları araştırmaktır. Fakat bu metot organizmaların çalışılması için muhtemel kültüre edilmesine bağlıdır. Şu anki kültüvasyon tekniği çevresel örneklerdeki çeşitliliğin küçük bir kısmını kapsadığı için varolan mikrobiyal kaynakların çok azı bilinmektedir (Amann ve diğ., 1995; Rappe ve Giovannoni, 2003).

### **2.2.1.2 Doğal ürünler**

Canlı organizmalar bir dizi doğal ürün sağlamaktadır. Bazıları insanoğlu için çok faydalı olmaktadır. Genelde bu ürünler mikroorganizmalar, bitkiler, böcekler, kuşlar ve memeli gibi canlı organizmalardan elde edilir (Berdy, 2005). 170.000'den daha fazla doğal ürün bugün bilinmektedir ve her yıl 700 yeni yapı sadece mikroorganizmalardan elde edilmektedir (Wiley-VCH Antibase, 2009). Elde edilen mikroorganizma ürünleri tıp, tarım, endüstri ve akademik alanlarda kullanılmaktadır. Biyolojik katalizörlerin her geçen gün kullanım alanı da artmaktadır. Antibiyotik, antikanser ajanları ve bağışıklık sistemi güçlendirici gibi potansiyel tedavi edici uygulamalı doğal bileşikleri araştırmak için birçok çaba harcanmaktadır (Singh ve Pelaez, 2008).

Son yıllarda mikroorganizmalar insan sağlığını iyileştiren birçok tıp ajanlarını üretmenin yanı sıra birçok antibiyotiği de üretmektedir (Gillespie ve diğ., 2002). Prokaryotlar içinde filamentli aktinomisetler (özellikle *Streptomyces* cinsi) bu yeni antibiyotiklerin en üretken kaynağıdır (Bérdy, 2005; Goodfellow ve Fiedler, 2010).

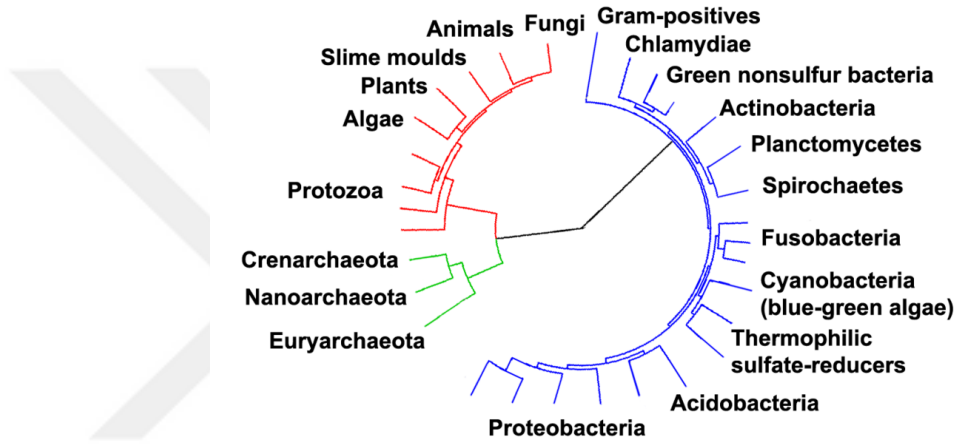
### **2.2.1.3 Filogenetik ilişkileri belirlemede kullanılan parametreler**

Prokaryotlar arasındaki filogenetik ilişkileri saptamak amacıyla çeşitli makromolekülleri analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler *DNA*, *RNA* ve proteinlerin *dizi analizleri* ve *genomların hibridizasyonu* olarak sıralanmaktadır. 16S rRNA dizilerine bağlı olan dallanma modelleri oldukça güvenilir sonuçlar elde edilmesine olanak sağlamıştır. Bu sayede, filogenetik ağaç oluşturmada 16S rRNA

dizi verileri analizi anahtar molekül oldu ve *evrimsel kronometre* olarak kullanılmaktadır.

#### 2.2.1.4 16S rRNA gen bölgesi

Çoğaltılma işlemi oldukça kolay olan 16S rRNA molekülünün dizi analizi çalışmaları mikrobiyal taksonomide en çok kullanılan tekniklerden biridir. Bu teknik ile tüm canlılar Archaea (Arkeler), Bacteria (Bakteriler) ve 18S rRNA ile de Eukaryote (Ökaryotlar) olmak üzere üç büyük üst aleme ayrılmıştır (Woese, 1987; Embley ve Stanckebaradt, 1994) ( Şekil 2.3 ).



**Şekil 2.3.** 16S rDNA gen dizilimi karşılaştırmasına dayanan evrensel filogenetik ağaç (Pace 1997).

RNA'nın bir alt birimi olan ve toplam uzunluğu yaklaşık 1540 nükleotitten ibaret olan 16S rRNA gen bölgesi, filogenetik ilişkinin belirlenmesinde ve bakteriyal tanımlama çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek oranda korunmuş bölgeleri içeren ve tür için spesifik olan 16S rRNA gen bölgesi prokaryotik türlerin tanımlanmasında oldukça faydalıdır (Brown-Elliott, 2006). Korunmuş bölgeler yavaş evrimleştikleri için taksonomik karşılaştırmaları sağlayacak verileri içermektedir. 16S rRNA sekans verileri genbanklarda deposit edilmekte ve ihtiyaç duyulduğunda bu veriler gen bankalarından kolaylıkla elde edilebilmektedir (Brown-Elliott, 2006; Zhi ve Stackebrandt, 2009; Tindall ve diğ., 2010).

Yapılan karşılaştırmalar sonucu prokaryotik bir organizmanın 16S rRNA dizisinin diğer prokaryotlardan % 3'den fazla farklılık göstermesi, bu organizmanın yeni bir tür olduğunu gösterir. Bunu destekleyen en önemli veri, 16S rRNA dizisinde % 98,5'den az benzerlik göstermiş olup, bu iki bakterinin DNA:DNA homolojisi

yapıldığında % 70'den daha yüksek bir değer elde edildiği hiçbir örneğin varolmamasıdır (Konstantinidis ve Tiedje, 2007). Yapılan çalışmalar 16S baz dizilemenin bazı durumlarda genomik DNA hibridizasyonuna göre organizmaları tür seviyesinde ayırma gücü yetersizliğini göstermektedir. 16S baz dizisi çok benzer ve hatta birebir olan bazı organizmaların oldukça farklı bir genoma sahip olduğu görülmüştür. Bu yüzden %97'den fazla dizi benzerliği görülen durumlarda genomik hibridizasyon yeni türlerin tanımlanması için önemli bir taksonomik tekniktir (Coenye ve diğ., 2005, Stackebrandt, 2006; Goodfellow ve Fiedler, 2010). Bunlarla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar sadece 16S rRNA gen bölgesinin yeni bir türü belirlemek için yeterli olmadığını gösteren literatürler de mevcuttur (Kirby ve diğ., 2010).

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

rRNA dizilerini temel alan filogenetik ağaç bu genlerin filogenetik geçmişini doğru şekilde yansıtsa bile, bütün olarak türün geçmişini doğru yansıtmayabilir. Örneğin; lateral gen transferiyle bazı türlerin genomlarında farklı zamanlarda oluşmuş farklı özellikler, bir mozaik halinde bulunabilir. Her ne kadar rRNA dizilerinin türler arası transferi olasılık dışı gibi görünse de diğer genlerde bu transfer olabilir. Bu sebeple bir genomun tarihini ve tür içindeki mozaikliği görmek adına aynı türde farklı gen bölgelerinin filogenisine bakmak önemlidir (Eisen, 1995; Coenye 2005). Sonuç olarak rRNA dizilerinin birçok bakteride çoklu kopyalarının olduğu bilinmektedir. Bu türleri karşılaştırmakta kullanılan genler ortholog değil de paralog olabilir ve bu da oluşturulan gen ağaçlarının tür ağaçlarından farklı olabilme

ihtimalini de beraberinde getirmektedir. Bu nedenle, mikrobiyal sistematiğe ilgilenen araştırmacılar rRNA dizileriyle karşılaştırabilecekleri diğer DNA dizilerine yönelmişlerdir.

16S rRNA gen sekansları ve DNA-DNA hibridizasyon (DDH) analizleri, cins içersindeki türlerin filogenetik olarak sınıflandırılmasında kullanılmaları, tür ve tür üstü kategorilerde filogenetik ilişkileri ortaya koymaları bakımından modern bakteriyal taksonominin ‘altın standardı’ olmalarına rağmen aynı türe ait organizmalar arasındaki ayırt ediciliği ortaya koyması bakımından yetersiz kalmaktadır (O’Donnell ve diğer., 1993). Bunun için yapısal (housekeeping) gen sekanslarının kullanımı, 16S rRNA gen sekans analizlerinin tamamlayıcısı olarak tür seviyesinde belirlemeyi sağlamak için önerilmektedir (Stackebrandt ve Ebers, 2006; Everest ve Meyers, 2009; Kirby ve diğer., 2010) (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1.** Bakterilerin sınıflandırılmasında kullanılan tekniklerin taksonomik seviyelerdeki kullanımı (Staley, 2006).

<b>Takson Seviyesi</b>	<b>Fenotipik Özellikler</b>	<b>16S rRNA</b>	<b>DNA:DNA Hibridizasyonu</b>
<b>Domain</b>	+	+	-
<b>Alem</b>	+	+	-
<b>Şube</b>	+	+	-
<b>Sınıf</b>	+	+	-
<b>Ordo</b>	+	+	-
<b>Familiya</b>	+	+	-
<b>Cins</b>	+	+/-	+/-
<b>Tür</b>	+	-	+/-
<b>Alttür</b>	+/-	-	-



### 3. MATERYAL-METOT

#### 3.1. Toprak Örneklerinin Seçimi ve Kaynakları

Bu çalışma için Ege Bölgesi'nde bulunan Gökçeada'nın Aydıncık, Eşelek Barajı, Eşelek köyü, Yıldız koyu, Zeytinli ve Zirve olmak üzere 6 farklı lokalitesinden steril koşullarda toprak örnekleri alınmıştır ve soğuk zincirde laboratuvar ortamına getirilmiştir. Laboratuvar ortamında steril petripler içerisine konularak toprakların kuruması sağlandıktan sonra dilüsyon plak yöntemi uygulanarak aktinomisetler için seçici besiyeri ortamlarında aktinomisetlerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu toprak örnekleri kullanıma kadar +4°C'de korunmuşlardır. İzolasyon çalışmasının yapıldığı toprak örneklerinin laboratuvar kodu, toprak tipleri ve alındıkları lokaliteler Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** *Actinobacteria* sınıfı mikroorganizmaların izolasyon çalışmasının yapıldığı toprak örneklerinin laboratuvar kodu, toprak tipi ve lokaliteleri.

Kodu	Toprak Tipi	Lokalitesi
ZEY	Zeytinliköy Toprağı	Gökçeada
AYD	Aydıncık Toprağı	Gökçeada
BAR	Eşelek Barajı Toprağı	Gökçeada
EŞE	Eşelek Toprağı	Gökçeada
YIL	Yıldız Koyu	Gökçeada
ZIR	Zirve Toprağı	Gökçeada

#### 3.2. Toprakların fizikokimyasal özellikleri

Her bir toprak örneğinden 20-25 g tartılarak 100 ml'lik behere konuldu ve iyonizasyon için yavaşça saf su eklenerek toprak örneği suya doyuncaya kadar karıştırıldı. Saf su ilavesi örnekler üzerinde ince bir su tabakası oluşunca kesildi. Örneklerin pH'ları 24 saat sonunda cam elektrod pH metre ile ölçüldü ve ortalamaları alındı (Model 292, Unicam Ltd.). Toprak örneklerinin pH, kireç kapsamı (% CaCO<sub>3</sub>), organik madde miktarı, % nem ile tekstür (% Kum, % Silt ve % Kil) analizleri gibi bazı fizikokimyasal özellikleri belirlendi (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** Ege Bölgesi'ndeki gökçeada'dan alınan toprak örneklerinin bazı fizikokimyasal özellikleri.

Toprak Örneği	pH	%OM	%CaCo3	%nem	Tekstür
Aydıncık	7,43	2,02	2,04	3,67	Kumlu killi tın
Eşelek köyü	7,18	2,87	1,80	3,72	Kumlu tın
Eşelek barajı	7,05	3,15	1,33	1,02	Kumlu killi tın
Zirve	6,76	1,92	1,61	1,88	Kumlu killi tın
Zeytinli	6,68	3,62	7,88	3,13	Killi tın
Yıldız koyu	7,24	2,81	3,19	1,68	Killi tın

### 3.3. Mikroorganizmaların İzolasyonu

Bu çalışmada kullanılan kültür ortamları ile solüsyonların içeriği ve hazırlanışları Ek-A ve Ek-B'de verilmiştir.

#### 3.3.1 Dilüsyon Plaka Yöntemi

Her bir toprak örneğinden 20-25 g alınıp oda sıcaklığında etiketli petripler içinde yaklaşık 1 ay bekletildi ve kurutulan toprak örnekleri birbirine karışmayacak şekilde havanla 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 20 ml'lik şişelere kondu.  $10^{-1}$ 'lik dilüsyonların her biri, toprak kolloidlerine tutunmuş olan mikroorganizma sporlarını ve miselyumlarını toprak kolloidlerinden ayırmak için 30 dakika boyunca çalkalandı. İzolasyon plaklarındaki vejetatif formlara bağlı kontaminasyonu azaltmak için  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlı sıcak su banyosunda 20 dakika bekletildi.  $10^{-2}$  dilüsyonunu hazırlamak için, içerisinde steril 4.5 ml Ringer çözeltisi bulunan tüplere vorteks karıştırıcı (Fisons Scientific Apparatus Ltd., Loughborough, Leicestershire, England, UK) ile karıştırılan  $10^{-1}$  dilüsyonundan, otomatik pipet (P1000:Gilson, Anacham Ltd., Luton Bedfordshire, England, UK) ile alınan 0.5 ml toprak çözeltisi ilave edildi. Aynı işlem  $10^{-3}$  lük dilüsyon için de tekrarlandı (Sembiring, 2000; Sivakumar, 2008 ).

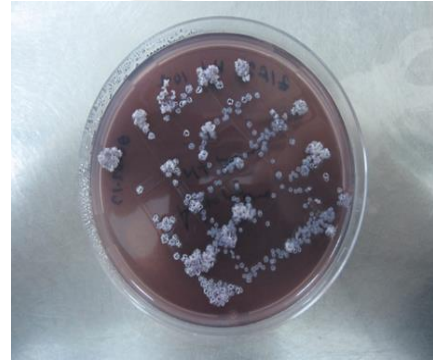
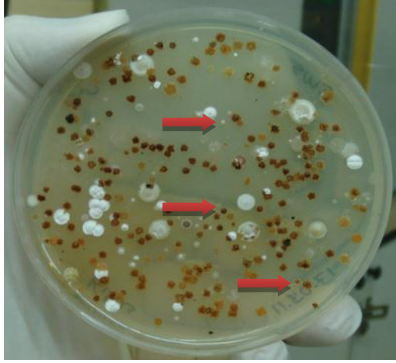
Homojenizasyonu sağlanan  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  lük dilüsyonlardan otomatik pipet (P200:Gilson, Anachem Ltd.) ile alınan çözeltiler (0.2 ml), cycloheximide ( $50\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ ), rifampicin ( $0.5\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ ) ve nalidiksik asit ( $10\text{ mg ml}^{-1}$ ) ilaveli Hümik asit vitamin agar (Yamamura ve diğ., 2003), ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966), ISP5 agar (Pridham ve diğ., 1956–1957), SM1 Stevenson's (Tan ve diğ., 2006), SM2 Stevenson's agar (Tan ve diğ., 2006), SM3 agar - Gauze's agar (Tan ve diğ., 2006), Czapek's dox agar (CD) (Bower ve Hucker, 1930) ve Nisaşta Kazein agar (SC)



(Bower ve Hucker, 1930) ortamlarına inoküle edildi. Her bir dilüsyon için 8 plak hazırlandı. İnokülasyonlu plaklar, O<sub>2</sub> girişine izin verecek şekilde 30 °C'deki etüvde 10-14 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Çalışma boyunca tek kullanımlık steril plastik petriler (90 mm, disposable petri dishes, Sterillin, UK) kullanılmıştır.

### 3.3.2 İzolatların Seçimi ve Saflaştırılması

Ardışık dilüsyonlarla farklı seçici besiyerlerine aktarılan örnekler 30 °C'de 10-14 günlük inkübasyonun ardından plaklardaki aktinomiset benzeri kolonileri belirleyebilmek için **koloni morfolojileri dikkate alınarak** gözle ve binoküler mikroskopla (X 400 büyütme; Nikon Kogaku K. K; Tokyo, Japan) olası aktinomiset üyeleri seçildi. Belirlenen aktinomiset ve benzeri koloniler steril kürdanlar kullanılarak cycloheximide (50 µg ml<sup>-1</sup>) 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 çizgi ekim yöntemi ile transfer edildi ve 2 hafta süreyle inkübasyona bırakıldı. Bu işleme saf koloniler elde edilene kadar devam edilmiştir. 30 °C'de 14 günlük inkübasyon sonrasında transferi yapılmış plaklardan saf izolatlar elde edilmiştir (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** SM3 seçici izolasyon besiyerlerinde gelişen kolonilerin seçilimi ve yoğun ekimleri

### 3.3.3 İzolatların Stoklanması

Toprak izolasyonu sonucunda, makroskopik ve mikroskopik görüntülerine göre seçilen toplam 150 izolat cycloheximide (50 µg ml<sup>-1</sup>) ve rifampisin (0,5µg ml<sup>-1</sup>) 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 30 °C'de ve 14 gün boyunca inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda her bir suş % 20'lik gliserol içeren otoklavlanabilir 1,5 ml'lik vidalı kapaklı tüpler içerisine steril bir öze veya kürdan yardımı ile transfer edilerek -20 °C de stoklanmıştır (Wellington ve Williams, 1978).

Gliserolde stoklama tekniği; gliserolün hücre zarını yumuşak tutarak erime ya da donma sırasında zarın parçalanmasına engel olma özelliği olmasından dolayı suşların uzun süreli muhafazasında liyofilizasyondan sonra en güvenilir teknik olarak kabul edilmektedir.

### **3.4 DNA İzolasyonu**

#### **3.4.1 Genomik DNA İzolasyonu**

Test organizmalarının DNA izolasyonu; PureLink® Genomik DNA İzolasyon Kiti (İnvitrogen, USA) kullanılarak gerçekleştirildi.

Test organizmaları, iyi gelişebildikleri besiyerine göre cycloheximide (50 µg ml<sup>-1</sup>) ilaveli tripton yeast glukoz ekstrakt agar (Blackall ve diğ., 1989) veya glukoz yeast ekstrakt agar (Gordon ve Mihm, 1962) kültür ortamında 28 °C'de 7 gün süre ile geliştirildi. İnkübasyon sonrası, her bir izolattan bir öze dolusu kültür alınarak yine besiyeri isteklerine göre 30 ml trypton yeast glikoz (TYG) extract broth, glukoz yeast ekstrakt (GYE) broth veya N-Z amin broth bulunan 50 ml'lik erlenlere transfer edildi. Kültürler çalkalamalı inkübatörde 28 °C'de 160 rpm (dakikadaki devir)'de 3-10 gün süre ile geliştirildi. Saflıkları kontrol edildikten sonra steril eppendorflara kültürlerden 1,5 ml ilave edildi ve 13 000 rpm 'de 10 dk santrifüj edildi.

Santrifüj sonrası üst faz uzaklaştırılıp ddH<sub>2</sub>O 1 defa, TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8) tamponunda 2 defa olmak üzere toplam 3 kez yıkandı (Sambrook ve diğ., 2001) ve hücre pelletleri DNA ekstraksiyonuna hazır hale getirildi.

#### **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 banyosunu (veya ısıtıcı bloku) 37 °C ve 55 °C sıcaklığa ayarlandı.
3. 2 µl Tiriton-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 hazırladığımız 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 hazırladığınız 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 hücre DNA'sı elde edildi.
12. Saflaştırılan DNA -20 °C'de saklandı.

### 3.4.2 DNA İzolasyon Kontrolü

DNA örnekleri, izolasyon işleminin bir sonucu olarak geleneksel bir metot olan agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edildi. İzole edilen DNA örneklerinin agaroz jelde görünür hale gelebilmesi için agaroz jel içerisine floresan özellik gösteren etidyum bromür boyası ilave edildi. Etidyum bromür, çift zincirli DNA'nın baz çiftlerine bağlanarak 254 veya 312 nm dalga boyunda UV transillüminatörde kırmızı floresans yayma özelliği gösterir. Bu özellik, şayet DNA izole edilmiş ise UV transillüminatör üzerinde, agaroz jelde kırmızı bantların oluşmasını sağlayacaktır.

Elektroforez tablası çalışma alanı üzerinde zemini düz olan bir yere bırakıldı. DNA örneklerini görüntülemek için 35 ml 1xTBE içerisinde % 1 (w/v)'lik, 4 µl etidyum bromür (10 mg/ml) ilaveli agaroz jel hazırlandı. Hemen sonra tablaya hava kabarcığı oluşmayacak şekilde agaroz jel döküldü. Taraklar dikkatli bir şekilde yerleştirildi. Katılaştıktan sonra taraklar çıkarıldı ve elektroforez tablası içinde 1xTBE bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. Tarağın oluşturduğu hollere her bir DNA örneğinden 3 µl alınarak jel yükleme tamponu (brom fenol mavisi) ile birlikte yüklendi.

Agaroz jel elektroforez için gerekli solüsyonların hazırlanışı ve saklama koşulları Ek-B'de verilmiştir.

### 3.4.3 16S rDNA'nın PZR Çoğaltması

Test izolatlarının 16S rRNA gen bölgesi 27f ve 1525r primerleri (27f:5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' ve 1525R:5'AAGGAGGTGWTCCARCC-3' Lane, 1991) kullanılarak Thermal Cyclers (PCR Express, ThermoHybaid, Middlex, UK)'da amplifiye edildi.

Polimerize zincir reaksiyonları için Promega firmasından temin edilen GoTaq Hot Start Master Mix (Promega Corporation, USA) kullanıldı. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonunda kullanılan her bir örnek için 50 µl ölçüdeki bir reaksiyon karışımı Çizelge 3.3'te verilmiştir.

**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

Reaksiyon karışımı her bir örnek için kalıp DNA dahil 50 µl olacak şekilde tüplere buz üzerinde transfer edildi. Düşük devirde vortekslenip, mikrosantrifüjde kısa süreli döndürüldü.

PZR reaksiyonu Çizelge 3.4.'teki şartlarda başlatıldı.

**Çizelge 3.4.** 16S rRNA gen bölgesi amplifikasyonu için optimize edilmiş PZR sıcaklık döngü düzeni.

İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	94	2	1
Denatürasyon	94	1	35
Bağlanma	55	2	35
Uzama	72	3	35
Son uzama	72	8	1
Reaksiyon sonrası saklama	4		

%1'lik kontrol agarozunda (Agaroz Serva) 3 µl PZR ürünü DNA markör ile yürütülerek hedef bölgenin varlığı tespit edildi.

#### **3.4.4. 16S rDNA Sekans Verilerinin Eldesi, Analizi ve Filogenetik Dendrogramların Oluşturulması**

PZR amplifikasyon ürünleri elde edildikten sonra çalışma izolatlarımızın 16S gen bölgesinin baz dizi analizi MacroGen firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen bölgesinin baz dizilimi, farklı 5 oligonükleotit primeri (Çizelge 3.5) ile MacroGen firması tarafından ABI 3730XL otomatik baz dizi cihazı ile belirlenmiştir.

ABI formatındaki kromatogram dosyaları fasta formatına dönüştürüldükten sonra Chromas pro 1.7.6 programı kullanılarak diziler birleştirildi. Mega 6 (Tamura

ve diğ., 2011) programı kullanılarak hizalama için CLUSTAL\_W yöntemi ile yapıldı. EzTaxon server (URL-13; Kim ve diğ., 2012) kullanılarak izolatların en yakın akraba organizmalarla olan 16S rRNA nükleotit benzerliği belirlendi. Farklı primerler kullanılarak hazırlanan 16S rRNA gen dizileri, filogenetik ilişkilerin belirlenebilmesi amacıyla analizlerde kullanılmıştır.

Ez Taxon Server (URL-1; Kim ve diğ., 2012) kullanılarak test izolatlarına en yakın akraba olan türlerin 16S rRNA gen dizileri NCBI; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, Silva; <http://www.ebi.ac.uk> adreslerinden indirilerek elde edilmiştir. 16S rRNA nükleotid baz dizileri ile test örneklerinin baz dizileri MEGA 6 (Tamura ve diğ., 2011) programı kullanılarak karşılaştırmalı olarak hizalanmıştır. Bu diziler ve test organizma dizilerinin hizalama işlemleri MEGA 6 (Tamura ve diğ., 2011) programlarında birbirleriyle hizalandırılmış ve daha sonra aynı programda, filogenik analiz bölümüne geçilmiştir. 16S rRNA baz dizilerinin çoklu hizalanması sonrasında filogenetik soyağaçları neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanılarak oluşturulmuştur. Neighbour-joining algoritması için filogenik uzaklık matrisi Jukes-Cantor metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Filogenik analizler için oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri 1000 tekrarlı olarak MEGA 6 (Tamura ve diğ., 2011) paket programında elde edilmiştir. Test izolatlarının yüzde benzerlik tabloları ve nükleotit farklılıklarını gösteren tablolar PHYDIT paket programı kullanılarak yapılmıştır.

### Çizelge 3.5. 16S rRNA gen bölgesi amplifikasyon ve sekans primerleri

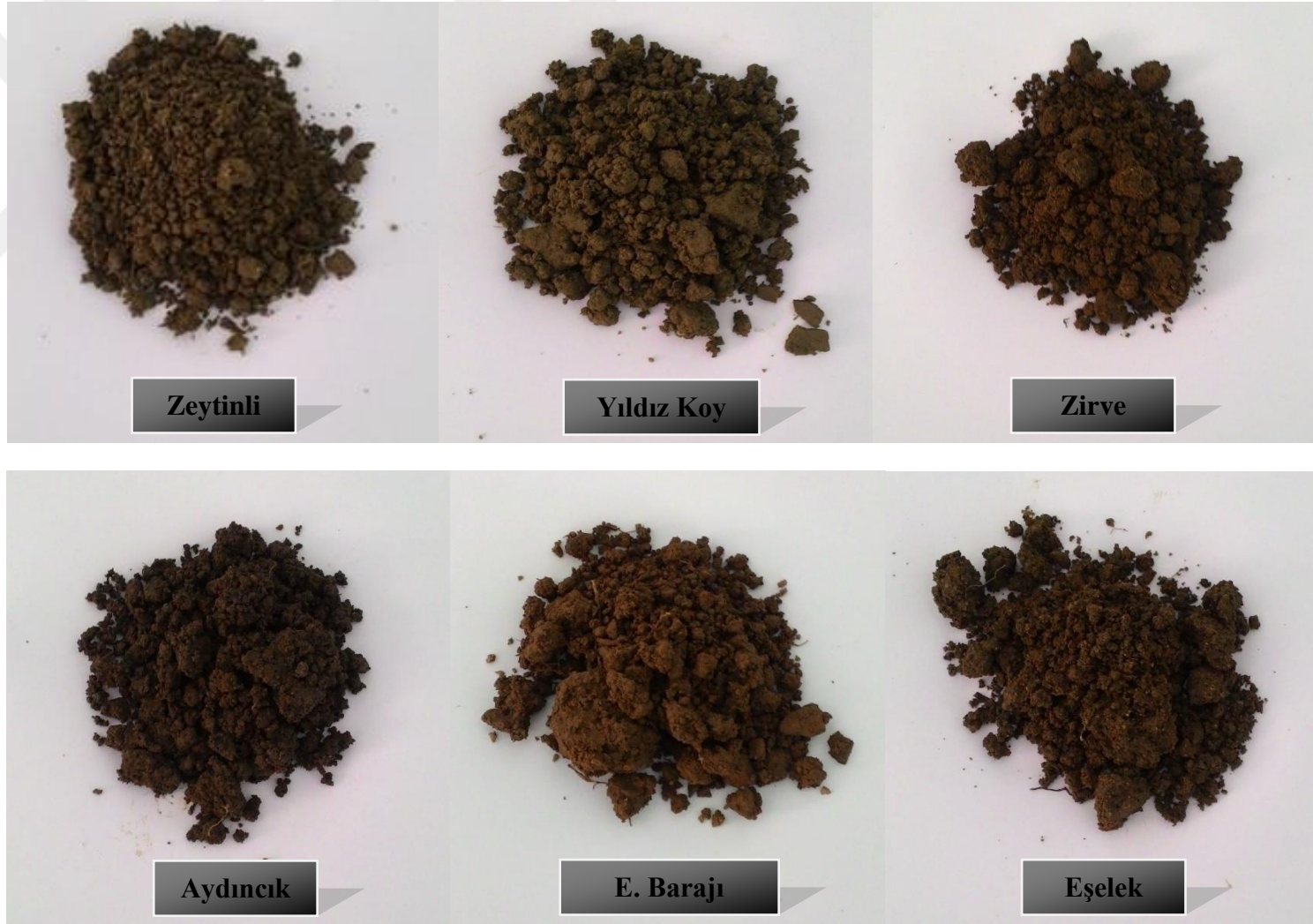
Primer Adı	Sekans (5' ve 3')*	Büyükük (bc)	Kaynak
800r	TACCAGGGTATCTAATCC	18	Chun, 1995
MG3f	CAGCAGCCGCGTAATAC	18	Chun, 1995
MG5f	AAACTCAAAGGAATTGACGG	20	Chun, 1995
27f	AGAGTTTGATCTGGCTCAG	20	Lane, 1991
1525r	AAGGAGGTGWTCCARCC	17	Lane, 1991

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

## 4. BULGULAR

### 4.1. Mikroorganizmaların Farklı Lokalitelerden İzolasyonu

Ege Bölgesi'nde yer alan Gökçeada'nın 6 farklı lokalitesinden elde edilen toprakların izolasyonunda 8 farklı besiyeri hümitik asit vitamin agar (Yamamura ve diğ., 2003), ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966), ISP5 agar (Pridham ve diğ., 1956–1957), SM1 Stevenson's (Tan ve diğ., 2006), SM2 Stevenson's agar (Tan ve diğ., 2006), SM3 agar - Gauze's agar (Tan ve diğ., 2006), Czapek's dox agar (CD) (Bower ve Hucker, 1930) ve nişasta kazein agar (SC) (Bower ve Hucker, 1930) kullanıldı (Çizelge 4.1). Dekontaminasyon işlemleri uygulanan toprak örneklerine, toprak izolasyonunda yaygın olarak kullanılan dilüsyon plak yöntemi uygulandı ve yayma plaka yöntemiyle ekimleri yapıldı. Ekimleri tamamlanan plaklar 14 günlük (2 hafta) inkübasyona bırakıldı (Yamamura ve diğ., 2003). Bazı izolasyon petri görüntüleri Şekil 4.2'de gösterildi. İnkübasyon sonrasında farklı aktinomiset gruplarına dahil olduğu düşünülen mikroorganizmalar tripton yeast glukoz ekstrakt agar (Blackall ve diğ., 1989), GYM ve NZ-amin agar ortamına aktarılarak saflaştırılma prosedürüne geçildi (Ek-C). Dekontamine haldeki mikroorganizmalar tek koloni için glukoz yeast ekstrakt agar (Gordon ve Mihm, 1962) ortamına aktarıldı. Gelişen organizmaların daha sonra glukoz yeast ekstrakt agar (Gordon ve Mihm, 1962) ortamına yoğun ekimleri gerçekleştirildi (Ek-C). İnkübasyon süresi sonunda her bir izolat % 25'lik gliserol içeren otoklavlanabilir 1,5 ml'lik vidalı kapaklı tüpler içerisine steril bir öze yardımı ile transfer edilerek -20°C de stoklandı (Wellington ve Williams, 1978). Bu adanın farklı lokalitelerinden izole edilen aktinomiset izolatlarının kaynakçıları Çizelge 4.2'de verilmiştir (Şekil 4.1).

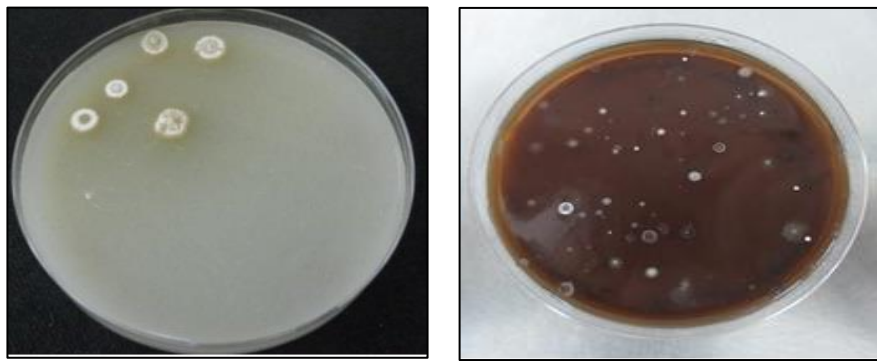


**Şekil 4.1.** Bakteri izolasyonunda kullanılan toprak örnekleri



**Çizelge 4.1.** Toprak örneklerinden seçici izolasyon için kullanılan besiyerleri

No	Bazal medium	Seçici ajan
1	ISP5 agar (Pridham ve diğ., 1956/1957) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Rifampisin (5µg/ml)
2	Czapek's dox agar (Weyland, 1969) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Sikloheksimid (50µg/ml)
3	Nişasta-kazein agar (Küster ve Williams, 1964) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Nalidiksik asit (10 µg/ml)
4	ISP2 agar (Shirling ve Gottlieb, 1966) Saf su ile hazırlandı	Nistatin (50µg/ml), Rifampisin (5µg/ml)
5	SM1 Stevenson's agar (Tan ve diğ., 2006) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Sikloheksimit asit (50µg/ml) Neomisin sülfat (50/ml)
6	SM2 Stevenson's agar (Tan ve diğ., 2006) Saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Sikloheksimitasit (50 µg/ml) Neomisin sülfat (50 µg/ml)
7	SM3 agar - Gauze's agar (Tan ve diğ., 2006) saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Nalidiksik asit (10µg/ml)
8	Humik Asit Vitamin agar (HV) (Hayakawa ve Nonomura, 1987) saf su ile hazırlandı.	Nistatin (50µg/ml), Sikloheksimid (50µg/ml)



**Şekil 4.2.** SM2 ve HV seçici izolasyon besiyerlerinin petri görünüşü

Toprak izolasyonu sonucunda elde edilen toplam 400 izolat içerisinde, makroskopik ve mikroskopik görüntüleri dikkate alınarak renk gruplandırmaları yapılmış (EK E), 40 izolat 16S rRNA gen bölgesi analizleri için seçilmiş ve filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.2.** Toprak İzolasyonu ile Gökçeada’ dan elde edilen aktinomiset izolatları

<b>Organizma</b>	<b>Gökçeada</b>
<b>YB32</b>	A.R.Topkara, Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRI57</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRS29</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRC94</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARS30</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ES90</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARS24</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AI59</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRZ35</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRI269</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ES19</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>YS24</b>	A.R.Topkara, Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ3</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ11</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYC21</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI565</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRI266</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS26</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS21</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYC24</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARC28</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYI552</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS18</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS60</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARZ12</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARI251</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARI245</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARS37</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARC57</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARZ14</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARS35</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS25</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AI231</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AZ2</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS26</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS14</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AI238</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AZ4</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ14</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ74</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI530</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ13</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI566</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI2115</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EC99</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EC50</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYZ1</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYS58</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRI267</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale

<b>YC25</b>	A.R.Topkara,Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>YZ36</b>	A.R.Topkara,Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS28</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS16</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AC42</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS21</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRZ1</b>	A.R.Topkara,Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARI518</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARS42</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>YS20</b>	A.R.Topkara, Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYZ6</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EC51</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ES22</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ES96</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ16</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI572</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ES92</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI533</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ78</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI2124</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EZ9</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ES17</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI286</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EC52</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRZ37</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRS26</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRH95</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRH98</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARI255</b>	A.R.Topkara,E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARI517</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARZ5</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYI231</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYC25</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRI214</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRC91</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRC44</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRC41</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRC40</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRS25</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>YC28</b>	A.R.Topkara, Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EA55</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>EI571</b>	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARC59</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARS36</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYS57</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYS59</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZEYZ7</b>	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AZ7</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AZ71</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AS57</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AZ72</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>AZ5</b>	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRZ2</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>ZIRI54</b>	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARI252</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARS40</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
<b>BARI524</b>	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale

## Çizelge 4.2. Devamı

Organizma	Gökçeada
EI284	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AS17	A.R.Topkara,Orman Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AB77	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AZ8	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYB30	A.R.Topkara,Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYS56	A.R.Topkara,Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AC74	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYZ14	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYS61	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
BAR1519	A.R.Topkara,E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AH79	A.R.Topkara,Aydıncık Toprağı, Gökçeada,Çanakkale
ZEYC15	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
YI212	A.R.Topkara,Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AS20	A.R.Topkara,Aydıncık Toprağı, Gökçeada,Çanakkale
AI239	A.R.Topkara,Aydıncık Toprağı, Gökçeada,Çanakkale
AS58	A.R.Topkara,Aydıncık Toprağı, Gökçeada,Çanakkale
AZ69	A.R.Topkara,Aydıncık Toprağı, Gökçeada,Çanakkale
AI265	A.R.Topkara,Aydıncık Toprağı, Gökçeada,Çanakkale
ZIRZ38	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZIRZ33	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZIRI51	A.R.Topkara, Zirve Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
EZ94	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ES94	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
EC97	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
EH108	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
EZ76	A.R.Topkara, Eşelek Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYI246	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
BARC61	A.R.Topkara, E.Barajı Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYI238	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYZ4	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
ZEYI232	A.R.Topkara, Zeytinli Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
YS17	A.R.Topkara,Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
YB29	A.R.Topkara,Yıldız Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AS59	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AI232	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale
AZ70	A.R.Topkara, Aydıncık Toprağı, Gökçeada, Çanakkale

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

Cins	İzolat	İzole edildiği Besi Yeri	Lokalite
<i>Actinomadura</i>	AI238 AI239 AS21 AYDS4	ISP2 Agar ISP2 Agar Nişasta kazein Agar Nişasta kazein Agar	Aydıncık Aydıncık Aydıncık Aydıncık
<i>Amycolatopsis</i>	ZIRC94	SM3 Agar	Zirve
<i>Microbispora</i>	AZ5 EZ3	Czapek's Dox Agar Czapek's Dox Agar	Aydıncık Eşelek Köyü
<i>Nocardia</i>	EC52 AS26 EA55	SM3 Agar Nişasta Kazein Agar SM1 Agar	Eşelek Köyü Aydıncık Eşelek Köyü
<i>Nonomuraea</i>	ZIZ37 AYDS25	Czapek's Dox Agar Nişasta Kazein Agar	Zirve Aydıncık
<i>Saccharopolyspora</i>	YILB32 YILC25 ZES61 ZEYS56	SM2 Agar SM3 Agar Nişasta kazein Agar Nişasta kazein Agar	Yıldız koyu Yıldız koyu Zeytinli Zeytinli
<i>Streptomyces</i>	AS59 BI255 BI519 EC51 EZ11 ZEI231 ZEYZ14 ZEZ7 ZIRI57 ZIRI269 ZIRS29 ZEYZ1 ZIRI266 EZ14 EI2115 BI245 AYDS60 YI212 ES24 EI2125 AB77 ES109	Nişasta kazein Agar ISP2 Agar ISP5 Agar SM3 Agar Czapek's Agar ISP2 Agar Czapek's Agar Czapek's Agar ISP5 Agar ISP2 Agar Nişasta kazein Agar Czapek's Agar ISP2 Agar EZ14 Czapek's Agar ISP2 Agar Nişasta kazein Agar ISP2 Agar Nişasta kazein Agar ISP2 Agar SM2 Agar Nişasta kazein Agar	Aydıncık Eşelek Barajı Eşelek Barajı Eşelek Köyü Eşelek Köyü Zeytinliköyü Zeytinliköyü Zeytinliköyü Zirve Zirve Zirve Zeytinliköyü Zirve Eşelek Köyü Eşelek Köyü Eşelek Barajı Aydıncık Yıldız koyu Eşelek Köyü Eşelek Köyü Aydıncık Eşelek Köyü

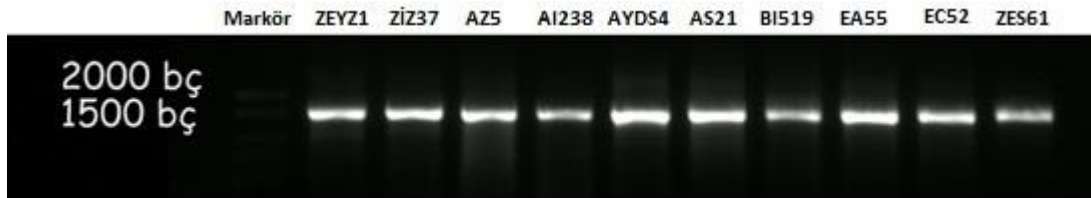
Aktinomiset izolatları içerisinde 13 izolat Nişasta kazein agar ortamından, 10 izolat ISP2 agar ortamından, 8 izolat czapek's dox agar ortamından, 3 izolat ISP5 agar ortamından, 4 izolat SM3, 2 izolat SM2 ve 1 izolat SM1 agar ortamından izole edilmiştir. 10'u Aydıncık, 13'i Eşelek köyü, 6'i Zirve, 3'ü Yıldızköy, 3'ü E. Barajı ve 6'sı Zeytinliköyü olmak üzere 40 izolat bu tez çalışmasında çalışılmıştır.

