



**BİLECİK ŞEYH EDEBALI
ÜNİVERSİTESİ**

**Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**SAKARYA NEHİR KAYNAĞI
SEDİMENTİNDEN İZOLE EDİLEN
PROKARYOTLARIN 16S rRNA
DİZİLEMESİ İLE MOLEKÜLER
TİPLENDİRİLMESİ**

**UĞUR ÇİĞDEM
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi FADİME ÖZDEMİR KOÇAK**

BİLECİK, 2018



**BILECIK SEYH EDEBALI
UNIVERSITY**

**Graduate School of Sciences
Department of Biotechnology**

**MOLECULAR SYSTEMATIC OF
PROKARYOTES ISOLATED FROM
SAKARYA RIVER-HEAD SEDIMENT BY
16S rRNA GENE SEQUENCING**

**UĞUR ÇİĞDEM
Master's Thesis**

**Thesis Advisor
Assist. Prof. Dr. FADİME ÖZDEMİR KOÇAK**

BILECIK, 2018

Ek-5(a): Yüksek Lisans Öğrencileri İçin Tez Kabul ve Onay Sayfası



BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜKSEK LİSANS
JÜRİ ONAY FORMU**

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 15.08.2018...tarih ve ...46..... sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 27.08.2018...tarihinde tez savunma sınavı yapılan Doç. Dr. GİDEM.....'ın Sakarya Nehir Kaynağı Sedimentinden İzole Edilen Prokaryotların 16S rRNA Dizilemesi ile Moleküler Tiplemesi başlıklı tez çalışması Biyoteknoloji..... Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak oy birliği/ oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI): Dr. Öğr. Üye. Fadime ÖZDEMİR KOCATEPE

ÜYE: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN

ÜYE: Doç. Dr. Ülkuşe Dulu GÜL ÖZDURUL

Biyoteknoloji ANABİLİM DALI BAŞKANI:

Dr. Öğr. Üyesi
Sema LEBLEBİÇİ

ONAY

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/ MÜHÜR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Fadime Özdemir Koçak' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın bir bölümü yürüttüğüm Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde çalışmakta olan Prof. Dr. Nevzat Şahin ve Prof. Dr. Kamil Işık hocalarıma ve çalışma ekiplerine teşekkürlerimi sunarım.

İçinde bulunduğum yoğun tempolu süreçte karşıma çıkan zorluklarla mücadelede benden hiçbir zaman yardım, ilgi ve desteklerini esirgemeyen babam Ünal Çiğdem, annem Sibel Çiğdem ve evimizin neşesi biricik kardeşim Hilal Çiğdem'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yürüdüğüm yolda her zaman yanımda olan, beni hiç yalnız bırakmayan, desteğine, arkadaşlığına ve fikirlerine her zaman önem verip saygı duyduğum, dostluğumuzun temellerini lisans döneminde attığımız arkadaşım Müslüm Süleyman İnal'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışmasını 2016-01.BŞEÜ.13-01. nolu proje ile destekleyen Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi bilimsel araştırma projesi koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

ÖZET

Yapılan çalışmada, Eskişehir ilinin Çifteler ilçesinde bulunan Sakarya Nehri'nin doğduğu bölgeden farklı derinliklere sahip 4 farklı lokaliteden alınan sediment örneklerinden prokaryotik mikroorganizma izolasyonu yapılmıştır. İzolatların 16S rRNA gen bölgelerine ait dizi verileri elde edilmiş ve filogenetik analizler ile moleküler tiplendirilmesi yapılmıştır.

Sediment örnekleri, nehirden steril kavanozlar ile alınmış ve laboratuvar ortamında dilüsyon plaka yöntemi uygulanarak önceden hazırlanmış antibiyotik içerikli 5 farklı besiyeri ortamına inoküle edilmiştir. İzole edilen 22 organizmanın 16S rRNA gen bölgesinin PCR çalışmaları yapılmıştır. 16S rRNA gen bölgesi nükleotid dizi verilerine göre, izolatların *Cellulomonas*, *Micromonospora*, *Saccharomonospora*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus* ve *Microvirga* cinslerine ait oldukları belirlenmiştir. Mega 7 paket programı ile 22 izolatin en yakın tip türleri ile filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. BIOEDIT programı kullanılarak izolatların en yakın tip türleri ile yüzde benzerlik ve nükleotid farklılık tabloları oluşturulmuştur. İzolatlar arasından olası yeni türler belirlenmiştir.

16S rRNA gen bölgesi filogenetik analizlerine göre; S1S32 (*Microvirga* sp.), S2S24 (*Cellulomonas* sp.), S1I41 (*Brevibacillus* sp.), S1S22 (*Paenibacillus* sp.), S2S21 (*Saccharomonospora* sp.), S1S33 (*Micromonospora* sp.) ve S1G21 (*Micromonospora* sp.) yeni türler olarak literatüre kazandırılacakları düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: 16S rRNA, Aktinomiset, Filogenetik Analiz

ABSTRACT

In this study, isolation of prokaryotic microorganisms from sediment samples taken at 4 different locations with varied depths of Sakarya Riverhead located in Çifteler town of Eskişehir province was performed. Based on 16S rRNA gene region's nucleotide sequence analysis data of isolates was obtained and phylogenetic analyses were carried out for molecular typing.

Sediment samples were collected from the river by sterile jar. Sediment samples were applied to the dilution plate technique and samples were inoculated on 5 different media including the antibiotics previously prepared. PCR studies of the 16S rRNA gene region of 22 organisms isolated from 5 different media were completed. According to nucleotide sequence analysis data of 16S rRNA sequencing; isolates belonging to *Cellulomonas*, *Micromonospora*, *Saccharomonospora*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus* and *Microvirga* genus were determined. Phylogenetic analyses with the closest type of 22 isolates were performed via the Mega 7 package program. Similarity percentage and nucleotide difference of isolates compared to the closest type strains were established by using BIOEDIT program. The probability of new species among the isolates was determined.

According to phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene region; isolates S1S32 (*Microvirga* sp.), S2S24 (*Cellulomonas* sp.), S1I41 (*Brevibacillus* sp.), S1S22 (*Paenibacillus* sp.), S2S21 (*Saccharomonospora* sp.), S1S33 (*Micromonospora* sp.) and S1G21 (*Micromonospora* sp.) could be new species.

Key words: 16S rRNA, Actinomycetes, Phylogenetic Analysis

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	9
2.1. İzole Edilen Mikroorganizmaların Sistematiği ve Genel Özellikleri.....	9
2.1.1 <i>Cellulomonas</i> Cinsi Sistematiği ve Genel Özellikleri.....	9
2.1.2 <i>Micromonospora</i> Cinsi Sistematiği ve Genel Özellikleri.....	11
2.1.3 <i>Saccharomonospora</i> Cinsi Sistematiği ve Genel Özellikleri.....	13
2.1.4 <i>Brevibacillus</i> Cinsi Sistematiği ve Genel Özellikleri.....	14
2.1.5 <i>Paenibacillus</i> Cinsi Sistematiği ve Genel Özellikleri.....	16
2.1.6 <i>Microvirga</i> Cinsi Sistematiği ve Genel Özellikleri.....	19
2.2 Prokaryotik Taksonomi	20
2.3 Moleküler Sistematiği	22
2.4 16S rRNA Gen Bölgesi	23
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Sediment Örneklerinin Seçimi ve Kaynakları.....	25
3.2. Mikroorganizmaların İzolasyonu	25
3.2.1. Dilüsyon Plaka Tekniği.....	25
3.2.2. İzolatların Seçimi ve Saflaştırılması	26
3.2.3. İzolatların Stoklanması	26
3.3. DNA İzolasyonu.....	27
3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	27
3.3.2. DNA İzolasyon Kontrolü	28
3.3.3. 16S rRNA Gen Bölgesinin PCR İşlemi	29
3.3.4. 16S rRNA Gen Bölgesi Verilerinin Eldesi, Analizi ve Filogenetik Dendogramların Oluşturulması.....	30
3.4. Antimikrobiyal Aktivite Testi	31
4. BULGULAR.....	32

4.1. Mikroorganizmaların Belirlenen Lokalitelerden İzolasyonu	32
4.2. DNA İzolasyonu ve Agaroz Jel Elektroforez Yöntemiyle DNA'ların Görüntülenmesi	34
4.3. 16S rRNA Gen Bölgesinin PCR Amplifikasyonu	35
4.4. 16S rRNA Sekans Verilerinin Eldesi, Analizi ve Filogenetik Soyağaçlarının Oluşturulması	35
4.5. Antimikrobiyal Test Sonuçları	59
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ	69
KAYNAKLAR	71
EKLER	102
EK-1: Besiyeri Ortamları ve Hazırlanışı	103
EK-2: Çözeltilerin İçerikleri ve Hazırlanışı	107
EK-3: İzole Edilen Bazı Mikroorganizmaların Petri Görüntüleri	111
EK-4: Test İzolatlarına Ait Bazı Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	113
ÖZGEÇMİŞ	114

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. , Actinobacteria şubesinin 97 adet genom dizisi için genom tabanlı bir filogenetik ağacı (Barka, vd., 2016).....	3
Şekil 2.1. , Bakteriyel hiyerarşinin çözümü için modern polifazik yaklaşımda kullanılan tekniklerin ve işaretlerin şematik gösterimi (Prakash, vd., 2007).....	21
Şekil 4.1. , Sakarya Nehir Kaynağı'ndan izole edilen organizmaların 16S rRNA gen bölgesinin PCR metodu ile amplifikasyonu (DNA Ladder: Thermo SM1701).	35
Şekil 4.2. , MacroGen firmasında 16S rRNA gen bölgesi dizilemesi yapılan test organizmalarına ait verilerin Finch TV programındaki görüntüsü	35
Şekil 4.3. , <i>Cellulomonas</i> 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 % 2'dir ve dış grup olarak <i>Actinomyces</i> sp. CCUG 41708 ^T (AJ249326) kullanılmıştır.	38
Şekil 4.4. , <i>Micromonospora ovatispora</i> türü ile ilişkili 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 <i>Streptomyces coelicolor</i> Y00411 kullanılmıştır.	42
Şekil 4.5. , <i>Micromonospora spongicola</i> türü ile ilişkili 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 <i>Streptomyces coelicolor</i> Y00411 kullanılmıştır.	43
Şekil 4.6. , <i>Micromonospora ureilytica</i> türü ile ilişkili test organizması 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 <i>Streptomyces coelicolor</i> Y00411 kullanılmıştır.	46
Şekil 4.7. , <i>Micromonospora vinacea</i> türü ile ilişkili 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 <i>Streptomyces coelicolor</i> Y00411 kullanılmıştır.	48
şekil 4.8. , <i>Saccharomonospora</i> 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 % 0.5'dir ve dış grup olarak <i>Amycolatopsis halophila</i> YIM 93223 ^T (FJ606836) kullanılmıştır.	51
şekil 4.9. , <i>Brevibacillus</i> 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 <i>Aneurinibacillus aneurinilyticus</i> DSM 5562 ^T (AB112724) kullanılmıştır.	53
şekil 4.10. , <i>Paenibacillus</i> cinsine ait test organizması 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 <i>B.subtilis</i> NCDO 1769 ^T (X60646) kullanılmıştır.	55
şekil 4.11. , <i>Microvirga</i> cinsine ait test organizması 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 <i>Afipia felis</i> 1474 ^T (AF338177) kullanılmıştır.	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. , İzolasyon çalışması için örneklerin alındığı bölgeler ve bazı özellikleri ..	25
Çizelge 3.2. , PCR reaksiyonu için bileşenler ve miktarları	29
Çizelge 3.3. , PCR reaksiyon koşulları	29
Çizelge 3.4. , 16S rRNA gen bölgesi dizilemesinde kullanılan oligonükleotid primerler	31
Çizelge 4.1. , Organizmaları kodlamada kullanılan parametreler	32
Çizelge 4.2. , Sediment İzolasyonu ile Sakarya Nehir Kaynağından elde edilen aktinomiset izolatları.....	33
Çizelge 4.3. , 16S rRNA dizilemesi yapılan organizmalar	34
Çizelge 4.4. , <i>Cellulomonas</i> cinsine ait test izolatı ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları.....	39
Çizelge 4.5. , <i>Micromonospora</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları	43
Çizelge 4.6. , <i>Micromonospora</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları	44
Çizelge 4.7. , <i>Micromonospora</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları	47
Çizelge 4.8. , <i>Micromonospora</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları	49
Çizelge 4.9. , <i>Saccharomonospora</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları	52
Çizelge 4.10. , <i>Brevibacillus</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları.....	54
Çizelge 4.11. , <i>Paenibacillus</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları.....	56
Çizelge 4.12. , <i>Microvirga</i> cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları.....	58
Çizelge 4.13. , Test izolatlarının antibakteriyel ve antifungal aktivite sonuçları	60
Çizelge 6.1. , 16S rRNA dizi analizlerine göre olası yeni tür olan izolatlar.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ATCC	American Type Culture Collection
bç	Baz çifti
DDH₂O	Double distile su
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
EDTA	Etilendiamintetra asetat
ISP	International <i>Streptomyces</i> Project
JCM	Japan Collection of Microorganism
NCBI	Uluslararası Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
PCR	Polymerase chain reaction
<i>rpoB</i>	RNA polimeraz β alt ünitesi
<i>gyrB</i>	DNA topoizomerazın β alt ünitesi
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μM	Mikrometre
°C	Santigrat
DAP	Diaminopimelik asit
DDH	DNA-DNA Hibridizasyon
dk	Dakika
g	Gram
M	Molarite
rRNA	Ribozomal RNA
TBE	Tris Borik Asit Edta
TE	Tris Edta
UV	Ultraviyole

Simgeler

%	Yüzde
°	Derece

1. GİRİŞ

Sunulan çalışmada, dilüsyon plaka yöntemi ile gerçekleştirilen izolasyon sonucunda tatlı su sedimentlerinden elde edilen izolatların 16S rRNA dizilemeleri yapılmış ve bu izolatların *Cellulomonas*, *Micromonospora*, *Saccharomonospora*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus* ve *Microvirga* cinslerine ait olduğu belirlenmiştir. Sakarya nehrinin doğduğu lokasyon izolasyon amacıyla seçilmiştir. Aktinomycetales takımı içinde, *Cellulomonas*, *Micromonospora* ve *Saccharomonospora* cins üyelerine mensup 16 izolatın filogenetik ilişkileri belirlenmiştir. *Bacilli* ailesinin üyesi olan ve *Brevibacillus* ile *Paenibacillus* cinslerine ait 4 izolat ve *Methylobacteriaceae* ailesine ait olan *Microvirga* cins üyesi bir izolat elde edilmiştir. Tez kapsamında elde edilen aile ve bu ailelerin üyesi olan cinslerin genel özellikleri ve kullanım olanakları ile ilgili bilgiler giriş ve literatür özeti bölümlerinde verilmiştir.

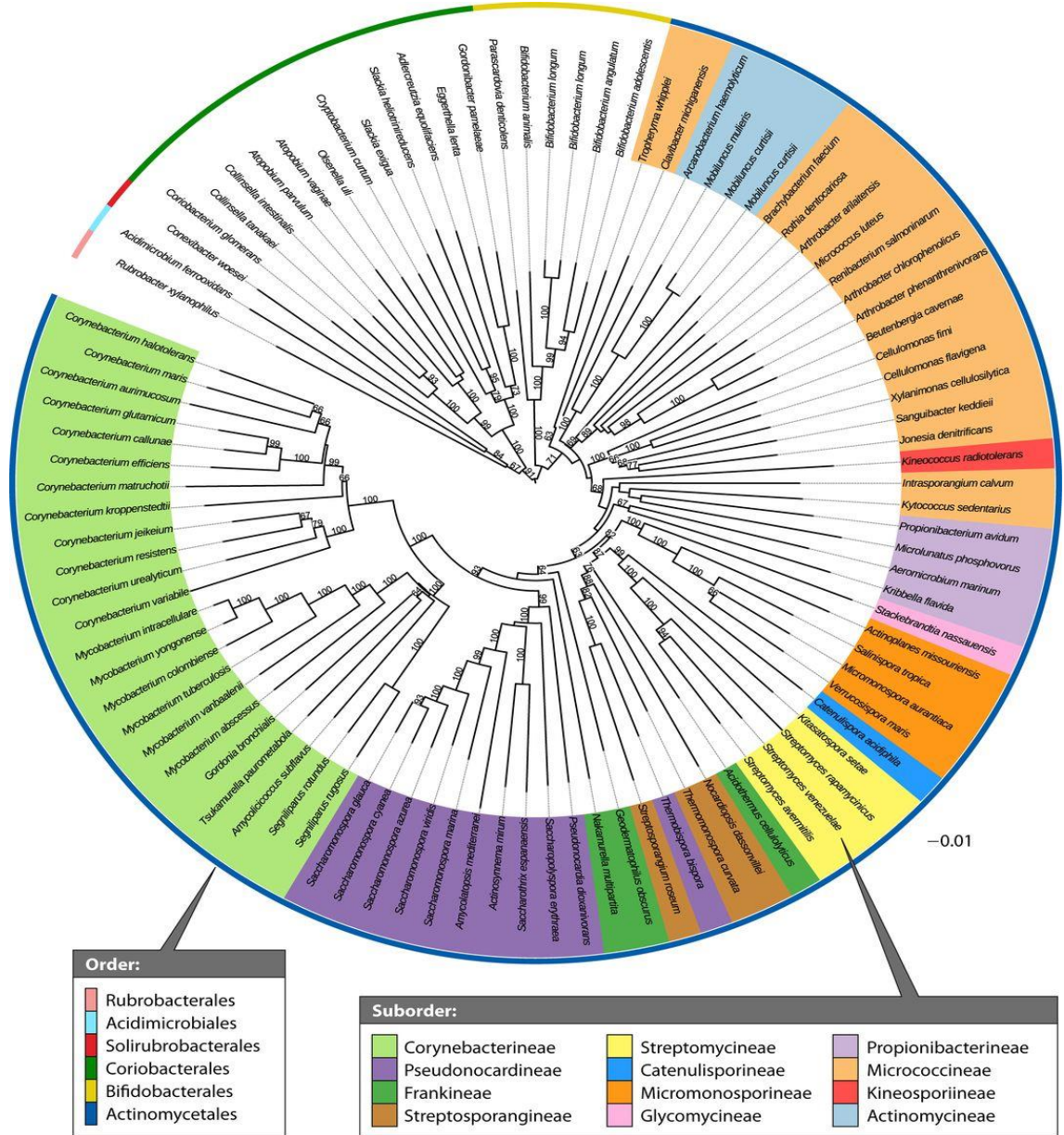
Tez çalışmasında elde edilen 22 izolattan 17'sinin mensup olduğu Aktinomycetales takımının ve bu takım üyesi olan *Cellulomonas*, *Micromonospora* ve *Saccharomonospora* cinslerinin genel özelliklerine kısaca değinilmiştir.

Yunanca aktis ya da aktin (ışın) ve mukos (mantar) terimlerinin bir araya getirilmesiyle adlandırılan aktinomisetler, asit ve düşük pH'a karşı aşırı hassasiyeti olan, özellikle toprak olmak üzere hem karasal hem de su ekosistemlerinde yayılış gösteren mikroorganizmalardır. Birçok farklı farmakolojik ve ticari öneme sahip sekonder metabolitlerin zengin bir kaynağını oluşturan grup üyeleri doğadaki biyodönüşümlerde önemli bir role sahiptir. Ayrıca genomlarında yüksek guanin ve sitozin içeriğine sahip gram pozitif bakterilerdir (Barka, vd., 2016).

Aerobik olan Actinobacteria grup üyelerinde bazı istisnalar da bulunmaktadır. Actinobacteria şubesinde bulunan çoğu üye kemoheterotroftir ve çeşitli kompleks polisakaritler de dahil olmak üzere çok çeşitli beslenme kaynaklarını kullanabilmektedir (Barka, vd., 2016). Aktinomisetler, refrakter biyomalzemeleri, ölü bitkilerdeki ve hayvanlardaki kompleks polimer karışımlarını ve mantar materyallerini parçalayarak organik madde ve karbon döngüsünde kilit rol oynarlar. Bu özellikleriyle biyoremediasyon ve biyodegradasyon süreçlerine dahil olduklarında toprak ve humus oluşumuna büyük katkı sağlarlar. Aktinomisetler aynı zamanda sekonder metabolit üreticisi olup biyoteknoloji, tıp ve tarım alanlarında büyük bir öneme sahiptirler. Günümüzde piyasada kullanılan antibiyotiklerin yaklaşık 2/3'ü aktinomisetler

tarafından üretilmektedir. Yaklaşık 10.000 biyoaktif metabolitin %45'ini Actinobacteria üretmektedir. Özellikle *Streptomyces* cinsi üyeleri, potansiyel uygulamalara sahip yararlı biyoaktif doğal ürünlerin zengin bir kaynağı olduğu için, endüstriyel olarak önemli mikroorganizmalardır. Aktinomisetlerin farklı alanlarda yararları bilinmektedir. Bununla birlikte bazı Actinobacteria üyelerinin bitkiler, hayvanlar ve insanlara karşı olumsuz etkilerinin de olduğu görülmüştür.

Actinobacteria şubesinin taksonomik pozisyonu temelde 16S rRNA analizleri ile belirlenmiştir. Morfolojik, fizyolojik ve metabolik kabiliyetleri bakımından çok büyük farklılık gösteren, bakteri alemi içerisinde 18 önemli alem arasındaki en büyük taksonomik birimden birini temsil eden Actinobacteria şubesinde; *Rubrobacteria*, *Thermoleophilia*, *Coriobacteriia*, *Acidimicrobiia*, *Nitriliruptoria* ve Actinobacteria'yı içeren 6 sınıf, 5 alt sınıf, 6 takım ve 14 alt takım vardır (Barka, vd., 2016), (Şekil 1.1). *Actinomycetales* takımı, *Actinomycetaceae* ailesinin üyeleri ile sınırlı olan Actinobacteria sınıfına aittir. Bu nedenle, Actinobacteria şubesindeki 43 aile Actinobacteria sınıfı içerisinde sınıflandırılırken, diğer 5 sınıf yalnızca 10 aileyi oluşturur (Ludwig, vd., 2012).



Şekil 1.1., Actinobacteria şubesinin 97 adet genom dizisi için genom tabanlı bir filogenetik ağacı (Barka, vd., 2016).

Cellulomonadaceae ailesinde yer alan *Cellulomonas* cinsi ilk olarak 1923 yılında Bergey ve arkadaşları tarafından tanımlanmış sonrasında 1952 yılında Clark tarafından düzenlenmiştir. *Cellulomonas* cinsi, glukozdan asit üreten, aerobik ve selülozu kullanabilen bakterileri içerir. 1952 yılından günümüze konuyla ilgili yapılan çalışmalar bu organizmaların daha ayrıntılı olarak tanımlaması ile ilgili olmuştur. Spesifik sellüloolitik aktiviteye sahip olan *Cellulomonas* cins üyeleri hücre duvarında ornitin varlığı ile karakterizedir. Hücre duvar şekeri olan ramnoz *Cellulomonas* türünün belirlenmesinde kullanılan kemotaksonomik bir belirteç olarak kullanılmaktadır.

Cellulomonas cins üyeleri, büyükbaş hayvan atığı (Sharma ve Hobson, 1985), odun biyokütlesinden (Sleat ve Mah, 1984) ve kentsel ev atıkları (Caillieux, vd., 1992) gibi ekstrem ortamlardan izole edilen türler olmasına rağmen yaygın olarak toprakta bulunmaktadır (Kellerman, vd., 1913; Kauri ve Kushner, 1985; Stackebrandt ve Keddie, 1986).

Micromonospora türleri doğada yaygın olarak bulunan farklı ortamlarda yaşayabilen mikroorganizmalardır. *Micromonospora* cinsi uzun zamandır ilaç için sekonder metabolitlerin önemli bir kaynağı olarak bilinmektedir. Son zamanlarda bitki büyümesini ve gelişimini etkileyebildiği farklı çalışmalar ile gösterilmiştir. (Trujillo, 2010). *Micromonospora* cinsi önemli fizyolojik ve biyokimyasal çeşitlilik sergilemektedir. Kolonileri beyaz, turuncu, gül veya kahverengiden oluşan çeşitli renklerde olabilir. Bu cinsin üyeleri 20°C ila 40°C arasında gelişim gösterirler. *Micromonospora* cinsinin üyeleri genellikle nötr ve alkali topraklardan izole edilebilir (Jensen, 1930; 1932). Bununla birlikte hem tatlı su hem de deniz habitatları dahil olmak üzere su ekosistemlerinde de görülmektedir (Cross, 1981a; Goodfellow ve Haynes, 1984). Göl sedimentlerinde yer alan türler kitin, selüloz ve lignini degrade ettiklerinden, göl ekolojisinde önemli bir rol oynamaktadırlar (Erikson, 1941). Göl sistemlerinde *Micromonospora*'nın varlığı birçok ülkede yapılan araştırmalarla gösterilmiştir ve Cross (1981a, 1981b) tarafından kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Aynı zamanda azot fikse etme yeteneklerinin de olması nedeniyle topraktaki azot miktarını arttırarak bitki gelişimini destekledikleri de bilinmektedir (Trujillo, vd., 2010).

Saccharomonospora cinsi, hücre duvarı tip IV'e (H.A. Lechevalier ve M.P. Lechevalier, 1981) sahip monosporik aktinomisetler için Nonomura ve Ohara (1971) tarafından tanımlanmıştır. *Saccharomonospora* cinsi gram pozitif, aerobik ve kemo-organotroftir. Hava hifleri üzerinde tek veya çiftli sporlar üretir. Sporlar substrat miselyumu üzerinde oluşabilir. Hava miselyumu beyaz, sarı-beyaz, yeşil veya açık-koyu mavi olabilir. Hücre duvarı mezo-diaminopimelik asit (meso-DAP) ve arabinoz ile galaktoz içerir. Mezofilik veya termofilik olabilirler. Büyüme aralıkları 24 °C ile 60 °C arasında ve nötr pH'ta gerçekleşir. Toprakta, göl sedimentlerinde, bataklık topraklarında, turba, gübre, kompost ve aşırı ısınmış yemde bulunurlar.

Sunulan çalışmada izole edilen 4 suşun *Bacilli* ailesinin üyesi olduğu belirlenmiştir. Bu izolatların 16S rRNA dizileme sonuçları ile *Bacilli* ailesi içerisinde

Brevibacillus ile *Paenibacillus* cinsleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. *Bacilli* ailesinin genel özellikleri ile *Brevibacillus* ile *Paenibacillus* cinslerinin genel özelliklerine kısaca değinilmiştir.

Paenibacillaceae ailesi, 16S rRNA dizilerinin filogenetik analizleri temelinde oluşturulmuştur. *Paenibacillus* ile onun yakın akrabalarını içerir. Bu aile iki filogenetik küme arasında dağıtılmaktadır. *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Cohnella* ve *Thermobacillus* monofiletiktir ve ilk grubu temsil eder. İkinci monofiletik grup, *Aneurinibacillus*, *Ammoniphilus* ve *Oxalophagus* cinslerini içerir.

Cins üyeleri genellikle $0,5-1,0 \times 2-6$ µm arasında olan kavisli çubuklardır. Hücre duvar tipi gram pozitif ve mezo-diaminopimelik asit içerirken, hücreler gram negatif, değişken veya pozitif olarak boyanabilir. Şişmiş sporangium içerisinde oval veya elipsoidal endosporlar oluştururlar. Bazı türler hareketsiz olmasına rağmen çoğu üye peritrik flagella ile hareket ederler. Zorunlu aerobik, mikroaerofilik, fakültatif aerobik veya zorunlu anaerobik olabilir. Katalaz pozitif veya negatif olabilir. Organoheterotroflar, karbonhidratları ve amino asitleri kullanarak kompleks ortamlardan faydalanabilirler. Bazı türler tek karbon ve enerji kaynağı olarak sadece oksalik asit kullanır. Mezofilik, termofilik, nötrofilik ve alkalifilik olabilirler. Toprak, kökler, dışkı, kan ve diğer kaynaklardan izole edilebilir. En çok bulunan yağ asitleri arasında $C_{15:0}$ anteiso, $C_{15:0}$ iso, $C_{16:0}$ iso ve $C_{16:0}$ bulunur. Majör izoprenoid kinonları MK-7 veya MK-6'dır. DNA G + C içeriği % 36-59 mol arasındadır (Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology Volume 3, pp. 270).

Brevibacillus cinsi, daha önce *Bacillus brevis* grubuna ayrılan suşların 1996 yılında genetik olarak yeniden sınıflandırılmasıyla oluşturulmuştur. *B. brevis* ilk olarak 1900 yılında Migula tarafından tanımlanmıştır. Daha sonra, 1996 yılında Shida ve arkadaşları tarafından *Brevibacillus* cinsine ait diğer 9 tür ile birlikte yeniden sınıflandırılmıştır. *Brevibacillus* cins üyeleri çeşitli böcek ve hayvanların bağırsakları ile vücut tozları, su ortamları dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda bulunmaktadır (Nicholson, 2002). *Brevibacillus*, çeşitli çevresel habitatlardan kaydedilen gram-pozitif bakterilerin en yaygın cinslerinden biridir. Yüksek büyüme hızı, mekik vektörlerinin mevcudiyeti, hücre dışı proteaz üretimi ve heterolog proteinlerin yapısal ekspresyonu bu cinsin bazı türlerini önemli laboratuvar türleri haline getirmektedir. *Brevibacillus* cinsi, sahip olduğu çeşitli enzimler sayesinde düşük yoğunluklu polietileni biyolojik olarak

bozma kabiliyetine sahip olması, biyo-kontrol ajanı olarak görev yapması ve daha yakın zamanlarda aşırı ekspresyon için biyo-fabrika olarak kullanılması nedenlerinden dolayı biyoteknolojik olarak büyük öneme sahiptir.

Paenibacillus türleri ilk olarak *Bacillus* cinsi içerisinde yer almaktayken *Bacillus* grubuna dahil organizmalarla 1991 de yapılan 16S rRNA gen bölgesine dayalı analizler bu grubu birçok farklı kümeye ayırmıştır. 1993 yılında adlandırılan *Paenibacillus* cinsi bu gruplardan biridir. *Paenibacillus* cinsine ait bakteriler; insanlar, hayvanlar, bitkiler ve çevre ile ilgili olan çeşitli ortamlardan izole edilmiştir. Çoğunlukla bitki kökleri ile ilişkili toprakta bulunurlar. Birçok *Paenibacillus* türü, ilaç veya pestisit olarak yararlı olan antimikrobiyal bileşikler ve biyoremidasyon veya değerli kimyasallar üretmek için kullanılacak enzimler üretir. Bazı türler bal arılarına veya diğer omurgasızlara patojendirler. *Paenibacillus* üyeleri, kutup bölgelerinden tropiklere ve akuatik ortamlardan en kurak çöllere kadar farklı habitatlarda keşfedilmiştir.

Tez çalışması sonucunda elde edilen izolatlardan 1 tanesinin *Methylobacteriaceae* ailesine mensup olan *Microvirga* cins üyesi olduğu belirlenmiştir. *Microvirga* cinsi ve ait olduğu ailenin genel özelliklerine değinilmiştir.

Methylobacteriaceae ailesi, *Rhizobiales* takımı içinde *Alphaproteobacteria*'nın geniş bir ailesini temsil eder. Bu ailenin şu ana kadar *Methylobacterium*, *Microvirga* ve *Meganema* olarak isimlendirilmiş üç cinsi bulunmaktadır. *Methylobacteriaceae* ailesi üyeleri azot ve karbon kaynağı olarak çok çeşitli substratları kullanabilirler. *Methylobacteriaceae* üyeleri 10-45°C sıcaklıklarda gelişim gösterirler fakat optimum gelişim gösterdikleri sıcaklık aralığı 25-35°C'dir. Çoğu pembe pigmentlidir, ortak yağ asidi profilleri gösterirler ve ubiquinon Q-10 içerir. DNA G+C içerikleri aile içerisindeki cinslere göre % 61,5-72,4 arasında değişiklik gösterir. *Methylobacteriaceae* ailesine ait hücreler cinslerine bağlı olarak hareketli ya da hareketsiz olabilir, pembe, turuncu ve krem rengi gibi pigmentler üretebilirler. Ailenin çoğu üyesi zorunlu aerobtur. *Methylobacteriaceae* aile üyelerinin gelişim gösterdikleri ortam çoğunlukla zengin besiyeri ortamlarıdır ve gelişimleri için maya özütünün zorunlu bir kaynak olduğu düşünülmektedir. Aile üyelerinin çoğu %2'den fazla NaCl'yi tölere edemezler. *Methylobacteriaceae* türleri ister doğal ortamda, toprakta ve suda serbest yaşayan organizmalar olarak ya da stres şartlarının bulunduğu endüstriyel alanlarda ve atık

sularda bulunabilir. Bu türlerin klinik ortamlarda, bitkilerin yaprak, gövde ve kök dokularında bulunduğu da belirlenmiştir. Bazı türler bitki yaprağı ve kök nodülü oluşumunu indükler ve böylelikle oksin üretimi gerçekleştirirerek bitki gelişimini destekleyebilir. Bazı türler fırsatçı insan patojenleridir; diğerleri böcek dokularında bulunmuştur. Bazıları, kirleticilerin degradasyonunda önemlidir ve uçak yakıtlarının kirlenmesi gibi ticari sorunlara da neden olabilirler.

Microvirga cinsi, baklagiller ile simbiyotik azot fiksasyonuna girdiği bilinen ve bu ekolojik nişi paylaşan, *Alphaproteobacteria* classının, *Rhizobiales* takımının, *Methylobacteriaceae* ailesine aittir. 2003 yılında Kalso ve Patel'in 16S rRNA gen bölgesi analizi sonucu ortaya çıkan bu cinsin üyeleri; spor oluşturmeyen, gram negatif, besiyerinde açık renk koloniler meydana getiren, optimum gelişimi 35-41°C ve pH: 7.0 olan, gelişimi için yeast ekstraktın şart olduğu mikroorganizmalardır. *Microvirga* cinsi glukoz ve arabinozdan zayıf asit üretebilir. Nitratı nitrite dönüştürebilir ve katalaz üretebilir. G+C içeriği % 60-65 arasındadır.

Tabiatta bulunan mikroorganizmalar endüstride, tarımda ve tıpta farklı amaçlarla kullanılabilirler. Özellikle sekonder metabolitlerden elde edilen antibiyotikler, antifungal ajanlar, antihipertansifler veya antitümör ajanları tıpta kullanılmaktadır. Mikroorganizmalardan elde edilen enzimler, biyopestisitler, büyüme faktörleri tarımda kullanım alanı bulmaktadır. Elde edilen enzimlerin aynı zamanda biyopolisakkaridler, biyoplastikler ve diğer farklı metabolitler olarak endüstride kullanım alanları da mevcuttur. Özellikle farklı sekonder metabolitlerin eldesi amacıyla ekstrem ortamlar tercih edilmektedir. Mikroorganizmalar ekstrem ortamlarda yaşama şanslarını arttırabilmek için sekonder metabolit üretimini arttırmak ve bu ortamlara adapte olmak durumundadır. Dolayısıyla izolasyonda ekstrem ortamların tercih edilmesi farklı kullanım alanlarına sahip mikroorganizmaların elde edilebilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle tez çalışmada, tatlı su sedimenti kullanılmıştır. Sakarya nehri ülkemizin en uzun 3. Nehri olup bir yılda taşıdığı su miktarı 5-6 milyar metreküptür. Nehir kaynağının doğduğu noktadan alınan sedimentlerin pH, sıcaklık ve oksijen miktarındaki değişimler mikrobiyal florayı etkileyebilmektedir. Sakarya Nehri'nin doğduğu yerden toplanan sediment örneklerinin alındığı farklı noktalarda değişik pH değerlerinin gözlenmesi farklı mikrobiyal flora elde edilme olasılığını arttırmaktadır.

Sunulan tezin temel amacı sedimentteki aktinomiset çeşitliliğinin belirlenmesidir. Bununla birlikte sediment örneklerinde bulunan farklı cins üyelerinin de eldesi tezin zenginleştirilmesi açısından hedeflenmiştir. Sedimentteki mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi sucul ortamdaki biyoçeşitliliği tespit edebilmek açısından oldukça önemlidir. Ayrıca sucul ortamdan yapılan izolasyon çalışmalarında ortam koşullarının mikroorganizmaların alındığı habitatlar ile tam örtüşmemesi nedeniyle daha zor olmakta ve istenilen düzeylerde izolat elde edilememektedir. Çalışma sonucunda elde edilen izolatların 16S rRNA moleküler tiplendirmesini gerçekleştirerek hangi cins üyelerinin bu ortamda bulunduğunu belirlemek ve aynı zamanda olası yeni türlerin belirlenmesi ve literatüre kazandırılması hedeflenmiştir. Her yeni tür potansiyel yeni sekonder metabolit üreticisi olarak düşünüldüğünde ekstrem bir ortamdan elde edilen yeni türlerde bu potansiyelinin araştırılması ve antimikrobiyal analizlerle test edilmesi amaçlanmıştır. Böylece tatlı su sedimentlerinden izole edilen suşların biyoteknolojik kullanım olanaklarının belirlenmesi de tezin başlıca hedefleri arasında yer almaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. İzole Edilen Mikroorganizmaların Sistematığı ve Genel Özellikleri

2.1.1 *Cellulomonas* Cinsi Sistematığı ve Genel Özellikleri

Alem: *Bacteria*

Şube: *Actinobacteria* (Cavalier-Smith, 2002)

Altsınıf: *Actinobacteridae* (Stackebrandt, vd., 1997)

Takım: *Actinomycetales* (Buchanan, 1917)

Aile: *Cellulomonadaceae* (Stackebrandt ve Prauser, 1991)

Cins: *Cellulomonas* (Bergey, vd., 1923)

Cellulomonas cinsi ilk olarak Bergey ve arkadaşları (1923) tarafından tanımlanmıştır daha sonra Clark (1952) ve Stackebrandt ve diğerleri (2006) tarafından düzenlenmiştir.

Cellulomonas cinsinin yakın zamanda tanımlanmış olan *C. phragmiteti* (Rusznayk, vd., 2011), *C. carbonis* (Shi, vd., 2012), *C. oligotrophica* (Hatayama, vd., 2013), *C. marina* (Zhang, vd., 2013), *C. soli* (Hatayama, vd., 2013), *C. pakistanensis* (Ahmed, vd., 2014) türleri de dahil olmak üzere toplam 28 tanımlanmış türü vardır (<http://www.bacterio.cict.fr/p/cellulomonas.html>)

Cellulomonas cinsinin türleri çoğunlukla topraktan izole edilmiştir (Collins ve Pascual, 2000; Elberson, vd., 2000; An, vd., 2005). Diğerleri komposttan (Kang, vd., 2007; Yoon, vd., 2008), kandan (Brown, vd., 2005), beyin omurilik sıvısından (Funke, vd., 1995), çürümüş karaağaçtan (Rivas, vd., 2004), sedimentten (Jones, vd., 2005), havadan (Lee, vd., 2008) ve kamış perifitonundan (Rusznayk, vd., 2011) izole edilmiştir.

Cellulomonas cinsi üyelerinin tipik özellikleri, gram pozitif, selüolitik aktiviteye sahip ince düzensiz çubuk şeklinde, ana solunumsal kinon olarak menakinon MK-9 (H4)'u içeren, başlıca yağlı asitleri olarak anteiso-C_{15:0} ve C_{16:0} 'ya sahip olan ve DNA G+C içeriği % 68.5–76.0 mol % olan mikroorganizmalardır. *Cellulomonas* cinsinin diğer tanısal özellikleri arasında *C. gelida*, *C. uda*, *C. composti* (Kang, vd., 2007) ve *C. aerilata* hariç, suşların çoğunda ana hücre duvarı şekeri olarak rhamnoz (Rha) bulunur (Lee, vd., 2008). Ornitinin peptidoglikanın peptit alt biriminin 3. pozisyonundaki tanısal diamino asidi, ya D-aspartik asit (*C. flavigena*, *C. persica*, *C.*

bogoriensis, *C. iranensis* ve *C. phragmiteti* için) yada D-glutamik asittir (diğer 13 tür için) (Stackebrandt, vd., 2006). Polar lipidler, *Cellulomonas* cinsinin tanımlanmasında özellikle altı tür için ayırimsal gücü yüksek bir belirteç olarak bildirilmiştir. Bunlar *C. aerilata* ve *C. chitinilytica* için difosfatidilgliserol (DPG) ve fosfatidilgliserol (PG), *C. bogoriensis* için PG ve DPG, *C. komposti* için fosfatidilinositol (PI) ve fosfatidiletanolamin (PE), *C. flavigena* için DPG ve PI ve *C. terrae* için DPG, PG, PI, PE 'dir.

Cellulomonadaceae'de tespit edilen çok çeşitli hidrolitik nişasta, ksilan ve selüloz parçalayıcı enzimlerden, selülazlar en göze çarpanlardır. Karşılaştırmalı bir çalışmada, filtre kağıdı için *C. biazotea*'nın en yüksek selülaz ve endo-glukanaz aktivitesi gösterdiği, ardından *C. flavigena*, *C. cellasea* ve *C. fimi*'nin aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Rajoka ve Malik, 1997). Bununla birlikte, selülaz ve ksilanaz genleri üzerindeki moleküler çalışmanın çoğu *C. fimi* ile belirlenmiştir. Diğer selüloz ve hemiselülozu degrede eden organizmalar gibi *Cellulomonas* suşları; atık bertarafı (Ramasamy, vd., 1981; Dunlap ve Callihan, 1974), keten ve sisal liflerinin kompostlanması (Lednicka, vd., 2000), küspe (Richard ve Peiris, 1981), şeker kamışı yaprakları (Diaz ve Guirola, 1983; Richard ve Peiris, 1981; Rajoka ve Malik, 1986), kurutulmuş hurma yağı değirmeni atıkları (Agamuthu ve Tan, 1985) ve parçalanmış gazetelerin geri dönüşümünde (Rapp, vd., 1984) önemli rol oynayan ve hatta düşük maliyetli substratlardan kimyasalların üretimi için potansiyel adaylar olarak kabul edilirler.

