

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI



**ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NDAN İZOLE EDİLEN
YENİ AKTİNOBAKTERİ TÜRLERİNİN TÜM GENOM
ANALİZİNE DAYALI POLİFAZİK KARAKTERİZASYONU
VE BİYOTEKNOLOJİK POTANSİYELLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Sibel Melisa ŞAHİN

Danışman

Doç Dr. Hilal AY

Bu çalışma T.C. Cumhurbaşkanlığı himayesinde, T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı uhdesinde ve TÜBİTAK MAM Kutup Araştırmaları Enstitüsü koordinasyonunca 121Z891 numaralı proje ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Sibel Melisa ŞAHİN tarafından, Doç Dr. Hilal AY danışmanlığında hazırlanan “ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NDAN İZOLE EDİLEN YENİ AKTİNOBAKTERİ TÜRLERİNİN TÜM GENOM ANALİZİNE DAYALI POLİFAZİK KARAKTERİZASYONU VE BİYOTEKNOLOJİK POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 11.9.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Doç. Dr. Tülin ÖZBEK Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Hilal AY Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr.Öğr.Üyesi Hayrettin SAYGIN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

11 / 9 / 2023
Sibel Melisa ŞAHİN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NDAN İZOLE EDİLEN YENİ AKTİNOBAKTERİ TÜRLERİNİN TÜM GENOM ANALİZİNE DAYALI POLİFAZİK KARAKTERİZASYONU VE BİYOTEKNOLOJİK POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 19.06.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 5

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

19 / 06 / 2023
Doç. Dr. Hilal AY

ÖZET

ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NDAN İZOLE EDİLEN YENİ AKTİNOBAKTERİ TÜRLERİNİN TÜM GENOM ANALİZİNE DAYALI POLİFAZİK KARAKTERİZASYONU VE BİYOTEKNOLOJİK POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sibel Melisa ŞAHİN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Haziran/2023
Danışman: Doç. Dr. Hilal AY

Kutuplar, gezegenimizin en soğuk ve en gizemli bölgelerinden biridir. Kutuplar, sağladıkları ekstrem koşullar ve izolasyon koşulları sayesinde bölgesel mikroçeşitliliğe katkıda bulunurlar. Bu tür biyoçeşitlilik, benzersiz ve çok yönlü metabolik özellikler sayesinde potansiyel yeni metabolitlerin üretimine karşılık gelecek seviyededir. Bu bağlamda özellikle antibiyotik üretimi gibi biyoteknolojik potansiyeli ve değeri yüksek aktinobakterilerin, kutup ekstrem koşullarından izole edilmesi ve analiz edilmesi çok büyük önem arz etmektedir. Antarktika Horseshoe Adası'nın ilk aktinobakteriyel çeşitliliğini analiz eden bu çalışmada, adadan toprak, sediment ve su örneklerinden aktinobakterilerin izole edilerek yeni türlerin moleküler analizler ile tanımlanması ve polifazik yaklaşımla karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca biyoinformatik araçlar kullanılarak tanımlanmış yeni türlerin biyoteknolojik potansiyellerinin ortaya çıkarılarak literatüre kazandırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, 18 seçici besiyeri kullanılarak Horseshoe Adası'nın 23 farklı lokalitesinden alınan örneklerden aktinobakteriler izole edilmiştir. Bu bağlamda 389 izolat saflaştırılmış ve morfolojik özellikleri incelenerek psikrofilik ve psikrotolerant 68 izolat 16S rRNA gen dizi analizleri ile cins düzeyinde tanımlanmıştır. 16S rRNA gen dizi analizleri sonucunda 20 farklı cins olduğu ve bunlardan 11'inin aktinobakteri üyelerine ait oldukları tespit edilmiştir. Bunlar arasında 31 izolatin yeni tür olma potansiyelinin yüksek olduğu değerlendirilmiş, bu izolatların hepsinin genotipik karakterizasyonları ile bazılarının kemotaksonomik ve fenotipik karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması sonucunda, genomu dizilenen izolatlar arasında *Micrococcus* sp. H39-S4 izolatu haricindeki tüm izolatların yeni tür olma potansiyelleri olduğu, bu izolatların biyosentetik gen kümeleri ve metabolik potansiyelleri bakımından çok zengin oldukları gözlemlenmiştir. Bu tez çalışması sonunda polifazik analizi tamamlanan suşlardan yeni türler literatüre kazandırılacaktır.

Anahtar Sözcükler: *Actinobacteria*, Horseshoe Adası, Biyosentetik gen kümeleri, Biyoinformatik analizler, Sekonder metabolitler, Tüm genom analizi, Polifazik taksonomi

ABSTRACT

WHOLE GENOME-BASED POLYPHASIC CHARACTERIZATION OF NOVEL ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM ANTARCTICA HORSESHOE ISLAND AND INVESTIGATION OF THEIR BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL

Sibel Melisa ŞAHİN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Molecular Biology and Genetics

Master, June/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hilal AY

The poles are one of the coldest and most mysterious regions of our planet. The poles contribute to regional microdiversity thanks to the extreme conditions and isolation they provide. Such biodiversity corresponds to the potential production of new metabolites, owing to unique and versatile metabolic features. In this context, it is of great importance to isolate and analyze actinobacteria with high biotechnological potential and value, such as antibiotic production, from polar extreme conditions. In this study that analyses actinobacterial diversity of the Antarctic Horseshoe Island for the first time, it was aimed to isolate actinobacteria from soil, sediment and water samples from the island, to identify new species by molecular analysis and to characterize them with a polyphasic approach. In addition, it is aimed to reveal the biotechnological potentials of new species by using bioinformatic tools and to bring them to the literature. In this study, actinobacteria were isolated from samples taken from 23 different localities of Horseshoe Island using 18 selective media. In this context, 389 isolates were purified and their morphological characteristics were examined, and 68 psychrophilic and psychrotolerant isolates were identified at the genus level by 16S rRNA gene sequence analysis. As a result of 16S rRNA gene sequence analysis, it was determined that there are 20 different genera and 11 of them belong to members of actinobacteria. Among these, 31 isolates were evaluated to have high potential to become new species, genotypic characterization of all of these isolates and chemotaxonomic and phenotypic characterizations of some of them were performed. As a result of the thesis study, it was observed that all isolates, except *Micrococcus* sp. H39-S4, had the potential to become new species, and are very rich in terms of biosynthetic gene clusters and metabolic potentials. At the end of this thesis, new strains from the strains whose polyphasic analysis has been completed will be brought to the literature.

Keywords: *Actinobacteria*, Horseshoe Island, Biosynthetic gene clusters, Bioinformatics analyses, Secondary metabolites, Whole genome analysis, Polyphasic taxonomy

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tez konusu olarak belirlenmesinden bitimine kadar bilgi ve görüşlerinden faydalandığım, bana her zaman yardım ve desteklerini sunan, bugüne kadar bilgilerimi geliştirmeme ve kullanmama yardımcı olan, bir bilim insanı olma yolunda bana yol gösteren Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü personeli sevgili danışman hocam **Doç. Dr. Hilal AY**'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca yardım ve önerilerinden faydalandığım değerli hocalarım **Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN** ve **Dr. Öğr. Üyesi Hayrettin SAYGIN**'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca laboratuvar içerisinde ve dışında bana her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım **Miraç Ercan GÜRSOY**, **Gizem DEMİR** ve **Emre KARAKAYA**'ya en içten teşekkürlerimi ederim.

Tez çalışmalarım da fenotipik karakterizasyon yöntemlerinde bana yardımcı olan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji bölümü doktora öğrencisi **Ali TOKATLI**; Bursa Uludağ Üniversitesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı personelleri sayın **Doç. Dr. İzzet Burçin SATICIOĞLU** ve **Doç. Dr. Muhammed DUMAN**'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca laboratuvar içerisinde ve dışında yeri geldiğinde bana öğretmen, yeri geldiğinde arkadaş ve ağabey olan **Arş. Gör. Cengiz NİGİZ**'e teşekkür ederim.

Her zaman arkamda olan, beni cesaretlendiren, beni her koşulda destekleyen ve bugün olduğum mutlu insan olmamda yardımcı olan sevgili babam **Enver ŞAHİN**, annem **Sabina ŞAHİN**, ablam **Elvina ŞAHİN** ve kardeşim **Enes Nuri ŞAHİN**'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim süresince 1001 Proje Bursu ve 2210-A Genel Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu ile maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkür ederim.