## 4.2 DNA İzolasyonu ve Agaroz Jel Elektroforez Yöntemiyle DNA'ların Görüntülenmesi

İzolasyon çalışmaları sırasında, morfolojik olarak farklı aktinomiset grupları olduğu düşünülen mikroorganizmalar seçilerek, bu organizmaların genomik DNA'ları; PureLink® Genomik DNA İzolasyon Kiti (Invitrogen,USA) ile elde edilmiş ve DNA kontrolü % 1'lik agaroz jelde yürütülerek görüntülenmiştir.

## 4.3 16S rDNA'nın PZR Amplifikasyonu

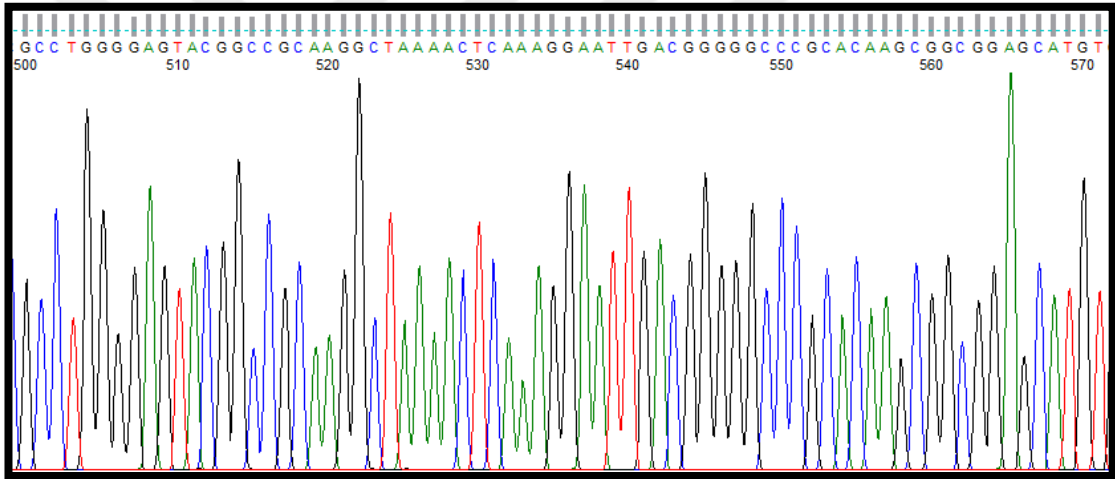
Toprak örneklerinin prokaryotik çeşitliliğinin tespiti için 16S rDNA gen bölgesi tercih edilmiştir. Test organizmalarından saf olarak elde edilmiş DNA örneklerinin 16S rRNA genini kodlayan DNA bölgesinin amplifikasyonu için evrensel iki primer (27f ve 1525r; Lane, 1991) kullanılarak Thermal Cycler (PCR Express, ThermoHybaid, Middlesex, UK)' da PZR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Amplifiye ürünler % 1'lik kontrol agaroz jelde (35 ml 1xTBE tampon, 0.35 gr agaroz) DNA mdigör ile birlikte 100 Voltta 30 dakika yürütüldükten sonra görüntüleme sisteminde (GeneGenius, SyneGene, Bio Imaging Systems, UK) fotoğraflanarak kaydedilmiştir. Test izolatlarının 16S rRNA gen bölgesi PZR amplifikasyon ürünlerinin %1'lik kontrol agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 4.3'te verilmiştir. Jelde görüldüğü üzere 1500 baz çifti (bp) uzunluğunda tek bir bant elde edilmiştir.



**Şekil 4.3.** Farklı lokalitelerden izole edilmiş aktinomisetlerin 16S rRNA gen bölgesinin PZR metodu ile amplifikasyonu. M, DNA Markör (Fermentas™; 100kb Gene Ruler).

#### 4.4 16S rRNA Sekans Verilerinin Eldesi, Analizi ve Filogenetik Soyağaçlarının Oluşturulması

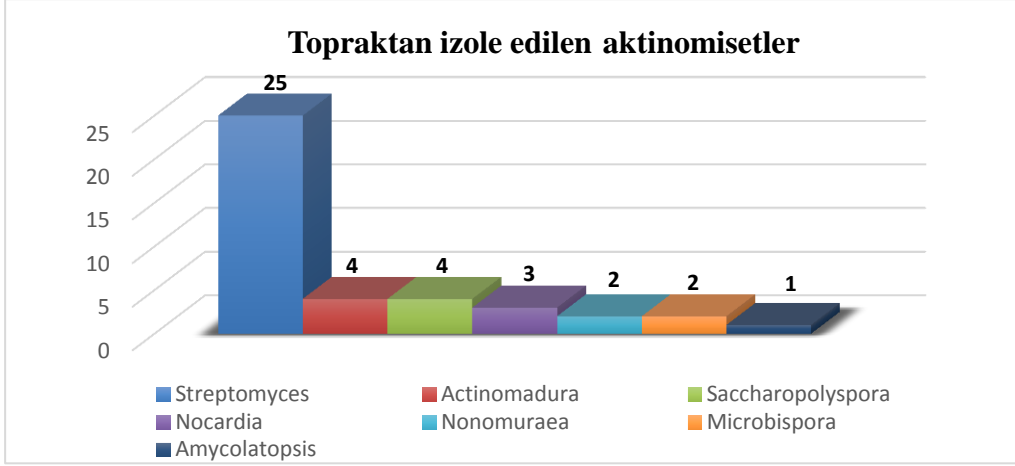
PZR amplifikasyon ürünleri elde edildikten sonra çalışma izolatlarımızın 16S rRNA gen bölgesinin baz dizi analizi MacroGen (Güney Kore) firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen bölgesinin baz dizilimi, farklı 3 oligonükleotit primeri ile dizi analizi yapıldı. Elde edilen dizi verileri, Eztaxon Server kullanılarak, uluslararası veritabanlarındaki en yakın akraba türlerin dizi verileri ile karşılaştırıldı ve % benzerlikleri belirlendi. Baz dizi sonuçlarının kontrolü Finch TV programında görüntülenerek yapılmıştır. Bu kontrol neticesinde düzgün okunmadığı düşünülen diziler MacroGen firmasına tekrarlatılmıştır. Tekrar okutulan baz dizilerinin Finch TV deki görüntüleri incelenmiş ve dizilerin analizine geçilmiştir (Şekil 4.4).



**Şekil 4.4.** MacroGen firmasına okutulan baz dizilerinin Finch TV programındaki görüntüsü.

Organizmaların 16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerinden elde edilen baz dizileri ait oldukları cinslerin tip türleriyle MEGA 6 paket programında hizalanmış ve mega formatında kaydedilmiştir.

MEGA 6 programında kaydedilen sonuçlar fasta formatındada kaydedilerek benzerlik tabloları oluşturulmuştur. 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre izolatların cinslere göre dağılımını gösteren grafik Şekil 4.5'te verildi. Elde edilen dizi verilerine göre test izolatlarının filogenetik pozisyonlarının belirlenmesi için dendogramları oluşturuldu (Şekil 4.6-4.12).



**Şekil 4.5.** 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre test izolatlarının cinslere göre dağılımı.

Test izolatları ve ilgili cinslerin tip türlerinin filogenetik analizlerinde Neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) ve maximum-parsimony (Kluge ve Farris, 1969) algoritmaları kullanıldı. MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan, *Actinomadura* cinsine ait izolatların dizileriyle, 28 adet *Actinomadura* cinsine ait tip türle birlikte hizalanmış ve toplamda 1494 nt'lik dizi elde edilmiştir. *Streptosporangium albium* tip türü dış grup olarak kullanılarak *Actinomadura* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen bölgesine ait filogenetik analizleri MEGA 6 paket programında yapılmıştır. *Actinomadura* cinsine ait AI238 izolatu % 98.82 benzerlikle *A. madurae* ile yakın ilişkili olduğu ve 17 farklı nükleotide sahip olduğu, % 98.60 *A. darangshiensis* ile yakın ilişkili ve 20 farklı nükleotide sahip olduğu, % 98.56 *A. bangladeshensis* ile komşu olduğu ve 21 nükleotit farklılığı bulunduğu tespit edilmiştir. Yine bu cinsin üyesi olduğu belirlenen AYDS4 izolatu % 99.03 benzerlik oranı ile *A. nitritigenes*'e yakınlık ve 14 nükleotit farklılığı gösterirken *A. madurae* türü ile de % 98.69 benzerlik ve 19 nükleotit farklılığı göstermektedir. *Actinomadura* sp. AS21 izolatu % 99.11 benzerlik ile *A. bangladeshensis* yakın ilişkili ve 13 nükleotit farklılığı göstermekte, *A. chokoriensis* türü ile de % 98.63 benzerlik ve 20 nükleotit farklılığı göstermektedir. *Actinomadura* sp. AI239, AI238 izolatları % 98,69-% 98,82 benzerlikle *A.madurae* ile filogenetik soy ağacında küme oluşturmuştur. AI239 izolatu *A. napierensis* % 99,18 benzerlik ve 11 nükleotit farklılığı göstererek ayrı bir dal oluşturmuştur. Yine aynı izolat % 98,69 benzerlik ve 19 nükleotid farklılıkla *A. madurae* tip türüyle filogenetik soy ağacında yakın konumlanmıştır (Şekil 4.6, Çizelge 4.4).



*Microbispora* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen bölgesi ilgili primerlerle ikinci kez okutulmuş ve elde edilmiştir. *Microbispora* cinsi üyesi 16 tip tür ile birlikte hizalanmış ve 1506 nt'lik dizi elde edilmiş ve dış grup olarak *Actinomadura madurae* tip türü kullanılmıştır. *Microbispora* sp. AZ5 izolatu % 99,01 benzerlikle *M. rosea subsp. aerata* ile yakın ilişkili olduğu ve 14 nükleotit farklılığı bulunduğu belirlenmişken, *M. bryophytorum* ile % 98,98 benzerlik oranı ile komşu olduğu ve 15 nükleotit farklılığı gösterdiği tespit edilmiştir. Yine bu cinsin üyesi olduğu belirlenen *Microbispora* sp. EZ3 izolatu % 99,65 benzerlik oranı ile *M. rosea subsp. rosea* türü ile yakın akrabalık göstermekte olup 5 nükleotit nükleotit farklılığı göstermekte, *M. bryophytorum* ile de % 98,96 benzerlik ve 15 nükleotit farklılığı göstermektedir (Şekil 4.7, Çizelge 4.5).

MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan *Nocardia* cinsine ait izolatların dizileriyle, 26 *Nocardia* cinsine ait tip tür ve dış grup olarak kullanılan *Gordonia sputi* tip türü ile birlikte hizalanmış ve toplamda 1486 nükleotitlik dizi elde edilmiştir. İzolatlardan *Nocardia* sp. AS26 izolatu %99,38 benzerlik oranı ile *N. nova* ile yakın ilişkili ve 9 nükleotit farklılığı göstermekte, % 99,18 benzerlik ile *N. jiangxiensis* yakın ilişkili ve 12 nükleotit farklılık göstermektedir. Aynı izolat % 98,51 benzerlik ve 21 nükleotit farklılık ile *N. miyunensis* tip türü ile bir kümede toplanmıştır. *Nocardia* sp. EC52 izolatu % 99,17-%99,66 arasında benzerlikle *N. rhamnosiphila*, *N. carnea* ve *N. flavorosea* tip türleriyle yakın ilişkili bir küme oluşturmakta ve sırasıyla 5, 10 ve 12 nükleotit farklılığı göstermektedir. *Nocardia* sp. EA55 izolatu, *N. abscessus* ile 16S rRNA gen bölgesi bakımından % 100 benzerlik göstermektedir. % 99,04 benzerlik ve 14 nükleotit farklılıkla *N. exalbida* tip türüyle filogenetik soy ağacında yakın konumlanmıştır (Şekil 4.8, Çizelge 4.6).

MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan *Nonomuraea* cinsine ait izolatların dizileriyle, 28 adet *Nonomuraea* cinsine ait tip türü ile birlikte hizalanmış toplamda 1496 nt'lik dizi elde edilmiş ve dış grup olarak *Amycolatopsis orientalis* tip türü seçilmiştir. *Nonomuraea* sp. ZIZ37 izolatu % 98,78 benzerlik oranı ve 17 nükleotit farklılığı ile *N. candida* türünden, % 98,56 benzerlik ve 21 nükleotit farklılığı ile *N. jabiensis* türünden ayrılıp farklılaşarak filogenetik dendogramda ayrı bir kümede yer almıştır. Yine bu izolat % 98,35 benzerlik oranı ile *N. roseoviolacea* subsp. *roseoviolacea* türü ile yakın akrabalık göstermekte olup 24 nükleotit farklılığına sahipken, % 97,79 benzerlikle *N. roseoviolacea* subsp. *carminata* tip türüne yakınlık göstermekte ve 31 nükleotit farklılığı göstermektedir. Aynı cinsin

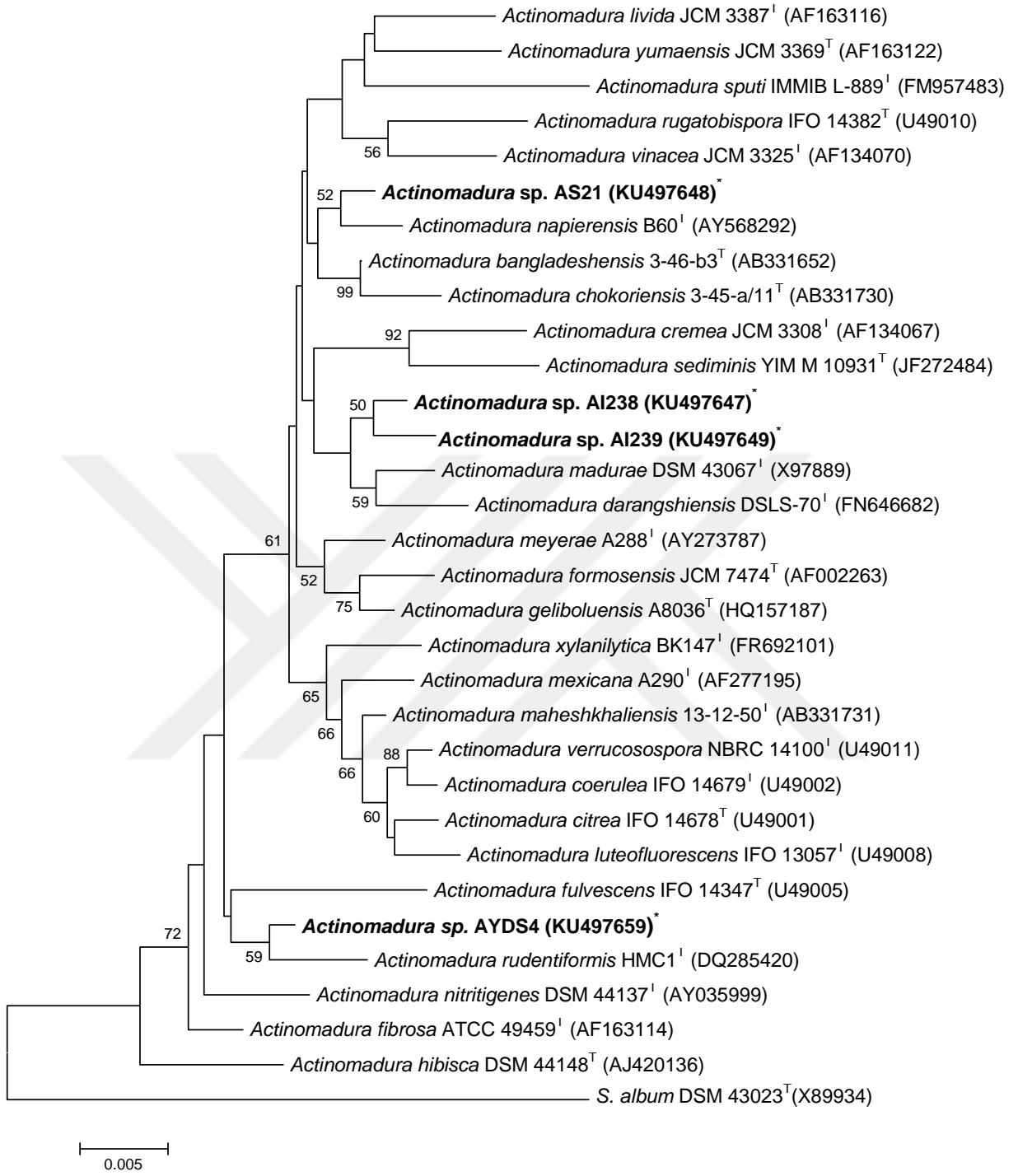
üyesi olduğu belirlenen *Nonomuraea* sp. AYDS25 izolatu % 99,29 benzerlik ve 10 nükleotit farkla *N. indica* tip türünden, % 98,97 benzerlik ve 15 nükleotit farkla *N. muscovyensis* tip türünden ayrılıp, farklı bir dalda yer almıştır. Bu izolatu % 98,20 benzerlik ile *N. salmonea* türüne yakınlık gösterdiği ve 26 nükleotit farklılığı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9, Çizelge 4.7).

MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan *Saccharopolyspora* cinsine ait izolatların dizileriyle, 20 adet *Saccharopolyspora* cinsine ait tip tür ve dış grup olarak kullanılan *Amycolatopsis sacchari* türüyle birlikte hizalanmış olup toplamda 1499 nt'lik dizi elde edilmiştir. *Saccharopolyspora* sp. ZES61 izolatu 16S gen bölgesi bakımından %99,44 benzerlik oranı ile *S. shandongensis* türü ile yakınlık göstermekle birlikte 8 nükleotit farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yine bu izolat *S. phatthalungensis* türü ile % 98,36 benzerlik oranına ve 24 nükleotit farka sahip olduğu, aynı izolat %97,94 benzerlik ve 30 nükleotit farklılıkla filogenetik soy ağacında *S. spinosa* tip türüne komşu olduğu gösterilmiştir. *Saccharopolyspora* sp. YILB32 izolatu % 99,52 benzerlik ile yakın ilişki göstermekte ve 7 nükleotit farklılığa sahiptir. *S. indica* tip türü ile % 98,97 benzerlik oranı ve 15 nükleotit farklılığı göstermektedir. *Saccharopolyspora* sp. YILC25 ve ZES61 izolatları % 99,44-% 99,93 benzerlikle *S. shandongensis* tip türüyle filogenetik soy ağacında küme oluşturmuştur. YILC25 izolatu % 98,83 benzerlik ve 17 nükleotit farklılıkla *S. phatthalungensis* tip türüyle soy ağacında yakınlık göstermekte, *S. spinosa* ile % 98,36 benzerlik oranı ve 24 nükleotit farklılığı gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.10, Çizelge 4.8).

*Streptomyces* cinsine ait izolatların dizileri *Streptomyces* cinsine ait 30 tip türü ile birlikte hizalanmış toplamda 1494 nt'lik dizi elde edilmiştir. Dış grup olarak *Actinomadura glomerata* tip türü kullanılmıştır. *Streptomyces* sp. ZEYZ1 izolatu % 98.51 benzerlik oranı ile *S. seymenliensis* türü ile yakınlık göstermekle birlikte 22 nükleotit farklılığı gösterdiği tespit edilmiştir. *S. canus* türü ile % 98.30 benzerlik oranına sahip olduğu ve 25 nükleotit farklılığı gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatu 16S rRNA gen dizi analizine göre çizilen dendogramdaki pozisyonu göz önünde bulundurularak ilgili tip türleriyle DNA-DNA homolojilerinin yapıp yeni tür olduğu kesinleştikten sonra kemotaksonomik ve fenotipik analizlerinin tamamlanarak literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır. *Streptomyces* sp. ZIRI269 izolatu % 99,24 benzerlik ile *S. coeruleorubidus* türü ile yakın ilişki göstermekte ve 11 nükleotit farklılığına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu izolatu *S. fragilis* türü ile % 98.84

benzerlik gösterdiği ve 17 nükleotit farklılığına sahip olduğu tespit edilmiştir. BI245 ve BI519 nolu suşlar en yakın tip türü olan *S. filipinensis* NBRC 12860<sup>T</sup> ile sırasıyla % 99,32-% 99,24 16S rRNA gen dizi benzerliği göstermekte ve filogenetik soy ağacında aynı kümede yer almıştır. Bu izolatlar birbiriyle % 99,93 benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmalar neticesinde, ZIRI269, ZIRS29, AS59, EC51, ZEYZ14 ve ZEYI231 nolu *Streptomyces* izolatları en yakın tip türleri ile % 99,52 ve üzeri 16S rRNA dizi benzerliği göstermektedir (Şekil 4.11, Çizelge 4.9).

MG5f, 800r ve 518f primerleriyle okutulan *Amycolatopsis* cinsine ait izolatın dizisiyle, 24 adet *Amycolatopsis* cinsine ait tip türü ile birlikte hizalanmış ve dış grup olarak *Microbispora rosea* tip türü kullanılmıştır ve toplamda 1425 nt'lik dizi elde edilmiştir. *Amycolatopsis* sp. ZIRC94 izolatının 16S gen bölgesi bakımından % 99.57 benzerlik oranı ile *A. pretoriensis* tip türü ile yakınlık göstermekle birlikte 6 nükleotit farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yine bu izolat *A. kentuckyensis* türü ile % 99.52 benzerlik oranına ve 7 nükleotit farkla filogenetik soy ağacında aynı kümede yer almıştır.



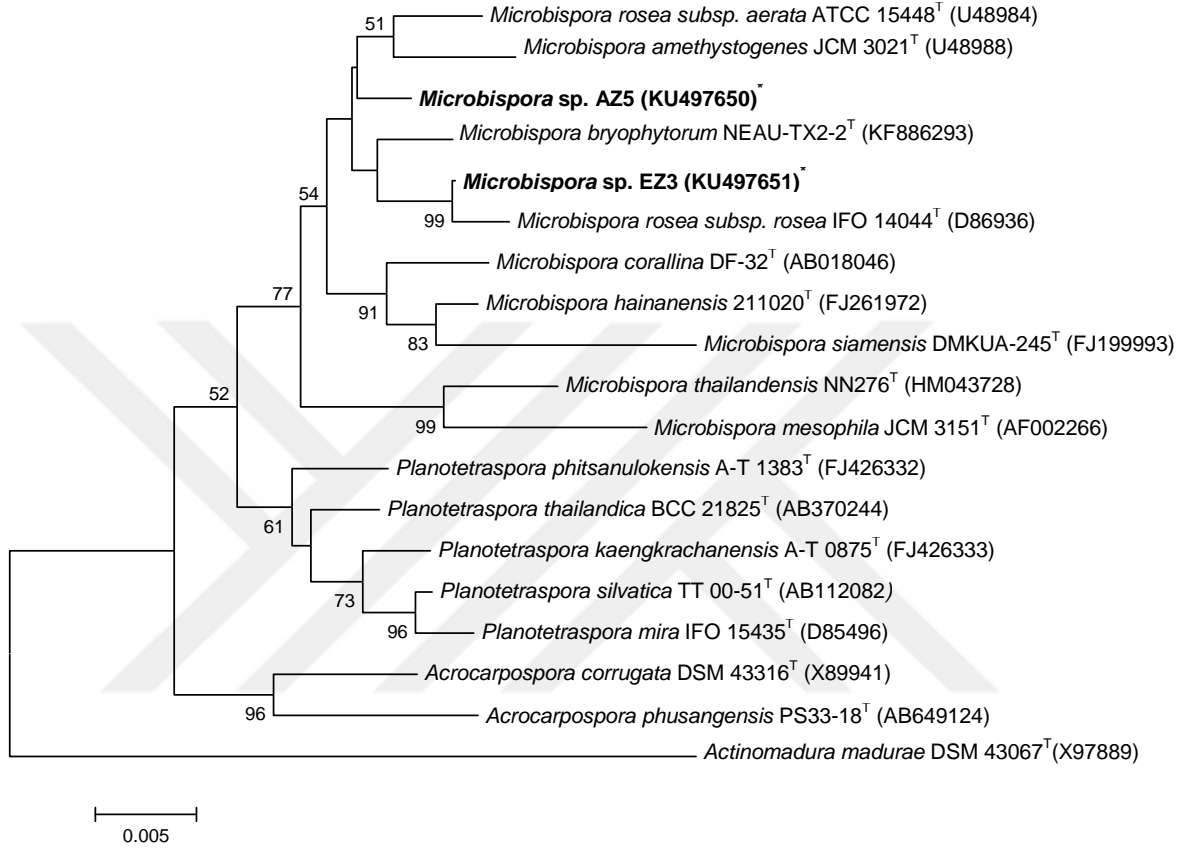
**Şekil 4.6.** *Actinomadura* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor-joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0.005'tir.

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

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
<b><i>Actinomadura</i> sp. AI238</b>				
1	<i>Actinomadura madurae</i> DSM 43067 <sup>T</sup>	X97889	98.82	17/1445
2	<i>Actinomadura darangshiensis</i> DSLS-70 <sup>T</sup>	FN646682	98.60	20/1424
3	<i>Actinomadura bangladeshensis</i> 3-46-b3 <sup>T</sup>	AB331652	98.56	21/1458
4	<i>Actinomadura formosensis</i> JCM 7474 <sup>T</sup>	AF002263	98.49	22/1455
5	<i>Actinomadura verrucosospora</i> NBRC 14100 <sup>T</sup>	U49011	98.44	22/1408
<b><i>Actinomadura</i> sp. AYDS4</b>				
1	<i>Actinomadura nitritigenes</i> DSM 44137 <sup>T</sup>	AY035999	99.03	14/1436
2	<i>Actinomadura madurae</i> DSM 43067 <sup>T</sup>	X97889	98.69	19/1445
3	<i>Actinomadura fibrosa</i> ATCC 49459 <sup>T</sup>	AF163114	98.55	21/1444
4	<i>Actinomadura darangshiensis</i> DSLS-70 <sup>T</sup>	FN646682	98.52	21/1419
5	<i>Actinomadura rudentiformis</i> HMC1 <sup>T</sup>	DQ285420	98.45	22/1418
<b><i>Actinomadura</i> sp. AS21</b>				
1	<i>Actinomadura bangladeshensis</i> 3-46-b3 <sup>T</sup>	AB331652	99.11	13/1458
2	<i>Actinomadura napierensis</i> B60 <sup>T</sup>	AY568292	99.11	12/1344
3	<i>Actinomadura chokoriensis</i> 3-45-a/11 <sup>T</sup>	AB331730	98.63	20/1456
4	<i>Actinomadura formosensis</i> JCM 7474 <sup>T</sup>	AF002263	98.56	21/1455
5	<i>Actinomadura meyeræ</i> A288 <sup>T</sup>	AY273787	98.54	21/1438
<b><i>Actinomadura</i> sp. AI239</b>				
1	<i>Actinomadura napierensis</i> B60 <sup>T</sup>	AY568292	99.18	11/1344
2	<i>Actinomadura madurae</i> DSM 43067 <sup>T</sup>	X97889	98.69	19/1445
3	<i>Actinomadura darangshiensis</i> DSLS-70 <sup>T</sup>	FN646682	98.38	23/1424
4	<i>Actinomadura xylanilytica</i> BK147 <sup>T</sup>	FR692101	98.27	25/1442
5	<i>Actinomadura bangladeshensis</i> 3-46-b3 <sup>T</sup>	AB331652	98.08	28/1456

16S rRNA gen dizi analizine göre AI238 izolatı, AYDS4 izolatına % 97,15 (42/1484) benzerlik göstermiş, AS21 izolatına % 99,19 (12/1484) ve AI239 izolatına %97,17 (42/1445) benzerlik göstermiştir.

\*İlgili izolatın GenBank numarası filogenetik dendogramda gösterilmiştir.



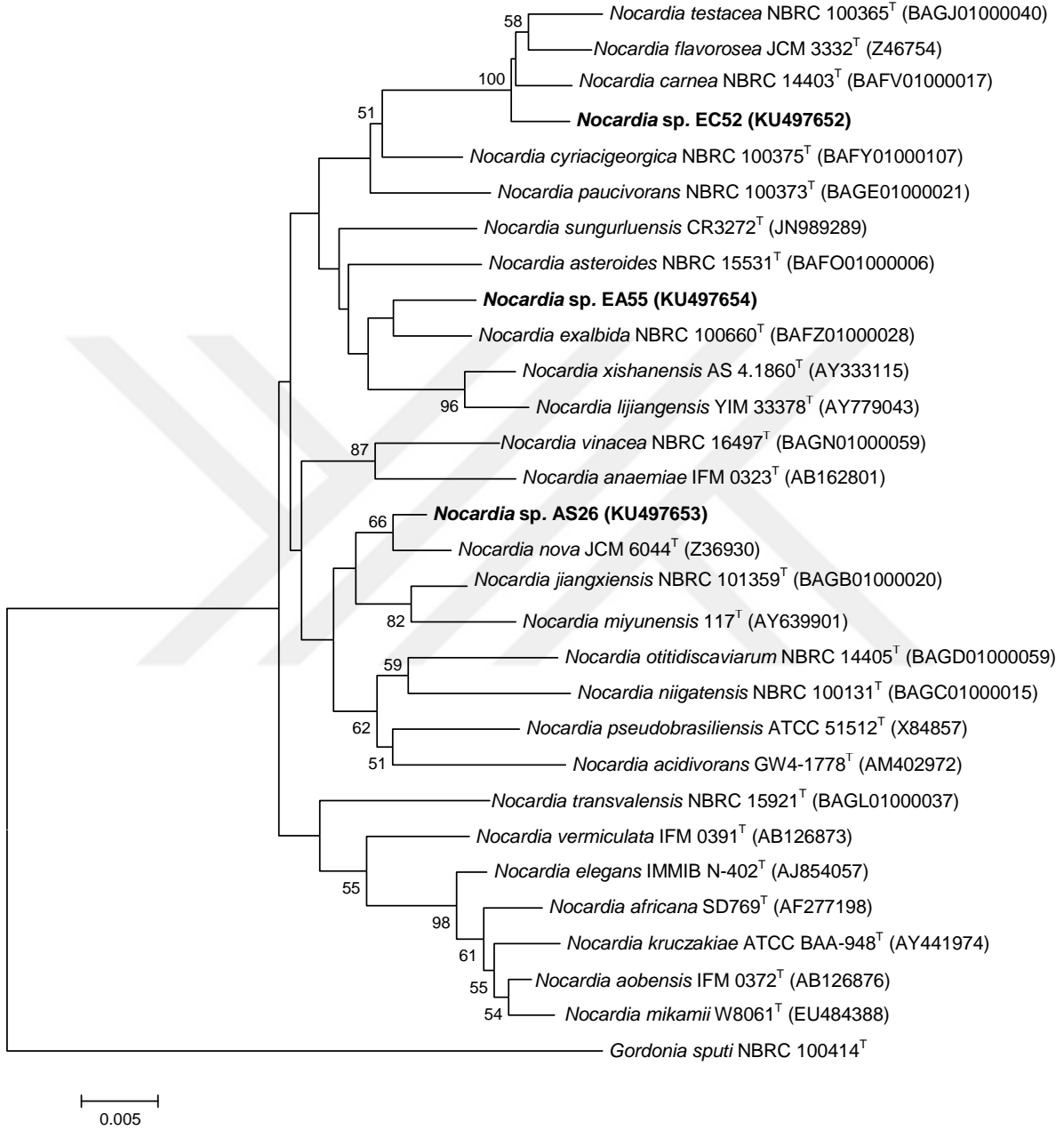
**Şekil 4.7.** *Microbispora* cinsine ait izolatların filogenetik dendrogramı. Neighbor joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Dış drup olarak *Actinomadura madrae* DSM 43067<sup>T</sup> tip türü kullanılmıştır.

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

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
<b><i>Microbispora</i> sp. AZ5</b>				
1	<i>Microbispora rosea</i> subsp. <i>aerata</i> ATCC 15448 <sup>T</sup>	U48984	99.01	14/1413
2	<i>Microbispora bryophytorum</i> NEAU-TX2-2 <sup>T</sup>	KF886293	98.98	15/1464
3	<i>Microbispora rosea</i> subsp. <i>rosea</i> IFO 14044 <sup>T</sup>	D86936	98.76	18/1452
4	<i>Microbispora corallina</i> DF-32 <sup>T</sup>	AB018046	98.75	18/1440
5	<i>Microbispora hainanensis</i> 211020 <sup>T</sup>	FJ261972	98.70	19/1462
<b><i>Microbispora</i> sp. EZ3</b>				
1	<i>Microbispora rosea</i> subsp. <i>rosea</i> IFO 14044 <sup>T</sup>	D86936	99.65	5/1440
2	<i>Microbispora bryophytorum</i> NEAU-TX2-2 <sup>T</sup>	KF886293	98.96	15/1447
3	<i>Microbispora hainanensis</i> 211020 <sup>T</sup>	FJ261972	98.89	16/1445
4	<i>Microbispora rosea</i> subsp. <i>aerata</i> ATCC 15448 <sup>T</sup>	U48984	98.37	23/1413
5	<i>Microbispora amethystogenes</i> JCM 3021 <sup>T</sup>	U48988	98.37	23/1412

16S rRNA gen dizi analizine göre AZ5 izolatı, EZ3 izolatına % 99,01 (13/1464) gen dizi benzerliği göstermiştir.

\*İlgili izolatın GenBank numarası filogenetik dendogramda gösterilmiştir.



**Şekil 4.8.** *Nocardia* cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soyağacı (nodlarda % 50'nin üzerinde bootstrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 0.05'tir ve dış grup olarak *Gordonia sputi* NBRC 100414<sup>T</sup> kullanılmıştır.

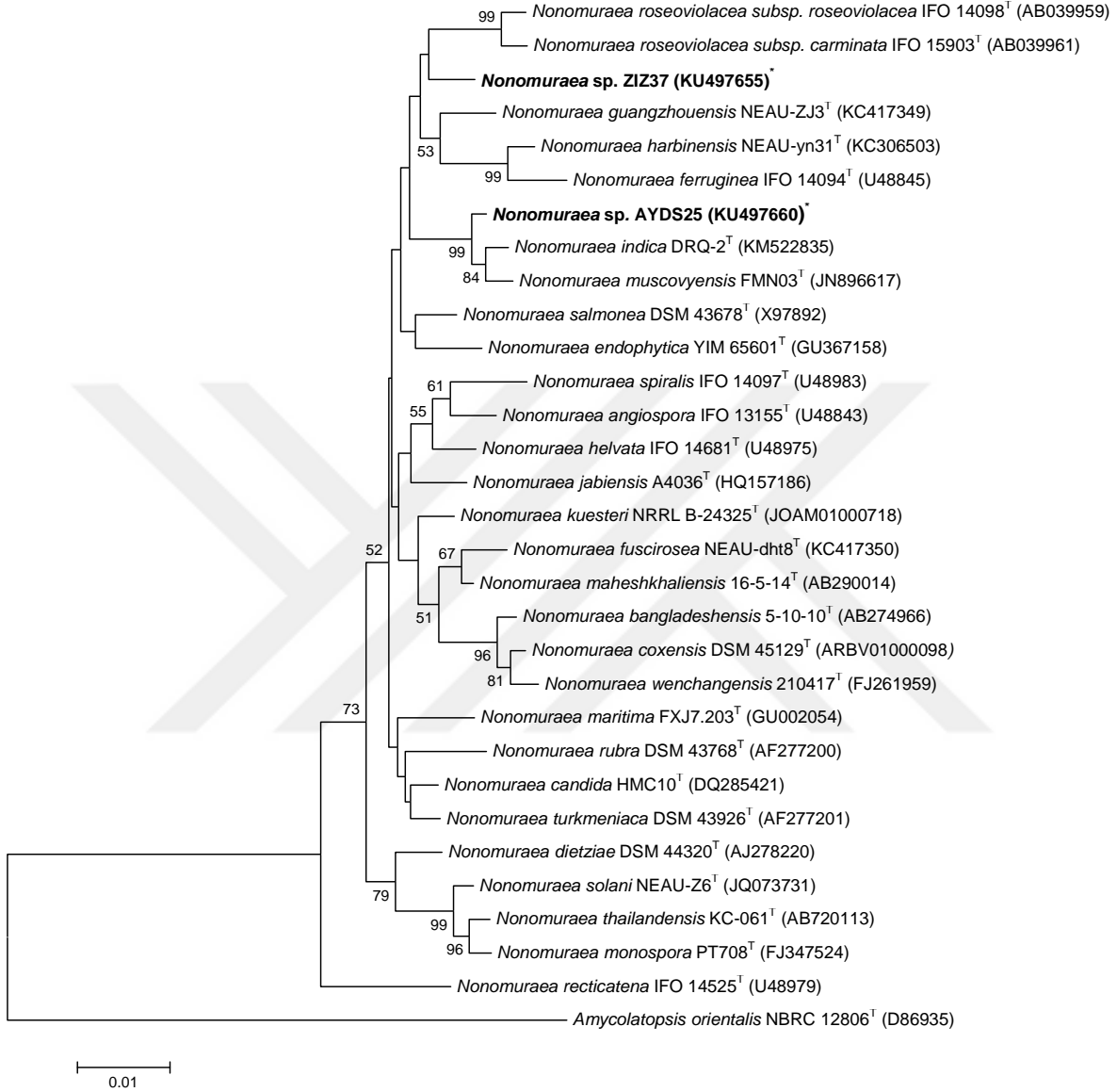


**Çizelge 4.6.** *Nocardia* cinsine ait izolatların 16S rRNA sekansına göre en yakın tip türleri ile olan nükleotit sayı farklılıkları ve benzerlik değerleri

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
<b><i>Nocardia</i> sp. AS26</b>				
1	<i>Nocardia nova</i> JCM 6044 <sup>T</sup>	Z36930	99.38	9/1455
2	<i>Nocardia jiangxiensis</i> NBRC 101359 <sup>T</sup>	BAGB01000020	99.18	12/1458
3	<i>Nocardia miyunensis</i> 117 <sup>T</sup>	AY639901	98.51	21/1405
4	<i>Nocardia vermiculata</i> IFM 0391 <sup>T</sup>	AB126873	98.46	21/1366
5	<i>Nocardia elegans</i> IMMIB N-402 <sup>T</sup>	AJ854057	98.41	23/1445
<b><i>Nocardia</i> sp. EC52</b>				
1	<i>Nocardia rhammosiphila</i> NRRL B-24637 <sup>T</sup>	JOAJ01000028	99.66	5/1454
2	<i>Nocardia carnea</i> NBRC 14403 <sup>T</sup>	BAFV01000017	99.31	10/1454
3	<i>Nocardia flavorosea</i> JCM 3332 <sup>T</sup>	Z46754	99.17	12/1454
4	<i>Nocardia testacea</i> NBRC 100365 <sup>T</sup>	BAGJ01000040	99.04	14/1454
5	<i>Nocardia sienata</i> IFM 10088 <sup>T</sup>	AB121770	99.01	14/1415
<b><i>Nocardia</i> sp. EA55</b>				
1	<i>Nocardia abscessus</i> NBRC 100374 <sup>T</sup>	BAFP01000036	100.00	0/1461
2	<i>Nocardia exalbida</i> NBRC 100660 <sup>T</sup>	BAFZ01000028	99.04	14/1461
3	<i>Nocardia asteroides</i> NBRC 15531 <sup>T</sup>	BAFO01000006	98.97	15/1459
4	<i>Nocardia shimofusensis</i> IFM 10311 <sup>T</sup>	AB108775	98.90	16/1461
5	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i> NBRC 100375 <sup>T</sup>	BAFY01000107	98.90	16/1461

16S rRNA gen dizi analizine göre AS26 izolatı, EC52 izolatına % 97,21 (41/1471) ve EA55 izolatına % 97,69 (34/1473) gen dizi benzerliği göstermiştir.