C. flavigena HR5 suşu, Güney Kore'de 4-klorobenzoat ile kontamine olmuş tarım topraklarından izole edilmiştir. Bu plazmid taşıyıcı suş; 4-bromobenzoik asit, benzoik asit ve 4-iyodobenzoik asiti kullanabilmiş ancak 3-klorobenzoik asit ve 2,4-diklorofenoksiasetik asit kullanamamıştır (Yi, vd., 2000). *Cellulomonas sp.* ES6 suşu ile yapılan bir deneyde, suşun yeraltında sürekli besin kaynağı olmaksızın Cr (VI) ve Fe (III) 'i indirgediği gözlemlenmiştir. *Cellulomonas sp.* ES6 suşu kullanılarak geçirgen reaktif biyobariyer oluşumu yoluyla Cr (VI) ile kirlenmiş yeraltı sularının bulunduğu yerde temizlenip geri kazanılması için uygun ve ekonomik bir alternatif teknoloji sunulmuştur (Viamajala, vd., 2008).

2.1.2 *Micromonospora* Cinsi Sistematığı ve Genel Özellikleri

Alem: *Bacteria*

Şube: *Actinobacteria* (Cavalier-Smith, 2002)

Altsınıf: *Actinobacteridae* (Stackebrandt, vd., 1997)

Takım: *Actinomycetales* (Buchanan, 1917)

Aile: *Micromonosporaceae* (Krasil'nikov, 1938)

Cins: *Micromonospora* (Oerskov, 1923)

Ørskov (1923) tarafından önerilen *Micromonospora*, *Micromonosporaceae* ailesinin cinsidir ve sekonder metabolitlerin önemli bir kaynağı olarak kabul edilir (Berdy, 2005).

Bu cinsin ilk türü olan *Micromonospora chalcea*, 1905'te Foulerton tarafından izole edilmiştir ve *Streptothrix chalcea* olarak adlandırılmıştır. *Micromonospora* cinsi, yakın zamanda tanımlanmış *M. spongicola* (Supong, vd., 2013), *M. jinlongensis* (Gao, vd., 2014), *M. zae* (Shen, vd., 2014), *M. maoerensis* (Li, vd., 2014), *M. endophytica* (Thanaboripat, vd., 2015), *M. nikeliduranlar* (Lin, vd., 2015), *M. zhanjiangensis* (Zhang, vd., 2015), *M. mangrovi* (Xie, vd., 2016), *M. noduli* (Carro, vd., 2016), *M. parathelypteridis* (Zhao, vd., 2017), *M. globbae* (Kuncharoen, vd., 2018) türleride dahil olmak üzere, 84 türden ve 7 alttürden oluşmaktadır (<http://www.bacterio.cict.fr/p/micromonospora.html>)

Micromonospora cinsine ait türler, gram-pozitif, aerobik-mikroaerofilik, kemoorganotropik bakterilerdir. Çoğu suş aerobiktir, fakat bazıları mikroaerofilik koşullar altında büyüyebilir. *Micromonospora* cinsinin pH 5.0'den düşük ve pH 9.5'den yüksek ortamlara hassasiyetleri vardır ve optimum büyüme sıcaklığı 20 ile 40 °C arasındadır. NaCl toleransları % 1.5 ila % 5 (w / v) arasında değişir. Çeşitli suşları, karotenoid miselyum pigmentleri üretirler ve sonuçta sarı, kırmızı, turuncu, kahverengi, mor veya siyah koloniler oluşur.

Micromonospora cinsi, gerçek bir hava miselyumunun yokluğu ve substrat miselyumunda tek başına olan sporları ile karakterizedir. İsminden de anlaşılacağı gibi bu cins, doğrudan substrat miselyumuna bağlı veya kısa sporoplar üzerinde taşınan tek sporlar üretir. *Micromonospora*'nın hücre duvarı, mezo-diaminopimelik asit ve/veya 3-OH-diaminopimelik asit içerir. Ana fosfolipitleri; fosfatidiletanolamin,

fosfatidilinositol ve fosfatidilinositol mannosidlerdir (Genilloud, 2012; Trujillo, vd., 2014).

Micromonospora cinsine ait suşlar toprak, su, kumtaşı ve kök nodülleri gibi farklı ortamlarda yaygın olarak dağılır (Hirsch, vd., 2004; Kawamoto, 1989; Trujillo vd., 2005, 2006; Ara ve Kudo, 2007). Cins üyelerinin mangrov bölgelerinde yüksek popülasyonda bulunduğu bildirilmiştir (Hong, vd., 2009). *Micromonospora* cinsinin, son zamanlarda mangrov örneklerinden izole edilmiş, izolasyonu ve tanımlanması yapılmış 8 türü mevcuttur (Huang, vd., 2008; Thawai, vd., 2008; Wang, vd., 2011; Songsumanus, vd., 2013; Xie, vd., 2012a; Li, vd., 2013a, b; Ren, vd., 2013).

Micromonospora cinsi azot fikse etme özelliğine sahip olan *Frankia* cinsi ile yakından ilişkilidir. Birçok çalışmada *Frankia* üyelerinin azot fikse etme özellikleri ve bitki gelişimi üzerine etkileri belirlenmiştir. Aynı zamanda bu özellikleri *nifH* gen bölgesinin varlığıyla da desteklenmiştir. *Micromonospora* cins üyelerinin de bitki kök nodüllerinde sıkça rastlandığı ve *Frankia* gibi azot fikse etme yeteneklerine de sahip olduğu farklı çalışmalarda belirlenmiştir (Trujillo, 2010).

Micromonospora cinsinin alkaloidler, benzen türevleri, siklopentenon türevleri, dilaktonlar, makrolidler, 2-piranonlar ve seskiterpenleri içeren potansiyel yeni antibiyotikler, antitümör ve antiviral ajanlar, anti-fibrotik maddeler ve antioksidanlar üretebilme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir (Hong, vd., 2009; Xu, vd., 2014; Azman, vd., 2015).

1947 yılında toprak izolatu olan *Micromonospora* sp.'den elde edilen antibakteriyel aktiviteye sahip ilk antibiyotik mikromonosporindir (Zhang, vd., 2015). *Micromonospora* cinsinden elde edilen sekonder metabolitlerin çoğu antibakteriyel aktiviteye sahip olmasına rağmen, antikanser aktiviteye sahip levantilide-c (Peng, vd., 2013), antiviral aktiviteye sahip megalomisin (Mallams, 1969; Mallams, vd., 1969; Jaret, vd., 1973), antifungal aktiviteye sahip streptimidon Ao58A (Kim, vd., 1999), sitostatik aktiviteye sahip MBJ-0003 (Kawahara, vd., 2014) gibi metabolitlerde mevcuttur. Yakın zamanda su ortamından izole edilen *Micromonospora* sp.'den juvenimisin C antibiyotiğinin eldesi de bildirilmiştir (Carlson, vd., 2013).

2.1.3 *Saccharomonospora* Cinsi Sistematığı ve Genel Özellikleri

Alem: *Bacteria*

Şube: *Actinobacteria* (Cavalier-Smith, 2002)

Altsınıf: *Actinobacteridae* (Stackebrandt, vd., 1997)

Takım: *Actinomycetales* (Buchanan, 1917)

Aile: *Pseudonocardiaceae* (Embley, vd., 1989)

Cins: *Saccharomonospora* (Nonomura ve Ohara, 1971)

Pseudonocardiaceae ailesine ait olan *Saccharomonospora* cinsi, Nonomura ve Ohara (1971) tarafından önerilmiştir. *Saccharomonospora* cinsinin bilinen 14 türü mevcuttur (<http://www.bacterio.cict.fr/p/saccharomonospora.html>)

Saccharomonospora cinsi; gram pozitif, asit fast olmayan, hava hifleri üzerinde çoğu zaman tek sporlar üreten, kemoorganotrof, aerobik, pH'ı 7-10 ve sıcaklığı 35-50 °C aralığında optimal olarak gelişen, karbon kaynağı olarak gliserolü kullanabilen, kazein, jelatin, nişasta, ksilan ve tirozini degrede edebilen, katalaz, deaminoaz ve fosfataz üretebilen, G+C içeriği % 69-74 mol olan organizmalardır. Aynı zamanda *Saccharomonospora* cinsi, bütün hücre hidrolizatında mezo-diaminopimelik asit bulunan, karakteristik hücre şekeri olarak arabinoz ve galaktoz içeren (Lechevalier ve Lechevalier, 1970), ana menakinon olarak MK-8(H4) ve MK-9(H4)'u içeren, ana fosfolipidler olarak fosfatidiletanolamin, hidroksi-fosfatidiletanolamin ve lizo-fosfatidiletanolamini içeren bir dizi kimyasal belirteç ile karakterize edilir (Kroppenstedt, 1985; Embley, vd., 1985; Greiner-Mai, vd., 1987; Al-Zarban, vd., 2002; Li, vd., 2003; Syed, vd., 2008; Liu, vd., 2010). Ayrıca *Saccharomonospora* cinsi için, fosfatidiletanolamin baskın bir fosfolipiddir fakat diğer fosfolipitler cinsin türlerine göre değişebilir. Örneğin *Saccharomonospora xinjiangensis* (Jin, vd., 1998), fosfatidiletanolamin, fosfatidilkolin ve bilinmeyen fosfoglikolipidlere sahiptir, *Saccharomonospora oceani* (Zhang, vd., 2013) ise difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol, fosfatidilinozitol mannosid, fosfatidilinositol, fosfatidilmetiletanolamin ve fosfatidiletanolamine sahiptir.

Saccharomonospora cinsi üyeleri; kompost, gübre, aşırı ısınmış yemler, göl sedimentleri ve turbalardan izole edilmişlerdir.

Saccharomonospora cinsi üyelerinden elde edilen metabolitler biyoteknolojinin farklı alanlarında kullanılmaktadır. Lodopiridon, deniz aktinomiseti

Saccharomonospora sp.'den elde edilen bir antikanser ajanıdır (Maloney, vd., 2009) Kuveyt'ten izole edilen *Saccharomonospora halophila*, yüksek tuz konsantrasyonu altında çok daha iyi keratinolitik aktivite göstermiştir (Zarban, vd., 2002). Alkalin proteazlar *Saccharomonospora viridis* gibi bazı Actinobacteria üyeleri tarafından üretilir (Jani, vd., 2012). *Saccharomonospora viridis*, *Saccharomonospora glauca*, *Saccharomonospora caesia* ve *Saccharomonospora internatus*'ın gram-pozitif bakterilere karşı etkili antibiyotikler ürettiği bilinmektedir (Greiner-Mai, vd., 1988). *Saccharomonospora viridis*, termoviridin antibiyotiğini üretir (Schuurmans, vd., 1956). Birçok *Saccharomonospora*, proteinleri, nişastayı, mantar kompostunu, pirinç samanını, sentetik gıda atık kompostunu ve poliesteri degrede edebilen enzimler üretir (Abdulla ve El-Shatoury 2007; Collins, vd., 1992, Dolashka, vd., 1998, Song, vd., 2001; Tseng, vd., 2007).

Aynı zamanda *Saccharomonospora viridis*'in, çiftçi akciğer hastalığı da dahil olmak üzere, hipersensitivite pnömonisinin nedensel ajanlarından biri olabileceği çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir (Greene, vd., 1981; Harvey, vd., 2001; Roberts, vd., 1976; Treuhaft, vd., 1980; Wenzel, vd., 1974).

2.1.4 *Brevibacillus* Cinsi Sistematığı ve Genel Özellikleri

Alem: *Bacteria*

Şube: *Firmicutes* (Gibbons ve Murray, 1978)

Sınıf: *Bacilli* (Ludwig, vd., 2010)

Takım: *Bacillales* (Prévot, 1953)

Aile: *Paenibacillaceae* (De Vos, vd., 2010)

Cins: *Brevibacillus* (Shida, vd., 1996)

Bacillus brevis ilk olarak 1900 yılında (Migula, 1900) tanımlanmış ve 16S rRNA analizleri sonucunda yeni bir cins olduğu anlaşılan *Brevibacillus*, *Bacillus* cinsi içindeki diğer dokuz türü ile birlikte yeniden sınıflandırılmıştır (Shida, vd., 1996). Çoğu *Brevibacillus* suşu, toprak gibi doğal ortamlardan izole edilmiştir (Logan ve De Vos, 2009) *Brevibacillus* cinsi, geçerli olarak yayınlanmış adlara sahip 23 türden oluşmaktadır.

Yakın zamanda *Brevibacillus* cinsine, *Brevibacillus aydinogluensis* (Inan, vd., 2012) ve *Brevibacillus nitrificans* (Takebe, vd., 2012), *Brevibacillus massiliensis* (Hugon, vd., 2013), *Brevibacillus fulvus* (Hatayama, vd., 2014),

Brevibacillus gelatini (Inan, vd., 2016), *Brevibacillus sediminis* (Xian, vd., 2016), *Brevibacillus halotolerans* (Song, vd., 2017) olmak üzere 7 yeni tür daha eklenmiştir (<http://www.bacterio.net/brevibacillus.html>).

Brevibacillus cinsi üyelerinin hücreleri gram pozitif hareketli çubuklardır (Logan ve De Vos, 2009). Elipsoidal endospor oluştururlar ve sporangiayı şişirirler. *Brevibacillus* cinsinin çoğu türü, aerobik olarak nütrient agar gibi rutin ortamlarda yetişir ve düz, pürüzsüz, sarımsı-gri koloniler üretir. Sadece *Brevibacillus thermoruber* kırmızı bir pigment üretir (Manachini, vd., 1985). *Brevibacillus* cinsinin ana menakinonu, MK-7'dir. Başlıca hücresel yağ asitleri anteiso-C_{15:0} ve iso-C_{15:0}'dur ve DNA G + C içeriği % 40.2 ila % 57.4 arasında değişmektedir (Logan ve De Vos, 2009). Genel olarak, *Brevibacillus* cinsinin üyelerinin fenotipik karakterlerinin (karbonhidratlardan asit üretimi gibi) belirlenmesi kolay değildir (Logan ve De Vos, 2009). Bu nedenle, cinsin çoğu türünün rutin fenotipik testlere dayanarak birbirinden ayırt edilmesi zordur. Amplifiye rRNA restriksiyon analizi gibi moleküler analizlerde bile, tüm türler arasında ayırım yapmak her zaman kolay değildir (Logan, vd., 2002). Bununla birlikte, *Brevibacillus*'un hızlı ve rahat tanımlanması ve gruplandırılması için son zamanlarda kullanılan hiper değişken (HV) bölge dizisi güçlü bir indekstir (Goto, vd., 2004). *Brevibacillus* cinsinde, HV bölgesi dizisi bu tür içinde yüksek oranda korunmuştur. Böylece HV bölgesinin sekans karşılaştırmalarıyla *Brevibacillus* cinsinin türlerinin tanımlanması ve gruplandırılması sağlanmıştır (Goto, vd., 2004; Allan, vd., 2005).

Brevibacillus cinsi, heterotrofik veya ototrofik büyüme için çeşitli karbon kaynaklarını kullanan çok çeşitli termofilik, psikrofilik, asidofilik, alkalofilik ve halofilik suşları içerir. *Brevibacillus*'un habitatı *Bacillus* ile örtüşmekte ve çeşitli böcek ve hayvanların bağırsakları ile onların vücut tozları ve su ortamları dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda bulunmaktadır (Nicholson, 2002).

Biyolojik önemi olan *Brevibacillus*'un çeşitli üyeleri vardır. Örneğin, larvisidal aktiviteye sahip *B. laterosporus* suşları veya insan enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiş *B. agri*, *B. brevis* ve *B. laterosporus* suşları biyolojik önem taşır. *B. brevis*'in bir suşu antimikrobiyal üretiminden dolayı bitki patojenlerinin biyokontrolü için çalışılmıştır (Edwards ve Seddon, 2001). *B. choshinensis* HPD31 suşu, rekombinant insan epidermal büyüme faktörünün etkili bir üreticisidir (Miyachi, vd., 1999). *Escherichia coli*'nin

aksine *B. brevis* 47-5Q, Tris-polietilen glikol yöntemi veya elektroporasyon yöntemiyle daha yüksek transformasyon verimi gösterir (Udaka ve Yamagata 1993).

Polietilen güvenli bir şekilde ayrışması zor olan polimerlerden biridir. Polietilenin biyodegradasyonu birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. (Zahra, vd., 2010; Mumtaz, vd., 2010; Pramila ve Vijaya, 2011). *B. parabrevis* tarafından düşük yoğunluklu polietilenin biyodegradasyonu incelenmiştir (Pramila, vd., 2012) ve düşük yoğunluklu polietilenin, *B. parabrevis* için bir substrat olarak hareket edebileceği gösterilmiştir.

B. laterosporus bakterisi, *Lepidoptera*'dan *Coleoptera*'ya kadar çok sayıda insektine karşı etkili biyokontrol ajanları olarak görev yapar (Oliveira, vd., 2004) ve ekstraselüler nötral proteaz üretme kapasiteleri nedeniyle nematod kontrolü için de kullanılabilirler (Baoyu, vd., 2006). Hassi ve arkadaşları (2012) ayrıca *B. laterosporus* suşunun antimikobakteriyel aktivitesini de rapor etmiştir. *Brevibacillus*'un, bitki hastalıklarını, biyokontrol ajanları olarak kontrol edebilen antifungal aktiviteye sahip çok çeşitli metabolitleri üretebildiği bildirilmiştir (Sunita, vd., 2010).

2.1.5 *Paenibacillus* Cinsi Sistematığı ve Genel Özellikleri

Alem: *Bacteria*

Şube: *Firmicutes* (Gibbons ve Murray, 1978)

Sınıf: *Bacilli* (Ludwig, vd., 2010)

Takım: *Bacillales* (Prévot, 1953)

Aile: *Paenibacillaceae* (De Vos, vd., 2010)

Cins: *Paenibacillus* (Ash, vd., 1994; Shida, vd., 1997; Behrendt, vd., 2010)

Paenibacillus ismi, 'neredeysel' anlamına gelen ve Latince bir zarf olan 'paene' ve *Bacillus* kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşmuştur. *Paenibacillus* cinsi, Ash ve arkadaşları (1993) tarafından 16S rRNA gen dizisi analizi ile *Bacillus* cinsinden ayrılarak oluşturulmuş ve 1994 yılında yayınlanmıştır. *Paenibacillus* cinsi Shida ve arkadaşları (1997) tarafından tekrar düzenlenmiştir. *Paenibacillus polymyxa* (Ash, vd., 1993, 1994) 2005 yılında cinsin tip türü olarak kabul edilmiştir. *Paenibacillus* cinsi, 239 tür ve 4 alttür içermektedir (<http://www.bacterio.cict.fr/p/paenibacillus.html>).

Bu cinse ait türler çoğunlukla aerobik veya fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde, endospor oluşturan bakterilerdir. *Paenibacillus* cinsi, ana hücresel yağ asidi olarak

anteiso-C_{15:0}'a sahiptir ve % 39-54 mol aralığında genomik DNA G+C içeriğine sahiptir (Shida, vd., 1997; Montes, vd., 2004; Takeda vd., 2005).

Paenibacillus üyeleri, kutup bölgelerinden tropiklere ve akuatik ortamlardan en kurak çöllere kadar farklı habitatlarda keşfedilmiştir. *Paenibacillus* cinsine ait bakteriler; insanlar, hayvanlar, bitkiler ve çevre ile ilgili olan çeşitli ortamlardan izole edilmiştir. Sıcak su kaynakları (Saha, vd., 2005; Chou, vd., 2007), yiyecek (Berge, vd., 2002), inek dışkısı (Velazquez, vd., 2004), Antarktika sedimentleri (Montes, vd., 2004), fillofer (Rivas, vd., 2005, 2006; Valverde, vd., 2008), alkali toprak (Yoon, vd., 2005), Pu'er çayı (Kim, vd., 2009), rizosfer (Daane, vd., 2002; Kuisiene, vd., 2008), böcekler (Park, vd., 2009), insan kanı (Ko, vd., 2008; Roux ve Raoult, 2004) ve insan beyin omurilik sıvısı (Roux, vd., 2008) gibi klinik örneklerden izole edilmiştir. Çoğunlukla bitki kökleri ile ilişkili toprakta bulunan bu bakteriler, bitki gelişimini destekler ve tarımda kullanım için faydalanılabilir.

Birçok *Paenibacillus* türü, ilaç veya pestisitler olarak yararlı olan antimikrobiyal bileşikler ve biyoremidasyon veya değerli kimyasallar üretmek için kullanılacak birçok enzim üretir. Bazı türler bal arılarına veya diğer omurgasızlara patojendir. Diğerleri ise ara sıra insanları enfekte eden fırsatçılardır. Farklı özelliklerine uygun olarak *Paenibacillus* üyeleri, kutup bölgelerinden tropiklere ve akuatik ortamlardan en kurak çöllere kadar farklı habitatlarda keşfedilmiştir.

Paenibacillus cinsi, mısır (Sheela ve Usharani, 2013), söğüt (Han, vd., 2014), kabak (Fürnkranz, vd., 2012), pirinç (de Souza, vd., 2014), dallı darı (Ker, vd., 2014) ve diğerleri gibi bitkilerin büyümesini teşvik ettiği bilinen birçok tür içerir. Bitki ile ilişkili *Paenibacillus* türleri, bitki kökleri tarafından alınabilecek şekilde formüle dönüştürülebilen indol-3-asetik asit (IAA) ve diğer oksin fitohormonları üreterek bitki büyümesini doğrudan etkileyebilir ve bazı türler de atmosferik azotu kullanılabilir hale getirebilir (Weselowski, vd., 2016). Ticari amaçlı mikro gübrelemelerde *P. macerans* dahil olmak üzere bazı bitki büyümesini destekleyen bakteriler kullanılırken, kullanımları şu anda sınırlıdır.

Paenibacillus türlerinin belki de en dikkate değer bitki büyümesi teşvik edici özelliği, sayısız biyokontrol kabiliyetlerinden gelmektedir. *Paenibacillus* üyeleri bitkinin kendi direnç mekanizmalarını indükleyerek veya biyosidal maddeler üreterek çeşitli fitopatogenleri ve otçül böcekleri nötralize edebilmektedirler. *P. polymyxa*'nın

karnabahar (Pichard ve Thouvenot, 1999), bezelye (Wakelin, vd., 2002), ginseng (Jeon, vd., 2003), salatalık (Yang, vd., 2004), nohut (Akhtar ve Siddiqui, 2007), yer fıstığı (Haggag, 2007), soya fasulyesi (Zhou, vd., 2008), biber (Phi, vd., 2010) ve daha birçok bitkide koruma sağladığı gösterilmiştir. Biyokontrol özelliklerine sahip diğer *Paenibacillus* türleri *P. alvei* (Antonopoulos, vd., 2008), *P. brasiliensis* (Von Der Weid, vd., 2005), *P. dendritiformis* (Lapidot, vd., 2014), *P. ehimensis* (Naing, vd., 2014), *P. elgii* (Lo Presti, vd., 2015), *P. kobensis* (Martin, vd., 2003), *P. lentimorbus* (Bae, vd., 2004), *P. macerans* (Gulati, vd., 2001), *P. peoriae* (Jung, vd., 2012) ve *P. thiaminolyticus* 'dur (Huang ve Yousef, 2014).

Paenibacillus türlerinin kınkanatlılar (Sharma, vd., 2013) ve pulkanatlılar (Neung, vd., 2014) gibi zararlı böceklerinin larvalarını öldürdüğü gösterilmiştir. Japon böceği *Popillia japonica*'nın larvalarını enfekte eden *Paenibacillus popilliae*, ABD'de bir böceğe karşı kullanılmak üzere kayıtlı ilk mikrobiyal kontrol ajanıdır. *Paenibacillus* tarafından üretilen kitinaz enzimi, böceklerin dış iskeleti ve bağırsak ligninlerinin yapısal bir polisakkariti olan kitini hidroliz eder.

Çeşitli antimikrobiyal ajanlara ek olarak, *Paenibacillus* tıpta ve diş hekimliğinde yararlı olabilecek başka bileşikler üretmektedirler. Ekzo-polisakkaritleri (EPS) antioksidan ve anti-tümör özelliklere sahipken, mutanaz enzimleri dış çürümelerini azaltmaya yardımcı olabilmektedir. Örneğin, *P. polymyxa* SQR-21 ve *P. polymyxa* EJS-3'ten üretilen EPS'ler süperoksit süpürücü aktiviteye sahiptir ve lipit peroksidi inhibe eder (Liang ve Wang, 2015; Liu, vd., 2012). Bu EPS'lerin bazılarının farelerin karaciğerlerinde oksidatif stresi azalttığı ve mide kanseri hücrelerinin in vitro büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Liu, vd., 2012).

P. jamilae, *P. macerans*, *P. polymyxa* ve *P. validus* suşlarının, ağır metal iyonları veya asit boyalarının biyoflokulasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir. *P. elgii* B69, geniş bir pH aralığında ağır metal iyonları, boyalar ve kaolin kili dahil olmak üzere birçok kirletici maddeyi kaldırabilen bir ekzopolisakkarit (EPS) biyoflokülant üretmektedir (Li, vd., 2013).

2.1.6 *Microvirga* Cinsi Sistematığı ve Genel Özellikleri

Alem: *Bacteria*

Şube: *Proteobacteria* (Garrity, vd., 2005)

Sınıf: *Alphaproteobacteria* (Garrity, vd., 2006)

Takım: *Rhizobiales* (Kuykendall, 2006)

Aile: *Methylobacteriaceae* (Garrity, vd., 2006)

Cins: *Microvirga* (Kanso ve Patel, 2003)

Microvirga cinsi ilk olarak Kanso ve Patel (2003) tarafından tanımlanmış ve Zhang ve arkadaşları (2009), Weon ve arkadaşları (2010) ve Ardley ve arkadaşları (2012) tarafından düzenlenmiş ve tarif edilmiştir. *Microvirga* cinsi; *Proteobacteria* şubesinin (Garrity, 2005; Stackebrandt, 1988), *Alphaproteobacteria* sınıfının, *Methylobacteriaceae* ailesine aittir. Cinsin tanımlanan ilk türü, *Microvirga subterranea*'dır (Kanso ve Patel, 2003).

Microvirga cinsi üyeleri; zorunlu aerobik, gram-negatif, spor oluşturmeyen, açık pembe koloniler üreten, nitratı nitrite indirgeyen, katalaz-pozitif, DNA G+C içeriği yaklaşık % 61.5-64.3 mol olan, ve baskın izoprenoid kinon Q-10 (Kanso ve Patel, 2003; Zhang, vd., 2009; Weon, vd., 2010; Ardley, vd., 2012; Radl, vd., 2014) olan, optimum büyümeleri için maya özütüne mutlak ihtiyaç duyan, pH 7.0'de ve 41 °C sıcaklıkta optimum gelişim gösteren hareketli ve çubuk şeklindeki bakterilerdir.

Microvirga cinsi, son yıllarda tanımlanan *M. aerilata* (Weon, vd., 2010), *M. aerophila* (Weon, vd., 2010), *M. arabica* (Veyisoglu, vd., 2017), *M. lupini* (Ardley, vd., 2012), *M. zambiensis* (Ardley, vd., 2012), *M. lotononidis* (Ardley, vd., 2012), *M. vignae* (Radl, vd., 2014), *M. massiliensis* (Caputo, vd., 2016), *M. indica* (Tapase, vd., 2017), *M. makkahensis* (Veyisoglu, vd., 2017), *M. ossetica* (Safronova, vd., 2017), *M. pakistanensis* (Amin, vd., 2017), *M. soli* (Dahal ve Kim, 2017) türleri dahil olmak üzere toplam 16 türden oluşmaktadır (<http://www.bacterio.cict.fr/p/microvirga.html>)

Microvirga üyeleri; Japon kaplıcaları (Takeda, vd., 2004), Avustralya jeotermal suları (Kanso ve Patel, 2003), Çin pirinç tarla toprağı (Zhang, vd., 2009), Kore atmosferik örnekleri (Weon, vd., 2010), yarı kurak Brezilya'da yetiştirilen börülce (Radl, vd., 2014), Teksas'da *Lupinus texensis* (acı bakla) kök nodülü gibi (Ardley, vd., 2012) çeşitli habitatlardan izole edilmiştir. Son zamanlarda, *Microvirga massiliensis* sp.

nov., Senegal'de toplanan bir dışkı örneğinden Marsilya'da izole edilmiş ve en büyük genom ile insan komünaline sahip olmuştur (Caputo, vd., 2016).

2.2 Prokaryotik Taksonomi

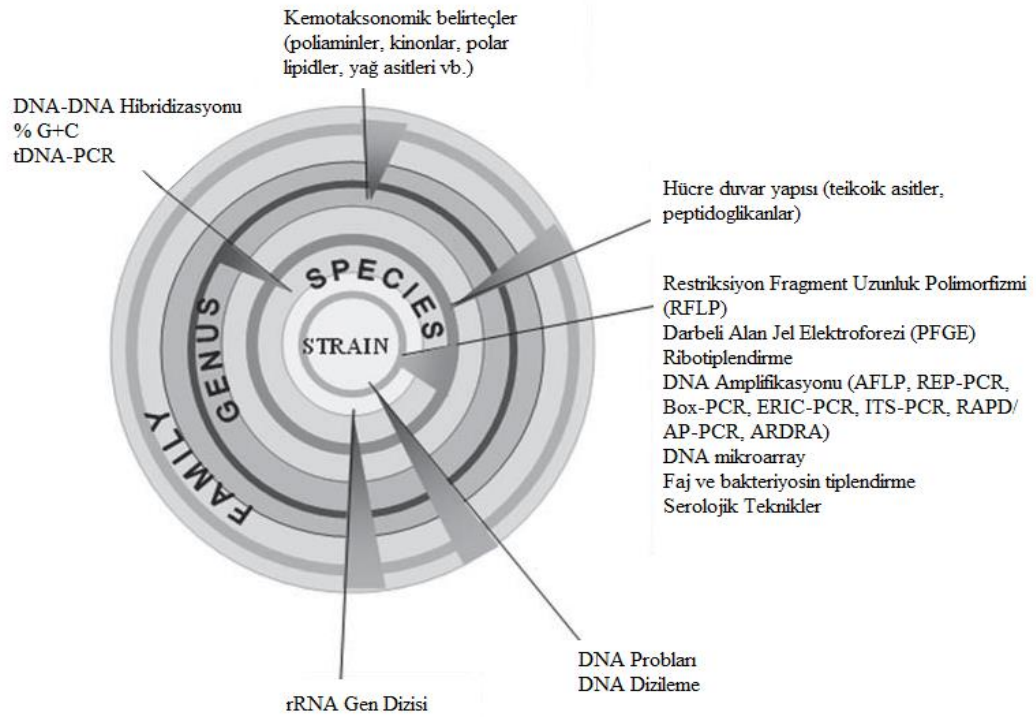
Mikrobiyal sistematik, mikroorganizmaların ve onlar arasındaki ilişkilerin çeşitliliğinin araştırıldığı bilimsel bir çalışma alanıdır (Goodfellow ve O'Donnell, 1993). Mikrobiyal sistematik; sınıflandırma, isimlendirme ve tanımlamayı kapsayan ve evrimsel süreçleri ve filogeniyi destekleyen genetik mekanizmalarla ilgili çalışmaları içeren temel bir bilimsel disiplindir. İlk adım olan sınıflandırma, özelliklerin benzerliklerine ve farklılıklarına dayanarak bireysel suşları yerleştirmek için düzenli ve güvenilir bir çerçevenin oluşturulmasını içerir. Bir sonraki adım olan isimlendirme, taksonomik hiyerarşi içindeki sıraları tanımayı ve Uluslararası Bakteri İsimlendirme Kanunlarına (Sneath, 1992) göre hazırlanmış kuralları takip ederek taksonomik gruplara uluslararası geçerli isimleri vermeyi ele alır. Son adım olan tanımlama, suşların varolan ve geçerli taksonlara ait olup olmadığı araştırmayı ele alır. Prokaryotik taksonomi, bu standart yöntemleri ve kriterleri kullanarak bilinmeyen izolatların temel özelliklerini belirlemeyi içerir. Prokaryotik taksonomiye göre bilinen gruplar dışında bulunan izolatlar tanımlanmalı ve yeni takson olarak sınıflandırılmalıdır. Sınıflandırma ve taksonomi terimlerinin eş anlamlı olmadığı, taksonominin temelleri, ilkeleri ve rolleri de dahil olmak üzere sınıflandırmanın teorik çalışmasını ifade ettiği unutulmamalıdır (Simpson, 1961).

Sınıflandırma diğer bilimlerin temelidir, ancak aynı zamanda teknolojik ilerlemelerden elde edilen yeni verilerin elde edilmesine bağlıdır. Buna karşılık, prokaryotik grupların sınıflandırılmasının üç aşamadan, alfa (analitik evre), beta (sentetik evre) ve gama (biyolojik evre) taksonomisinden geçtiği iyi bilinmektedir.

İlk taksonomi aşaması, yani alfa taksonomi, türlerin sınıflandırıldığı, adlandırıldığı ve tanımlandığı düzeydir. Daha sonra, beta taksonomisi türlerin doğal sınıflandırmalara atanmasını kapsar; Bunlar, fenetik veya filogenetik kriterlere dayanabilmektedir (Goodfellow ve O'Donnell, 1993). Filogenetik sınıflamalar çoğu zaman teorik olarak en sağlam (Doolittle, 1999) kabul edilir. Arkea ve bakterilerde 16S rRNA dizisi varyasyonlarının filogenetik kriterleri, prokaryotların sınıflandırılması için temel teşkil etmektedir (Vandamme, vd., 1996; Tindall, vd., 2010). Bununla birlikte, prokaryotların sınıflandırılmasına yönelik güncel yaklaşımlar, kemotaksonomik,

moleküler sistematik ve nümerik taksonomik prosedürlerin uygulanmasıyla elde edilen genotipik ve fenotipik özelliklerin bütünleşik kullanımına dayanmaktadır (Goodfellow ve O'Donnell, 1993; Vandamme, vd., 1996; Tindall, vd., 2010). Polifazik taksonomi olarak bilinen bu uygulama, Colwell (1970) tarafından yüksek kaliteli genotipik ve fenotipik veriler elde etmek için seçilen yöntemleri kullanarak prokaryot grupları üzerinde ardışık veya eş zamanlı çalışmaları kapsamaktadır. Polifazik taksonominin yaygın olarak uygulanması, prokaryotların sınıflandırılmasında, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology kitabında da anlatıldığı gibi, doğru bir isimlendirme ve geliştirilmiş tanımlama için sağlam bir temel sağlayan belirgin gelişmelere yol açmıştır (de Vos, vd., 2009; Krieg, vd., 2010; Goodfellow, vd., 2011).

Son aşama, gamma taksonomisi, alt türler, ekotipler ve polimorfizmler ve taksonların biyolojik yönleri gibi tür içi kategorileri kapsar. Tür içi varyasyon ve ilgili evrimsel süreçlerin analizi, sistematığın önemli bir yönü olan türleşme mekanizmasının altını çizmek açısından çok önemlidir. Ancak, bu alandaki çalışmaların çoğu taksonomistlerden ziyade ekoloji (çevre biyolojisi) (Lucker, vd., 2010, Mira, vd., 2010) ve epidemiyoloji (tıp biyolojisi) (Morschhauser, vd., 2000; Morelli, vd., 2010) tarafından yürütülmektedir.



Şekil 2.1., Bakteriye hiyerarşinin çözümü için modern polifazik yaklaşımda kullanılan tekniklerin ve işaretlerin şematik gösterimi (Prakash, vd., 2007).

2.3 Moleküler Sistematiik

Çevrede bulunan mikroorganizmalar, dökme plak ve yayma plak yöntemleri gibi çeşitli kültüre bağıli klasik teknikler ve fizyolojik özelliklerini deşifre eden gram boyama ve biyokimyasal analizlerle karakterize edilebilmektedir. Büyüme ortamındaki koloni morfolojisine dayanarak, mikroskopik gözlem ve biyokimyasal testler kullanılarak izole edilen bakteriler belirli cinslere tahsis edilebilir. Ancak, bu teknikler birçok çevresel faktöre bağıli olduğu kadar zaman alıcı olmaktadır (Rastogi ve Sani, 2011). Bu nedenle, dizi bazlı, jel bazlı ve protein bazlı sistemler gibi ileri teknikler, hızlı reaksiyonları, yüksek özgülükleri ve daha az hata şansı nedeniyle avantajlı hale gelmiştir. Bu ileri tekniklerin geliştirilmesi, mikroorganizmaların tanımını büyük ölçüde değıştirmiştir, çünkü birçok durumda, bir tür içindeki dizi çeşitliliğı, ekolojik olarak farklı olan çoklu dizi kümelerini ortaya çıkarmaktadır (Cohan, 2002). Filogenetik çalışmalar için hausekeeping gen dizileri kullanarak, organizmaların, yani prokaryotların ve ökaryotların geleneksel sınıflandırmasının aksine, Archaea, Bacteria ve Eukarya'nın filogenetik ayrımı geliştirilmiştir.

Genomik yaklaşımlar, bakterilerin tanımlanmasında doğru bir araç sağlar. Bakterilerin taksonomik ilişkisini değerlendirmek için DNA-DNA hibridizasyon (DDH) yöntemleri 1960'lı yıllardan beri kullanılmaya başlamıştır. Genom BLAST mesafe filogenisi (GBDP) (HGB, vd., 2005), ortalama nükleotid benzerliğı (ANI) ve maksimum eşsiz eşleşme indeksi (MUMi) (Deloger, vd., 2009) da dahil olmak üzere DDH değeri ile ilişkili benzerlik indeksleri, verimlilik açısından iki genom dizisini daha etkili bir şekilde kıyaslamayı sağlar. Bunların arasında Konstantinidis ve Tiedje (2007), ANI ve DDH değerleri arasındaki korelasyona dayanan genom dizilerinin ortalama nükleotid kimliğıne (ANI) göre daha yüksek bir eşik değer aralığı önermişlerdir (Goris, vd., 2007; Chan, vd., 2012). % 95 ve % 96 arasındaki ANI değerleri, DDH değerine % 70 eşittir ve tür ayrımı için varsayılabilir olduğunu göstermiştir (Goris, vd., 2007; Richter ve Rosselló-Móra, 2009).

Prokaryot filogenisinin anlaşılması, oldukça korunmuş küçük alt birim rRNA'ya dayanmaktadır (Woese, 1987). Şu anda, tüm genom dizilimi çalışmaları, prokaryotların sistematik olarak güçlü bir aracı olarak düşünölmektedir. Actinobacteria şubesinde ilk kez *M. tuberculosis* dizilenmiştir (Cole, vd., 1998).

Uzun süre, 16S rRNA geni prokaryotik filogenetik ağaç oluşturmak için kabul

edilebilir bir moleküler belirteç olarak kullanılmıştır (Woese ve Fox, 1977). Ek olarak bakteriyel taksonomiye incelemek için diğer ribozomal RNA genleri de uygulanmıştır. Şu anda Actinobacteria şubesinin filogenetik analizi 16S rRNA genine ve belirli gruptaki bireysel genlere dayanmaktadır. Bununla birlikte, tek genle yapılan filogenik çalışmalar kararsız görünmekte ve karmaşık grupların gerçek evrim tarihini yansıtamadığı belirtilmektedir (Alam, vd., 2010). Tam tersine, tüm genom temelli filogenetik analizler, tür düzeyinde iç dallanmaları daha yüksek çözünürlükte gösterir ve ayrıca tek gen taksonomisi analizinde ele alınan kısıtlamaları ortadan kaldırmaktadır.

2.4 16S rRNA Gen Bölgesi

Çevrede çok çeşitli bakteri türleri mevcut olduğundan, tanımlama amaçları için kullanılacak tekniklerin kapsamı ve karmaşıklığı oldukça şaşırtıcıdır (Spratt, 2004). 16S rRNA geninin nükleotit sekans verilerinin kullanımı, sadece tanımlama yapmak için değil, aynı zamanda yeryüzündeki tüm mikroorganizmalar arasındaki filogenetik ilişkiyi çizmede en uygun araçtır. Tanımlama amacıyla analizi yapılan 16S rRNA geninin kullanımının nedenleri arasında; i) Aynı işlevi yerine getiren genin bütün organizmalarda mevcudiyeti, ii) Analizi gerçekleştirilen gen dizisinin yeterince korunmuş olması, iii) sekanslanmasının nispeten kolay olduğu ve filogeninin tanımlanması ve analizi için yeterli bilgi içerecek kadar büyük olması (yaklaşık 1500 bp'lik) sayılabilir (Clarridge, 2004). Bu teknik, veritabanında sadece 16S rRNA gen dizilerinin yeterli miktarda birikmesinden ve gen amplifikasyonu için uygun primerlerin mevcudiyetinden sonra popüler hale gelmiştir.

16S rRNA geninin karşılaştırmalı dizilemesi ve analizi ile ilgili bir takım avantajlar ve dezavantajlar vardır. Bu tekniğin en büyük avantajı hızlı ve doğru tanımlama sağlamasıdır. Geleneksel tekniklerde, belirli bakteri gruplarının tanımlanması için özel teçhizatın bulunması ve anaeroblar için gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi gibi uzmanlıklarının belirlenmesi zordur, buna karşın sekans bazlı tanımlama geleneksel tekniklere dayanmamaktadır (Clarridge, 2004). Büyüme periyotları uzun olan ve geleneksel tekniklerle tanımlamaları zaman alıcı ve sıkıcı olan bazı yavaş büyüyen bakteriler mevcuttur. Bu bakımdan, 16S rRNA gen dizilemesi, sonuçta oldukça az zaman harcayan benzersiz bir teknolojiyi temsil etmektedir.