Bu çalışma T.C. Cumhurbaşkanlığı himayesinde, T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı uhdesinde ve TÜBİTAK MAM Kutup Araştırmaları Enstitüsü koordinasyonunca desteklenmiştir.

Sibel Melisa ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ	3
2.1. Antarktika ve Tarihçesi	3
2.1.1. Antarktika Jeolojisi ve Biyoçeşitliliği	4
2.1.2. Antarktika İklimi	6
2.1.3. Antarktika Doğal Kaynakları	7
2.1.4. Kutup Mikrobiyomu ve Biyoteknolojik Potansiyelleri	8
2.1.4.1. Kutup Mikrobiyomunun Önemi ve Çeşitliliği	8
2.1.4.2. Kutup Mikrobiyomunun Soğuk Koşullara Karşı Adaptasyonları	14
2.1.4.3. Kutup Mikrobiyomlarının Metabolik Özellikleri	17
2.1.5. Horseshoe Adası	22
2.2. Aktinobakteriler	23
2.2.1. Aktinobakterilerin Morfolojisi	28
2.2.2. Aktinobakterilerin Fenotipik, Kemotaksonomik ve Genomik Özellikleri	32
2.2.3. Aktinobakterilerin Biyoteknolojideki Rollerini	43
2.2.4. Antarktika'dan Aktinobakteri İzolasyonu Gerçekleştirilen Bazı Çalışmalar ...	47
2.3. Antarktika Horseshoe Adası'ndan İzole Edilen Bazı Aktinobakteri Cinsleri	48
2.3.1. <i>Amycolatopsis</i> cinsi	48
2.3.2. <i>Arthrobacter</i> cinsi	49
2.3.3. <i>Cryobacterium</i> cinsi	50
2.3.4. <i>Lacisediminihabitans</i> cinsi	51
2.3.5. <i>Microbacterium</i> cinsi	52
2.3.6. <i>Micrococcus</i> cinsi	53
2.3.7. <i>Paenarthrobacter</i> cinsi	53
2.3.8. <i>Pseudarthrobacter</i> cinsi	54
2.3.9. <i>Rhodococcus</i> cinsi	55
2.3.10. <i>Salinibacterium</i> cinsi	57
2.3.11. <i>Streptomyces</i> cinsi	57
3. MATERYAL VE YÖNTEM	59
3.1. İzolasyonda Kullanılan Toprak, Sediment ve Su Örnekleri	59
3.2. Aktinobakteri Üyelerinin Seçici İzolasyonu	60
3.4. İzolatların Seçilmesi, Saflaştırılması ve Stoklanması	63
3.5. Moleküler ve Taksonomik Yöntemler	64
3.5.1. İzolatların Genomik DNA İzolasyonu	64
3.5.2. İzolatların 16S rRNA Geninin PCR Amplifikasyonları ve Analizi	66
3.5.3. 16S rRNA Gen Dizi Verilerinin Analizi ve Filogenetik Ağaçlarının Oluşturulması	68
3.5.4. Tüm Genom Analizleri Ve Dijital DNA-DNA Homolojisi (dDDH)	68
3.5.5. Biyoinformatik Analizler	71
3.6. Fenotipik Karakterizasyon	71
3.6.1. Kültürel ve Morfolojik Özellikler	71
3.6.2. Nümerik Karakterizasyon	73
3.6.2.1. Biyokimyasal Testler	73

3.6.2.2. Degredasyon Testleri	74
3.6.2.3. Besinsel Testler	75
3.6.2.4. Fizyolojik Tolerans Testleri	75
3.7. Kemotaksonomik Karakterizasyon	75
3.7.1. Polar Lipid Analizi	76
3.7.2. Diaminopimelik Asit Analizi	79
3.7.3. Tüm Hücre Şeker Analizi	80
4. BULGULAR	83
4.1. Toprak, Sediment ve Su Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri	83
4.2. İzole Edilen Aktinobakteri Suşları, PCR Amplifikasyonları ve Dizi Analizi	84
4.3. <i>Amycolatopsis</i> cinsi	87
4.3.1. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 İzolatının Genom Özellikleri	87
4.3.2. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	96
4.4. <i>Arthrobacter</i> cinsi	100
4.4.1. <i>Arthrobacter</i> Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri	100
4.4.2. <i>Arthrobacter</i> Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	111
4.5. <i>Cryobacterium</i> cinsi	117
4.5.1. <i>Cryobacterium</i> Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri	117
4.5.2. <i>Cryobacterium</i> Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	130
4.6. <i>Microbacterium</i> cinsi	136
4.6.1. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 İzolatının Genom Özellikleri	136
4.6.2. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	139
4.7. <i>Micrococcus</i> cinsi	142
4.7.1. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4 İzolatının Genom Özellikleri	142
4.7.2. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	145
4.8. <i>Paenarthrobacter</i> cinsi	148
4.8.1. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 İzolatının Genom Özellikleri	148
4.8.2. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	152
4.9. <i>Pseudarthrobacter</i> cinsi	155
4.9.1. <i>Pseudarthrobacter</i> Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri	155
4.9.2. <i>Pseudarthrobacter</i> Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	161
4.10. <i>Rhodococcus</i> cinsi	165
4.10.1. <i>Rhodococcus</i> Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri	165
4.10.2. <i>Rhodococcus</i> Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	176
4.11. <i>Salinibacterium</i> cinsi	181
4.11.1. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 İzolatının Genom Özellikleri	181
4.11.2. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	184
4.12. <i>Streptomyces</i> cinsi	187
4.12.1. <i>Streptomyces</i> Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri	187
4.12.2. <i>Streptomyces</i> Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi	237
4.13. İzole Edilen Aktinobakteri Suşlarının Nümerik Karakterizasyonu	265
4.14. İzole Edilen Aktinobakteri Suşlarının Kemotaksonomik Karakterizasyonu ...	273
4.14.1. Polar Lipid Analizi	273
4.14.2. Diaminopimelik Asit Analizi	280
4.14.3. Tüm Hücre Şeker Analizi	281

5. TARTIŞMA	282
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	293
KAYNAKÇA	295
EKLER	337
EK 1: SEÇİCİ İZOLASYON VE SUBKÜLTÜR BESİYERLERİNİN İÇERİKLERİ VE SOLÜSYONLAR	337
EK 2: FENOTİPİK VE KEMOTAKSONOMİK ÇALIŞMALARDA KULLANILAN BESİYERLERİNİN İÇERİKLERİ VE SOLÜSYONLAR	347
EK 3: TEZ ÇALIŞMASINDA KULLANILAN DİĞER SOLÜSYONLAR VE HAZIRLANIŞI	357
EK 4: GENOM ANALİZİNDE TABLOLAR	359
EK 6: TEZ ÇALIŞMASI İLE ALAKALI BAZI GÖRÜNTÜLER	364
ÖZGEÇMİŞ	372



SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°	Derece
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mM	Milimolar
Ca ²⁺	Kalsiyum
ω	Omega
ε	Epsilon
AFP	Antifriz Protein
ADG	Antibiyotik Direnç Geni
ANI	Ortalama Nükleotid Kimliği
BGC	Biyosentetik Gen Kümeleri
CDPS	tRNA'ya Bağımlı Siklodipeptitler
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dDDH	Dijital DNA-DNA Hibridizasyonu
hglE-KS	Heterosist Glikolipid Sentaz Benzeri Poliketidler
HGT	Yatay Gen Transferi
HSP	İntergenomik Eşleşmeler
LAP	Lineer azol(in)-içeren Peptidler
MLSA	Multilokus Dizi Analizleri
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
mVOC	Uçucu Organik Bileşik
NAPAA	e -Polilizin gibi non-alfa poli-amino asitler
NRP	Non-Ribozomal Peptitler
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PKS	Poliketidler
sp.	Tür (tek)
spp.	Türler (çoğul)
subsp.	Alt Tür
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RIPP	Ribozomal Olarak Sentezlenmiş Ve Translasyon Sonrası Modifiye Edilmiş Peptit Ürünü (RiPP)

RNA	Ribonükleik Asit
RNAP	RNA Polimeraz
RRE	HIV-1 Rev cevap elementi (bir cis-etkili RNA element)
UV	Ultraviyole