\*İlgili izolatın GenBank numarası filogenetik dendogramda gösterilmiştir.



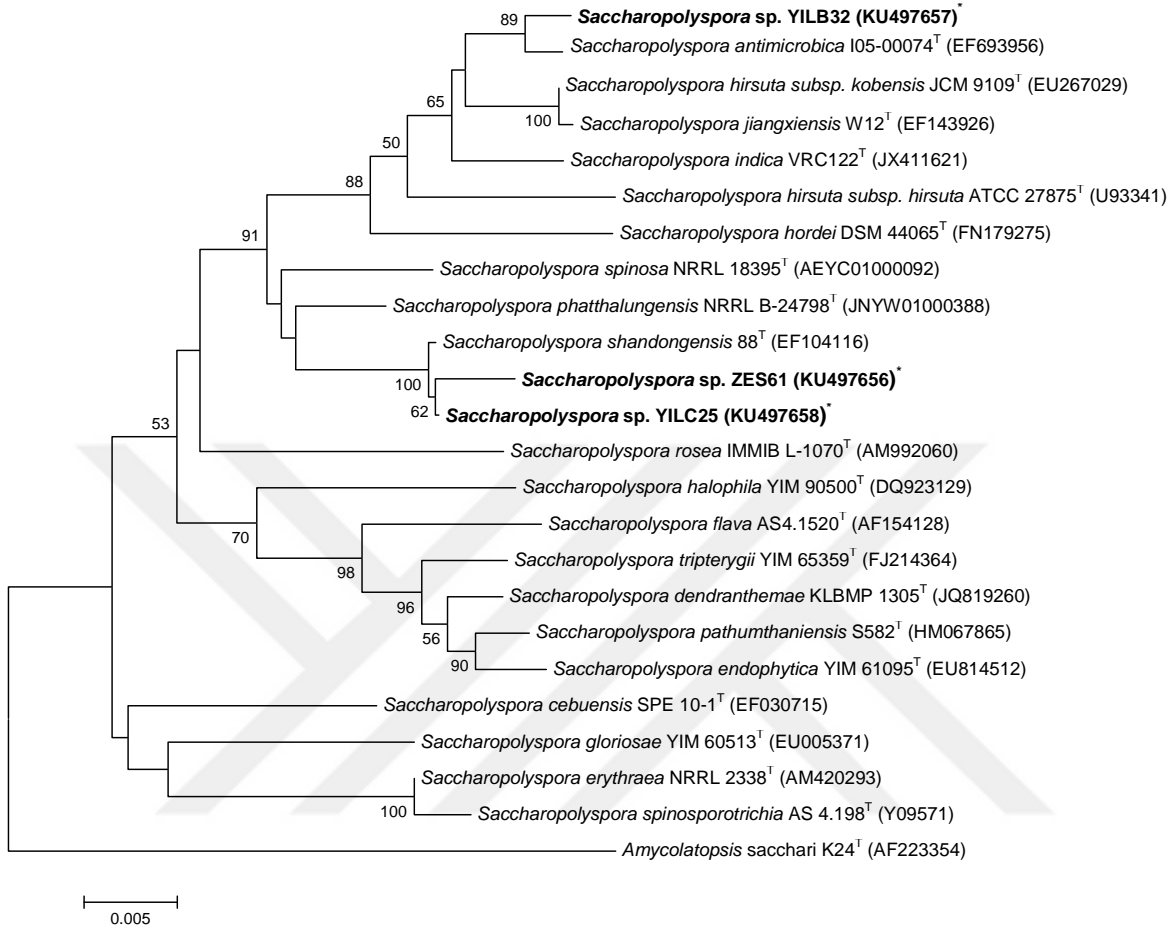
**Şekil 4.9.** *Nonomuraea* cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soyağacı (nodlarda % 50'nin üzerinde bootstrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 1'dir ve dış grup olarak *Amycolatopsis orientalis* NBRC 12806<sup>T</sup> kullanılmıştır.

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

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
<b><i>Nonomuraea</i> sp. ZIZ37</b>				
1	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 <sup>T</sup>	DQ285421	98.78	17/1396
2	<i>Nonomuraea jabiensis</i> A4036 <sup>T</sup>	HQ157186	98.56	21/1456
3	<i>Nonomuraea spiralis</i> IFO 14097 <sup>T</sup>	U48983	98.44	22/1407
4	<i>Nonomuraea bangladeshensis</i> 5-10-10 <sup>T</sup>	AB274966	98.42	23/1453
5	<i>Nonomuraea roseoviolacea</i> subsp. <i>roseoviolacea</i> IFO 14098 <sup>T</sup>	AB039959	98.35	24/1452
<b><i>Nonomuraea</i> sp. AYDS25</b>				
1	<i>Nonomuraea indica</i> DRQ-2 <sup>T</sup>	KM522835	99.29	10/1412
2	<i>Nonomuraea muscovyensis</i> FMN03 <sup>T</sup>	JN896617	98.97	15/1461
3	<i>Nonomuraea salmonea</i> DSM 43678 <sup>T</sup>	X97892	98.20	26/1448
4	<i>Nonomuraea candida</i> HMC10 <sup>T</sup>	DQ285421	98.14	26/1401
5	<i>Nonomuraea helvata</i> FO 14681 <sup>T</sup>	U48975	98.08	27/1409

16S rRNA gen dizi analizine göre ZIZ37 izolatı, AYDS25 izolatına % 98,03 gen dizi benzerliği, 1474 nt'te 29 nükleotit farklılık göstermiştir.

\*İlgili izolatın GenBank numarası filogenetik dendogramda gösterilmiştir.



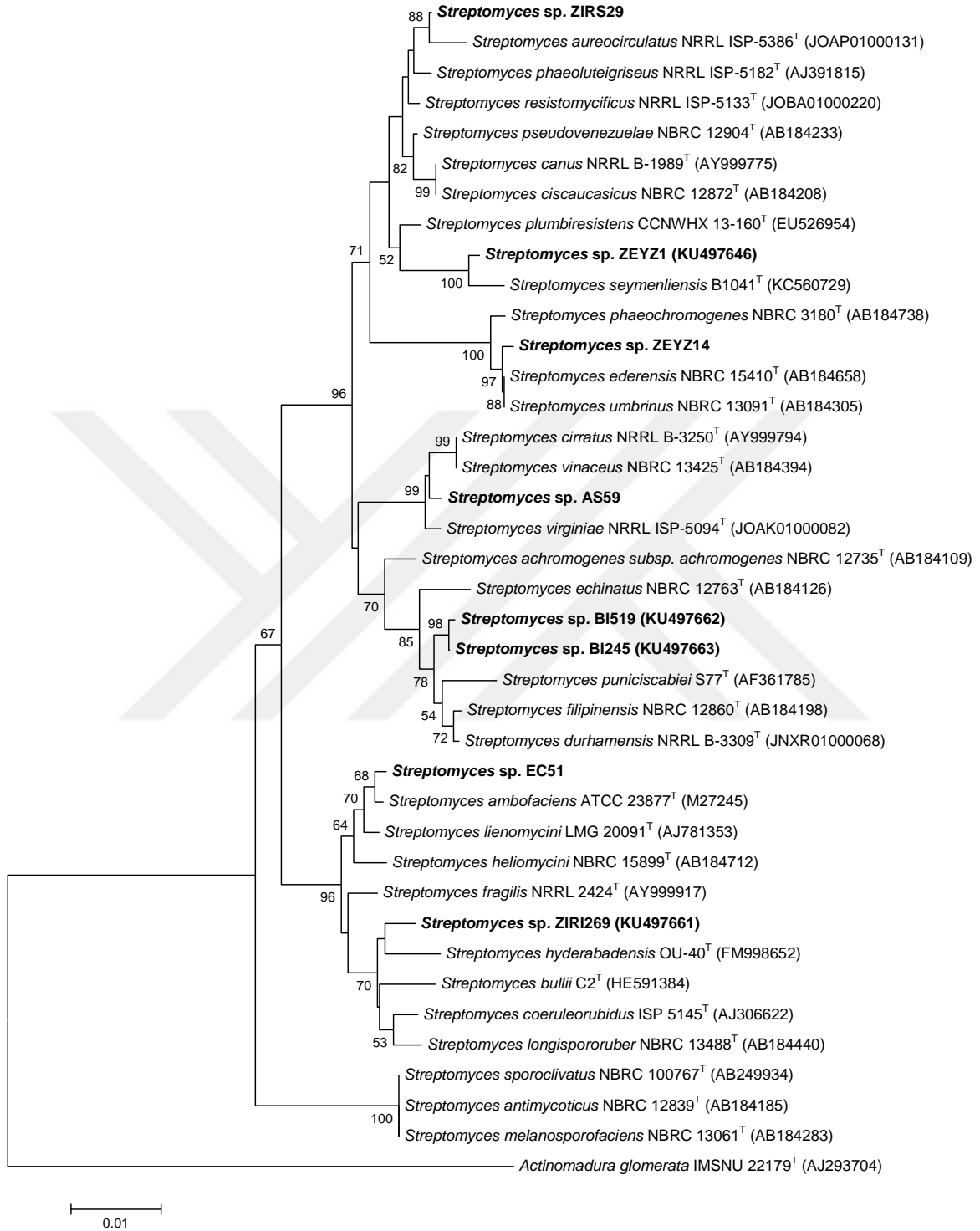
**Şekil 4.10.** *Saccharopolyspora* cinsine ait test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soyağacı (nodlarda % 50'nin üzerinde bootstrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 0,05'dir ve dış grup olarak *Amycolatopsis sacchari* K24<sup>T</sup> kullanılmıştır.

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

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
<b><i>Saccharopolyspora</i> sp. ZES61</b>				
1	<i>Saccharopolyspora shandongensis</i> 88 <sup>T</sup>	EF104116	99.44	8/1417
2	<i>Saccharopolyspora phatthalungensis</i> NRRL B-24798 <sup>T</sup>	JNYW01000388	98.36	24/1459
3	<i>Saccharopolyspora spinosa</i> NRRL 18395 <sup>T</sup>	AEYC01000092	97.94	30/1459
4	<i>Saccharopolyspora indica</i> VRC122 <sup>T</sup>	JX411621	97.40	38/1459
5	<i>Saccharopolyspora antimicrobica</i> I05-00074 <sup>T</sup>	EF693956	97.38	38/1448
<b><i>Saccharopolyspora</i> sp. YILB32</b>				
1	<i>Saccharopolyspora antimicrobica</i> I05-00074 <sup>T</sup>	EF693956	99.52	7/1448
2	<i>Saccharopolyspora indica</i> VRC122 <sup>T</sup>	JX411621	98.97	15/1450
3	<i>Saccharopolyspora hirsuta</i> subsp. <i>kobensis</i> JCM 9109 <sup>T</sup>	EU267029	98.92	15/1390
4	<i>Saccharopolyspora jiangxiensis</i> W12 <sup>T</sup>	EF143926	98.87	16/1415
5	<i>Saccharopolyspora shandongensis</i> 88 <sup>T</sup>	EF104116	98.02	28/1417
<b><i>Saccharopolyspora</i> sp. YILC25</b>				
1	<i>Saccharopolyspora shandongensis</i> 88 <sup>T</sup>	EF104116	99.93	1/1417
2	<i>Saccharopolyspora phatthalungensis</i> NRRL B-24798 <sup>T</sup>	JNYW01000388	98.83	17/1459
3	<i>Saccharopolyspora spinosa</i> NRRL 18395 <sup>T</sup>	AEYC01000092	98.36	24/1459
4	<i>Saccharopolyspora indica</i> VRC122 <sup>T</sup>	JX411621	97.88	31/1459
5	<i>Saccharopolyspora antimicrobica</i> I05-00074 <sup>T</sup>	EF693956	97.79	32/1448

16S rRNA gen dizi analizine göre ZES61 izolatı, YILB32 izolatına % 97,47 (37/1465) ve YILC25 izolatına % 99,53 (7/1479) gen dizi benzerliği göstermiştir.

\*İlgili izolatın GenBank numarası filogenetik dendogramda gösterilmiştir.

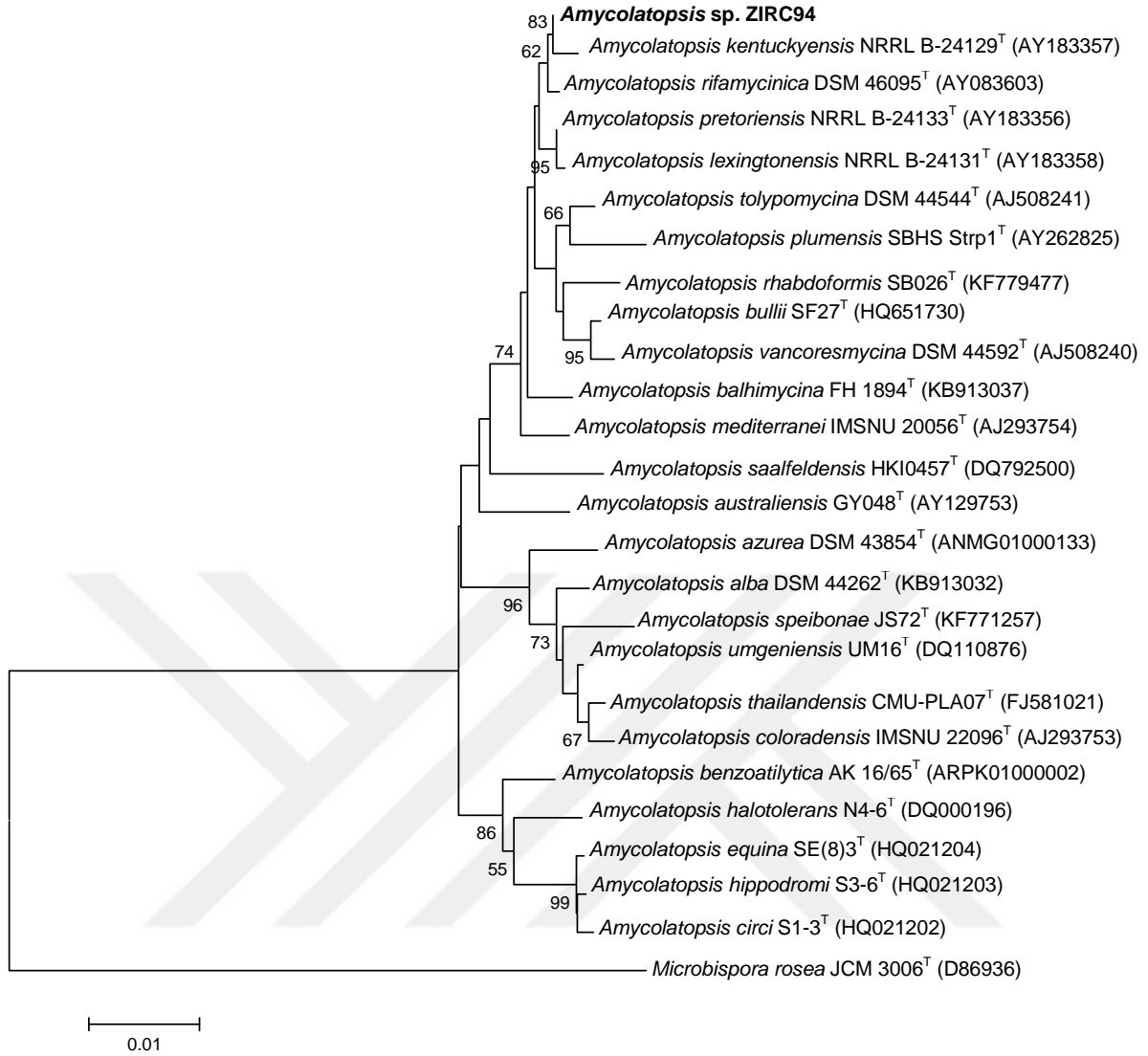


**Şekil 4.11.** Sekansı yapılan *Streptomyces* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor-joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0.01'dir.

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

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
<b>ZEYZ1 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces seymenliensis</i> B1041 <sup>T</sup>	KC560729	98,51	22/1475
2	<i>Streptomyces canus</i> NRRL B-1989 <sup>T</sup>	AY999775	98,30	25/1468
3	<i>Streptomyces ciscaucasicus</i> NBRC 12872 <sup>T</sup>	AB184208	98,29	25/1460
<b>ZİRİ269 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces coeruleorubidus</i> ISP 5145 <sup>T</sup>	AJ306622	99,24	11/1442
2	<i>Streptomyces fragilis</i> NRRL2424 <sup>T</sup>	AY999917	98,84	17/1469
3	<i>Streptomyces bullii</i> C2 <sup>T</sup>	HE591384	98,83	17/1452
<b>BI519 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces filipinensis</i> NBRC 12860 <sup>T</sup>	AB184198	99,24	11/1452
2	<i>Streptomyces durhamensis</i> NRRL B-3309 <sup>T</sup>	JNXRO1000068	99,17	12/1452
3	<i>Streptomyces echinatus</i> NBRC 12763 <sup>T</sup>	AB184126	98,82	17/1438
<b>BI245 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces filipinensis</i> NBRC 12860 <sup>T</sup>	AB184198	99,32	10/1461
2	<i>Streptomyces durhamensis</i> NRRL B-3309 <sup>T</sup>	JNXRO1000068	99,25	11/1466
3	<i>Streptomyces echinatus</i> NBRC 12763 <sup>T</sup>	AB249941	98,89	16/1438
<b>ZİRS29 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces aureocirculatus</i> NRRL ISP-5386 <sup>T</sup>	JOAPO1000131	99,52	7/1464
2	<i>Streptomyces pseudovenezuelae</i> NBRC 12904 <sup>T</sup>	AB18433	99,52	7/1463
3	<i>Streptomyces phaeoluteigriseus</i> NRRL ISP-5182 <sup>T</sup>	AJ391815	99,45	8/1444
<b>AS59 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces cirratus</i> NRRL B-3250 <sup>T</sup>	AY999794	99,59	6/1452
2	<i>Streptomyces virginiae</i> NRRL ISP-5094 <sup>T</sup>	JOAK01000082	99,59	6/1452
3	<i>Streptomyces vinaceus</i> NBRC 13425 <sup>T</sup>	AB184394	99,59	6/1452
<b>EC51 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces ambofaciens</i> ATCC 23877 <sup>T</sup>	M27245	99,73	4/1464
2	<i>Streptomyces lienomycini</i> LMG 20091 <sup>T</sup>	AJ781353	99,45	8/1454
3	<i>Streptomyces bingchengensis</i> NBRC 15899 <sup>T</sup>	AB184712	99,39	9/1464
<b>ZEYZ14 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces aldersoniae</i> NRRL 18513 <sup>T</sup>	EU17012	99,79	3/1433
2	<i>Streptomyces sparsogenes</i> NBRC 13086 <sup>T</sup>	AB184301	99,59	6/1454
3	<i>Streptomyces cuspidosporus</i> NBRC 12378 <sup>T</sup>	AB184090	99,38	9/1456
<b>ZEI231 izolatı</b>				
1	<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767 <sup>T</sup>	AB249934	99,93	1/1464
2	<i>Streptomyces antimycoticus</i> NBRC 12839 <sup>T</sup>	AB184185	99,93	1/1461
3	<i>Streptomyces melanosporofaciens</i> NBRC 13061 <sup>T</sup>	AB184283	99,86	2/1461

16S rRNA gen dizi analizine göre ZEYZ1 izolatı, ZİRİ269 izolatına % 95,28 (70/1482), BI519 izolatına % 95,98 (59/1467), BARI245 izolatına % 96,02 (59/1481), ZİRS izolatına % 97,63 (35/1467), AS59 izolatına % 96,66 (49/1477), EC51 izolatına %95,60 (65/1477), ZEYZ14 izolatına %96,80 (47/1470 ) gen dizi benzerliği göstermiştir.



**Şekil 4.12.** Sekansı yapılan *Amycolatopsis* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram. Neighbor-joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçta, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verildi. Nükleotit pozisyon değişimi 0.01'dir.

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

No	İsim	Gen Bank	% benzerlik	Nt. farkı
<b><i>Amycolatopsis</i> sp. ZIRC94</b>				
1	<i>Amycolatopsis pretoriensis</i> NRRL B-24133(T)	AY183356	99.57	6/1397
2	<i>Amycolatopsis kentuckyensis</i> NRRL B- 24129 <sup>T</sup>	AY183357	99.52	7/1466
3	<i>Amycolatopsis rifamycinica</i> DSM 46095 <sup>T</sup>	AY083603	99.52	7/1462
4	<i>Amycolatopsis lexingtonensis</i> NRRL B-24131 <sup>T</sup>	AY183358	99.23	11/1430
5	<i>Amycolatopsis balhimycina</i> FH 1894 <sup>T</sup>	KB913037	99.28	12/1467



## 5. TARTIŞMA

Geçmişte prokaryotik canlıların sınıflandırılmasında morfolojik kriterler göz önünde bulundurulmakta iken, günümüzde bakterilerin sınıflandırılması; fenotipik ve genotipik karakterlerin belirlenmesine dayanan teknikleri içermektedir. Prokaryotik taksonların tanımlanmasında kullanılan yöntemler Tindall ve diğerleri tarafından detaylı olarak ele alınmış, genomik metodların güçlü ve zayıf yönleri de Schleifer tarafından ortaya konulmuştur. Nümerik ve moleküler yöntemlerin geliştirilmesi ile de sistematik biliminin daha objektif hale gelmesini sağlamıştır. 16S rRNA gen dizi analizi ve DNA-DNA hibridizasyonu bakteriyal taksonomide altın standart olarak görülmektedir. Ancak DNA-DNA hibridizasyonunun yoğun işgücü maliyeti ve uygulanmasındaki zorluk, 16S rRNA gen dizilerinin cins seviyesinin altında yeterli bir ayırıştırma gücünün olmaması nedeniyle de alternatif metotlar aranmıştır (Stackebrandt ve diğ., 2002; Schleifer, 2010; Tindall ve diğ., 2010).

Türler arasındaki filogenetik akrabalığın değerlendirilmesinde tüm genom dizi analizine doğru bir eğilim olsa da günümüzde aktinomisetlerin taksonomik pozisyonlarının belirlenmesinde 16S rRNA gen bölgesi baz dizisi verileri temel oluşturmaktadır. Ad-Hoc komitesinin 2005 raporuna göre yeni bir prokaryotik taksonun tanımlanmasında çalışılan organizmanın en az 1300 nt'den oluşan 16S rRNA gen dizisi temel alınıp en yakın akraba taksonlar belirlenmelidir (Koçak, 2011).

Sınıfının ilk hiyerarşik sınıflandırması Stackebrandt ve diğerleri (1997) tarafından yapılmış, daha sonra moleküler ve nümerik taksonomik metodların uygulanmasıyla Zhi ve diğerleri (2009) tarafından yeniden gözden geçirilmiştir. Bakteri alemi içerisinde çok geniş yeri olan *Actinobacteria* sınıfı, 16S rRNA gen bölgesine ait soy ağaçlarındaki dallanma pozisyonları bakımından temel filumlardan birini oluşturmaktadır. Aktinomisetler; aerobik, gram pozitif bakteriler olup (Küster, 1968) farklı habitatlarda bulunmaları, morfolojik yapıları, bazı türlerin patojenite özelliği göstermesi, genom uzunlukları, genomunun içerdiği G+C oranı ve genomunda kodlanan bölge sayısı gibi özellikleri bakımından bakteriler içerisinde

önemli bir grubu oluşturmaktadır (Embley ve Stackebrandt, 1994; Kieser ve diğ., 2000; Ventura ve diğ., 2007). Aktinomisetler genelde toprak ve akuatik sistemlerde bulunmasına rağmen bataklıklar (Suzuki ve diğ., 1994), yeraltı mağaraları (Groth ve diğ., 1999), çeltik tarlaları (Hayakawa ve diğ., 1988), kaplıcalar (Barabote ve diğ., 2009), gama ışınlarına maruz kalmış yüzeyler (Phililips ve diğ., 2002), deniz süngerleri ve çöl toprağı (Ventura ve diğ., 2007; Wanbanjob, 2008; Hassan ve Wellington, 2009) gibi çok değişik habitatlarda dağılım göstermektedir.

Aktinomisetler karasal çevrelerde yaygın olarak bulduklarından ve antibiyotik üretme kapasitesinde olduklarından dolayı (ortalama 1 g toprak örneğinde bulunan  $10^9$  bakteriden  $10^7$ 'si aktinomisetler) (Weinbauer ve diğ., 1998) bu organizmalarla ilgili oldukça fazla araştırma yapılmıştır. Sekonder metabolit üretme kapasitelerinin yüksek olması nedeniyle de yeni bileşik eldesi üzerine çalışmalar ön planda olmuştur.

Mikrobiyal çeşitliliğın oldukça fazla olduğu sedimentler çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Magarvey ve diğ., 2004). Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında Gökçeada aktinomiset izolasyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu gibi nedenler göz önünde bulundurularak, yapılan bu çalışmada toplanan toprak örneklerinin farklı aktinomiset gruplarının izolasyonunun gerçekleştirmek amacıyla geleneksel bir metot haline gelen dilüsyon plaka uygulaması kullanılmıştır.

### **Gökçeada'nın genel özellikleri**

Çanakkale'nin bir ilçesi ve Türkiye'nin en büyük adasıdır. Ege Denizi'nin kuzeyinde, Saros Körfezi girişinde yer almaktadır. 91 km. kıyı şeridinde sahiptir. Gökçeada 285.5 km<sup>2</sup> lik bir alan üzerindedir. Çevresi 46 deniz mili olup, boy ve en olarak 16 x 5 deniz mili boyutlarındadır. Gelibolu Yarımadası'na 11, Limni'ye 10, Semadirek Adası'na 12 mil uzaklıktadır. Ulaşım için en yakın yer olan, Kabatepe Limanı'na 14 mil uzaklıktadır. Adanın batısında yer alan İncirburnu Türkiye'nin de en batı noktasını oluşturmaktadır.



**Şekil 5.1.** Gökçeada'nın genel görüntüsü

Coğrafi yapısı çevre adalardan oldukça farklıdır. Tek bir dağdan oluşan Semadirek ile tek bir ovidan oluşan Limni'ye karşın, tepelerin ve ovaların birbiri ardınca sıralandığı ilginç bir yapısı vardır. Gökçeada genelde engebeli bir yapıya sahip ve volkanik kütlelerden oluşmuştur. Gökçeada'nın % 77'si dağlık, %12'si engebeli ve %11'i de ovalık alandan oluşmuştur.

Ada'nın en yüksek noktası Doruktepe 673 metredir. Volkanik bir yapı hakim olmasından dolayı Dev Kazanları, Sualtı Mağaraları, Lav kayaları ve ponza taşları Ada'da çokça bulunmaktadır. Ada'da yaklaşık 1500 hektar ekilebilir arazi, 1900 hektar bağlık, 4000 hektar mera, 8000 hektar ormanlık arazi bulunmaktadır. Karışık olarak toplam 20.000 hektar alan bulunmaktadır. Kullanılmayan arazi %30'dur. Ve bu duruma göre Gökçeada'da kullanılabilir arazi Türkiye ortalamasının çok üzerindedir. Ada 'da 5 adet gölet bulunmakta ve su kaynakları açısından Ege'nin en zengin adasıdır.

Bu çalışmada Ege Bölgesindeki Gökçeada'nın *Actinobacteria* biyoçeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmış ve 6 farklı lokaliteden elde edilen toprak örneklerinin izolasyonu için seçici besiyerleri olarak Hayakawa ve Nonomura tarafından 1987 yılında geliştirilen hümitik asit vitamin agar (HVA), Nişasta-Kazein, SM1, SM2, SM3, ISP2, ISP5 ve Czapek's Dox agar olmak üzere toplam sekiz besiyeri kullanılmıştır. İzolasyon çalışmalarında dilüsyon plaka uygulaması kullanarak, farklı aktinomisetlere ulaşma ihtimali artırılmaya çalışılmıştır. Bu ortamlarda elde edilen organizmalar tripton yeast glukoz ekstrakt agar (Blackall ve diğ., 1989) ortamına ekilerek daha rahat gözlenebilir hale getirilmişlerdir. Ancak bazı aktinomiset kolonileri kontaminasyondan kurtarılıp saf elde edilememiştir. Besiyerlerinde hızlı büyüyen Gram negatif bakterileri baskılamak için nalidiksik asit (20 µg/ml), fungal büyümeyi baskılamak için nistatin (50 µg/ml) eklenmiş olmasına rağmen basil ve

fungus kontaminasyonlarının önüne geçilememiştir. Aktinomisetlerin gelişimlerinin bu organizmalara göre daha yavaş olması da kontaminasyonu artırmıştır. Bu nedenle HV agar besiyerinden birçok izolat ana izolasyon petrisinden alınamamıştır. Besiyerlerinde kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları Çizelge 4.1’te belirtilmiştir.

Bu çalışma için Aydıncık, Eşelek Barajı, Zirve, Yıldız koy, Zeytinli Köyü ve Eşelek köyü (Şekil 5.1) gibi farklı bölgelerden alınan örnekleri aseptik şartlarda laboratuvara getirildi, seçici izolasyon besiyerlerine dilüsyon plak yöntemiyle, ekimleri her bir dilüsyon için üçer plak olacak şekilde gerçekleştirildi, petripler 28 °C’de 7-14 gün inkübasyona bırakıldı.

İzolasyon petriplerinde gelişen kolonilerin tamamı yeniden bazal ortamlara transfer edilerek saflaştırıldı, numaralandırıldı ve % 25’lik gliserol çözeltisi içerisine stoklandı.

Tryptone yeast glucose extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930) ortamında saflaştırılan 400 izolat koloni morfolojisi ve pigmentasyon özelliklerine göre otuz gruba ayrılmıştır (Kelly, 1964). Oluşturulan her grubu temsil edecek şekilde 150 suş seçilmiştir. Glukoz yeast extract agar (GYEA; Gordon ve Mihm, 1962) ve tryptone yeast glucose extract agar (TYGA; Bower ve Hucker, 1930) yüzeyine transfer edilmiştir. Bu besiyeri ortamlarında geliştirilen 150 izolat içerisinden; morfolojik benzerlikleri ve farklılıkları göz önüne alınarak öncelikli olarak çalışılmak üzere 40 izolat seçilmiştir. Aynı genomik türe ait suşlar arasında farklı morfolojik ve pigmentasyon özellikleri görülebildiği gibi, farklı tür ve cins üyeleri arasında da benzer morfolojik ve pigmentasyon özellikleri görülebilmektedir. Bu durumda, izolatlar arasından seçilerek oluşturulacak test organizmalarının, biyoçeşitliliği tam olarak temsil etmemesine neden olabilmektedir.

16S rRNA gen bölgesi çalışmasında ilk aşamada örnekler 27f ve 1525r primerleri ile çoğaltılıp, ardından ilgili gen bölgesinin nükleotit dizisi 800r, MG5f ve 518f evrensel primerleriyle belirlenmiştir. Bu primerler ile elde edilen okuma dizilerinin birleştirilmesi Mega 6 (Tamuta ve diğ., 2011) paket programında yapılmıştır. 16S rRNA dizilerinin çoklu hizalanması sonrasında filogenetik dendogramlar neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanılarak oluşturulmuş ve bu algoritma için uzaklık matrisi Jukes-Cantor metodu izlenerek gerçekleştirilmiştir (Jukes ve Cantor, 1969). Filogenetik analizler için oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri 1000 tekrarlı olarak Mega 6 (Tamuta ve

diğ., 2011) paket programında gerçekleştirilmiştir. Test izolatlarının en yakın tip türleri ile yüzde benzerlik ve nükleotit farklılıklarını gösteren tablolar PHYDIT programı (<http://plaza.snu.ac.kr/jchun/phydit>) kullanılarak oluşturulmuştur.

Morfolojik özelliklerine göre seçilen test organizmalarının genomik DNA izolasyonu ve 16S rRNA gen bölgesi dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen dizi verilerinin filogenetik analizleri sonucunda, *Streptomyces* cinsi üyesi 25, *Microbinospora* cinsi üyesi 2, *Nonomuraea* cinsi üyesi 2, *Nocardia* cinsi üyesi 3, *Actinomadura* cinsi üyesi 4, *Amycolatopsis* cinsi 1 ve *Saccharopolyspora* cinsi üyesi 4 olmak üzere 41 test organizmasının 16S rRNA gen verileri bu çalışmada değerlendirilmiştir (Şekil 5.2 ).

41 aktinomiset izolatı içerisinde 13 izolat Nisaşta kazein agar ortamından, 10 izolat ISP2 agar ortamından, 8 izolat Czapek's dox agar ortamından, 3 izolatta ISP5 agar ortamından, 4 izolat SM3 ortamından, 2 izolat SM2 ortamından ve 1 izolat SM1 ortamından izole edilmiştir.

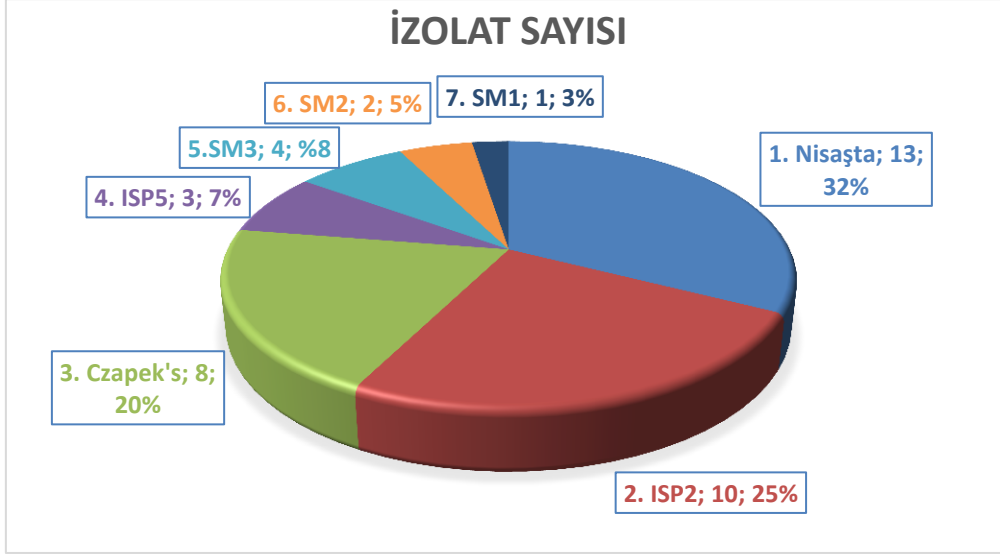
25 *Streptomyces* izolatının 5'i Czapek's dox agar ortamından, 7'si Nisaşta Kazein agar ortamından, 1'i SM3 agar ortamından, 8'i ISP2 agar ortamından, 3'ü ISP5 agar ortamından ve 1'i SM2 agar ortamından izole edilmiştir.

Eşelek köyü ve Aydıncık topraklarından elde edilen 2 *Microbiospora* izolatı Czapek's dox agar ortamından izole edilmiştir. Yine aynı ortamlardan elde edilen 3 *Nocardia* izolatları sırasıyla SM2, SM3 ve Nisaşta Kazein besiyerlerinden izole edilmiştir.

Eşelek ve Zirve bölgelerinden dilüsyon plaka yöntemi ile izole edilen 2 *Nonomuraea* izolatının 1'i Czapek's dox agar ortamından ve diğeri Nisaşta Kazein ortamından izole edilmiştir.

Tamamı Aydıncık bölgesi topraklarından elde edilen 4 *Actinomadura* izolatının 2'si ISP2 agar ortamından, 2 'si Nisaşta Kazein agar ortamından izole edilmiştir.

Dilüsyon plaka yöntemi ile Yıldız koy ve Zeytinli topraklarından elde edilen 4 *Saccharopolyspora* izolatının 2'si Nisaşta kazein agar ortamında, diğeri sırasıyla SM2 ve SM3 agar ortamlarından izole edilmiştir.



**Şekil 5.2.** Kullanılan seçici besiyerlerinden kırk bir izolatın hangi besiyerinden kaç tane izole edildiğini gösteren dairesel grafik.

Bakteri sistematğinde yeni bir tür tanımlamak için gerekli ilk aşama 16S rRNA gen bölgesi dizi verilerinin elde edilmesidir. 16S rRNA molekülü, yapısında bulunan değişken ve korunmuş bölgeler ile filogenetik bilgiyi içerebilecek özellikte ve dizi analizinin yapılmasının kolay olması, bu molekülü bakteri filogenisinde önemli bir parametre haline getirmektedir (Woese, 1987). 16S rRNA sekans analizleri iki organizma arasındaki akrabalığı tür ve cins düzeyinde ortaya koymaktadır (O'Donnell ve diğ., 1993).

Farklı lokalitelerden alınan topraklardan izole edilen izolatların öncelikle hangi cinse ait olduklarını belirlemek için 16S rRNA gen bölgesi dizi analizleri gerçekleştirilmiş ve 40 izolatın yedi farklı *Actinobacteria* cinsinin üyelerini içerdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma 16S rRNA sekansı tamamlanan test organizmalarının filogenetik analizlerine göre potansiyel yeni türlerin varlığını belirlemek ve toprak örneklerinin alındığı altı farklı bölgenin aktinomiset biyoçeşitlilik potansiyelini belirleyebilmek için yapılmıştır.

Son yıllarda %98 ve daha düşük 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği gösteren suşlar arasında yapılan DNA:DNA hibridizasyon çalışmalarının tür tanımı için kabul edilen %70 DNA:DNA hibridizasyon üst değerinden her zaman daha düşük verdiği, bundan dolayı %98 ve daha düşük nükleotit benzerliği gösteren suşlar arasında DNA:DNA hibridizasyonuna gerek olmadığı belirtilmiştir (Stackebrandt ve Ebers, 2006; Konstantinidis ve Tiedje, 2007; Meier-Kolthoff ve diğ., 2013). Meier-Kolthoff ve diğerlerinin 2013 yılında yaptığı bir çalışmada; farklı filumlardan toplam

571 adet DNA-DNA hibridizasyon ve 16S rRNA dizi verileri istatistiksel olarak kıyaslanmış, %97-98.5 arası 16S rRNA dizi benzerliğine sahip bakterilerin ölçülen DNA-DNA hibridizasyon verilerinin %40'ın altında olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçları değerlendiren araştırmacılar DNA-DNA hibridizasyonunun yapılmasında karar için yeni bir eşik değeri olabileceğini belirtmişlerdir (Meier-Kolthoff ve diğ., 2013). Yaptığımız bu çalışmada da yeni tür olma ihtimali olan izolatlar bu literatür bilgisi dikkate alınarak belirlenmiştir.

16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlere göre izolatlar içerisinde akraba tip türleri ile yüzde benzerlikleri ve nükleotid farklılıklarına göre yeni tür olma ihtimali olan izolatlar *Actinomadura* cinsi üyesi olduğu belirlenen AI238, AYDS4, AS21 ve AI239 izolatları; *Microbispora* cinsi üyesi olduğu belirlenen AZ5 izolatı; *Nonomureae* cinsi üyesi oldukları belirlenen ZIZ37 izolatı ve *Streptomyces* cinsi üyesi oldukları belirlenen ZEYZ1 izolatıdır.