16S rRNA'daki gen benzerliği, evrensel, nispeten kararlı ve oldukça korunmuş olması nedeniyle prokaryotların taksonomisinde önemli bir moleküler belirteç olarak

düşünülmektedir. Sonuç olarak, 16S rRNA dizilerinin analizi, bakteri izolatlarının sınıflandırılması için tercih edilen bir yaklaşım olarak güncelliğini korumaktadır. Bununla birlikte, 16S rRNA geni ayrıca, bazı cinslerde oldukça korunması, çoklu rRNA operonları arasındaki nükleotid varyasyonları ve bu genlerin takson arasında yatay gen aktarımı (HGT) olasılığı da dahil olmak üzere bir moleküler belirteç olarak sınırlamalar göstermektedir (Ramasamy, vd., 2014). Yeni türlerin tanımlanması için 16S rRNA gen benzerlik değeri % 97 önerilmiştir (Stackebrandt ve Goebel, 1994), ancak son zamanlarda farklı takımlar için % 98.7-99'luk bir kesme değeri önerilmektedir (Stackebrandt ve Ebers, 2006). EzTaxon sunucusu, ağaç yapımı için ikili benzerlik, çoklu dizi hizalaması ve filogenetik algoritmalar hesaplayan tüm geçerli dizilerin toplamını içerecek şekilde geliştirilmiştir (Chun, vd., 2007).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Sediment Örneklerinin Seçimi ve Kaynakları

Tez çalışması kapsamında ilk olarak Eskişehir İli'nin Çifteler İlçesi'nde bulunan Sakarya Nehri kaynağının 4 farklı lokalitesinden alınan sediment örnekleri konumlarına göre numaralandırılmış, steril cam kavanozlara alınmış ve laboratuvara getirilerek izolasyon amacıyla kullanılmıştır. 2015 yılı bahar döneminde toplanan ve izolasyon çalışmasında kullanılan sediment örneklerinin kodları, sediment bölgeleri, derinlikleri ve pH değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1., İzolasyon çalışması için örneklerin alındığı bölgeler ve bazı özellikleri

Örneklerin Kodları	Sedimentin Alındığı Bölge	Sedimentin Alındığı Derinlik	Sedimentin Alındığı Noktanın pH'sı
S1	Güneş görmeyen bölge, yosun kaplı alan	1 m	7.0
S2	Az güneşli bölge	1.5-2 m	8.5
S3	Kireçli bölge	2 m	9.0
S4	Kireçli bölge	4 m	8.5

3.2. Mikroorganizmaların İzolasyonu

Çalışma kullanılan kültür ortamları ve solüsyonların içerikleri EK-A ve EK-B'de yer almaktadır.

3.2.1. Dilüsyon Plaka Tekniği

Her bir sediment örneğinden steril şartlar altında uçları bir miktar kesilmiş pipet uçları kullanılarak otomatik pipet (Axygen, USA) ile 500 µl alınarak steril edilmiş 4.5 ml ringer solüsyonu içeren boncuklu tüplere aktarılmıştır. 30 dakika boyunca toprak kolloidlerinde bulunan sporları ringer solüsyonuna geçirebilmek için 10^{-1} 'lik ilk dilüsyon tüpleri elde ritmik olarak çalkalama vasıtasıyla mekanik etkiye maruz bırakılmıştır. Çalkalama işlemi sonrasında izolasyon esnasında vejetatif formlara bağlı kontaminasyonun engellenmesi için 65 °C'ye ayarlanmış su banyosunda tüpler 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Su banyosunda belirlenen süre bekletilen tüpler daha sonra steril şartlar altında vorteks karıştırıcı (DAIHAN Scientific Co., Ltd., KOREA) ile karıştırılıp, otomatik pipet ile 1 ml alınarak içerisinde 9 ml ringer solüsyonu olan cam

tüpe aktarılarıp 10^{-2} dilüsyonu hazırlanmıştır. Bu işlem 10^{-3} ve 10^{-4} dilüsyonlarını hazırlamak için tekrarlanmıştır (Sembiring, 2000; Sivakumar, 2008).

10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} lük dilüsyonlardan otomatik pipet (Axygen, USA) ile 0.2 ml alınan çözeltiler, sikloheksimid ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$), rifampisin ($0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) ve nalidiksik asit (10mg ml^{-1}) ilaveli tripton yeast glukoz ekstrakt agar (TYGEA, Blackall, vd., 1989), yeast malt agar (ISP 2, Shirling ve Gottlieb, 1966), SM3 agar (Tan, vd., 2006), starch casein agar (SC, Kuster ve Williams, 1964; Mackay, 1977) ve glukoz yeast malt ekstrakt agar (GYMEA, Rapp, 1974) yüzeyine inoküle edilmiştir. Her bir dilüsyon için 2 plak hazırlanmıştır. İnokülasyonlu plaklar, O_2 girişine izin verecek şekilde 30°C 'deki etüvde 6-8 hafta süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Çalışma süresince tek kullanımlık steril plastik petripler (90 mm, disposable petri dishes, Sterillin, UK) kullanılmıştır.

3.2.2. İzolatların Seçimi ve Saflaştırılması

Ardışık dilüsyonları takiben farklı seçici kültür ortamlarına aktarılan örnekler 30°C 'de 6-8 hafta inkübasyona bırakılmıştır. Bu seçici ortam yüzeyinde aktinomiset benzeri kolonileri belirleyebilmek için makroskobik ve mikroskobik (100x büyütme; ZEISS/Primo Star) incelemeler yapılmıştır. Farklı olabileceği düşünülen aktinomiset ve benzeri koloniler steril kürdanla alınarak izole edildikleri sikloheksimid ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$), rifampisin ($0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) ve nalidiksik asit (10mg ml^{-1}) ilaveli yeni kültür ortamlarına inoküle edilmiştir. 30°C 'de etüvde 21-28 günlük inkübasyonun ardından istenilen organizmalar saf izolatlar olarak elde edilmiştir.

3.2.3. İzolatların Stoklanması

İzolasyonu takiben makroskobik ve mikroskobik özelliklerine göre seçilen 22 izolat sikloheksimid ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$), rifampisin ($0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) ve nalidiksik asit (10mg ml^{-1}) ilaveli SM3 agar ve GYME agar yüzeyine yoğunlaştırılarak inoküle edilmiştir. 30°C 'de etüvde 14-21 gün inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonunda her bir izolat % 30 gliserol içeren otoklavlanabilir 1.5 ml'lik vidalı kapaklı tüpler içerisine steril öze veya kürdan yardımıyla transfer edilerek -18°C 'de stoklanmıştır.

3.3. DNA İzolasyonu

3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu

Saf olarak stoklanan test izolatlarının genomik DNA izolasyonu; DNA İzolasyon Kiti (Invitrogen, USA) kullanılarak gerçekleştirildi.

Test organizmaları yoğun olarak gelişebildikleri kültür ortamlarına göre sikloheksimid ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$), rifampisin ($0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) ve nalidiksik asit (10mg ml^{-1}) ilaveli SM3 agar ve glukoz yeast malt ekstrakt agar ortamlarında 30°C 'de etüvde 7-14 gün geliştirilmiştir. İnkübasyonu takiben her bir izolattan bir öze dolusu alınarak gelişim gösterdikleri kültür ortamlarına göre 30 ml SM3 Broth ve GYME broth bulunan 50 ml'lik erlenlere steril şartlarda transfer edilmiştir. Kültürler çalkalamalı inkübatörde 30°C 'de 160 rpm'de 3-10 gün süreyle geliştirilmiştir. Safılıkları kontrol edildikten sonra steril ependorflara kültürlerden 1.5 ml ilave edilmiş ve 13.000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir.

Santrifüj sonrası üst faz uzaklaştırılıp altta kalan peletler ddH₂O ile 1 defa, TE (10 mM tris, 1 mM EDTA, pH:8) tamponunda 2 defa yıkanmıştır (Sambrook, vd., 2001). Bu işlemler sonucu hücre peletleri DNA izolasyonuna hazır hale getirilmiştir. DNA izolasyonu için uygulanan işlem basamakları aşağıda yer almaktadır:

İşlem Basamakları

Lizatin Hazırlanışı;

1. İzolatlardan elde edilen her bir hücre peleti üzerine 180 μl lizozim (20mg/ml) tamponu eklenip kısa süre vortekslendikten sonra 37°C 'de 12 saat bekletildi.
2. 2 adet su banyosu 37°C ve 55°C 'ye ayarlandı.
3. 2 μl triton-x ilave edilip pipetaj yapıldı ve 37°C 'de 30 dk bekletildi.
4. 20 μl RNaz ve 20 μl Proteinaz K eklenip kısa vortekslemeden sonra 37°C 'de 30-45 dk bekletildi.
5. 200 μl PureLink Genomik Parçalama/Bağlama tamponu eklenerek vortekslendi ve 55°C 'de 30 dk bekletildi.
6. Lizata 200 μl % 96-100'lük etanol eklenip homojen bir çözelti elde etmek amacıyla 5 sn vortekslenerek iyice karıştırıldı.

Uygulama;

1. Yaklaşık 640 µl olan lizat PureLink spin kolona aktarıldı.
2. Kolon oda sıcaklığında 10.000 g'de 1 dk santrifüjlendi.
3. Toplama tüpü atıldı ve spin kolon temiz bir toplama tüpüne aktarıldı.
4. Kolona daha önceden hazırlanan yıkama tamponundan 1'den 500 µl eklendi.
5. Kolon oda sıcaklığında 10.000 g'de 1 dk santrifüjlendi.
6. Toplama tüpü atıldı ve kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi.
7. Kolona daha önceden hazırlanan yıkama tamponundan 2'den 500 µl eklendi.
8. Kolon oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dk santrifüjlendi ve toplama tüpü atıldı.
9. Spin kolon 1,5 ml'lik temiz bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
10. Kolona 25-200 µl PureLink Genomik Ayırma Tamponu eklendi.
11. Kolon oda sıcaklığında maksimum hızda 1,5 dk santrifüjlendi ve böylece istenilen izolat DNA'sı saf bir şekilde elde edildi.
12. Saflaştırılan DNA -20 °C muhafaza edildi.

3.3.2. DNA İzolasyon Kontrolü

DNA izolasyon işlemini takiben, örneklerin agaroz jel elektroforez tekniği ile kontrolü sağlanmıştır. İzole edilen DNA örneklerini agaroz jelde görünür hale getirebilmek için jele floresan özellik gösteren etidyum bromür (EtBr) boyası ilave edilmiştir. Etidyum bromür çift zincirli DNA'nın baz çiftlerine bağlanarak 254 nm yada 312 nm dalga boyunda jel görüntüleme cihazında (SYNGENE G-BOX) kırmızı floresans yayar. Bu özelliği sayesinde, eğer DNA izole edilmiş ise agaroz jelde bulunan boya jel görüntüleme cihazında DNA'dan kaynaklı bantların görünür olması mümkün olmaktadır.

Elektroforez tablası kullanımdan önce saf su ile temizlenmiş ve kurutularak düz bir zemine bırakılmıştır. % 1'lik agaroz jel hazırlamak için 1 gr agaroz hassas terazide tartılmış ve üzerine 1X TBE tamponu eklenmiştir. Hazırlanan çözelti mikrodalgada ısıtılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra çözelti elle tutulur sıcaklığa ulaştığında üzerine 3-5 µl etidyum bromür (10 mg/ml) eklenmiştir. Ardından çözelti elde hafifçe karıştırıldıktan sonra kabarcık kalmayacak şekilde tablaya dökülmüştür. Kabarcık kontrolü yapıldıktan sonra tablaya tarakların olduğu aparat eklenmiştir. 30-45 dk beklenmiştir. Jel donduktan sonra taraklar dikkatli bir şekilde çıkarılmıştır. Elektroforez

tablası içerisinde 1X TBE tamponu olan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Tarağın oluşturduğu boşluklara her bir DNA örneğinden 3 µl ve jel yükleme tamponundan (brom fenol mavisi) 1 µl dikkatli bir şekilde karıştırılarak transfer edilmiştir. Elektroforez tankının kapağı kapatılarak güç kaynağına bağlanmış ve 120 voltta 30-45 dk yürütülmüştür.

3.3.3. 16S rRNA Gen Bölgesinin PCR İşlemi

Test izolatlarının 16S rRNA gen bölgesi 27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') ve 1525r (5'AAGGAGGTGWTCCARCC-3') primerleri kullanılarak Thermal Cycler'da (Biorad T100, SINGAPORE) amplifiye edilmiştir (Lane, 1991).

16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu için Promega firmasından alınan GoTaq Hot Start Master Mix (Promega Corporation, USA) kullanıldı. 50 µl olarak hazırlanan reaksiyon karışımı çizelge 3.2. de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2., PCR reaksiyonu için bileşenler ve miktarları

Bileşen	Stok Yoğunluğu	Miktar (µl)
Hot Start Master Mix	2X	25
27f primeri	10 pmol	1
1525 primeri	10 pmol	1
Kalıp DNA	50-100 ng	2
Nükleaz içermeyen su		21

Hazırlanan reaksiyon karışımı, yavaş ve dikkatli bir şekilde pipetajlanıp, mikrosantrifüjde 10-20 sn döndürülmüştür.

PCR reaksiyonu Çizelge 3.3'de belirtilen şartlarda gerçekleştirildi.

Çizelge 3.3., PCR reaksiyon koşulları

İşlem	Sıcaklık (° C)	Süre (dk)	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	95 ° C	5:00	1
Denatürasyon	95 ° C	1:00	35
Bağlanma	57.5 ° C	2:00	35
Uzama	72 ° C	3:00	35
Son Uzama	72 ° C	8:00	1
Reaksiyon Sonrası bekleme	4 ° C		

PCR işlemi sonunda kontrol için hazırlanan % 1'lik agaroz jele 3 µl DNA ladder ile 3 µl PCR ürün örneği ve 1 µl yükleme boyası karıştırılarak yüklenmiş ve amplifikasyon işlemi gerçekleştirilen bölgenin tespiti yapılmıştır.

3.3.4. 16S rRNA Gen Bölgesi Verilerinin Eldesi, Analizi ve Filogenetik Dendogramların Oluşturulması

PCR işlemini takiben elde edilen DNA örneklerinin agaroz jel kontrolleri sağlandıktan sonra 16S rRNA gen bölgesinin baz dizi analizi MacroGen firmasından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi. 16S rRNA gen bölgesinin baz dizi analizi 5 farklı oligonükleotid primer (Çizelge 3.4.) ile MacroGen firması tarafından ABI 3730XL otomatik baz dizi cihazı ile belirlenmiştir.

ABI formatındaki dosyalar fasta formatına dönüştürülüp Mega 7 (Tamura, vd., 2011) paket programı kullanılarak 3-5 farklı primerden elde edilen diziler birleştirilmiş ve zayıf nitelikli okumaların olduğu (belirsiz yani 'N' kodlu ve birkaç duplike baz) ve istenmeyen bölgelerin olduğu baz dizileri veri setinden uzaklaştırılarak 16S rRNA gen bölgesinin baz dizilimi elde edilmiştir. Farklı primerler kullanılarak hazırlanan 16S rRNA gen bölgesi dizileri, filogenetik ilişkileri belirlemede kullanılmıştır.

Mega 7 (Tamura, vd., 2011) paket programı kullanılarak elde edilen 16S rRNA baz dizilimi verilerinin, Ez Taxon Server (<https://www.ezbiocloud.net/>) ve NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) sunucuları kullanılarak karşılaştırmalı analizleri yapıp en yakın akraba olan türler belirlenmiştir. Ez Taxon Server kullanılarak 16S rRNA bazlı örnekler ve en yakın akraba organizmalar fasta formatında elde edilmiştir. Mega 7 (Tamura, vd., 2011) paket programı kullanılarak her bir örnek ve yakın akrabaları karşılaştırılmış ve manuel olarak dizilenmiştir. Bu diziler ve test edilen örnekleri ait diziler Mega 7 paket programında birbirleriyle karşılaştırmalı olarak hizalanmış ve ardından filogenetik analiz bölümüne geçilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi baz dizilerinin çoklu hizalaması sonrasında filogenetik soy ağaçları neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması ile oluşturulmuştur. Neighbor-joining algoritması kullanılırken filogenetik uzaklık matriksi Jukes-Cantor metodu kullanılmıştır (Jukes ve Cantor, 1969). Filogenetik soy ağaçlarının bootstrap analizi 1000 tekrarlı olarak Mega 7 paket programında elde edilmiştir.

Çizelge 3.4., 16S rRNA gen bölgesi dizilemesinde kullanılan oligonükleotid primerler

Primer adı	Sekans (5'→3')	Büyükük (bç)	Kaynak
800r	TACCAGGGTATCTAATCC	18	Chun, 1995
27f	AGAGTTTGATCTGGCTCAG	20	Lane, 1991
1492r	TACGGTTACCTTGTTACGACTT	22	Heuer, vd., 1997
1525r	AAGGAGGTGWTCCARCC	17	Lane, 1991
MG5f	AAACTCAAAGGAATTGACGG	20	Chun, 1995
518f	CCAGCAGCCGCGGTAAT	17	Muyzer. vd., 1993

3.4. Antimikrobiyal Aktivite Testi

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Dr. Öğr. Üyesi Fadime Özdemir Koçak'ın kültür stoğundan alınan test suşları, 2 gram negatif bakteri (*E.coli* W3110, *P. vulgaris* NRRL B-123), 2 gram pozitif bakteri (*B. subtilis* IMG 22, *S. aureus* ATCC 25923), 2 maya (*C. albicans* ATCC 1326, *S. cerevisiae* ATCC 9763) ve 2 fungus (*A. parasiticus* NRLL 465, *Fusarium* sp.) olan toplam 8 patojen test organizmasının gelişmelerini inhibe etme kabiliyetlerine göre incelenmiştir (Williams, vd., 1983a). Test suşlarının kültür ortamına inokülasyonu, otomatik pipet (Axygen, USA) vasıtasıyla nokta ekim yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Her bir izolat için hazırlanan stok solüsyonlarından otomatik pipet yardımıyla 7 µl alınarak antibiyotik ilavesiz modifiye edilmiş Bennett's Agar (Jones, 1949) yüzeyine 4'lü gruplar halinde nokta ekim yoluyla inoküle edilmiştir. İnokülasyonlu plaklar, 28°C'de 2 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen koloniler üzerine, steril enjektör yardımıyla 3-5 ml'lik kloroform dökülmüş ve kloroformun buharlaşması için petri plaklarının kapağı, 40 dakika boyunca yarı açık bir şekilde tutulmuştur. Bu şekilde öldürülen koloniler üzerine, daha sonra, her biri steril nutrient broth içerisinde 1-2 gün süreyle gelişen patojen test organizmaları yayma plak yöntemiyle inoküle edilmiştir. İnokülasyonlu plaklar, 28°C 'de 1 günlük inkübasyondan sonra incelenmiştir. Koloni etrafında, test patojenlerine karşı bir inhibisyon zonu oluşmuşsa sonuç milimetrik cetvel ile ölçülerek değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Mikroorganizmaların Belirlenen Lokalitelerden İzolasyonu

İç Anadolu Bölgesi'nde yer alan Sakarya Nehri'nin doğduğu yerden toplanan sedimentlerden mikroorganizma izolasyonunda seçici besiyeri ortamı olarak tripton yeast glukoz ekstrakt agar (TYGEA, Blackall, vd., 1989), yeast malt agar (ISP 2, Shirling ve Gottlieb, 1966), Gauze's Medium 2 agar (SM3, Tan, vd., 2006), starch casein agar (SC, Kuster ve Williams, 1964; Mackay, 1977) ve glukoz yeast malt ekstrakt agar (GYMEA, Rapp, 1974) kullanıldı. Sediment örneklerine önce dekontaminasyon işlemi, ardından dilüsyon plaka tekniği uygulandı ve seri dilüsyonları (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4}) takiben yayma plaka yöntemiyle ekimler yapıldı. Ekimleri tamamlanan plaklar 30 °C'deki etüvde 6-8 hafta inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işleminden sonra farklı aktinomiset grupları olduğu düşünülen mikroorganizmalar gelişim gösterdikleri besiyerleri olan SM3 agar, ISP 2 agar ve GYME agar yüzeylerine transfer edilerek saflaştırma prosedürüne geçildi (**EK-1**). Saflaştırma işlemi sonrasında gelişim gösteren organizmaların yoğun ekimleri SM3 agar, ISP 2 ve GYME agar besiyerlerine yapıldı. İnkübasyon süresi sonunda her bir izolat % 30'luk gliserol içeren otoklavlanabilir 1.5 ml'lik vidalı kapaklı tüplere steril öze ile transfer edilerek -20 °C'de stoklandı (Wellington ve Williams, 1978). Eskişehir İli'nin Çifteler İlçesi'ndeki Sakarya Nehri'nin doğduğu yerden alınan örneklerle ait bilgiler çizelge 4.2. de belirtilmiştir.

Sediment izolasyonu sonucu makroskobik ve mikroskobik görüntülerine göre seçilen 22 izolat 16S rRNA gen bölgesi analizine tabi tutularak filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.1., Organizmaları kodlamada kullanılan parametreler

Sakarya Nehri	Bölge	Besiyeri Baş Harfi	Dilüsyon Katsayısı	Seçilen Organizma Sırası
"S" Harfi	1	SM3(Gauze's Medium)	10^{-2}	1
	2		10^{-3}	2
	3	GYME (Glukoz Yeast Malt Ekstrakt Medium)	10^{-4}	3
	4			4
		ISP2 Medium		5

Çizelge 4.2., Sediment İzolasyonu ile Sakarya Nehir Kaynağından elde edilen aktinomiset izolatları

Organizma	Kaynak	Lokasyon	Nitelik
S2S21	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1.5-2 m
S3S31	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 2 m
S1S32	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1S33	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1S34	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1S35	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S2S24	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1.5-2m
S1G34	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1I41	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1G21	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1S31	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1S23	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S2G33	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1.5-2 m
S2S23	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1.5-2 m
S2G35	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1.5-2 m
S1S41	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S2S22	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1.5-2 m
S2S31	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1.5-2 m
S1S21	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1S24	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S1S22	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 1 m
S3S32	Sediment Örneği, Çifteler, Eskişehir	39° 20' 57" Kuzey 31° 03' 21" Doğu	Derinlik: 2 m

Çizelge 4.3., 16S rRNA dizilemesi yapılan organizmalar

Cins	İzolat	İzolasyon Besiyeri	Dilüsyon Plaka
<i>Micromonospora sp.</i>	S1G21	SM3	X
	S1G34	GYM	
	S1S21		
	S1S23		
	S1S31		
	S1S33		
	S1S34		
	S1S35		
	S2G33		
	S2G35		
	S2S22		
	S2S23		
	S2S31		
	S3S31		
<i>Brevibacillus sp.</i>	S1I41	ISP 2	X
	S1S24	SM3	
	S3S32		
<i>Saccharomonospora sp.</i>	S1S41	SM3	X
	S2S21		
<i>Paenibacillus sp.</i>	S1S22	SM3	X
<i>Cellulomonas sp.</i>	S2S24	SM3	X
<i>Microvirga sp.</i>	S1S32	SM3	X

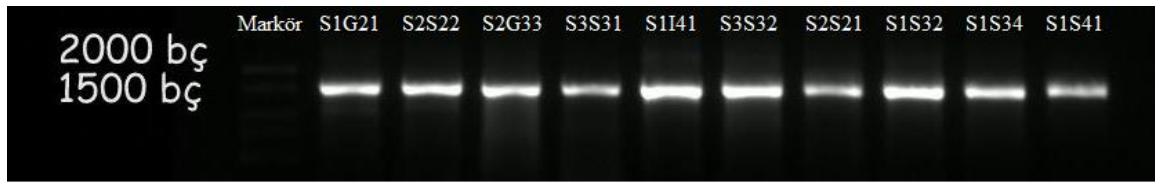
Elde edilen 22 izolatin 14 tanesi *Micromonospora sp.*, 3 tanesi *Brevibacillus sp.*, 2 tanesi *Saccharomonospora sp.*, 1 tanesi *Paenibacillus sp.*, 1 tanesi *Cellulomonas sp.* ve 1 tanesi *Microvirga sp.* cinsine aittir. Bu organizmalardan 17 tanesi SM3 (Gauze's Medium 2) besiyerinden, 4 tanesi GYME besiyerinden ve 1 tanesi ISP 2 besiyerinden elde edilmiştir.

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

İzolasyon çalışmaları esnasında, morfolojik olarak farklılık gösteren organizmalar belirlenerek, bu organizmalardan genomik DNA (DNA izolasyon Kiti- invitrogen,USA) izole edildi ve DNA kontrolü % 1'lik agaroz jelde yürütülerek görüntülendi.

4.3. 16S rRNA Gen Bölgesinin PCR Amplifikasyonu

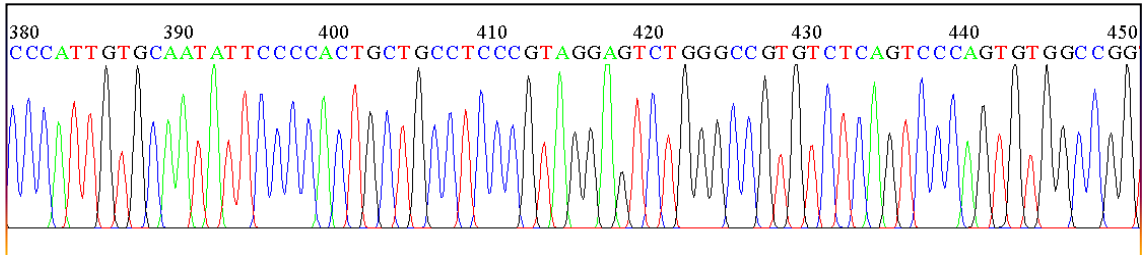
Analizi yapılacak izolatlardan saf olarak elde edilen DNA örneklerinin, 16S rRNA gen bölgesinin analizinde kullanılan iki evrensel primer (27f ve 1525r; Lane, 1991) kullanılarak Termal Cycler'da (PCR, Biorad T100, SINGAPORE) PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyonu gerçekleştirilen ürünler % 1.5'lük agaroz jelde (100 ml 1XTBE tampon, 1.5 g agaroz) DNA leader ile birlikte 90 voltta yaklaşık 45 dakika yürütüldükten sonra görüntüleme sisteminde (SYNGENE G-BOX) fotoğraflanarak kaydedilmiştir. PCR işlemi gerçekleştirilen örnekler için agaroz jel görüntüsü Şekil 4.1. de verilmiştir.



Şekil 4.1., Sakarya Nehir Kaynağı'ndan izole edilen organizmaların 16S rRNA gen bölgesinin PCR metodu ile amplifikasyonu (DNA Ladder: Thermo SM1701).

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

PCR işlemi gerçekleştirilen test izolatlarına ait 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi MacroGen firmasından hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi baz dizilimi 3 farklı oligonükleotit primer ile ABI 3730XL otomatik baz dizileme cihazıyla belirlenmiştir. Okuması gerçekleştirilen baz dizilerinin kontrolü Finch TV programında görüntülenerek yapılmıştır. Gerçekleştirilen kontroller neticesinde düzgün okunduğu düşünülmeyen ve yeni tür aday olabilecek test organizmaları 5 farklı primer ile MacroGen firmasında tekrar okutulmuştur. Tekrar okutulan baz dizilerinin kontrolü Finch TV ile gerçekleştirilmiş ve dizilerin analizine geçilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2., MacroGen firmasında 16S rRNA gen bölgesi dizilemesi yapılan test organizmalarına ait verilerin Finch TV programındaki görüntüsü

Test izolatlarının 16S rRNA gen bölgesi baz dizi analizi verileri, benzerlik gösterdikleri cinsler ile birlikte Mega 7.0 paket programında hizalanarak mega formatında kaydedilmiştir. Mega formatında kaydedilmiş veriler aynı zamanda fasta formatında da kaydedilerek benzerlik tabloları oluşturulmuştur.

Cellulomonas sp. S2S24'ün baz dizisi 22 adet *Cellulomonas* tip türü ile hizalanmış ve toplamda 1409 nükleotidlik dizi elde edilmiştir. *Cellulomonas* sp. S2S24'ün % 98.6 benzerlik oranıyla *Cellulomonas aerilata*'ya komşu olduğu ve 19 nükleotid farklılık gösterdiği, % 97.8 benzerlik oranıyla *Cellulomonas fimi*'ye yakın olduğu ve 31 nükleotid farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.3, Çizelge 4.5).

Micromonospora cinsine ait izolatların dizileri, yakınlık derecelerinin gösterildiği 4 farklı şekil ve benzerlik oranlarının belirtildiği 4 farklı çizelgede toplamda *Micromonospora* cinsi üyesi 70 tip tür ile birlikte hizalanmış ve yaklaşık 1400 nükleotidlik dizi elde edilmiştir. *Micromonospora* sp. S2S31, *Micromonospora* sp. S1S23, *Micromonospora* sp. S1S35, *Micromonospora* sp. S2S22, *Micromonospora* sp. S1S21 ve *Micromonospora* sp. S2S23 izolatlarının % 90.7 - 99.6 oranlarında *M. ovatispora* ile yakın ilişkili olduğu ve 6-130 nükleotid farklılığa sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.4, Çizelge 4.6). *Micromonospora* sp. S3S31, *Micromonospora* sp. S1S34, *Micromonospora* sp. S1S33 ve *Micromonospora* sp. S1S31 izolatlarının % 99.1 - 99.4 oranlarında *M. spongicola* ile yakın ilişkili olduğu ve 11-13 nükleotid farklılığa sahip oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.5, Çizelge 4.7). *Micromonospora* sp. S1G21 izolatının % 99.6 oranında *M. ureilytica* ile yakın ilişkili olduğu ve 6 nükleotid farklılığa sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6, Çizelge 4.8). *Micromonospora* sp. S2G33, *Micromonospora* sp. S2G34 ve *Micromonospora* sp. S2G35 izolatlarının % 99.4-99.9 oranlarında *M. vinacea* ile yakın ilişkili olduğu ve 2-8 nükleotid farklılığa sahip oldukları görülmüştür (Şekil 4.7, Çizelge 4.9).

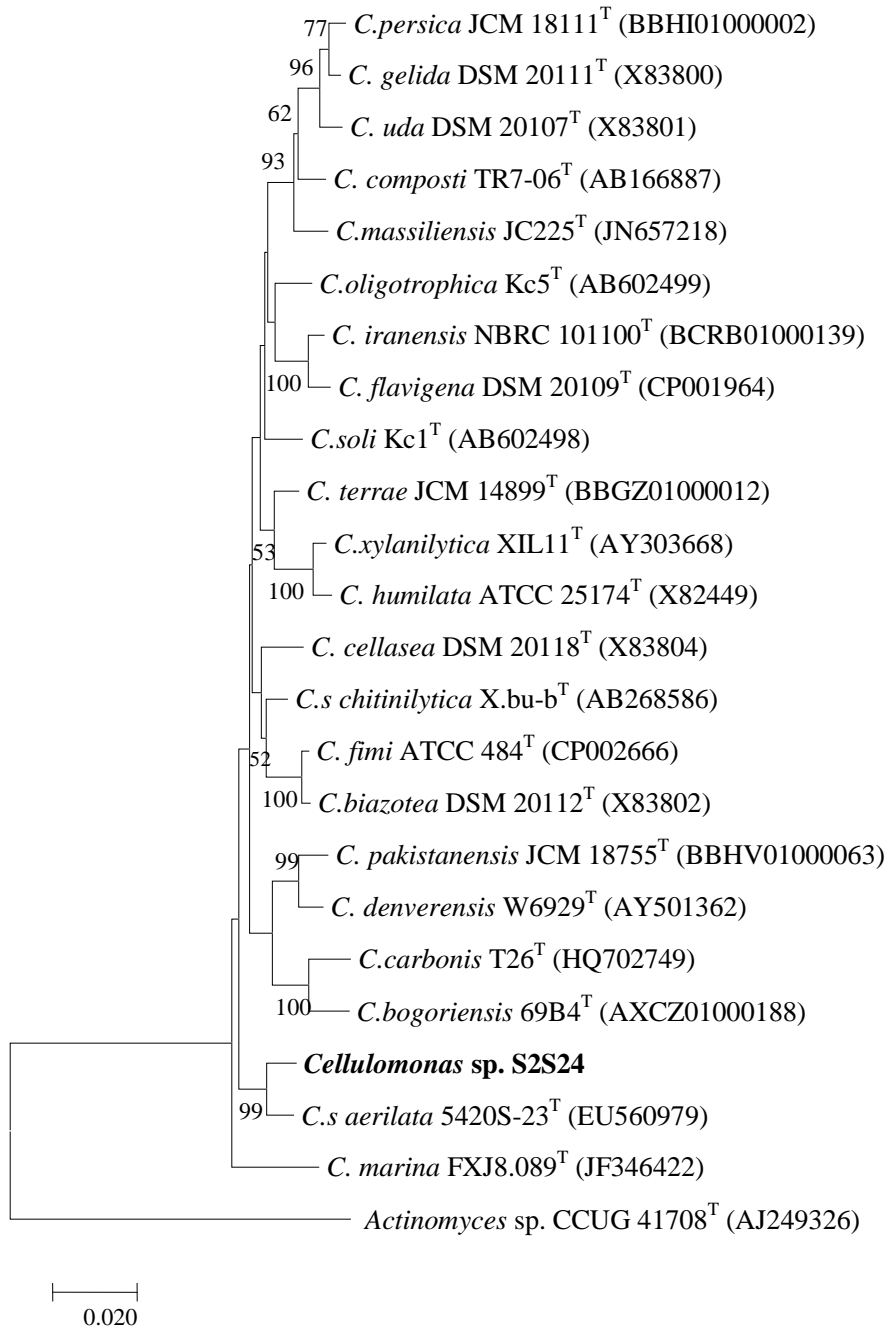
Saccharomonospora cinsine ait izolatların dizileri, *Saccharomonospora* cinsi üyesi 12 tip tür ile birlikte hizalanmış ve 1450 nükleotidlik dizi elde edilmiştir. *Saccharomonospora* sp. S2S21 izolatının % 98.8 oranında *Saccharomonospora azurea*'a komşu olduğu ve 15 nükleotid farklılığı bulunmaktayken, % 98.5 oranında *S. xinjiangensis* ile komşu olduğu ve 24 nükleotid farklılığının olduğu tespit edilmiştir. *Saccharomonospora* sp. S2S41 izolatının % 98.7 oranında *Saccharomonospora*

azurea'a komşu olduğu ve 17 nükleotid farklılığı bulunmaktayken, % 98.2 oranında *S. xinjiangensis* ile komşu olduğu ve 24 nükleotid farklılığının olduğu belirlenmiştir.

Brevibacillus cinsine ait izolatların dizileri, *Brevibacillus* cinsi üyesi 23 tip tür ile birlikte hizalanmış ve 1430 nükleotidlik dizi elde edilmiştir. *Brevibacillus* sp. S3S32 izolatının % 99.6 oranında *B. agri*'a komşu olduğu ve 6 nükleotid farklılığına sahip olduğu, % 98.9 oranında *B. gelatini* ile komşu olduğu ve 15 nükleotid farklılığının olduğu tespit edilmiştir. *Brevibacillus* sp. S1S24 izolatının % 99.6 oranında *B. agri*'a komşu olduğu ve 6 nükleotid farklılığı, % 98.9 oranında *B. gelatini* ile komşu olduğu ve 15 nükleotid farklılığının olduğu belirlenmiştir. *Brevibacillus* sp. S1I41 izolatının % 99.4 oranında *B. agri*'a komşu olduğu ve 8 nükleotid farklılığına sahip olduğu, % 99.2 oranında *B. gelatini* ile komşu olduğu ve 11 nükleotid farklılığının olduğu tespit edilmiştir.

Paenibacillus sp. S1S22'nin baz dizisi 25 adet *Paenibacillus* tip türü ile hizalanmış ve toplamda 1433 nükleotidlik dizi elde edilmiştir. *Paenibacillus* sp. S1S22'nin % 99.6 benzerlik oranıyla *P. dendritiformis*'e komşu olduğu ve 4 nükleotid farklılık gösterdiği, % 99.4 benzerlik oranıyla *P. thiaminolyticus*'ye yakın olduğu ve 7 nükleotid farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.10, Çizelge 4.12).

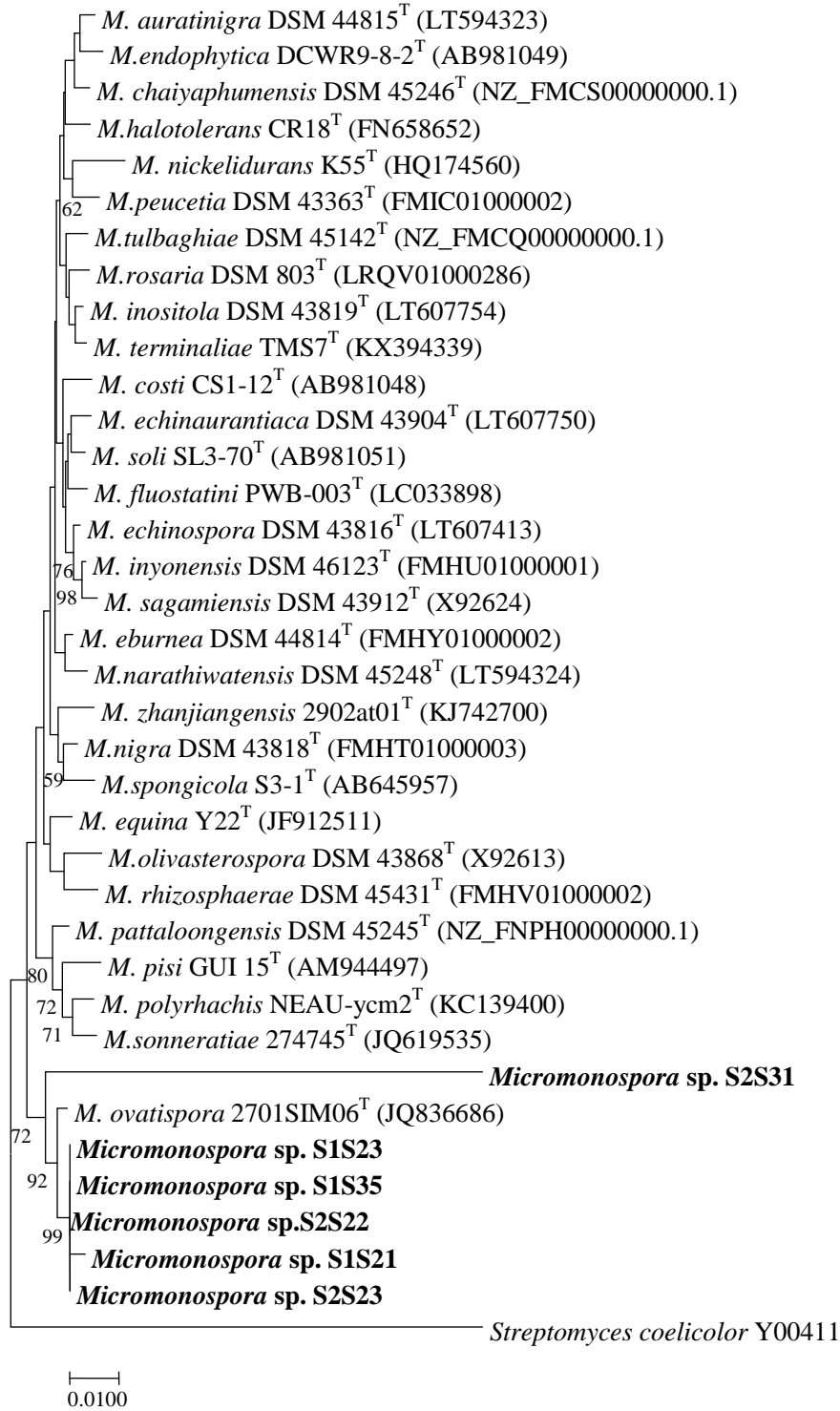
Microvirga sp. S1S32'nin baz dizisi 14 adet *Microvirga* tip türü ile hizalanmış ve toplamda 1418 nükleotidlik dizi elde edilmiştir. *Microvirga* sp. S1S32'nin % 98.4 benzerlik oranıyla *M. soli*'ye komşu olduğu ve 22 nükleotid farklılık gösterdiği, % 98.0 benzerlik oranıyla *M. aerilata*'ya yakın olduğu ve 27 nükleotid farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.11, Çizelge 4.13).



Şekil 4.3. *Cellulomonas* 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 bootsrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 2'dir ve dış grup olarak *Actinomyces* sp. CCUG 41708^T (AJ249326) kullanılmıştır.