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Horseshoe Adası Gaul Körfezi	4
Şekil 2.2. Horseshoe Adası Gaul Körfezi	6
Şekil 2.3. Horseshoe Adası Gaul Körfezi	7
Şekil 2.4. Kutup deniz suyu metagenomunun filum düzeyinde taksonomik yapısı	10
Şekil 2.5. Çevreye göre toprakta nispi bakteri bolluğunun karşılaştırılması	11
Şekil 2.6. Antarktika'dan toprak (soil), su (water), mat, buz (ice) ve sediment örneklerinden kültürlenebilir bakterilerin bakteri çeşitliliği ve nispi bolluğu (%)	13
Şekil 2.7. Kültürden bağımsız yöntemlere dayalı olarak Antarktika'dan çeşitli örneklerden alınan bakteri çeşitliliği ve nispi bolluğu (%)	13
Şekil 2.8. Bazı aktinobakteriyel yapıların SEM mikroskopundaki görüntüleri: a. kok yapısı, b. çubuk yapısı, c. dallı hif yapısı, d. parçalı misel yapısı, e. dallanmış hava hifleri	28
Şekil 2.9. Farklı aktinobakteriyel cinslerine ait spor zincirlerinin şematik çizimleri	30
Şekil 2.10. Sporlanan aktinobakterilerin hayat döngüsü	31
Şekil 2.11. Türlerin belirlenmesinde genom tabanlı analizlerin basamakları	40
Şekil 2.12. Aktinobakteriler tarafından üretilen biyoaktif metabolitler	45
Şekil 3.1. Polar lipidlerin yürütülmesi için tasarlanan TLC plakası temsili çizimi: a. ikinci yürütme, b. birinci yürütme; ö: örnek	78
Şekil 3.2. Diaminopimelik asitlerinin yürütülmesi için tasarlanan TLC plakası temsili çizimi: ö: örnek, b: boşluk	80
Şekil 3.3. Tüm hücre şekerlerinin yürütülmesi için tasarlanan TLC plakası temsili çizimi: ö: örnek, b: boşluk	82
Şekil 4.1. İzolasyonda kullanılan bazı besiyerlerinin petri görüntüleri	84
Şekil 4.2. İzole edilen örneklerin lokasyonlara göre dağılımı	84
Şekil 4.3. İzolatların besiyerleri ve lokasyonlara göre dağılımı	85
Şekil 4.4. İzolatların inkübe edildiği sıcaklıklara ve izole edildiği lokasyonlara göre dağılımı	85
Şekil 4.5. Antarktika Horseshoe Adası aktinobakteriyel izolatlarının cinslere göre dağılımı	86
Şekil 4.6. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	88
Şekil 4.7. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	97
Şekil 4.8. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	98
Şekil 4.9. <i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	101
Şekil 4.10. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	102
Şekil 4.11. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	104

Şekil 4.12. <i>Arthrobacter</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	112
Şekil 4.13. <i>Arthrobacter</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	116
Şekil 4.14. <i>Cryobacterium</i> sp. PH29-G1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	118
Şekil 4.15. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-AA6 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	119
Şekil 4.16. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-L1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	121
Şekil 4.17. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-O1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	122
Şekil 4.18. <i>Cryobacterium</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	131
Şekil 4.19. <i>Cryobacterium</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı ..	135
Şekil 4.20. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	137
Şekil 4.21. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	140
Şekil 4.22. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	142
Şekil 4.23. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	143
Şekil 4.24. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	146
Şekil 4.25. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	148
Şekil 4.26. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	149
Şekil 4.27. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	153
Şekil 4.28. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	154
Şekil 4.29. <i>Pseudarthrobacter</i> sp. PH31-O2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	156
Şekil 4.30. <i>Pseudarthrobacter</i> sp. PS3-L1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	157
Şekil 4.31. <i>Pseudarthrobacter</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	162
Şekil 4.32. <i>Pseudarthrobacter</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	164
Şekil 4.33. <i>Rhodococcus</i> sp. G-MC3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	166

Şekil 4.34. <i>Rhodococcus</i> sp. H29-C3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	167
Şekil 4.35. <i>Rhodococcus</i> sp. H36-A4 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	169
Şekil 4.36. <i>Rhodococcus</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	177
Şekil 4.37. <i>Rhodococcus</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	180
Şekil 4.38. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	181
Şekil 4.39. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	185
Şekil 4.40. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı	187
Şekil 4.41. <i>Streptomyces</i> sp. G-G2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	189
Şekil 4.42. <i>Streptomyces</i> sp. H10-C2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	190
Şekil 4.43. <i>Streptomyces</i> sp. H27-C3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	191
Şekil 4.44. <i>Streptomyces</i> sp. H27-D2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	192
Şekil 4.45. <i>Streptomyces</i> sp. H27-G5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	193
Şekil 4.46. <i>Streptomyces</i> sp. H27-H1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	194
Şekil 4.47. <i>Streptomyces</i> sp. H27-H5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	194
Şekil 4.48. <i>Streptomyces</i> sp. H27-S2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	195
Şekil 4.49. <i>Streptomyces</i> sp. H27-AA3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	195
Şekil 4.50. <i>Streptomyces</i> sp. H34-S4 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	196
Şekil 4.51. <i>Streptomyces</i> sp. H34-S5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	196
Şekil 4.52. <i>Streptomyces</i> sp. H39-C1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	197
Şekil 4.53. <i>Streptomyces</i> sp. H39-S7 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	197
Şekil 4.54. <i>Streptomyces</i> sp. PH10-H1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu	198
Şekil 4.55. <i>Streptomyces avidinii</i> türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	239

Şekil 4.56. <i>Streptomyces fildesensis</i> türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	241
Şekil 4.57. <i>Streptomyces griseocarneus</i> türünü temsil eden H27-D2 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	243
Şekil 4.58. <i>Streptomyces scopuliridis</i> türünü temsil eden G-G2 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	244
Şekil 4.59. <i>Streptomyces cirratus</i> türünü temsil eden PH34-H3 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	246
Şekil 4.60. <i>Streptomyces xanthophaeus</i> türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	248
Şekil 4.61. <i>Streptomyces drozdowiczii</i> türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı	249
Şekil 4.62. <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası <i>S. cirratus</i> olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı	250
Şekil 4.63. <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası <i>S. oryziradicis</i> olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı	254
Şekil 4.64. <i>Streptomyces</i> sp. H27-D2 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı	256
Şekil 4.65. <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası <i>S. subutilus</i> olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı	259
Şekil 4.66. <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası <i>S. vinaceus</i> olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı	261
Şekil 4.67. <i>Streptomyces</i> sp. H27-C3 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı	263
Şekil 4.68. <i>Streptomyces</i> cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı	264
Şekil 4.69. <i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1 suşunun polar lipid profili	274
Şekil 4.70. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1 suşunun polar lipid profili	275
Şekil 4.71. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1 suşunun polar lipid profili	276
Şekil 4.72. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 suşunun polar lipid profili	277
Şekil 4.73. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-L1 suşunun polar lipid profili	278
Şekil 4.74. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-O1 suşunun polar lipid profili	279
Şekil 4.75. <i>Amycolatopsis</i> H20-H5, <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3, <i>Streptomyces</i> sp. H27-D2, <i>Streptomyces</i> sp. G-G2, <i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1, <i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1, <i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1, <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-O1 ve <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-L1 suşlarının DAP izomer profili	280
Şekil 4.76. <i>Amycolatopsis</i> H20-H5, <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3, <i>Streptomyces</i> sp. H27-D2, <i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1, <i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1 ve <i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1 suşlarının şeker profilleri	281
Şekil 5.1. Gürsoy, 2023 metagenom çalışmasında toprak, sediment ve su örnekleri arasındaki mikrobiyal çeşitlilik farkı	286

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Aktinobakteri şubesine dahil olan taksonlar	24
Tablo 2.2. Aktinobakterilerin izolasyonu için kullanılan bazı besiyerleri	26
Tablo 2.3. Aktinobakterilerdeki çeşitli hücre duvarı komponentleri	35
Tablo 2.4. Aktinobakterilerdeki çeşitli baskın menakinon aileleri	36
Tablo 2.5. Aktinobakterilerdeki çeşitli fosfolipit tipleri	37
Tablo 2.6. Aktinobakterilerdeki çeşitli yağ asidi profilleri	38
Tablo 3.1. İzolasyonda kullanılan örnekler ve lokaliteleri	59
Tablo 3.2. Toprak ve sediment örneklerinin izolasyonu için ölçülen örnek miktarı	61
Tablo 3.3. Toprak, sediment ve su örneklerinin izolasyonu için kullanılan besiyerleri ve seçici ajanlar	62
Tablo 3.4. 16S rRNA geninin PCR amplifikasyonlarında ve dizilenmesinde kullanılan primerler	68
Tablo 3.5. Tüm genomu dizilenen izolatların listesi	70
Tablo 3.6. Nümerik çalışmalarında kullanılan testler	72
Tablo 4.1. Aktinobakterilerin izolasyonu için kullanılan çevresel örneklerin pH değerleri	83
Tablo 4.2. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	92
Tablo 4.3. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri	95
Tablo 4.4. <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5 izolatının filogenetik akrabalari ile yapılan dDDH analizi sonuçları	99
Tablo 4.5. <i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	105
Tablo 4.6. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	106
Tablo 4.7. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	107
Tablo 4.8. <i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri	108
Tablo 4.9. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri	109
Tablo 4.10. <i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri	110
Tablo 4.11. <i>Arthrobacter</i> spp. H14-L1, H35-D1 ve H35-MC1 izolatlarının birbiri ve filogenetik akrabalari ile yapılan dDDH analizi sonuçları	114
Tablo 4.12. <i>Cryobacterium</i> sp. PH29-G1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	123
Tablo 4.13. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-AA6 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	124