*Actinomadura* cinsine ait suşlardan, 16S rRNA dizi verilerinin filogenetik değerlendirmeleri sonucunda, ISP2 besiyerinden izole edilen Aydıncık izolatı AI238; en yakın tip türleri olan *Actinomadura madurae* DSM 43067<sup>T</sup> ile % 98.82 benzerlik (17 nükleotit farklılığı), *Actinomaduraarangshiensis* DSLS-70<sup>T</sup> türü ile % 98.60 benzerlik ve 20 nükleotit farklılığı, *Actinomadura bangladeshensis* 3-46-b3<sup>T</sup> ile % 98,56 (21 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen dizi benzerliği bulunmaktadır. Nisaşta kazein agar besiyerinden izole edilen AYDS4 izolatı; en yakın akrabaları olan *Actinomadura nitritigenes* DSM 44137<sup>T</sup> ile % 99,03 (14 nükleotit farklılığı), *Actinomadura madurae* DSM 43067<sup>T</sup> ile 98,69 (19 nükleotit farklılığı), *Actinomadura fibrosa* ATCC<sup>T</sup> ile %98,55 (21 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen dizi benzerliği bulunmaktadır. AS21 suşu; en yakın akrabaları olan *Actinomadura bangladeshensis* 3-46-b3<sup>T</sup> ile % 99,11 (13 nükleotit farklılığı), *Actinomadura napierensis* B60<sup>T</sup> ile % 99,11 (12 nükleotit farklılığı), *Actinomadura chokorierensis* 3-45-a/11<sup>T</sup> ile % 98,63 (20 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen dizi benzerliği göstermektedir. Yine Aydıncık topraklarından izole edilen AI239 izolatı; en yakın filogenetik akrabaları *Actinomadura napierensis* B60<sup>T</sup> ile % 99,18 (11 nükleotit farklılığı), *Actinomadura madurae* DSM 43067<sup>T</sup> ile % 98,69 (19 nükleotit farklılığı), *Actinomaduraarangshiensis* DSLS-70<sup>T</sup> ile % 98,38 (23 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen dizi benzerliği bulunmaktadır.

16S rRNA dizi verilerinin filogenetik değerlendirmeleri sonucunda *Microbispora* cinsine ait bir suş olan Aydıncık izolatu AZ5; en yakın akrabaları *Microbispora rosea* subsp. *aerata* ATCC 15448<sup>T</sup> ile %99,01 (14 nükleotit farklılığı), *Microbispora bryophytorum* NEAU-TX2-2<sup>T</sup> ile %98,98 (15 nükleotit farklılığı), *Microbispora rosea* subsp. *rosea* IFO 14044<sup>T</sup> ile %98.76 (18 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır.

*Nonomuraea* cinsine ait suşlardan, 16S rRNA dizi verilerinin filogenetik değerlendirmeleri sonucunda, Czapek's dox agar besiyerinden izole edilen Zirve izolatu ZIZ37; en yakın akrabaları olan *Nonomuraea candida* HMC10<sup>T</sup> ile %98.78 (17 nükleotit farklılığı), *Nonomuraea jabiensis* A4036<sup>T</sup> ile %98,56 (21 nükleotit farklılığı), *Nonomuraea spiralis* IFO 14097<sup>T</sup> ile %98.44 (22 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır.

16S rRNA dizi verilerinin filogenetik değerlendirmeleri sonucunda *Streptomyces* cinsine ait bir suş olan Zeytinli köyü toprağından elde edilen ZEYZ1 izolatu, en yakın tip türleri olan *Streptomyces seymenliensis* B1041<sup>T</sup> ile % 98,51 (22 nükleotit farklılığı), *Streptomyces canus* NRRL B-1989<sup>T</sup> ile % 98,30 (25 nükleotit farklılığı), *Streptomyces ciscaucasicus* NBRC 12872<sup>T</sup> ile % 98,29 (25 nükleotit farklılığı) 16S rRNA gen bölgesi dizi benzerliği bulunmaktadır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Taksonomik bilgi, farklı ekosistemlerdeki organizmalar arasındaki ilişkilerin ve biyoçeşitliliğin anlaşılmasını sağlaması nedeniyle gereklidir. Taksonomi, prokaryotlar için düşünüldüğünde, klinik veya çevresel örneklerden elde edilen suşların güvenilir bir biçimde tanımlanmasına olanak tanınması açısından önemli bir rol oynamaktadır. Günümüzde prokaryot taksonomisi fenotipik, kemotaksonomik ve genotipik özelliklerinin polifazik kombinasyonuna dayanmaktadır. Son yirmi yılda SSU rRNA gen dizisini temel alan filogenetik çalışmaların ve standart mikrobiyal kültür çalışmalarından bağımsız olarak genomla ilişkili teknolojinin hızlı gelişmesine bağlı olarak prokaryotik taksonomide büyük ilerlemeler gerçekleştirilmiştir (Delong, 1997; L ve Qin, 2005).

Bu tez çalışmasında Çanakale'nin bir ilçesi olan Gökçeada'nın 6 farklı bölgesinden alınan toprak örneklerinden HV, SM1, ISP2, ISP5, SM2, SM3, Czapek's dox agar ve Nisaşta Kazein Agar besiyerlerinden bakteri izolasyonu yapılmış ve 150 izolat kültüre alınarak saflaştırılmıştır. Bu izolatlardan kültür besiyerlerinde koloni oluşumu ve pigmentasyon özelliklerine göre seçilen 41 temsilci organizmanın 16S rRNA gen bölgesi analizleri yapılmış ve 25 izolatın *Streptomyces* cinsine, 2 izolatın *Microbispora* cinsine, 2 izolatın *Nonomuraea* cinsine, 3 izolatın *Nocardia* cinsine, 4 izolatın *Saccharopolyspora* cinsine, 1 izolatın *Amycolatopsis* cinsine ve 4 izolatın *Actinomadura* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir.

### 6.1 Sonuçlar

16S rRNA gen bölgesi filogenetik analiz sonuçlarına göre izolasyon çalışmalarında kullanılan seçici besiyeri ortamlarından elde edilen 41 aktinomiset izolatı içerisinde 13 izolat Nisaşta kazein agar ortamından, 10 izolat ISP2 agar ortamından, 8 izolat Czapek's dox agar ortamından, 3 izolat ISP5 agar ortamından, 4 izolat SM3 ortamından, 2 izolat SM2 ortamından ve 1 izolat SM1 ortamından izole edilmiştir. Aktinomiset grubu organizmaların izolasyonunda hümitik asit vitamin agar ortamının başarılı sonuçlar vermediği görülmüştür. Yine bu sonuçlara göre;

uygulanan izolasyon metotları içerisinde dilüsyon plaka metodu ile izole edilen izolat sayısını (7 cinse üye 41 izolat) göz önüne aldığımızda bu metodun aktinomiset izolasyonu için kullanılan geleneksel bir yöntem olduğu ve başarılı sonuçlar verdiği yorumlanabilmektedir.

Yapılan çalışmalar neticesinde *Nocardia* cinsi üyesi olan AS26, EA5, ve EC52 izolatları 16S rRNA gen dizi analizine göre en yakın tip türlerine 1-9 nt'lik farklılık göstermektedir. İzolatlar birbirleriyle 32-44 nt'lik farklılık göstermektedir.

*Saccharopolyspora* sp. ZES61 izolatı 16S gen bölgesi bakımından %99,44 benzerlik oranı ile *S. shandongensis* türü ile yakınlık göstermekle birlikte 8 nükleotit farklılık gösterdiği tespit edilmiştir YILB32 izolatı % 99,52 benzerlik ile yakın ilişki göstermekte ve 7 nükleotit farklılığa sahiptir.

ZIRI269, ZIRS29, AS59, EC51, ZEYZ14 ve ZEYI231 nolu *streptomyces* izolatları en yakın tip türleri ile % 99,52 ve üzeri 16S rRNA dizi benzerliği göstermektedir. Yapılan çalışmalar neticesinde BI245 ve BI519 nolu suşlar en yakın tip türü olan *S. filipinensis* NBRC 12860<sup>T</sup> ile sırasıyla % 99,32-% 99,24 16S rRNA gen dizi benzerliği göstermektedir. Aynı izolatlar birbiriyle % 99,93 benzerlik göstermektedir.

16S rRNA dizi verilerinin filogenetik değerlendirmeleri sonucunda *Streptomyces* cinsine ait bir suş olan Zeytinli toprağından elde edilen ZEYZ1 izolatı, en yakın tip türü olan *Streptomyces seymenliensis* B1041<sup>T</sup> ile % 98,51 (22 nükleotit farklılığı) gösterdiği için yeni tür olma ihtimali yüksek izolat olarak değerlendirilmiştir.

*Nonomuraea* cinsi üyesi *Nonomuraea* sp. ZIZ37 izolatının 16S rRNA gen dizi analizine göre en yakın filogenetik akrabası olan *N. candida* HMC10<sup>T</sup> tip türüne 1396 nt'lik bölgede 17 nükleotit farklılığı (% 98,78 nt benzerliği) gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatın 16S rRNA gen dizi analizine göre çizilen dendogramdaki pozisyonu göz önünde bulundurularak ilgili tip türleriyle DNA-DNA homolojilerinin yapıp yeni tür olduğu kesinleştikten sonra kemotaksonomik ve fenotipik analizlerinin tamamlanarak literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır. Diğer *Nonomuraea* cinsi üyesi izolat AYDS25 en yakın filogenetik akraba türleri ile 10 nt'lik farklılık göstermektedir. İzolatlar birbirleriyle 1474 nt'lik bölgede 29 nükleotit farklılığı (% 98,03 benzerlik) gösterdiği tespit edilmiştir.

16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerine göre AI238 izolatu en yakın tip türü olan *Actinomadura madurae* DSM 43067<sup>T</sup> ile 17 nükleotit farklılığı (% 98,82 benzerliği), AS21 izolatu en yakın tip türleri olan *Actinomadura bangladeshensis* 3-46-b3<sup>T</sup> ile 13 nükleotit farklılığı (% 99,11), AYDS4 izolatu en yakın tip türü olan *Actinomadura nitritigenes* DSM 44137<sup>T</sup> ile 14 nükleotit farklılığı (% 99,03) gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu izolatlar birbriyle 20 nükleotitin üzerinde farklılık göstermektedir. İzolatların dendogramdaki pozisyonları ve literatür yeni tür makaleleri incelendiğinde yeni tür olma olasılıkları yüksektir.

*Microbispora* sp. AZ5 izolatının 16S rRNA gen dizi analizine göre en yakın filogenetik akrabası olan *Microbispora rosea* subsp. *aerata* ATCC 15448<sup>T</sup> tip türüne 1413 nt'lik bölgede 14 nükleotitlik farklılık (% 99,01 benzerlik) gösterdiği tespit edilmiştir. *Microbispora* sp. AZ5 ve EZ izolatlarının yapılan filogenetik analizler sonucunda birbirleriyle 1464 nt'lik bölgede 13 nükleotit farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

## 6.2 Öneriler

*Streptomyces* cinsine ait olan ZEYZ1 suşu, *Microbispora* cinsine ait olan AZ5, *Actinomadura* cinsine ait olan AI238, AI239, AS21 ve AYDS4 izolatları ve *Nonomuraea* cinsine ait olan ZIZ37 izolatının elde edilen 16S rRNA gen analizleri ve dendogram pozisyonlarından dolayı yeni tür olma potansiyeli oldukça yüksektir. Bir an önce en yakın tip türleriyle DNA-DNA analizleri tamamlanarak ve yeni tür olduğu kesinleştikten sonra kemotaksonomik ve fenotipik analizlerinin yapıp literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır.

Ayrıca baz dizi analizleri üç evrensel primer (MG5F, 518F ve 800R) ile tamamlanmış olan potansiyel yeni tür izolatlarının dizileme işlemlerinin kontrol amaçlı olarak tekrarlanması ve 2 ilave evrensel primer ile dizilerek filogenetik analizlere uyumlu olarak tanımlama çalışmalarının ivedilikle yapılması önerilmektedir. Aynı zamanda literatür ile uyumlu olarak ilgili cinslerin yeni türlerinde güncel olarak hangi (housekeeping) MLTS gen bölgeleriyle analizleri yapılıyorsa ilgili gen bölgelerinin çalışılması da öneriler arasındadır.

Tüm bunlara ilave olarak ilgili yüksek lisans tez çalışmasındaki örnek alanından eldesi gerçekleşen toplam izolat sayısının neredeyse üçte birinden az bir örnek sayısı analiz edilmesine rağmen; oldukça ümit verici sonuçlara ulaşılmış olması, diğer izolatların da mümkün olan en kısa sürede çalışmalarının yapılması ülkemiz mikrobiyotasına katacağı zenginlikler açısından bakıldığında kuvvetli öneriler arasında yer almaktadır.

## KAYNAKLAR

- Ahrens R., ve Moll G., 1970. Ein neues Knospendes Bacterium aus der Ostsee, *Arch. Microbiol.* 70:243–265.
- Alam M.T., Merlo E.M., Takano E., Breitling R., 2010. Genome-based phylogenetic analysis of *Streptomyces* and its relatives, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54, 763-722.
- Altenburger P., P. Kämpfer A. Makristathis W. Lubitz ve Busse H.-J., 1996. Classification of bacteria isolated from a medieval wall painting. *J. Biotechnol.* 47:39–52.
- Altenburger P., P. Kämpfer V. N., Akimov W., Lubitz H.- J., 1997. Polyamine distribution in actinomycetes with group B peptidoglycan and species of the genera *Brevibacterium*, *Corynebacterium* and *Tsukamurella*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47:270–277.
- Amann, R.I., W. Ludwig, and K.H. Schleifer. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev.*59:143-169.
- Anderson A.S., Wellington E.M., 2001. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51, 797–814.
- Antal N., Fiedler H.P., Stackebrandt E.W., Beil K., Stroch A., Zeeck. 2005. Retymicin, galtamycin B, saquayamycin Z and ribofuranosyllumichrome, novel secondary metabolites from *Micromonospora* sp. Tu 6368. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities, *J. Antibiot.*, 58, 95-102.
- Anzai K., Ohno M., Nakashima N., Kuwahara N., Suzuki R., Tamura T., Komaki H., Miyadoh S., Harayama S., Ando F., 2008. Taxonomic distribution of *Streptomyces* species capable of producing bioactive compounds among strains preserved NITE/NBRC, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 80, 287-295.
- Aoki K., Shinke R. ve Nishira H., 1982. Identification of aniline-assimilating bacteria, *Agric. Biol. Chem.* 46:2563–2570.
- Ara I., Kudo T., Matsumoto A., Takahashi Y. ve Omura S., 2007a, *Nonomuraea maheshkhaliensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from mangrove rhizosphere mud, *J Gen Appl Microbiol* 53, 159–166.
- Ara I., Kudo T., Matsumoto A., Takahashi Y. Omura S.,2007b. *Nonomuraea bangladeshensis* sp. nov. and *Nonomuraea coxensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57, 1504–1509.
- Ara I., Matsumoto A., Bakır M.A., Kudo T., Omura S. ve Takahashi Y., 2008b. *Actinomadura bangladeshensis* sp. nov. and *Actinomadura chokoriensis* sp. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58, 1653-1659.

- Arnaudi C., 1942. Flavobacterium dehydrogenans (Micrococcus dehydrogenans) und seine Fahigkeit zur Oxidation von Steroiden sowie Substanzen aus der Sexualhormonreihe. Zentrbl. Bakteriolog. Parasitenkd. Infektionskr., Hyg. Abt. II, Orig. 105:52–366.
- Ashraf W., Mihdir A. ve Murrell J.C., 1994 Bacterial oxidation of propane, *FEMS Microbiology Letters* 122, 1–6.
- Atalan E., 1993. Selective Isolation, Characterisation and Identification of some *Streptomyces* species, Thesis, Newcastle upon Tyne UK, Univ of Newcastle, England.
- Baba T., Nishiuchi Y. ve Yano I., 1997. Composition of Mycolic Acid Molecular Species as a Criterion in Nocardial Classification, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 795–801.
- Bagwell C.E., ve diğ. 2008. Survival in nuclear waste, extreme resistance, and potential applications gleaned from the genome sequence of *Kineococcus radiotolerans* SRS30216. *PLoS One* 3:e3878.
- Baker D., Mocek U., Garr C., 2000. Natural Products vs. Combinatorials: A Case Study, S. K. Wrigley M. A., Hayes R., Thomas E. J. T., Chrystal N., Nicholson, Eds.; Biodiversity: New Leads for the Pharmaceutical and Agrochemical, Industries, *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge, UK, 66-72.
- Baltz RH., 2008. Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes. *Curr. Opin. Pharmacol.* 8:557–563.
- Barabote RD, ve diğ. 2009. Complete genome of the cellulolytic thermophile *Acidothermus cellulolyticus* 11B provides insights into its ecophysiological and evolutionary adaptations, *Genome Res.* 19:1033–1043.
- Basilio A., González I., Vicente M. F., Gorrochategui J., Cabello A., González A., Genilloud O., 2003. Patterns of antimicrobial activities from soil *actinomycetes* isolated under different conditions of pH and salinity, *Journal of Applied Microbiology*, 95, 814-823.
- Bassam, J.B., Caetano-Anollés, G., Gresshoff, P.M., 1992. DNA amplification fingerprinting of bacteria, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 70-76.
- Behal V. 2000. Bioactive products from *Streptomyces*, *Adv. Appl. Microbiol.* 47:113–156.
- Bell K.S., Philp J.C., Aw D.W.J. ve Christofi N., 1994. The genus *Rhodococcus*, *Journal of Applied Microbiology* 85, 195–210.
- Bendinger, B., Kroppenstedt R. M., Rijnaarts H., Van- Langenhove H. R., Oberthuer R. C. ve Altendorf K., 1990. Studies on the microbiology and the degradation capacities of a biofilter, *Deutsche Gesellschaft für Chemisches Apparatewesen (DECHEMA)*. Biotechnol. Conf. 4 Pt. A:529–534.
- Bentley S.D., Brosch R., Gordon S.V., Hopwood D.A., Cole S.T., 2004. Genomics of *Actinobacteria*, the high G\_C Gram-positive bacteria, p 333–359. In Fraser CM, Read TD, Nelson KE (ed), *Microbial genomes*. Humana Press, Totowa, NJ.
- Bentley, S.D., Chater, K.F., Cerdeno-Tarraga, A. M., Challis, G.L., Thomson, N.R. ve 38 Other Co-authors., 2002. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3 (2), *Nature* 417: 141-147.

- Berdy J., 2005. Bioactive microbial metabolites, *J. Antibiototechnol.* (Tokyo), 58, 1-26.
- Blackall, L., Parlett, J.H., Hayward, A.C., Minnikin, D.E., Greenfield, P.F., Harbers, A.E., 1989. *Nocardia pinensis* sp. nov., an actinomycete found in activated sludge foams in Australia, *Journal of General Microbiology*, 135, 1547-1558.
- Bouchek-Mechiche, K., Gardan, L., Normand, P., Jouan, B. 2000. DNA relatedness among strains of *Streptomyces* pathogenic to potato in France: description of three new species, *S. europaeiscabiei* sp. nov. and *S. stelliscabiei* sp. nov. Associated with common scab, and *S. reticuliscabiei* sp. nov. associated with netted scab, *Int J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50, 91–99.
- Bower, C.S., Hucker, G.J., 1930. Tech. Bull. 228. New York State Agr. Exp. Sta., Geneva, N.Y.
- Bradley, S.G., ve Mordarski, M., 1976. Association of polydeoxyribonucleotides of deoxyribonucleic acids from nocardioform bacteria. *In: The Biology of the Nocardiae* (M. Goodfellow, G.H. Brownell and J.A. Serrano eds), Academic Press, London, 310-336.
- Bredholdt, H., Galatenko, O.A., Engelhardt, K., Fjærvik, E., Terekhova, L.P., Zotchev, S., 2007. Rare actinomycete bacteria from the shallow water sediments of the Trondheim fjord, Norway: isolation, diversity and biological activity, *Environmental Microbiology*, 9 (11), 2756–2764.
- Briglia, M., Middeldorp, P.J.M. and Salkinoja-Salonen, M.S., 1994b. Mineralization performance of *Rhodococcus chlorophenolicus* strain PCP-1 in contaminated soil simulating on site conditions, *Soil Biology and Biochemistry* 26, 377–385.
- Brown-Elliot, B.A., Brown, J.M., Conville, P.S., Wallace, R.J., 2006. Clinical and Laboratory features of the *Nocardia* spp. Based on current molecular taxonomy, *Clin. Microbiol. Rev.*, 19, 259-282.
- Buchanan, R.E., 1918. Studies in the classification and nomenclature of the Bacteria, VIII. The subgroups and genera of the Actinomycetales, *J. Bacteriol.*, 3, 403-406.
- Bull A., T., Goodfellow M., 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift, *Microbiology and Molecular Biology Review* 64.
- Bull AT, Stach JE, Ward AC, Goodfellow M. 2005. Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions, *Antonie Van Leeuwenhoek* 87:65–79.
- Bull A.T., Stach J.E.M.. 2007. Marine actinobacteria: new opportunities for natural product search and discovery, *Trends Microbiol.* 15:491– 499.
- Camas M., Sazak A., Sproer C., Klenk H. P., Cetin D., Guven K. ve Sahin N., 2013. *Nonomuraea jabiensis* sp. nov., isolated from Nigerian arid soil, *Int J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63, 212–218.
- Cao L., Qiu Z., You J., Tan H., Zhou S., 2004. Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots, *Letters in Applied Microbiology*, 39, 425-430.

- Cao Y. R., Jin R. X., Jiang Y., He W. X. ve Jiang C. L. 2012. *Nonomuraea soli* sp. nov., an actinomycete isolated from soil, *Int J Syst Evol Microbiol* 62, 1587–1591.
- Castellani A., ve Chalmers A.J., 1919. Manual of tropical medicine, 3rd ed., Williams Wood & Co., New York. 959-960.
- Castillo U.F., Strobel G.A., Ford E.J., Hess W.M., Porter H., Jensen J.B., Albert H., Robinson R., Condrón M.A., Teplow D.B., Stevens D., Yaver D., 2002. Munumbicins, wide spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*, *Microbiology*, 148, 2675-2685.
- Chater K. F., 1993. Genetics of differentiation in *Streptomyces*, *Annu Rev Microbiol*, 147, 685-713.
- Chater KF. 2006. *Streptomyces* inside-out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 361:761–768.
- Chiba, S., Suzuki, M. ve Ando, K., 1999. Taxonomic re-evaluation of ‘*Nocardiopsis*’ sp. K-252T (5 NRRL 15532T): a proposal to transfer this strain to the genus *Nonomuraea* as *Nonomuraea longicatena* sp. nov., *Int J Syst Bacteriol* 49, 1623–1630.
- Choi S., Lee C. K., Hwang Y., Kinoshita H., Nihira T., 2003.  $\gamma$ -Butyrolactone autoregulators and receptor proteins in non-*Streptomyces* actinomycetes producing commercially important secondary metabolites, *Arch Microbiol* 180:303\_307
- Christner, B. C. 2002. Recovery of Bacteria from Glacial and Subglacial Environments (Thesis). Ohio State University. Columbus, OH.
- Chun J., 1995. *Computer Assisted Classification and Identification of Actinomycetes*.
- Chun J., Kang S. O., Hah Y. C. ve Goodfellow M., 1996. Phylogeny of mycolic acid containing actinomycetes, *J. Ind. Microbiol.*, 17, 205-213.
- Coenye T., Gevers D., Van de Peer Y., Vandamme P., Swings J., 2005. Towards a prokaryotic genomic taxonomy. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 147–167.
- Collins M.D., Stackebrandt E., 1989. Molecular taxonomic studies on some LL-diaminopimelic acid containing coryneform from herbage. description of *Nocardioides fastidiosa* sp. nov., *FEMS Microbiol. Lett.*, 57, 289-294.
- Colwell R.R., 1970. Polyphasic taxonomy of the genus *Vibrio*: numerical taxonomy of *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus* and related *Vibrio* species, *J. of Bacteriol.*, 194, 410-433.
- Conville S.P., ve Witebsky F.G., 2010. The Complexity of *Nocardia* Taxonomy: Implications for the Clinical Microbiology Laboratory. *Clinical Microbiology newsletter*, 32 (16), 119-125.
- Coombs J.T., Franco C.M.M., 2003. Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots, *App. and Env. Microbiol.*, 69, 5603-5608.
- Couch J.N., 1963. Some new genera and species of *Actinoplanaceae*, *J Elisha Mitchell Sci Soc.*, 79, 53-70.



- Cowan S.T., 1968. A dictionary of microbial taxonomic usage. Edinburg, Oliver, Boyd.
- Cross T. ve Goodfellow M., 1973. Taxonomy and classification of the actinomycetes. In: Sykes, G. and Skinner, F.A. (eds.): Actinomycetales; London: *Academic Press*, 11-112.
- Cross T., 1981. Aquatic actinomycetes: a critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. *J. Appl. Bacteriol.*, 50, 397-423.
- Cross T., T. J., Rowbotham E. N., Mishustin E. Z., Tepper F., Antoine-Portaels K., Schaal P., ve Bickenbach H.. 1976. The ecology of nocardioform actinomycetes. In: M. Goodfellow, Brownell G. H. ve Serrano J. A. (Eds.) The Biology of the *Nocardiae*, *Academic Press*. London, UK. 337–371.
- Cui Q., Wang L., Huang Y., Liu Z. ve Goodfellow M., 2005. *Nocardia jiangxiensis* sp. nov. and *Nocardia miyunensis* sp. nov., isolated from acidic soils, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55, 1921–1925.
- Cummins C.S. ve Harris H., 1956. The chemical composition of the cell wall in some Gram-positive bacteria and its possible value as a taxonomic character, *J. Gen. Microbiol.*, 14, 583-600.
- Cummins C.S. ve Harris H., 1958. Studies on the cell wall composition and taxonomy of *Actinomycetales* and related groups, *J. Gen. Microbiol.*, 18, 173-189.
- Curtis, T.P., W.T. Sloan, and J.W. Scannell. 2002. Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc Natl Acad Sci USA*. 99:10494-10499.
- Das S., Ward L.R., Burke C., 2008. Prospects of using marine actinobacteria as probiotics in aquaculture, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 81, 419–429.
- Demain A.L., 1998. Microbial natural products: alive and well in 1998, *Nature Biotechnology* 16: 3-4.
- DeLong E.F., 1997. Marine microbial diversity: the tip of the iceberg, *Trends Biotechnol.*, 15, 203-207.
- El-Gendy M.M.A., Hawas U.W., Jaspars M., 2008. Novel Bioactive Metabolites from a Marine Derived Bacterium *Nocardia* sp. ALAA 2000, *The Journal of Antibiotics*, 61, 379–386; doi:10.1038/ja.2008.53.
- El-sersy N. A., Abou-Elela G. M., 2006. Antagonistic effect of marine *Nocardia brasiliensis* against the fish pathogen *Vibrio damsela*: application of Plackett-Burman experimental desing to evaluate factors affecting the production of the antibacterial agent IJOO 1(1): 141-150 In: International Journal of Oceans and Oceanography, *Research Idia Publication*: Delhi. ISSN 0973-2667
- El-Tarabily K.A., Hardy G.E. St.J., Sivasithamparam K., Hussein A.M., Kurtböke I.D., 1997. The potential for biological control of cavityspot disease of carrots, caused by *Pythium coloratum*, by streptomycete and non-streptomycete actinomycetes, *New Phytol.*, 137, 495-507.
- El-Tarabily K.A., Hardy G.E., Sivasithamparam K., Kurtböke I.D., 1996a. 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, 279-290.

- El-Tarabily K.A., Nassar A.H., Hardy G.E. St.J., Sivasithamparam K., 2009. Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *J. of App, Microbiol.*, 106, 13-26.
- El-Tarabily K.A., 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., Sykes M.L., Kurtböke I.D., Hardy G.E. St.J., Barbosa A.M., Dekker R.F.H., 1996b. 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, 618–624.
- Embley T. M., Stackebrandt E., 1994. The molecular phylogeny and systematics of the actinomycetes, *Annu. Rev. Microbiol.*, 48,257–289.
- Everest G. J., Meyers P. R., 2009. The use of gyrB sequence analysis in the phylogeny of the genus *Amycolatopsis*, *Antonie van Leeuwenhoek*, 95, 1–11.
- Ferrer, M., A. Beloqui, K.N. Timmis, and P.N. Golyshin. 2009. Metagenomics for mining new genetic resources of microbial communities. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 16:109-123.
- Fiedler F., ve O. Kandler. 1973a. Die Aminosäuresequenz von 2,4-diaminobuttersäure enthaltenden murein bei verschiedenen coryneformen bacterian und *Agromyces ramosus*, *Arch. Microbiol.* 89:51–66.
- Fiedler H.P., Bruntner C., Bull A.T., Ward A.C., Goodfellow M. ve Mihm G., 2005. Marine actinomycetes as a source of novel secondary metabolites, *Antonie van Leeuwenhoek* 87: 37-42.
- Fischer A., R. M. Kroppenstedt ve E. Stackebrandt. 1983. Molecular-genetic and chemotaxonomic studies on *Actinomadura* and *Nocardioopsis*, *J. Gen. Microbiol.* 129:3433–3446.
- Fleck W. F., Strauss D. G., Meyer J. ve Porstendorfer G.. 1978. Fermentation, isolation, and biological activity of maduramycin: A new antibiotic from *Actinomadura rubra*, *Z. Allg. Mikrobiol.* 18:389–398.
- Fleischmann R.D., Adams M.D., White O., Clayton R.A., Kirkness E.F., Kerlavage A.R., Bult J.C., Tomb J.F., Dougherty B.A., Merrick J.M., ve diğ. 1995. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae*, *Rd. Science*, 269, 496–512.
- Floss H. G., Yu T. W., 2005. Rifamycin – Mode of action, resistance, and biosynthesis. *Chemical Reviews*, 105, 621-632.
- Fox G. E., Peckman K. J. ve Woese C. R., 1977. Comparative cataloging of 16S ribosomal ribonucleic acid: molecular approach to prokaryotic systematics, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 27, 44-57.
- Fraser C.M., Gocayne D.J., White O., Adams M.D., Clayton R.A., Fleischmann R.D., Bult J.C., Kerlavage A.R., Sutton G., Kelly M.J., Fritchman J.L., Weidmann J.F., Small K.V., Sandusky M., Fuhrmann J., Nguyen D., Utterback T.R., Saudek M.D., Philips C.A., Merrick J.M., Tomb J.F., Dougherty B.A., Bott K.F., Hu P.C., Lucier T.S., Petterson S.N., Smith H.O., Hutchison III, C.A.,

- Venter J.C., 1995. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*, *Science*, 270, 397–403.
- Funke G., Stubbs S., Altweigg M., Carlotti A. and Collins M.D., 1994. *Turicella otitidis* gen. nov., sp. nov., a coryneform bacterium isolated from patients with otitis media, *Int. J. of Syst. c Bacteriol.* 44, 270–273.
- 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.
- Gauze G. F., Terekhova L. P., Galatenko O. A., Preobrazhenskaya T. P., Borisova V. N. ve Federova G. B., 1984. *Actinomadura recticatena* sp. nov., a new species and its antibiotic properties [in Russian]. *Antibiotiki* 29:3–7.
- Gauze G. F., Sveshnikova M. A., Ukholina R. S., Gaurilina D. V., Filicheva V. A. ve K. Gladkikh G.. 1973. Production of antitumor antibiotic carminomycin by *Actinomadura carminata* sp. nov., *Antibiotiki* 18:675– 678.
- Gillespie, D.E., S.F. Brady, A.D. Bettermann, N.P. Cianciotto, M.R. Liles, M.R. Rondon, J. Clardy, R.M. Goodman, and J. Handelsman. 2002. Isolation of antibiotics turbomycin a and B from a metagenomic library of soil microbial DNA. *Appl Environ Microbiol.* 68:4301-4306.
- Gillis M., Vandamme P., de Vos P., Swings J., Kersters K., 2005. Polyphasic taxonomy. *Bergey's Manual® Systematic Bacteriology*, 43-48, DOI: 10.1007/0-387-28021-9\_7.
- Gochnauer M. B., Leppard G. G., Komararat P., Kates M., Novitsky T. Kushner, D. J., 1975. Isolation and characterisation of *Actinopolyspora halophila* gen. et sp. nov., an extremely halophilic actinomycete. *Canadian Journal of Microbiology*, 21, 1500-1511.
- Goodfellow M. ve Maldonado L. A., 2006. The Families *Dietziaceae*, *Gordoniaceae*, *Nocardiaceae* and *Tsukamurellaceae*. In *The Prokaryotes*, A handbook on the Biology of Bacteria, (Editörler: S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, E. Stackebrandt, M. Dworkin), 3<sup>th</sup> edition, volume 3, s: 682-724, New York.
- Goodfellow M., Fiedler H. P., 2010. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 98:,119–42.
- Goodfellow M., Williams E. 1986. New strategies for the selective isolation of industrially important bacteria, *Biotechnol Genet Eng Rev*, 4, 213–262.
- Goodfellow M. ve Alderson G., 1977. The actinomycete-genus *Rhodococcus*: a home for the 'rhodochrous' complex, *Journal of General Microbiology* 100, 99–122.
- Goodfellow M. ve Cross T., 1984. Classification. In: The biology of the actinomycetes, eds Goodfellow M, Mordarski J.G and Williams S.T. *Academic Press*, 7-164.
- Goodfellow M. ve Lechevalier M.P., 1989. Genus *Nocardia* Trevisan 1889, 9AL, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, ed. Williams ST, Williams ve Wilkins, Baltimore, 4, 2350-2361.

- Goodfellow M. ve Minnikin D.E., 1981a. The genus *Nocardia* and *Rhodococcus*. In: Starr, M.P., Stolp, B., Trüper, H.G. and Schlegel, H.G. (eds.) Berlin; Springer. The Prokaryotes., II, 2016-2027.
- Goodfellow M. ve Minnikin D.E., 1984. Circumscription of the genus. In: Kubica, G.P. and Wayne, L.G. (eds.): The Mycobacteria; New York: Marcel Dekker, 1-24.
- Goodfellow M., 1971. Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria, *J. of Gen. Microbiol.*, 69, 33-80.
- Goodfellow M., 1989. The Actinomycetes I. Suprageneric classification of actinomycetes. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, Edited by S.T. Williams, M.E. Sharpe, J.G. Holt. Baltimore: Williams, Wilkins. 2333-2339.
- Goodfellow M., 1992. The family *Nocardiaceae*. In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. And Schleifer, K.H. (eds.): The Prokaryotes 2nd Edition, New York, Springer, 2, 1188-1213.
- Goodfellow M., Alderson G., 1979. Numerical Taxonomy of *Actinomadura* and Related *Actinomycetes*, *Journal of General Microbiology*, 112, 95-111.
- Goodfellow M., Alderson G., Chun J., 1998. *Rhodococcal* systematics: problems and developments, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 74, 3-20.
- Goodfellow M., ve Aubert E., 1980. Characterization of rhodococci from the intestinal tract of Rapa Nui cockroaches. In: G. L. Nogrady (Ed.) Microbiology of Easter Island. Sovereign Press. Oakville, Canada. 2:231-240.
- Goodfellow M., Maldonado, L.A., 2006. The families Dietziaceae, Gordoniaceae, Nocardiaceae and Tsukamurellaceae. In The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria, (Edit: Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Dworkin, M.). 3th edition, volume, 3, 843-888.
- Goodfellow M., ve T. Pirouz. 1982. Numerical classification of sporoactinomycetes containing meso-diaminopimelic acid in the cell Wall, *J. Gen Microbiol.* 128:503-527.
- Goodfellow M., Davenport R., Stainsby F.M. ve Curtis T.P., 1996. Actinomycete diversity associated with foaming in activated sludge plants, *J. of Ind. Microbiol.*, 17 (3-4), 268-280.
- Goodfellow M., Davenport R., Stainsby F.M., Curtis T.P., 1996. Actinomycete diversity associated with foaming in activated sludge plants, *J. of Ind. Microbiol.*, 17(3-4), 268-280.
- Goodfellow M., E. Stackebrandt ve R. M. Kroppenstedt. 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., Fiedler H.P., 2010. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics, *Antonie van Leeuwenhoek* 98, 119-142.
- Goodfellow M., G. Alderson ve Lacey J., 1979. Numerical taxonomy of *Actinomadura* and related actinomycetes, *J. Gen. Microbiol.* 112:95-111.
- Goodfellow M., Işık K., Yates E., 1999. Actinomycete systematics: An unfinished synthesis. *Nova acta Leopoldina NF80*, 312, 47-82.

- Goodfellow M., Kumar Y., Labeda D.P., Sembiring L., 2007. The *Streptomyces violaceusniger* clade: a home for *Streptomyces* with rugose ornamented spores, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 92, 173–199.
- Goodfellow M., Maldonado L.A., 2006. The families *Dietziaceae*, *Gordoniaceae*, *Nocardiaceae* and *Tsukamurellaceae*. In *The Prokaryotes*, A handbook on the Biology of Bacteria, (Edit: Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Dworkin, M.). 3th edition, volume, 3, 843-888.
- Goodfellow M., Manfilo G.P., Chun J., 1997. Towards a practical species, concept for cultivable bacteria. In *Species: The biodiversity*, (Edited by M.F. Claridge, H.A., Dawah, and M.R. Wilson) Chapman and Hall, London. 25-59.
- Goodfellow M., Simpson K.E., 1987. Ecology of streptomycetes, *Front. Appl. Microbiol.*, 2, 97-125.
- Goodfellow M., Stanton L.J., Simpson K.E., Minnikin D.E., 1990. Numerical and chemical classification of *Actinoplanes* and some related actinomycetes, *J. Gen. Microbiol.*, 136, 19-36.
- Goodfellow M., ve Minnikin D.E., 1977. Nocardioform Bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.*, 31, 159-180.
- Goodfellow M., ve Minnikin D.E., 1978. Numerical and chemical methods in the classification of *Nocardia* and related taxa. *Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde, Infektion skrankheiten und Hygiene. I. Abteilung, Supplement*, 6, 43-51.
- Goodfellow M., ve Minnikin D.E., 1981b. Classification of nocardioform bacteria. *Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde, Infektion skrankheiten und Hygiene. I. Abteilung, Supplement*, 11, 7-16.
- Goodfellow M., Weaver C.R. ave Minnikin D.E., 1982. Numerical classification of some rhodococci, corynebacteria and related organisms. *J. Gen. Microbiol.*, 128, 731-745.
- Gordon R.E., Mihm J.M., 1962. The type species of the genus *Nocardia*, *J. Gen. Microbiol.*, 27, 1-10.
- Gotlieb D., 1961. An evaluation of criteria and procedures used in the description and characterization of the streptomycetes. A cooperative study, *Applied Microbiology*, 9, 55-65.
- Guo D., Su Y., Dai J., Guo H. 2002. Lecture on the 23rd IUPAC International Symposium on the Chemistry of Natural Products, Florence.
- Gupta R.S., 2009. Protein signatures (molecular synapomorphies) that are distinctive characteristics of the major cyanobacterial clades, *Int J Syst Evol Microbiol.*, 59, 2510-2526; DOI 10.1099/ijss.0.005678-0.
- Gürtler V., Smith R., Mayall B.C., Pötter-Reinemann G., Stackebrandt E., Kroppenstedt R.M., 2001. *Nocardia veterana* sp. nov., isolated from human bronchial lavage. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51, 933-936.
- Gyobu Y., ve S. Miyadoh. 2001. Proposal to transfer *Actinomadura carminata* to a new subspecies of the genus *Nonomuraea* subsp. *carminata* comb. nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.* 51:881–889.