Çizelge 4.4., *Cellulomonas* cinsine ait test izolatu 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	20	21	22	23	24
1	<i>Cellulomonas</i> sp. S2S24	---	42	46	42	39	48	49	47	48	46	46	45	44	53	31	47	39	32	33	54	51	32	18	187
2	<i>C.xylanilytica</i>	96,8	---	53	24	36	50	40	37	49	51	47	10	50	44	37	44	42	28	44	55	52	36	44	185
3	<i>C.uda</i>	96,6	96,0	---	38	39	13	53	42	24	59	41	53	16	42	47	47	20	32	48	69	68	48	45	181
4	<i>C.terrae</i>	96,8	98,2	97,1	---	24	40	36	20	32	51	30	26	37	28	32	33	34	26	36	49	48	32	40	182
5	<i>C.soli</i>	97,1	97,3	97,1	982	---	40	35	28	30	57	32	40	39	32	33	38	29	27	25	56	49	35	37	188
6	<i>C.persica</i>	96,4	96,3	99,0	97	0,97	---	46	45	26	56	39	52	9	40	49	49	24	34	52	71	68	50	49	185
7	<i>C.pakistanensis</i>	96,3	97,0	96,0	97,3	97,4	96,6	---	41	47	61	42	41	45	46	49	17	51	44	44	41	41	50	49	191
8	<i>C.oligotrophica</i>	96,5	97,2	96,8	98,5	97,9	96,6	96,9	---	31	41	28	38	42	28	38	38	35	30	40	53	58	38	45	187
9	<i>C.massiliensis</i>	96,4	96,3	98,2	97,6	97,7	98,0	96,5	97,7	---	61	37	48	30	37	42	44	21	28	40	64	65	42	46	180
10	<i>C.marina</i>	96,6	96,2	95,6	96,2	95,7	95,8	95,4	96,9	95,4	---	48	56	54	55	50	61	51	50	55	65	64	50	45	188
11	<i>C.iranensis</i>	96,6	96,5	96,9	97,7	97,6	97,1	96,8	97,9	97,2	96,4	---	47	36	12	42	36	38	33	41	54	53	40	49	192
12	<i>C.humilata</i>	96,6	99,2	96,0	98,0	97,0	96,1	96,9	97,1	96,4	95,8	96,5	---	52	42	41	45	42	30	48	53	56	40	46	187
13	<i>C.gelida</i>	96,7	96,3	98,8	97,2	97,1	99,3	96,6	96,8	97,7	96,0	97,3	96,1	---	36	48	43	27	34	47	66	63	49	44	188
14	<i>C.flavigena</i>	96,0	96,7	96,8	97,9	97,6	97,0	96,6	97,9	97,2	95,9	99,1	96,8	97,3	---	44	43	35	37	47	58	56	42	52	193
15	<i>C.fimi</i>	97,7	97,2	96,5	97,6	97,5	96,3	96,3	97,1	96,8	96,3	96,8	96,9	96,4	96,7	---	50	39	20	28	49	50	5	32	190
16	<i>C.denverensis</i>	96,5	96,7	96,5	97,5	97,1	96,3	98,7	97,1	96,7	95,4	97,3	96,6	96,8	96,8	96,3	---	46	42	45	38	44	49	51	187
17	<i>C.composti</i>	97,1	96,8	98,5	97,4	97,8	98,2	96,2	97,4	98,4	96,2	97,1	96,8	98,0	97,4	97,1	96,6	---	29	43	63	65	40	40	185
18	<i>C.chitinilytica</i>	97,6	97,9	97,6	98,0	98,0	97,4	96,7	97,7	97,9	96,3	97,5	97,7	97,4	97,2	98,5	96,8	97,8	---	21	50	49	21	33	188
19	<i>C.cellasea</i>	97,5	96,7	96,4	97,3	98,1	96,1	96,7	97,0	97,0	95,9	96,9	96,4	96,5	96,5	97,9	96,6	96,8	98,4	---	38	34	30	33	183
20	<i>C.carbonis</i>	96,0	95,9	94,9	96,3	95,8	94,7	96,9	96,0	95,2	95,1	96,0	96,0	95,1	95,7	96,3	97,1	95,3	96,3	97,1	---	26	48	52	185
21	<i>C.bogoriensis</i>	96,2	96,1	94,9	96,4	96,3	94,9	96,9	95,7	95,1	95,2	96,0	95,8	95,3	95,8	96,3	96,7	95,1	96,3	97,4	98,0	---	52	51	185
22	<i>C.biazotea</i>	97,6	97,3	96,4	97,6	97,4	96,3	96,3	97,1	96,8	96,3	97,0	97,0	96,3	96,8	99,6	96,3	97,0	98,4	97,7	96,4	96,1	---	34	191
23	<i>C.aerilata</i>	98,6	96,7	96,6	97,0	97,2	96,3	96,3	96,6	96,6	96,6	96,3	96,6	96,7	96,1	97,6	96,2	97,0	97,5	97,5	96,1	96,2	97,4	---	179
24	<i>Actinomyces</i> sp.	86,1	86,3	86,6	86,5	86,1	86,3	85,8	86,1	86,7	86,1	85,8	86,1	86,1	85,7	85,9	86,1	86,3	86,1	86,4	86,3	86,3	85,8	86,7	---

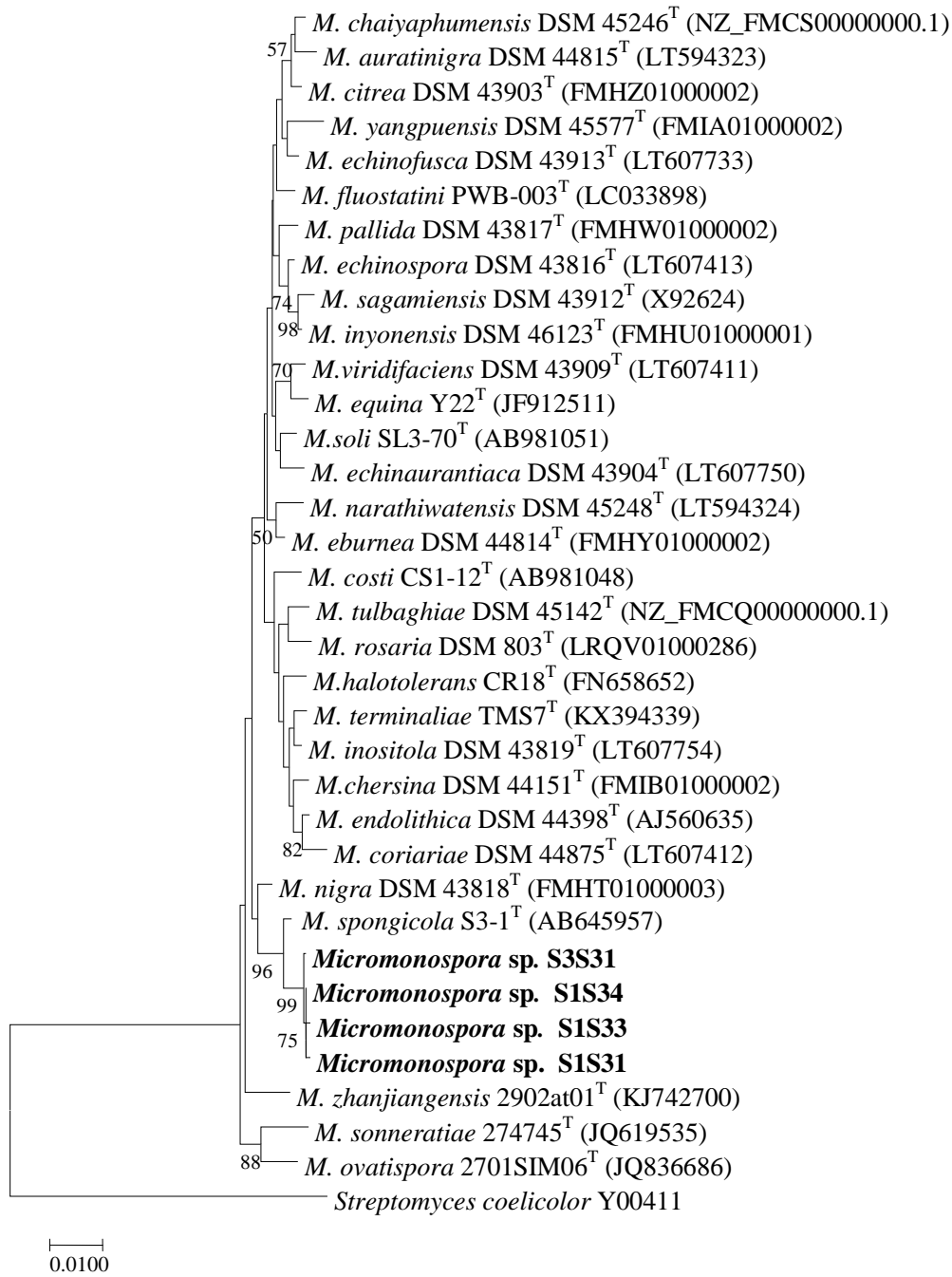


Şekil 4.4., *Micromonospora ovatispora* türü ile ilişkili test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soyağacı (nodlarda % 50'nin üzerinde bootsrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 1'dir ve dış grup olarak *Streptomyces coelicolor* Y00411 kullanılmıştır.

Çizelge 4.5., *Micromonospora* 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	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	
1 <i>Micromonospora S2S23</i> sp.	---	0	0	0	4	117	28	28	30	27	24	28	28	29	32	22	25	28	17	6	29	27	37	29	25	26	27	28	25	22	26	29	27	26	25	22	13	
2 <i>Micromonospora S2S22</i> sp.	100	---	0	0	4	117	28	28	30	27	24	28	28	29	32	22	25	28	17	6	29	27	37	29	25	26	27	28	25	22	26	29	27	26	25	22	13	
3 <i>Micromonospora SIS35</i> sp.	100	100	---	0	4	117	28	28	30	27	24	28	28	29	32	22	25	28	17	6	29	27	37	29	25	26	27	28	25	22	26	29	27	26	25	22	13	
4 <i>Micromonospora SIS23</i> sp.	100	100	100	---	4	117	28	28	30	27	24	28	28	29	32	22	25	28	17	6	29	27	37	29	25	26	27	28	25	22	26	29	27	26	25	22	13	
5 <i>Micromonospora SIS21</i> sp.	99,6	99,6	99,6	99,6	---	120	32	32	34	31	28	32	32	33	36	26	29	32	21	10	33	31	41	33	29	30	31	32	29	26	30	33	31	30	29	26	14	
6 <i>Micromonospora S2S31</i> sp.	91,1	91,1	91,1	91,1	90,9	---	126	129	129	128	133	130	131	129	135	130	134	127	129	116	134	127	138	131	128	126	130	130	129	126	127	133	127	128	130	127	22	
7 <i>M. zhanjiangensis</i>	97,8	97,8	97,8	97,8	97,5	90,5	---	19	23	19	26	22	28	25	29	23	29	23	22	24	28	15	32	24	25	24	26	23	20	16	23	26	16	28	23	21	13	
8 <i>M. tulbaghia</i>	97,8	97,8	97,8	97,8	97,5	90,2	98,5	---	9	20	33	18	18	11	28	32	36	15	27	28	32	14	24	15	15	14	15	22	26	15	15	21	18	17	16	18	13	
9 <i>M. terminaliae</i>	97,7	97,7	97,7	97,7	97,4	90,2	98,3	99,3	---	23	33	17	18	7	27	33	37	20	29	29	33	19	22	14	15	5	12	21	23	18	13	19	16	14	15	21	13	
10 <i>M. spongicola</i>	97,9	97,9	97,9	97,9	97,6	90,3	98,5	98,4	98,2	---	27	22	23	23	31	28	34	25	29	22	33	12	33	15	20	19	23	19	22	26	18	26	15	23	21	25	14	
11 <i>M. sonneratae</i>	98,1	98,1	98,1	98,1	97,8	89,9	98,0	98,5	97,5	97,9	---	28	32	33	33	12	22	31	19	20	32	28	40	29	29	30	34	28	27	26	27	32	25	34	29	27	14	
12 <i>M. soli</i>	97,8	97,8	97,8	97,8	97,5	90,2	98,3	98,6	98,7	98,3	98,8	---	14	19	20	27	29	21	18	26	21	16	30	18	11	14	18	11	13	17	7	9	11	14	12	15	13	
13 <i>M. sagamiensis</i>	97,8	97,8	97,8	97,8	97,5	90,1	97,8	98,6	98,6	98,2	97,5	98,9	---	20	28	33	36	23	26	27	31	19	33	19	5	15	19	14	24	19	8	16	17	16	17	21	13	
14 <i>M. rosaria</i>	97,8	97,8	97,8	97,8	97,5	90,2	98,1	99,1	99,4	98,2	97,5	98,5	98,4	---	29	33	34	20	29	28	31	19	23	14	17	12	17	18	25	18	15	18	16	12	17	22	13	
15 <i>M. rhizosphaerae</i>	97,5	97,5	97,5	97,5	97,2	89,8	97,8	97,8	97,9	97,6	97,5	98,4	97,8	97,8	---	31	34	33	22	32	19	28	40	29	25	28	27	20	25	23	22	23	23	29	19	23	13	
16 <i>M. polyrhachis</i>	98,3	98,3	98,3	98,3	98,0	90,2	98,2	99,5	97,5	97,8	99,0	97,9	97,5	97,5	97,5	97,6	97,6	---	16	32	17	18	31	27	40	34	30	30	34	29	26	25	26	31	26	32	30	28
17 <i>M. pisi</i>	98,1	98,1	98,1	98,1	97,8	89,9	97,8	97,2	97,2	97,4	98,3	97,8	97,4	97,4	97,4	98,7	---	33	15	26	28	32	40	34	33	34	37	28	25	27	28	27	28	34	30	26	13	
18 <i>M. peucetia</i>	97,8	97,8	97,8	97,8	97,5	90,4	98,2	98,8	98,4	98,1	97,6	98,4	98,2	98,2	97,5	97,5	97,5	---	26	26	29	19	21	19	20	21	17	24	20	18	20	26	19	21	17	13	14	
19 <i>M. pattaloongensis</i>	98,7	98,7	98,7	98,7	98,4	90,2	98,3	98,9	97,8	97,8	98,5	98,6	98,0	97,3	98,7	98,8	98,8	98,8	---	17	19	26	30	25	23	26	27	19	19	15	21	17	19	25	20	15	13	
20 <i>M. ovatispora</i>	99,5	99,5	99,5	99,5	99,2	91,2	98,1	98,8	97,8	97,3	98,4	98,0	98,9	97,8	97,5	98,6	98,0	98,0	---	30	24	35	29	24	25	29	27	25	23	23	30	23	27	27	25	7		
21 <i>M. olivasterospora</i>	97,8	97,8	97,8	97,8	97,5	89,9	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	98,4	97,6	97,6	98,5	97,6	97,8	97,8	98,5	---	28	36	31	30	32	31	20	13	23	27	24	25	28	25	20	14		

22	<i>M. nigra</i>	97, 9	97, 9	97, 9	97, 9	97, 6	90, 4	98, 8	98, 9	98, 5	99, 0	97, 8	98, 7	98, 5	98, 5	97, 8	97, 9	97, 5	98, 5	98, 0	98, 1	97, 8	---	29	15	16	16	15	14	17	24	14	18	9	19	16	19	13	4	
23	<i>M. nickeldurans</i>	97, 2	97, 2	97, 2	97, 2	96, 9	89, 6	97, 5	98, 1	98, 3	97, 5	96, 9	97, 7	97, 5	98, 2	96, 9	96, 9	96, 9	98, 4	97, 3	97, 3	97, 2	97, 8	---	22	30	23	23	30	29	27	28	29	24	28	26	22	14	0	
24	<i>M. narathiwatensis</i>	97, 8	97, 8	97, 8	97, 8	97, 5	90, 1	98, 1	98, 8	98, 8	98, 8	98, 8	97, 9	98, 8	98, 5	98, 9	97, 4	97, 4	98, 5	98, 1	97, 8	97, 6	98, 8	---	16	11	18	16	22	25	16	17	8	16	15	21	13	8		
25	<i>M. inyonensis</i>	98, 1	98, 1	98, 1	98, 1	97, 8	90, 3	98, 1	98, 8	98, 8	98, 4	97, 8	99, 1	99, 6	98, 7	98, 1	97, 7	97, 5	98, 4	98, 2	98, 1	97, 7	98, 7	---	12	16	11	21	16	5	13	14	13	14	18	13	2			
26	<i>M. inositola</i>	98, 0	98, 0	98, 0	98, 0	97, 7	90, 5	98, 1	98, 9	98, 6	99, 5	98, 7	98, 9	98, 8	99, 0	97, 8	98, 8	99, 7	97, 4	98, 0	98, 1	97, 5	98, 2	---	13	18	19	23	10	16	13	11	16	22	13	7				
27	<i>M. halotolerans</i>	97, 9	97, 9	97, 9	97, 9	97, 6	90, 2	98, 0	98, 8	99, 0	98, 2	97, 4	98, 6	98, 5	98, 7	97, 9	97, 4	97, 2	98, 7	97, 9	97, 8	98, 6	98, 8	---	19	20	20	15	19	16	16	11	15	13	4					
28	<i>M. fluostatini</i>	97, 8	97, 8	97, 8	97, 8	97, 5	90, 2	98, 3	98, 4	98, 4	98, 5	97, 8	99, 1	98, 6	98, 4	98, 8	97, 8	97, 8	98, 1	98, 9	97, 8	98, 7	98, 9	---	14	18	10	10	9	16	11	14	13	4						
29	<i>M. equina</i>	98, 1	98, 1	98, 1	98, 1	97, 8	90, 2	98, 4	98, 0	98, 2	98, 3	97, 9	99, 0	98, 1	98, 1	98, 1	98, 0	98, 4	98, 5	98, 1	98, 0	98, 7	98, 3	---	19	16	17	16	19	15	12	14	0							
30	<i>M. endophytica</i>	98, 3	98, 3	98, 3	98, 3	98, 0	90, 5	98, 7	98, 8	98, 6	98, 0	98, 7	98, 5	98, 6	98, 2	98, 1	98, 9	98, 6	98, 2	98, 2	98, 1	97, 9	98, 7	---	17	20	21	22	14	10	6	13	6							
31	<i>M. echinospora</i>	98, 0	98, 0	98, 0	98, 0	97, 7	90, 4	98, 2	98, 8	99, 0	98, 6	97, 9	99, 4	98, 3	98, 3	98, 0	97, 8	98, 4	98, 4	98, 2	98, 9	97, 8	98, 7	---	11	12	11	14	18	4	13	4								
32	<i>M. echinaurantiaca</i>	97, 8	97, 8	97, 8	97, 8	97, 5	89, 9	98, 4	98, 5	98, 0	98, 5	97, 3	99, 7	98, 6	98, 2	97, 9	98, 7	98, 0	98, 7	97, 1	98, 8	97, 6	98, 7	---	11	15	15	17	13	3										
33	<i>M. eburnea</i>	97, 9	97, 9	97, 9	97, 9	97, 6	90, 4	98, 7	98, 6	98, 7	98, 8	98, 1	99, 1	98, 7	98, 2	98, 0	98, 8	98, 5	98, 5	98, 2	98, 1	98, 3	99, 1	---	17	11	17	13	4											
34	<i>M. costi</i>	98, 0	98, 0	98, 0	98, 0	97, 7	90, 3	98, 8	98, 7	98, 9	98, 2	97, 4	98, 9	98, 7	98, 0	99, 8	97, 5	97, 4	98, 4	98, 1	98, 9	97, 8	98, 7	---	21	24	13	5												
35	<i>M. chaiyaphumensis</i>	98, 1	98, 1	98, 1	98, 1	97, 8	90, 2	98, 2	98, 7	98, 8	98, 4	97, 8	99, 0	98, 7	98, 5	98, 7	97, 7	97, 7	98, 4	98, 9	98, 1	98, 7	98, 0	---	7	8	13	8												
36	<i>M. auratinigra</i>	98, 3	98, 3	98, 3	98, 3	98, 0	90, 4	98, 4	98, 6	98, 4	98, 1	97, 9	98, 8	98, 3	98, 2	98, 0	98, 8	98, 1	98, 4	98, 5	98, 3	98, 4	---	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9			
37	<i>S. coelicolor</i>	89, 7	89, 7	89, 7	89, 7	89, 4	83, 3	89, 6	89, 5	89, 7	89, 3	89, 3	89, 3	89, 6	89, 6	90, 8	89, 6	89, 6	89, 1	89, 6	89, 6	89, 4	89, 9	89, 6	89, 6	89, 6	89, 9	89, 9	89, 9	89, 4	89, 7	89, 9	89, 9	89, 9	89, 9	89, 8	89, 8	89, 6	89, 5	---

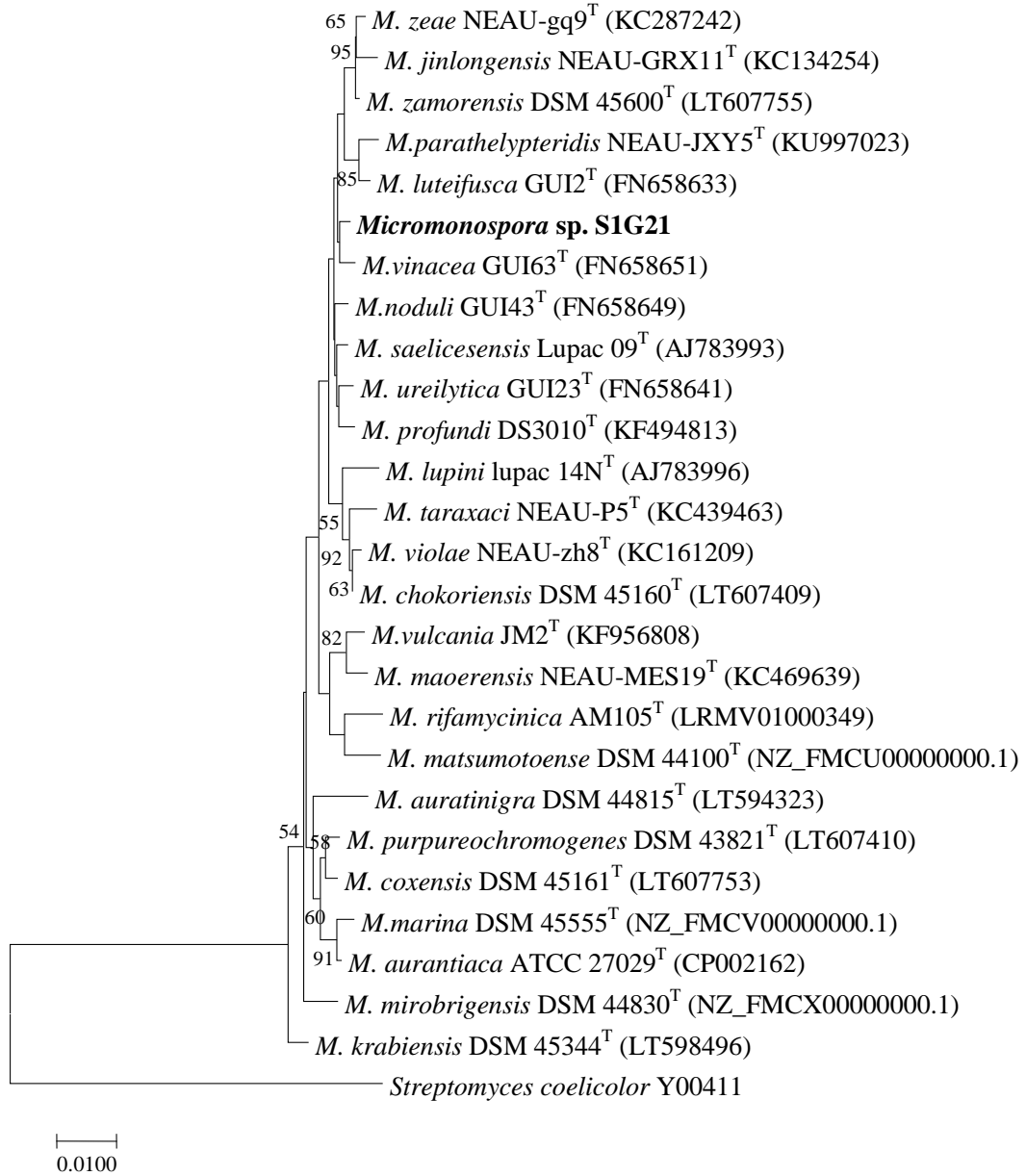


Şekil 4.5., *Micromonospora spongicola* türü ile ilişkili test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soyağacı (nodlarda % 50'nin üzerinde bootstrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 1'dir ve dış grup olarak *Streptomyces coelicolor* Y00411 kullanılmıştır.

Çizelge 4.6., *Micromonospora* 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	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35						
1	<i>Micromonospora</i> sp. S1S34	---	1	1	1	27	23	28	23	28	8	30	27	29	25	21	29	16	21	26	24	29	26	27	23	26	26	30	24	28	27	28	28	27	31	141					
2	<i>Micromonospora</i> sp. S1S33	99, 9	---	2	2	28	24	29	24	29	9	31	28	30	26	22	30	17	22	27	25	30	27	28	24	27	27	31	25	29	28	29	29	28	32	142					
3	<i>Micromonospora</i> sp. S1S31	99, 9	99, 8	---	2	28	24	29	24	29	9	31	28	30	26	22	30	17	22	27	25	30	27	28	24	27	27	31	25	29	28	29	29	28	32	142					
4	<i>Micromonospora</i> sp. S3S31	99, 9	99, 8	---	26	24	27	24	28	7	29	26	30	25	20	29	15	22	27	24	29	25	26	23	25	27	29	23	28	27	29	28	28	32	141						
5	<i>M. zhanjiangensis</i>	97, 9	97, 9	97, 9	98, 0	---	26	26	21	24	21	28	24	31	27	26	25	17	28	28	25	27	27	21	25	26	25	27	19	29	29	25	28	27	24	142					
6	<i>M. yangpuensis</i>	98, 2	98, 2	98, 2	98, 2	98, 0	---	20	22	28	21	38	21	22	27	19	36	20	25	19	27	26	14	18	23	20	12	23	20	26	25	18	30	17	17	148					
7	<i>M. viridifaciens</i>	97, 9	97, 8	97, 8	97, 9	98, 0	98, 5	---	26	22	24	35	13	23	23	12	33	17	18	20	17	19	14	8	21	15	15	12	11	18	25	17	21	17	19	141					
8	<i>M. tulbaghiae</i>	98, 2	98, 2	98, 2	98, 2	98, 4	98, 3	---	10	20	33	18	21	11	23	29	14	17	18	15	16	25	27	11	18	19	22	21	18	16	17	15	18	21	143						
9	<i>M. terminaliae</i>	97, 9	97, 8	97, 8	97, 9	98, 2	97, 3	98, 2	99, 2	---	24	34	18	20	8	20	31	20	17	17	5	12	24	23	10	15	21	19	18	14	14	17	7	18	23	142					
10	<i>M. spongicola</i>	99, 4	99, 3	99, 3	99, 4	98, 4	98, 4	98, 2	98, 5	2	---	27	22	26	23	21	23	12	17	23	20	24	22	23	18	21	22	27	18	24	22	24	23	23	28	144					
11	<i>M. sonneratae</i>	97, 7	97, 6	97, 6	97, 7	97, 1	97, 3	97, 4	97, 5	97, 9	---	28	35	33	34	21	28	31	32	31	35	31	28	37	30	32	33	28	35	41	33	36	31	30	146						
12	<i>M. soli</i>	97, 9	97, 9	97, 9	98, 0	98, 4	98, 0	99, 6	98, 3	98, 9	98, 3	97, 9	---	15	19	14	27	16	18	12	15	19	12	14	21	8	10	10	12	17	27	11	20	12	16	143					
13	<i>M. sagamiensis</i>	97, 8	97, 7	97, 7	97, 7	97, 6	98, 3	98, 2	98, 4	98, 5	98, 0	97, 3	98, 8	---	23	15	31	22	20	5	17	21	15	24	23	8	16	18	17	17	29	15	22	18	21	147					
14	<i>M. rosaria</i>	98, 1	98, 0	98, 0	98, 1	97, 9	97, 9	98, 2	99, 1	98, 4	98, 2	97, 5	98, 5	---	19	29	19	16	20	13	18	21	26	16	18	22	19	19	13	20	20	13	19	25	141						
15	<i>M. pallida</i>	98, 4	98, 3	98, 3	98, 5	98, 0	98, 5	98, 1	98, 2	98, 5	98, 4	97, 4	98, 9	98, 8	98, 5	---	32	17	17	12	17	20	10	15	19	7	15	15	13	15	25	15	20	19	19	140					
16	<i>M. ovatispora</i>	97, 8	97, 7	97, 7	97, 8	98, 1	97, 3	97, 5	97, 8	97, 2	98, 4	97, 9	97, 6	97, 7	97, 8	97, 6	---	25	32	28	27	31	31	27	32	27	30	32	27	29	37	31	33	30	29	141					
17	<i>M. nigra</i>	98, 8	98, 7	98, 7	98, 8	98, 7	98, 5	98, 7	98, 9	98, 5	99, 1	97, 9	98, 8	98, 3	98, 5	98, 1	---	17	19	17	16	17	18	16	17	16	19	12	20	20	18	19	18	22	140						
18	<i>M. narathiwatensis</i>	98, 4	98, 3	98, 3	98, 3	97, 9	98, 1	98, 6	98, 7	98, 7	97, 6	98, 6	98, 5	98, 8	98, 7	97, 7	---	17	14	21	17	23	19	17	13	20	9	18	22	16	15	15	22	145							
19	<i>M. inyonensis</i>	98, 0	97, 9	97, 9	97, 9	97, 9	98, 5	98, 5	98, 6	98, 7	98, 2	97, 6	99, 1	99, 6	99, 5	99, 1	98, 7	99, 9	98, 5	99, 1	98, 5	97, 9	98, 7	---	14	18	12	21	20	5	13	15	14	14	26	12	19	15	18	142	
20	<i>M. inositola</i>	98, 2	98, 1	98, 1	98, 2	97, 1	97, 9	98, 7	98, 8	98, 6	98, 5	97, 6	98, 8	98, 7	99, 0	98, 7	99, 9	98, 7	98, 9	98, 9	98, 9	98, 9	---	13	21	19	10	12	18	16	15	11	14	18	8	19	24	143			
21	<i>M. halotolerans</i>	97, 7	97, 7	97, 7	97, 7	97, 9	98, 0	98, 8	98, 8	99, 2	98, 3	97, 3	98, 5	98, 4	98, 6	98, 5	97, 6	98, 8	98, 4	98, 5	98, 6	98, 4	98, 8	98, 6	99, 9	---	22	20	11	17	19	19	18	16	15	15	10	14	17	141	
22	<i>M. fluostatini</i>	98, 0	97, 9	97, 9	98, 1	97, 9	98, 9	98, 1	98, 1	98, 3	98, 6	97, 6	99, 1	98, 8	98, 4	99, 2	97, 6	98, 7	98, 7	98, 7	98, 9	98, 4	99, 9	98, 3	---	15	24	11	11	13	10	18	30	12	23	12	15	141			
23	<i>M. equina</i>	97, 9	97, 9	97, 9	98, 0	98, 4	98, 6	99, 4	97, 9	98, 2	98, 2	97, 9	98, 9	98, 2	98, 0	98, 8	97, 6	98, 2	98, 2	98, 9	98, 6	98, 4	98, 5	98, 4	98, 5	98, 5	98, 5	98, 8	---	21	16	16	17	16	21	25	18	22	16	12	144
24	<i>M. endolithica</i>	98, 2	98, 2	98, 2	98, 2	98, 1	98, 2	98, 4	99, 1	98, 2	98, 6	97, 2	98, 4	98, 2	98, 5	98, 6	97, 8	98, 5	98, 5	98, 2	98, 1	99, 2	98, 2	---	18	21	22	20	18	8	16	9	19	20	147						
25	<i>M. echinospora</i>	98, 0	97, 9	97, 9	98, 1	98, 0	98, 5	98, 8	98, 6	98, 8	98, 4	97, 4	99, 4	98, 6	98, 4	99, 9	98, 7	98, 7	98, 6	99, 1	98, 7	99, 9	98, 1	99, 9	98, 8	98, 6	---	12	13	12	12	24	11	17	15	18	142				
26	<i>M. echinofusca</i>	98, 0	97, 9	97, 9	97, 9	98, 1	99, 1	98, 8	98, 5	98, 4	98, 3	97, 6	99, 2	98, 8	98, 3	98, 8	97, 7	98, 8	99, 0	99, 0	98, 6	98, 5	99, 1	98, 8	98, 4	---	16	10	20	23	8	20	8	13	147						

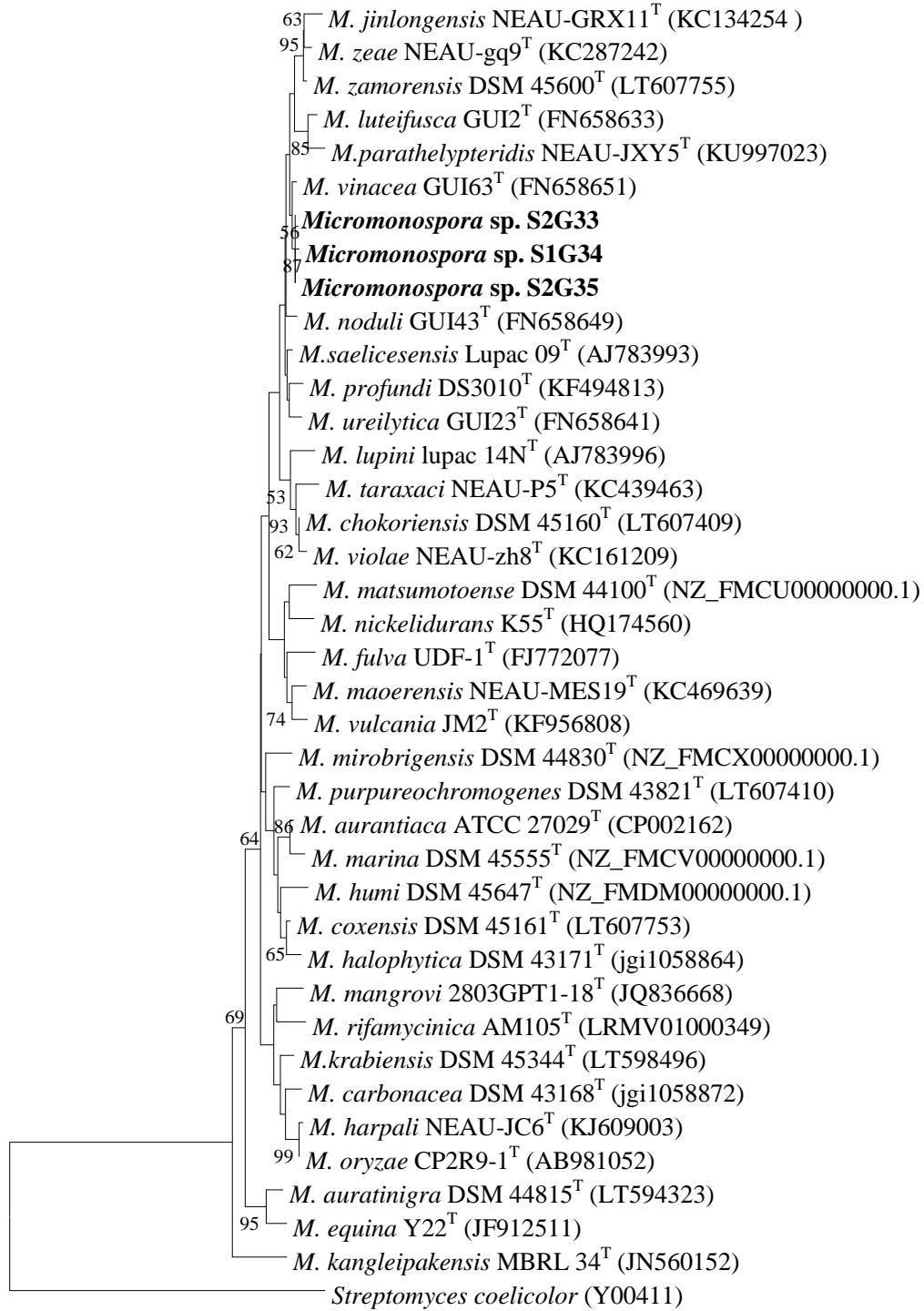
27	<i>M. echinaurantiaca</i>	97, 7	97, 6	97, 6	97, 8	97, 9	98, 2	99, 1	98, 3	98, 5	97, 9	97, 5	99, 2	98, 6	98, 5	98, 8	97, 6	98, 5	98, 8	98, 8	98, 5	99, 0	98, 7	98, 3	99, 0	98, 8	---	13	15	28	17	21	18	19	139		
28	<i>M. eburnea</i>	98, 2	98, 1	98, 1	98, 2	98, 5	98, 5	99, 1	98, 4	98, 6	98, 6	97, 9	99, 1	98, 7	98, 5	99, 0	97, 9	99, 3	98, 9	98, 8	98, 6	99, 2	98, 8	98, 5	99, 1	99, 2	99, 0	---	18	24	10	17	12	17	141		
29	<i>M. costi</i>	97, 9	97, 8	97, 8	97, 9	97, 8	98, 0	98, 6	98, 6	98, 9	98, 2	97, 3	98, 7	98, 7	99, 0	98, 8	97, 8	98, 5	98, 9	99, 1	98, 8	98, 6	98, 4	98, 6	99, 1	98, 5	98, 8	99, 0	---	22	21	15	23	25	141		
30	<i>M. coriariae</i>	97, 9	97, 9	97, 9	97, 9	97, 8	98, 1	98, 1	98, 8	98, 9	98, 3	96, 9	97, 9	97, 8	98, 5	98, 1	97, 2	98, 5	98, 3	98, 0	98, 9	98, 8	97, 1	98, 4	99, 2	98, 2	98, 9	97, 0	98, 3	---	22	11	23	26	149		
31	<i>M. citrea</i>	97, 9	97, 8	97, 8	97, 8	98, 1	98, 6	98, 7	98, 7	98, 7	98, 2	97, 5	99, 1	98, 8	98, 5	98, 8	97, 6	98, 6	98, 8	99, 1	98, 6	98, 8	99, 1	98, 6	99, 8	99, 1	99, 4	98, 7	99, 4	98, 3	---	15	6	9	147		
32	<i>M. chersina</i>	97, 9	97, 8	97, 8	97, 9	97, 9	97, 7	98, 4	98, 8	99, 4	98, 2	97, 3	98, 5	98, 3	99, 0	98, 5	97, 5	98, 5	98, 8	98, 5	99, 4	99, 2	98, 2	99, 3	99, 3	98, 7	98, 5	98, 4	99, 0	98, 8	99, 1	98, 8	---	16	21	145	
33	<i>M. chaiyaphumensis</i>	97, 9	97, 9	97, 9	97, 9	97, 9	98, 7	98, 7	98, 6	98, 6	98, 2	97, 6	99, 1	98, 6	98, 5	98, 5	97, 7	98, 6	98, 8	98, 8	98, 5	99, 1	98, 8	98, 5	98, 8	99, 4	98, 4	98, 6	99, 0	98, 2	98, 2	98, 2	99, 5	98, 8	---	8	146
34	<i>M. auratinigra</i>	97, 6	97, 6	97, 6	97, 6	98, 2	98, 7	98, 5	98, 4	98, 2	97, 9	97, 7	98, 8	98, 4	98, 1	98, 5	97, 8	98, 3	98, 3	98, 6	98, 2	98, 7	98, 8	99, 1	98, 5	98, 6	99, 0	98, 5	99, 0	98, 1	98, 3	99, 4	98, 4	---	146		
35	<i>Streptomyces coelicolor</i>	89, 4	89, 4	89, 4	89, 4	89, 4	88, 9	89, 4	89, 3	89, 4	89, 2	89, 1	89, 3	89, 0	89, 4	89, 5	89, 4	89, 5	89, 1	89, 4	89, 3	89, 4	89, 4	89, 2	89, 0	89, 4	89, 0	89, 6	89, 0	89, 4	88, 8	89, 0	89, 1	89, 1	89, 1	---	



Şekil 4.6., *Micromonospora ureilytica* türü ile ilişkili test organizması 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 *Streptomyces coelicolor* Y00411 kullanılmıştır.