Tablo 4.14. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-L1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	124
Tablo 4.15. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-O1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	125
Tablo 4.16. <i>Cryobacterium</i> sp. PH29-G1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	126
Tablo 4.17. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-AA6 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	127
Tablo 4.18. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-L1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	128
Tablo 4.19. <i>Cryobacterium</i> sp. PH31-O1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	129
Tablo 4.20. <i>Cryobacterium</i> cinsine ait izolatların bibiri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	133
Tablo 4.21. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	138
Tablo 4.22. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	139
Tablo 4.23. <i>Microbacterium</i> sp. H37-C3 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	141
Tablo 4.24. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	144
Tablo 4.25. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	145
Tablo 4.26. <i>Micrococcus</i> sp. H39-S4 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	147
Tablo 4.27. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	150
Tablo 4.28. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	151
Tablo 4.29. <i>Paenarthrobacter</i> sp. PH39-S1 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	154
Tablo 4.30. <i>Pseudarthrobacter</i> sp. PH31-O2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	158
Tablo 4.31. <i>Pseudarthrobacter</i> sp. PS3-L1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	158
Tablo 4.32. <i>Pseudarthrobacter</i> sp. PH31-O2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	159
Tablo 4.33. <i>Pseudarthrobacter</i> sp. PS3-L1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	160
Tablo 4.34. <i>Pseudarthrobacter</i> spp. PH31-O2 ve PS3-L1 izolatlarının birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	163
Tablo 4.35. <i>Rhodococcus</i> sp. G-MC3 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	170

Tablo 4.36. <i>Rhodococcus</i> sp. H29-C3 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	171
Tablo 4.37 <i>Rhodococcus</i> sp. H36-A4 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	172
Tablo 4.38. <i>Rhodococcus</i> sp. G-MC3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	173
Tablo 4.39. <i>Rhodococcus</i> sp. H29-C3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	174
Tablo 4.40. <i>Rhodococcus</i> sp. H36-A4 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	175
Tablo 4.41. <i>Rhodococcus</i> izolatlarının birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	178
Tablo 4.42. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	183
Tablo 4.43. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	184
Tablo 4.44. <i>Salinibacterium</i> sp. G-O1 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	186
Tablo 4.45. <i>Streptomyces</i> izolatlarında belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş bölgelerde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile ilgili mekanizmaların dağılımı	199
Tablo 4.46. <i>Streptomyces</i> izolatlarında belirli fonksiyonel kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile ilgili mekanizmaların dağılımı	200
Tablo 4.47. <i>Streptomyces</i> izolatlarında aromatik bileşiklerin metabolizması ile ilgili mekanizmaların dağılımı	202
Tablo 4.48. <i>Streptomyces</i> sp. G-G2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	204
Tablo 4.49. <i>Streptomyces</i> sp. H10-C2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	205
Tablo 4.50. <i>Streptomyces</i> sp. H27-D2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	206
Tablo 4.51. <i>Streptomyces</i> sp. PH10-H1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	208
Tablo 4.52. <i>Streptomyces</i> sp. H27-G5'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	210
Tablo 4.53. <i>Streptomyces</i> sp. H27-H5'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	211
Tablo 4.54. <i>Streptomyces</i> sp. H27-H1'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	212
Tablo 4.55. <i>Streptomyces</i> sp. H34-S4'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	213
Tablo 4.56. <i>Streptomyces</i> sp. H27-S2'nin antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	214

Tablo 4.57. <i>Streptomyces</i> sp. H34-AA3'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	215
Tablo 4.58. <i>Streptomyces</i> sp. H34-S5'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	216
Tablo 4.59. <i>Streptomyces</i> sp. H39-C1'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	217
Tablo 4.60. <i>Streptomyces</i> sp. H39-S7'nin antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri	218
Tablo 4.61. <i>Streptomyces</i> sp. H27-C3 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri	219
Tablo 4.62. <i>Streptomyces</i> sp. G-G2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	223
Tablo 4.63. <i>Streptomyces</i> sp. H10-C2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	224
Tablo 4.64. <i>Streptomyces</i> sp. H27-D2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	225
Tablo 4.65. <i>Streptomyces</i> sp. PH10-H1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	226
Tablo 4.66. <i>Streptomyces</i> sp. H27-G5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	227
Tablo 4.67. <i>Streptomyces</i> sp. H27-H5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	228
Tablo 4.68. <i>Streptomyces</i> sp. H27-H1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	229
Tablo 4.69. <i>Streptomyces</i> sp. H34-S4 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	230
Tablo 4.70. <i>Streptomyces</i> sp. H27-S2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	231
Tablo 4.71. <i>Streptomyces</i> sp. H34-AA3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	232
Tablo 4.72. <i>Streptomyces</i> sp. H34-S5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	233
Tablo 4.73. <i>Streptomyces</i> sp. H39-C1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	234
Tablo 4.74. <i>Streptomyces</i> sp. H39-S7 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	235
Tablo 4.75. <i>Streptomyces</i> sp. H27-C3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri	236
Tablo 4.76. <i>Streptomyces cirratus</i> ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	251
Tablo 4.77. <i>Streptomyces oryzae</i> ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	252
Tablo 4.78. <i>Streptomyces</i> sp. H27-D2 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	255

Tablo 4.79. <i>Streptomyces subbrutilus</i> ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	257
Tablo 4.80. <i>Streptomyces vinaceus</i> ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	260
Tablo 4.81. <i>Streptomyces</i> sp. H27-C3 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları	262
Tablo 4.82. <i>Streptomyces</i> sp. H10-C2, <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5, <i>Streptomyces</i> sp. H27-H1, <i>Streptomyces</i> sp. H27-H5, <i>Streptomyces</i> sp. H27-S2, <i>Streptomyces</i> sp. H34-S4, <i>Streptomyces</i> sp. H39-C1, <i>Streptomyces</i> sp. H39-S7 ve <i>Streptomyces</i> sp. PH10-H1 izolatlarının fenotipik karakterizasyon sonuçları	266
Tablo 4.83. <i>Streptomyces</i> sp. H10-C2, <i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5, <i>Streptomyces</i> sp. H27-H1, <i>Streptomyces</i> sp. H27-H5, <i>Streptomyces</i> sp. H27-S2, <i>Streptomyces</i> sp. H34-S4, <i>Streptomyces</i> sp. H39-C1, <i>Streptomyces</i> sp. H39-S7 ve <i>Streptomyces</i> sp. PH10-H1 izolatlarının 10 farklı besi ortamında gelişim özellikleri	269
Tablo 4.84. <i>Streptomyces</i> sp. H27-A1, <i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1, <i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1, <i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1, <i>Rhodococcus</i> sp. H36-A4 ve <i>Streptomyces</i> sp. G-G2 izolatlarının Biolog GenIII MicroPlate™ mikropalakalarda fenotipik karakterizasyon sonuçları	270