- Hahn M. W., Lunsdorf H., Wu Q., Schauer M., Hofle M. G., Boenigk J., ve Stadler P., 2003. Isolation of novel ultramicrobacteria classified as Actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia, *Appl. Environ. Microbiol.* 69:1442–1451.
- Hanafy A., Ito J., Iida S., Kang Y., Kogure T., Yazawa K., Yaguchi T. ve Mikami Y., 2006. Majority of *Actinomadura* clinical isolates from sputa or bronchoalveolar lavage fluid in Japan belongs to the cluster of *Actinomadura cremea* and *Actinomadura nitritigenes*, and the description of *Actinomadura chibensis* sp. nov. *Mycopathologia.* 162, 281-287.
- Hatano, K. 1997. Actinomycete populations in mangrove rhizospheres. *IFO Res. Commun.* 18:26–31.
- Hatano, K., Nishii, T., Kasai, H., 2003. Taxonomic re-evaluation of whorl-forming *Streptomyces* (formerly *Streptoverticillium*) species by using phenotypes, DNA–DNA hybridization and sequences of *gyrB*, and proposal of *Streptomyces luteireticuli* (ex Katoh and Arai 1957) corrig., sp. nov., nom. rev, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 1519–1529.
- Hayakawa M., Otaguro M., Takeuchi T., Yamazaki T., ve Imura Y., 2000. Application of a method incorporating differential centrifugation for selective isolation of motile actinomycetes in soil and plant litter, *Ant. v. Leeuwenhoek* 78:171–185.
- Hayakawa M., Yoshida Y. ve Imura Y., 2004. Selective isolation of bioactive soil actinomycetes belonging to the *Streptomyces violaceusniger* phenotypic cluster. *Journal of Applied Microbiology* 96: 973-981.
- Helmke E., ve Weyland H., 1984. *Rhodococcus marinonascens* sp. nov., an actinomycete from the sea, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34:127–138.
- Henssen A., 1957. Beitrage zur Morphologie and Systematik der thermophilen Actinomyceten. *Arch Mikrobiol*, 26, 373-414.
- Hiltunen L. H., Weckman A., Ylhainen A., Rita H., Richter E., Valkonen J. P. T., 2005. Responses of potato cultivars to the common scab pathogens, *Streptomyces scabies* and *S. turgidiscabies*, *Ann. Appl. Biol*, 146, 395-403.
- Henssen A. 1957. Über die Bedeutung der thermophilen Mikroorganismen für die Zersetzung des Stallmistes. *Archiv für Mikrobiologie*, 27, 63-81.
- Hopwood DA. 2006. Soil to genomics: the *Streptomyces* chromosome, *Annu. Rev. Genet.* 40:1–23.
- Hopwood DA. 2007. *Streptomyces in nature and medicine*. Oxford University Press, New York, NY.
- Hoshino Y., Mukai A., Yazawa K., Uno J., Ando A., Mikami Y., Fukai T., Ishikawa J., Yamaguchi K., 2004. Transvalencin A, thiazolidine zinc complex antibiotic produce by a clinical isolate of *Nocardia transvalensis*. II. Structure elucidation, *J Antibiot*, 57, 803-807
- Houge-Frydrych C.S., Readshaw S.A., Bell D.J., 2000. SB-219383, a novel tyrosyl tRNA synthetase inhibitor from a *Micromonospora* sp. II. Structure determination, *J. Antibiot.* (Tokyo), 53, 351-356.

- Huang L.H. 1980. *Actinomadura macra* sp. nov., the producer of antibiotics CP-47, 433 and CP-47,434. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 30, 565-568.
- Hutchinson M., Ridgway J.W., Cross, T., 1977. Biodeterioration of rubber in contact with water, sewage and soil. In: Lovelock D.W., Gilbert R.J. (Ed), *Microbial Aspects of Deterioration of Materials*, Academic Press, London, 187-202.
- Iinuma S., Yokota A., Hasegawa T. ve Kanamaru T., 1994. *Actinocorallia* gen. nov., a new genus of the order *Actinomycetales*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44, 230- 234.
- Ikeda H., Ishikawa J., Hanamoto A., Shinose M., Kikuchi H., Shiba T., Sakoki Y., Hattori M. ve Ōmura S., 2003. Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*, *Nature Biotechnology* 21: 526-531.
- Ilic S.B., Konstantinovic S.S., Todorovic Z.B., Lazic M.L., Velkovic V.B., Jokovic N., Radonovic B.C., 2007. Characterization and antimicrobial activity of the bioactive metabolites in streptomycete isolates, *Microbiology*, 76, 421-428.
- Istianto Y., Koesoemowidodo R. S. A., Saputra H., Watanabe Y., Pranamuda H., And Marwoto B. 2012. Application of Phenol Pretreatment for the Isolation of Rare *Actinomycetes* from Indonesian Soil, *Microbiology Indonesia*, 6,42-47.
- Jannat-Khah D., Kroppenstedt R. M., Klenk H. P., Sproer C., Schumann P., Lasker B. A., Steigerwalt A. G, Hinrikson H. P. and Brown J. M., 2010. *Nocardia mikamii* sp. nov., isolated from human pulmonary infections in the USA. *Int. J. of Syst. and Evol. Microbiol.*, 60, 2272–2276.
- Jansen P.H., 2006. Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes, *App. and Env. Microbiol.*, 72, (3), 1719-1728.
- Jensen J.L., 1931. Contributions to our knowledge of the Actinomycetales. II. The definition and subdivision of the genus *Actinomyces* with a preliminary account of Australian soil actinomycetes, *Proc. Linnean. Soc. NSW*, 56,345-370.
- Jiang C.-L., Xu L.-H., 1996. Diversity of aquatic Actinomycetes in Lakes of the Middle Plateau, Yunnan, China, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 249-253.
- Jinno S., Jirakulaporn T., Bankowski M.J., Kim W., Wong R., 2007. Rare Case of *Nocardia asteroides* Pericarditis in a Human Immunodeficiency Virus-Infected Patient, *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 2330-2333.
- Jordal P. B., Dueholm M. S., Larsen P., Petersen S. V., Enghild J. J., Christiansen G., Højrup P., Nielsen P. H. ve Otzen D. E., 2009. Widespread abundance of functional bacterial amyloid in mycolata and other Gram-positive bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 4101– 4110.
- Jukes T.H., Cantor C.R., 1969. Evolution of protein molecules. *Mammalian protein metabolism*, vol. 3, Editörler: Munro, H.N., Academic Press. s: 21-132, New York.
- Jurado V., Boiron P., Kroppenstedt R.M., Laurent F., Couble A., Laiz L., Klenk H.P., González J.M., Saiz-Jimenez C., Mounié D., Bergeron E. ve Rodríguez-Nava V., 2008. *Nocardia altamirensis* sp. nov., isolated from Altamira cave, Cantabria, Spain, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58, 2210-2214.
- Kalakoutskii L.V., Kirillova I.P., Krassilnikov N.A., 1967. A new genus of the Actinomycetales, *Intrasporangium* gen. nov., *J. Gen. Microbiol.*, 48, 79-85.

- Kämpfer P., 2006. *The family Streptomycetaceae- Part 1: Taxonomy*. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K. H., Stackebrandt E., (eds) *The Prokaryotes*, New York, Springer, 3, 538-604.
- Kämpfer P., Lidders N., Grun-Wollny I., Martin K. ve Busse H. J., 2012. *Nocardia grenadensis* sp. nov., isolated from sand of the Caribbean Sea. *Int. J. of Syst. and Evol. Microbiol.* , 62, 693–697.
- Kämpfer P., Busse H.-J., Tindall B. J., Nimtz M. & Grun-Wollny I., 2010. *Nonomuraea rosea* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 1118–1124.
- Kämpfer P., Kroppenstedt R. M. ve Grun-Wollny I., 2005. *Nonomuraea kuesteri* sp. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 847–851.
- Kawamoto I., Okachi R., Kato H., Yamamoto S., Takahashi I., Takasawa S., Nara T., 1974. The antibiotic XK-41 complex. I. Production, isolation and characterization, *J. Antibiot.*, 27, 493-501.
- Kawamoto I., Yamamoto M., Nara T., 1983. *Micromonospora olivatetraspora* sp. nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 33, 107-112.
- Keddie R.M. ve Cure G.L., 1977. The cell wall composition and distribution of free mycolic acids in named strains of coryneform bacteria and in isolates from various natural resources, *J. Appl. Bacteriol.*, 42, 229-252.
- Kewkla O. ve Franco C.M.M., 2010. *Nocardia callitridis* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from a surface-sterilized root of an Australian native pine tree, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, 1532-1536.
- Kim D., Chun J., Sahin N., Hah Y-C., Goodfellow M., 1996. Analysis of thermophilic clades within the genus *Streptomyces* by 16S ribosomal DNA sequence comparison, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 46, 581-587.
- Kim B., Al-Tai A.M., Kim S.B., Somasundaram P., Goodfellow M., 2000. *Streptomyces thermocoprophilus* sp. nov., a cellulase-free endoxylanase-producing streptomycete, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50, 505–509.
- Kim B.J., Lee S.H., Lyu M.A., Kim S.J., Bai G.H., Chae G.T., Kim E.C., Cha C.Y. ve Kook Y.H., 1999. Identification of mycobacterial species by comparative sequence analysis of the RNA polymerase gene (*rpoB*), *Journal of Clinical Microbiology* 37: 1714-1720.
- Kim O.-S., Cho Y.-J., Lee K., Yoon S.-H., Kim M., Na H., Pdiğ S. C., Jeon Y. S., Lee J. H., Yi H., Won S. Chun J., 2012. Introducing Ez Taxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species, *Int J Syst Evol Microbiol*, 62,716-721
- Kirby B.M., Meyers P.R., 2010. *Micromonospora tulbaghia* sp. nov., isolated from the leaves of wild garlic, *Tulbaghia violacea*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, 1328-1333.
- Kirby B.M., Roes M.L., Meyers P.R., 2006. *Kribbella karoonsensis* sp. nov. and *Kribbella swartbergensis* sp. nov., isolated from soil from the Western Cape, South Africa, *Int. J. of Syst. and Evol. Microbiol.*, 56, 1097–1101.
- Klatte S., Rainey F.A. ve Kroppenstedt R.M., 1994a. Transfer of *Rhodococcus aichiensis* Tsukamura 1982 and *Nocardia amarae* Lechevalier and Lechevalier



- 1974 to the genus *Gordona* as *Gordona aichiensis* comb. nov. & *Gordona amarae* comb. nov., *Int. J. of Syst. and Evol. Microbiol.*, 44, 769–773.
- Koch C., Kroppenstedt R.M., Stackebrandt E., 1996. Intragenic relationships of the Actinomycete Genus *Micromonospora*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46, 383–387.
- Koçak F. Ö., 2011. Bazı Nocardioform İzolatların 16S rRNA, *rpoB* ve *gyrB* Gen Dizi Analizleri İle Moleküler Sistematiği, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Türkiye.
- Kokare C.R., Mahadik K.R., Kadam S.S., 2004. Isolation of bioactive marine actinomycetes from sediments isolated from Goa and Maharashtra coastlines (west coast of India). *Indian Journal of Marine Sciences*, 33 (3), 248-256.
- Konstantinidis K. T., Tiedje J. M., 2007. Prokaryotic taxonomy and phylogeny in the genomic era: advancements and challenges ahead, *Curr Opin Microbiol*, 10, 504-509
- Korn-Wendisch F. ve Kutzner H.J., 1992. The family *Streptomycetaceae*. In *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria, Ecophysiology, Isolation, Identification. Applications*, pp. 921-995. Edited by A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder. and K-H. Schleifer, 2nd edition, volume 1. Springer-Verlag, New York.
- Korn-Wendisch F., Rainey F., Kroppenstedt R. M., Kempf A., Majazza A., Kutzner H. J. Stackebrandt E., 1995. *Thermocrispum* gen. nov., a new genus in the order Actinomycetales, and description of *Thermocrispum municipale* sp. nov., and *Thermocrispum agreste* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45, 67-77.
- Koronelli T.V., 1996. Principles and methods for raising the efficiency of biological degradation of hydrocarbons in the environment: review, *Applied Biochemistry and Microbiology* 32, 519–525.
- Kost C., Lakatos T., Böttcher I., Wolf-Rüdiger A., Redenbach M., Wirth R., 2007. Non-specific association between filamentous bacteria and fungus-growing ants. *Naturwissenschaften*, 94, 821-828.
- Krasil'nikov N.A., 1938. Ray fungi and related organisms. Actinomycetales. *Iz vest. Akad. Nauk. S. S. S. R.*, 1-328.
- Kroppenstedt R. M. 1985. Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. *In*: M. Goodfellow and D. E. Minnikin (Eds.) *Chemical Methods in Bacterial Systematics*, *Academic Press*. London, UK. 173–199.
- Kroppenstedt R. M., Stackebrandt E. ve Goodfellow M., 1990. Taxonomic revision of the actinomycete genera *Actinomadura* and *Microtetraspora*, *Syst. Appl. Microbiol.* 13:148–160.
- Kroppenstedt R.M., 1985. Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*, (ed. Goodfellow, M. and Minnikin, D. E.) *Academic Press*, London. 173–199.
- Kroppenstedt R.M., Goodfellow M., 1992. The family *Thermomonosporaceae*. *The Prokaryotes* (Edited by A. Balows, H.G. Trupper, M. Dworkin, W. Harder, K. Schleifer). Berlin: Springer, 1085-1110.

- Kroppenstedt R.M., Goodfellow M., 2006. The family *Thermomonosporaceae*: *Actinocorallina*, *Actinomadura*, *Spirillospora* and *Thermomonospora*. In *The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria*, Edited by Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Dworkin, M., 3th edition, volume 3, 682-724.
- Kroppenstedt R.M., Stackebrandt E. ve Goodfellow M., 1990. Taxonomic revision of the actinomycete genera *Actinomadura* and *Microtetraspora*, *Syst. Appl. Microbiol.*, 13, 148-160.
- Kudukhashvili P. G., Gurielidze M. A. ve Pataraya D. T. 2001. Study of the lytic activities of actinomycetes isolated from different soils in Georgia, *Appl. Biochem. Microbiol.* 37, 251–252.
- Kuhlman K. R., Allenbach L. B., Ball C. L., Fusco W. G., La Duc M. T., Kuhlman G. M., Anderson R. C., Stuecker T., Erickson I. K. ve other authors 2005. Enumeration, isolation, and characterization of ultraviolet (UV-C) resistant bacteria from rock varnish in the Whipple Mountains, California. *Icarus* 174, 585–595.
- Kumar Y., 2007. Mapping metabolites to the phylogeny of strains belonging to the *Streptomyces violaceusniger* 16SrRNA Gene Clade PhD. Thesis. Newcastle Univeristy, Medical School, Newcastle upon Tyne, U.K.
- Kurtböke D.I., 2000. Australian Actinomycetes: An Unexhausted Source for Biotechnological Applications. *Actinomycetologica*, 14 (2), 43-53.
- Kurtböke D.I., Neller R.J., Bellgard S.E., 2007. Dune Vegetation Zones of Fraser Island, Australia, *Microbial Ecology*, 54, 332–340.
- Kutzner, H.J., 1991, The family Streptomycetaceae, *The prokaryotes: A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*, 2:2028-2090.
- Lacey J. Goodfellow M., 1975. Novel actinomycete from sugar-cane bagasse—*Saccharopolyspora hirsuta* gen. et sp. nov. *Journal of General Microbiology*, 88, 75-85.
- Lacey J., Goodfellow M., Alderson G., 1978. The genus *Actinomadura* Lechevalier and Lechevalier. *Zentralblatt für Bakteriologie, Pvasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abteilung I)*, Supplement 6, 107-117.
- Lagesen K., W. Ussery D. ve Wassenaar M., T. 2010. Genome Update: The Thousandth Genome A Cautionary Tale. *Microbiology*, 156, 603-608.
- Laiz L., I. Groth P. Schumann F. Zezza A. Felske B. Hermosin ve C. Saiz-Jimenez. 2000. Microbiology of the stalactites from Grotta dei Cervi, Porto Badisco, Italy. *Int. Microbiol.* 3:25–30.
- Lambert D.H., Loria H., 1989b. *Streptomyces acidiscabies* sp. nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 39, 393–396.
- Lamm A.S., Khare A., Conville P., Lau P.C.K., Bergeron H. ve Rossazza J.P.N., 2009: *Nocardia iowensis* sp. nov., an organism rich in biocatalytically important enzymes and nitric oxide synthase, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59, 2408-2414.

- Lane D.J., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, pp. 115-148. Edited by E. Stackebrandt and M. Goodfellow, JohnWiley and Sons, Chichester.
- Lanoot B., Vancanneyt M., Dawyndt P., Cnockaert M., Zhang J., Huang Y., Liu Z., Swings J., 2004. BOX-PCR fingerprinting as a powerful tool to reveal synonymous names in the genus *Streptomyces*. Emended descriptions are proposed for the species *Streptomyces cinereorectus*, *S. fradiae*, *S. tricolor*, *S. colombiensis*, *S. filamentosus*, *S. vinaceus* and *S. phaeopurpureus*, *Syst. Appl. Microbiol.*, 27, 84–92.
- Lanoot B., Vancanneyt M., Hoste B., Vandemeulebroecke K., Cnockaert M.C., Dawyndt P., Liu Z., Huang Y., Swings J., 2005. Grouping of streptomycetes using 16S-ITS RFLP fingerprinting, *Res. Microbiol.*, 156, 755–762.
- Lapage, S.P., Sneath P.H.A, Lessel E.F., Skerman V.B.D., Seeliger H.P.R. ve Cldiğ, W.A., 1992. International Code of Nomenclature of Bacteria. Bacteriological Code, 1990 Revision. Washington (DC): ASM Press.
- Lavrova N. V. ve Preobrazhenskaya T. P., 1975. Isolation of new species of the genus *Actinomadura* on selective media with rubromycin [in Russian], *Antibiotiki* 20:438– 448.
- Lazzarini A., Cavaletti L., Toppo G., Marinelli F., 2000. Rare genera of actinomycetes as potential producer of new antibiotics, *Antonie van Leeuwenhoek*, 78, 399–405.
- Le Roes M. ve Meyers P. R., 2008. *Nonomuraea candida* sp. nov., a new species from South African soil. *Antonie van Leeuwenhoek* 93,133–139.
- Lechevalier H.A., Lechevalier M.P., 1970. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes, *Int J. Syst. Bacteriol.*, 20, 435-443.
- Lechevalier H.A., Lechevalier M.P., 1970. A critical evaluation of the genera of aerobic actinomycetes. In: H. Prauser (Ed.) *The Actinomycetales*, Gustav Fischer Verlag. Jena, Germany, 393-405.
- Lechevalier M.P., DeBievre C., Lechevalier H.A., 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: Phospholipid composition, *Biochem. Syst. Ecol.*, 5, 249–260.
- Lechevalier M.P., Lechevalier H.A., 1974. *Nocardia amarae* sp. nov. an actinomycete common in foaming activated sludge, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 24, 278-288.
- Lechevalier H. A., Lechevalier M. P., 1981. Introduction to the order *Actinomycetales*. In: *The Prokaryotes: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*, vol. 2, pp. 1915-1922. Edited by M. P. Starr, H. Stolp, H.G. Trüper, A. Balows, & H. G. Schlegel. Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Lee S.D., 2006: *Nocardia jejuensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a natural cave on Jeju Island, Republic of Korea, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 559-562.
- Lee S.D., Goodfellow M., Hah Y.C., 1999. A phylogenetic analysis of the genus *Catellatospora* based on 16S ribosomal DNA sequences, including transfer of *Catellatospora matsumotoense* to the genus *Micromonospora* as *Micromonospora matsumotoense* comb. nov., *Microbiology letters*, 178 (2), 349- 354.

- Lee S.D., Hah Y.C., 2002. Proposal to transfer *Catellatospora ferruginea* and "*Catellatospora ishikariense*" to *Asanoa* gen. nov. as *Asanoa ferruginea* comb. nov. and *Asanoa ishikariensis* sp. nov., with emended description of the genus *Catellatospor*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52, 967-972.
- Lee S.D., Kang S-O., Hah Y.C., 2000. *Hongia* gen. nov., a new genus of the order *Actinomycetles*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50, 191-199.
- Lee S.O., Choi G.J., Choi Y.H., Jang K.S., Pdiğ D.J., Kim C.J., Kim J.C., 2008. Isolation and characterization of endophytic actinomycetes from Chinese cabbage roots as antagonists to *Plasmodiophorabrassicae*, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 1741-1746.
- Lemmer H., Kroppenstedt R.M., 1984. Chemotaxonomy and physiology of some actinomycetes isolated from scumming activated sludge, *System. Appl. Microbiol.*, 5, 124-135.
- Li J., Zhao G. Z., Huang H. Y., Zhu W. Y., Lee J. C., Xu L. H., Kim C. J. ve Li W. J., 2011. *Nonomuraea endophytica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from *Artemisia annua* L., *Int J Syst Evol Microbiol* 61, 757–761.
- Li J., Zhao G. Z., Chen H. H., Qin S., Xu L. H., Jiang C. L., Li W. J., 2008. *Rhodococcus cercidiphylli* sp. nov., a new endophytic actinobacterium isolated from a *Cercidiphyllum japonicum* leaf, *Syst Appl Microbiol.* 31(2):108-13
- Li J., Zhao G. Z., Long L. J., Wang F. Z., Tian X. P., Zhang S. and Li W. J., 2012. *Rhodococcus nanhaiensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from marine sediment, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62, 2517–2521
- Li W. J., Zhang L.-P., Xu X.-L., Cui X.-L., Xu L.-H., Stackebrandt E. ve Jiang C.-L., 2003. *Agromyces aurantiacus* sp. nov., isolated from a Chinese primeval forest, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53:303–307.
- Li W. J., Wang D., Zhang Y.-Q., Schumann P., Stackebrandt E., Xu L.-H., Jiang C.-L., 2004. *Kribbella antibiotica* sp. nov., a novel nocardioform actinomycete strain isolated from soil in Yunnan, China, *Syst. Appl. Microbiol.*, 27, 160–165.
- Li W. J., Wang D., Zhang Y.-Q., Xu L.-H., Jiang C.-L., 2006. *Kribbella yunnanensis* sp. nov., *Kribbella alba* sp. nov., two novel species of genus *Kribbella* isolated from soils in Yunnan, China, *Syst. Appl. Microbiol.*, 29, 29–35.
- Li X. M., Zhang L. M., Ding Y., Gao Y. S., Ruan J. S. ve Huang Y., 2012. *Nonomuraea jiangxiensis* sp. nov., isolated from acidic soil, *Int J Syst Evol Microbiol* 62, 1409–1413.
- Li Y., Kawamura Y., Fujiwara N., Naka T., Liu H., Huang X., Kubayashi K. ve Ezaki T., 2004. *Rothia aerea* sp. nov., *Rhodococcus baikonurensis* sp. nov. and *Arthrobacter russicus* sp. nov., isolated from air in the Russian space laboratory Mir., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54:827–835.
- Lipski A., Altendorf K., 1995. *Actinomadura nitritigenes* sp. nov., Isolated from Experimental Biofilters, *Int. J. of Syst. Bacteriol.*, 45(4) 717-723.
- Little AEF, Currie CR. 2007. Symbiotic complexity: discovery of a fifth symbiont in the attine ant-microbe symbiosis, *Biol. Lett.* 3:501–504.

- Liu J., Zhou Y., Yu C., Han Y., Wu F., Qi B., 1986. The Structures of Huperzine A and B, Two New Alkaloids Exhibiting Modified Anticholinesterase Activity, *Canadian Journal of Chemistry*, 64, 837–839.
- Lu Z., Wang L., Zhang Y., Shi Y., Liu Z., Quintana E.T., Goodfellow M. 2003. *Actinomadura catellatispora* sp. nov. and *Actinomadura glauciflava* sp. nov., from a sewage ditch and soil in southern China, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 137-142.
- Ludwig W, Klenk H.P., 2005. Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for prokaryotic systematics. In: Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T., Garrity GM (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd edn, vol 2, the proteobacteria, part A, introductory essays. Springer, USA, 49–65.
- Luedemann G. M., 1968. *Geodermatophilus*, a new genus of the *Dermatophilaceae* (*Actinomycetales*). *J. Bacteriol.* 96, 1848–1858.
- Luedemann G.M., 1971. *Micromonospora purpureochromogenes* (Waksman and Curtis 1916) comb. nov. (subjective synonym: *Micromonospora fusca* Jensen 1932), *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 21, 240-247.
- Luedemann G.M., Brodsky B., 1965. *Micromonospora carbonacea* sp. nov, an everninomicin-producing organism. *Antimicrob Agents Chemother*, 1964, 47-52.
- Luedemann G.M., Brodsky B.C., 1964. Taxonomy of gentamycin-producing *Micromonospora*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1963, 116-124.
- Madigan M.T., Martinko J.M., 2009. *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi*, Palme Yayıncılık, Onbirinci Baskıdan Çeviri, Syf 324-325.
- Magarvey, N.A., J.M. Keller, V., Bernan, M., Dworkin, and Sherman D.H., 2004, Isolation and characterization of novel marine-derived actinomycetotaxa rich in bioactive metabolites, *Appl. Environ. Microbiol.*, 70:7520-7529.
- Maldonado L., Hookey J.V., Ward A.C., ve Goodfellow M., 2000. The *Nocardia salmonicida* clade, including descriptions of *Nocardia cummidelens* sp. nov., *Nocardia fluminea* sp. nov. and *Nocardia soli* sp. nov., *Antonie van Leeuwenhoek* 78, 367–377.
- Maldonado L.A., Fenical W., Jensen P.R., Kauffman C.A., Mincer T.J., Ward A.C., Bull A.T., Goodfellow M., 2005. *Salinispora arenicola* gen. nov., sp. nov. And *Salinispora tropica* sp. nov., obligate marine actinomycetes belonging to the family *Micromonosporaceae*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55, 1759-1766.
- Maldonado L.A., Fragosó-Yáñez D., Pérez-García A., Rosellón-Druker J., Quintana E.T., 2009. Actinobacterial diversity from marine sediments collected in Mexico. *Antonie Van Leeuwenhoek* 95, 111-120.
- Matsumoto A., Takahashi Y., Shinose M., Seino A., Iwai Y., Omura S., 2003. *Longispora albida* gen. nov., sp. nov., a novel genus of the family *Micromonosporaceae*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 1553-1559.
- Margalith P., Beretta G., 1960. Rifomycin. IX. Taxonomic study on *Streptomyces mediterranei* nov. sp. *Mycopathology and Mycology Applied*, 13, 321-330.
- McCarthy A. J., Williams S. T., 1990. Methods for studying the ecology of actinomycetes, *Methods in Microbiology*, 22, 533–563.

- McClung N. M., 1974. Family VI. *Nocardiaceae* Castellani and Chalmers 1919, 1040. In: Buchanan, R.E., and Gibbons, N.E. (Eds.): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Edition: Baltimore: Williams and Wilkins, 726-746.
- McNeil M.M., Brown J.M., 1994. The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology, *Clinical Microbiological Reviews*, 7, 357-417.
- Meier-Kolthoff J. P., Göker, M., Spröer C., Klenk, H. P., 2013. When should a DDH experiment be mandatory in microbial taxonomy? *Arch Microbiol*, DOI 10.1007/s00203-013-0888-4.
- Mertz F.P. ve Yao R.C., 1986. *Actinomadura oligospora* sp. nov., the producer of a new polyether antibiotic, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36, 179-182.
- Mertz F.P. ve Yao R.C., 1990. *Actinomadura fibrosa* sp. nov. isolated from soil, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 40, 28-33.
- Merzaeva O.V., Shirokikh I.G., 2006. Colonization of plant rhizosphere by actinomycetes of different genera, *Microbiology*, 75, 226-230.
- Meyer J. 1979. New species of the genus *Actinomadura*. *Z. Allgem. Mikrobiol.* 19:37-44.
- Meyer J. 1981. Validation of the publication of new names and new combinations previously affectively published outside the IJSB List No. 6. *Int J. Syst. Bacteriol.* 31:215- 218.
- Meyer J. 1989. Genus *Actinomadura* Lechevalier and Lechevalier 1970, 400AL. In: S. T. Williams, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins. Baltimore, MD. 4:2511- 2526.
- Miller E.S., Woese C.R., Brenner S., 1991. Description of the erythromycin-producing bacterium *Arthrobacter* sp. strain NRRL B-3381 as *Aeromicrobium erythreum* gen. Nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41, 363-368.
- Mincer T.J., Jensen P.R., Kauffman C.A., Fenical W., 2002. Widespread and persistent populations of a major actinomycete taxon in ocean sediments, *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 5005-5011.
- Minnikin D.E. ve Goodfellow M., 1976. Lipid composition in the classification and identification of nocardiae and related taxa. In: *The Biology of the Nocardiae* (M. Goodfellow, G.H. Brownell and J.A. Serrano eds). Academic Press, London, 160- 219.
- Minnikin D.E. ve Goodfellow M., 1980. Lipid composition in the classification and identification of acid-fast bacteria. In: *Microbiological Classification and Identification* (M. Goodfellow and R.G. Board, eds). Academic Press, London, 189-256.
- Minnikin D.E. ve Goodfellow M., 1981. Lipids in the classification of actinomycetes. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektion skrankheiten und Hygiene. I. Abteilung, Supplement*, 11, 99-109.
- Minnikin D.E., Goodfellow M. ve Collins M.D., 1978. Lipid composition in the classification and identification of coryneform and related taxa. In: *Bousfield, I.J. and Callely, A.G. (eds.): Coryneform Bacteria*, London, Academic Press., 85-160.

- Minnikin D.E., Hutchinson I.G., Caldicott A.B., Goodfellow M., 1980. Thin-layer chromatography of methanolysates of mycolic acid-containing bacteria, *Journal of Chromatography A*, 188 (1), 221-233.
- Mitsubishi Kasei Corporation (MKC). 1989. Production of D-N-carbamyl-alpha-amino acids. Patent JP 01228489.
- Miyadoh S., Miyara T., 2001. Family *Thermomonosporaceae*. In Identification Manual of *Actinomycetes*, (Edited by the Society for Actinomycetes, Japan) 281–291. Business Center for Academic Societies. Tokyo:
- Miyajima K., Tanaka F., Takeuchi T., Kuninaga S., 1998. *Streptomyces turgidiscabies* sp. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 48, 495–502.
- Mohammadipanah F., Hamed J., Göker M., Fiebig A., Pukall R., Spröer C., ve Klenk H. P., 2013. *Kribbella shirazensis* sp. nov., isolated from Iranian soil, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63:3369-3374
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Broughton W. J., Cattaneo A., Favet J., Pötter G., Rohde M., Spröer C., Schumann P., 2013a. *Geodermatophilus tzadiensis* sp. nov., a UV radiation-resistant bacterium isolated from sand of the Saharan desert, *Syst Appl Microbiol* 36, 177–182.
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Pötter G., Rohde M., Spröer, C., Schumann, P., Gorbushina, A. A. & Klenk, H.-P., 2012. *Geodermatophilus arenarius* sp. nov., a xerophilic actinomycete isolated from Saharan desert sand in Chad. *Extremophiles* 16, 903–909.
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Pötter, G., Rohde, M., Spröer, C., Schumann, P., Gorbushina, A. A. ve Klenk, H.-P., 2013b. *Geodermatophilus arenarius* sp. nov. In List of New Names and New Combinations Previously Effectively, but not Validly, Published, Validation List no. 150. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 797–798.
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Pötter G., Rohde M., Spröer C., Schumann P., Gorbushina A. A. ve Klenk H.-P., 2013c. *Geodermatophilus saharensis* sp. nov. In List of New Names and New Combinations Previously Effectively, but not Validly, Published, Validation List no. 151. *Int J Syst Evol Microbiol* 63, 1577–1580.
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Pötter G., Rohde M., Spröer C., Schumann P., Gorbushina A. A. ve Klenk H.-P., 2013d. *Geodermatophilus saharensis* sp. nov., isolated from sand of the Saharan desert in Chad. *Arch Microbiol* 195, 153–159.
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Pötter G., Rohde M., Spröer C., Schumann P., Klenk H.-P. ve Gorbushina A. A., 2013e. *Geodermatophilus telluris* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan desert sand. *Int J Syst Evol Microbiol* 63, 2254–2259.
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Rohde M., Schumann P., Pötter G., Spröer C., Gorbushina A. A. ve Klenk H.-P., 2013f. *Geodermatophilus siccatus* sp. nov. In List of New Names and New Combinations Previously Effectively, but not Validly, Published, Validation List no. 151. *Int J Syst Evol Microbiol* 63, 1577–1580.
- Montero-Calasanz M. C., Göker M., Rohde M., Schumann P., Pötter G., Spröer C., Gorbushina, A. A. ve Klenk H.-P., 2013g. *Geodermatophilus siccatus* sp. nov.,

- isolated from arid sand of the Saharan desert in Chad. *Antonie van Leeuwenhoek* 103, 449–456.
- Mordarski M., Schaal K.P., Tkacz A., Sayba K. ve Goodfellow M., 1978. Deoxyribonucleic acid base composition and homology studies on *Nocardia*. Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde, Infektion skrankheiten und Hygiene. I. Abteilung, Supplement, 6, 91-97.
- Moser B. D., Klenk H. P., Schumann P., Potter G., Lasker B. A., Steigerwalt A. G., Hinrikson H. P. and Brow J. M., 2011. *Nocardia niwae* sp. nov., isolated from human pulmonary sources. *Int J Syst Evol Microbiol*, 61, 438–442
- Munoz J., Mirelis B., Aragon L.M., Gutierrez N.F., Sanchez M., Espanol O., Esparcia M., Gurgui P., Domingo P., 2007. Clinical and microbiological features of nocardiosis 1997-2003. *J. Med. Microbiol.*, 56, 545–550.
- Naganawa H., Hashizume H., Kubota Y., Sawa R., Takahashi Y., Arakawa K., Bowers S. G. ve Mahmud T., 2002. Biosynthesis of the aminocyclitol moiety of pyralomicin 1a in *Nonomuraea spiralis* MI178-34F18. *J. Antibiot.* 55:578–584.
- Nakaew N., Sungthong R., Yokota A. ve Lumyong S., 2012. *Nonomuraea monospora* sp. nov., an actinomycete isolated from cave soil in Thailand, and emended description of the genus *Nonomuraea*. *Int J Syst Evol Microbiol* 62, 3007–3012.
- Nakagawa M., Hayakawa Y., Kawai H., Imamura K., Inoue H., Shimazu A., Seto H. ve Otake N. 1983. A new anthracycline antibiotic N-formyl-13-dehydrocarminomycin. *J. Antibiot.* 36:457–458.
- Nakagawa M., Hayakawa Y., Imamura K., Seto M. ve Otake N., 1989. Microbial conversion of anthracyclines to carminomycins by a blocked mutant of *Actinomadura roseoviolacea*, *J. Antibiot.* 42:1698–1703.
- Nakamura K., Hiraishi A., Yoshimi Y., Kawaharasaki M., Masuda K., Kamagata Y., 1995. *Microbunus phosphovorius* gen. nov., sp. nov., a new gram-positive polyphosphateaccumulating bacterium isolated from activated sludge, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 45, 17-22.
- Naumova I. B., Shashkov A. S., Tul'skaya E. M., Streshinskaya G. M., Kozlova Yu. I., Potekhina N. V., Evtushenko L. I. ve Stackebrandt E., 2001. Cell Wall teichoic acids: structural diversity, species-specificity in the genus *Nocardopsis* and chemotaxonomic perspective. *FEMS Microbiol. Rev.* 25:269–284.
- Naumova I.B., Zaretskaya M.S., Dmitrieva N.F. ve Streshinskaya G.M., 1978. Structural features of teichoic acids of certain *Streptomyces* species. In *Nocardia and Streptomyces*, pp. 75-83. Edited by Mordarski, M., Kurilowicz, W., and Jeljaszewicz, J., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Nesemann G., Thurm H. ve Soeder A., 1974. Mikrobiologisches Verfahren zur Herstellung von Oxoalkylxanthinen. German Federal Patent DE2302772.
- Nesterenko O. A., Kvasnikov E. I., Nogina T. M., 1985. *Nocardioideaceae* fam. nov., a new family of the order *Actinomycetales*, *Microbiol. Zh.*, 47, 3–12.
- Nett M., Ikeda H., Moore B. S., 2009. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes, *Nat Prod Rep*, 26: 1362–1384.



- Neu T.R., 1996. Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces, *Microbiological Reviews* 60, 151–166.
- Nie G. X., Ming H., Li S., Zhou E. M., Cheng J., Yu T. T., Zhang J., Feng H. G., Tang S. K. ve Li W. J., 2012. *Geodermatophilus nigrescens* sp. nov., isolated from a dry-hot valley, *Antonie van Leeuwenhoek* 101, 811–817.
- Nimaichand S., Zhang Y. G., Cheng J., Li L., Zhang D. F., Zhou E. M., Dong L., Ningthouja D. S. ve Li W. J., 2013. *Micromonospora kangleipakensis* sp. nov., isolated from a sample of limestone quarry. *Int. J. of Sys. Evol. Microbiol.*, 63, 4546–4551
- Nimaichand S., Sanasam S., Zheng L. Q., Zhu W. Y., Yang L. L., Tang S. K., Ningthoujam D. S and Li W. J., 2013. *Rhodococcus canchipurensis* sp. nov., an actinomycete isolated from a limestone deposit site. *Int. J. of Sys. Evol. Microbiol*, 63, 114–118
- Nonomura H. ve Ohara Y., 1971c. Distribution of actinomycetes in soil. XI. Some new species of the genus *Actinomadura*. Lechevalier ve diğ. *J. Ferment. Technol.*, 49, 904-912.
- Normand P., 2006. Geodermatophilaceae fam. nov., a formal description. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 2277–2278.
- Nornand P., 2006. The Families Frankiaceae, Geodermatophilaceae, Acidothermaceae and Sporichthyaceae. In *The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria*, Edited by Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Dworkin, M., 3th edition, volume 3, Chapter 1.1.28., Springer, 669-681, Springer.
- O'Donnell A. G., Falconer C., Goodfellow M., Ward A. C., Williams E., 1993. Biosystematics and diversity amongst novel carboxydrotrophic actinomycetes, *Antonie van Leewenhook*, 64, 325-340.
- Olano C, Mendez C, Salas JA. 2009. Antitumor compounds from actinomycetes: from gene clusters to new derivatives by combinatorial biosynthesis. *Nat. Prod. Rep.* 26:628–660.
- Ōmura S., Ikeda H., Ishikawa J., Hanamoto A., Takahashi C., Shinose M., Takahashi Y., Horikawa H., Nakazawa H., Osonoe T., Kikuchi H., Shiba T., Sakaki Y. ve Hattori M., 2001. Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: deducing the ability of producing secondary metabolites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:12215-12220.
- Orchard V.A. ve Goodfellow M., 1980. Numerical classification of some named strains of *Nocardia asteroides* and related isolates from soil, *J. Gen. Microbiol.*, 118, 295-312.
- Orchard V.A., 1981. The ecology of *Nocardia* and related taxa. *Zentrallblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene, 1. Abteilung, Supplement*, 11, 167-180.
- Ørskov J. 1923. *Investigations into the Morphology of the Ray Fungi*. Copenhagen: Levin and Munksgaard.