Çizelge 4.7., *Micromonospora* 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	20	21	22	23	24	25	26	27	
1	<i>Micromonospora</i> sp. S1G21	---	9	8	17	13	6	6	16	8	24	17	7	14	8	18	23	23	20	11	20	21	12	20	11	22	20	159	
2	<i>M. zeae</i>	99,3	---	3	17	18	9	9	21	11	23	22	14	13	11	25	23	28	20	10	21	20	7	21	16	28	23	154	
3	<i>M. zamorensis</i>	99,4	99,7	---	16	16	8	8	19	8	21	19	13	12	10	23	22	26	19	9	19	19	6	20	14	27	21	153	
4	<i>M. vulcania</i>	98,7	98,7	98,8	---	22	17	19	27	17	25	26	18	19	17	29	17	30	9	18	27	24	19	24	20	30	27	159	
5	<i>M. violae</i>	99,0	98,7	98,8	98,4	---	13	13	9	10	25	22	10	21	11	14	24	22	23	20	13	21	21	23	2	27	21	156	
6	<i>M. vinacea</i>	99,5	99,3	99,4	98,7	99,0	---	10	16	8	26	17	9	14	8	20	25	25	20	11	20	21	12	20	11	24	20	158	
7	<i>M. ureilytica</i>	99,5	99,3	99,4	98,6	99,0	99,2	---	16	6	24	20	7	16	8	20	21	21	20	13	18	23	12	20	11	23	20	158	
8	<i>M. taraxaci</i>	98,8	98,4	98,6	98,0	99,3	98,8	98,8	---	13	28	25	15	24	14	18	29	27	28	23	16	25	24	28	7	32	24	160	
9	<i>M. saelicesensis</i>	99,4	99,2	99,4	98,7	99,2	99,4	99,5	99,0	---	23	16	7	14	6	19	21	20	18	13	15	21	14	18	8	23	17	158	
10	<i>M. rifamycinica</i>	98,2	98,3	98,4	98,2	98,2	98,1	98,2	97,9	98,3	---	23	27	24	20	23	17	27	25	22	28	17	24	20	23	30	22	153	
11	<i>M. purpureochromogenes</i>	98,7	98,4	98,6	98,1	98,4	98,7	98,5	98,2	98,8	98,3	---	19	19	18	13	23	14	26	18	23	19	23	6	20	18	9	154	
12	<i>M. profundi</i>	99,4	98,9	99,0	98,7	99,2	99,3	99,4	98,9	99,4	98,0	98,6	---	17	7	18	22	20	19	16	19	23	17	19	8	21	21	156	
13	<i>M. parathelypteridis</i>	98,9	99,0	99,1	98,6	98,4	98,9	98,8	98,2	98,9	98,2	98,6	98,7	---	10	22	27	23	22	7	18	19	16	16	19	31	18	156	
14	<i>M. noduli</i>	99,4	99,2	99,2	98,7	99,2	99,4	99,4	98,9	99,5	98,5	98,7	99,4	99,2	---	20	21	21	18	11	18	17	14	16	9	24	18	154	
15	<i>M. mirobrigensis</i>	98,7	98,2	98,3	97,9	98,9	98,5	98,5	98,7	98,6	98,3	99,0	98,7	98,4	98,5	---	24	18	28	21	16	16	28	15	12	25	16	151	
16	<i>M. matsumotoense</i>	98,3	98,3	98,4	98,7	98,2	98,2	98,4	97,9	98,4	98,7	98,3	98,4	98,0	98,4	98,2	---	26	14	24	29	22	25	20	22	28	25	156	
17	<i>M. marina</i>	98,3	97,9	98,1	97,8	98,4	98,2	98,4	98,0	98,5	98,0	98,9	98,5	98,3	98,4	98,7	98,1	---	29	22	23	25	29	11	20	20	5	152	
18	<i>M. maoerensis</i>	98,5	98,5	98,6	99,3	98,3	98,5	98,5	97,9	98,7	98,2	98,1	98,6	98,4	98,7	97,9	98,9	97,9	---	21	28	25	22	23	21	29	26	154	
19	<i>M. luteifusca</i>	99,2	99,2	99,3	98,7	98,5	99,2	99,0	98,3	99,0	98,4	98,7	98,8	99,4	99,2	98,4	98,2	98,4	98,4	---	17	20	13	17	18	30	17	152	
20	<i>M. lupini</i>	98,5	98,4	98,6	98,0	99,0	98,5	98,7	98,8	98,9	97,9	98,3	98,6	98,7	98,7	98,8	97,9	98,3	97,9	98,7	---	25	24	24	11	35	20	158	
21	<i>M. krabiensis</i>	98,4	98,5	98,6	98,2	98,4	98,4	98,3	98,2	98,4	98,7	98,6	98,3	98,6	98,7	98,8	98,4	98,2	98,2	98,5	98,2	---	23	15	19	25	21	145	
22	<i>M. jinlongensis</i>	99,1	99,4	99,5	98,6	98,4	99,1	99,1	98,2	98,9	98,2	98,3	98,7	98,8	98,9	97,9	98,2	97,9	98,4	99,0	98,2	98,3	---	22	19	29	24	157	
23	<i>M. coxensis</i>	98,5	98,4	98,5	98,2	98,3	98,5	98,5	97,9	98,7	98,5	99,5	98,6	98,8	98,8	98,9	98,5	99,2	98,3	98,7	98,2	98,9	98,4	---	21	17	8	151	
24	<i>M. chokoriensis</i>	99,2	98,8	98,9	98,5	99,8	99,2	99,2	99,4	99,4	98,3	98,5	99,4	98,6	99,3	99,1	98,4	98,5	98,4	98,7	99,2	98,6	98,6	98,4	---	25	19	154	
25	<i>M. auratinigra</i>	98,4	97,9	98,0	97,8	98,0	98,2	98,3	97,6	98,3	97,8	98,7	98,4	97,7	98,2	98,2	97,9	98,5	97,9	97,8	97,4	98,2	97,9	98,7	98,2	---	23	151	
26	<i>M. aurantiaca</i>	98,5	98,3	98,4	98,0	98,4	98,5	98,5	98,2	98,7	98,4	99,3	98,4	98,7	98,7	98,8	98,2	99,6	98,1	98,7	98,5	98,4	98,2	99,4	98,6	98,3	---	151	
27	<i>S. coelicolor</i>	88,5	88,9	89,0	88,5	88,7	88,6	88,6	88,4	88,6	89,0	88,9	88,7	88,7	88,9	88,7	89,0	88,7	89,0	88,9	89,0	88,6	89,5	88,7	89,1	88,9	89,1	89,1	---

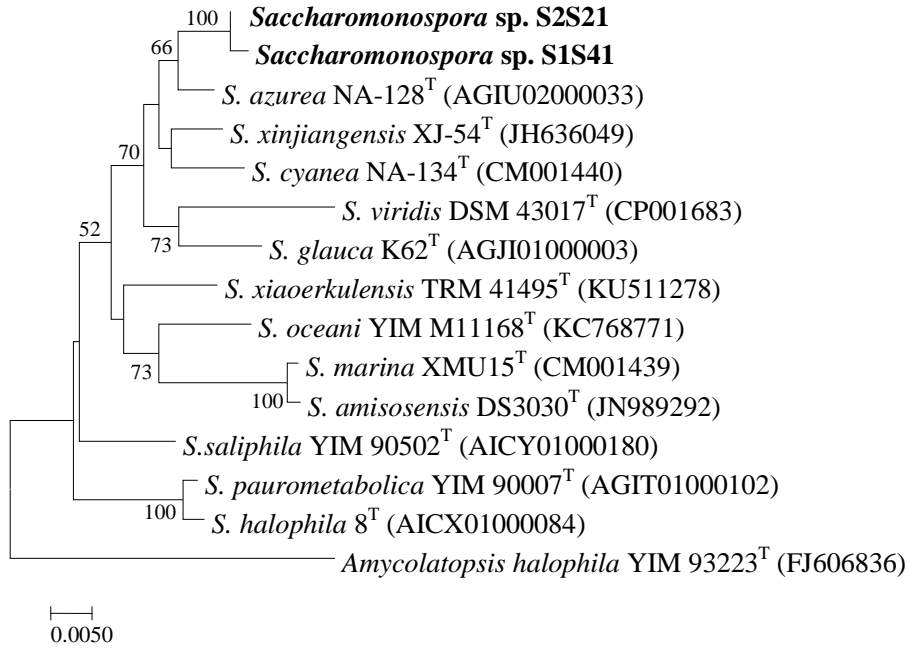


Şekil 4.7., *Micromonospora vinacea* türü ile ilişkili test organizmaları ve tip türlerinin 16S rRNA baz dizi analizine dayalı neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) filogenetik soyağacı (nodlarda % 50'nin üzerinde bootstrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 1'dir ve dış grup olarak *Streptomyces coelicolor* Y00411 kullanılmıştır.

Çizelge 4.8., *Micromonospora* 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	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39		
1	<i>Micromonospora</i> sp. S2G35	---	0	1	7	6	15	11	2	6	14	5	22	15	7	12	23	6	20	18	21	23	17	23	9	16	19	29	10	24	24	23	23	27	18	9	23	22	18	15	6
2	<i>Micromonospora</i> sp. S2G33	1	---	1	7	6	15	11	2	6	14	5	22	15	7	12	23	6	20	18	21	23	17	23	9	16	19	29	10	24	24	23	23	27	18	9	23	22	18	15	6
3	<i>Micromonospora</i> sp. SIG34	99, 9	99, 9	---	8	7	16	12	3	7	15	6	23	16	8	13	24	7	21	19	22	24	18	24	10	17	20	30	11	25	25	24	24	28	19	10	24	23	19	15	7
4	<i>M. zeae</i>	99, 4	99, 4	99, 4	---	3	17	18	7	9	21	10	23	22	14	13	24	11	24	25	23	28	19	27	10	19	20	29	7	29	25	26	25	30	21	16	26	28	23	15	3
5	<i>M. zamorensis</i>	99, 5	99, 5	99, 4	99, 7	---	16	16	6	8	19	7	21	19	13	12	22	10	23	23	22	26	18	25	9	17	19	28	6	28	23	25	24	29	20	14	24	27	21	15	2
6	<i>M. vulcania</i>	98, 8	98, 8	98, 7	98, 8	98, 8	---	22	15	19	27	16	25	26	18	19	26	17	15	29	17	30	8	26	18	25	24	42	19	28	27	29	13	32	24	20	27	30	27	15	8
7	<i>M. violae</i>	99, 1	99, 1	99, 1	98, 6	98, 8	98, 3	---	11	13	9	9	25	22	10	21	21	11	27	14	24	22	22	20	20	11	21	35	21	27	22	23	24	24	23	2	18	27	21	15	5
8	<i>M. vinacea</i>	99, 8	99, 8	99, 7	99, 4	99, 5	98, 8	99, 1	---	8	14	5	24	15	7	12	23	6	20	18	23	23	17	23	9	16	19	29	10	24	24	23	23	27	18	9	23	22	18	15	5
9	<i>M. ureilytica</i>	99, 5	99, 5	99, 4	99, 3	99, 4	98, 6	99, 0	99, 4	---	16	5	24	20	7	16	26	8	22	20	21	21	19	25	13	16	23	32	12	27	27	25	23	25	20	11	25	23	20	15	7
10	<i>M. taraxaci</i>	98, 9	98, 9	98, 8	98, 4	98, 6	98, 3	99, 3	98, 9	98, 8	---	12	28	25	15	24	24	14	30	18	29	27	27	23	23	14	25	38	24	32	25	28	29	29	28	7	23	32	24	15	9
11	<i>M. saelicesensis</i>	99, 6	99, 6	99, 5	99, 2	99, 4	98, 8	99, 3	99, 6	99, 6	---	22	15	6	13	22	5	19	18	20	19	16	21	12	12	20	33	13	24	23	22	20	24	17	7	21	22	16	15	6	
12	<i>M. rifamycinica</i>	98, 3	98, 3	98, 3	98, 3	98, 4	98, 1	98, 2	98, 2	98, 2	97, 9	98, 3	---	23	27	24	12	20	19	23	17	27	24	15	22	26	17	39	24	23	13	24	28	31	20	23	18	30	22	15	2
13	<i>M. purpureochromogenes</i>	98, 8	98, 8	98, 8	98, 3	98, 6	98, 3	98, 3	98, 8	98, 5	98, 1	98, 8	98, 3	---	19	19	18	18	16	13	23	14	25	22	18	21	19	32	23	14	19	11	23	26	6	20	20	18	9	15	3
14	<i>M. profundi</i>	99, 4	99, 4	99, 4	98, 9	99, 0	98, 2	99, 4	99, 4	99, 4	98, 8	99, 5	98, 0	98, 6	---	17	25	7	23	18	22	20	18	26	16	17	23	36	17	25	26	22	22	24	19	8	22	21	15	5	
15	<i>M. parathelypteridis</i>	99, 1	99, 1	99, 0	99, 1	99, 6	98, 4	99, 1	99, 8	98, 2	98, 0	99, 2	98, 6	98, 7	---	23	10	24	22	27	23	21	26	7	16	19	30	16	24	24	21	19	33	16	19	25	31	18	15	5	
16	<i>M. oryzae</i>	98, 3	98, 3	98, 2	98, 2	98, 3	98, 4	98, 3	98, 3	98, 0	98, 2	98, 3	99, 1	98, 6	98, 1	98, 3	---	20	17	19	22	24	25	11	23	22	10	36	25	19	1	15	25	23	17	19	8	27	19	14	6
17	<i>M. noduli</i>	99, 5	99, 5	99, 4	99, 1	99, 2	98, 7	99, 1	99, 5	99, 4	98, 9	98, 6	99, 5	98, 6	98, 4	98, 2	98, 5	---	18	20	21	21	17	20	11	16	17	31	14	23	21	21	19	27	16	9	21	24	18	15	3
18	<i>M. nickelidurans</i>	98, 5	98, 4	98, 4	98, 2	98, 3	98, 8	98, 5	98, 3	98, 7	97, 6	98, 6	98, 3	98, 8	98, 3	98, 2	98, 7	---	24	14	23	15	15	23	30	18	39	26	17	18	18	16	28	13	25	22	23	18	15	1	
19	<i>M. mirobrigensis</i>	98, 6	98, 6	98, 6	98, 1	98, 3	98, 8	98, 9	98, 6	98, 5	98, 6	98, 3	98, 0	99, 6	98, 3	98, 6	98, 5	---	24	18	27	19	21	14	16	30	28	19	20	15	27	22	15	12	17	25	16	15	0		
20	<i>M. matsumotoense</i>	98, 4	98, 4	98, 3	98, 3	98, 3	98, 7	98, 2	98, 3	98, 4	97, 8	98, 5	98, 7	98, 3	98, 3	98, 3	98, 3	---	26	13	20	24	27	22	40	25	18	23	23	16	27	20	22	24	28	25	15	5			
21	<i>M. marina</i>	98, 3	98, 3	98, 2	97, 9	98, 0	97, 3	98, 3	98, 4	98, 0	98, 6	98, 9	98, 5	98, 3	98, 2	98, 4	98, 3	---	28	24	22	21	25	33	29	14	25	33	29	14	25	12	20	24	11	20	23	20	5	15	1
22	<i>M. maoerensis</i>	98, 7	98, 7	98, 6	98, 6	98, 6	98, 4	98, 3	98, 7	98, 6	98, 0	98, 8	98, 2	98, 1	98, 6	98, 4	---	23	20	25	24	42	21	25	26	27	13	30	22	20	26	28	25	4	15	4					
23	<i>M. mangrovi</i>	98, 3	98, 3	98, 2	98, 1	98, 1	98, 5	98, 3	98, 1	98, 3	98, 4	98, 8	98, 3	98, 0	98, 8	98, 0	99, 5	98, 8	98, 6	98, 5	98, 2	98, 3	---	25	23	14	39	30	18	12	20	24	27	20	18	14	30	19	15	0	
24	<i>M. luteifusca</i>	99, 3	99, 3	99, 2	99, 2	99, 3	98, 6	98, 5	99, 3	99, 0	98, 3	99, 1	98, 3	98, 6	98, 8	98, 4	99, 3	98, 1	98, 3	98, 4	98, 2	98, 3	---	15	20	27	13	23	24	22	18	32	17	18	24	30	17	15	1		

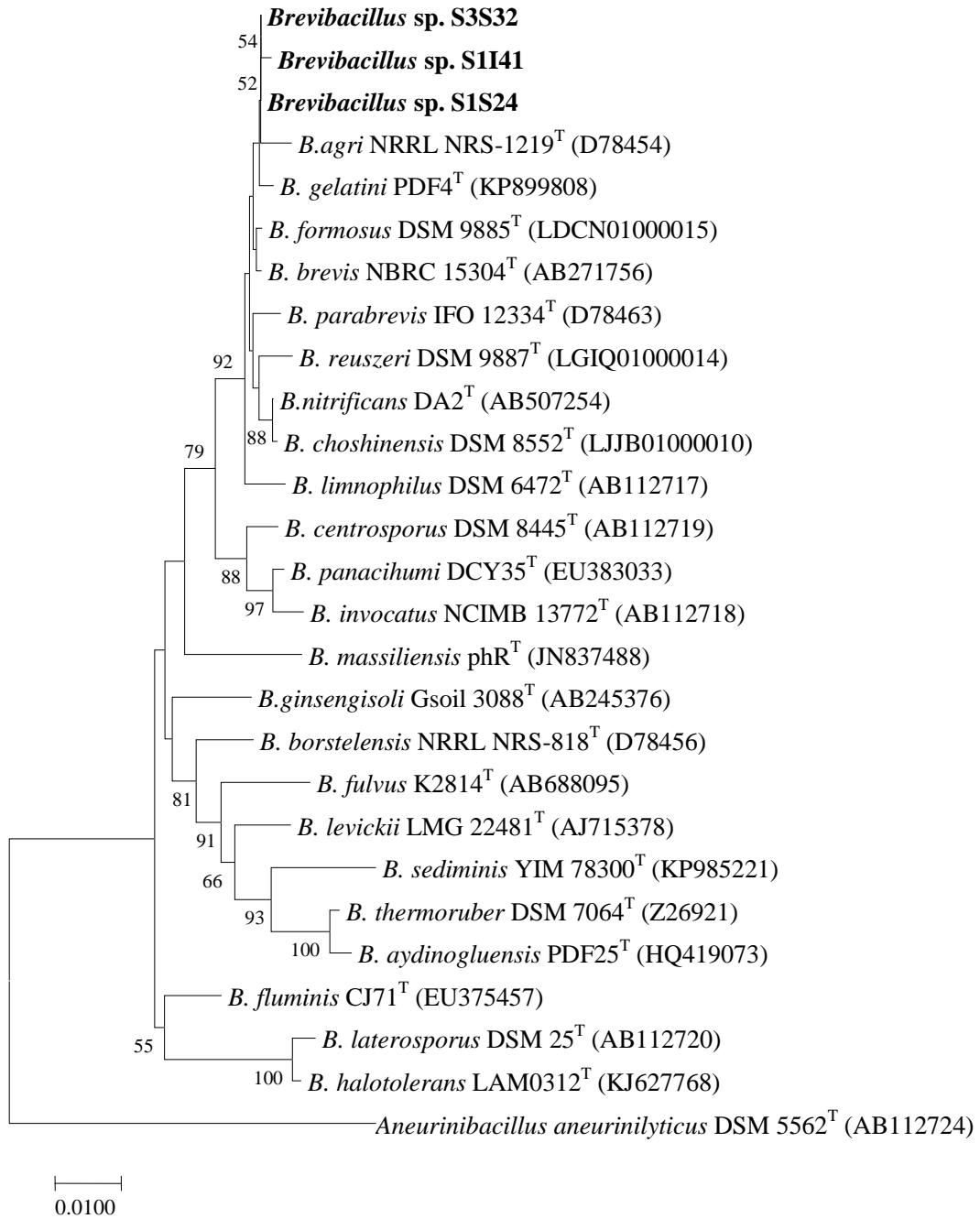
25	<i>M. lupini</i>	98, 8	98, 8	98, 7	98, 6	98, 7	98, 1	99, 1	98, 8	98, 8	98, 9	99, 1	98, 0	98, 4	98, 7	98, 8	98, 3	98, 8	97, 7	98, 9	98, 0	98, 4	98, 1	98, 3	98, 8	---	23	33	22	27	23	22	21	27	22	9	21	33	18	15	5		
26	<i>M. krabiensis</i>	98, 6	98, 5	98, 5	98, 6	98, 2	98, 6	98, 3	98, 1	98, 5	98, 7	98, 6	98, 3	98, 6	98, 3	99, 2	98, 7	98, 6	98, 8	98, 3	98, 1	98, 2	98, 9	98, 5	98, 3	98, 5	---	32	23	21	11	15	24	18	15	19	8	25	21	14	4		
27	<i>M. kangleipakensis</i>	97, 8	97, 8	97, 7	97, 8	97, 9	96, 4	97, 8	97, 9	97, 5	97, 1	97, 6	97, 3	97, 7	97, 3	97, 7	97, 1	97, 7	97, 0	97, 5	97, 9	96, 1	97, 0	98, 5	97, 6	---	32	30	37	27	40	28	30	33	38	27	32	14	9				
28	<i>M. jinlongensis</i>	99, 2	99, 1	99, 4	99, 5	98, 6	98, 4	99, 2	99, 1	98, 2	99, 0	98, 2	98, 3	98, 7	98, 8	98, 1	98, 9	98, 0	97, 9	98, 1	98, 8	98, 4	98, 7	99, 0	98, 3	98, 3	97, 6	---	30	26	27	27	33	22	19	29	29	24	15	6			
29	<i>M. humi</i>	98, 2	98, 1	98, 8	97, 9	97, 9	98, 0	98, 2	98, 0	98, 6	98, 2	98, 3	98, 9	98, 1	98, 2	98, 6	98, 3	98, 7	98, 6	98, 6	98, 9	98, 1	98, 6	98, 3	98, 0	98, 4	97, 7	---	20	13	18	25	10	25	24	20	15	2					
30	<i>M. harpali</i>	98, 2	98, 1	98, 1	98, 3	98, 0	98, 3	98, 2	98, 0	98, 1	98, 3	99, 0	98, 6	98, 0	98, 2	99, 4	98, 6	98, 5	98, 3	98, 1	98, 0	98, 1	98, 2	98, 3	98, 1	98, 2	97, 0	98, 5	---	16	26	24	18	20	9	28	20	14	7				
31	<i>M. halophytica</i>	98, 3	98, 2	98, 0	98, 1	98, 8	97, 3	98, 3	98, 1	97, 3	98, 2	98, 1	99, 3	98, 4	98, 8	98, 4	98, 8	98, 3	98, 1	98, 5	98, 0	98, 5	98, 3	98, 3	98, 8	98, 0	98, 8	---	21	24	5	21	17	22	9	14	7						
32	<i>M. fulva</i>	98, 3	98, 3	98, 2	98, 1	98, 2	99, 0	98, 2	98, 3	98, 3	97, 5	98, 9	97, 3	98, 3	98, 6	98, 1	98, 6	98, 8	98, 0	98, 8	98, 5	98, 0	98, 2	98, 6	98, 4	98, 2	97, 0	98, 6	---	30	18	22	25	32	19	2	15	2					
33	<i>M. equina</i>	98, 0	98, 9	97, 7	97, 8	97, 6	98, 2	98, 0	98, 1	98, 8	97, 2	98, 7	98, 0	98, 2	98, 5	98, 3	98, 0	98, 9	98, 3	98, 0	98, 2	97, 0	98, 6	98, 0	98, 6	97, 9	97, 5	---	24	22	18	10	29	14	9	15	0						
34	<i>M. coxensis</i>	98, 6	98, 6	98, 4	98, 5	98, 2	98, 3	98, 6	98, 5	97, 9	98, 7	98, 5	99, 6	98, 8	98, 7	98, 8	99, 0	98, 8	98, 5	98, 1	98, 3	98, 5	98, 7	98, 8	98, 3	98, 8	97, 3	98, 2	98, 6	98, 6	98, 2	---	21	19	17	8	15	0					
35	<i>M. chokoriensis</i>	99, 3	99, 2	99, 8	98, 9	98, 5	99, 8	99, 3	99, 1	99, 4	99, 4	98, 3	98, 5	98, 6	98, 3	98, 9	98, 1	98, 3	98, 5	98, 5	98, 6	98, 6	98, 3	98, 6	99, 6	97, 5	98, 6	98, 1	98, 5	98, 4	98, 3	98, 3	98, 4	---	16	25	19	3	15	3			
36	<i>M. carbonacea</i>	98, 3	98, 2	98, 0	98, 2	98, 0	98, 6	98, 3	98, 1	98, 3	98, 4	98, 6	98, 5	98, 3	99, 1	98, 4	98, 4	98, 3	98, 7	98, 2	98, 3	98, 0	98, 9	98, 2	98, 4	98, 4	97, 2	97, 4	97, 8	98, 3	99, 7	98, 2	98, 3	98, 7	98, 1	98, 6	98, 6	98, 8	---	27	21	14	6
37	<i>M. auratinigra</i>	98, 3	98, 3	98, 9	97, 0	98, 7	97, 0	98, 3	98, 3	97, 6	98, 3	97, 7	98, 6	98, 4	98, 7	98, 0	98, 2	98, 3	98, 1	97, 9	98, 5	97, 9	97, 7	97, 7	97, 5	98, 1	98, 0	97, 8	97, 5	98, 9	98, 3	97, 6	98, 2	98, 7	99, 9	98, 1	98, 0	---	23	15	0		
38	<i>M. aurantiaca</i>	98, 6	98, 6	98, 3	98, 4	98, 0	98, 4	98, 6	98, 5	98, 2	98, 8	98, 3	99, 4	98, 6	98, 6	98, 6	98, 6	98, 8	98, 1	98, 6	98, 9	98, 6	98, 7	98, 6	98, 4	97, 6	98, 2	98, 8	98, 5	99, 3	98, 6	98, 8	98, 4	98, 6	98, 4	98, 6	98, 4	98, 3	---	15	0		
39	<i>Streptomyces coelicolor</i>	88, 5	88, 5	88, 4	88, 7	88, 8	88, 3	88, 6	88, 4	88, 3	88, 5	88, 8	88, 8	88, 7	88, 6	88, 6	88, 2	88, 7	88, 9	88, 8	88, 6	88, 9	88, 9	88, 6	88, 9	88, 6	89, 4	88, 5	88, 8	88, 1	89, 1	88, 8	89, 1	88, 0	89, 9	88, 7	88, 2	88, 9	88, 9	---	15	0	



Şekil 4.8., *Saccharomonospora* 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 bootsrap değerleri verilmiştir). Nükleotit pozisyon değişimi % 0.5'dir ve dış grup olarak *Amycolatopsis halophila* YIM 93223^T (FJ606836) kullanılmıştır.

Çizelge 4.9., *Saccharomonospora* cinsine ait test izolatları ve tip türleri arasındaki 16S rRNA sekansına bağlı yüzde benzerlik değerleri ve nükleotit sayı farklılıkları

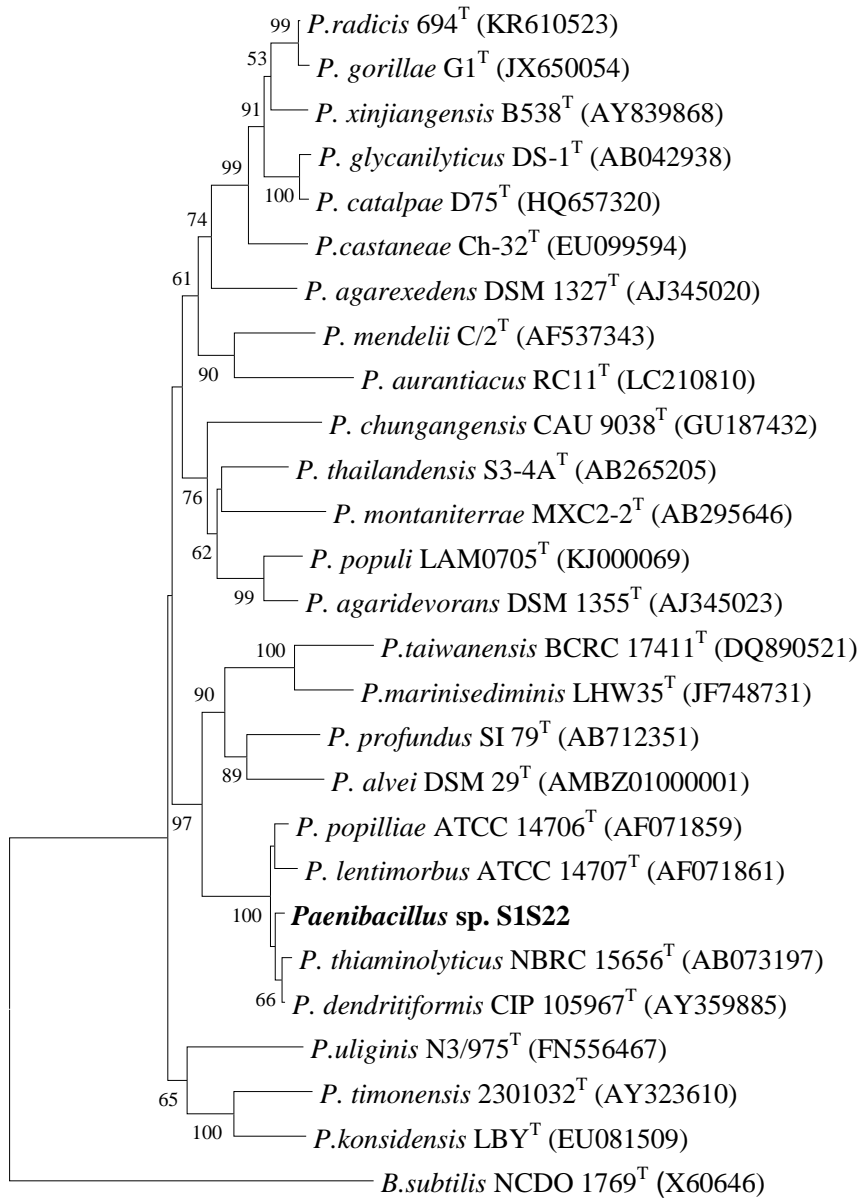
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>Saccharomonospora</i> sp. S1S41	---	3	48	18	33	38	53	48	38	52	39	54	35	24	91
2	<i>Saccharomonospora</i> sp. S2S21	99,7	---	45	15	30	35	50	45	35	49	36	51	32	21	88
3	<i>S. amisosensis</i>	96,5	96,8	---	53	59	55	56	4	39	57	52	72	48	46	91
4	<i>S. azurea</i>	98,7	98,9	96,2	---	23	29	46	53	44	45	37	48	38	19	84
5	<i>S. cyanea</i>	97,6	97,8	95,8	98,3	---	28	47	57	52	46	43	49	42	21	92
6	<i>S. glauca</i>	97,3	97,5	96,0	97,9	98,0	---	51	55	49	48	52	40	43	35	97
7	<i>S. halophila</i>	96,2	96,4	96,0	96,7	96,6	96,3	---	58	47	6	39	51	51	51	86
8	<i>S. marina</i>	96,5	96,8	99,7	96,2	95,9	96,0	95,8	---	39	59	52	72	46	44	89
9	<i>S. oceani</i>	97,3	97,5	97,2	96,8	96,3	96,5	96,6	97,2	---	45	45	61	35	44	85
10	<i>S. paurometabolica</i>	96,3	96,5	95,9	96,8	96,7	96,5	99,5	95,8	96,8	---	39	50	49	52	83
11	<i>S. saliphila</i>	97,2	97,4	96,3	97,3	96,9	96,3	97,2	96,3	96,8	97,2	---	62	39	42	80
12	<i>S. viridis</i>	96,1	96,3	94,8	96,5	96,5	97,1	96,3	94,8	95,6	96,4	95,5	---	54	48	99
13	<i>S. xiaoerkulensis</i>	97,5	97,7	96,5	97,3	97,0	96,9	96,3	96,7	97,5	96,5	97,2	96,1	---	33	95
14	<i>S. xinjiangensis</i>	98,2	98,5	96,7	98,6	98,5	97,5	96,3	96,8	96,8	96,3	97,0	96,5	97,6	---	92
15	<i>A. halophila</i>	93,5	93,7	93,5	94,0	93,4	93,1	93,8	93,6	93,9	94,1	94,3	92,9	93,2	93,4	---



Şekil 4.9., *Brevibacillus* 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 *Aneurinibacillus aneurinilyticus* DSM 5562^T (AB112724) kullanılmıştır.

Çizelge 4.10., *Brevibacillus* 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	20	21	22	23	24	25	26	27
1	<i>Brevibacillus</i> sp. S3S32	---	0	2	55	61	11	8	21	7	38	11	44	50	25	48	34	3	48	3	32	8	22	3	36	57	6	112
2	<i>Brevibacillus</i> sp. S1S24	100	---	2	55	61	11	8	21	7	38	11	44	50	25	48	34	3	48	3	32	8	22	3	36	57	6	112
3	<i>Brevibacillus</i> sp. S1141	99,8	99,8	---	57	63	13	10	23	9	40	13	46	52	27	50	36	5	50	5	34	10	24	5	38	59	8	114
4	<i>B. thermoruber</i>	95,7	95,7	95,5	---	33	54	61	45	59	41	54	32	76	50	72	48	54	32	56	49	58	49	55	35	6	60	118
5	<i>B. sediminis</i>	95,2	95,2	95,0	97,4	---	60	66	51	65	52	61	36	78	56	74	52	60	49	62	56	64	55	61	44	35	67	125
6	<i>B. reuszeri</i>	99,1	99,1	98,9	95,7	95,3	---	13	31	10	33	16	48	55	33	53	38	14	51	10	35	9	26	10	39	56	17	115
7	<i>B. parabrevis</i>	99,3	99,3	99,2	95,2	94,8	98,9	---	28	9	38	15	51	56	32	54	41	11	55	9	38	10	25	9	43	63	12	120
8	<i>B. panacihumi</i>	98,3	98,3	98,2	96,4	96,0	97,5	97,8	---	25	42	25	31	51	8	47	37	20	41	22	38	26	14	21	25	48	27	118
9	<i>B. nitrificans</i>	99,4	99,4	99,2	95,3	94,9	99,2	99,2	98,0	---	42	14	48	53	29	51	38	10	50	6	35	1	16	4	40	61	13	117
10	<i>B. massiliensis</i>	97,0	97,0	96,8	96,7	95,9	97,4	97,0	96,7	---	37	44	67	45	63	46	37	51	39	41	41	45	40	38	42	43	43	117
11	<i>B. limnophilus</i>	99,1	99,1	98,9	95,7	95,2	98,7	98,8	98,0	98,9	97,1	---	50	49	31	47	44	12	52	12	38	15	30	10	39	58	17	114
12	<i>B. levickii</i>	96,5	96,5	96,4	97,5	97,1	96,2	96,0	97,5	96,2	96,5	96,0	---	62	37	56	36	43	32	45	43	49	35	44	28	34	50	116
13	<i>B. laterosporus</i>	96,0	96,0	95,9	94,0	93,9	95,7	95,6	96,0	95,8	94,7	96,1	95,1	---	49	6	46	49	65	48	39	54	51	49	60	79	56	119
14	<i>B. invocatus</i>	98,0	98,0	97,8	96,0	95,6	97,4	97,5	99,3	97,7	96,4	97,5	97,1	96,1	---	45	41	26	45	26	40	30	16	25	29	53	31	124
15	<i>B. halotolerans</i>	96,2	96,2	96,0	94,3	94,2	95,8	95,7	96,3	96,0	95,0	96,3	95,6	99,5	96,4	---	46	47	62	46	37	52	47	47	58	75	54	118
16	<i>B. ginsengisoli</i>	97,3	97,3	97,1	96,2	95,9	97,0	96,7	97,1	97,0	96,4	96,5	97,1	96,4	96,7	96,4	---	35	39	33	31	39	33	34	32	48	40	108
17	<i>B. gelatini</i>	99,7	99,7	99,6	95,7	95,3	98,9	99,1	98,4	99,2	97,1	99,0	96,6	96,1	97,9	96,3	97,2	---	47	6	31	11	23	6	35	56	9	111
18	<i>B. fulvus</i>	96,2	96,2	96,0	97,5	96,1	96,0	95,7	96,7	96,0	96,0	95,9	97,5	94,9	96,4	95,1	96,9	96,3	---	47	43	51	39	46	34	36	54	114
19	<i>B. formosus</i>	99,7	99,7	99,6	95,6	95,1	99,2	99,2	98,2	99,5	96,9	99,0	96,4	96,2	97,9	96,4	97,4	99,5	96,3	---	31	7	21	2	37	58	9	113
20	<i>B. fluminis</i>	97,5	97,5	97,3	96,1	95,6	97,2	97,0	97,0	97,2	96,7	97,0	96,6	96,9	96,8	97,1	97,5	97,5	96,6	97,5	---	36	37	31	39	53	38	108
21	<i>B. choshinensis</i>	99,3	99,3	99,2	95,4	95,0	99,2	99,2	97,9	99,9	96,7	98,8	96,1	95,7	97,6	95,9	96,9	99,1	96,0	99,4	97,1	---	17	5	41	60	14	118
22	<i>B. centrosporus</i>	98,2	98,2	98,1	96,1	95,7	97,9	98,0	98,9	98,7	96,4	97,6	97,2	96,0	98,7	96,3	97,4	98,2	96,9	98,3	97,1	98,6	---	20	29	52	28	121
23	<i>B. brevis</i>	99,7	99,7	99,6	95,7	95,2	99,2	99,2	98,3	99,6	96,8	99,2	96,5	96,1	98,0	96,3	97,3	99,5	96,4	99,8	97,5	99,6	98,4	---	36	57	9	113
24	<i>B. borstelensis</i>	97,1	97,1	97,0	97,2	96,5	96,9	96,6	98,0	96,8	97,0	96,9	97,8	95,3	97,7	95,4	97,5	97,2	97,3	97,1	96,9	96,7	97,7	97,1	---	37	42	112
25	<i>B. aydinogluensis</i>	95,5	95,5	95,3	99,5	97,2	95,6	95,0	96,2	95,2	96,7	95,4	97,3	93,8	95,8	94,1	96,2	95,6	97,1	95,4	95,8	95,3	95,9	95,5	97,1	---	62	118
26	<i>B. agri</i>	99,5	99,5	99,3	95,3	94,7	98,6	99,0	97,8	98,9	96,6	98,6	96,0	95,6	97,5	95,7	96,8	99,2	95,7	99,2	97,0	98,9	97,8	99,2	96,7	95,1	---	116
27	<i>A. aneurinilyticus</i>	91,2	91,2	91,1	90,7	90,2	91,0	90,6	90,7	90,8	90,8	91,1	90,9	90,7	90,3	90,7	91,5	91,3	91,1	91,1	91,5	90,7	90,5	91,1	91,2	90,7	90,9	---

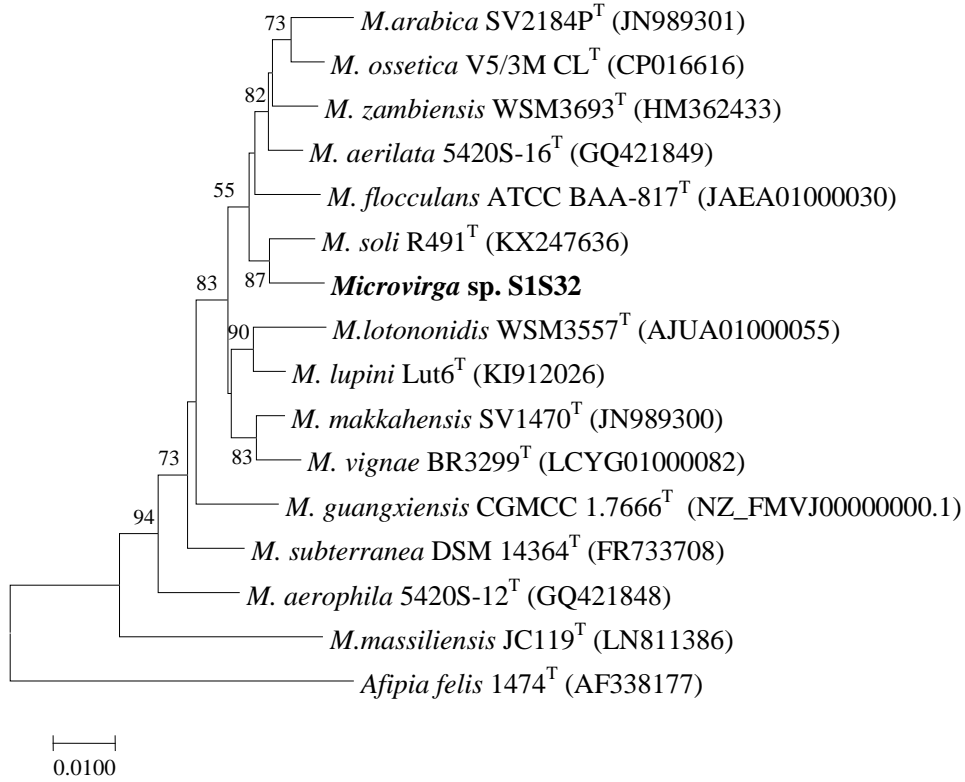


0.0100

Şekil 4.10., *Paenibacillus* cinsine ait test organizması 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 *B. subtilis* NCDO 1769^T (X60646) kullanılmıştır.

Çizelge 4.11., *Paenibacillus* 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	20	21	22	23	24	25	26	27
1	<i>Paenibacillus</i> sp. S1S22	---	55	60	61	7	61	64	54	48	63	9	62	60	56	12	59	57	59	4	65	62	60	69	49	61	57	150
2	<i>P. xinjiangensis</i>	95,8	---	70	72	58	57	88	17	69	61	56	70	47	79	61	70	18	25	55	63	24	32	69	64	56	45	153
3	<i>P. uliginis</i>	95,4	94,7	---	57	63	59	83	71	68	63	62	74	74	81	65	59	72	73	62	58	70	77	88	74	61	69	149
4	<i>P. timonensis</i>	95,3	94,5	95,6	---	66	52	80	71	67	72	66	73	67	84	64	37	74	73	63	75	72	77	83	70	71	64	158
5	<i>P. thiaminolyticus</i>	99,4	95,6	95,2	95,0	---	64	69	55	48	64	6	63	64	57	10	62	58	62	3	66	61	65	72	50	64	60	148
6	<i>P. thailandensis</i>	95,3	95,6	95,5	96,0	95,1	---	80	56	67	38	61	42	55	79	62	61	59	55	61	43	58	54	69	67	35	53	156
7	<i>P. taiwanensis</i>	95,1	93,3	93,7	93,9	94,7	93,9	---	89	61	79	67	78	81	34	67	76	90	86	66	81	85	81	84	59	82	80	164
8	<i>P. radicans</i>	95,9	98,7	94,6	94,6	95,8	95,7	93,2	---	69	54	53	70	56	78	59	69	3	20	52	60	17	27	60	63	49	42	152
9	<i>P. profundus</i>	96,3	94,7	94,8	94,9	96,3	94,9	95,3	94,7	---	65	51	70	65	57	51	66	69	77	46	72	78	66	74	37	67	71	156
10	<i>P. populi</i>	95,2	95,3	95,2	94,5	95,1	97,1	94,0	95,9	95,0	---	64	47	63	73	68	69	57	65	61	52	60	62	71	65	18	57	148
11	<i>P. popilliae</i>	99,3	95,7	95,3	95,0	99,5	95,3	94,9	95,9	96,1	95,1	---	61	62	56	9	60	56	60	7	66	59	65	67	50	64	58	151
12	<i>P. montaniterrae</i>	95,3	94,7	94,4	94,4	95,2	96,8	94,0	94,7	94,7	96,4	95,3	---	71	76	61	69	72	70	62	59	71	71	80	73	50	61	154
13	<i>P. mendelii</i>	95,4	96,4	94,4	94,9	95,1	95,8	93,8	95,7	95,0	95,2	95,3	94,6	---	82	61	73	59	55	62	69	54	52	49	64	65	52	153
14	<i>P. marinisediminis</i>	95,7	94,0	93,8	93,6	95,6	94,0	97,4	94,0	95,6	94,4	95,7	94,2	93,7	---	61	82	79	81	54	78	78	78	85	53	77	80	159
15	<i>P. lentimorbus</i>	99,0	95,3	95,0	95,1	99,2	95,3	94,9	95,5	96,1	94,8	99,3	95,3	95,3	95,3	---	62	62	63	11	69	62	67	71	52	68	58	152
16	<i>P. konsidensis</i>	95,5	94,7	95,5	97,2	95,3	95,3	94,2	94,7	95,0	94,7	95,4	94,7	94,4	93,7	95,3	---	72	71	61	70	72	76	74	74	70	62	155
17	<i>P. gorillae</i>	95,6	98,6	94,5	94,4	95,6	95,5	93,1	99,7	94,7	95,6	95,7	94,5	95,5	94,0	95,3	94,5	---	21	55	63	18	30	63	62	52	45	153
18	<i>P. glycanilyticus</i>	95,5	98,1	94,4	94,4	95,3	95,8	93,4	98,4	94,1	95,0	95,4	94,7	95,8	93,8	95,2	94,6	98,4	---	62	66	5	26	65	69	55	42	150
19	<i>P. dendritiformis</i>	99,6	95,8	95,3	95,2	99,7	95,3	95,0	96,0	96,5	95,3	99,4	95,3	95,3	95,9	99,1	95,3	95,8	95,3	---	65	61	62	70	47	61	60	148
20	<i>P. chungangensis</i>	95,0	95,2	95,6	94,3	95,0	96,7	93,8	95,4	94,5	96,0	95,0	95,5	94,7	94,0	94,7	94,7	95,2	95,0	95,0	---	67	61	77	75	52	57	161
21	<i>P. catalpae</i>	95,3	98,1	94,7	94,5	95,3	95,6	93,5	98,7	94,0	95,4	95,5	94,6	95,9	94,0	95,3	94,5	98,6	99,6	95,3	94,9	---	31	65	66	56	43	147
22	<i>P. castaneae</i>	95,4	97,5	94,1	94,1	95,0	95,9	93,8	97,9	95,0	95,3	95,0	94,6	96,0	94,0	94,9	94,2	97,7	98,0	95,3	95,3	97,6	---	62	69	51	46	148
23	<i>P. aurantiacus</i>	94,7	94,7	93,3	93,7	94,5	94,7	93,6	95,4	94,4	94,6	94,9	93,9	96,2	93,5	94,6	94,4	95,2	95,0	94,7	94,1	95,0	95,3	---	80	69	66	152
24	<i>P. alvei</i>	96,2	95,1	94,4	94,7	96,2	94,9	95,5	95,2	97,2	95,0	96,2	94,4	95,1	95,9	96,0	94,4	95,3	94,7	96,4	94,3	95,0	94,7	93,9	---	72	76	162
25	<i>P. agaridevorans</i>	95,3	95,7	95,3	94,6	95,1	97,3	93,7	96,2	94,9	98,6	95,1	96,2	95,0	94,1	94,8	94,7	96,0	95,8	95,3	96,0	95,7	96,1	94,7	94,5	---	52	148
26	<i>P. agarexedens</i>	95,6	96,5	94,7	95,1	95,4	95,9	93,9	96,8	94,6	95,6	95,6	95,3	96,0	93,9	95,6	95,3	96,5	96,8	95,4	95,6	96,7	96,5	95,0	94,2	96,0	---	156
27	<i>B.subtilis</i>	88,6	88,4	88,7	88,0	88,8	88,1	87,5	88,5	88,1	88,8	88,5	88,3	88,4	87,9	88,5	88,2	88,4	88,6	88,8	87,8	88,8	88,8	88,5	87,7	88,8	88,1	---



Şekil 4.11., *Microvirga* cinsine ait test organizmasive 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 *Afipia felis* 1474^T (AF338177) kullanılmıştır.