1. GİRİŞ

Antarktika, Antarktik Kutup halkasının güneyinde yer almaktadır. Antarktika'da -89°C'ye varan düşük sıcaklık, yüksek UV radyasyonu, su ve besin azlığı gibi birçok ekstrem habitat özelliği birlikte görülmektedir. Bütün kıtalar içerisinde en yüksek ortalama yükseklik değerine sahip olan Antarktika diğer kıtalardan izole olmuştur. Bu coğrafi izolasyonun, Antarktika'da sıra dışı mikroorganizmaların seleksiyonuna/türleşmesine neden olduğu ve bu mikroorganizmaların diğer kıtalara yayılmasını engellediği kabul edilmektedir. Antarktik habitatlar, eşsiz adaptasyon mekanizmaları nedeniyle, önemli düzeyde mikrobiyal biyoçeşitliliğe ve kullanılabilir biyoteknolojik potansiyele sahiptir. Henüz tam olarak açığa çıkarılmamış olan bu biyoçeşitlilik, birçok araştırmacının ilgisini soğuğa adapte olmuş mikroorganizmaların biyoteknolojik uygulama alanına sahip yeni metabolitler/bileşikler üretebilme potansiyelini ortaya çıkarmaya yönlendirmiştir. Bu tür çalışmaların bazılarında antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler tanımlanırken; bazı çalışmalarda ise antikanser ilaç olarak kullanılabilecek antiproliferatif moleküller tanımlanmıştır. Önemli patojenler tarafından antibiyotiklere direnç geliştirilmesi nedeniyle, keşfedilmiş ilk antibiyotiklerin ve sonraki antibiyotiklerin büyük ölçüde bu patojenlere karşı etkisiz kaldığı görülmektedir. Antarktik bakterilerin, ekstrem ekosistem özellikleri nedeniyle yeni antimikrobiyal bileşikler için önemli bir kaynak olabileceği kabul edilmektedir. Antarktika, çeşitli özelliklere sahip habitatları ve ekstrem yaşam koşullarını barındırması nedeniyle birçok araştırmacının ilgi odağındadır. Ancak, yine de Antarktika kıtasının mikrobiyal biyoçeşitliliği ve sahip olduğu mikroorganizmaların biyoteknolojik potansiyeli ile ilgili çalışmalar yeterli düzeyde değildir. Özellikle Antarktika'da ekstrem koşullarda yaşayabilen henüz keşfedilmemiş mikroorganizmaların ve bu mikroorganizmaların ekstrem koşullara adaptasyon mekanizmalarının genomik düzeyde çalışılması konusu oldukça önemlidir. Aktinobakteriler antibiyotikler, antitümör ve antiparazitik ajanlar gibi çeşitli sekonder metabolitleri üretebilmelerinden dolayı endüstriyel açıdan önemli bir mikroorganizma grubu olarak kabul edilmektedir. Buna bağlı olarak, Antarktika'daki aktinobakteriler üzerine yapılacak çalışmalar, eşsiz biyosentetik potansiyele sahip çeşitli enzimler, enzim inhibitörleri ve biyolojik olarak aktif moleküller gibi değerli antimikrobiyal bileşikler üretebilen yeni türlerin ortaya çıkarılmasını sağlayacaktır.

Aktinobakteriler, ürettikleri çeşitli biyoaktif sekonder metabolitler nedeniyle mikrobiyal doğal bileşiklerin önemli bir kaynağı olarak görülmektedir. Ancak son yıllarda, benzer ekosistemlerdeki türler arasındaki genetik değiş-tokuş gibi nedenlerden dolayı aktinobakterilerden yeni antibiyotik moleküllerinin keşfinde bir düşüş görülmüştür. Dolayısıyla aktinobakterilerden yeni biyoaktif metabolitlerin keşfi amacıyla yapılan çalışmalar ekstrem fizikokimyasal özelliklere sahip, daha önce araştırılmamış habitatlara yönelmiştir. Antarktik ortamlar özellikle sağladıkları ekstrem ve izolasyon koşulları nedeniyle yeni biyosentetik ve metabolik yollara sahip mikroorganizmaları sunmaktadır. Antarktik ortamlardaki aktinobakteri izolasyonu ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda (Lee vd., 2012; Leiva vd., 2015; Rojas vd., 2009; Silva vd., 2020) antimikrobiyal aktivite gösteren yeni aktinobakteriler açısından umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Bu bağlamda, Antarktik aktinobakterilerin izole edilmesi, incelenmesi ve literatüre kazandırılması, biyoteknolojik ve ticari olarak kullanılabilecek yeni tür mikrobiyal bileşiklerin elde edilmesi için önemli bir stratejidir.

Bu tez çalışmasında, 6. Ulusal Antarktika Bilim Seferi kapsamında Horseshoe Adası'ndan alınan toprak, sediment ve su örneklerinden seçici olarak aktinobakterilerin izole edilerek, tüm genom analizini de kapsayan polifazik bir yaklaşımla bu aktinobakterilerin tanımlanması ve biyoteknolojik kullanım potansiyellerinin literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır. Bu çalışma, ilk kez Horseshoe Adası'ndan aktinobakteri izolasyonu gerçekleştirilmesi açısından özgünlük taşımaktadır. T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından yayınlanan Ulusal Kutup Programı'nda da belirtildiği gibi kutuplardaki araştırmalar ülkemizin dünyadaki her coğrafyada söz sahibi olması ve uluslararası nitelikteki kaynak paylaşımındaki yerini alması açısından son derece önemlidir. Bu bakımdan kutup biyoçeşitliliği alanında yapılacak çalışmalar, sahip oldukları bilimsel ve teknolojik altyapı ile kaynakların çoğunu elinde bulunduran ulusların arasına girebilmek açısından önemli bir adım olarak düşünülmektedir. Bu tez çalışması, araştırma konusu açısından bir ilk olmanın yanı sıra; tez çalışması sonucunda elde edilmesi planlanan sonuçlar ülkemiz ve dünya ekonomisi için önemli bir ürün ortaya koyabilme potansiyelinde olacak ve Antarktik biyoçeşitlilik literatürü açısından önemli bir katkı sağlamış olacaktır.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1. Antarktika ve Tarihçesi

Kutuplar, Antarktika ve Arktik olmak üzere Dünya'nın zıt iki noktasında bulunan buzlarla çevrili en soğuk bölgelerdir. Güneş ışınlarının büyük çoğunluğunu beyaz yüzey sayesinde atmosfere geri yansıtarak dünya sıcaklığını dengelemektedir. Kutup bölgeleri okyanuslarla çevrili olduğundan dolayı sık olarak kabarmalara, dalgalara ve kuvvetli rüzgarlara maruz kalırlar. Yaz aylarında artan erime nedeniyle, bu bölgelerdeki yoğun deniz buzu ve buzdağları, hava durumlarının etkisiyle deniz seyrine engel ve tehlike oluşturmaktadır (İTÜ, 2017).

Dünya ikliminin ve ekosisteminin en önemli parçası olan Antarktika, günümüzde, uzun bir jeolojik tarihin doruk noktası olan eşsiz bir kıtadır. Kıtayı bilimsel ve jeopolitik olarak önemli kılan birçok yönü vardır. Sadece gezegendeki en ıssız ve milyonlarca yılın keşfedilmemiş kalıntılarını soğuk katmanlarında koruyan kıta değil, aynı zamanda yerli insan nüfusu olmayan ve bölgeye egemen bir milleti olmayan tek kıtadır. Antarktika üzerindeki ilk çalışmalar Fransa, Belçika, Norveç, Rusya ve İngiltere gibi ülkeler tarafından yüzyıllar önce yapılmaya başlanmış ve aralarında birçok tartışma çıkmıştır. 1800'lü yıllarda ise özellikle kara yapılarının keşfedilmesiyle denizciler tarafından da keşfedilmeye başlanmıştır (ATS, 2023).

1890'lardan bu yana kıtanın keşfedilme sürecinde, kıtanın hiçbir millete ait olmamasını sağlamlaştıran faktör 1956 yılında imzalanan ve 1961'de yürürlüğe giren Antarktika Antlaşması'dır. 12 ülkenin katıldığı bu anlaşmada, Antarktika'nın çevresi ve ekosisteminin koruması amaçlamakla kalmamış, Antarktika'daki insan faaliyetlerini yönetmek için bilimsel çalışmalarla sınırlı kalınması şartıyla üslerin kurulması ve askerlerden arındırılması gibi çok sayıda önlemler alınmıştır (Bastmeijer & Tin, 2016). Böylelikle uluslararası işbirliği yoluyla kıtada barışın sağlanması amaçlanmıştır. Antlaşmaya 1995'te katılan Türk bilim dünyası, ilk Antarktik keşiflerini 1968'de Prof. Dr. Atok Karaali ve kısa bir süre sonra Dr. Umrhan Savaş İnan ile gerçekleştirmiştir. 2013 yılında ise Denizci Osman Atasoy'un Antarktika'da bir Türk Üssü kurulması gerektiğini öne sürmesinin ardından (Bilgic, 2022), 2019 yılında 3. Ulusal Antarktika Bilim Seferi kapsamında Horseshoe Adası'nda geçici bir Türk Bilimsel Araştırma Kampının kurulması için hazırlıklara başlanmıştır (Ar-Ge Teşvikleri Genel Müdürlüğü, 2020).