- Özdemir K., 2008. *Lens orientalis* (Boiss.) Hand and Mazz. ve *Cicer anatolicum* Alef. Rizosferden *Streptomyces* Türlerinin İzolasyonu, Teşhisi ve Karakterizasyonu, Doktora tezi. YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Pace, N.R. 2009. Mapping the three of life: progress and prospect. *Microbiol Mol Biol Rev.* 73:565-576.
- Pagilla K.R., Jenkins D. ve Kido W., 1998. *Nocardia* effects in waste activated sludge. *Wat. Sci. Tech.*, 38 (2), 49-54.
- Pdiğ Y.H., Yoon J.H., Shin Y.K., Suzuki K., Kudo T., Seino A., Kim H.J., Lee J. S., Lee S.T., 1999. Classification of '*Nocardioides fulvus*' IFO 14399 and *Nocardioides* sp. ATCC 39419 in *Kribbella* gen. nov., as *Kribbella flavida* sp. nov. and *Kribbella sandramycini* sp. nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 49, 743–752.
- Peela S., Kurada V.B. ve Terli R., 2005. Studies on antagonistic marine actinomycetes from the Bay of Bengal. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 21, 583–585.
- Poschner J., Kroppenstedt R. M., Fischer A. ve Stackebrandt E., 1985. DNA : DNA reassociation and chemotaxonomic studies on *Actinomadura*, *Microbispora*, *Microtetraspora*, *Micropolyspora* and *Nocardioopsis*. *Syst. Appl. Microbiol.* 6:264–270.
- Prauser H., 1976. *Nocardioides*, a new genus of the order *Actinomycetales*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 26, 58-65.
- Prauser H., 1978. Considerations on taxonomic relations among Gram positive, branching bacteria. *Zentralbl. Bakt. I. Abt. Suppl.*, 6, 99-106.
- Prauser H., Schumann P., Rainey F.A., Krppenstedt R.M., Stackebrandt E., 1997. *Tetracoccus luteus* gen. nov., sp. nov., an LL-diaminopimelic acid-containing coccoid actinomycete from soil, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 1218-1224.
- Preobrazhenskaya T. P., ve Sveshnikova M. A., 1974. New species of the genus *Actinomadura* [in Russian]. *Microbiologiya* 43:864–868.
- Preobrazhenskaya T. P., Lavrova N. V., Ukholina R. S. ve Nechaeva N. P., 1975. Isolation of new species of *Actinomadura* on selective media with streptomycin and bruneomycin [in Russian]. *Antibiotiki* 20:404–409.
- Promnuan Y., Kudo T., Ohkuma M., Chantawannakul P., 2011. *Actinomadura apis* sp. nov., isolated from a honey bee (*Apis mellifera*) hive, and the reclassification of *Actinomadura cremea* subsp. *rifamycini* Gauze ve diğ. 1987 as *Actinomadura rifamycini* (Gauze ve diğ. 1987) sp. nov., comb. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61 (9), 2271-2277.
- Qin S., Zhao G. Z., Klenk H. P., Li J., Zhu W. Y., Xu L. H. ve Li W. J. 2009. *Nonomuraea antimicrobica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from a leaf of *Maytenus austroyunnanensis*. *Int J Syst Evol Microbiol* 59, 2747–2751.
- Qin S., Zhao G.Z., Li J., Zhu W.Y., Xu L.H. ve Li W.J., 2009. *Actinomadura flavalba* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from leaves of *Maytenus austroyunnanensi.*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59, 2453-2457.
- Qiu D., Ruan J., Huang Y., 2008. Selective isolation and rapid identification of members of the genus *Micromonospora*, *Appl. Environ. Microbiol.*, doi:10.1128/AEM.00303-08.

- Quintana E., Maldonado L. ve Goodfellow M., 2003. *Nonomuraea terrinata* sp. nov., a novel soil actinomycete, *Ant. v. Leeuwenhoek* 84:1–6.
- Rainey F.A., Burghardt J., Kroppenstedt R.M., Klatte S. ve Stackebrandt E., 1995b. Polyphasic evidence for the transfer of *Rhodococcus roseus* to *Rhodococcus rhodochrous*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* 45, 101–103.
- Rainey F.A., Ward-Rainey N., Kroppenstedt R.M. ve Stackebrandt E., 1996. The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46, 1088-1092.
- Ray L., Suar M., Pattnaik A. K. and Raina V., 2013. *Streptomyces chilikensis* sp. nov., a halophilic streptomycete isolated from brackish water sediment, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 63, 2757–2764
- Ren J., Li L., Wei B., Tang Y. L., Deng Z. X., Sun M. and Hong K., 2013. *Micromonospora wenchangensis* sp. nov., isolated from mangrove soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 63, 2389–2395
- Rheims H., Schumann P., Rohde M., Stackebrandt E., 1998. *Verrucosispora gifhornensis* gen. nov., sp. nov., a new member of the actinobacterial family *Micromonosporaceae*, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48, 1119-1127.
- Riegel P., Kamne-Fotso M.V., de Briel D. ve diğ. (1994) *Rhodococcus chubuensis* Tsukamura 1982 is a later subjective synonym of *Gordona sputi* (Tsukamura 1978) Stackebrandt 1989 comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol* 44, 764–768.
- Rollo F., Luciani S., Canapa A. ve Marota I., 2000. Analysis of bacterial DNA in skin and muscle of the Tyrolean iceman offers new insight into the mummification process. *Am. J. Phys. Anthropol.* 111:211–219.
- Rong X., Guo Y., Huang Y., 2009. Proposal to reclassify the *Streptomyces albidoflavus* clade on the basis of multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, and taxonomic elucidation of *Streptomyces griseus* subsp. *Solvifaciens*, *Syst Appl Microbiol*, 32, 314–322.
- Rosselló-Mora R., Amann R., 2001. The species concept for prokaryotes, *FEMS Microbiology Reviews*, 25, 39-67.
- Ruimy R., Riegel P., Carlotti A., Boiron P., Bernardin G., Monteil H., Wallace R. J. Jr., Christen R., 1996. *Nocardia pseudobrasiliensis* sp. nov., a new species of *Nocardia* which groups bacterial strains previously identified as *Nocardia brasiliensis* and associated with invasive diseases. *Int. Syst. Bacteriol.*, 46, 259-264.
- Saintpierre-Bonaccio D., Maldonado L. A., Amir H., Pineau R. ve Goodfellow M., 2004. *Nocardia neocaledoniensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a New-Caledonian brown hypermagnesian ultramafic soil, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54, 599–603.
- Saitou N., Nei M., 1987. The neighbour-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees, *Molecular and Biological Evolution*, 4, 406-425.
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T., 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3<sup>rd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

- Sanglier J.J., Haag, H., Huck, T.A. and Fehr. T., 1996. Review of actinomycetes compounds 1990-1995. *Exp Opin Invest Drugs* 5: 207-233.
- Sasaki J., Chijimatsu M. ve Suzuki K.-I.. 1998. Taxonomic significance of 2,4-diaminobutyric acid isomers in the cell wall peptidoglycan of actinomycetes and reclassification of *Clavibacter toxicus* as *Rathayibacter toxicus* comb. nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48:403–410.
- Saubolle M.A., Sussland D., 2003. Nocardiosis: Review of Clinical and Laboratory Experience. *Journal of clin. Microbiol.*, 41, 4497–4501.
- Savic M., Bratic I., Vasiljevic B., 2007. *Streptomyces durmitorensis* sp. nov., a producer of an FK506-like immunosuppressant. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57, 2119–2124.
- Sazak A., Sahin N. and Camas M., 2012. *Nocardia goodfellowii* sp. nov. and *Nocardia thraciensis* sp. nov., isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* 62, 1228–1234
- Sazak A., 2009. Rizosfer İzolatı *Streptomyces violaceusniger* Klad Üyesi *Streptomyces* sp. lerin Moleküler Taksonomisi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 213 s.
- Schaal K.P., Lee H.J., 1992. Actinomycete infections in humans-a review. *Gene*, 115, 201-211.
- Schleifer K.H., 2010. Classification of Bacteria and Archaea: past, present and future. *Syst. Appl. Microbiol.*, 32, 533–542.
- Schleifer K.-H., ve Kandler O., 1972. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriol. Rev.* 36:407–477.
- Schumann P., Prauser H., Rainey F.A., Stackebrandt E., Hirsch P., 1997. *Friedmanniella antarctica* gen. nov., sp. nov., an ll-diaminopimelic acid-containing actinomycete from antarctic sandstone, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 278-283.
- Sembiring L., 2000. Selective isolation and characterisation of *Streptomyces* associated with the rhizosphere of the tropical legume *Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen Ph. D.Thesis. University of Newcastle Upon Tyne, 78, 353-366, Newcastle.
- Sembiring L., 2009. Molecular phylogenetic classification of streptomycetes isolated from the rhizospher of tropical legume (*Paraserianthes falcataria*) (L.) Neilsen. *HAYATI Journal of Biosciences*, 16 (3), 100-108.
- Sembiring L., Goodfellow M., 2008. Ecological approach to unravel streptomycete diversity as an unsurpassed sources of natural bioactive products. *Microbiology*, 2 (2), 49-56.
- Sembiring L., Ward, A.C. ve Goodfellow M., 2000. Selective isolation and characterisation of members of the *Streptomyces violaceusniger* clade associated with the roots of *Paraserianthes falcataria*. *Antonie van Leeuwenhoek* 78: 353-366.
- Semêdo L., Gomes R. C., Linhares A. A., Duarte G. F., Nascimento R. P., Rosado, A. S., Margis-Pinheiro M., Margis R., Silva K., Alviano C. S., Manfio G. P., Soares R., Linhares L. F., Coelho R., 2004. *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a

- novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54, 1323-1328.
- Seo J.P. ve Lee S.D., 2006. *Nocardia harenae* sp. nov., an actinomycete isolated from beach sand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 2203–2207.
- Seo J.P., Yun Y.W. ve Lee S.D., 2007: *Nocardia spelunca* sp. nov., isolated from a cave, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57, 2932-2935.
- Sezgin M., Lechevalier M.P. ve Karr P.R., 1988. Isolation and identification of actinomycetes present in activated sludge scum., *Wat. Sci. Tech.* 20 (11-12), 257-263.
- Shirling E.B., Gottlieb D., 1967. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. I. The International *Streptomyces* Project. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 17, 315-322.
- Shirling E.B., Gottlieb D., 1968a. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. The International *Streptomyces* Project. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 18, 69-189.
- Shirling E.B., Gottlieb D., 1968b. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. III. The International *Streptomyces* Project. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 18, 279-392.
- Shirling E.B., Gottlieb D., 1969. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. IV. The International *Streptomyces* Project. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 19, 391-512.
- Shirling E.B., Gottlieb D., 1972. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. V. The International *Streptomyces* Project. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 22, 265-394.
- Singh, S.B., and F. Pelaez. 2008. Biodiversity, chemical diversity and drug discovery. *Prog Drug Res.* 65:141-174.
- Singh J., Behal A., Singla N., Joshi A., Birbian N., Singh S., Bali V., Batra N., 2009. Metagenomics: concept, methodology, ecological inference and recent advances, *Biotechnology J*, 4, 480-494.
- Sivakumar K., 2008. Actinomycetes. In Centre of Advanced Study in Marine Biology Annamalai University.
- Skerman V. B. D., McGowan V. ve Sneath P. H. A., 1980. Approved Lists of Bacterial Names. *Int J Syst Bacteriol* 30, 225–420.
- Smith J.J., Tow L.A., Stafford W., Cary C., Cowan D.A, 2006. Bacterial diversity in three different Antarctic cold desert mineral soils. *Microb. Ecol.* 51:413– 421.
- Soddell J.A. ve Seviour R.J., 1990. A Review Microbiology of foaming in activated sludge plants, *J. Appl. Bacteriol.*, 69, 145-176.
- Sohn K., Hong S.G., Kyung S.B., Chun J., 2003. Transfer of *Hongia koreensis* Lee ve diğ. 2000 to the genus *Kribbella* Pdiğ ve diğ. 1999 as *Kribbella koreensis* comb. nov. *Int. J. of Syst. and Evol. Microbiol.*, 53, 1005–1007.
- Soina U. S., Sokolov A. A. ve Agre N. S., 1975. Ultrastructure of mycelium and spores of *Actinomadura fastidiosa* sp. nov. [in Russian]. *Microbiologiya* 44:883–887.

- Solanki, R., Khanna, M. and Lal, R., 2008, Bioactive compounds from marine actinomycetes, *Indian J. Microbiol.*, 48:410-431.
- Song J., Kim B.-Y., Hong S.-B., Cho H.-S., K., Chun J., Suh J.W., 2004. *Kribbella solani* sp. nov. and *Kribbella jejuensis* sp. nov., isolated from potato tuber and soil in Jeju, Korea, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54, 1345–1348.
- Songsumanus A., Tanasupawat S., Igarashi Y. and Kudo T., 2013. *Micromonospora maritima* sp. nov., isolated from mangrove soil, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63, 554–559
- Sosio M., Stinchi S., Beltrametti F., Lazzarini A. ve Donadio S., 2003. The gene cluster for the biosynthesis of the glycopeptide antibiotic A40926 by *Nonomuraea* species, *Chem. Biol.* 10:541–549.
- Stach J.E., Maldonado L.A., Masson D.G., Ward A.C., Goodfellow M., Bull A.T., 2003. Statistical approaches for estimating actinobacterial diversity in marine sediments, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69; 6189-6200.
- Stackebrandt E., 2006. *Molecular identification, systematics, and population structure of prokaryotes.* (Stackebrandt, E., Ed.) s: 320. Springer. Berlin.
- Stackebrandt E., Lewis B. J. ve Woese C. R., 1980. The phylogenetic structure of the coryneform group of bacteria, *Zbl. Bakt., Abt. 1, Orig. C* 2:137–149.
- Stackebrandt E., Ebers J., 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards, *Microbiol Today*, 33, 152–155.
- Stackebrandt E., Rainey F. ve Ward-Rainey N. L., 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47:479– 491.
- Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G.M., Grimont P.A., Kampfer P., Maiden M.C., Nesme X., Rossello-Mora R., Swings J., Truper H.G., Vauterin L., Ward A.C., Whitman, W.B., 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52, 1043–1047.
- Stackebrandt E., Kroppenstedt R. ve Fowler V., 1983. A phylogenetic analysis of the family *Dermatophylaceae*, *J. Gen. Microbiol.* 129:1831–1838.
- Stackebrandt E., Smida J. ve Collins M.D., 1988. Evidence of phylogenetic heterogeneity within the genus *Rhodococcus*: revival of the genus *Gordona* (Tsukamura), *Journal of General and Applied Microbiology* 34, 341–348.
- Stackebrandt E., Wink J., Steiner U. ve Kroppenstedt R. M., 2001. *Nonomuraea dietzii* sp. nov., *Int J Syst Evol Microbiol.*, 51, 1437–1441.
- Strap J.L., Crawford D.L., 2006. Ecology of *Streptomyces* in soil and rhizosphere. (Cooper, J., Rao, J. R. eds) *Molecular approaches to soil, rhizosphere and plant microorganism analysis.* CABI Publishing, Oxfordshire, 166-182s.
- Sun W., Zhang Y.Q., Huang Y., Zhang Y.Q., Yang Z.Y. ve Liu Z.H., 2009: *Nocardia jinanensis* sp. nov., an amicoumacin B-producing actinomycete, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59, 417-420.

- Supong K., Suriyachadkun C., Tanasupawat S., Suwanborirux K., Pittayakhajonwut P., Kudo T. ve Thawai C., 2013. *Micromonospora sediminicola* sp. nov., isolated from marine sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63, 570–575
- Suzuki K., Sasaki J., Uramoto M., Nakase T. ve Komagata K., 1996. *Agromyces mediolanus* sp. nov., nom. rev., comb. nov., a species for “*Corynebacterium mediolanum*” Mamoli 1939 and for some aniline-assimilating bacteria which contain 2,4-diaminobutyric acid in the cell wall peptidoglycan, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46:88–93.
- Suzuki K., Komagata K., 1983. *Pimelobacter* gen. nov., a new genus of coryneform bacteria with LL-diaminopimelic acid in the cell wall, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 29, 59–71.
- Suzuki S.-I., Okuda T. ve Komatsubara S., 2001a. Selective isolation and distribution of the genus *Planomonospora* in soils. *Can. J. Microbiol.* 47:253–263.
- Suzuki S.-I., Okuda T. ve Komatsubara S., 2001b. Selective isolation and study of the global distribution of the genus *Planobispora* in soils, *Can. J. Microbiol.* 47:979–986.
- Staley J. T., 2006. The bacterial species dilemma and the genomic-phylogenetic species concept. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 361, 1899–1909.
- Sveshnikova M., Maxinova T. ve Kudrina E. 1969. The species belonging to the genus *Micromonospora* Oerskov 1923, and their taxonomy [in Russian]. *Microbiologiya* 38:883–893.
- Sveshnikova M.A., Maksimova T.S., Kudrina E.S., 1969. The species of the *Micromonospora* Orskov, 1923 and their taxonomy, *Mikrobiologiya*. 38, 883–893.
- Şahin N., 1995. Selective isolation, characterisation and classification of novel thermotolerant streptomycetes. PhD thesis, University of Newcastle upon Tyne.
- Şahin N., Saza A., Güven K., Dogramaci M., 2010. Diversity of member of the *Streptomyces violaceusniger* 16S rRNA gene clade in the legumes rhizosphere in Turkey. *Ann. Microbiol.*, DOI: 10.1007/s13213-010-0112-6.
- Takahashi Y., Omura S., 2003. Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 49, 141–154.
- Takeuchi M. ve Hatano K., 1999. Phylogenetic analysis of actinobacteria in the mangrove rhizosphere. *IFO Res. Commun.* 19:47–62.
- Takeuchi M. ve Hatano K., 2001. *Agromyces luteolus* sp. nov., *Agromyces rhizosphaerae* sp. nov. and *Agromyces bracchium* sp. nov., from the mangrove rhizosphere, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51:1529–1537.
- Takeuchi M., Hatano K., Sedlacek I. ve Pacova Z., 2002. *Rhodococcus jostii* sp. nov., isolated from a medieval grave, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:409–413.
- Tamura A., Furuta R., Naruto S. ve Ishii H., 1973. Actinotiocin, a new sulfur-containing peptide antibiotic from *Actinomadura pusilla*. *J. Antibiot.* 26:343–350.
- Tamura T., Hatano K., Suzuki K., 2006. A new genus of the family *Micromonosporaceae*, *Polymorphospora* gen. nov., with description of *Polymorphospora rubra* sp. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 1959–1964.

- Tamura T., Hayakawa M., Hatano K., 2001. A new genus of the order *Actinomycetales*, *Virgosporangium* gen. nov., with descriptions of *Virgosporangium ochraceum* sp. nov. and *Virgosporangium aurantiacum* sp. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51, 1809-1816.
- Tamura T., Takeuchi M., Yokota A., 1994b. *Luteococcus japonicus* gen. nov., sp. nov., a new gram-positive coccus with ll-diaminopimelic acid in the cell wall, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44, 348-356.
- Tanasupawat S., Jongrungruangchok S., Kudo T., 2010. *Micromonospora marina* sp. nov., isolated from sea sand, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, 648-652.
- Tang L., Yoon Y. J., Choi C. Y., Hutchinson C. R., 1998. Characterization of the enzymatic domains in the modular polyketide synthase involved in rifamycin B biosynthesis by *Amycolatopsis mediterranei*. *Gene*, 216, 255-265.
- Terekhova L. P., Galatenko O. A. ve Preobrazhenskaya T. P., 1987. Validation of the publication of new names and combinations previously effectively published outside the IJSB List No. 23. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37:179– 180.
- Thawai C., Tanasupawat S., Itoh T., Kudo T., 2006. *Actinocatenispora thailandica* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Micromonosporaceae*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 1789-1794.
- Thompson C.J., Fink D. ve Nguyen D., 2002. Principles of microbial alchemy: insights from the *Streptomyces coelicolor* genome sequence. *Genome Biology Reviews* 3: 1020.1-1020.4.
- Tian X., Cao L., Tan H., Han W., Chen M., Liu Y., Zhou S., 2007. Diversity of cultivated and uncultivated actinobacterial endophytes in the stems and roots of rice, *Microbial Ecology*, 53, 700-707.
- Tindall J., Rosselló-Móra R., Busse H. J., Ludwig W., Kämpfer P., 2010. Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, 249-266.
- Tokala R.K., Strap J.L., Jung C.M., Crawford D.L., Salove M.H., Debald L.A., Bailey J.F., Morra M.J., 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*), *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 2161-2171.
- Tomita K., Hoshino Y., Ohkusa N., Tsuno T., Miyaki T., 1992. *Micromonospora chersina* sp. nov., *Actinomycetol.* 6, 21-28.
- Tomita K., Nishio M., Yamamoto H., Hoshino Y., Ohkuma H., Konishi M., Miyaki T., Oki, T., 1990. Pradimicins A, B and C": New Antifungal Antibiotics I. Taxonomy, Production, Isolation and Physico-Chemical Properties. *J. Antibiotics*, XLIII (7), 755-762.
- Trujillo M.E. ve Goodfellow, M., 1997. Polyphasic taxonomic study of clinically significant actinomadurae including the description of *Actinomadura latina* sp. nov. *Zentralbl. Bakteriolog.*, 285, 212-233.
- Trujillo M.E. ve Goodfellow M., 2003. Numeric phenetic classification of clinically significant aerobic sporoactinomycetes and related organisms, *Ant. V. Leewenhoek*, 84, 39-68.



- Trujillo M.E., Alonso-Vega P., Rodríguez R., Carro L., Cerda E., Alonso P., Martínez-Molina E., 2010. The genus *Micromonospora* is widespread in Legume root nodules: the example of *Lupinus angustifolius*. *International Society for Microbial Ecology*, 4, 1265-1281.
- Trujillo M.E., Kroppenstedt R.M., Schumann P., Carro L., Martínez-Molina E., 2006. *Micromonospora coriariae* sp. nov., isolated from root nodules of *Coriaria myrtifolia*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 2381-2385.
- Trujillo M.E., Kroppenstedt R.M., Schumann P., Martínez-Molina E., 2006. *Kribbella lupini* sp. nov., isolated from the roots of *Lupinus angustifolius*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 407-411.
- Trüper H.G., Schleifer K.-H., 2006. Prokaryote Characterization and Identification, *Prokaryotes*, 1, 58-79.
- Tseng M., Yang S.-F., Hoang K.-C., Liao H.-C., Yuan G.-F. ve Liao C.-C. 2009. *Actinomadura miaoliensis* sp. nov., a thermotolerant polyester-degrading actinomycete, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59, 517-520.
- Tsukamura M., 1969. Numerical taxonomy of the genus *Nocardia*, *J. Gen. Microbiol.*, 56, 265-287.
- Tsukamura M., 1977. Extended numerical taxonomy study of *Nocardia*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 27, 311-323.
- Tsukamura M., Mizuno S., Tsukamura S. ve Tsukamura J., 1979. Comprehensive Numerical Classification of 369 Strains of *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, and *Nocardia*. *Int. J. of Syst. Bacteriol.*, 29 (2), 110-129.
- Uchida K., Kudo T., Suzuki K. Nakase T., 1999. A new rapid method of glycolate test by diethyl ether extraction, which is applicable to a small amount of bacterial cells of less than one milligram. *J Gen Appl Microbiol*, 45, 49-56.
- Upton M., 1994. Ecological Approaches to Selective Isolation of Actinomycetes for Bioactivity Screening, Thesis, Newcastle upon Tyne UK, Univ of Newcastle.
- Urzi C., Brusetti L., Salamone P., Sorlini C., Stackebrandt E. ve Daffonchio D., 2001. Biodiversity of *Geodermatophilaceae* isolated from altered stones and monuments in the Mediterranean basin, *Environ Microbiol* 3, 471-479.
- Urzi C., La Cono V. ve Stackebrandt E., 2004. Design and application of two oligonucleotide probes for the identification of *Geodermatophilaceae* strains using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Environ Microbiol* 6, 678-685.
- Urzi C., Leo, F.D., Schumann P., 2008. *Kribbella catacumbae* sp. nov. and *Kribbella sancticallisti* sp. nov., isolated from whitish-grey patinas in the catacombs of St Callistus in Rome, Italy. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58, 2090-2097.
- Urzi C., Salamone P., Schumann P., Stackebrandt E., 2000. *Marmoricola aurantiacus* gen. nov., sp. nov., a coccoid member of the family *Nocardioideaceae* isolated from a marble statue, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50, 529-536.
- Valdés M., Pérez N.O., Estrada-de los Santos, P., Caballero-Mellado J., Peña-Cabrales J.J., Normand P., Hirsch A.M., 2005. Non-Frankia actinomycetes isolated from surface-sterilized roots of *Casuarina equisetifolia* fix nitrogen, *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 460-466.

- Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K. ve Swings J., 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.*, 60 (2), 407-438.
- Ventura M, ve diğ. 2007. Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71:495–548.
- Veyisoglu A. ve Sahin N., 2013. *Streptomyces hoynatensis* sp. nov., isolated from Black Sea deep sediment, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, doi:10.1099/ijs.0.055640-0
- Vionis A. P., Katsifas E. A., Karagouni A. D., 1998. Survival, metabolic activity and conjugative interactions of indigenous and introduced *Streptomyces* strains in soil microcosms, *Antonie van Leeuwenhoek*, 73,103-115.
- Vobis G., 2006. The genus *Actinoplanes* and related genera. In *The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria*, Edited by Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Dworkin, M., 3th edition, volume 3, Chapter 1.1.9., Springer, 623-653, Springer.
- Vylegzhanina E.S., Dmitrieva N.F., Polin A.N., Naumova I.B. ve Epishin, I.N., 1986. Structure of teichoic acid of a poly (glycerophosphate) nature from *Streptomyces levoris* K-3053 and its biological properties. *Antibiot. Med. Bioteknol.*, 31, 584-587.
- Waitz J.A., Horan A.C., Kalyanpur M.B., Lee K.D., Loebenberg J.A., Marquez G., Miller, ve Patel, M.G., 1981. Kianimicin (Sch 25663), a novel antibiotic produced by *Actinomadura kijaniata* SCC 1256. Fermentation, isolation, characterization and biological properties. *J. Antibiot.*, 34, 1101-1106.
- Waksman S. A., 1961. *The Actinomycetes*, vol. 2, Classification, Identification and Description of Genera and Species. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Waksman S.A., Henrici, A.T., 1943. The nomenclature and classification of Actinomycetes. *J. Bacteriol.*, 46 (4), 337-41.
- Waksman, A.S., 1989, Actinomycetes, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi kitaplar serisi 89, İZMİR, 328s.
- Wakuzaka Y., ve others. 1983. Immunoactivating agent originated from bacteria belonging to Agromyces genus. *Patent J.P.* 58043790.
- Wang Z., Crawford D. L., Pometto A. L., Rafii F., 1989. Survival and effects of wild-type, mutant, and recombinant *Streptomyces* in a soil ecosystem, *Can. J. Microbiol.*, 35, 535-543.
- Wang F., Xu X. X., Qu Z., Wang C., Lin H. P., Xie Q. Y., Ruan J. S., Sun M. ve Hong K. 2011. *Nonomuraea wenchangensis* sp. nov., isolated from mangrove rhizosphere soil, *Int J Syst Evol Microbiol*, 61, 1304–1308.
- Wang Z., Xu J., Li Y., Wang K., Wang Y., Hong Q., Li W. J. and Li S. P., 2010. *Rhodococcus jialingiae* sp. nov., an actinobacterium isolated from sludge of a carbendazim wastewater treatment facility, *Int J Syst Evol Microbiol* 60, 378–381
- Wang Y.M., Zhang Z.S., Xu X.L., Ruan J.S., Wang Y., 2001b. *Actinopolymorpha singaporensis* gen. nov., sp. nov., a novel actinomycete from the tropical rainforest of Singapore, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51, 467–473.

- Wang Y.X., Zhi X.Y., Chen H.H., Zhang Y.Q., Tang S.K., Jiang C.L., Xu L.H. ve Li W.J., 2007. *Actinomadura alba* sp. nov., isolated from soil in Yunnan, China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57, 1735-1739.
- Ward A.C. ve Goodfellow M., 2004. Phylogeny and functionality: Taxonomy as a roadmap to genes. In: *Microbial Diversity and Bioprospecting*, pp. 288-313. Edited by A.T. Bull. ASM Press, Washington D.C.
- Ward C.A., Bora N., 2006. Diversity and biogeography of marine actinobacteria. *Ecology and industrial microbiology*, 9, 279–286.
- Watve M.G., Tickoo R., Jog M.M. ve Bhole, B.D., 2001. How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces* *Archives of Microbiology* 176: 386-390.
- Weinbauer, M.G., Beckmann, C. and Hofle, M.G., 1998, Utility of green fluorescent nucleic acid dyes and aluminum oxide membrane filters for rapid epifluorescence enumeration of soil and sediment bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, 64:5000-5003.
- Weinstein M. J., Luedemann G. M., Oden E. M., Wagman G.H., 1968. Halomicin, a new *Micromonospora*-produced antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother*, 1967, 435-441.
- Wellington E.M., 2009. *Actinobacteria*. Encyclopedia of Microbiology. (Moselio Schaechter, Editor), Oxford:Elsevier, 26-44.
- Wellington E.M.H., Williams S. T., 1978. Preservation of actinomycete inoculum in frozen glycerol. *Microbios Letters*, 6, 151-159.
- Wenzel S.C., Müller R., 2005. Recent developments towards the heterologous expression of complex bacterial natural product biosynthetic pathways, *Curr Opin Biotech*, 16, 594-606.
- Wiese J., Jiang Y., Tang S., Thiel V., Schmaljohann, R., Xu, L., Jiang, C., Imhoff, J.F. 2008. A new member of the family *Micromonosporaceae*, *Planosporangium flavigriseum* gen. nov., sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58, 1324–1331.
- Williams, S.T., Goodfellow, M., Anderson, G., Wellington, E.M.H., Sneath, P.H.A. and Sackin M.J., 1983, Numerical classification of *Streptomyces* and related genera, *J. Gen. Microbiol.*, 129:1743-1813.
- Williams S. T., 1978. *Streptomyces* in the soil ecosystem. *Zentral Bakteriell Parasiten Infektion Hygiene, Abteilung I. Suppl*, 6, 137-144.
- Williams S. T., Shameemullah M., Watson E. T., Mayfield C. I., 1972. Studies on the ecology of actinomycetes in soil, VI The influence of moisture tension on growth and survival, *Soil Biol. Biochem*, 4, 215-225.
- Williams S.T., Goodfellow M., Alderson G., 1989. Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, (Editörler: Williams and Wilkins), 4, 2452-2492. Baltimore
- Williams S.T., Goodfellow M., Alderson G., Wellington E.M.H., Sneath P.H.A., Sackin M.J., 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Journal of General Microbiology.*, 129, 1743-1813.
- Wilson D., 1992. Biochemistry and genetics of actinomycete cellulases. *Critical Reviews in Biotechnology*, 12, 45-63.

- Wink J., Kroppenstedt R.M., Seibert G. ve Stackebrandt E., 2003. *Actinomadura namibiensis* sp. nov., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 721-724.
- Woese C. R., 1987. Bacterial evolution, *Microbiological Reviews*, 51, 221-271.
- Wright G.D., 2007. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Reviews Microbiology* 5: 175-186.
- Xing K., Qin S., Fei S. M., Lin Q., Bian G. K., Miao Q., Wang Y., Cao C.L., Tang S. K., Jiang J. H. and Li W. J., 2011. *Nocardia endophytica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the oil-seed plant *Jatropha curcas* L. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61, 1854–1858
- Yabe S., Aiba Y., Sakai Y., Hazaka M., Yokota A., 2011. *Thermasporomyces composti* gen. nov., sp. nov., a thermophilic actinomycete isolated from compost. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61, 86-90.
- Yagafarova G.G. ve Skvortsova I.N., 1996. A new oil-oxidizing strain of *Rhodococcus erythropolis*. *Applied Biochemistry and Microbiology* 32, 207–209.
- Yamamura H., Hayakawa M., Limura Y., 2003. Application of sucrose-gradient centrifugation for selective isolation of *Nocardia* sp. from soil, *Journal of Applied Microbiology*, 95, 677–685.
- Yamamura H., Hayakawa M., Nakagawa Y., Tamura T., Kohno T., Komatsu F., Limura Y. 2005. *Nocardia takedensis* sp. nov., isolated from moat sediment and scumming activated sludge, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55, 433–436.
- Yano I., Imadea T. ve Tsukamura M., 1990. Characterization of *Nocardia nova*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 40 (2), 170-174.
- Yassin A. F., Haggenei B., Budzikiewicz H., Schaal K. P., 1993. Fatty-acid and polar-lipid-composition of the genus *Amycolatopsis* – application of fast-atom-bombardment mass-spectrometry to structure analysis of underivatized phospholipids. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43, 414-420.
- Yokota A., Tamura T., Takeuchi M., Weiss N., Stackebrandt E., 1994. Transfer of *Propionibacterium innocuum* Pitcher and Collins 1991 to *Propioniferax* gen. nov. as *Propioniferax innocua* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44, 579-582.
- Yoon J. H., Cho Y.-G., Kang S.-S., Kim S. B., Lee S. T. ve Pdiğ Y.-H., 2000a. *Rhodococcus koreensis* sp. nov., a 2, 4-dinitrophenoldegrading bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50:1193–1201.
- Zakrzewska-Czerwinska J., Mordarski M. ve Goodfellow M., 1988. DNA Base composition and homology values for some *Rhodococcus* species. *Journal of General Microbiology* 134, 2807–2813.
- Zgurskaya H. I., ve Evtushenko L. I., 1996. *Agromyces cerinus* subsp. *cerinus* strain for dideoxyarabinose production. Patent RU 2055887.
- Zgurskaya H. I., Evtushenko L. I., Akimov V. N., Voyevoda H. V., Dobrovolskaya T. G., Lysak L. V. ve Kalakoutskii L. V., 1992. Emended description of the genus *Agromyces* and description of *Agromyces cerinus* subsp. *cerinus* sp. nov., subsp. nov., *Agromyces cerinus* subsp. *nitratu* sp. nov., subsp. nov., *Agromyces fucosus* subsp. *fucosus* sp. nov., subsp. nov. and *Agromyces fucosus* subsp. *hippuratus* sp. nov., subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42:635–641

- Zhang H., Zhang W., Jin Y., Jin M., Yu X., 2008. A comparative study on the phylogenetic diversity of culturable actinobacteria isolated from five marine sponge species. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 93(3), 241-248.
- Zhang J., Zhang Y., Xiao C., Liu Z. ve Goodfellow M., 2002. *Rhodococcus maanshanensis* sp. nov., a novel actinomycete from soil, *Int. J. Syst. Microbiol.* 52:2121–2126.
- Zhang Y.-Q., Chen J., Liu H.-Y., Zhang Y.-Q., Li W.-J. ve Yu L.-Y. 2011. *Geodermatophilus ruber* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of a medicinal plant. *Int J Syst Evol Microbiol* 61, 190–193.
- Zhang Z., Kudo T., Nakajima Y., Wang Y., 2001. Clarification of the relationship between the members of the family *Thermomonosporaceae* on the basis of 16S rRNA, 16S–23S rRNA internal transcribed spacer and 23S rRNA sequences and chemo-taxonomic analyses. *Int. J. Syst. Evol. Microbio.*, 51, 373-383.
- Zhang Z., Wang Y., Ruan J., 1998. Reclassification of *Thermomonospora* and *Microtetraspora*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48, 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.. *Int J Syst Evol Microbiol* 61, 2933–2937
- Zhao G. Z., Li J., Huang H. Y., Zhu W. Y., Xu L. H. ve Li W. J. 2011. *Nonomuraea rhizophila* sp. nov., an actinomycete isolated from rhizosphere soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 61, 2141–2145.
- Zhao G. Z., Li J., Zhu W. Y., Tian S. Z., Zhao L. X., Yang L. L., Xu L. H. ve Wen-Jun L., 2012. *Rhodococcus artemisiae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from the pharmaceutical plant *Artemisia annua* L. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62, 900–905
- Zhao H., Kassama Y., Young M., Kell D.B., Goodacre R., 2004. Differentiation of *Micromonospora* isolates from a coastal sediment in Wales on the basis of Fourier transform infrared spectroscopy, 16S rRNA sequence analysis, and the amplified fragment length polymorphism technique. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 6619- 6627.
- Zhi X.Y., Li W.J., Stackebrandt E., 2009. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59, 589-608.
- Zhukova R. A., Tsyganov V. A. ve Morozov V. M., 1968. A new species of *Micropolyspora-Micropolyspora angiospora* sp. nov. [in Russian]. *Microbiologiya* 97:724–728.
- Zopf W., 1889. Über das Mikrochemische Verhalten von Fettfarbstoff-haltigen Organen. *Z. Wissensch. Mikrosk.* 6:172–177
- Zopf W., 1891. Über Ausscheidung von Fettfarbstoffen (Lipochromen) seitens gewisser Spaltpilze. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 9, 22–28.

- URL-1: <http://ezgenome.ezbiocloud.net/>, (Ziyaret tarihi: Kasım-2014).
- URL-2: <http://www.bacterio.cict.fr/a/actinomadura.html>, (Ziyaret tarihi: Aralık-2015).
- URL-3: <http://www.bacterio.net/a/amycolatopsis.html>, (Ziyaret tarihi: Aralık-2015).
- URL-4: <http://www.bacterio.net/n/nocardia.html>, (Ziyaret tarihi: Aralık-2015).
- URL-5: <http://www.bacterio.net/n/nonomuraea.html>, (Ziyaret tarihi: Aralık-2015).
- URL-6: <http://www.bacterio.net/s/streptomyces.html>, (Ziyaret tarihi: Aralık-2015).
- URL-7: <http://www.bacterio.net/s/microbispora.html>, (Ziyaret tarihi: Aralık-2015).
- URL-8: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, (Ziyaret tarihi: Kasım-2015).
- URL-9: <http://www.ebi.ac.uk>, (Ziyaret tarihi: Aralık-2015).



## **EKLER**

**EK A:** Kùltür Ortamlarının Bileşimi ve Hazırlanışı

**EK-B:** Çözeltilerin Bileşimi ve Hazırlanışı

**EK-C:** Farklı Besiyerleri ile Yapılan Toprak İzolasyonundan Petri Görüntüleri

**EK-D:** Cinslerle İlgili Yüzde Benzerlik ve Nùkleotit Farklılığı Tabloları

**EK-E:** İzolatların Renk Grupları Tablosu



## **EK A: Kültür Ortamlarının Bileşimi ve Hazırlanışı**

### **Hümik Asit Vitamin Agar (HV agar, Hayakawa ve Nonomura, 1987)**

Hümik Asit Vitamin Agar (HV agar), nadir aktinomiset izolasyonunda seçici besiyeri olarak kullanıldı.

Hümik asit	1 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g
KCl	1,7 g
MgSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	50 mg
FeSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	10 mg
CaCO <sub>3</sub>	10 mg
Agar (Acumedia)	15 g
Distile su	1 litre
pH	7,2

nce, hümik asit 10 ml 0,2 N NaOH içinde ozld ve agar hariç diğer ortam bileşenleriyle birlikte birkaç dakika homojen olana kadar kaynatıldı. Oda ısısında soğumaya bırakıldıktan sonra pH'sı 0,1 M NaOH veya HCl ile ayarlandı ve agar ilave edilerek homojen hale gelene kadar karıştırılarak kaynatıldı. Hazırlanan kültür ortamı otoklava dayanaklı 500 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelerde 400'er ml olacak şekilde bölünerek 121°C'de 20 dk otoklavda steril edildi. Sterilizasyon işleminden sonra 50-55 °C'ye ayarlı su banyosunda bekletildi ve 45-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra aseptik koşullarda vitamin stok solusyonundan 400 ml'de 1 ml olacak şekilde ilave edildi ve besiyeri petrilere döküldü.



### Vitamin Stok Solusyonu

41 Thiamine hydrochloride	0,5 mg
Riboflavin	0,5 mg
Niacin	0,5 mg
Pyridoxine hydrochloride	0,5 mg
İnositol	0,5 mg
Calcium pantothenote	0,5 mg
p-Aminobenzoik acid	0,5 mg
Biotin	0,25 mg
Distile su	10 ml

Distile suda çözülen vitamin karışımı, steril 0,45 µm çapındaki membran filtreden (Corning, Germany) geçirilerek steril edildi ve şişenin etrafı alüminyum folyo ile kapatılarak +4 °C’de saklandı.

### Glucose Yeast-Extract Agar (GYEA, Gordon ve Mihn, 1962)

Organizmaların geliştirilmesinde genel besiyeri olarak kullanılmıştır.

Glukoz (Merck)	10 g
Maya özütü (Acumedia)	10 g
Agar (Acumedia)	18 g
Saf su	1 litre
pH	6,8-7,2

Agar dışındaki tüm ortam içerikleri 1 litre saf suda çözülüp pH metre (Hanna Instruments) ile ortam pH’ si ölçüldü. pH ayarlaması ortama 0,1 M NaOH veya HCl ilave edilerek yapıldı ve agar ilave edilerek besi yeri kaynatıldı. Otoklava dayanıklı şişelere besi yeri konularak 121°C’ de 20 dk otoklavla (Nüve, OT4060) steril edilip, 50 °C’ ye kadar su banyosunda (Nüve, BM402) soğutulduktan sonra aseptik şartlarda steril kabinde (Pbi, Miniflo İnternational, Milano-İtaly) petrilere döküldü.

### **Tryptone Yeast Glucose Extract Agar (TYGA, Bower and Hucker, 1930)**

Tryptone Yeast Glucose Extract Agar ortamı, topraktan bakteri izolasyonunda kullanılacak organizmaların geliştirilmesinde kültür ortamı olarak kullanılmıştır.