Çizelge 4.12., *Microvirga* 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
1	<i>Microvirga</i> sp. S1S32	---	33	37	34	22	36	91	33	39	48	39	31	40	52	27	135
2	<i>M. zambiensis</i>	97,6	---	39	41	28	18	80	35	29	43	51	28	31	50	18	133
3	<i>M. vignae</i>	97,3	97,1	---	32	39	38	85	16	24	35	34	34	42	50	36	132
4	<i>M. subterranea</i>	97,5	97,0	97,6	---	39	48	78	30	35	44	32	42	52	29	37	127
5	<i>M. soli</i>	98,4	97,9	97,1	97,1	---	28	88	36	39	43	41	33	34	48	26	134
6	<i>M. ossetica</i>	97,3	98,6	97,2	96,5	97,9	---	82	33	30	45	45	28	21	57	20	133
7	<i>M. massiliensis</i>	93,3	94,1	93,8	94,3	93,6	94,0	---	82	79	75	87	82	85	68	82	136
8	<i>M. makkahensis</i>	97,6	97,4	98,8	97,8	97,3	97,6	94,0	---	25	35	41	24	35	50	30	136
9	<i>M. lupini</i>	97,1	97,8	98,2	97,4	97,1	97,8	94,2	98,1	---	23	43	28	40	50	30	126
10	<i>M. lotononidis</i>	96,5	96,8	97,4	96,8	96,8	96,7	94,5	97,4	98,3	---	44	32	47	56	41	132
11	<i>M. guangxiensis</i>	97,1	96,2	97,5	97,6	97,0	96,7	93,6	97,0	96,8	96,8	---	53	44	39	39	128
12	<i>M. flocculans</i>	97,7	97,9	97,5	96,9	97,6	97,9	94,0	98,2	97,9	97,6	96,1	---	37	54	25	134
13	<i>M. arabica</i>	97,0	97,7	96,9	96,2	97,5	98,4	93,8	97,4	97,0	96,5	96,8	97,3	---	57	27	140
14	<i>M. aerophila</i>	96,2	96,3	96,3	97,8	96,5	95,8	95,0	96,3	96,3	95,9	97,1	96,0	95,8	---	48	121
15	<i>M. aerilata</i>	98,0	98,6	97,3	97,3	98,1	98,5	94,0	97,8	97,8	97,0	97,1	98,1	98,0	96,5	---	130
16	<i>Afipia felis</i>	90,2	90,3	90,4	90,7	90,2	90,3	90,1	90,1	90,8	90,4	90,7	90,2	89,8	91,2	90,5	---

4.5. Antimikrobiyal Test Sonuçları

Çalışma izolatları, 2 gram negatif bakteri örneği (*E. coli*, *P. vulgaris*), 2 gram pozitif bakteri örneği (*S. aureus*, *B. subtilis*), 2 maya örneği (*C. albicans*, *S. cerevisiae*) ve 2 mantar örneğine (*A. parasiticus*, *Fusarium* sp.) karşı test edilmiştir. Test izolatları iyi üreme gösterdikleri katı besiyerlerinin brothu hazırlanarak üretilmiştir. Test izolatlarının antimikrobiyal test sonuçları değerlendirildiğinde, test edilen 22 organizmadan 9 tanesinin hiçbir patojene karşı etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. En yüksek etkiyi gösteren organizma 6 patojene karşı (*E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans* ve *S. cerevisiae*) etkili inhibisyon zonu veren ve *P. dentritiformis* ile % 99.58 benzerlik oranı gösteren S1S22 izolatıdır. S1I41 *Bacillus* sp. izolatı benzer şekilde 6 patojene karşı (*E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* ve *Fusarium* sp.) etkili inhibisyon zonu vermektedir ve *B. agri* ile % 99.40 benzerlik oranı göstermektedir. S3S31 *Micromonospora* sp. izolatının 5 patojene karşı (*S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* ve *Fusarium* sp.) etkili inhibisyon zonu verdiği ve *M. spongicola* ile % 99.16 benzerlik oranı gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde 5 patojene karşı (*E. coli*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* ve *Fusarium* sp.) etkili inhibisyon zonu veren ve *B. agri* ile % 99.57 benzerlik oranı gösteren S1S24 izolatı ile S3S32 izolatının 5 patojene karşı (*S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* ve *A. parasiticus*) etkili inhibisyon zonu verdiği ve *B. agri* ile % 99.56 benzerlik oranı gösterdiği belirlenmiştir. S1S23 izolatının 3 patojene karşı (*S. aureus*, *C. albicans* ve *S. cerevisiae*) etkili inhibisyon zonu verdiği ve *M. ovatispora* ile % 99.43 benzerlik oranı gösterdiği, S2S21 izolatının 2 patojene karşı (*C. albicans* ve *S. cerevisiae*) etkili inhibisyon zonu verdiği ve *S. azurea* ile % 98.81 benzerlik oranı gösterdiği ve S2G33 izolatının da 2 patojene karşı (*E. coli* ve *S. cerevisiae*) etkili inhibisyon zonu oluşturduğu ve *M. vinacea* ile % 99.86 benzerlik oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. *Micromonospora* sp. ile ilişkili olan 5 organizma ise sadece 1 patojene karşı etkili inhibisyon zonu vermişlerdir. İncelenen izolatların antimikrobiyal aktivite testinden en çok etkilenen patojen mikroorganizmalar ise; 11 farklı izolatın etkili inhibisyon zonu verdiği *S. cerevisiae* ve 8 farklı izolatın etkili inhibisyon zonu verdiği *C. albicans* 'dır. *P. vulgaris*'e karşı ise sadece S1S22 kodlu organizmanın inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13., Test izolatlarının antibakteriyel ve antifungal aktivite sonuçları

	<i>E.coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>Fusarium sp.</i>
S2S21	---	---	---	---	10 mm	30 mm	---	---
S3S31	---	---	13 mm	20mm	26 mm	35 mm	---	30 mm
S1S32	---	---	---	---	---	---	---	---
S1S33	---	---	---	---	---	---	---	---
S1S34	---	---	---	---	---	---	---	---
S1S35	---	---	---	---	---	---	---	---
S2S24	---	---	---	---	---	---	---	---
S1G34	---	---	---	---	---	---	20 mm	---
S1I41	30 mm	---	20 mm	22 mm	35 mm	30 mm	---	40 mm
S1G21	---	---	---	---	---	---	---	---
S1S31	---	---	---	---	---	25 mm	---	---
S1S23	---	---	20 mm	---	10 mm	25 mm	---	---
S2G33	30 mm	---	---	---	---	22 mm	---	---
S2S23	---	---	---	---	---	10 mm	---	---
S2G35	---	---	---	---	---	18 mm	---	---
S1S41	---	---	---	---	---	---	---	---
S2S22	---	---	---	---	---	---	---	---
S2S31	---	---	---	---	14 mm	---	---	---
S1S21	---	---	---	---	---	---	---	---
S1S24	25 mm	---	---	25 mm	27 mm	30 mm	---	30 mm
S1S22	60 mm	30 mm	45 mm	35 mm	50 mm	30 mm	---	---
S3S32	---	---	25 mm	20 mm	25 mm	30 mm	30 mm	---

5. TARTIŞMA

Actinobacteria'nın sınıflandırması ve taksonomisi öncelikle Actinobacteria'nın morfolojik, kimyasal ve fizyolojik özellikleri gibi sınırlı özelliklerinin araştırılmasını içeren fenotipik kriterlere dayanılarak yapılmıştır. Koloninin morfolojisi, spor zinciri, substrat rengi, hava miselyumu ve yayılabilir pigment özellikleri hala cinslerin ayırımında önemli kriterlerdendir. Ancak bu şubenin sınıflandırılması için yeterli bilgi sağlamamaktadır. Actinobacteria'nın güncel sınıflandırmasında 16S rRNA gen bölgesi analizi geçerliliğini koruyan altın bir standarttır. Bununla birlikte, atasal soy ilişkilerini belirlemek amacıyla 16S rRNA genine dayalı sınıflamanın yetersizliği nedeniyle diğer moleküler belirteçlerin kullanımına yönelim artmıştır. Özellikle, çoklu rRNA operonlarındaki nükleotid varyasyonları ve 16S rRNA genlerinin yatay gen aktarımı, filogenetik ağaçlardaki taksonlar arasında nispeten belirsizliklere sebep olma eğilimindedir (Sentausa ve Fournier, 2013).

Actinobacteria'nın filogenisi, çoğunlukla bu şubenin belirli gruplarıyla sınırlı alternatif moleküler belirteçleri içerir. *Bifidobacteria*, *Mycobacteria* ve *Streptomyces* üyeleri gibi belirli Actinobacteria grupları arasındaki filogenetik ilişkileri belirlemek için *rpoB*, *recA*, *dnaK*, *grpE*, *gyrB*, *groEL*, *yhcF* ve *secY* genleri kullanılmıştır (Devulder, vd., 2005; Guo, vd., 2008; Leblond-Bourget, vd., 1996; Shivannavar, vd., 1996; Adekambi, vd., 2011).

Devulder ve arkadaşları (2005) tarafından *Mycobacteria* türlerinin filogenetik analizinde multigenik bir yöntem kullanılmıştır. Bu çalışmada, bakteriler arasında evrensel ve korunmuş bir gen olan 16S rRNA geni, tüm *Mycobacteria*'da bulunan ısı şok protein gen ailesine ait olan *hsp65* geni, *rpoB* geni (RNA polimerazın β -altbirimi) ve *sod* geni (metalloenzim) filogenetik analizlere tabi tutulmuştur. Sonuçlar, farklı genlerin kombinasyonunun, *Mycobacterium* cinsindeki filogenetik ağacın sağlamlığında kayda değer artışlara neden olduğu bildirilmiştir (Devulder, vd., 2005). *rpoB* genine dayalı sınıflandırma yaklaşımı *Frankia* suşlarının filogenetik ilişkileri için de kullanılmıştır (Bernèche-D'Amours, vd., 2011). *gyrB* geni (DNA girazın β -altbirimi), 16S rRNA genine kıyasla daha yüksek bir ayırım sağladığından *Kribbella* türü soyları arasında ayırım yapmak için de kullanılmıştır (Kirby, vd., 2010).

Actinobacteria şubesi, mevcut bakteri domaini içerisindeki en büyük taksonomik birimlerden biridir (Ludwig, vd., 2012). Bugüne kadar dizilemesi yapılmış olan

aktinobakteriyal genomlar, insan ve veterinerlik tıbbı, biyoteknoloji ve ekoloji ile ilgili organizmalara aittir ve gözlenen genetik heterojenliğin biyoçeşitliliklerini yansıttığı varsayılmaktadır (Ventura, vd., 2007). Actinobacteria'nın çoğunluğu hem karada hem de su (deniz dahil) ekosistemlerinde yaygın olarak bulunan serbest yaşayan organizmalardır (Macagnan, vd., 2006). Aktinobakteriler, genomlarında yüksek guanin ve sitozin (GC) içeriğine sahip olan gram-pozitif filamentöz bakterilerdir. Hiflerin uç uzantısı ve dallanması kombinasyonu ile büyürler. Bu sebepten dolayı onlara, ışın (aktis ya da aktin) ve mantarlar (mukes S) anlamına gelen Yunanca kelimelerden türetilmiş isimler verilmiştir. Geleneksel olarak, aktinomisetler funguslar ve bakteriler arasında ara form olarak kabul edilmektedir. Nitekim filamentli mantarlar gibi, birçok Actinobacteria da miselyum üretir ve miselli aktinomisetlerin birçoğu sporülasyon ile çoğalır. Bununla birlikte, aktinomisetlerin mantarlarla karşılaştırılması yalnızca yüzeyseldir. Tüm bakteriler gibi, aktinomiset hücreleri de bir prokaryotik nükleotid dizisine ve bir peptidoglikan hücre duvarında sahiptir. Ayrıca hücreleri antibakteriyel ajanlara duyarlıdır. Fizyolojik ve ekolojik olarak, çoğu Actinobacteria aerobiktir, ancak bazı istisnalar vardır. Dahası, heterotrofik veya kemoototrofik olabilirler, ancak çoğu kemoheterotroftir ve çeşitli kompleks polisakaritler de dahil olmak üzere çok çeşitli beslenme kaynakları kullanabilirler (Lechevalier ve Lechevalier, 1965; Zimmerman, 1980). Aktinobakteriler; toprakta ya da sucul ortamlarda (örneğin *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Rhodococcus* ve *Salinispora* türleri), bitki simbiyonları olarak (örneğin *Frankia* spp.), bitki veya hayvan patojenleri olarak (örneğin *Corynebacterium*, *Mycobacterium* ya da *Nocardia* türleri) ya da sindirim sisteminde (örn., *Bifidobacterium* spp.) bulunabilir (Barka, vd., 2016).

Yapılan çalışmada, Sakarya Nehir kaynağındaki aktinobakteria çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla nehir kaynağının 4 farklı lokalitesinden sediment örnekleri alınmış ve farklı aktinomiset gruplarını izole etmek ve tanımlamak amacıyla dilisyon plaka tekniği ve kombine antibiyotik ilavesi içeren 5 farklı seçici besiyeri ortamı kullanılmıştır. Elde edilen mikroorganizmalar hangi besiyerinden elde edilmiş ise tekrar aynı besiyerine yoğun ekimi yapılarak kültüre edilmiştir.

Dilisyon plaka tekniği uygulanan sediment örnekleri sikloheksimid ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$), rifampisin ($0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) ve nalidiksik asit (10mg ml^{-1}) ilaveli tripton yeast glukoz ekstrakt agar (Blackall, vd., 1989), ISP 2 Agar (Shirling ve Gottlieb, 1966), SM3 agar

(Tan, vd., 2006), SC Agar (Kuster ve Williams, 1964; Mackay, 1977) ve glukoz yeast malt ekstrakt agar (Rapp, 1974) yüzeyine inoküle edilmiştir.

6-8 hafta inokülasyona tabi tutulan sediment örneklerinden GYME besiyerinden elde edilen 4 izolat, SM3 besiyerinden elde edilen 17 izolat ve ISP2 besiyerinden elde edilen 1 izolat olmak üzere toplamda 22 adet organizma elde edilmiştir. İzole edilen 22 adet izolatın 14 tanesinin *Micromonospora* cinsi ile, 3 tanesinin *Brevibacillus* cinsi ile, 2 tanesinin *Saccharomonospora* cinsi ile, 1 tanesinin *Cellulomonas* cinsi ile, 1 tanesinin *Pseudomonas* cinsi ile ve 1 tanesinin de *Microvirga* cinsi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. 14 adet *Micromonospora* cinsine ait izolatın 6 tanesinin *Micromonospora ovatispora*, 4 tanesinin *Micromonospora spongicola*, 3 tanesinin *Micromonospora vinacea* ve 1 tanesinin de *Micromonospora ureilytica* ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, 3 adet *Brevibacillus* cinsine ait izolatın *Brevibacillus agri* ile yakından ilişkili olduğu, 1 adet *Paenibacillus* cinsine ait izolatın ise *Paenibacillus dentritiformis* ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

İzolatların tanımlanması için ilk olarak 16S rRNA gen bölgeleri 27f ve 1525r primerleri ile çoğaltılıp ardından dizileme çalışmaları 27f/1492r/800r evrensel primerleriyle sağlanmıştır. Analiz sonucu elde edilen veriler Mega 7.0 (Tamura, vd., 2011) paket programı kullanılarak yapılmıştır. 16S rRNA nükleotid verilerinin filogenetik dendogramları uzaklık matrisi Jukes-Cantor metodu (Jukes ve Cantor, 1969) ve neighbor-joining (Saitou ve Nei, 1987) algoritması kullanılarak oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçların bootstrap analizleri 1000 tekrarlı olarak Mega 7.0 (Tamura vd., 2011) paket programında gerçekleştirilmiştir. Test izolatlarının en yakın tip türleri ile yüzde benzerlik ve nükleotid farklılıklarını gösteren tablolar BIOEDIT programı (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/page2.html>) kullanılarak oluşturulmuştur.

16S rRNA dizi verileri Mega 7.0 ve BioEdit paket programlarında analiz edilerek, izolatların yakından ilişkili olduğu türler ve yeni tür olması muhtemel izolatlar belirlenmiştir. *Saccharomonospora* cinsi üyesi olduğu belirlenen, aralarında 3 nükleotid farklılığı bulunan ve aynı morfolojik karakterlere sahip olan S1S41 ve S2S21 izolatlarının yeni tür olma ihtimali bulunmaktadır. *Microvirga* cinsi üyesi olduğu belirlenen S1S32 izolatı ve *Cellulomonas* cinsi üyesi olduğu belirlenen S2S24 izolatı da yeni tür olma ihtimali olan izolatlardır. *Micromonospora* cins üyesi olduğu belirlenen S1S32, S3S31 ve S1S33 izolatlarının *Micromonospora spongicola* S3-1^T suşu ile

sırasıyla % 99.2 benzerlik ve 11 nükleotid farklılığı, % 99.2 benzerlik ve 12 nükleotid farklılığı, % 99.1 benzerlik ve 13 nükleotid farklılığı olduğu belirlenmiştir. Nükleotid farklılıkları göz önüne alındığında söz konusu izolatların yeni tür adayı olarak değerlendirilmeleri gerektiği belirlenmiştir.

Saccharomonospora cinsine ait olan S1S41 ve S2S21 izolatlarının en yakın tip türleri olan *Saccharomonospora azurea* NA-128^T suşu ile sırasıyla % 98.6 benzerlik oranı ile 18 nükleotid ve % 98.8 benzerlik oranı ile 15 nükleotid farklılık gösterdiği, *Saccharomonospora xinjiangensis* XJ-54^T suşu ile sırasıyla % 98.3 benzerlik oranı ile 24 nükleotid ve % 98.5 benzerlik oranı ile 21 nükleotid farklılık gösterdiği belirlenmiştir. *Microvirga* cinsine ait olan S1S32 izolatının en yakın tip türleri olan *Microvirga soli* R491^T suşu ile % 98.4 benzerlik ve 22 nükleotid farklılığı, *Microvirga aerilata* 5420S-16^T suşu ile % 98.0 benzerlik ve 27 nükleotid farklılığı bulunmaktadır. *Cellulomonas* cinsine ait olan S2S24 izolatının en yakın tip türleri olan *Cellulomonas aerilata* 5420S-23^T suşu ile % 98.6 benzerlik ve 18 nükleotid farklılığı, *Cellulomonas fimi* ATCC 484^T suşu ile % 97.7 benzerlik ve 31 nükleotid farklılığı bulunmaktadır. Bu izolatların yeni birer tür olarak yayınlanabilmesi için polifazik taksonomik metodların yapılması gerekmektedir.

22 adet izolatın antibakteriyel aktivite testi için; 2 gram negatif (*E.coli* ve *P.vulgaris*), 2 gram pozitif (*S.aureus* ve *B. subtilis*), 2 maya (*S. cerevisiae* ve *C. albicans*) ve 2 fungus (*A. parasiticus* ve *Fusarium* sp.) organizma kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucu *Cellulomonas* cinsi ile ilişkilendirilen S2S24 izolatının hiçbir patojen test organizmasına karşı etki göstermediği belirlenmiştir. İzole edilen 14 adet *Micromonospora* izolatı arasında, *P. vulgaris* hariç diğer patojenlere karşı inhibisyon zonu görülmüştür. *Micromonospora* cinsi arasında en yüksek inhibisyon zonu veren izolat *M. spongicola* ile ilişkilendirilmiş olan S3S31 ve en düşük inhibisyon zonu verenler *M. ovatispora* ile ilişkili olan S2S21, S2S23 ve S1S23 izolatlarıdır. *Micromonospora* cinsine ait izolatlardan S2G33 kodlu izolat dışındakiler gram negatif (*E. coli*, 30 mm) patojenlere etki göstermemiş olup daha çok gram pozitif, maya ve funguslara etkileri görülmüştür. En aktif *Micromonospora* cinsi üyesi izolat 8 patojenden 5'ine etki eden ve *M. spongicola* ile ilişkili olan S3S31 kodlu izolattır. 14 adet *Micromonospora* ile ilişkili izolattan ise S1S33, S1S34, S1S35, S1G21 ve S2S22 kodlu izolatlar hiçbir patojene karşı aktivite göstermemiştir. Yine *Saccharomonospora*

ile ilişkili olan S1S41 ve S1S21 kodlu izolatlar hiçbir patojene karşı aktivite göstermemiştir. *Brevibacillus* cinsi ile ilişkili olan S1I41, S1S24 ve S3S32 kodlu izolatlardan her biri 8 farklı patojenden en az 5 tanesine karşı inhibisyon zonu oluşturmuştur. En yüksek etkiyi gösteren izolat S1I41 kodlu izolat olup *Fusarium spp.*'ye karşı 40 mm inhibisyon zonu vermiştir. En düşük etki gösteren izolat *S. aureus*'a karşı 20 mm zon çapı ile S1I41 ve *B. subtilis*'e karşı 20 mm zon çapı ile S3S32 izolatlarıdır. *Brevibacillus* cinsi ile ilişkili olan bu izolatlar daha çok gram negatif, maya ve funguslarda inhibisyon zonu göstermişlerdir. *Paenibacillus* cinsi ile ilişkili olan S1S22 kodlu izolat, izole edilen 22 organizma arasında en yüksek inhibisyon zonu gösteren organizmadır. 8 farklı patojenden *A. parasiticus* ve *Fusarium sp.* hariç 6'sı üzerinde yüksek derecede inhibisyon zonu göstermiştir. En yüksek inhibisyon zonunu 60 mm zon çapı ile *E. coli*'ye karşı gösterirken en düşük zon çapını 30 mm ile *P. vulgaris* ve *S. cerevisiae*'ye karşı göstermiştir. *Microvirga* cinsi ile ilişkili olan S1S32 kodlu izolat ise 8 patojenden hiçbirine karşı inhibisyon zonu oluşturmamıştır.

Sakarya Nehir Kaynağındaki aktinomiset biyoçeşitliliğini araştırmak için farklı derinliklere sahip 4 farklı lokaliteden toplanan sediment örneklerinden elde edilen 22 izolat arasından 1 adet *Cellulomonas* cinsiyle ilişkili S2S24 kodlu izolat elde edilmiş ve *C. aerilata* ile yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda sedimentten elde edilen *Cellulomonas* cinsi üyelerinin varlığı bildirilmiştir (Jones, vd., 2005; Zhang, vd., 2013). Bu cinse ait üyelerin bazılarının antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları da gösterilmiştir (Karabi, vd., 2016). 2017 yılında Romenko ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *C. aerilata*'ya %98 benzerlik gösteren H50 suşunun 7 patojene karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiştir ve sadece *S. aureus* ile *S. epidermidis* organizmalarında zayıf zonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir. Aktimikrobiyal aktivite testine tabi tutulan S2S24 izolatının da 8 patojene karşı hiçbir etki göstermemesi yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Micromonospora cinsi aktinomiset grubu içerisinde biyoteknolojik açıdan sekonder metabolit ve enzim üretebilme yeteneklerinden dolayı önemli bir yere sahiptirler. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda farklı *Micromonospora sp.* üyelerinin antimikrobiyal aktivite ve enzim aktiviteleri bildirilmiştir (Ichiwaki, vd., 2017; Thawai, vd., 2018; Talukdar, vd., 2016). Birçok farklı çalışmada sedimentten izole edilen *Micromonospora sp.* üyeleri bildirilmiştir (Veysioğlu, vd., 2016; Phongsopitanun, vd.,

2016; Jia, vd., 2016; Veysioğlu, vd., 2017). 2018 yılında Thawai ve arkadaşları tarafından elde edilen ve *M. humi* ile yakından ilişkili olduğu belirlenen izolatların gram pozitif *B. subtilis* ve *S. aureus* patojenlerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada ise *Micromonospora* sp. ile ilişkili bir izolatın *C. albicans* ve *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği rapor edilmiştir (Ichiwaki, vd., 2017). 14 adet *Micromonospora* sp. izolatının gram negatif organizmalardan ziyade gram pozitif, maya ve funguslar üzerine etki gösterdiği ve bu sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görölmektedir.

Saccharomonospora sp. üyelerinin sedimentten izole edildiklerine ilişkin literatürde önemli sayıda araştırma mevcuttur (Tseng, vd., 2018; Li, vd., 2016; Zhang, vd., 2014). 2010 yılında yapılan bir çalışmada *Saccharomonospora* sp. ile ilişkilendirilmiş 2 izolatın gram pozitif (*B. subtilis*, *S. aureus*), maya (*S. cerevisiae*) ve funguslara (*F. oxysporium*) karşı antimikrobiyal etki göstermezken gram negatif olan *A. tumefaciens*, *K. pneumoniae* ve *P. syringae* patojenlerine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Boudjelal, vd., 2010). Ancak nehir sedimentinden elde edilen S1S41 ve S1S21 kodlu *Saccharomonospora* izolatlarının test edilen herhangi bir patojene karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı görölmüştür. Benzer çalışmalarla kıyaslandığında elde edilen izolatların söz konusu çalışmalarda elde edilenlerden farklı özellikler gösterdiği anlaşılmaktadır.

Brevibacillus sp. üyeleri bilinen antimikrobiyal ajanlardan bazılarının üreticisi olan organizmalardır. Bazı *Brevibacillus* sp. suşları ise probiyotik olarak kullanılmaktadır. Farklı çalışmalarda yeni tür olarak *Brevibacillus* cinsine ait olan organizmaların sedimentten de izole edildiği bildirilmiştir (Xian, vd., 2016; Choi, vd., 2010). *Brevibacillus* sp. üyeleri biyoaktif sekonder metabolit olan antimikrobiyal, antifungal ve çeşitli metabolitleri üretmektedir. 2015 yılında Jianmei ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada *B. brevis* FJAT-0809-GLX suşu *F. oxysporium*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *E. coli*, *Salmonella* sp., *Aspergillus niger* gibi farklı patojenlere karşı antimikrobiyal teste tabi tutulmuş ve *Fusarium* sp. üyeleri başta olmak üzere bütün test patojenlerine karşı inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. 2016 yılında Yang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada *Brevibacillus laterosporus*'tan elde edilen *brevibacillin* sekonder metaboliti, gram pozitif (*B. subtilis*, *S. aureus*, *B. cereus* gibi) ve gram negatif (*E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* gibi) patojenlere karşı vancomisin ve

nisinle beraber antimikrobiyal teste tabi tutulmuştur. Sonuçlar *Brevibacillus* test patojenlerinin her birine karşı antimikrobiyal etki göstermesine rağmen yoğun olarak gram negatif patojenler üzerinde daha etkili olduğunu göstermiştir. Yaptığımız çalışmada *Brevibacillus* cinsi ile ilişkili 3 izolatta gram negatif, maya ve fungus patojenleri üstünde daha etkili olmuştur. En yüksek inhibisyon zonunu *Fusarium* sp. ye karşı vermiş en düşük inhibisyon zonunu ise gram pozitif olan *B. subtilis* ve *S. aureus*'a karşı göstermiştir. Diğer yapılan antimikrobiyal test çalışmalarıyla karşılaştırıldığında çalışmamızdan elde edilen sonuçların literatürdeki sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Farklı lokalitelerden izole edilebilen *Paenibacillus* cinsi üyeleri, insan, hayvan, bitki ve doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Çoğu *Paenibacillus* türü bitki gelişiminde, azot fiksasyonunda, fosfat çözündürmede, indol 3 asetik asit üretiminde, siderofor üretiminde ve demir kazanımında önemli rol oynar. Bitkilerle beslenen böceklerle ve bakteri, fungus, nematod ve virüsler gibi bitki patojenlerine karşı koruma sağlar. Doğada her yerde mevcut bulunan bu cins üyelerinin sedimentten de izole edildikleri farklı çalışmalarda bildirilmiştir (Nahar ve Cha, 2018; Kim ve Cha, 2018; Huang, vd., 2015). Yapılan bir çalışmada farklı *Paenibacillus* türlerinin antimikrobiyal çalışması bakteri (16 farklı), maya (6 farklı) ve funguslara (14 farklı) karşı test edilmiştir. Test edilen *Paenibacillus* üyelerinin çoğu gram pozitif bakteri (*S. aureus*) ve gram negatif (*E. coli*), maya (*C. albicans*) ve fungus (*A. niger* ve *F. solani*) patojen organizmalara karşı yüksek derecede inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bazı *Paenibacillus* üyeleri ise birçok test patojenine karşı etkisiz kalmıştır (Lorentz, vd., 2006). Çalışmamızda 2 adet *Paenibacillus* sp. ile ilişkili izolat elde edilmiştir ve bu izolatlardan patojenlere karşı en yüksek zon çapı oluşturma kabiliyeti gösterdiği belirlenmiştir. Farklı çalışmalara da bakıldığında söz konusu izolatlardan yüksek derecede zon çapı verme kabiliyetleri doğrultusunda bizim çalışmamızda paralellik göstermesine rağmen *Fusarium* sp. ve *A. parasiticus* funguslarına karşı inhibisyon zonu oluşturmaması açısından farklılık gösterdiği görülmektedir. .

Çalışmamızda 22 izolattan 1 adet *Microvirga* sp. ile ilişkili S1S32 kodlu izolat elde edilmiştir. *Microvirga* cins üyeleri spor form oluşturmayan organizmalardır. *Microvirga* izolasyonuna yönelik bir çalışma olmamasına rağmen, bu izolatlardan izolasyon çalışmaları sonucunda elde edilme nedeninin Sakarya nehir sedimentlerinden alınan

örneklerin laboratuvar ortamında kuru ısı, % 1,5 fenol gibi ön muameleye maruz kalmadan hemen işleme alınmasından dolayı olduğunu düşünülmektedir. Bu cinse ait herhangi bir antimikrobiyal çalışma mevcut değildir. Yaptığımız çalışmada S1S32 kodlu izolatın 8 patojenden hiçbirine karşı zon oluşturmadığı görülmüştür. Ayrıca literatür verilerine göre 16 adet türe sahip *Microvirga* cinsinin toprak, hava, yeraltı sıcak suyu, kök nodülü, endüstriyel atık toprak, çöl toprağı gibi ortamlardan izole edildiğı bildirilmesi rağmen herhangi bir nehir, tatlı su veya sedimentten izole edildiğine dair bilgi mevcut değildir. Bu izolatın yüksek nükleotit farklılığına sahip olması ve literatürde sedimentten izole edilmiş bir türün olmayışı umut vaadedicidir. Yakın zamanda *Microvirga* sp. S1S32 izolatının polifazik taksonomik çalışmalarının yapılarak literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır.

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında ekstrem bir ortam olan nehir sedimenti tercih edilmiş ve Aktinomiset çeşitliliğini belirleyebilmek amacıyla da selektif izolasyon yöntemleri ile birlikte selektif ortamlar kullanılmıştır. İzolatların elde edildiği ortamlar incelendiğinde 17 izolatın SM3 ortamından elde edildiği görülmektedir. Ayrıca Aktinomiset izolatlarının da ağırlıklı olarak bu ortamdan elde edildiği belirlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde SM3 ortamının tatlı su sediment izolasyonunda seçici ortam sağladığı anlaşılmaktadır. Besiyerinin selektif izolasyona katkısının olduğu çalışmalar literatürde bulunmaktadır. İzolasyon çalışmalarından elde edilen izolatların moleküler tanımlamasında 16S rRNA dizi analizleri kullanılmıştır. 16S rRNA analizleri, mikroorganizmalar arasında ki akrabalık ilişkilerini ve olası yeni türleri belirleyebilmek amacıyla rutin olarak kullanılmaktadır. 16S rRNA gen bölgesinin kullanımı ile ilgili bazı yetersizliklerin olması ile birlikte bu gen bölgesinde bulunan korunmuş bölgelerin varlığı ve oldukça geniş bir veri bankasına sahip olması nedeniyle yöntem güncelliğini korumaktadır.

Elde edilen izolatların dizileme çalışmaları sonucunda 6 farklı cinse mensup oldukları belirlenmiştir. Toplam 22 izolatın filogenetik hattı Neighbour Joining (Saitou ve Nei, 1987), algoritması ve Jukes-Cantor evrimsel uzaklık matrisi kullanılarak belirlenmiştir. Aktinomycetales takımı içinde, *Cellulomonas*, *Micromonospora* ve *Saccharomonospora* cins üyelerine mensup 16 izolatın filogenetik ilişkileri belirlenmiştir. *Bacilli* ailesinin üyesi olan ve *Brevibacillus* ile *Paenibacillus* cinslerine ait 4 izolat ve *Methylobacteriaceae* ailesine ait olan *Microvirga* cins üyesi bir izolat elde edilmiştir. Bu izolatlardan yüksek nükleotit farklılıklarına sahip olanlar ile dizileme analizleri tam olarak gerçekleştirilemeyenlerin analizleri tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçlardan S1S32 *Microvirga* sp. (23 nt farklılığı), S2S24 *Cellumonas* sp. (19 nt farklılığı), S1141 *Brevibacillus* sp. (8 nt farklılığı), S1S22 *Paenibacillus* sp. (6 nt farklılığı), S2S21 *Saccharomonospora* sp. (17 nt farklılığı) ile S1S33 ve S1G21 *Micromonospora* sp. (13-15 nt farklılığı) izolatlarının olası yeni tür olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 6.1., 16S rRNA dizi analizlerine göre olası yeni tür olan izolatlar

İzolatuın kodu	Benzerlik oranı %	Nükleotit farklılığı	Filogenetik ilişkisi
S1S32	98.33	23 nt (1380 bç)	<i>Microvirga soli</i>
S2S24	98.63	19 nt (1386 bç)	<i>Cellomonas aerilata</i>
S1141	99.4	8 nt (1339 bç)	<i>Brevibacillus agri</i>
S1S22	99.58	6 nt (1417 bç)	<i>Paenibacillus dentritiformis</i>
S2S21	98.81	17 nt (1424 bç)	<i>Saccharomonospora azurea</i>
S1S33	99.06	13 nt (1383 bç)	<i>Micromonospora spongicola</i>
S1G21	98.94	15 nt (1419 bç)	<i>Micromonospora ureilytica</i>

Özellikle yüksek nükleotit farklılıklarına sahip olan izolatların yeni birer tür olarak tanımlanabilmesi için DNA-DNA homoloji çalışmalarının veya Tüm Genom Analizlerinin yapılarak yeni bir tür olduğunu kesinleştirdikten sonra nümerik, kemotaksonomik ve moleküler analizlerinin tamamlanması amaçlanmaktadır. Bu analizlerin tamamlanması ile literatüre yeni türler kazandırılması ve gereken finansmanın oluşturulacak yeni bir proje ile sağlanması hedeflenmektedir. Ayrıca antibakteriyel ve antifungal aktivite yönünden de etkin olan izolatların farklı biyoteknolojik çalışmalarda kullanılarak yeni çalışmalar ve projelere zemin oluşturması amaçlanmaktadır.