2.1.1. Antarktika Jeolojisi ve Biyoçeşitliliği

Antarktika yani Güney Kutbu, Ekvator'un yaklaşık 66.5° güneyindeki bir enlem çizgisi olan Kuzey Kutup Dairesi içindeki alandır ve dünyadaki en uzak kıta olmasının yanı sıra, dünyanın en yüksek, en kuru, en rüzgarlı, en soğuk ve en buzlu kıtasıdır (Watt, 2023). Güney Okyanusu ve çevresindeki akıntılar tarafından dünyanın geri kalanından izole edilmiştir. Diğer dünya okyanuslarıyla bulunduğu noktada, daha sıcak olan alçak enlemdeki su ve daha soğuk yüksek enlemdeki su üzerindeki hava kütlelerinin farklı sıcaklıkları, karışmayı engeller (Pearce vd., 2009). Antarktika kıtası, büyük ölçüde buzla kaplı yüksek bir platodan oluşan; yaşlı, magmatik ve metamorfik kayalara sahip Doğu Antarktika ve büyük ölçüde dağlık adalardan oluşan bir takımadayı kapsayan bir buz tabakasından oluşan; genç, volkanik ve tortul kayalara sahip Batı Antarktika olarak ayrılmıştır (De Vivo vd., 2009). Doğu ve Batı Antarktika olarak ayrılan bu parçalar, buzla kaplı göller, donan-eriyen akarsular, kurak topraklar, açıkta kalan ana kayalar ve dağ buzullarından oluşan bir mozaik bir karasal sistem olarak karşımıza çıkmaktadır (Doran vd., 2002). Antarktika'nın sahip olduğu bu geniş buz tabakası, dünyadaki buzun yaklaşık %90'ını ve tatlı suyunun %80'ini temsil etmektedir.



Şekil 2.1. Horseshoe Adası Gaul Körfezi

Antarktika, kıta boyunca tekdüze soğuk iklime sahip olmakla birlikte derin ve soğuk bir okyanus kuşağı ile çevrili olduğundan, gerçek bir kara faunası ve florasının gelişimi için oldukça elverişsizdir. Buradaki canlıların hayatta kalmasındaki önemli kriter, eriyen su kaynaklarının bulunduğu yerlerdir. Günümüzde buzlarla çevrili Antarktika, bir zamanlar birkaç tohumuz bitki ve temel olarak birkaç ilkel böcek ve tatlı su kabuklularının göze çarptığı bir sistemden çok daha kalabalık bir flora ve faunayı desteklediğine dair bol miktarda fosil kanıt bulunmaktadır (Mackintosh, 1960).

Daha büyük organizmaların biyoçeşitliliği, koşullar daha soğuk ve daha kuru hale geldikçe ve büyüme mevsiminin uzunluğu azaldıkça, genel olarak artan oranla azalmaktadır. Hayvanlar ve böcekler açısından Antarktik ekosistemi, kuşlar ve foklar üzerinde parazit olan birçok eklembacaklı türleri, endemik imparator penguen, Antarktika kuşu ve Güney Kutup skuası, balina, endemik leopar fokları, deniz fili, kril gibi canlılar oluştururken, karasal memeli canlılar bulunmamaktadır (Watt, 2023; Wauchope vd., 2019). Diğer yandan deniz canlılığına baktığımızda, Güney okyanusunun sağladığı su sirkülasyonu zengin bir fitoplankton faunasının olduğu görülür (Trathan & Agnew, 2010). Antarktika'daki en büyük karasal biyoçeşitlilik deniz bölgelerindedir ve burada Antarktika'nın sadece iki çiçekli bitki türü olan *Deschampsia antarctica* ve *Colobanthus quitensis* ile birlikte çok sayıda yosun, liken ve karasal alg türü bulunmaktadır. Antarktika'nın bu soğuk çöl iklimi, soğuğa dayanıklı kara bitkilerini ve bitki benzeri organizmaları destekler. Bu türler, fotosentezin gerçekleşemediği, tam veya tama yakın karanlıkta geçen uzun kış dönemlerinde hayatta kalabilme adaptasyonuna sahiptirler (Green vd., 2007; Pearce vd., 2009; Wauchope vd., 2019).



Şekil 2.2. Horseshoe Adası Gaul Körfezi

2.1.2. Antarktika İklimi

Antarktika aşırı derecede soğuk ve kuru bir iklime sahiptir. Okyanusal etkilerle kıyıya getirilen yağışlar, iç kısımlarda çöllere göre çok daha az miktarlara düşmektedir. Bunun neden olduğu tozsuz ve kuru hava, Antarktik havanın saf olmasına neden olmaktadır. Dağlık ve iç bölgelerde sıcaklıklar kıyı bölgelerden çok daha soğuktur. Antarktika kıyılarındaki kış sıcaklıkları genellikle -20°C ile -30°C , iç bölgelerde ise -40°C ile -70°C arasında değişir. Yaz aylarında, kıyı bölgeleri 15°C 'ye kadar yüksek sıcaklıklara ulaşabilirken, iç bölgeler -20°C 'nin altına düşer. 1983'te Rusya'nın Vostok Araştırma İstasyonu, Dünya'da şimdiye kadar kaydedilen en düşük sıcaklığı olan -89.2°C 'yi ölçmüştür. 2010 yılında ise uydu verileri kullanılarak daha da düşük bir sıcaklık (-93.2°C) ölçülmüştür (Watt, 2023). Antarktika bölgesi küresel iklim süreçlerinde önemli bir role sahiptir. Bu açıdan, dünyanın ısı dengesini korumada çoğu kıttadan daha büyük bir görev üstlenir. Dünya'nın dönme ekseninin eğimi, kutup bölgesine ulaşan güneş ışığı miktarını sınırlamaktadır. Enerji dengesi olarak da adlandırılan ısı dengesinde, dünya atmosferi tarafından emilen güneş ısısı miktarı ile uzaya geri yansıyan ısı miktarı arasındaki ilişkidir. Burada Antarktika'nın rolü buzullarına ulaşan yaz güneş enerjisinin %80'inden fazlasını uzaya geri yansıtmasıdır. Bu görevi Devasa Antarktika Buz Levhası olarak, dünya yüzeyinden

büyük miktarda güneş radyasyonunu yansıtmaktadır (Callaghan vd., 2007). Küresel ısınma konusu göz önünde bulundurulduğunda, son yarım yüzyılda Antarktik yarımadada belirgin derecede ısınma gözlemlenmişken, özellikle 1973-1996 yıllarında Antarktika deniz buzu boyutunda genel bir değişiklik olmamıştır (Convey vd., 2009).



Şekil 2.3. Horseshoe Adası Gaul Körfezi

2.1.3. Antarktika Doğal Kaynakları

Antarktika, açık deniz petrol kaynakları ve gaz halindeki hidrokarbonlar açısından zengin konumdadır. Antarktika'nın jeolojisi incelendiğinde, çeşitli maden yataklarının varlığı düşüncesi, neredeyse kesin bir tahmin olarak görülmektedir. Maden yataklarının var olduğuna dair yüksek derecede kesin tahmin, Antarktika bölgeleri ile mineral bakımından zengin şehirler arasında gözlemlenen yakın jeolojik benzerliklere dayanmaktadır. Bu açıdan, Antarktika'da altın, bakır, gabro, platin gibi mineraller barındırdığı düşünülmektedir. Ancak Transantarktika Dağları'nda kömür ve Doğu Antarktika'nın Prens Charles Dağları yakınında demir yatakları dışında önemli ölçüde maden bulunamamıştır. Bunun nedeninin, çoğunluğu buz tabakalarıyla kaplı yüzeylerden dolayı toprak gibi yapılara ulaşılamayarak, doğru örnek alınamaması olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bilimsel keşiflerde, bazı

bölgelerden ekonomik kar gütmeyecek miktarlarda antimon, krom, bakır, altın, kurşun, molibden, kalay, uranyum ve çinko gibi değerli mineraller bulunmuştur (Watt, 2023).