Tripton (Oxoid)	3 g
Maya özütü (Acumedia)	5 g
Glukoz (Merck)	5 g
Agar (Acumedia)	15 g
Distile su	1 litre
pH	7,0

Agar dışındaki tüm ortam içerikleri 1 litre saf suda çözülüp pH metre ile ortam pH' sı ölçüldü. pH ayarlaması ortama 0,1 M NaOH veya HCl ilave edilerek yapıldı ve agar ilave edilerek besi yeri kaynatıldı. Otoklava dayanıklı şişelere besi yeri konularak 121°C'de 20 dk otoklavla steril edilip, 50°C' ye kadar su banyosunda soğutulduktan sonra aseptik şartlarda petrilere döküldü.

TYGA içine, hazırlanan vitamin stok çözeltisinden 400 ml'de 1 ml olacak şekilde ilave edilerek GYME vitaminli ortam hazırlandı.

### **NZ-Amine Agar**

Glukoz (Sigma)	10 g
Starch, soluble (Sigma)	20 g
Maya özütü (Acumedia)	5 g
N-Z-Amine (Sigma)	5 g
CaCO <sub>3</sub>	1 g
Agar (Acumedia)	15 g
Saf su	1 litre
pH	7,2

Agar dışındaki tüm ortam içerikleri 1 litre saf suda çözülüp pH metre ile ortam pH' sı ölçüldü. pH ayarlaması ortama 0,1 M NaOH veya HCl ilave edilerek yapıldı ve agar ilave edilerek besi yeri kaynatıldı. Otoklava dayanıklı şişelere besi

yeri konularak 121°C’de 20 dk otoklavla steril edilip, 50°C’ ye kadar su banyosunda soğutulduktan sonra aseptik şartlarda petrilere döküldü.

### **Glucose Yeast-Extract Broth**

Glucose Yeast-Extract Broth, DNA izolasyon çalışması için hücre pelleti elde edilmesinde kültür ortamı olarak kullanılmıştır.

Glukoz (Merck)	10 g
Maya özütü (Acumedia)	10 g
Saf su	1 litre
pH	6,8-7,2

Tüm ortam içerikleri 1 litre saf suda çözülüp pH metre ile ortam pH’ sı ölçüldü. pH ayarlaması ortama 0,1 M NaOH veya HCl ilave edilerek yapıldı ve besi yeri manyetik karıştırıcıda homojen hale gelene kadar karıştırıldı. Otoklava dayanıklı 100 ml’lik erlenlere 40 ml olacak şekilde paylaştırıldı ve ağızları önce pamukla kapatılıp ardından alüminyum folyoyla sarıldıktan sonra 121°C’ de 20 dk otoklavla steril edildi.

### **Tryptone Yeast Glucose Extract Broth**

Tryptone yeast glucose extract broth ortamı, DNA izolasyon çalışması için hücre pelleti elde edilmesinde kültür ortamı olarak kullanılmıştır.

Tripton (Oxoid)	3 g
Maya özütü (Acumedia)	5 g
Glukoz (Merck)	5 g
Distile su	1 litre
pH	7,0

Tüm ortam içerikleri 1 litre saf suda çözülüp pH metre ile ortam pH’ sı ölçüldü. pH ayarlaması ortama 0,1 M NaOH veya HCl ilave edilerek yapıldı ve besi yeri manyetik karıştırıcıda homojen hale gelene kadar karıştırıldı. Otoklava dayanıklı 100 ml’lik erlenlere 40 ml olacak şekilde paylaştırıldı ve ağızları önce pamukla kapatılıp ardından alüminyum folyoyla sarıldıktan sonra 121°C’ de 20 dk otoklavla steril edildi.

### **Yeast Extract-Malt Extract Agar (ISP 2) (Shirling ve Gottlieb, 1966)**

Yeast Extract-Malt Extract Agar (ISP 2) ortamı, organizmaların stok kültürlerinin hazırlanmasında kullanılmıştır. Ayrıca organizmaların kültürel ve morfolojik karakterizasyon içinde bu besiyeri ortamı kullanılmıştır.

Glikoz	4 g
Bacto-Yeast Extract (Difco)	4 g
Bacto-Malt Extract (Difco)	10 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml
pH	7,2

Agar hariç diğer ortam içerikleri saf su içerisinde çözüldü. pH 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile 7,3'e ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklav şişelerine dökülerek 121 °C'de 15 dakika otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50 °C'ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullarda petrilere döküldü.

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

Denizel aktinomisetlerin sedimentten izolasyonunda seçici izolasyon besiyeri olarak belirlenmiştir.

Nişasta (Soluble Starch, BDH)	10 g
Kazein (Casein)	0.3 g
KNO <sub>3</sub>	2 g
NaCl	2 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,05 g
CaCO <sub>3</sub>	0,02 g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,01 g
% 20'lik K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 ml
Agar (Difco)	12 g
Saf su	1000 ml
pH	7,0-7,2

% 20'lik K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, nişasta ve agar hariç diğer ortam içerikleri 900 ml saf su içerisinde çözüldü. 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile pH 7,0-7,2'ye ayarlandı. Karışım ısıtılırken agar eklendi. Ölçülü miktardaki nişasta 100 ml soğuk saf su içerisinde ayrı olarak çözüldü ve hazırlanmış sıcak besiyerine karıştırarak ilave edildi. Hazırlanan besiyeri 500 ml'lik otoklav şişelerine 400 ml'ler halinde konularak 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlandı. % 20'lik K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> solüsyonu, besiyerlerinden ayrı olarak başka bir şişede otoklavlanarak sterilizasyonu sağlandı. Otoklav sonrası

45-50°C'ye kadar su banyosunda soğutulan besiyerlerine aseptik koşullarda % 20'lik K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'tan 10 ml /L olacak şekilde ilave edildi. Besiyeri petrilere dökülmeden önce, aktinomisetler dışında bazı istenmeyen mikroorganizmaların izolasyon ortamında üremesini engellemek için besiyerine aseptik koşullarda steril Nalidixic acid (10 µg/ml) ve Nystatin (50 µg/ml ) antibiyotiklerinden uygun miktarlarda katıldı.

### **Stevenson's Agar (Stevenson, 1967)**

67 g yeast nitrojen base ve 0,1 g casamino acid 1 litre ddH<sub>2</sub>O'da çözülür ve filter sterilizasyonu yapılır. Steril K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (200 ml, % 10 w/v) 10X Stevenson's Medium hazırlamak için 800 ml'ye eklenir. 1x Stevenson's medium hazırlamak için, 100 ml 10 x Stevenson's medium steril erimiş agar ile karıştırılır (%1.5, w/v).

**SM1:** Stevenson's agar medium (1x) + D-sorbitol (1%, w/v) + neomisin sülfat (4 µg/ml). (Tan ve diğ., 2006)

**SM2:** Stevenson's agar medium (1x) + D-melezitose (%1, w/v) + neomisin sülfat (4 µg/ml). (Tan ve diğ., 2006)

### **SM3 Agar-Gauze's Agar (Tan ve diğ., 2006)**

Denizel aktinomisetlerin sedimentten izolasyonunda seçici izolasyon besiyeri olarak kullanılmıştır.

Glikoz	10 g
Pepton	5 g
Tripton	3 g
Deniz tuzu	35 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml
pH:	7,2

Tüm ortam içerikleri 900 ml saf su içerisinde çözüldü. Daha sonra son hacim 1000 ml'ye tamamlandı. 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile pH 7,0-7,2'ye ayarlandı. Karışım ısıtılırken agar eklendi. Hazırlanan besiyeri 500 ml'lik otoklav şişelerine 400 ml'ler halinde konularak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlandı. Besiyeri petrilere dökülmeden önce, aktinomisetler dışında bazı istenmeyen mikroorganizmaların ve fungusların izolasyon ortamında üremesini engellemek için besiyerine aseptik koşullarda steril Nystatin (50 µg/ml) ve Rifampicin (5µg/ml) antibiyotiklerinden uygun miktarlarda katıldı.

### **Gliserol-asparajin Agar (ISP 5) (Pridham ve diğ., 1956/1957)**

Gliserol-asparajin Agar (ISP 5) ortamı, organizmaların kültürel ve morfolojik karakterizasyonu için kullanılmıştır.

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

Agar hariç diğer ortam içerikleri saf su içerisinde çözüldü. pH, 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile 7,3'e ayarlandı ve karışıma agar ilave edilerek kaynamaya bırakıldı. Otoklav şişelerine dökülerek 121°C'de 15 dakika otoklav edilen besiyeri, su banyosunda 45-50 °C'ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullarda petrilere döküldü.

## **EK-B: Çözeltilerin Bileşimi ve Hazırlanışı**

### **Mikroorganizmaların İzolasyonu Aşamasında kullanılan Çözeltiler**

#### **Ringer çözeltisi**

İzolasyon çalışmasına başlamadan önce, toprak süspansiyonu elde edilmesi ve testlerin uygulama aşamasından önce spor süspansiyonunun hazırlanması için kullanılmıştır.

Ringer	1 tablet
Distile su	500 ml

500 ml saf su içinde çözülen ringer çözeltisi 500 ml'lik otoklavlanabilir cam şişelere konularak 121°C'de 20 dk otoklavda steril edildi.

#### **Sükroz çözeltisi (Yamamura ve diğ., 2003)**

Literatüre uygun olarak aktinomiset grubu organizmaların en yoğun şekilde elde edildiği sükroz konsantrasyonu %20 olduğu için, %20'lik olarak sükroz çözeltisi hazırlandı ve sükroz gradient tekniğinde kullanıldı.

Sükroz	20 g
Distile Su	80 ml

80 ml saf suda çözülen sükroz, 0.45 µm çapındaki membran filtreden geçirilerek steril edildi ve 10 ml'lik cam şişelere 9 ml ilave edilerek hazırlandı.

#### **% 20'lik Gliserol Stok Çözeltisi (Wellington ve Williams, 1978)**

Gliserol stok çözeltisi test izolatlarının spor ve/veya miselyumlarının -18°C'de uzun süreli saklanması için hazırlanmıştır.

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

Hazırlanan gliserol stok solüsyonu 1,5 ml'lik dıştan kapaklı cryo tüplerin içine 1 ml olacak şekilde paylaştırılıp 121°C'de 20 dk otoklavlandı.

### **50 µg/ml Konsantrasyonunda Cycloheximide Stok Solüsyonu**

Cycloheximide (50 µg/ml) fungusların besiyeri içerisinde üremesini engellemek için katılmıştır.

Öncelikle 100 ml'lik otoklava dayanıklı boş bir şişe 121 °C'de 15 dk. otoklav edilerek steril edildi. Daha sonra ayrı olarak 100 ml saf su içerisinde 2 g cycloheximide çözüldü. Cycloheximide çözeltisi steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş boş şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. Şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafinlenip 4 °C'de saklandı. Besiyer hazırlanırken, aseptik koşullarda bu stok solüsyonundan 1 ml çekilerek steril edilmiş besiyerine katıldı. Ardından besiyerinin petrilere döküm işlemi yapıldı.

### **50 µg/ml Konsantrasyonunda Nistatin Stok Solüsyonu**

Nistatin (50 µg/ml) izolasyon besiyerlerine istenmeyen bazı mikroorganizmalarının üremesini engellemek için katılmıştır.

Öncelikle 100 ml'lik otoklava dayanıklı boş bir şişe 121 °C'de 15 dk. otoklav edilerek steril edildi. Ardından ayrı olarak 100 ml saf su içerisinde 2 g nystatin çözüldü. Nistatin çözeltisi, steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş boş şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. Şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafinlenip 4 °C'de saklandı. Besiyer hazırlanırken, aseptik koşullarda bu stok solüsyonundan 1 ml çekilerek steril edilmiş besiyerine katıldı. Ardından besiyerinin petrilere döküm işlemi yapıldı.

### **5 µg/ml Konsantrasyonunda Rifampicin Stok Solüsyonu**

Rifampicin (0,5 µg/ml), nişasta-kazein agar (Küster ve Williams, 1964) izolasyon ortamına istenmeyen bazı mikroorganizmalarının üremesini engellemek için konulmuştur.

Öncelikle 100 ml'lik otoklava dayanıklı boş bir şişe 121 °C'de 15 dk. otoklav edilerek steril edildi. Ardından ayrı olarak 100 ml saf su içerisinde 0,2 g rifampicin çözüldü. Rifampicin çözeltisi, steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş boş şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. Şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafinlenip 4 °C'de saklandı. Besiyer hazırlanırken, aseptik koşullarda bu stok solüsyonundan 1 ml çekilerek steril edilmiş besiyerine katıldı. Ardından besiyerinin petrilere döküm işlemi yapıldı.



### **10 µg/ml Konsantrasyonunda Nalidiksik Asit Stok Solüsyonu**

Nalidiksik asit (10 µg/ml) istenmeyen mikroorganizmaların besiyeri içerisinde üremesini engellemek için katılmıştır.

Öncelikle 100 ml'lik otoklava dayanıklı boş bir şişe 121 °C'de 15 dk. otoklav edilerek steril edildi. Daha sonra ayrı olarak 100 ml saf su içerisinde 0,4 g cycloheximide çözüldü. Nalidiksik asit çözeltisi steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş boş şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. Şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafinlenip 4 °C'de saklandı. Besiyer hazırlanırken, aseptik koşullarda bu stok solüsyonundan 1 ml çekilerek steril edilmiş besiyerine katıldı. Ardından besiyerinin petrilere döküm işlemi yapıldı.

### **4 µg/ml Konsantrasyonunda Neomycin Sülfat Stok Solüsyonu**

Neomycin sülfat (4 µg/ml) istenmeyen mikroorganizmaların besiyeri içerisinde üremesini engellemek için katılmıştır.

Öncelikle 100 ml'lik otoklava dayanıklı boş bir şişe 121 °C'de 15 dk. otoklav edilerek steril edildi. Daha sonra ayrı olarak 100 ml saf su içerisinde 0,16 g cycloheximide çözüldü. Neomisin sülfat çözeltisi steril bir enjektöre çekildi ve önceden otoklav edilmiş boş şişeye aseptik koşullarda membran filtreden geçirilerek aktarıldı. Şişenin kapağı sıkıca kapatılıp ve gerekirse parafinlenip 4 °C'de saklandı. Besiyer hazırlanırken, aseptik koşullarda bu stok solüsyonundan 1 ml çekilerek steril edilmiş besiyerine katıldı. Ardından besiyerinin petrilere döküm işlemi yapıldı.

## Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

### 0.5 M EDTA, pH 8

EDTA(Merck)	186,1 g
DDH <sub>2</sub> O (Double distile su)	1 litre

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

### 1 M Tris, pH 8

Tris (Amresco)	121,1 g
DDH <sub>2</sub> O	1 litre

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

### TE tamponu, pH 8

0.5M EDTA, pH 8 (Merck)	2 ml
1M Tris, pH 8	10 ml
DDH <sub>2</sub> O	1 litre

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

### Lizozim (50 mg/ml)

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

500 mg lizozim 10 ml TE tampon içerisinde çözümlenerek hazırlandı. 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -18°C'de kullanım zamanına kadar saklandı.

**Proteinaz K (2 mg/ml)**

Proteinaz K (AppliChem)	20 mg
TE tamponu (Otoklav edilmiş)	10 ml

20 mg proteinaz K 10 ml TE tamponu içerisinde çözüldü. 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere 1'er ml bölünerek -18°C'de kullanım zamanına kadar saklandı.

**% 10'luk Sarkosil**

N-Laurylsarcosine (Sigma)	1 g
DDH <sub>2</sub> O	10 ml

1 g N-Laurylsarcosine 8 ml DDH<sub>2</sub>O içeren 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişeye konularak manyetik karıştırıcı üzerinde 50°C'de berraklaşmaya kadar çözüldü. Solüsyon 25 ml'lik mezüre aktarılıp son hacim DDH<sub>2</sub>O ile 10 ml'ye tamamlandı ve stok şişesine aktarılıp otoklav ile steril edildi. Otoklavlama işleminden sonra şişenin etrafı alüminyum folyo kapatılarak oda sıcaklığında saklandı.

**Guanidin thiosiyanat solüsyonu (5 M guanidin thiosiyanat, 100 mM EDTA, % 0,5 sarkosil)**

Guanidine thiosiyanat (AppliChem)	60 g
DDH <sub>2</sub> O (otoklav edilmiş)	20 ml
0,5 M EDTA, pH 8	20 ml

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

**RNAaz (1 mg/ml)**

RNAaz (AppliChem)	10 mg
TE tamponu	10 ml

10 mg RNA az 10 ml TE tamponu içerisinde çözüldü. 0,5 ml'lik steril eppendorf tüplere bölünerek -18°C'de saklandı.

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

Tris (Amresco)	121,10 g
Borik asit (Merck)	61,83 g
EDTA (susuz)	5,84 g
DDH <sub>2</sub> O	1litre

Solüsyon içerikleri tartıldı ve 1000 ml'lik beher içerisine kondu. İçerisine 500 ml DDH<sub>2</sub>O ilave edilerek solüsyon manyetik karıştırıcı üzerinde berraklaşınca kadar tutuldu. Son hacim 1000 ml'ye tamamlanıp, % 33'lük HCl (Merck) kullanılarak pH 8'e ayarlandı ve +4°C'de saklandı. Presipitat oluştuğu takdirde kullanılmamalıdır.

### **1xTBE, pH 8**

10xTBE tamponu	50 ml
DDH <sub>2</sub> O	450 ml

Solüsyon içerikleri mezürle ölçülüp, ağzı kapaklı 500 ml'lik cam şişe içine konularak oda sıcaklığında tutuldu.

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

Brom fenol mavisi (AppliChem)	40 mg
Gliserol (Merck)	5 ml
0.5 M EDTA	1.5 ml
DDH <sub>2</sub> O	3,5 ml

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

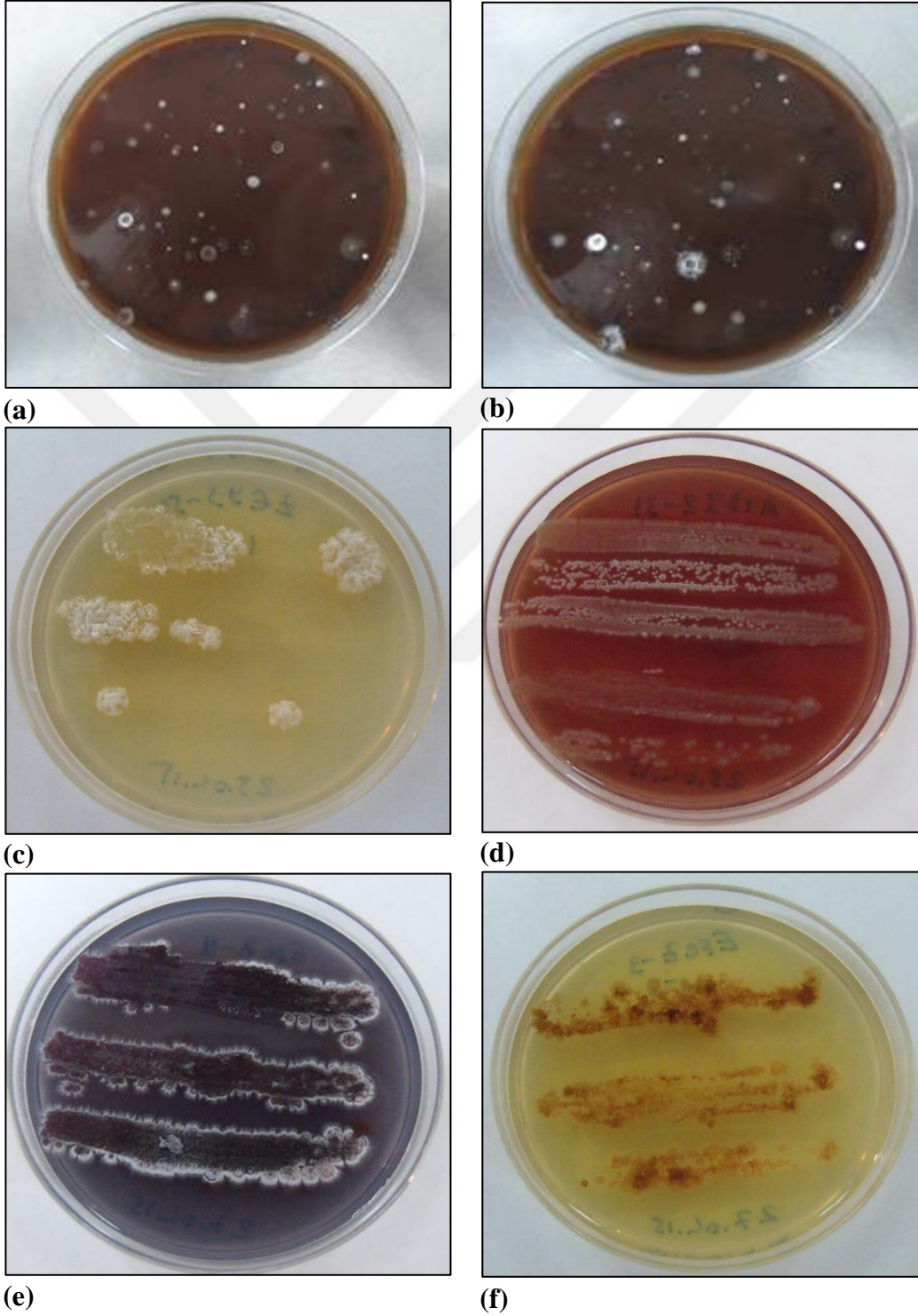
### **Agaroz jel hazırlanışı (% 1'lik)**

İzole edile DNA'yı ve yapılan PZR ürünlerini kontrol etmek amacıyla hazırlanmıştır.

Agaroz (Serva)	0.35 g
1xTBE tamponu	35 ml

0.35 g agaroz 35 ml 1xTBE tamponu bulunan 50 ml'lik erlene ilave edildi. Manyetik karıştırıcı üzerinde tamamen berraklaşınca kadar eritildi. Sıcaklık ~ 60°C olunca içerisine 4 µl etidyum bromür (10 mg/ml) ilave edildi. Erlen hava kabarcığı oluşmayacak şekilde hafifçe helezonik şekilde kendi eksenini etrafında döndürülerek karışım sağlandı. Elektroforez tablası çalışma alanı üzerinde zemini düz olan bir yere bırakıldı. Hemen sonra tablaya hava kabarcığı oluşmayacak şekilde döküldü. Taraklar dikkatli bir şekilde yerleştirildi. Katılaştıktan sonra taraklar çıkarıldı ve içinde 1xTBE, pH 8 tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi.

**EK-C: Farklı Besiyerleri ile Yapılan Toprak İzolasyonundan Petri Görüntüleri**



**Şekil C.1.** Farklı toprak örneklerinin dilüsyon plak görüntüleri. **a-)** Aydıncık toprağı HV **b-)** Yıldızkoy toprağı HV **c-)** Zeytinli toprağı nişasta kazein agar **d-)** Zirve toprağı **e-)** E.Baraj toprağı czapek's agar **f-)** Eşelek köyü toprağı Czapek's dox agar



(a)



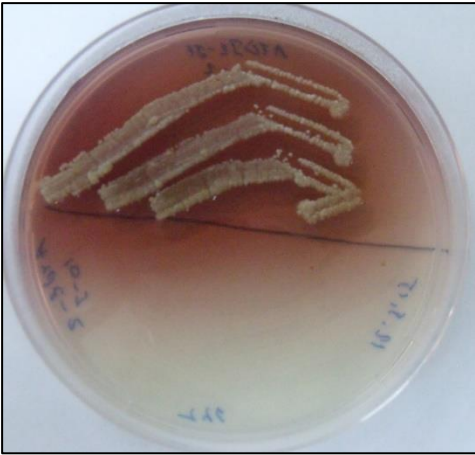
(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Şekil C.2. Bazı izolatların saflaştırma ekimleri

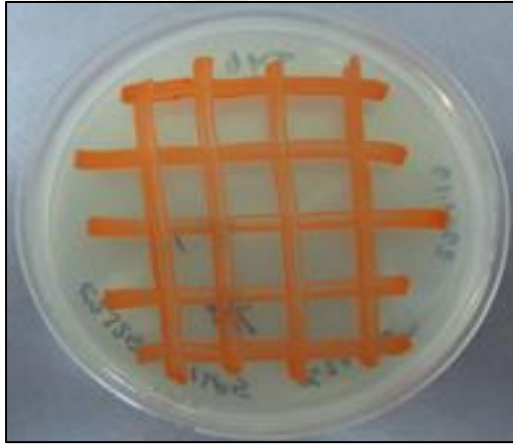




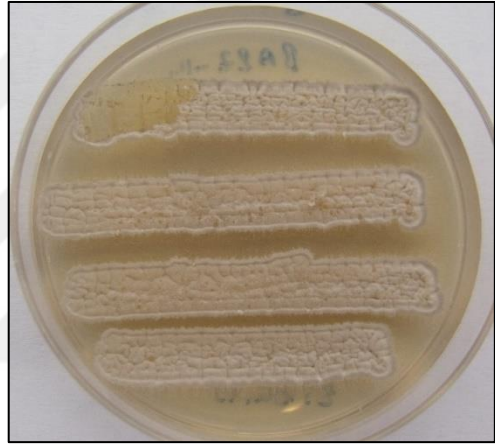
(a)



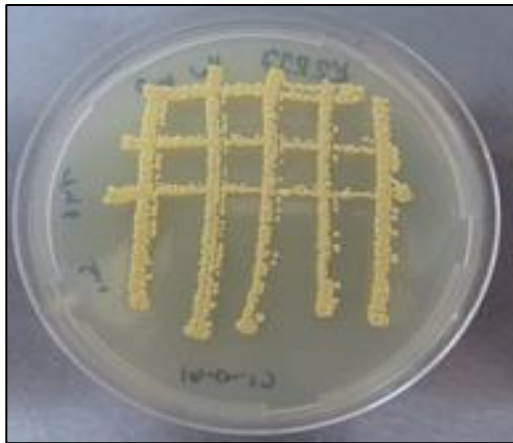
(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

**Şekil C.3.** Bazı izolatların yoğun ekim görüntüleri (a) YB29 (b) EZ3 (c) AYDS25 (d) BARS40 (e) EC51 (f) AS59.

## EK-D. Cinslerle İlgili Yüzde Benzerlik ve Nükleotit Farklılığı Tabloları

Çizelge 1 . *Acinomadura* cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
AI238	---	42/1473	12/1484	42/1484	27/1445	18/1424	35/1458	32/1454	29/1408	21/1344	39/1465	32/1408	29/1440	39/1438	43/1435	41/1459
AYDS4	97.15	---	48/1472	16/1471	21/1442	23/1416	25/1453	34/1449	38/1403	22/1339	28/1456	39/1403	28/1430	29/1435	14/1436	34/1448
AS21	99.19	96.74	---	49/1482	36/1444	24/1424	26/1457	30/1453	28/1407	12/1344	37/1463	31/1407	27/1439	33/1437	41/1434	39/1457
AI239	97.17	98.91	96.69	---	20/1445	24/1424	28/1456	31/1452	37/1406	11/1344	31/1465	38/1406	25/1442	29/1436	29/1433	33/1459
<i>A. Madurae</i>	98.13	98.54	97.51	98.62	---	17/1410	18/1443	29/1444	29/1403	29/1341	28/1445	31/1403	32/1424	24/1433	34/1428	26/1436
<i>A. Darangshiensis</i>	98.74	98.38	98.31	98.31	98.79	---	18/1416	28/1415	34/1381	31/1341	29/1424	35/1381	33/1423	27/1399	34/1394	30/1420
<i>A. Bangladeshensis</i>	97.60	98.28	98.22	98.08	98.75	98.73	---	24/1452	25/1407	21/1343	17/1455	27/1407	26/1431	15/1437	29/1433	22/1449
<i>A. Formosensis</i>	97.80	97.65	97.94	97.87	97.99	98.02	98.35	---	26/1409	29/1343	18/1451	26/1409	33/1430	27/1435	34/1430	21/1447
<i>A. verrucoospora</i>	97.94	97.29	98.01	97.37	97.93	97.54	98.22	98.15	---	35/1338	30/1405	6/1407	30/1397	28/1403	33/1403	11/1402
<i>A. Napierensis</i>	98.44	98.36	99.11	99.18	97.84	97.69	98.44	97.84	97.38	---	26/1342	36/1338	22/1342	24/1338	28/1339	31/1340
<i>A. Geliboluensis</i>	97.34	98.08	97.47	97.88	98.06	97.96	98.83	98.76	97.86	98.06	---	32/1405	30/1440	11/1437	28/1434	30/1457
<i>A. Coerulea</i>	97.73	97.22	97.80	97.30	97.79	97.47	98.08	98.15	99.57	97.31	97.72	---	31/1397	30/1403	34/1403	9/1403
<i>A. Xylanilytica</i>	97.99	98.04	98.12	98.27	97.75	97.68	98.18	97.69	97.85	98.36	97.92	97.78	---	28/1413	25/1408	25/1442
<i>A. Meyerae</i>	97.29	97.98	97.70	97.98	98.33	98.07	98.96	98.12	98.00	98.21	99.23	97.86	98.02	---	30/1429	26/1429
<i>A. Nitritigenes</i>	97.00	99.03	97.14	97.98	97.62	97.56	97.98	97.62	97.65	97.91	98.05	97.58	98.22	97.90	---	31/1426
<i>A. Maheshkhaliensis</i>	97.19	97.65	97.32	97.74	98.19	97.89	98.48	98.55	99.22	97.69	97.94	99.36	98.27	98.18	97.83	---
<i>A. Chokoriensis</i>	96.98	97.79	97.66	97.67	98.26	98.23	99.52	97.85	97.71	98.05	98.14	97.57	97.71	98.46	97.47	98.01
<i>A. Mexicana</i>	97.82	97.67	97.89	97.88	98.30	97.85	98.10	98.31	98.65	97.83	98.09	98.79	98.37	98.16	98.09	99.29
<i>A. Fibrosa</i>	96.81	98.55	97.16	97.85	97.70	97.22	97.92	97.91	97.58	97.91	97.78	97.72	98.24	97.63	98.68	98.12
<i>A. Rudentiformis</i>	97.96	98.66	97.47	97.97	98.01	97.96	97.67	97.10	96.45	97.47	97.05	96.30	97.26	97.50	97.70	96.69
<i>A. Rugatobispora</i>	97.64	97.64	97.78	97.78	97.49	97.82	98.00	97.42	97.56	97.74	97.42	97.49	97.48	97.71	97.14	97.27
<i>A. Cremae</i>	97.62	97.34	97.69	97.83	97.61	97.29	97.76	97.76	97.44	97.54	97.69	97.51	97.39	97.53	96.96	98.03
<i>A. Citrea</i>	97.66	97.15	97.73	97.44	98.01	97.68	98.01	98.23	99.29	97.46	97.72	99.43	97.92	97.86	97.30	99.36
<i>A. Luteofluorescens</i>	97.59	97.08	97.65	97.16	97.72	97.32	98.01	97.80	99.36	97.16	97.65	99.29	97.71	97.79	97.29	99.36
<i>A. Sputi</i>	96.20	97.16	96.54	97.16	97.15	97.23	97.99	96.60	96.51	97.24	97.51	96.37	96.83	97.70	96.65	96.81
<i>A. Livida</i>	96.69	97.16	96.75	97.58	97.57	97.58	98.20	97.51	97.30	97.54	97.92	97.16	97.46	97.77	97.14	97.57
<i>A. Yumaensis</i>	96.67	97.50	96.88	97.71	97.70	97.57	98.06	97.29	97.50	97.83	97.85	97.43	97.81	98.04	97.76	97.98
<i>A. Hibisca</i>	96.40	97.78	96.82	97.02	97.09	96.73	97.51	96.89	96.87	97.16	97.23	96.80	97.82	97.28	97.83	97.22
<i>A. Vinacea</i>	97.70	97.56	97.98	97.56	97.89	98.08	98.40	98.05	97.71	97.60	97.77	97.57	97.89	97.81	97.59	97.97
<i>A. Fulvescens</i>	96.80	97.72	97.23	96.73	96.51	96.89	97.37	97.30	97.22	97.16	97.58	97.01	97.28	97.36	97.65	96.79
<i>A. Sediminis</i>	96.66	97.46	96.99	97.34	97.78	97.75	98.15	97.87	97.30	97.32	97.61	97.37	97.24	97.77	96.93	97.96
<i>S. Album</i>	93.60	94.49	93.53	93.80	94.07	93.66	94.08	94.09	93.93	93.57	93.94	93.86	93.79	94.04	94.30	94.26



Çizelge 1. Devamı

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
AI238	44/1457	31/1420	46/1443	29/1424	33/1399	34/1429	33/1409	34/1408	55/1448	48/1448	48/1442	52/1446	33/1435	45/1408	49/1466	92/1438
AYDS4	32/1446	33/1416	21/1444	19/1415	33/1400	38/1426	40/1405	41/1403	41/1445	41/1445	36/1439	32/1444	35/1433	32/1404	37/1456	79/1435
AS21	34/1455	30/1419	41/1442	36/1423	31/1398	33/1428	32/1408	33/1407	50/1447	47/1447	45/1441	46/1445	29/1434	39/1407	44/1464	93/1437
AI239	34/1457	30/1418	31/1441	29/1426	31/1397	31/1427	36/1407	40/1406	41/1446	35/1446	33/1440	43/1444	35/1433	46/1406	39/1466	89/1436
<i>A. Madurae</i>	25/1434	24/1415	33/1436	28/1409	35/1396	34/1424	28/1404	32/1403	41/1440	35/1439	33/1433	42/1442	30/1425	49/1404	32/1443	85/1434
<i>A. Darangshiensis</i>	25/1414	30/1393	39/1402	29/1422	30/1374	38/1402	32/1382	37/1381	39/1406	34/1405	34/1399	46/1408	27/1409	43/1382	32/1422	89/1403
<i>A. Bangladeshiensis</i>	7/1449	27/1419	30/1441	33/1415	28/1398	32/1428	28/1408	28/1407	29/1446	26/1446	28/1440	36/1444	23/1434	37/1407	27/1456	85/1436
<i>A. Formosensis</i>	31/1444	24/1421	30/1438	41/1414	36/1398	32/1430	25/1410	31/1409	49/1443	36/1443	39/1437	45/1445	28/1433	38/1409	31/1454	85/1438
<i>A. verrucosospora</i>	32/1399	19/1403	34/1403	49/1380	34/1395	36/1406	10/1407	9/1409	49/1403	38/1407	35/1401	44/1405	32/1400	39/1405	38/1408	85/1400
<i>A. Napierensis</i>	26/1334	29/1336	28/1338	34/1342	30/1329	33/1340	34/1339	38/1338	37/1339	33/1343	29/1336	38/1340	32/1336	38/1338	36/1342	86/1337
<i>A. Geliboluensis</i>	27/1455	27/1417	32/1442	42/1425	36/1398	33/1426	32/1406	33/1405	36/1446	30/1445	31/1439	40/1444	32/1433	34/1406	35/1464	87/1436
<i>A. Coerulea</i>	34/1399	17/1404	32/1403	51/1380	35/1396	35/1406	8/1407	10/1407	51/1404	40/1407	36/1402	45/1405	34/1401	42/1405	37/1408	86/1400
<i>A. Xylanilytica</i>	33/1440	23/1408	25/1417	39/1425	35/1389	37/1417	29/1397	32/1397	45/1420	36/1420	31/1415	31/1423	30/1423	38/1397	40/1450	88/1418
<i>A. Meyerae</i>	22/1428	26/1415	34/1433	35/1398	32/1396	35/1419	30/1404	31/1403	33/1434	32/1436	28/1430	39/1433	31/1416	37/1404	32/1436	85/1425
<i>A. Nitritigenes</i>	36/1424	27/1412	19/1434	32/1393	40/1400	43/1416	38/1405	38/1403	48/1432	41/1435	32/1429	31/1430	34/1413	33/1404	44/1434	81/1421
<i>A. Maheshkhaliensis</i>	29/1459	10/1414	27/1435	47/1422	38/1392	28/1422	9/1402	9/1402	46/1440	35/1439	29/1435	40/1438	29/1427	45/1401	30/1469	82/1429
<i>A. Chokoriensis</i>	---	34/1411	37/1432	41/1416	34/1390	38/1420	35/1400	35/1399	35/1437	32/1437	34/1432	43/1435	30/1426	45/1399	34/1466	91/1427
<i>A. Mexicana</i>	97.59	---	26/1414	45/1392	39/1395	35/1418	13/1405	19/1403	48/1416	35/1418	30/1413	43/1417	32/1412	44/1403	37/1420	86/1411
<i>A. Fibrosa</i>	97.42	98.16	---	31/1401	42/1400	39/1425	33/1404	37/1403	52/1441	39/1444	37/1438	27/1439	38/1422	32/1403	42/1442	78/1430
<i>A. Rudentiformis</i>	97.10	96.77	97.79	---	38/1378	49/1401	51/1381	54/1380	47/1409	44/1411	40/1403	34/1414	40/1413	30/1387	46/1424	82/1409
<i>A. Rugatobispora</i>	97.55	97.20	97.00	97.24	---	46/1397	35/1396	36/1395	40/1402	38/1405	42/1405	42/1404	25/1405	35/1399	43/1398	93/1398
<i>A. Cremaea</i>	97.32	97.53	97.26	96.50	96.71	---	36/1408	37/1406	50/1425	41/1429	40/1422	50/1426	43/1422	54/1406	23/1431	91/1422
<i>A. Citrea</i>	97.50	99.07	97.65	96.31	97.49	97.44	---	11/1407	50/1404	40/1408	35/1401	45/1406	34/1401	41/1406	38/1409	89/1401
<i>A. Luteofluorescens</i>	97.50	98.65	97.36	96.09	97.42	97.37	99.22	---	51/1403	41/1407	35/1401	47/1405	34/1400	44/1405	39/1408	89/1400
<i>A. Sputi</i>	97.56	96.61	96.39	96.66	97.15	96.49	96.44	96.36	---	39/1452	38/1444	49/1445	36/1431	53/1407	43/1447	95/1437
<i>A. Livida</i>	97.77	97.53	97.30	96.88	97.30	97.13	97.16	97.09	97.31	---	21/1448	49/1447	28/1431	47/1413	46/1447	92/1441
<i>A. Yumaensis</i>	97.63	97.88	97.43	97.15	97.01	97.19	97.50	97.50	97.37	98.55	---	43/1440	29/1430	44/1404	46/1441	86/1432
<i>A. Hibisca</i>	97.00	96.97	98.12	97.60	97.01	96.49	96.80	96.65	96.61	96.61	97.01	---	37/1431	35/1410	47/1444	78/1441
<i>A. Vinacea</i>	97.90	97.73	97.33	97.17	98.22	96.98	97.57	97.57	97.48	98.04	97.97	97.41	---	43/1404	38/1434	85/1427
<i>A. Fulvescens</i>	96.78	96.86	97.72	97.84	97.50	96.16	97.08	96.87	96.23	96.67	96.87	97.52	96.94	---	56/1408	91/1407
<i>A. Sediminis</i>	97.68	97.39	97.09	96.77	96.92	98.39	97.30	97.23	97.03	96.82	96.81	96.75	97.35	96.02	---	92/1437
<i>S. Album</i>	93.62	93.91	94.55	94.18	93.35	93.60	93.65	93.64	93.39	93.62	93.99	94.59	94.04	93.53	93.60	---