Tez çalışmamızın sonuçlarından **1 adet uluslararası sözlü bildiri (Özdemir Koçak, F., Çiğdem, U., Kaygusuz, Ö., Darcan, C., Şahin, N. 2018. Molecular Characterization of *Micromonospora* Strains Isolated from Sakarya River Sediment. IV. International Conference on Engineering and Natural Sciences. Sözlü Sunumu. S.90. May 2 to 6, 2018 in Kyiv, Ukraine), 1 adet uluslararası poster bildiri (Özdemir Koçak, F., Çiğdem, U., Darcan, C., Şahin, N. 2018. Molecular Characterization of *Microvirga* Strain Isolated from Sakarya River Sediment. International Conference on Engineering Technology and Applied Sciences. Poster Sunumu. July 17-21, 2018, Skopje, Macedoina)** literatüre kazandırılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdulla, H.M., El-Shatoury, S.A., “Actinomycetes in rice straw decomposition.”, *Waste Manag.*, 27:850–853 (2007).
- Adékambi, T., Butler, R.W., Hanrahan, F., Delcher, A.L., Drancourt, M., Shinnick, T.M., “Core gene set as the basis of multilocus sequence analysis of the subclass Actinobacteridae”, *PLoS. One.*, 6(3):e14792 (2011).
- Agamuthu, P., Tan, E.L., “Digestion of dried palm oil mill effluent by *Cellulomonas* species.”, *Microbiol. Lett.*, 30:109–113 (1985).
- Ahmed, I., Kudo, T., Abbas, S., Ehsan, M., Iino, T., Fujiwara, T., ve Ohkuma, M., “*Cellulomonas pakistanensis* sp. nov., a moderately halotolerant Actinobacteria.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64: 2305–2311 (2014).
- Akhtar, M.S., Siddiqui, Z.A., “Biocontrol of a chickpea root-rot disease complex with *Glomus intraradices*, *Pseudomonas putida* and *Paenibacillus polymyxa*.”, *Australas. Plant Pathol.*, 36:175–180 (2007).
- Alam, M.T., Merlo, M.E., Takano, E., Breitling, R., “Genome-based phylogenetic analysis of *Streptomyces* and its relatives”, *Mol. Phylogenet. Evol.*, 54(3):763–772 (2010).
- Allan, R.N., Lebbe, L., Heyrman, J., De Vos, P., Buchanan, C.J., ve Logan, N.A., “*Brevibacillus levickii* sp. nov. and *Aneurinibacillus terranovensensis* sp. nov., two novel thermoacidophiles isolated from geothermal soils of northern Victoria Land, Antarctica.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55:1039–1050 (2005).
- Al-Zarban, S.S., Al-Musallam, A.A., Abbas, I., Stackebrandt, E., ve Kroppenstedt, R.M., “*Saccharomonospora halophila* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52:555–558 (2002).
- Amin, A., Ahmed, I., Habib, N., Abbas, S., Hasan, F., Xiao, M., Hozzein, W.N., ve Li, W.J., “*Microvirga pakistanensis* sp. nov., a novel bacterium isolated from desert soil of Cholistan, Pakistan.”, *Arch. Microbiol.*, 198:933-939 (2016).
- An, D.S., Im, W.T., Yang, H.C., Kang, M.S., Kim, K.K., Jin, L., Kim, M.K., ve Lee, S.T., “*Cellulomonas terrae* sp. nov., a cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55:1705–1709 (2005).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Antonopoulos, D.F., Tjamos, S.E., Antoniou, P.P., Rafeletos, P., Tjamos, E.C., “Effect of *Paenibacillus alvei*, strain K165, on the germination of *Verticillium dahliae* microsclerotia in planta.”, ***Biol. Control.***, 46:166–170 (2008).
- Ara, I. ve Kudo, T., “Two new species of the genus *Micromonospora*: *Micromonospora chokoriensis* sp. nov. and *Micromonospora coxensis* sp. nov., isolated from sandy soil.”, ***J. Gen. Appl. Microbiol.***, 53:29–37 (2007).
- Ardley, J.K., Parker, M.A., de Meyer, S.E., Trengove, R.D., O’Hara, G.W., vd., “*Microvirga lupini* sp. nov., *Microvirga lotononidis* sp. nov. and *Microvirga zambiensis* sp. nov. are alphaproteobacterial root-nodule bacteria that specifically nodulate and fix nitrogen with geographically and taxonomically separate legume hosts.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 62:2579–2588 (2012).
- Ash, C., Priest, F.G. ve Collins, M.D., “Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test.”, ***Antonie van Leeuwenhoek***, 64:253-260 (1993).
- Ash, C., Priest, F.G., ve Collins, M.D., “*Paenibacillus* gen nov. In Validation of the Publication of New Names and New Combinations Previously Effectively Published Outside the IJSB, List no. 51.”, ***Int. J. Syst. Bacteriol.***, 44:852 (1994).
- Azman, A.S., Othman, I., Velu, S.S., Chan, K.G., Lee, L.H., “Mangrove rare actinobacteria: taxonomy, natural compound, and discovery of bioactivity.”, ***Front Microbiol.***, 6:856 (2015).
- Bae, Y.S., Park, K., Kim, C.H., “*Bacillus* spp. as biocontrol agents of root rot and phytophthora blight on ginseng.”, ***Plant Pathol. J.***, 20:63–66 (2004).
- Baek, S.H., Im, W.T., Oh, H.W., Lee, J.S., Oh, H.M., ve Lee, S.T., “*Brevibacillus ginsengisoli* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from soil of a ginseng field.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 56:2665–2669 (2006).
- Baoyu, T., Ning, L., Lihui, L., Junwei, L., Jinkui, Y., Keqin, Z., “Cloning, expression and deletion of the cuticle-degrading protease BLG4 from nematophagous bacterium *Brevibacillus laterosporus* G4.”, ***Arch. Microbiol.***, 186:297–305 (2006).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G.P., “Taxonomy, Physiology, and Natural Products of *Actinobacteria*”, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 80(1):1–43 (2016).
- Berdy, J., “Bioactive microbial metabolites.”, *J. Antibiot.*, (Tokyo), 58:1–26 (2005).
- Berge, O., Guinebrete` re, M.H., Achouak, W., Normand, P. ve Heulin, T., “*Paenibacillus graminis* sp. nov. and *Paenibacillus odorifer* sp. nov., isolated from plant roots, soil and food.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52:607–616 (2002).
- Bergey, D.H., Harrison, F.C., Breed R.S., Hammer B.W., ve Huntoon F.M., (editors): “Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1st ed.”, *The Williams and Wilkins Co.*, Baltimore : 1-442 (1923).
- Bernèche-D'Amours, A., Ghinet, M.G., Beaudin, J., Brzezinski, R., Roy, S., “Sequence analysis of *rpoB* and *rpoD* gene fragments reveals the phylogenetic diversity of actinobacteria of genus *Frankia*”, *Can. J. Microbiol.*, 57(3):244–249 (2011).
- Blackall, L.L., Parlett, J.H., Hayward, A.C., Minnikin, D.E., Greenfield, P.F., Harbers, A.E., “*Nocardia pinenensis* sp. nov., an actinomycete found in activated sludge foams in Australia.”, *J. Gen. Microbiol.*, 135:1547-1558 (1989).
- Brown, J.M., Frazier, R.P., Morey, R.E., Steigerwalt, A.G., Pellegrini, G.J., Daneshvar, M.I., Hollis, D.G, ve McNeil, M.M., “Phenotypic and genetic characterization of clinical isolates of CDC coryneform group A-3: proposal of a new species of *Cellulomonas*, *Cellulomonas denverensis* sp. nov.”, *J. Clin. Microbiol.*, 43:1732–1737 (2005).
- Buchanan R.E., “Studies in the nomenclature and classification of bacteria. II. The primary subdivisions of the *Schizomycetes*.”, *J. Bacteriol.*, 2:155- 164 (1917).
- Caputo, A., Lagier, J.C., Azza, S., Robert, C., Mouelhi, D., Fournier, P.E., Raoult, D., “*Microvirga massiliensis* sp. nov., the human commensal with the largest genome.”, *Microbiol. Open.*, 5:307-322 (2016).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Carlson, S., L. Marler, S.J., Nam, B., Santarsiero, J., Pezzuto, J.M., ve Murphy, B.T., “Potential chemopreventive activity of a new macrolide antibiotic from a Marine-Derived *Micromonospora* sp.”, *Marine Drugs*, 11:1152-1161 (2013).
- Carro, L., Riesco, R., Spröer, C. ve Trujillo, M.E., “*Micromonospora ureilytica* sp. nov., *Micromonospora noduli* sp. nov. and *Micromonospora vinacea* sp. nov., isolated from *Pisum sativum* nodules.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 66:3509-3514 (2016).
- Cavalier Smith T., “The neomuran origin of archaeobacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52:7-76 (2002).
- Chan, J.Z., Halachev, M.R., Loman, N.J., Constantinidou, C., Pallen, M.J., “Defining bacterial species in the genomic era: insights from the genus *Acinetobacter*”, *BMC Microbiol.*, 12(1):1 (2012).
- Choi, M.J., Bae, J.Y., Kim, K.Y., Kang, H., ve Cha, C.J., “*Brevibacillus fluminis* sp. nov., isolated from sediment of estuarine wetland.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60:1595–1599 (2010).
- Chou, J.H., Chou, Y.J., Lin, K.Y., Sheu, S.Y., Sheu, D.S., Arun, A.B., Young, C.C., ve Chen, W.M., “*Paenibacillus fonticola* sp. nov., isolated from a warm spring.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57:1346–1350 (2007).
- Chun, J., “Computer Assisted Classification and Identification of Actinomycetes.”, *Ph.D. Thesis. University of Newcastle upon Tyne, UK.*, 444 s. (1995).
- Chun, J., Goodfellow, M., “A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 45:240-245 (1995).
- Chun, J., Lee, J.H., Jung, Y., Kim, M., Kim, S., Kim, B.K., Lim, Y.W., EzTaxon: “a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57(10):2259–2261 (2007).
- Clark, F.E., “The generic classification of the soil corynebacteria.”, *Int. Bull. Bacteriol. Nom. Tax.*, 2:45–56 (1952).
- Clarridge III, J.E., “Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases.”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 17:840–862 (2004).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Cohan, F.M., “What are bacterial species?”, *Annu. Rev. Microbiol.*, 56:457–487 (2002).
- Cole, S., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D., Gordon, S., Eiglmeier, K., Gas, S., Barry, C.R., “Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence”, *Nature*, 393(6685):537–544 (1998).
- Collins, B.S., Kelly, C.T., Fogarty, W., “Maltogenic alpha-amylase of *Saccharomonospora viridia*.”, *Biochem. Soc. Trans.*, 20:81S (1992).
- Collins, M.D., ve Pascual, C., “Reclassification of *Actinomyces humiferus* (Gledhill and Casida) as *Cellulomonas humilata* nom. corrig., comb. nov.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50:661–663 (2000).
- Colwell, R.R., “Polyphasic taxonomy of bacteria. In: Izuka H, Hasegawa T (eds) Culture collections of microorganisms.”, *University of Tokyo Press, Tokyo*, pp 421–436 (1970).
- Craven, K.D., Hsiau, P.T.W., Leuchtmann, A., Hollin, W., Schardl, C.L., “Multigene phylogeny of *Epichloe* species, fungal symbionts of grasses.”, *Ann. Mo. Bot. Garden*, 88:14–34 (2001).
- Cross, T., “Aquatic actinomycetes: a critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats.”, *J. Appl. Bacteriol.*, 50:397–423 (1981a).
- Cross, T., “The monosporic actinomycetes.”, *The prokaryotes: A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria*, Starr, M.P., Stolp, H., Trüper, H., Balows, G.A., and Schlegel, H.G., (ed.) *Springer-Verlag*, Berlin 2091–2102 (1981b).
- Daane, L.L., Harjono, I., Barns, S.M., Launen, L.A., Palleron, N.J., ve Häggblom, M. M., “PAH-degradation by *Paenibacillus* spp. and description of *Paenibacillus naphthalenovorans* sp. nov., a naphthalene- degrading bacterium from the rhizosphere of salt marsh plants.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52:131–139 (2002).
- Dahal, R.H., ve Kim, J., “*Microvirga soli* sp. nov., an alphaproteobacterium isolated from soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 67:127-132 (2017).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- de Souza, R., Meyer, J., Schoenfeld, R., da Costa, P.B., Passaglia, L.M.P., “Characterization of plant growth-promoting bacteria associated with rice cropped in iron-stressed soils.”, *Ann. Microbiol.*, 65:951–964 (2014).
- De Vos, P., Ludwig, W., Schleifer, K.H., Whitman, W.B., “Family IV. *Paenibacillaceae* fam. nov.”, *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd ed. vol. 3., In: De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., editors. *Springer*, New York: pp. 269 (2009).
- Deloger, M., El Karoui, M., Petit, M.A., “A genomic distance based on MUM indicates discontinuity between most bacterial species and genera.”, *J. Bacteriol.*, 191(1):91–99 (2009).
- Devulder, G., de Montclos, M.P., Flandrois, J., “A multigene approach to phylogenetic analysis using the genus *Mycobacterium* as a model”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55(1):293–302 (2005).
- Diaz, P.L., Guirola, H.A., “Fermentation study of cellulosic materials of sugarcane by species of the genus *Cellulomonas*.”, *Rev. Cienc. Biol.*, 14:283–298 (1983).
- Dolashka, P., Georgieva, D.N., Stoeva, S., Genov, N., Rachev, R., Gusterova, A., Voelter, W., “A novel thermostable neutral proteinase from *Saccharomonospora canescens*.”, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1382:207–221 (1998).
- Doolittle, W.F., “Phylogenetic classification and the universal tree.”, *Science*, 284:2124–2129 (1999).
- Dunlap, C.E., Callihan, C.D., “Single cell protein production from cellulosic waste. In: Yen H (ed) *Recycling and disposal of solidwastes: industrial, agricultural, domestic.*”, *Ann. Harbor Scientific Publishers*, 335–347 (1974).
- Edwards, S.G., Seddon, B., “Mode of antagonism of *Brevibacillus brevis* against *Botrytis cinerea* in vitro.”, *J. Appl. Microbiol.*, 91(4):652–659 (2001).
- Elberson, M.A., Malekzadeh, F., Yazdi, M.T., Kameranpour, N., Noori-Dalooi, M.R., Matte, M.H., Shahamat, M., Colwell, R.R., ve Sowers, K.R., “*Cellulomonas persica* sp. nov. and *Cellulomonas iranensis* sp. nov., mesophilic cellulose-degrading bacteria isolated from forest soils.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50:993–996 (2000).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Embley, M.T., Smida, J. ve Stackebrandt, E., “The phylogeny of mycolate-less wall chemotype IV Actinomycetes and description of *Pseudonocardiaceae* fam. nov.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 11:44-52 (1988).
- Embley, T.M., Goodfellow, M., O’Donnell, A.G., Rose, D., ve Minnikin, D.E. “Chemical criteria in the classification of the mycolateless wall chemotype IV actinomycetes.”, In Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes, Edited by Szabo, G., Biro, S., Goodfellow, M., *Academica Kiado, Budapest*, pp. 553–556 (1985).
- Erikson, D., “Studies on some lake-mud strains of *Micromonospora*.”, *J. Bacteriol.*, 41:277–300 (1941).
- Foulerton, A.G.R., “New species of *Streptothrix* isolated from the air.”, *Lancet*, 1199-1200 (1905).
- Funke, G., Ramos, C. P. ve Collins, M.D., “Identification of some clinical strains of CDC coryneform group A-3 and A-4 bacteria as *Cellulomonas* species and proposal of *Cellulomonas hominis* sp. nov. for some group A-3 strains.”, *J. Clin. Microbiol.*, 33:2091–2097 (1995).
- Fürnkranz, M., Adam, E., Müller, H., Grube, M., Huss, H., Winkler, J., et al., “Promotion of growth, health and stress tolerance of Styrian oil pumpkins by bacterial endophytes.”, *Eur. J. Plant. Pathol.*, 134:509–519 (2012).
- Gao, R.X., Liu, C.X., Zhao, J.W., Jia, F.Y., Yu, C., Yang, L.Y., Wang, X.J. ve Xiang W.S., “*Micromonospora jinlongensis* sp. nov., isolated from muddy soil in China and emended description of the genus *Micromonospora*.”, *Anton. Leeuw. Int. J. G.*, 105: 307-315 (2014).
- Garrity, G.M., Bell, J.A. ve Lilburn, T., “Class I. *Alphaproteobacteria* class. nov.”, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, second edition, vol. 2 (The *Proteobacteria*), part C (The *Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*), In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. Garrity, G.M. (editors), *Springer*, New York, p. 1 (2005).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Garrity, G.M., Bell, J.A., Liburn, T., “Family IX. *Methylobacteriaceae* fam. nov.”, Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, The Proteobacteria, part C, The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria, 2nd ed, vol. 2, In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. and Garrity, G.M. (editors), *Springer*, New York, p. 567 (2005).
- Genilloud, O., “Genus *Micromonospora*.”, Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology - The Actinobacteria, In: Whitman, W.B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M.E., Suzuki, K.I. and Ludwig, W. (eds.), *Springer-Verlag*, NY, USA, pp. 1039-1057 (2012).
- Gibbons, N.E. ve Murray, R.G.E., “Proposals concerning the higher taxa of bacteria.”, *Int. J. Syst. Evol. Bacteriol*, 28:1-6 (1978).
- Girard, G., Traag, B.A., Sangal, V., Mascini, N., Hoskisson, P.A., Goodfellow, M., van Wezel, G.P., “A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes.”, *Open. Biol.*, 3(10):130073 (2013).
- Goodfellow, M., Haynes, J.A., “Actinomycetes in marine sediments.”, Biological, biochemical, and biomedical aspects of actinomycetes, Ortiz-Ortiz, L., Bojalil, L.F. and Yakoleff, V. (ed.), *Academic Press*, Orlando, pp 453–472 (1984).
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M., Suzuki, K.I., Ludwig, W., Whitman, W.B., “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edn, Vol 5, The Actinobacteria.”, *Springer*, New York (in press) (2011).
- Goodfellow, M., O’Donnell, A.G., “Handbook of new bacterial systematics.”, *Academic Press*, London (1993)
- Goris, J., Konstantinidis, K.T., Klappenbach, J.A., Coenye, T., Vandamme, P., Tiedje, J.M., “DNA–DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57(1):81–91 (2007).
- Goto, K., Fujita, R., Kato, Y., Asahara, M. ve Yokota, A., “Reclassification of *Brevibacillus brevis* strains NCIMB 13288 and DSM 6472 (5NRRL NRS-887) as *Aneurinibacillus danicus* sp. nov. and *Brevibacillus limnophilus* sp. nov.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54:419–427 (2004).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Greene, J., Treuhaft, M., Arusell, R., “Hypersensitivity pneumonitis due to *Saccharomonospora viridis* diagnosed by inhalation challenge.”, *Ann. Allergy.*, 47:449–452 (1981).
- Greiner-Mai, E., Korn-Wendisch, F., Kutzner, H.J., “Taxonomic revision of the genus *Saccharomonospora* and description of *Saccharomonospora glauca* sp. nov.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 38:398–405 (1988).
- Greiner-Mai, E., Kroppenstedt, R.M., Korn-Wendisch, F. ve Kutzner, H.J., “Morphological and biochemical characterization and emended descriptions of thermophilic actinomycetes species.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 9:97–109 (1987).
- Gulati, M.K., Koch, E., Sikora, R.A., Zeller, W., “Biological control of *Phytophthora* diseases on strawberry with rhizobacteria.”, *Bull OILB/SROP.*, 24:51–5 (2001).
- Guo, Y., Zheng, W., Rong, X., Huang, Y., “A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S rRNA gene clade: use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58(1):149–159 (2008).
- Haggag, W.M., “Colonization of exopolysaccharide-producing *Paenibacillus polymyxa* on peanut roots for enhancing resistance against crown rot disease.”, *Afr. J. Biotechnol.*, 6:1568–77 (2007).
- Han, Z., Zhang, Z., Dong, Y., Yang, M., “Effects of endophytic bacteria P22 and S16 in *Populus* on the rooting and growth of the relative species plants.”, *J. Northeast For Univ.*, 42:117–21 (2014).
- Harvey, I., Cormier, Y., Beaulieu, C., Akimov, V.N., Me’riaux, A., Duchaine, C., “Random amplified ribosomal DNA restriction analysis for rapid identification of thermophilic actinomycete-like bacteria involved in hypersensitivity pneumonitis.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 24:277–284 (2001).
- Hassi, M., Guendouzi, S.E., Haggoud, A., David, S., Ibnsouda, S., Houari, A., Iraqui, M., “Antimycobacterial activity of a *Brevibacillus laterosporus* strain isolated from a Moroccan soil.”, *Braz. J. Microbiol.*, 2012:1516–1522 (2012).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Hatayama, K., Shoun, H., Ueda, Y. ve Nakamura, A., “*Brevibacillus fulvus* sp. nov., isolated from a compost pile.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64:506-512 (2014).
- Henz, S.R., Huson D.H., Auch, A.F., Nieselt-Struwe, K., Schuster, S.C., “Whole-genome prokaryotic phylogeny”, *Bioinformatics*, 21(10):2329–2335 (2005).
- Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K ve Wellington, H.M.E., “Analysis of Actinomycete Communities by Specific Amplification of Genes Encoding 16S rRNA and Gel-Electrophoretic Separation in Denaturing Gradients.”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(8):3233–3241 (1997).
- Hirsch, P., Mevs, U., Kroppenstedt, R. M., Schumann, P. ve Stackebrandt, E., “Cryptoendolithic actinomycetes from Antarctic sandstone rock samples: *Micromonospora endolithica* sp. nov. and two isolates related to *Micromonospora coerulea* Jensen 1932.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 27:166–174 (2004).
- Hong, K., Gao, A.H., Xie, Q.Y., Gao, H., Zhuang, L., Lin, H.P., Yu, H.P., Li, J., Yao, X.S., Goodfellow, M., Ruan, J.S., “Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China.”, *Mar. Drugs*, 7:24–44 (2009).
- Hsing, W., ve E. Canale-Parola., “Cellobiose chemotaxis by the cellulolytic bacterium *Cellulomonas gelida*.”, *J. Bacteriol.*, 174:7996–8002 (1992).
- Huang, E., Yousef, A.E., “The lipopeptide antibiotic paenibacterin binds to the bacterial outer membrane and exerts bactericidal activity through cytoplasmic membrane damage.”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 80:2700–2704 (2014).
- Huang, H.Q., Lv, J.S., Hu, Y.H., Fang, Z., Zhang, K.S., Bao, S.X., “*Micromonospora rifamycinica* sp. nov., a novel actinomycete from mangrove sediment.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58:17–20 (2008).
- Hugon, P., Mishra, A.K., Nguyen, T.T., Raoult, D. ve Fournier, P.E., “Non-contiguous finished genome sequence and description of *Brevibacillus massiliensis* sp. nov. *Stand.*”, *Genomic Sci.*, 8:1-14 (2013).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Inan, K., Canakci, S., Belduz, A. O. ve Sahin, F. “*Brevibacillus aydinogluensis* sp. nov., a moderately thermophilic bacterium isolated from Karakoc hot spring.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 62:849–855 (2012).
- Inan, K., Ozer, A., Guler, H.I., Belduz, A.O. and Canakci, S., “*Brevibacillus gelatini* sp. nov., isolated from a hot spring.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 66:712-718 (2016).
- Jani, S.A., Chudasama, C.J., Patel, D.B., Bhatt, P.S., Patel, H.N., “Optimization of extracellular protease production from alkali thermo tolerant actinomycetes: *Saccharomonospora viridis* SJ-21.”, *Bull Environ. Pharmacol. Life Sci.*, 1(6):84–92 (2012).
- Jaret, R.S., Mallams, A.K. ve Reimann, H., “The megalomicins. IV. The structures of megalomicins A, B, C1, and C2.”, *J. Chem. Soc. [Perkin 1]*, 13:1374-1388 (1973).
- Jensen, H.L., “Contributions to our knowledge of the actinomycetales. III. Further observations on the genus *Micromonospora*.”, *Proc. Linn. Soc. N.S. Wales*, 57:173– 180 (1932).
- Jensen, H.L., “The genus *Micromonospora* Orskov, a little known group of soil microorganisms.”, *Proc. Linn. Soc. N.S. Wales*, 55:231–248 (1930).
- Jeon, Y.H., Chang, S.P., Hwang, I., Kim, Y.H., “Involvement of growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* in root rot of stored Korean ginseng.”, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 13:881–91 (2003).
- Jin, X., Xu, L.H., Mao, P.H., Hseu, T.H. ve Jiang, C.L., “Description of *Saccharomonospora xinjiangensis* sp. nov. based on chemical and molecular classification.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48:1095–1099 (1998).
- Jones, B.E., Grant, W.D., Duckworth, A.W., Schumann, P., Weiss, N. ve Stackebrandt, E., “*Cellulomonas bogoriensis* sp. nov., an alkaliphilic cellulomonad.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55:1711–1714 (2005).
- Jones, K.L., “Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelia is a fluctuating characteristic”, *J. Bacteriol.*, 57:141-145 (1949).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Jukes T.H., Cantor C.R., “Evolution of protein molecules”, Mammalian Protein Metabolism, in Munro, R.E., ed, *Academic Press*, New York, pp. 21–132 (1969).
- Jung, T.K., Kim, J.H., Song, H.G., “Antifungal activity and plant growth promotion by rhizobacteria inhibiting growth of plant pathogenic fungi.”, *Kor. J. Microbiol.*, 48:16–21 (2012).
- Kang, M.S., Im, W.T., Jung, H.M., Kim, M.K., Goodfellow, M., Kim, K.K., Yang, H.C., An, D.S. ve Lee, S.T., “*Cellulomonas composti* sp. nov., a cellulolytic bacterium isolated from cattle farm compost.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57:1256–1260 (2007).
- Kanso, S., Patel, B.K.C., “*Microvirga subterranea* gen. nov., sp. nov., a moderate thermophile from a deep subsurface Australian thermal aquifer.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53:401–406 (2003).
- Kauri, T., ve Kushner, D.J., “Role of contact in bacterial degradation of cellulose.”, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 31:301–306 (1985).
- Kawahara, T., Itoh, M., Izumikawa, M., Kozone, I., Sakata, N., Tsuchida, T. ve Shinya, K., “New hydroxamate metabolite, MBJ-0003, from *Micromonospora* sp. 29867”, *J. Antibiot.*, 67: 261-263 (2014).
- Kawamoto, I., “Genus *Micromonospora* Ørskov 1923, 147AL.”, In Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, vol. 4, Edited by Williams, S.T., Sharpe, M.E. and Holt, J.G., *Williams and Wilkins*, Baltimore, pp. 2442–2450 (1989).
- Kellerman, K.F., Scales, F.M. ve Smith, N.R., “Identification and classification of cellulose dissolving bacteria.”, *Zentrabl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Abt. II*, 39:502–522 (1913).
- Ker, K., Seguin, P., Driscoll, B.T., Fyles, J.W., Smith, D.L., “Switchgrass establishment and seeding year production can be improved by inoculation with rhizosphere endophytes.”, *Biomass Bioenergy.*, 47:295–301 (2014).
- Kim, B.C., “Jeong, W.J., Kim, D.Y., Oh, H.W., Kim, H., Park, D.S., Park, H.M. ve Bae, K.S., *Paenibacillus pueri* sp. nov., isolated from Pu’er tea.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59:1002–1006 (2009).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Kim, B.S., Moon, S.S. ve Hwang, B.K., “Isolation, antifungal activity, and structure elucidation of the glutarimide antibiotic, streptimidone, produced by *Micromonospora coerulea*.”, *J. Agric. Food Chem.*, 47: 3372-3380 (1999).
- Kim, M.K., Sathiyaraj, S., Pulla, R.K. ve Yang, D.C., “*Brevibacillus panacihumi* sp. nov., a b-glucosidase-producing bacterium.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59:1227–1231 (2009).
- Kirby, B.M., Everest, G.J., Meyers, P.R., “Phylogenetic analysis of the genus *Kribbella* based on the *gyrB* gene: proposal of a *gyrB*-sequence threshold for species delineation in the genus *Kribbella*”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 97(2):131–142 (2010).
- Ko, K.S., Kim, Y.S., Lee, M.Y., Shin, S.Y., Jung, D.S., Peck, K.R. ve Song, J.H., “*Paenibacillus konsidensis* sp. nov., isolated from a patient.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58:2164–2168 (2008).
- Konstantinidis, K.T., Tiedje, J.M., “Genomic insights that advance the species definition for prokaryotes.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102(7):2567–2572 (2005).
- Konstantinidis, K.T., Tiedje, J.M., “Prokaryotic taxonomy and phylogeny in the genomic era: advancements and challenges ahead”, *Curr. Opin. Microbiol.*, 10(5):504–509 (2007).
- Korczak, B.M., Stieber, R., Emler, S., Burnens, A.P., Frey, J. ve Kuhnert, P., “Genetic relatedness within the genus *Campylobacter* inferred from *rpoB* sequences.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56:937–945 (2006).
- Krasilnikov, N.A., “Ray fungi and Related Organisms”, Actinomycetes, *Akademii Nauk SSSR*, Moscow, p. 272 (1938).
- Krieg, N.R., Staley, J.T., Brown, D.R., Hedlund, B.P., Paster, B.J., Ward, N.L., Ludwig, W., Whitman, W.B., *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, Volume 4, The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gennatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae and Planctomycetes, *Springer*, USA (2010).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Kroppenstedt, R.M., “Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms.”, *Soc. Appl. Bacteriol. Tech. Ser.*, 20:173–197 (1985).
- Kuisiene, N., Raugalas, J., Sproer, C., Kroppenstedt, R.M., Stuknyte, M. ve Chitavichius, D., “*Paenibacillus tylopili* sp. nov., a chitinolytic bacterium isolated from the mycorrhizosphere of *Tylopilus felleus*.”, *Folia Microbiol.*, (Praha) 53:433–437 (2008).
- Kuncharoen, N., Pittayakhajonwut, P. ve Tanasupawat, S., “*Micromonospora globbae* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from roots of *Globba winitii* C. H. Wright.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 68:1073-1077 (2018).
- Kuykendall, L.D., “Order VI. *Rhizobiales* ord. nov.”, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, second edition, vol. 2 (The *Proteobacteria*), part C (The *Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*), In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. and Garrity, G.M. (editors), *Springer*, New York, p. 324 (2005).
- Küster, E., ve Williams, S., “Selection of media for isolation of streptomycetes.”, *Nature*, 202:928-929 (1964).
- Lane, D.J., “16S/23S rRNA sequencing.”, In *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, edited by Stackebrandt, E. and Goodfellow, M., *John Wiley and Sons*, New York, s: 115-175 (1991).
- Lapidot, D., Dror, R., Vered, E., Mishli, O., Levy, D., Helman, Y., “Disease protection and growth promotion of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) by *Paenibacillus dendritiformis*.”, *Plant Pathol.*, 64:545–51 (2014).
- Leblond-Bourget, N., Philippe, H., Mangin, I., Decaris, B., “16S rRNA and 16S to 23S internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter-and intraspecific *Bifidobacterium* phylogeny”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 46(1):102–111 (1996).
- Lechevalier, H., Lechevalier, M.P., Gerber, N.N., “Chemical composition as a criterion in the classification of actinomycetes.”, *Adv. Appl. Microbiol.*, 14:47–72 (1971).
- Lechevalier, H.A., ve Lechevalier, M.P., “Introduction to the order *Actinornycetales*”, The prokaryotes, In M. P. Starr, H. Stolp, H. G. Truper, A. Balows, and H. G. Schlegel (ed.), *Springer-Verlag AG*, Berlin, p. 1915-1922 (1981).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Lechevalier, H.A., Lechevalier, M.P., “Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique.”, *Ann. Inst. Pasteur.*, 108:662–673 (1965).
- Lechevalier, M.P. ve Lechevalier, H., “Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 20:435–443 (1970).
- Lechevalier, M.P., De Bievre, C., Lechevalier, H., “Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition.”, *Biochem. Syst. Ecol.*, 5(4):249–260 (1977).
- Lednicka, D., Mergaert, J., Cnockaert, M.C., Swings, J., “Isolation and identification of cellulolytic bacteria involved in the degradation of natural cellulosic fibres.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 23:292–299 (2000).
- Lee, C.M., Weon, H.Y., Hong, S.B., Jeon, Y.A., Schumann, P., Kroppenstedt, R.M., Kwon, S.W. ve Stackebrandt, E., “*Cellulomonas aerilata* sp. nov., isolated from an air sample.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58:2925–2929 (2008).
- Li, C., Liu, C.X., Zhao, J.W., Zhang, Y.J., Gao, R.X. X., Zhang, H., Yao, M., Wang, X.J. ve Xiang, W.S., “*Micromonospora maoerensis* sp. nov., isolated from a Chinese pine forest soil.”, *Anton. Leeuw. Int. J. G.*, 105: 451-459 (2014).
- Li, L., Mao, Y.J., Xie, Q.Y., Deng, Z., Hong, K., “*Micromonospora avicenniae* sp. nov., isolated from a root of *Avicennia marina*.”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103:1089– 1096 (2013a).
- Li, L., Tang, Y.L., Wei, B., Xie, Q.Y., Deng, Z., Hong, K., “*Micromonospora sonneratae* sp. nov., isolated from a root of *Sonneratia apetala*.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63:2383–2388 (2013b).
- Li, O., Lu, C., Liu, A., Zhu, L., Wang, P.M., Qian, C.D., et al. “Optimization and characterization of polysaccharide-based bioflocculant produced by *Paenibacillus elgii* B69 and its application in wastewater treatment.”, *Bioresour. Technol.*, 134:87–93 (2013).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Li, W.J., Tang, S.K., Stackebrandt, E., Kroppenstedt, R.M., Schumann, P., Xu, L.H. ve Jiang, C.L., “*Saccharomonospora paurometabolica* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete isolated from soil in China.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53:1591–1594 (2003).
- Liang, T.W., Wang, S.L., “Recent advances in exopolysaccharides from *Paenibacillus* spp.: production, isolation, structure, and bioactivities.”, *Mar. Drugs.*, 13:1847–63 (2015).
- Lin, Y.B., Fan, M.C., Guo, Y.Q., Di, X.H., Dong, D.H., Zhang, X. ve Wei, G.H., “*Micromonospora nickelidurans* sp. nov., isolated from nickel mining soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 65: 4615-4620 (2015).
- Liu, J., Lu, J., Ye, H., Zeng, X., “Preparation, antioxidant and antitumor activities in vitro of different derivatives of levan from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3.”, *Food Chem. Toxicol.*, 50:767–72 (2012).
- Liu, Z., Li, Y., Zheng, L.Q., Huang, Y.J. ve Li, W.J. “*Saccharomonospora marina* sp. nov., isolated from an ocean sediment of the East China Sea.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60:1854–1857 (2010).
- Lo Presti, L., Lanver, D., Schweizer, G., Tanaka, S., Liang, L., Tollot, M., et al. “Fungal effectors and plant susceptibility.”, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 66:513–45 (2015).
- Logan, N.A. ve De Vos, P., (2009). “Genus IV. *Brevibacillus*”, In Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 3, Shida, Takagi, Kadowaki and Komagata, edited by De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. and Whitman, W.B., *Springer*, New York, 942VP. pp. 304–316 (1996a).
- Logan, N.A., Forsyth, G., Lebbe, L., Goris, J., Heyndrickx, M., Balcaen, A., Verhelst, A., Falsen, E., Ljungh, A. ve other authors “Polyphasic identification of *Bacillus* and *Brevibacillus* strains from clinical, dairy and industrial specimens and proposal of *Brevibacillus invocatus* sp. nov.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52:953– 966 (2002).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Lucker, S., Wagner, M., Maixner, F., Pelletier, E., Koch, H., Vacherie, B., Rattei, T., Damste, J.S., Spieck, E., Le Paslier, D., Daims, H., “A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107:13479–13484 (2010).
- Ludwig, W., Schleifer K.H., ve Whitman W.B., “Class I. *Bacilli* class nov.”, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, second edition, vol. 3 (The *Firmicutes*), In: De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. and Whitman W.B., (editors): **Springer**, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, pp. 19-20 (2009).
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Buss, H.J., Trujillo, M.E., Kämpfer, P., Whitman, W.B., “Road map of the phylum *Actinobacteria*, p 1–28.”, In Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki KI, Ludwig W, Whitman WB(ed), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 5. **Springer-Verlag**, New York, (2012).
- Macagnan, D., Romeiro, R.D.S., de Souza, J.T., Pomella, A.W.V “Isolation of actinomycetes and endospore-forming bacteria from the cacao pod surface and their antagonistic activity against the witches' broom and black pod pathogens.”, *Phytoparasitica*, 3:122–132 ., (2006).
- Mackay, J.S., “Improved Enumeration of *Streptomyces* spp. on a Starch Casein Salt Medium.”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 33(2): 227–230 (1977).
- Mallams, A.K., “The megalomicins. I. D-rhodamine, a new dimethylamino sugar.”, *J. Am. Chem. Soc.*, 91: 7505-7506 (1969).
- Mallams, A.K., Jaret, R.S. and Reimann, H., “The megalomicins. II. The structure of megalomicin.”, *A. J. Am. Chem. Soc.*, 91: 7506-7508 (1969).
- Maloney, K.N., MacMillan, J.B., Kauffman, C.A., Jensen, P.R., DiPasquale, A.G., Rheingold, A.L., “Lodopyridone, a structurally unprecedented alkaloid from a marine actinomycete.”, *Org. Lett.*, 11:5422 (2009).
- Manachini, P.L., Fortina, M.G., Parini, C. ve Craveri, R., “*Bacillus thermoruber* sp. nov., nom. rev., a red-pigmented thermophilic bacterium.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 35:493–496 (1985).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Martin, N.I., Hu, H., Moake, M.M., Churey, J.J., Whittal, R., Worobo, R.W., et al. “Isolation, structural characterization, and properties of mattacin (Polymyxin M), a cyclic peptide antibiotic produced by *Paenibacillus kobensis*.”, *M. J. Biol. Chem.*, 278:13124–32 (2003).
- Migula, W., “System der Baketerien, vol. 2.”, *Jena: Gustav Fisher*, (1900).
- Mira, A., Martin-Cuadrado, A.B., D’Auria, G., Rodriguez-Valera, F., “The bacterial pan-genome: a new paradigm in microbiology.”, *Int. Microbiol.*, 13:45–57 (2010).
- Miyauchi, A., Ozawa, M., Mizukami, M., Yashiro, K., Ebisu, S., Tojo, T., Fujii, T., Takagi, H., “Structural conversion from non-native to native form of recombinant human epidermal growth factor by *B. choshinensis*.”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63:1965–1969 (1999).
- Montes, M.J., Mercade’, E., Bozal, N. ve Guinea, J., “*Paenibacillus antarcticus* sp. nov., a novel psychrotolerant organism from the Antarctic environment.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54:1521– 1526 (2004).
- Morelli, G., Song, Y., Mazzoni, C.J., Eppinger, M., Roumagnac, P., Wagner, D.M., Feldkamp, M., et al., “*Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity.”, *Nat. Genet.*, 42:1140–1143 (2010).
- Morschhauser, J., Kohler, G., Ziebuhr, W., Blum-Oehler, G., Dobrindt, U., Hacker, J., “Evolution of microbial pathogens.”, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 355:695–704 (2000).
- Mumtaz, T., Khan, M.R., Hassan, M.A., “Study of environmental biodegradation of LDPE films in soil using optical and scanning electron microscopy.”, *Micron.*, 41:430–438 (2010).
- Muyzer, G., De Waal, C.E. ve Uitterlinden, G.A., “Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-Amplified Genes Coding for 16S rRNA.”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(3):695–700 (1993).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Naing, K.W., Anees, M., Kim, S.J., Nam, Y., Kim, Y.C., Kim, K.Y., “Characterization of antifungal activity of *Paenibacillus ehimensis* KWN38 against soilborne phytopathogenic fungi belonging to various taxonomic groups.”, *Ann. Microbiol.*, 64:55–63 (2014).
- Neung, S., Nguyen, X.H., Naing, K.W., Lee, Y.S., Kim, K.Y., “Insecticidal potential of *Paenibacillus elgii* HOA73 and its combination with organic sulfur pesticide on diamondback moth, *Plutella xylostella*.”, *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.*, 57:181–6 (2014).
- Nicholson, W.L., “Roles of Bacillus endospores in the environment.”, *Cell Mol. Life Sci.*, 59:410–416 (2002).
- Nonomura, H. ve Ohara, Y., “Distribution of actinomycetes in soil. New genus and species of monosporic actinomycetes.”, *J. Ferment. Technol.*, 49:895–903 (1971).
- Oliveira, E.J., Rabinovitch, L., Monnerat, R.G., Liana, K.P., Viviane, Z., “Molecular characterization of *Brevibacillus laterosporus* and its potential use in biological control.”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 70:6657–6664 (2004).
- Ørskov, J., “Investigations into the morphology of the ray fungi.”, *Levin and Munksgaard*, Copenhagen, Denmark (1923).
- Park, D.S., Jeong, W.J., Lee, K.H., Oh, H.W., Kim, B.C., Bae, K.S. ve Park, H.Y., “*Paenibacillus pectinilyticus* sp. nov., isolated from the gut of *Diestrammena apicalis*.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59:1342–1347 (2009).
- Peng, F., Wang, C.X., Xie, Y., Jiang, H.L., Chen, L.J., Uribe, P., Bull, A.T., Goodfellow, M., Jiang, H. ve Lian, Y.Y., “A new 20-membered macrolide produced by a marine-derived *Micromonospora* strain.”, *Nat. Prod. Res.*, 27: 1366-1371 (2013).
- Phi, Q.T., Park, Y.M., Seul, K.J., Ryu, C.M., Park, S.H., Kim, J.G., et al., “Assessment of root-associated *Paenibacillus polymyxa* groups on growth promotion and induced systemic resistance in pepper.”, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20:1605–13 (2010).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Pichard, B., Thouvenot, D., “Effect of *Bacillus polymyxa* seed treatments on control of black-rot and damping-off of cauliflower.”, *Seed Sci. Technol.*, 27:455–65 (1999).
- Prakash, O., Verma, M., Sharma, P., Kumar, M., Kumari, K., Singh, A., Kumari, H., Jit, S., Gupta, S.K., Khanna, M., Lal, R., “Polyphasic approach of bacterial classification - An overview of recent advances.”, *Indian J. Microbiol.*, 47(2):98-108 (2007).
- Pramila, R., Kesavaram, P., Vijaya, R., Krishnan, M., “*Brevibacillus parabrevis*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas citronellolis*—potential candidates for biodegradation of low density polyethylene (LDPE).”, *J. Bacteriol. Res.*, 4(1):9–14 (2012).
- Pramila, R., Vijaya, R.K., “Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by fungi isolated from marine water—a SEM analysis.”, *Afri. J. Microbiol. Res.*, 5:5013–5018 (2011).
- Prévot, A.R., “Dictionnaire des Bactéries Pathogènes, 2nd ed.”, *in*: P. Hauduroy, Ehringer, G., Guillot, G., Magrou, J., Prévot, A.R., Rosset and Urbain, A., *Masson*, Paris, pp. 1-692 (1953).
- Radl, V., Simões-Araújo, J.L., Leite, J., Passos, S.R., Martins, L.M., et al., “*Microvirga vignae* sp. nov., a root nodule symbiotic bacterium isolated from cowpea grown in semi-arid Brazil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64:725–730 (2014).
- Rajoka, M.I., Malik, K.A., “Comparison of different strains of *Cellulomonas* for production of cellulolytic and xylanolytic enzymes from biomass produced on saline lands.”, *Biotechnol. Lett.*, 8:753–756 (1986).
- Rajoka, M.I., Malik, K.A., “Enhanced production of cellulases by *Cellulomonas* strains grown on different cellulosic residues.”, *Folia Microbiol. (Praha)*, 142:59–64 (1997).
- Ramasamy, D., Mishra, A.K., Lagier, J.C., Padhmanabhan, R., Rossi, M., Sentausa, E., Raoult, D., Fournier, P.E., “A polyphasic strategy incorporating genomic data for the taxonomic description of novel bacterial species”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64(2):384–391 (2014).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Ramasamy, K., Meyers, M., Bevers, J., Verachtert, H., “Isolation and characterization of cellulolytic bacteria from activated sludge.”, *J. Appl. Microbiol.*, 51:475–482 (1981).
- Rapp, M., “Indikatorzusätze zur Keimdifferenzierung auf Würze- und Malzextrakt-Agar.”, *Milchwiss.*, 29, 341-344 (1974).
- Rapp, P., Reng, H., Hempel, D.C., Wagner, F., “Cellulose degradation and monitoring of viscosity decrease in cultures of *Cellulomonas uda* grown on printed newspaper.”, *Biotechnol. Bioeng.*, 26:1167–1175 (1984).
- Rastogi, G., Sani, R.K., “Molecular techniques to assess microbial community structure, function, and dynamics in the environment,” in *Microbes and Microbial Technology Agricultural and Environmental Applications*, Ahmad, I., Ahmad, F. and Pichtel, J. Eds., *Springer*, New York, pp. 29–57 (2011).
- Redenbach, M., Scheel, J., Schmidt, U., “Chromosome topology and genome size of selected actinomycetes species”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 78(3–4):227–235 (2000).
- Ren, J., Li, L., Wei, B., Tang, Y.L., Deng, Z.X., Sun, M., Hong, K., “*Micromonospora wenchangensis* sp. nov., isolated from mangrove soil.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 63:2389–2395 (2013).
- Richard, P.A.D., Peiris, S.P., “The hydrolysis of bagasse hemicellulose by selected strains of *Cellulomonas*.”, *Biotechnol. Lett.*, 3:3944 (1981).
- Richert, K., Brambilla, E., Stackebrandt, E., “The phylogenetic significance of peptidoglycan types: molecular analysis of the genera *Microbacterium* and *Aureobacterium* based upon sequence comparison of *gyrB*, *rpoB*, *recA* and *ppk* and 16S rRNA genes.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 30:102–108 (2007).
- Richter, M., Rosselló-Móra, R., “Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106(45):19126–19131 (2009).
- Rivas, R., Garcí'a-Fraile, P., Mateos, P.F., Martí'nez-Molina, E. ve Vela'zquez, E., “*Paenibacillus cellulosilyticus* sp. nov., a cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from the bract phyllosphere of *Phoenix dactylifera*.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56:2777–2781 (2006).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Rivas, R., Mateos, P.F., Martí'nez-Molina, E. ve Vela'zquez, E., “*Paenibacillus phyllosphaerae* sp. nov., a xylanolytic bacterium isolated from the phyllosphere of *Phoenix dactylifera*.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 55:743–746 (2005).
- Rivas, R., Trujillo, M.E., Mateos, P.F., Martí'nez-Molina, E. ve Vela'zquez, E., “*Cellulomonas xylanilytica* sp. nov., a cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from a decayed elm tree.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 54:533–536 (2004).
- Roberts, R., Wenzel, F., Emanuel, D., “Precipitating antibodies in a midwest dairy farming population toward the antigens associated with farmer’s lung disease.”, ***J. Allergy Clin. Immunol.***, 57:518–524 (1976).
- Roux, V. ve Raoult, D., “*Paenibacillus massiliensis* sp. nov., *Paenibacillus sanguinis* sp. nov. and *Paenibacillus timonensis* sp. nov., isolated from blood cultures.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 54:1049–1054 (2004).
- Roux, V., Fenner, L. ve Raoult, D., “*Paenibacillus provencensis* sp. nov., isolated from human cerebrospinal fluid, and *Paenibacillus urinalis* sp. nov., isolated from human urine.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 58:682–687 (2008).
- Rusznayk, A., To'th, E.M., Schumann, P., Sproer, C., Makk, J., Szabo, G., Vladoar, P., Marialigeti, K. ve Borsodi, A.K., “*Cellulomonas phragmiteti* sp. nov., a cellulolytic bacterium isolated from reed (*Phragmites australis*) periphyton in a shallow soda pond.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 61:1662–1666 (2011).
- Safranova, V.I., Kuznetsova, I.G., Sazanova, A. L., Belimov, A.A., Andronov, E.E., Chirak, E.R., Osledkin, Y.S., Onishchuk, O.P., Kurchak, O.N., Shaposhnikov, A.I., Willems, A. ve Tikhonovich, I.A., “*Microvirga ossetica* sp. nov., a species of rhizobia isolated from root nodules of the legume species *Vicia alpestris* Steven.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 67:94-100 (2017).
- Saha, P., Mondal, A.K., Mayilraj, S., Krishnamurthi, S., Bhattacharya, A. ve Chakrabarti, T., “*Paenibacillus assamensis* sp. nov., a novel bacterium isolated from a warm spring in Assam, India.”, ***Int. J. Syst. Evol. Microbiol.***, 55:2577–2581 (2005).
- Saitou, N., Nei, M., “The neighbour-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees.”, ***Mol. and Bio. Evol.***, 4:406- 425 (1987).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., “Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed.”, *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, New York (2001).
- Schleifer, K.H., “Classification of bacteria and archaea: past, present and future.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 32(8):533–542 (2009).
- Schuurmans, D.M., Olson, B.H., San Clemente, C.L., “Production and isolation of thermoviridin, an antibiotic produced by *Thermoactinomyces viridis* n. sp.”, *Appl. Microbiol.*, 4:61–66 (1956).
- Sembiring, L., “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*, UK (2000).
- Sentausa, E., Fournier, P.E., “Advantages and limitations of genomics in prokaryotic taxonomy.”, *Clin. Microbiol. Infect.*, 19(9):790–795 (2013).
- Sharma, A., Thakur, D.R., Kanwar, S., Chandla, V.K., “Diversity of entomopathogenic bacteria associated with the white grub, *Brahmina coriacea*.”, *J. Pest. Sci.*, 86:261–73 (2013).
- Sheela, T., Usharani, P., “Influence of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the growth of maize (*Zea mays* L.)”, *Gold Res. Thoughts.*, 3:629–40 (2013).
- Shen, Y., Zhang, Y.J., Liu, C.X., Wang, X.J., Zhao, J.W., Jia, F.Y., Yang, L.Y., Yang, D.G. ve Xiang, W.S., “*Micromonospora zea* sp. nov., a novel endophytic actinomycete isolated from corn root (*Zea mays* L.)”, *J. Antibiot.*, 67: 739-743 (2014).
- Shida, O., Takagi H., Kadowaki, K. ve Komagata K., “Proposal for two new genera, *Brevibacillus* gen. nov. and *Aneurinibacillus* gen. nov.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46, 939-946 (1996).
- Shi, Z., Luo, G. ve Wang, G., “*Cellulomonas carbonis* sp. nov., isolated from coal mine soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 62:2004–2010 (2012).
- Shida, O., Takagi, H., Kadowaki, K. ve Komagata, K., “Proposal for two new genera, *Brevibacillus* gen. nov. and *Aneurinibacillus* gen. nov.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46:939–946 (1996).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Shida, O., Takagi, H., Kadowaki, K., Nakamura, L.K. ve Komagata, K., “Transfer of *Bacillus alginolyticus*, *Bacillus chondroitinus*, *Bacillus curdolanolyticus*, *Bacillus glucanolyticus*, *Bacillus kobensis*, and *Bacillus thiaminolyticus* to the genus *Paenibacillus* and emended description of the genus *Paenibacillus*.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47:289–298 (1997).
- Shirling, E.B., Gottlieb, D., “Methods for characterization of *Streptomyces* species.”, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 16:313–340 (1966).
- Shivannavar, C., Katoch, V., Sharma, V., Patil, M., Katoch, K., Bharadwaj, V., Sharma, R., Bhatia, A., Agrawal, B., “Determination of mycobacterial phylogeny on the basis of immunological relatedness of superoxide dismutases”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 46(4):1164–1169 (1996).
- Simpson, G.G., “Principles of animal taxonomy.”, *Columbia University Press*, New York (1961).
- Sivakumar, K., “Actinomycetes.”, *In Centre of Advanced Study in Marine Biology*, Annamalai University, (2008).
- Sneath, P.H.A., “International code of nomenclature of bacteria (bacteriological code 1990 revision).”, *American Society of Microbiology*, Washington (1992).
- Song, J., Wang, Y., Song, Y., Zhao, B., Wang, H., Zhou, S., Kong, D., Guo, X., Li, Y., He, M., Ma, K., Ruan, Z. ve Yan, Y. “*Brevibacillus halotolerans* sp. nov., isolated from saline soil of a paddy field.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 67:772-777 (2017).
- Song, J., Weon, H.Y., Yoon, S.H., Park, D.S., Go, S.J., Suh, J.W., “Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and *Thermoactinomyces* spp. isolated from mushroom composts in Korea based on 16S rRNA gene sequence analysis.”, *FEMS Microbiol. Lett.*, 202:97–102 (2001).
- Songsumanus, A., Tanasupawat, S., Igarashi, Y., Kudo, T., “*Micromonospora maritima* sp. nov., isolated from mangrove soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63:554–559 (2013)
- Spratt, D.A., “Significance of bacterial identification by molecular biology methods.”, *Endod. Top.*, 9:5–14 (2004).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Stackebrandt, E. ve Keddie, R.M. “Genus *Cellulomonas* Bergey et al. 1923, 154, emend. mut. char. Clark 1952, 50AL.”, Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, *In*: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. (Eds.), **Williams and Wilkins**, Baltimore, MD. 1325–1329 (1986).
- Stackebrandt, E. ve Prauser, H., “Assignment of the genera *Cellulomonas*, *Oerskovia*, *Promicromonospora* and *Jonesia* to *Cellulomonadaceae* fam. nov.”, **Syst. Appl. Microbiol.**, 14:261-265 (1991).
- Stackebrandt, E., Ebers, J., “Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards”, **Microbiol. Today**, 33(4):152 (2006).
- Stackebrandt, E., Goebel, B., “Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology”, **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, 44(4):846–849 (1994).
- Stackebrandt, E., Murray, R.G.E., Truper, H.G., “*Proteobacteria* classis nov., a name for the phylogenetic taxon that includes the ‘Purple Bacteria and Their Relatives’.”, **Int. J. Syst. Bacteriol.**, 38:321–325 (1988).
- Stackebrandt, E., Schumann, P. ve Prauser, H., “The Family *Cellulomonadaceae*.”, In *The Prokaryotes: a Handbook on the Biology of Bacteria*, 3rd edn, Edited by Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H. and Stackebrandt, E., **Springer**, New York: pp. 983–1001 (2006).
- Stackebrandt, E., Rainey, F.A. ve Ward-Rainey, N.L., “Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov.”, **Int. J. Syst. Bacteriol.**, 47:479-491 (1997).
- Sunita, C., Eunice, J.A., Steve, W., “Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on tomato by *Brevibacillus brevis*.”, **J. Phytopathol.**, 158:470–478 (2010).
- Supong, K., Suriyachadkun, C., Pittayakhajonwut, P., Suwanborirux, K. ve Thawai, C., “*Micromonospora spongicola* sp. nov., an actinomycete isolated from a marine sponge in the Gulf of Thailand.”, **J. Antibiot.**, 66: 505-509 (2013).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Syed, D.G., Tang, S.K., Cai, M., Zhi, X.Y., Agasar, D., Lee, J.C., Kim, C.J., Jiang, C.L., Xu, L.H. ve Li, W.J., “*Saccharomonospora saliphila* sp. nov., a halophilic actinomycete from an Indian soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58:570–573 (2008).
- Takebe, F., Hirota, K., Nodasaka, Y. ve Yumoto, I., “*Brevibacillus nitrificans* sp. nov., a nitrifying bacterium isolated from a microbiological agent for enhancing microbial digestion in sewage treatment tanks.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 62:2121–2126 (2012).
- Takeda, M., Suzuki, I. ve Koizumi, J., “*Paenibacillus hodogayensis* sp. nov., capable of degrading the polysaccharide produced by *Sphaerotilus natans*.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55:737–741 (2005).
- Takeda, M., Suzuki, I., Koizumi, J.I., “*Balneomonas flocculans* gen. nov., sp. nov., a new cellulose-producing member of the a-2 subclass of Proteobacteria.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 27:139–145 (2004).
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., “MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods.”, *Mol. Biol. Evol.*, doi:10.1093/molbev/msr121 (2011).
- Tan, G.Y., Ward, A.C., ve Goodfellow, M., “Exploration of *Amycolatopsis* diversity in soil using genus-specific primers and novel selective media.”, *Syst. Appl. Microbiol.*, 29(7):557-569. doi:10.1016/j.syapm.2006.01.00 (2006).
- Tapase, S.R., Mawlankar, R.B., Sundharam, S.S., Krishnamurthi, S., Dastager, S.G. ve Kodam, K.M., “*Microvirga indica* sp. nov., an arsenite-oxidizing *Alphaproteobacterium*, isolated from metal industry waste soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 67:3525-3531 (2017).
- Thanaboripat, D., Thawai, C., Kittiwongwattana, C., Laosinwattana, C., Koohakan, P. ve Parinthawong, N. “*Micromonospora endophytica* sp. nov., an endophytic actinobacteria of Thai upland rice (*Oryza sativa*).”, *J. Antibiot.*, 68: 680-684 (2015).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Thawai, C., Tanasupawat, S., Kudo, T., “*Micromonospora pattaloongensis* sp.nov., isolated from a Thai mangrove forest.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58:1516–1521 (2008).
- Tindall, B.J., Rossello-Mora, R., Busse, H.J., Ludwig, W., Kämpfer, P., “Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60:249–266 (2010).
- Treuhart, M.W., Green, J.G., Arusel, R., Borge, A., “Role of *Saccharomonospora viridis* in hypersensitivity pneumonitis.”, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 121:100 (1980).
- Trujillo, M.E., Alonso Vega, P., Rodríguez, R., Carro, L., Cerda, E., Alonso, P., vd., “The genus *Micromonospora* is widespread in legume root nodules: the example of *Lupinus angustifolius*.”, *ISME J.*, 4:1265–1281 (2010).
- Trujillo, M.E., Fernandez-Molinero, C., Velazquez, E., Kroppenstedt, R.M., Schumann, P., Mateos, P.F. ve Martínez-Molina, E., “*Micromonospora mirobrigensis* sp. nov.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55:877–880 (2005).
- Trujillo, M.E., Kroppenstedt, R.M., Schumann, P., Carro, L. ve Martínez-Molina, E., “*Micromonospora coriariae* sp. nov., isolated from root nodules of *Coriaria myrtifolia*.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56:2381–2385 (2006).
- Trujillo, M.E., Kui Hong, K. ve Genilloud, O., “The Family *Micromonosporaceae*.”, The Prokaryotes - Actinobacteria, In: E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. L. Lor, E. Stackebrandt, and F. Thompson (eds.), *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg, Germany, pp. 499-569 (2014).
- Tseng, M., Hoang, K.C., Yang, M.K., Yang, S.F., Chu, W.S., “Polyester-degrading thermophilic actinomycetes isolated from different environment in Taiwan.”, *Biodegradation*, 18:579–583 (2007).
- Udaka, S., Yamagata, H., “High-level secretion of heterologous proteins by *Bacillus brevis*.”, *Methods Enzymol.*, 217:23–33 (1993).
- Valverde, A., Peix, A., Rivas, R., Velazquez, E., Salazar, S., Santa-Regina, I., Rodríguez-Barrueco, C. ve Igual, J.M., “*Paenibacillus castaneae* sp. nov., isolated from the phyllosphere of *Castanea sativa* Miller.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58:2560–2564 (2008).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K., Swings, J., “Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics.”, *Microbiol. Rev.*, 60:407–438 (1996).
- Velazquez, E., de Miguel, T., Poza, M., Rivas, R., Rossello’ -Mora, R. and Villa, T.G., “*Paenibacillus favisporus* sp. nov., a xylanolytic bacterium isolated from cow faeces.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54:59–64 (2004).
- Ventura, M., Canchaya, C., Fitzgerald, G.F., Gupta, R.S., van Sinderen, D., “Genomics as a means to understand bacterial phylogeny and ecological adaptation: the case of bifidobacteria.”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 91:351–372 (2007).
- Veyisoglu, A., Tatar, D., Saygin, H., Inan, K., Cetin, D., Guven, K., Tuncer, M. ve Sahin, N., “*Microvirga makkahensis* sp. nov., and *Microvirga arabica* sp. nov., isolated from sandy arid soil.”, *Antonie van Leeuwenhoek*, 109:287-296 (2016).
- Viamajala, S., Peyton, B.M., Gerlach, R., Sivaswamy, V., Apel, W.A., Petersen, J.N., “Permeable reactive biobarriers for in situ Cr (VI) reduction: bench scale tests using *Cellulomonas* sp strain ES6.”, *Biotechnol. Bioeng.*, 101:1150–1162 (2008).
- Von Der Weid, I., Artursson, V., Seldin, L., Jansson, J.K., “Antifungal and root surface colonization properties of GFP-tagged *Paenibacillus brasilensis* PB177.”, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 21:1591–7 (2005).
- Wakelin, S.A., Walter, M., Jaspers, M., Stewart, A., “Biological control of *Aphanomyces euteiches* root-rot of pea with spore-forming bacteria.”, *Australas. Plant Pathol.*, 31:401–7 (2002).
- Wang, C., Xu, X.X., Qu, Z., Wang, H.L., Lin, H.P., Xie, Q.Y., Ruan, J.S., Hong, K., “*Micromonospora rhizosphaerae* sp. nov., isolated from mangrove rhizosphere soil.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61:320–324 (2011).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Wayne, L., Brenner, D., Colwell, R., Grimont, P., Kandler, O., Krichevsky, M., Moore, L., Moore, W., Murray, R., Stackebrandt, E., “Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 37(4):463–464 (1987).
- Wellington, E.M.H., Williams, S.T., “Preservation of actinomycete inoculum in frozen glycerol.”, *Microbios. Letters*, 6:151-159 (1978).
- Wenzel, F., Gray, R., Roberts, R., Emanuel, D., “Serologic studies in farmer’s lung. Precipitins to the thermophilic actinomycetes.”, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 109:464–468 (1974).
- Weon, H.Y., Kwon, S.W., Son, J.A., Jo, E.H., Kim, S.J., et al., “Description of *Microvirga aerophila* sp. nov. and *Microvirga aerilata* sp. nov., isolated from air, reclassification of *Balneimonas flocculans* Takeda et al. 2004 as *Microvirga flocculans* comb. nov. and emended description of the genus *Microvirga*.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60:2596–2600 (2010).
- Weselowski, B., Nathoo, N., Eastman, A.W., MacDonald, J., Yuan, Z.C., “Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production.”, *BMC Microbiol.*, 16:244 (2016).
- Williams S.T., Goodfellow M., Alderson G., Wellington E.M.H., Sneath P.H.A., “Sackin M.J., Numerical classification of *Streptomyces* and related genera.”, *J. Gen. Microbiol.*, 129:1743-1813 (1983).
- Woese, C.R., “Bacterial evolution”, *Microbiol. Rev.*, 51(2):221 (1987).
- Woese, C.R., Fox, G.E., “Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 74(11):5088–5090 (1977).
- Xian, W.D., Yin, Y.R., Liu, L., Yuan, C.G., Hussain, F., Khan, I., Habib, N., Zhou, E.M. ve Li, W.J. “*Brevibacillus sediminis* sp. nov., isolated from a hot spring.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 66:548-553 (2016).
- Xie, Q.Y., Ren, J., Li, L., Li, Y., Deng, Z.X., Hong, K., “*Micromonospora mangrovi* sp. nov., isolated from mangrove soil.”, *Antonie van Leeuwenhoek*, 109:483-498 (2016).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Xie, Q.Y., Qu, Z., Lin, H.P., Li, L., Hong, K., “*Micromonospora haikouensis* sp. nov., isolated from mangrove soil.”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 101:649–655 (2012).
- Xu, D.B., Ye, W.W., Han, Y., Deng, Z.X., Hong, K., “Natural products from mangrove actinomycetes.”, *Mar. Drugs*, 12:2590–2613 (2014).
- Yang, J., Kharbanda, P.D., Mirza, M., “Evaluation of *Paenibacillus polymyxa* PKB1 for biocontrol of pythium disease of cucumber in a hydroponic system.”, *Acta. Hortic.*, 635:59–66 (2004).
- Yi, H.R., Min, K.H., Kim, C.K., Ka, J.O., “Phylogenetic and phenotypic diversity of 4-chlorobenzoate-degrading bacteria isolated from soils.”, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 31:53–60 (2000).
- Yoon, J.H., Kang, S.J., Yeo, S.H. ve Oh, T.K., “*Paenibacillus alkaliterrae* sp. nov., isolated from an alkaline soil in Korea.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55:2339–2344 (2005).
- Yoon, M.H., Ten, L.N., Im, W.T. ve Lee, S.T., “*Cellulomonas chitinilytica* sp. nov., a chitinolytic bacterium isolated from cattlefarm compost.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58:1878–1884 (2008).
- Zahra, S., Shojaosadati, S.A., Mohammad-Taheri, M., Nosrati, M., “Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium.”, *Waste Manag.*, 30:396–401 (2010).
- Zarban, S., Al-Musallam, A.A., Abbas, I., Stackebrandt, E., Kroppenstedt, R.M., “*Saccharomonospora halophila* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52:555–558 (2002).
- Zhang, D.F., Chen, W., He, J., Zhang, X.M., Xiong, Z.J., Sahu, M.K., Sivakumar, K. ve Li, W.J. “*Saccharomonospora oceani* sp. nov. isolated from marine sediments in Little Andaman, India.”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103:1377–1384 (2013).
- Zhang, J., Song, F., Xin, Y.H., Zhang, J., Fang, C., “*Microvirga guangxiensis* sp. nov., a novel alphaproteobacterium from soil, and emended description of the genus *Microvirga*.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59:1997–2001 (2009).