2.1.4. Kutup Mikrobiyomu ve Biyoteknolojik Potansiyelleri

2.1.4.1. Kutup Mikrobiyomunun Önemi ve Çeşitliliği

Kutuplardaki ekstrem düşük sıcaklıklar, yüksek UV radyasyonu, oligotropik ortam, izolasyon koşulları gibi nedenler mevcut ekolojik popülasyonların yapılarını etkilemektedir. Kutuplardaki bahsedilen bu optimum dışı koşullar, kutuplardaki mikrobiyal ekosistemin tür bazında azalmasına neden olurken, diğer yandan yeni metabolik yolak ve yeni tür açısından çeşitliliğini artırmaktadır. Bunun nedeni ise mikroorganizmaların bölgedeki ekstrem düşük sıcaklıklar, yüksek UV radyasyonu, besin azlığı gibi kutupsal stres faktörleri varlığında hayatta kalmalarını sağlamak için yeni stratejiler üretilmesi gerekmesidir (Silva vd., 2021). Kutupların -özellikle de Antarktika'nın- dünyanın diğer bölgelerinden uzak ve korunaklı olmalarına rağmen, kutup biyoçeşitliliğine yönelik tehditler gün geçtikçe artmaktadır. Artan insan faaliyetleri, kirlilik, biyolojik istilalar ve iklim değişikliğinin her yerde var olan etkileri, kutup ekosistemleri ve çevreleri üzerinde baskı oluşturmaya neden olmakta olduğunu da hatırlamakta fayda vardır (Wauchope vd., 2019).

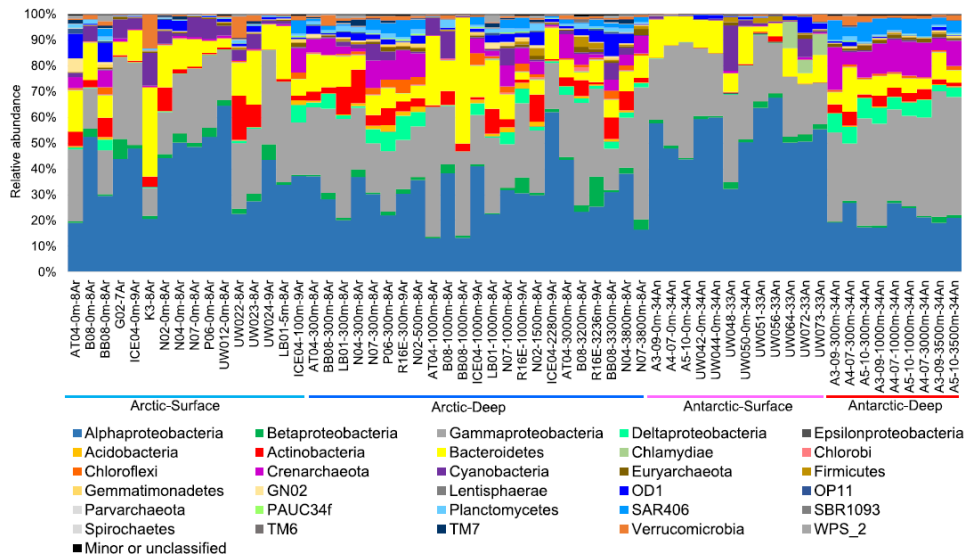
Tüm organizmalarda olduğu gibi kutup organizmalarının da büyümesini sıcaklık, oksijen gereksinimleri, pH, radyasyon, ozmoz, kimyasal gereksinimler, enerji kaynakları, karbon kaynağı, azot kaynağı, mineral kaynakları, su, büyüme faktörleri gibi birçok faktörler etkilemektedir. Mikroorganizmalar, laboratuvar şartlarında izolasyonları sırasında, köken aldıkları ortamı taklit edebilecek besi ortamlarında büyütülmelidirler. Kutup mikrobiyomu, içerisinde çeşitli mikroorganizmalar barındırmaktadır ve bu mikroorganizmalar, sahip oldukları özelliklere göre farklı besiyerleri içeriğinde büyümektedirler. Literatürde kutup mikroorganizmalarının izolasyonu sırasında sıklıkla R2A (Asencio vd., 2014), NA (Pulschen vd., 2017) ve Marine Broth (Sacristán-Soriano vd., 2017) besiyerleri kullanılmaktadır. Optimum sıcaklık bağlamında incelendiğinde, kutup mikroorganizmalarının çoğunluğu soğuğa adapte organizmalardır. Soğuğa adapte olmuş bu mikroorganizmaların bazılarını psikrofiller veya soğuk sevenler denilmektedir. Bu organizmalar sırasıyla 0°C, 15°C ve 20°C'de veya altında

minimum, optimum ve maksimum büyüme sıcaklıklarına sahiptirler. Diğer yandan psikrotolerant olarak adlandırılan organizmaların ise, maksimum büyüme sıcaklığı 25°C'nin üzerindedir; ancak bu mikroorganizmalar çok düşük sıcaklıklarda da gelişebilmektedir (Junge & Staley, 2011). Literatürde kutup mikroorganizmalarının izolasyonu sırasında uygulanan inkübasyon sıcaklıkları 4 ile 15°C arasındadır ve bu bilgiyi destekleyici bazı çalışmalar yapılmıştır (Kerry, 1990; Robinson, 2001).

Bazı durumlarda, organizmalar kültürlenememektedir. Yanlış pH'ı kullanarak doğru besinleri takviye etmemek, yetersiz inkübasyon periyotları veya aşırı zengin ortam kullanımı, spesifik büyüme sinyallerine duyulan ihtiyaç, diğer mikroorganizmalara bağımlılık veya mikrokoloniler olarak gelişme gibi durumlar bunlara örnektir (Vartoukian vd., 2010). Günümüzde kültürlenemeyen mikroorganizmaların fonksiyonel taranması için 16S rRNA ve metagenomik yaklaşımlar bulunmaktadır. Ancak bu tür çalışmalar özellikle çevresel metabolitlerin tüketimi veya üretimi, fizyolojik özellikler (hücre boyutu, morfoloji, pigmentasyon, hareketlilik, vb.) ve virülans profilleri gibi özelliklerin incelenmesinde yetersiz kalmaktadır (Stewart, 2012). Dolayısıyla kültürler için geliştirilmiş yetiştirme yöntemlerinin oluşturulması için çalışmaların yapılması gereklidir. Bunun için yapılan çalışmalardan birinde (Pulschen vd., 2017), nispeten basit yöntemler kullanarak bir Antarktika toprak örneğinden kültürlenemeyen ve inatçı mikroorganizmalar izole edilmiştir. Bu izolasyon için kullanılan yöntem, oligotrofik ortam, uzun inkübasyon süreleri, stereomikroskop altında gözlem ve yavaş büyüyen bakteri seçilimi süreçlerini kapsamaktadır. Bu çalışmada *Lapillicoccus*, *Flavitalea*, *Quadrisphaera*, *Motilibacter* ve *Polymorphobacter* gibi nadiren izole edilmiş veya yakın zamanda tanımlanmış cinslere ait birkaç nadir mikroorganizmayı izole edilebilmiştir. Ayrıca, kültürlenebildiği bilinen türlerle %92.08 ile %94.46 arasında değişen 16S rRNA dizi benzerliği sunan izolatlar izole edilmiştir. Bunun yanı sıra, metagenomik çalışmaları ile Antarktika topraklarında yaygın olduğu tanımlanan ancak izole edildiği daha önceden hiç rapor edilmeyen *Thermoleophilia* sınıfından iki farklı izolat da izole edilmiştir. Bu tür çalışmalar kültürlenemeyen mikroorganizmaları yetiştirmek için basit yöntemlerin hala yararlı olduğunu göstermektedir.

Kutup denizlerinden yapılan kapsamlı metagenom çalışmasında (Zhang vd., 2020), çeşitli kutup ve kutup dışı deniz mikrobiyomlarından, kutup bölgelerinde

yaygın olan ve ılıman deniz suyunda neredeyse saptanamayan suşları ortaya çıkarmıştır. Bu mikroorganizmalar için metabolik yol şeması, sakkarit ve lipid biyosentezi, nitrat ve sülfat indirgemesi ve CO₂ fiksasyonu gibi metabolik yollar açısından çok yönlülüğün varlığını göstermiştir. Arktik ve Antarktika mikrobiyomları arasındaki karşılaştırma, Arktika'da yatay gen transferinden kaynaklı antibiyotik direnç genleri zenginleşirken, Antarktika'da dikey gen transferinden kaynaklı DNA rekombinasyonu gibi işlevlerin zenginleştiğini ortaya koymuştur. Zhang ve arkadaşlarının (2020) yaptığı bu çalışmanın metagenom analizi, çoğunun *Alphaproteobacteria* ve *Gammaproteobacteria*'nın baskın olduğu, ardından *Bacteroidetes*'in geldiği 90 takson ortaya çıkarmıştır. Ek olarak, *Deltaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Cyanobacteria*, *Crenarchaeota*, *Parcubacteria* ve *Marinimicrobia* bazı metagenomlarda yüksek nispi çoğunluk göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada gerçekleştirilen metagenomik analizler, iki kutup bölgesindeki mikrobiyota arasında, muhtemelen çevresel filtrelemeye (çevresel değişkenlerin topluluk kompozisyonu üzerindeki etkisi) ve mikrobiyal dağılım sayesinde oluşan yüksek bir benzerlik ortaya koymuştur. Derin kutup deniz sularında yüzey deniz suyuna kıyasla daha yüksek mikroorganizma çeşitliliği gözlemlenmiştir. Bu durum derin suların daha çok mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğu anlamına gelmektedir.