**Çizelge 2.** *Nocardia* cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları

	1	2	3	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
AS26	---	41/1471	34/1473	44/1458	42/1458	42/1455	9/1455	15/1457	21/1405	21/1366	23/1445	25/1458	25/1458	27/1409	28/1458	28/1458
EC52	97.21	---	32/1469	14/1454	10/1454	12/1454	45/1454	44/1453	43/1405	43/1366	47/1445	46/1454	24/1454	40/1409	38/1454	48/1454
EA55	97.69	97.82	---	34/1459	26/1459	32/1455	39/1455	40/1458	38/1405	37/1366	40/1445	41/1459	16/1461	25/1411	14/1461	43/1459
<i>N.testacea</i>	96.98	99.04	97.67	---	12/1475	12/1455	50/1455	43/1474	44/1405	44/1366	52/1445	48/1475	25/1475	42/1409	40/1475	53/1475
<i>N.carnea</i>	97.12	99.31	98.22	99.19	---	12/1455	48/1455	45/1474	46/1405	44/1366	48/1445	46/1475	23/1475	37/1409	32/1475	49/1475
<i>N.flavorosea</i>	97.11	99.17	97.80	99.18	99.18	---	46/1455	45/1454	48/1405	42/1366	48/1445	51/1455	24/1455	42/1409	38/1455	49/1455
<i>N.nova</i>	99.38	96.91	97.32	96.56	96.70	96.84	---	21/1454	27/1405	25/1366	28/1445	29/1455	30/1455	33/1409	33/1455	23/1455
<i>N.jiangxiensis</i>	98.97	96.97	97.26	97.08	96.95	96.91	98.56	---	14/1405	23/1366	30/1444	31/1474	32/1474	30/1409	38/1474	37/1474
<i>N.miyunensis</i>	98.51	96.94	97.30	96.87	96.73	96.58	98.08	99.00	---	30/1364	35/1405	34/1405	35/1405	39/1405	36/1405	41/1405
<i>N.vermiculata</i>	98.46	96.85	97.29	96.78	96.78	96.93	98.17	98.32	97.80	---	19/1366	33/1366	34/1366	39/1366	39/1366	37/1366
<i>N.elegans</i>	98.41	96.75	97.23	96.40	96.68	96.68	98.06	97.92	97.51	98.61	---	35/1445	35/1445	40/1409	44/1445	37/1445
<i>N.vinacea</i>	98.29	96.84	97.19	96.75	96.88	96.49	98.01	97.90	97.58	97.58	97.58	---	39/1475	37/1409	35/1475	42/1475
<i>N.cyriacigeorgica</i>	98.29	98.35	98.90	98.31	98.44	98.35	97.94	97.83	97.51	97.51	97.58	97.36	---	29/1411	26/1477	34/1475
<i>N.xishanensis</i>	98.08	97.16	98.23	97.02	97.37	97.02	97.66	97.87	97.22	97.14	97.16	97.37	97.94	---	15/1411	36/1409
<i>N.exalbida</i>	98.08	97.39	99.04	97.29	97.83	97.39	97.73	97.42	97.44	97.14	96.96	97.63	98.24	98.94	---	43/1475
<i>N.otitidiscaviarum</i>	98.08	96.70	97.05	96.41	96.68	96.63	98.42	97.49	97.08	97.29	97.44	97.15	97.69	97.44	97.08	---
<i>N.lijiangensis</i>	98.08	96.84	97.74	96.81	96.88	96.63	97.87	97.56	97.30	97.00	97.02	97.63	97.63	99.29	98.71	97.42
<i>N.pseudobrasiliensis</i>	98.08	96.94	97.22	96.72	96.94	96.51	97.86	97.79	97.98	96.81	96.92	97.36	97.65	97.48	97.65	97.79
<i>N.sungurluensis</i>	98.01	97.52	98.22	97.47	97.47	97.73	97.80	97.46	97.37	97.29	97.23	97.40	98.15	97.87	98.22	97.05
<i>N.niigatensis</i>	97.94	96.49	96.71	96.41	96.34	96.36	98.21	97.56	97.51	96.71	96.54	96.81	97.29	97.59	97.15	98.03
<i>N.aobensis</i>	97.94	96.42	97.26	96.27	96.41	96.36	98.42	97.42	97.15	98.32	98.96	97.22	97.29	96.52	96.88	97.83
<i>N.anaemiae</i>	97.94	96.84	97.13	96.80	96.93	96.77	97.94	97.75	97.30	97.14	97.37	98.43	97.21	97.09	97.28	96.86
<i>N.mikamii</i>	97.92	96.18	96.88	95.96	96.23	96.18	98.26	97.67	97.01	98.10	99.09	96.98	97.12	96.52	96.50	97.81
<i>N.paucivorans</i>	97.87	98.07	98.08	97.76	97.90	97.87	97.66	97.35	97.37	98.17	97.65	97.29	98.44	97.87	98.24	97.49
<i>N.transvalensis</i>	97.87	97.11	98.02	96.95	96.95	96.91	97.46	97.76	97.86	97.51	98.41	97.42	97.97	96.81	97.09	96.95
<i>N.kruczakiae</i>	97.84	96.23	96.86	95.88	96.16	96.23	98.05	97.14	96.79	97.73	99.02	96.93	97.21	96.65	96.44	97.56
<i>N.acidivorans</i>	97.87	96.70	97.05	96.49	96.70	96.29	98.08	97.25	97.22	96.71	96.54	97.25	97.25	96.60	97.05	97.73
<i>N.africana</i>	97.82	96.27	96.62	95.78	96.20	96.06	98.24	97.32	96.90	98.10	99.44	97.19	96.97	96.55	96.34	97.54
<i>N.asteroides</i>	97.81	97.73	98.97	97.76	98.03	97.53	97.53	97.42	96.87	97.22	97.23	97.97	98.51	98.08	98.31	96.95
<i>G. Sputi</i>	93.55	93.26	93.69	93.02	93.22	92.99	93.40	92.94	93.38	92.61	93.49	93.29	93.63	93.04	94.03	92.75

Çizelge 2. Devamı

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
AS26	28/1458	27/1403	29/1458	30/1458	30/1458	30/1458	30/1442	31/1458	31/1458	31/1433	31/1455	31/1421	32/1458	94/1458
EC52	46/1454	43/1403	36/1454	51/1454	52/1454	46/1454	55/1438	28/1454	42/1454	54/1433	48/1454	53/1421	33/1454	98/1454
EA55	33/1461	39/1404	26/1461	48/1459	40/1459	42/1461	45/1443	28/1461	29/1461	45/1433	43/1456	48/1421	15/1459	92/1459
<i>N.testacea</i>	47/1475	46/1403	37/1460	53/1475	55/1475	47/1467	59/1459	33/1475	45/1475	59/1433	51/1455	60/1421	33/1475	103/1475
<i>N.carnea</i>	46/1475	43/1403	37/1460	54/1475	53/1475	45/1467	55/1459	31/1475	45/1475	55/1433	48/1455	54/1421	29/1475	100/1475
<i>N.flavorosea</i>	49/1455	49/1403	33/1455	53/1455	53/1455	47/1455	55/1439	31/1455	45/1455	54/1433	54/1455	56/1421	36/1455	102/1455
<i>N.nova</i>	31/1455	30/1403	32/1455	26/1455	23/1455	30/1455	25/1439	34/1455	37/1455	28/1433	28/1455	25/1421	36/1455	96/1455
<i>N.jiangxiensis</i>	36/1474	31/1403	37/1459	36/1474	38/1474	33/1466	34/1459	39/1474	33/1474	41/1433	40/1454	38/1420	38/1474	104/1474
<i>N.miyunensis</i>	38/1405	28/1386	37/1405	35/1405	40/1405	38/1405	42/1405	37/1405	30/1405	45/1401	39/1405	43/1389	44/1405	93/1405
<i>N.vermiculata</i>	41/1366	43/1346	37/1366	45/1366	23/1366	39/1366	26/1366	25/1366	34/1366	31/1366	45/1366	26/1366	38/1366	101/1366
<i>N.elegans</i>	43/1445	43/1394	40/1445	50/1445	15/1445	38/1445	13/1429	34/1445	23/1445	14/1433	50/1445	8/1421	40/1445	94/1445
<i>N.vinacea</i>	35/1475	37/1403	38/1460	47/1475	41/1475	23/1467	44/1459	40/1475	38/1475	44/1433	40/1455	40/1421	30/1475	99/1475
<i>N.cyriaciageorgica</i>	35/1477	33/1404	27/1462	40/1475	40/1475	41/1469	42/1459	23/1477	30/1477	40/1433	40/1456	43/1421	22/1475	94/1475
<i>N.xishanensis</i>	10/1411	35/1389	30/1411	34/1409	49/1409	41/1411	49/1409	30/1411	45/1411	47/1403	48/1410	48/1391	27/1409	98/1409
<i>N.exalbida</i>	19/1477	33/1404	26/1462	42/1475	46/1475	40/1469	51/1459	26/1477	43/1477	51/1433	43/1456	52/1421	25/1475	88/1475
<i>N.otitidiscaviarum</i>	38/1475	31/1403	43/1460	29/1475	32/1475	46/1467	32/1459	37/1475	45/1475	35/1433	33/1455	35/1421	45/1475	107/1475
<i>N.lijiangensis</i>	---	33/1404	27/1462	38/1475	52/1475	37/1469	54/1459	33/1477	46/1477	53/1433	46/1456	51/1421	32/1475	99/1475
<i>N.pseudobrasiliensis</i>	97.65	---	35/1404	30/1403	48/1403	35/1404	50/1403	36/1404	47/1404	49/1382	27/1404	50/1371	33/1403	95/1403
<i>N.sungurluensis</i>	98.15	97.51	---	44/1460	48/1460	30/1462	49/1444	34/1462	36/1462	50/1433	42/1456	48/1421	23/1460	93/1460
<i>N.niigatensis</i>	97.42	97.86	96.99	---	47/1475	47/1467	49/1459	46/1475	54/1475	50/1433	33/1455	49/1421	46/1475	105/1475
<i>N.aobensis</i>	96.47	96.58	96.71	96.81	---	45/1467	6/1459	36/1475	31/1475	11/1433	43/1455	13/1421	41/1475	96/1475
<i>N.anaemiae</i>	97.48	97.51	97.95	96.80	96.93	---	47/1451	43/1469	44/1469	40/1433	42/1456	42/1421	31/1467	96/1467
<i>N.mikamii</i>	96.30	96.44	96.61	96.64	99.59	96.76	---	41/1459	33/1459	9/1417	49/1439	11/1405	47/1459	98/1459
<i>N.paucivorans</i>	97.77	97.44	97.67	96.88	97.56	97.07	97.19	---	40/1477	42/1433	48/1456	42/1421	35/1475	99/1477
<i>N.transvalensis</i>	96.89	96.65	97.54	96.34	97.90	97.00	97.74	97.29	---	35/1433	51/1456	31/1421	36/1475	94/1475
<i>N.kruczakiae</i>	96.30	96.45	96.51	96.51	99.23	97.21	99.36	97.07	97.56	---	54/1433	12/1421	47/1433	91/1433
<i>N.acidivorans</i>	96.84	98.08	97.12	97.73	97.04	97.12	96.59	96.70	96.50	96.23	---	51/1421	32/1455	110/1455
<i>N.africana</i>	96.41	96.35	96.62	96.55	99.09	97.04	99.22	97.04	97.82	99.16	96.41	---	47/1421	99/1421
<i>N.asteroides</i>	97.83	97.65	98.42	96.88	97.22	97.89	96.78	97.63	97.56	96.72	97.80	96.69	---	100/1475
<i>G. Sputi</i>	93.29	93.23	93.63	92.88	93.49	93.46	93.28	93.30	93.63	93.65	92.44	93.03	93.22	---

**Çizelge 3.** *Nonomuraeacinsine* ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	<i>ZIZ37</i>	---	29/1474	21/1396	31/1456	33/1407	25/1453	25/1452	24/1449	27/1421	29/1457	28/1458	38/1409	32/1458	29/1457	32/1458	36/1410
2	<i>AYDS-25</i>	98.03	---	29/1400	37/1459	35/1405	40/1456	32/1450	26/1447	43/1424	46/1460	30/1461	37/1406	35/1460	38/1460	35/1460	32/1408
3	<i>N.candida</i>	98.50	97.93	---	19/1402	33/1361	26/1403	34/1392	14/1392	31/1406	34/1406	19/1406	26/1362	28/1404	34/1405	28/1404	23/1364
4	<i>N.jabiensis</i>	97.87	97.46	98.64	---	30/1407	38/1457	36/1450	32/1445	36/1425	36/1461	26/1462	19/1407	31/1462	36/1461	31/1462	26/1410
5	<i>N.spiralis</i>	97.65	97.51	97.58	97.87	---	40/1400	37/1406	36/1404	38/1384	41/1404	42/1405	24/1406	46/1405	36/1404	46/1405	20/1408
6	<i>N.bangladeshensis</i>	98.28	97.25	98.15	97.39	97.14	---	40/1446	23/1445	7/1429	10/1465	25/1463	38/1403	45/1461	24/1462	45/1461	35/1403
7	<i>N.roseoviolacea</i>	98.28	97.79	97.56	97.52	97.37	97.23	---	36/1447	42/1415	42/1450	32/1450	45/1406	39/1450	33/1449	39/1450	40/1409
8	<i>N.salmonea</i>	98.34	98.20	98.99	97.79	97.44	98.41	97.51	---	28/1417	29/1449	18/1449	33/1407	27/1447	29/1448	27/1447	31/1407
9	<i>N.coxensis</i>	98.10	96.98	97.80	97.47	97.25	99.51	97.03	98.02	---	6/1445	29/1443	34/1387	47/1431	19/1442	47/1431	39/1387
10	<i>N.wenchangensis</i>	98.01	96.85	97.58	97.54	97.08	99.32	97.10	98.00	99.58	---	30/1479	39/1407	47/1467	23/1478	47/1467	40/1407
11	<i>N.kuesteri</i>	98.08	97.95	98.65	98.22	97.01	98.29	97.79	98.76	97.99	97.97	---	31/1408	34/1468	18/1479	34/1468	28/1408
12	<i>N.angiospora</i>	97.30	97.37	98.09	98.65	98.29	97.29	96.80	97.65	97.55	97.23	97.80	---	40/1407	36/1407	40/1407	21/1408
13	<i>N.guangzhouensis</i>	97.81	97.60	98.01	97.88	96.73	96.92	97.31	98.13	96.72	96.80	97.68	97.16	---	46/1467	0/1470	40/1408
14	<i>N.fuscirosea</i>	98.01	97.40	97.58	97.54	97.44	98.36	97.72	98.00	98.68	98.44	98.78	97.44	96.86	---	46/1467	38/1407
15	<i>N.guangzhouensis</i>	97.81	97.60	98.01	97.88	96.73	96.92	97.31	98.13	96.72	96.80	97.68	97.16	100.00	96.86	---	40/1408
16	<i>N.helvata</i>	97.45	97.73	98.31	98.16	98.58	97.51	97.16	97.80	97.19	97.16	98.01	98.51	97.16	97.30	97.16	---
17	<i>N.turkmeniaca</i>	97.97	97.48	99.27	98.11	97.08	98.11	97.13	98.60	97.78	97.76	98.39	97.80	97.69	97.41	97.69	97.94
18	<i>N.harbinensis</i>	98.02	97.26	98.01	97.34	97.01	97.33	97.52	97.65	96.53	96.48	96.35	96.52	97.82	96.28	97.82	96.67
19	<i>N.maheshkhaliensis</i>	97.85	97.99	98.29	98.13	97.36	98.20	97.42	98.68	98.53	98.28	99.45	98.01	97.45	99.31	97.45	97.94
20	<i>N.indica</i>	97.81	99.29	97.71	97.16	96.97	97.09	97.31	98.23	96.80	96.67	97.95	97.27	97.88	97.31	97.88	97.27
21	<i>N.muscovyensis</i>	97.67	98.97	97.51	96.99	96.65	97.13	97.04	98.00	96.85	96.72	97.68	97.01	97.47	97.13	97.47	96.95
22	<i>N.endophytica</i>	97.81	97.81	98.65	97.88	97.44	97.40	97.25	98.62	97.16	97.16	97.77	97.80	97.76	97.09	97.76	97.80
23	<i>N.rubra</i>	75.65	75.97	78.05	75.72	75.41	75.09	75.23	76.15	75.67	74.52	75.67	75.64	75.40	74.67	75.40	75.96
24	<i>N.dietziae</i>	97.44	97.58	98.06	97.65	96.94	97.15	97.09	97.99	96.75	96.75	97.65	97.52	97.51	97.09	97.51	97.59
25	<i>N.roseoviolacea</i>	97.79	97.42	97.09	97.00	96.88	96.91	99.21	97.06	96.69	96.78	97.28	96.29	96.92	97.28	96.92	96.66
26	<i>N.maritima</i>	97.32	97.46	97.86	97.13	96.79	97.33	97.03	97.65	96.94	96.95	97.22	97.01	96.79	96.68	96.79	97.73
27	<i>N.solani</i>	97.46	97.19	98.15	97.81	96.87	96.78	97.17	97.37	96.74	96.82	97.43	96.94	96.93	96.68	96.93	97.66
28	<i>N.thailandensis</i>	97.39	97.12	98.28	97.25	96.44	96.83	96.83	97.44	96.48	96.36	97.12	96.65	96.63	96.22	96.63	97.37
29	<i>N.monospora</i>	97.17	97.17	98.01	97.31	96.62	96.67	96.89	97.45	96.37	96.25	97.10	96.84	96.74	96.32	96.74	97.42
30	<i>N.ferruginea</i>	97.45	96.60	97.51	96.95	97.22	96.73	97.02	97.09	96.55	96.60	96.46	96.80	97.17	96.38	97.17	97.01
31	<i>N.recticatena</i>	96.97	96.35	97.12	97.04	96.01	96.27	96.26	96.60	96.05	96.01	97.11	96.44	97.38	96.49	97.38	96.94
32	<i>A.orientalis</i>	88.97	89.52	89.32	89.00	89.05	89.45	88.66	89.26	89.28	89.34	89.40	88.83	88.77	89.04	88.77	89.14

**Çizelge 3. Devamı**

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	
1	ZIZ37	29/1432	29/1461	31/1441	31/1414	34/1458	32/1460	347/1425	37/1447	31/1400	39/1455	37/1457	38/1455	40/1415	36/1414	44/1453	160/1451
2	AYDS-25	36/1429	40/1462	29/1444	10/1412	15/1461	32/1462	342/1423	35/1444	36/1398	37/1459	41/1460	42/1456	40/1414	48/1410	53/1452	152/1451
3	<i>N.candida</i>	10/1369	28/1406	24/1406	31/1352	35/1404	19/1406	299/1362	27/1390	39/1338	30/1405	26/1406	24/1397	27/1355	34/1365	40/1391	147/1376
4	<i>N.jabiensis</i>	27/1428	39/1464	27/1445	40/1410	44/1462	31/1464	345/1421	34/1445	42/1398	42/1461	32/1463	40/1455	38/1413	43/1409	43/1453	158/1436
5	<i>N.spiralis</i>	41/1406	42/1407	37/1404	42/1388	47/1405	36/1407	344/1399	43/1407	43/1376	45/1404	44/1406	50/1404	47/1391	39/1404	56/1403	152/1388
6	<i>N.bangladeshensis</i>	27/1426	39/1463	26/1446	41/1409	42/1461	38/1463	353/1417	41/1440	43/1393	39/1460	47/1461	46/1452	47/1410	46/1406	54/1448	151/1431
7	<i>N.roseoviolacea</i>	41/1428	36/1452	37/1434	38/1411	43/1451	40/1452	352/1421	42/1444	11/1398	43/1449	41/1451	46/1449	44/1413	42/1410	54/1445	162/1429
8	<i>N.salmonea</i>	20/1426	34/1449	19/1436	25/1409	29/1449	20/1449	338/1417	29/1444	41/1393	34/1446	38/1447	37/1446	36/1410	41/1410	49/1442	153/1424
9	<i>N.coxensis</i>	31/1394	50/1443	21/1430	44/1377	45/1429	41/1443	337/1385	46/1415	45/1361	44/1440	47/1441	50/1420	50/1378	48/1390	56/1416	150/1399
10	<i>N.wenchangensis</i>	32/1430	52/1479	25/1450	47/1413	48/1465	42/1479	362/1421	47/1444	45/1397	45/1476	47/1477	53/1456	53/1414	48/1410	58/1452	153/1435
11	<i>N.kuesteri</i>	23/1431	54/1480	8/1451	29/1413	34/1465	33/1480	346/1422	34/1445	38/1398	41/1477	38/1478	42/1457	41/1415	50/1411	42/1453	152/1434
12	<i>N.angiospora</i>	31/1409	49/1409	28/1407	38/1390	42/1407	31/1409	341/1400	35/1409	51/1376	42/1405	43/1407	47/1405	44/1393	45/1406	50/1405	155/1388
13	<i>N.guangzhouensis</i>	33/1430	32/1470	37/1449	30/1412	37/1464	33/1470	350/1423	36/1445	43/1398	47/1465	45/1467	49/1455	46/1413	40/1411	38/1453	161/1434
14	<i>N.fuscirosea</i>	37/1430	55/1479	10/1450	38/1412	42/1464	43/1479	360/1421	42/1444	38/1397	49/1476	49/1477	55/1456	52/1414	51/1410	51/1452	157/1433
15	<i>N.guangzhouensis</i>	33/1430	32/1470	37/1449	30/1412	37/1464	33/1470	350/1423	36/1445	43/1398	47/1465	45/1467	49/1455	46/1413	40/1411	38/1453	161/1434
16	<i>N.helvata</i>	29/1409	47/1410	29/1407	38/1391	43/1408	31/1410	337/1402	34/1410	46/1379	32/1407	33/1409	37/1407	36/1394	42/1407	43/1405	151/1390
17	<i>N.turkmeniaca</i>	---	33/1432	28/1414	37/1413	37/1430	22/1432	343/1423	31/1423	44/1399	30/1428	32/1430	35/1428	36/1415	38/1412	41/1425	151/1406
18	<i>N.harbinensis</i>	97.70	---	48/1451	35/1414	42/1466	46/1482	353/1424	49/1447	38/1400	55/1477	56/1479	51/1457	52/1415	13/1414	48/1455	161/1436
19	<i>N.maheshkhaliensis</i>	98.02	96.69	---	28/1396	33/1448	34/1451	339/1405	35/1435	43/1381	41/1448	41/1449	47/1440	44/1398	53/1410	45/1436	152/1417
20	<i>N.indica</i>	97.38	97.52	97.99	---	12/1414	33/1414	349/1411	35/1405	41/1398	39/1410	48/1411	48/1410	45/1409	42/1394	47/1407	151/1389
21	<i>N.muscovyensis</i>	97.41	97.14	97.72	99.15	---	37/1466	351/1422	39/1445	38/1398	42/1462	52/1463	52/1456	49/1414	49/1411	53/1453	160/1435
22	<i>N.endophytica</i>	98.46	96.90	97.66	97.67	97.48	---	346/1424	27/1447	45/1400	38/1477	38/1479	40/1457	42/1415	44/1413	50/1455	154/1436
23	<i>N.rubra</i>	75.90	75.21	75.87	75.27	75.32	75.70	---	350/1415	358/1398	357/1420	354/1422	350/1420	354/1413	348/1404	369/1417	458/1401
24	<i>N.dietziae</i>	97.82	96.61	97.56	97.51	97.30	98.13	75.27	---	49/1391	36/1442	30/1444	29/1442	23/1406	53/1411	47/1442	150/1423
25	<i>N.roseoviolacea</i>	96.85	97.29	96.89	97.07	97.28	96.79	74.39	96.48	---	43/1397	46/1399	51/1397	51/1396	44/1380	55/1393	152/1378
26	<i>N.maritima</i>	97.90	96.28	97.17	97.23	97.13	97.43	74.86	97.50	96.92	---	46/1477	40/1457	38/1415	50/1408	55/1450	152/1433
27	<i>N.solani</i>	97.76	96.21	97.17	96.60	96.45	97.43	75.11	97.92	96.71	96.89	---	11/1457	12/1415	50/1410	48/1452	147/1435
28	<i>N.thailandensis</i>	97.55	96.50	96.74	96.60	96.43	97.25	75.35	97.99	96.35	97.25	99.25	---	10/1415	56/1408	56/1450	149/1433
29	<i>N.monospora</i>	97.46	96.33	96.85	96.81	96.53	97.03	74.95	98.36	96.35	97.31	99.15	99.29	---	55/1395	53/1408	151/1391
30	<i>N.ferruginea</i>	97.31	99.08	96.24	96.99	96.53	96.89	75.21	96.24	96.81	96.45	96.45	96.02	96.06	---	54/1406	165/1388
31	<i>N.recticatena</i>	97.12	96.70	96.87	96.66	96.35	96.56	73.96	96.74	96.05	96.21	96.69	96.14	96.24	96.16	---	151/1435
32	<i>A.orientalis</i>	89.26	88.79	89.27	89.13	88.85	89.28	67.31	89.46	88.97	89.39	89.76	89.60	89.14	88.11	89.48	---

**Çizelge 4.** *Saccharopolyspora* cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	<i>YILB32</i>	---	37/1465	31/1467	7/1448	17/1450	17/1390	18/1415	31/1415	33/1449	32/1450	35/1449	44/1450
2	<i>ZES61</i>	97.47	---	7/1479	40/1448	44/1459	40/1394	41/1419	8/1417	31/1459	46/1464	25/1459	58/1458
3	<i>YILC25</i>	97.89	99.53	---	34/1448	37/1459	33/1394	34/1419	1/1417	25/1459	41/1464	18/1459	52/1458
4	<i>S.antimicrobica</i>	99.52	97.24	97.65	---	21/1448	16/1390	17/1414	34/1414	32/1447	33/1448	36/1447	41/1448
5	<i>S.indica</i>	98.83	96.98	97.46	98.55	---	17/1392	18/1417	29/1415	45/1456	42/1459	41/1456	48/1455
6	<i>S.hirsuta_subsp._kobe</i>	98.78	97.13	97.63	98.85	98.78	---	1/1394	33/1389	33/1390	28/1395	36/1390	48/1395
7	<i>S.jiangxiensis</i>	98.73	97.11	97.60	98.80	98.73	99.93	---	34/1414	34/1415	28/1419	37/1415	48/1419
8	<i>S.shandongensis</i>	97.81	99.44	99.93	97.60	97.95	97.62	97.60	---	23/1416	39/1417	16/1416	48/1417
9	<i>S.spinosa</i>	97.72	97.88	98.29	97.79	96.91	97.63	97.60	98.38	---	38/1480	19/1480	48/1453
10	<i>S.hirsuta</i>	97.79	96.86	97.20	97.72	97.12	97.99	98.03	97.25	97.43	---	43/1480	36/1460
11	<i>S.phatthalungensis</i>	97.58	98.29	98.77	97.51	97.18	97.41	97.39	98.87	98.72	97.09	---	44/1453
12	<i>S.hordei</i>	96.97	96.02	96.43	97.17	96.70	96.56	96.62	96.61	96.70	97.53	96.97	---
13	<i>S.tripterygii</i>	95.97	96.18	96.46	96.18	95.69	95.88	95.85	96.92	96.74	95.33	96.82	95.34
14	<i>S.dendranthemae</i>	96.01	96.45	96.87	96.21	95.61	96.11	96.10	97.03	96.81	95.63	97.22	95.68
15	<i>S.pathumthaniensis</i>	94.89	95.33	95.74	95.15	94.43	95.96	95.96	96.88	95.77	94.41	96.04	94.63
16	<i>S.erythraea</i>	95.93	95.75	96.23	96.13	95.33	95.97	95.97	96.32	96.68	95.88	96.82	95.73
17	<i>S.endophytica</i>	94.81	95.19	95.60	94.94	94.36	96.25	96.25	96.67	95.75	94.86	96.02	94.42
18	<i>S.cebuensis</i>	95.65	95.54	95.95	95.85	94.99	95.46	95.47	96.04	96.75	95.33	97.22	95.66
19	<i>S.gloriosae</i>	95.53	95.50	95.98	95.74	94.93	95.60	95.61	96.10	96.42	95.53	96.83	95.90
20	<i>S.spinoporotrichia</i>	95.78	95.49	96.00	96.00	95.78	95.99	95.93	96.22	96.44	95.64	96.58	95.57
21	<i>S.rosea</i>	95.79	96.07	96.55	95.78	95.65	95.68	95.76	96.68	96.82	96.00	97.31	95.66
22	<i>S.halophila</i>	95.78	96.29	96.70	95.98	95.25	95.96	95.96	96.60	96.46	95.31	96.87	95.04
23	<i>S.flava</i>	95.36	95.39	95.81	95.71	94.90	95.67	95.68	96.60	95.61	94.36	96.03	94.62
24	<i>A.sacchari</i>	94.11	93.98	94.33	94.17	93.78	93.28	93.26	94.39	94.61	93.58	94.67	93.72

Çizelge 4. Devamı

		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	<i>YILB32</i>	57/1413	57/1428	74/1447	59/1448	75/1446	63/1448	64/1433	58/1375	61/1448	61/1445	66/1423	86/1459
2	<i>ZES61</i>	54/1414	51/1438	68/1457	62/1458	70/1456	65/1458	65/1443	62/1376	57/1449	54/1455	66/1433	88/1462
3	<i>YILC25</i>	50/1414	45/1438	62/1457	55/1458	64/1456	59/1458	58/1443	55/1376	50/1449	48/1455	60/1433	83/1464
4	<i>S.antimicrobica</i>	54/1413	54/1426	70/1444	56/1446	73/1443	60/1446	61/1431	55/1374	61/1446	58/1443	61/1421	84/1440
5	<i>S.indica</i>	61/1414	63/1436	81/1454	68/1456	82/1453	73/1456	73/1441	58/1376	63/1449	69/1453	73/1431	90/1448
6	<i>S.hirsuta</i> subsp. <i>kobe</i>	57/1384	54/1387	56/1387	56/1389	52/1387	63/1389	61/1386	55/1371	60/1390	56/1386	60/1387	93/1384
7	<i>S.jiangxiensis</i>	58/1397	55/1412	57/1412	57/1414	53/1412	64/1414	62/1411	56/1376	60/1414	57/1411	61/1412	95/1409
8	<i>S.shandongensis</i>	43/1396	42/1412	44/1412	52/1414	47/1412	56/1414	55/1411	52/1374	47/1414	48/1411	48/1412	79/1408
9	<i>S.spinosa</i>	46/1413	46/1440	62/1466	49/1478	62/1459	48/1477	52/1453	49/1375	46/1448	52/1471	63/1435	78/1446
10	<i>S.hirsuta</i>	66/1414	63/1441	82/1467	61/1479	75/1460	69/1478	65/1454	60/1376	58/1451	69/1472	81/1436	93/1448
11	<i>S.phatthalungensis</i>	45/1413	40/1440	58/1466	47/1478	58/1459	41/1477	46/1453	47/1375	39/1448	46/1471	57/1435	77/1446
12	<i>S.hordei</i>	66/1417	62/1435	78/1453	62/1453	81/1452	63/1453	59/1438	61/1377	63/1453	72/1452	77/1430	91/1449
13	<i>S.tripterygii</i>	---	12/1415	22/1418	70/1415	24/1417	57/1415	67/1412	66/1367	63/1416	52/1416	33/1407	86/1409
14	<i>S.dendranthemae</i>	99.15	---	10/1445	65/1442	12/1445	51/1442	60/1439	65/1375	58/1431	45/1443	41/1437	88/1428
15	<i>S.pathumthaniensis</i>	98.45	99.31	---	79/1468	10/1465	69/1468	65/1453	63/1375	72/1449	66/1469	40/1437	104/1446
16	<i>S.erythraea</i>	95.05	95.49	94.62	---	80/1461	44/1479	39/1456	4/1378	57/1450	59/1473	78/1437	73/1447
17	<i>S.endophytica</i>	98.31	99.17	99.32	94.52	---	69/1461	66/1446	67/1375	75/1448	65/1462	45/1437	107/1445
18	<i>S.cebuensis</i>	95.97	96.46	95.30	97.03	95.28	---	38/1455	47/1377	56/1450	47/1473	68/1437	77/1447
19	<i>S.gloriosae</i>	95.25	95.83	95.53	97.32	95.44	97.39	---	41/1375	50/1435	52/1452	79/1434	81/1432
20	<i>S.spinoporotrichia</i>	95.17	95.27	95.42	99.71	95.13	96.59	97.02	---	55/1377	60/1374	67/1375	72/1370
21	<i>S.rosea</i>	95.55	95.95	95.03	96.07	94.82	96.14	96.52	96.01	---	53/1448	73/1426	92/1444
22	<i>S.halophila</i>	96.33	96.88	95.51	95.99	95.55	96.81	96.42	95.63	96.34	---	57/1438	89/1447
23	<i>S.flava</i>	97.65	97.15	97.22	94.57	96.87	95.27	94.49	95.13	94.88	96.04	---	96/1425
24	<i>A.sacchari</i>	93.90	93.84	92.81	94.96	92.60	94.68	94.34	94.74	93.63	93.85	93.26	---

**Çizelge 1.** *Microbispora* cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	AZ5	---	13/1464	14/1413	15/1463	18/1452	23/1440	19/1412	19/1462	29/1452	29/1460	30/1453	30/1461	38/1445	34/1463	37/1418	36/1456	48/1448	45/1451	75/1438
2	EZ3	99.11	---	23/1413	13/1446	5/1440	26/1428	23/1412	16/1445	30/1435	27/1443	27/1441	37/1444	44/1439	39/1446	35/1401	34/1444	53/1434	46/1440	78/1432
3	<i>M.rosea</i> _subsp._ <i>aerata</i>	99.01	98.37	---	23/1412	26/1406	28/1409	21/1411	26/1411	34/1412	30/1409	35/1407	39/1413	41/1412	34/1413	39/1383	39/1410	53/1411	48/1411	80/1405
4	<i>M. bryophytorum</i>	98.97	99.10	98.37	---	18/1451	26/1439	13/1412	25/1476	40/1465	31/1473	27/1453	39/1475	46/1444	30/1464	42/1432	34/1455	57/1447	40/1452	76/1437
5	<i>M.rosea</i> _subsp._ <i>rosea</i>	98.76	99.65	98.15	98.76	---	31/1433	28/1405	21/1450	35/1440	32/1448	32/1446	42/1449	49/1438	42/1451	39/1406	37/1449	56/1439	49/1444	82/1431
6	<i>M. corallina</i>	98.40	98.18	98.01	98.19	97.84	---	29/1408	19/1438	33/1439	30/1438	37/1435	35/1441	48/1433	40/1439	31/1409	41/1437	51/1438	51/1436	81/1423
7	<i>M. amethystogenes</i>	98.65	98.37	98.51	99.08	98.01	97.94	---	31/1410	38/1411	31/1408	36/1406	41/1412	50/1411	36/1412	42/1382	42/1409	57/1410	44/1410	81/1402
8	<i>M. hainanensis</i>	98.70	98.89	98.16	98.31	98.55	98.68	97.80	---	41/1464	40/1472	33/1451	24/1474	47/1443	38/1461	41/1432	38/1454	42/1446	49/1449	80/1436
9	<i>P. phitsanulokensis</i>	98.00	97.91	97.59	97.27	97.57	97.71	97.31	97.20	---	23/1464	20/1444	58/1466	33/1443	43/1452	20/1434	25/1446	47/1450	49/1444	78/1430
10	<i>P. thailandica</i>	98.01	98.13	97.87	97.90	97.79	97.91	97.80	97.28	98.43	---	18/1451	56/1471	39/1443	35/1460	20/1430	21/1453	45/1446	44/1448	79/1434
11	<i>P. silvatica</i>	97.94	98.13	97.51	98.14	97.79	97.42	97.44	97.73	98.61	98.76	---	49/1450	27/1442	45/1454	10/1410	5/1453	43/1444	52/1447	77/1432
12	<i>M. siamensis</i>	97.95	97.44	97.24	97.36	97.10	97.57	97.10	98.37	96.04	96.19	96.62	---	61/1445	48/1460	59/1433	55/1453	57/1448	61/1451	89/1438
13	<i>A. corrugata</i>	97.37	96.94	97.10	96.81	96.59	96.65	96.46	96.74	97.71	97.30	98.13	95.78	---	55/1447	30/1409	32/1444	34/1444	70/1445	75/1434
14	<i>M. thailandensis</i>	97.68	97.30	97.59	97.95	97.11	97.22	97.45	97.40	97.04	97.60	96.91	96.71	96.20	---	46/1418	51/1455	60/1450	31/1456	83/1438
15	<i>P. kaengkrachanensis</i>	97.39	97.50	97.18	97.07	97.23	97.80	96.96	97.14	98.61	98.60	99.29	95.88	97.87	96.76	---	13/1412	40/1416	53/1410	78/1396
16	<i>P. mira</i>	97.53	97.65	97.23	97.66	97.45	97.15	97.02	97.39	98.27	98.55	99.66	96.21	97.78	96.49	99.08	---	46/1446	57/1448	84/1435
17	<i>A. phusangensis</i>	96.69	96.30	96.24	96.06	96.11	96.45	95.96	97.10	96.76	96.89	97.02	96.06	97.65	95.86	97.18	96.82	---	61/1445	81/1429
18	<i>M. mesophila</i>	96.90	96.81	96.60	97.25	96.61	96.45	96.88	96.62	96.61	96.96	96.41	95.80	95.16	97.87	96.24	96.06	95.78	---	85/1437
19	<i>A. madurae</i>	94.78	94.55	94.31	94.71	94.27	94.31	94.22	94.43	94.55	94.49	94.62	93.81	94.77	94.23	94.41	94.15	94.33	94.08	---



## EK E. İzolatların Renk Gruplarının Belirlenmesi

Renk grupları	İzolat	Gelişimi	Spor rengi	Substrat Miselyum Rengi	Çözünür Pigment Rengi
1	AI238	+++	Gri-beyaz	Açık kahverengi	Yok
1	AI239	++	Gri-beyaz	Açık kahverengi	Yok
2	AS21	+++	Beyaz	Koyu gri	Yok
3	AYDS4	+++	Beyaz	Koyu gri	Yok
4	ZIRC94	+	Yok	Koyu gri	Sarı
6	AZ5	++	Gri	Açık gri	Açık kahverengi
7	EZ3	+	Gri		
8	EC52	++	Beyaz	Kahverengi	Yok
8	AS26	+++	Beyaz	Açık kahverengi	Sarı
9	EA55	++	Gri	Açık kahverengi	Sarı
10	ZIZ37	+++	Beyaz	Açık kahverengi	Açık kahverengi
10	AYDS25	+++	Gri-beyaz	Açık kahverengi	
11	YILB32	+++	Yok	Kahverengi	Yok
11	YILC25	++	Yok	Kahverengi	Yok
12	ZES61	++	Yok	Kahverengi	Yok
12	ZEYS56	+++	Yok	Kahverengi	Yok
13	AS59	+++	Gri-beyaz	Koyu krem	Sarı
14	BI255	++	Gri-beyaz	Koyu krem	Sarı
14	BI519	+++	Beyaz	Koyu krem	Sarı
15	EC51	+++	Beyaz	Koyu krem	Sarı
15	EZ11	++	Gri-beyaz	Krem	Sarı
16	ZEI231	+++	Gri-beyaz	Krem	Sarı
16	ZEYZ14	+	Beyaz	Krem	Açık kahverengi
16	ZEZ7	++	Beyaz	Yok	Açık kahverengi
17	ZIRI57	+++	Yok	Krem	Açık kahverengi
17	ZIRI269	+++	Yok	Yok	Açık kahverengi
17	ZIRS29	++	Beyaz	Yok	Açık kahverengi
18	ZEYZ1	+++	Beyaz	Yok	Açık kahverengi
19	ZIRI266	+++	Gri-beyaz	Yok	Sarı
20	EZ14	++	Gri-beyaz	Koyu krem	Sarı
21	EI2115	+++	Beyaz	Kahverengi	Yok
21	BI245	++	Beyaz	Kahverengi	Sarı
22	AYDS60	++	Beyaz	Kahverengi	Yok
23	YI212	+++	Yok	Kahverengi	Yok
24	ES24	++	Gri-beyaz	Açık kahverengi	Yok
25	EI2125	+++	Gri-beyaz	Açık kahverengi	Yok
26	AB77	+++	Beyaz	Açık kahverengi	Yok
27	ES109	++	Beyaz	Açık kahverengi	Sarı

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Ahmet Rıdvan TOPKARA

**Doğum Yeri ve Tarihi** : Sakarya / 28.08.1984

**Adres** : ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN EDEBİYAT FAKÜLTESİ  
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ  
Atakum / SAMSUN

**E-Posta** : [ahmetridvantopkara@gmail.com](mailto:ahmetridvantopkara@gmail.com)

**Lisans (2005/2010)** : ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ  
EĞİTİM FAKÜLTESİ  
ORTAÖĞRETİM BİYOLOJİ ÖĞRETMENLİĞİ