KAYNARLAR (Devam Ediyor)

- Zhang, L., Li, L., Deng, Z. ve Hong, K. “*Micromonospora zhanjiangensis* sp. nov., isolated from mangrove forest.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 65:4880-4885 (2015).
- Zhang, L., Xi, L., Qiu, D., Song, L., Dai, X., Ruan, J. ve Huang, Y., “*Cellulomonas marina* sp. nov., isolated from deepsea water.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63:3014–3018 (2013).
- Zhao, S., Liu, C., Zheng, W., Ma, Z., Cao, T., Zhao, J., Yan, K., Xiang, W. ve Wang, X., “*Micromonospora parathelypteridis* sp. nov., an endophytic actinomycete with antifungal activity isolated from the root of *Parathelypteris beddomei* (Bak.) Ching.”, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 67:268-274 (2017).
- Zhou, K., Yamagishi, M., Osaki, M., “*Paenibacillus* BRF-1 has biocontrol ability against *Phialophora gregata* disease and promotes soybean growth.”, *Soil. Sci. Plant Nutr.*, 54:870–5 (2008).
- Zimmerman, W., “Degradation of lignin by bacteria.”, *J. Biotechnol.*, 13:199–130 (1980).
- URL-1: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Ziyaret Tarihi: 20.06.2018)
- URL-2: <https://www.ezbiocloud.net/> (Ziyaret Tarihi: 20.06.2018)
- URL-3: <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html> (Ziyaret Tarihi: 15.04.2018)
- URL-4: <http://www.bacterio.net/cellulomonas.html> (Ziyaret Tarihi: 25.07.2018)
- URL-5: <http://www.bacterio.net/micromonospora.html> (Ziyaret Tarihi: 25.07.2018)
- URL-6: <http://www.bacterio.net/saccharomonospora.html> (Ziyaret Tarihi: 25.07.2018)
- URL-7: <http://www.bacterio.net/brevibacillus.html> (Ziyaret Tarihi: 25.07.2018)
- URL-8: <http://www.bacterio.net/paenibacillus.html> (Ziyaret Tarihi: 25.07.2018)
- URL-9: <http://www.bacterio.net/microvirga.html> (Ziyaret Tarihi: 25.07.2018)

EKLER

EK-1:Kültür Ortamlarının İçerikleri ve Hazırlanışı

EK-2:Çözeltilerin İçerikleri ve Hazırlanışı

EK-3:İzolasyonu yapılan organizmaların petri görüntüleri

EK-4:Test İzolatlarına Ait Bazı Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

EK-1: Besiyeri Ortamları ve Hazırlanışı
SM3 Agar (Gauze's medium 2)

Glukoz	10 g
Pepton	5 g
Tripton	3 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra besiyeri ortamına agar ve distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı. Ardından cam şişeler 60 °C'ye kadar su banyosunda soğutulularak steril ortamda plastik petri kaplarına döküldü.

Starch Casein Agar

Kazein	0.3 g
KNO ₃	2 g
NaCl	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05 g
CaCO ₃	0.02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Çözünebilir nişasta	10 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.0 ± 0.2

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra besiyeri ortamına agar ve distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı. Ardından cam

şişeler 60 °C'ye kadar su banyosunda soğutulularak steril ortamda plastik petri kaplarına döküldü.

ISP 2 (Yeast Malt Ekstrakt agar)

Yeast Ekstrakt	4 g
Malt Ekstrakt	10 g
Dektroz	4 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2 ± 0.2

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra besiyeri ortamına agar ve distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı. Ardından cam şişeler 60 °C'ye kadar su banyosunda soğutulularak steril ortamda plastik petri kaplarına döküldü.

Tripton Yeast Glukoz Ekstrakt Agar

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

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra besiyeri ortamına agar ve distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı. Ardından cam şişeler 60 °C'ye kadar su banyosunda soğutulularak steril ortamda plastik petri kaplarına döküldü.

Glukoz Yeast Malt Ekstrakt Agar

Glukoz	4 g
Yeast Ekstrakt	4 g
Malt Ekstrakt	10 g
CaCO ₃	2 g
Agar	12 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra besiyeri ortamına agar ve distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı. Ardından cam şişeler 60 °C'ye kadar su banyosunda soğutulularak steril ortamda plastik petri kaplarına döküldü.

Bennet's Agar

Beef Ekstrakt	1 g
Glukoz	10 g
Yeast Ekstrakt	1 g
N-Z amine agar	2 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra besiyeri ortamına agar ve distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı. Ardından cam şişeler 60 °C'ye kadar su banyosunda soğutulularak steril ortamda plastik petri kaplarına döküldü.

SM3 Broth

Glukoz	10 g
Pepton	5 g
Tripton	3 g
NaCl	5 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan besiyeri mezür yardımıyla içerisinde cam boncuklar bulunan 50 ml'lik erlenlere 30 ml olacak şekilde bölüştürülüp ağızları pamuk ve alüminyum folyo ile kapatıldı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı.

Glukoz Yeast Malt Ekstrakt Broth

Glukoz	4 g
Yeast Ekstrakt	4 g
Malt Ekstrakt	10 g
CaCO ₃	2 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

Ortamın Hazırlanışı: İçeriği oluşturan her bir bileşen hassas terazi ile tartılarak otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldı ve üzerine bir miktar distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü. Besiyerini oluşturan bileşenlerin sudaki çözünme durumlarına göre ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı. 0,1 M NaOH veya HCl ile pH değeri ayarlandıktan sonra distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan besiyeri mezür yardımıyla içerisinde cam boncuklar bulunan 50 ml'lik erlenlere 30 ml olacak şekilde bölüştürülüp ağızları pamuk ve alüminyum folyo ile kapatıldı. Daha sonra 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı.

EK-2: Çözeltilerin İçerikleri ve Hazırlanışı**Mikroorganizmaların İzolasyonunda ve Stoklanmasında Kullanılan Çözeltiler****Ringer Solüsyonu**

Ringer	1 tablet
Distile Su	500 ml

Ortamın Hazırlanışı: 500 ml saf su içerisinde çözdürülen ringer tablet otoklavlanabilir ağzı kapaklı cam tüplere aktarılarak 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlandı.

% 30'lik Gliserol Stok Çözeltisi (Wellington ve Williams, 1978)

Gliserol (Sigma)	30 ml
Distile Su	70 ml

Ortamın Hazırlanışı: Bir beher içerisinde 70 ml saf su ve 30 ml gliserol karıştırılır. Daha sonra 1,5 ml'lik ağzı vidalı kapaklı otoklavlanabilir cryo tüplere 1 ml olacak şekilde paylaştırılıp 121 °C 1 ATM basınçta 20 dk otoklavlanır.

Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler**Lizozim (50 mg/ml)**

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

Ortamın Hazırlanışı: 500 mg lizozim 10 ml TE tampon içerisinde çözülerek hazırlandı. 1,5 ml'lik steril tüplere 1'er ml bölünerek -20 °C 'de kullanım zamanına kadar saklandı.

Tris (1M, pH:8)

Tris (Merk)	121,1 g
DDH ₂ O (Double distile saf su)	1000 ml

Ortamın Hazırlanışı: 800 ml saf su içerisine 121,1 g tris ilave edilir ve manyetik karıştırıcı üzerinde 50 °C'de berraklaşmaya kadar çözülerek oda sıcaklığında soğumaya bırakılır. pH 8'de 1 M Tris elde etmek için solüsyon içerisine 42 ml % 38'lik HCl ilave edilir. Son hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanır. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121 °C'de 20 dk otoklavda steril edilir ve oda sıcaklığında saklanır.

EDTA (0,5M, pH:8)

EDTA (Chem Cruz)	186,1 g
DDH ₂ O (Double distile saf su)	1000 ml

Ortamın Hazırlanışı: 800 ml saf su içerisine 186,1 g EDTA ve yaklaşık 20 g NaOH pelleti ilave edilerek manyetik karıştırıcı üzerinde berraklaşmaya kadar çözdürülür. Son hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanır. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121°C'de 20 dk otoklavda steril edilir ve oda sıcaklığında saklanır.

TE Tamponu

0.5M EDTA, pH 8	2 ml
1M Tris, pH 8	10 ml
DDH ₂ O (Double distile saf su)	1000 ml

Ortamın Hazırlanışı: Tampon 1000 ml'ye tamamlanmadan önce pH kontrolü yapılır. 100 ml'lik ağzı kapaklı cam şişelere bölünerek 121°C'de 20 dk otoklavda steril edilir ve oda sıcaklığında saklanır.

TBE (Tris Borik Asit EDTA 10X, pH:8)

Tris (Merk)	121,1 g
Borik asit (Merk)	61,83 g
EDTA (susuz)	5,84 g
DDH ₂ O (Double distile saf su)	1000 ml

Ortamın Hazırlanışı: Solüsyon içerikleri hassas terazi ile tartılır ve 1000 ml'lik beher içerisine konulur. İçerisine 500 ml saf su ilave edilerek solüsyon manyetik karıştırıcı üzerinde berraklaşmaya kadar tutulur. Son hacim 1000 ml'ye tamamlanıp, % 33'lük HCl (Merck) kullanılarak pH 8'e ayarlanır ve +4°C'de saklanır. Presipitat oluştuğu takdirde kullanılmamalıdır.

1X TBE (pH: 8)

10xTBE tamponu	50 ml
DDH ₂ O (Double distile saf su)	450 ml

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

Brom Fenol Mavisi

Brom fenol mavisi (AppliChem)	40 mg
Gliserol (Sigma)	5 ml
0.5 M EDTA	1,5 ml
DDH ₂ O (Double distile saf su)	3,5 ml

Ortamın Hazırlanışı: Toplam hacim 10 ml hazırlandıktan sonra eppendorf tüplere 500 µl şeklinde dağıtılıp, +4°C'de saklandı.

Agaroz Jel Hazırlanışı (%1'lik)

Agaroz (Sigma)	1 g
1X TBE Tamponu	100 ml

Ortamın Hazırlanışı: 1 g agaroz 100 ml 1X TBE tamponu bulunan 250 ml'lik erlene ilave edilir. Mikrodalgada 300-450 °C'de 3-6 dk eritilir ve homojenizasyon sağlanır. Sıcaklık yaklaşık 60 °C olunca içerisine 4 µl etidyum bromür (10 mg/ml) ilave edilir. Erlen içerisindeki çözeltinin hava kabarcığı oluşmayacak şekilde hafifçe helezonik bir biçimde kendi eksenini etrafında döndürülerek karışması sağlanır. Elektroforez tablası çalışma alanı üzerinde zemini düz olan bir yere bırakılır. Hemen sonra tablaya hava kabarcığı oluşmayacak şekilde erlen içerisindeki eriyik jel dökülür. Taraklar dikkatli bir şekilde yerleştirilir. Katılaştıktan sonra taraklar çıkarılır ve içinde 1X TBE, pH 8 tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirilir.

Nalidiksik Asit (10µg/ml)

Nalidiksik asit	0,4 g
Distile Su	100 ml

Ortamın Hazırlanışı: Nalidiksik asit antibiyotiği hassas terazide tartıldıktan sonra cam behere konularak üzerine bir miktar distile su eklenir. Manyetik karıştırıcıda çözünmesi sağlanır. Çözünme işleminde 5M NaOH çözeltisinden 20-30 µl eklenir. Nalidiksik asit tamamen çözüldükten sonra 100 ml'ye distile su ile tamamlanır. Daha sonra önceden otoklavlanmış ve pastör fırınında kurutulmuş steril otoklavlanabilir cam şişe içerisine

steril kabinet ortamında 0,22/0,45 µm'lik filtre ile süzülerek aktarılır. Cam şişenin daha sonra dış tarafı aliminyum folyo ile sarılarak buzdolabına kaldırılır.

Rifampisin (0,5µg/ml)

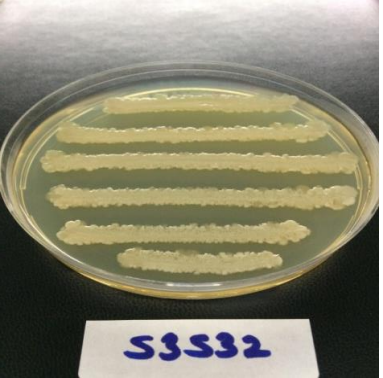
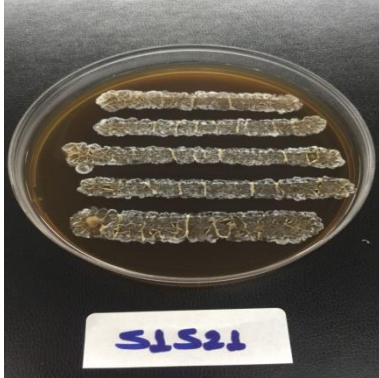
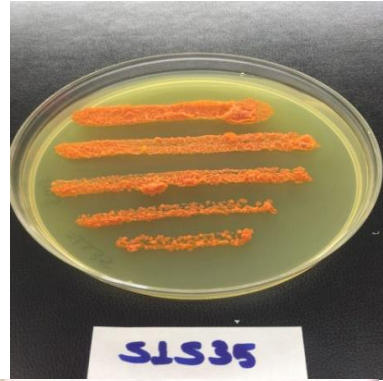
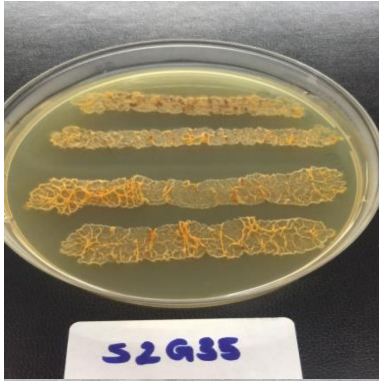
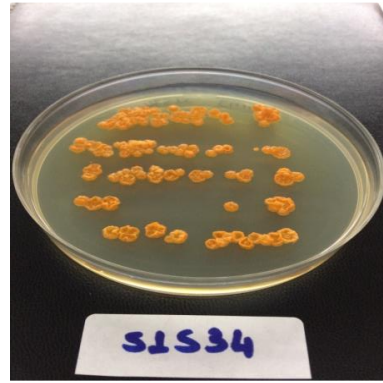
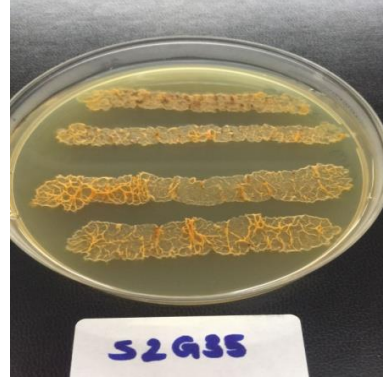
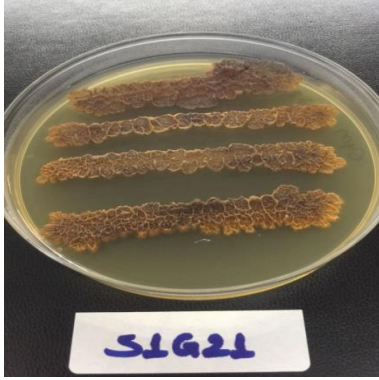
Rifampisin	0,02 g
Distile Su	100 ml

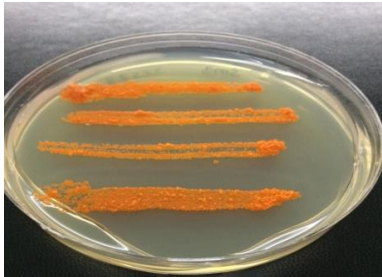
Ortamın Hazırlanışı: Rifampisin antibiyotiği hassas terazide tartıldıktan sonra cam behere konularak üzerine bir miktar distile su eklenir. Manyetik karıştırıcıda çözünmesi sağlanır. Rifampisin tamamen çözüldükten sonra 100 ml'ye distile su ile tamamlanır. Daha sonra önceden otoklavlanmış ve pastör fırınında kurutulmuş steril otoklavlanabilir cam şişe içerisine steril kabinet ortamında 0,22/0,45 µm'lik filtre ile süzülerek aktarılır. Cam şişenin daha sonra dış tarafı aliminyum folyo ile sarılarak buzdolabına kaldırılır.

Sikloheksimid (50 µg/ml)

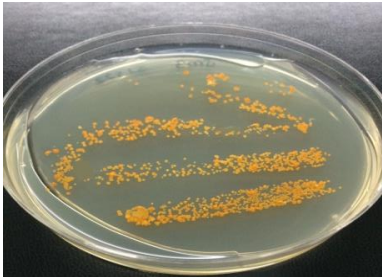
Sikloheksimid	2 g
Saf Etanol	100 ml

Ortamın Hazırlanışı: Sikloheksimid antibiyotiği hassas terazide tartıldıktan sonra cam behere konularak üzerine bir miktar saf etanol eklenir. Manyetik karıştırıcıda çözünmesi sağlanır. Sikloheksimid tamamen çözüldükten sonra 100 ml'ye saf etanol ile tamamlanır. Daha sonra önceden otoklavlanmış ve pastör fırınında kurutulmuş steril otoklavlanabilir cam şişe içerisine steril kabinet ortamında 0,22/0,45 µm'lik filtre ile süzülerek aktarılır. Cam şişenin daha sonra dış tarafı aliminyum folyo ile sarılarak buzdolabına kaldırılır.

EK-3: İzole Edilen Bazı Mikroorganizmaların Petri Görüntüleri



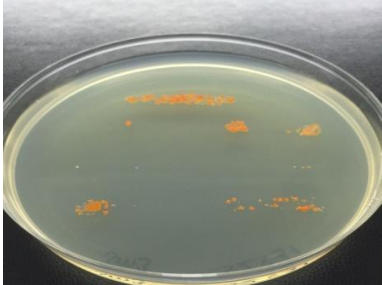
S2S23



S2S22



S2S24



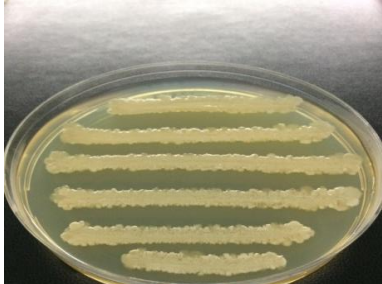
S2S31



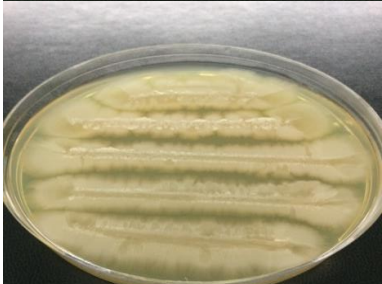
S3S31



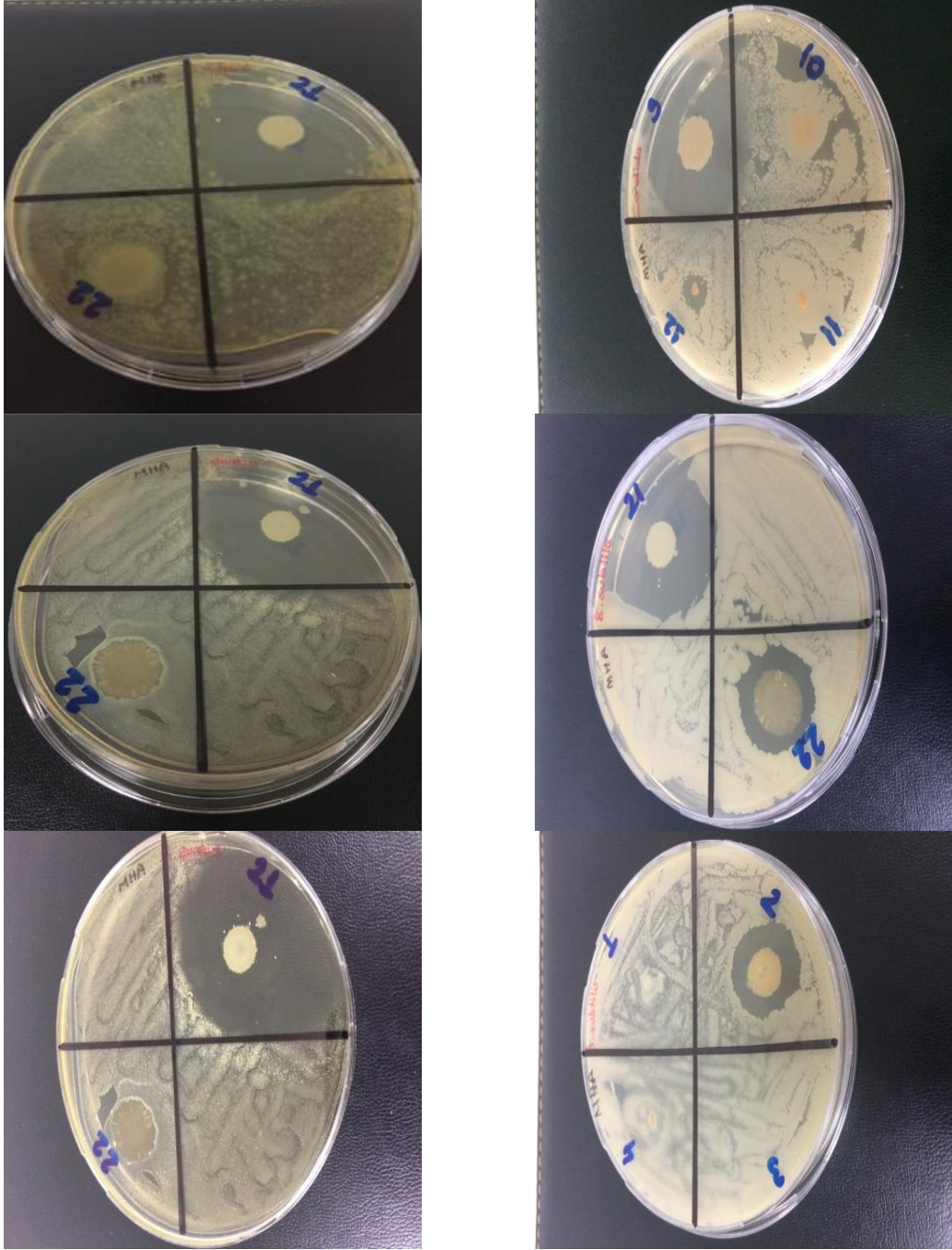
S1G34



S3S32



S1I41

EK-4: Test İzolatlarına Ait Bazı Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Uğur ÇİĞDEM
Doğum Yeri ve Tarihi : ESKİŞEHİR / 04.02.1992



Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : BŞEÜ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İş Deneyimi

Stajlar : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıbbi Genetik A.B. (2.7.12-10.8.12)
Projeler : Sakarya Nehrinin Doğduğu Kaynağın Sedimentlerinde Aktinomiset Çeşitliliğinin Belirlenmesi, ARASTIRMA PROJESİ, Bursiyer
Çalıştığı Kurumlar : BŞEÜ Fen Edebiyat Fakültesi/Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (02.12.2015- halen devam ediyor)

İletişim

Adres : Erenköy Mahallesi, Koçlar Sokak, No:10/4 ESKİŞEHİR
Tel : 0542 404 07 26
E-Posta Adresi : ugur.cigdem@hotmail.com.tr

Akademik Çalışmaları

1. ÇİĞDEM UĞUR, ÖZDEMİR KOÇAK FADİME (2016). Multilokus Gen Bölgelerinin Farklı Organizmaların Tanımlanmasında Kullanım Olanakları. 5. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:4265849)
2. ÖZDEMİR KOÇAK FADİME, ÇİĞDEM UĞUR, DARCAN CİHAN (2016). Toprakтан İzole Edilen *Nonomuræa* Suslarının 16S rRNA Gen Bölgesi ile Moleküler

Tanımlaması. 5. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:4265858)

3. ÖZDEMİR KOÇAK FADİME, KAYGUSUZ ÖZGE, ÇİĞDEM UĞUR, DARCAN CİHAN (2014). *Humulus lupulus* Serbetçi otu Rizosfer Topragından İzole Edilen Farklı Aktinomisetlerin Moleküler Tiplendirilmeleri. XXII.Ulusal Biyoloji Kongresi (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:4265866)

4. ÖZDEMİR KOÇAK FADİME, ÇİĞDEM UĞUR, KAYGUSUZ ÖZGE, DARCAN CİHAN, ŞAHİN NEVZAT (2018). Molecular Characterization of *Micromonospora* Strains İsolated from Sakarya River Sediment. The 4th International Conference on Engineering and Natural Sciences (02.05.2018-06.05.2018).

Tarih: 13/08/2018