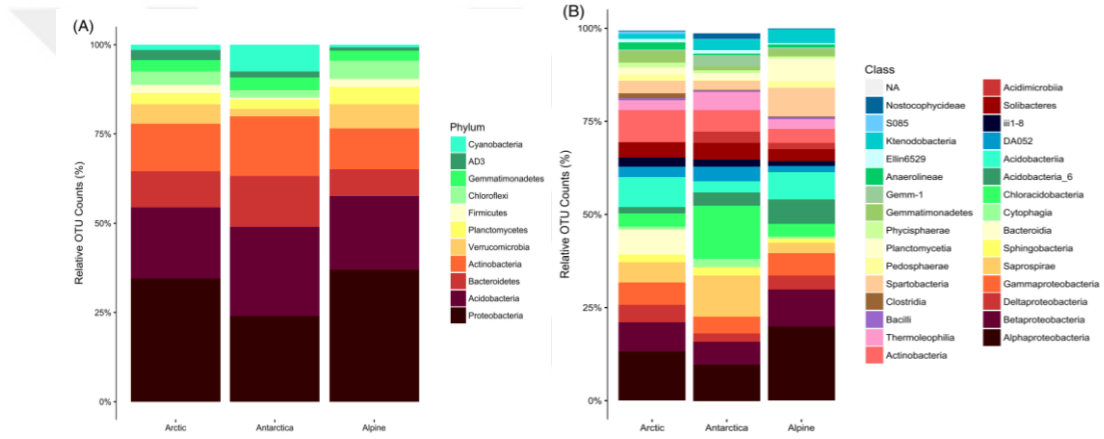


Şekil 2.4. Kutup deniz suyu metagenomunun filum düzeyinde taksonomik yapısı (Zhang vd., 2020).

Diğer yandan bu çalışmada antibiyotik direnci genlerinin Arktika'ya özgü ortologlarda büyük ölçüde zengin, DNA rekombinasyonu, DNA tamir ve RNA transkripsiyonu ile ilgili fonksiyonlar Antarktika'ya özgü ortologlarda zengin olduğu

görülmüştür. Bu durum, Arktika mikrobiyomlarındaki antibiyotik direnç genlerinin bolluğunun artan insan faaliyetlerinin bir sonucu iken, Antarktika mikrobiyomlarındaki DNA tamir mekanizmalarının, UV radyasyona maruz kalma gibi durumlara karşı adaptasyonun kaynaklandığını düşündürmektedir.

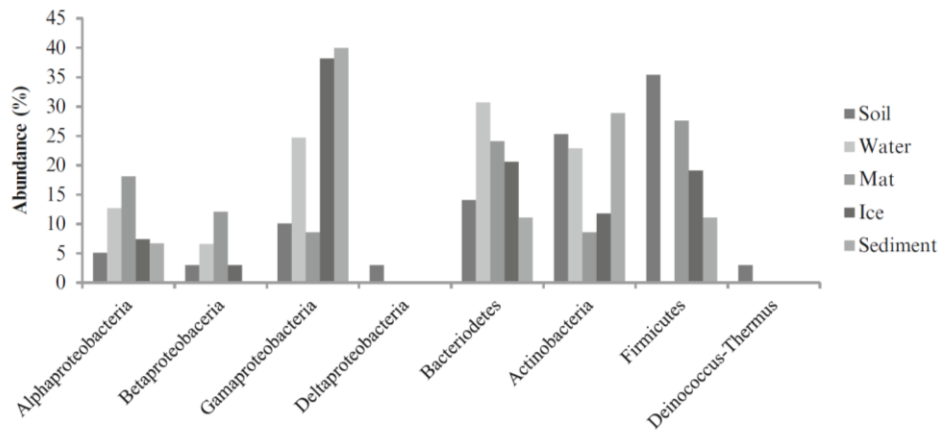
Kutup topraklarından yapılan kapsamlı metagenom çalışmalarında ise (Malard & Pearce, 2018; Ortiz vd., 2021), çeşitli toprak mikrobiyomlarından elde edilen metagenomların analizi yapılmıştır. Bu çalışmalar, benzer şekilde mikrobiyom çeşitliliği ve metabolik yolak haritaları çıkarmıştır. Bu çalışmalar sonucunda, Antarktika ve Arktika mikrobiyomunda, ortak olarak en sık *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Actinobacteria* filumlarıdır.



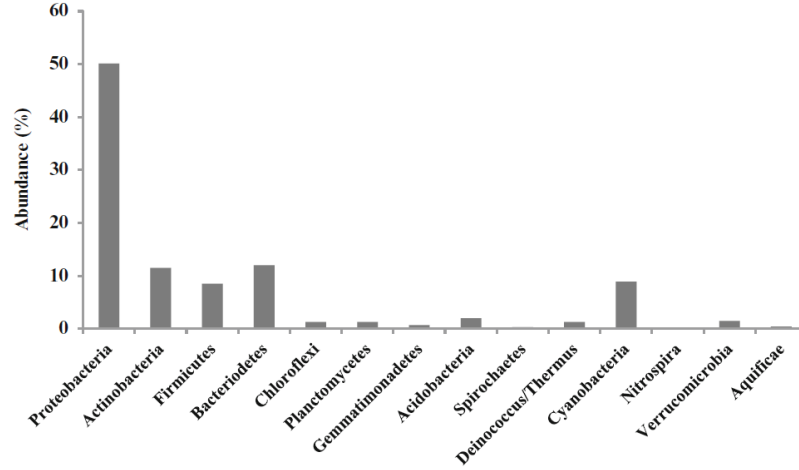
Şekil 2.5. Çevreye göre toprakta nispi bakteri bolluğunun karşılaştırılması (Malard & Pearce, 2018). (A) Literatürden çıkarılan ve ekosistem tarafından birleştirilen bakteri filum bolluğu (B) Literatürden çıkarılan ve ekosistem tarafından birleştirilen bakteri sınıfı bolluğu.

Antarktik mikrobiyom özel olarak incelendiğinde (Rampelotto, 2016), kutup bölgelerinin çeşitli habitatlarından elde edilen örneklerin mikrobiyal çeşitliliği kültürlenebilir ve kültürden bağımsız olmak üzere iki başlıkta incelenmiştir. Kültürden bağımsız yöntemlerde, daha önceden bahsedilen 16S rRNA ve metagenomik çalışmalarla mikrobiyal çeşitlilik incelenmektedir. Kutuplardaki bakteri bolluğu, habitata bağlı olarak değişir ve belirli bir habitat içindeki bakteri sayılarındaki farklılıklar da çok belirgin olabilir. Bu durum belirli habitatın belirli fiziksel ve kimyasal özelliklerinin mikrobiyom üzerindeki etkisini göstermektedir. Antarktika'daki kültürlenebilir bakterilerden tüm habitatlarda *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Firmicutes*'i temsil eden topluluklar geniş yayılım gösterirken, *Deinococcus-Thermus* ve *Spirochaetes* sadece toprakta tespit edilmiştir. *Proteobacteria* arasından *Gammaproteobacteria* sınıfı, *Alphaproteobacteria*,

Betaproteobacteria ve *Deltaproteobacteria*'ya kıyasla daha yaygın olarak gözlenirken, *Epsilonproteobacteria* üyeleri gözlemlenmemiştir. Ayrıca, *Antarcticimonas*, *Constrictibacter*, *Methylosphaera*, *Pricia*, *Psychrosinus*, *Rhodoglobus*, *Robiginotomaculum*, *Roseibaca*, *Roseicitreum* gibi bazı cinsler ile *Antarcticibacterium flavum*, *Granulosicoccus antarcticus* ve *Granulosicoccus marinus*, *Rhodoligotrophos appendicifer*, *Kaistella antarctica*, *Kaistella gelatinilytica*, *Kaistella flava* ve *Kaistella jeonii*, *Antarctobacter heliothermus*, *Pseudonocardia antarctica* gibi bazı türler Antarktika'ya özel organizmalardır ve şu ana kadar başka herhangi bir coğrafi konumdan rapor edilmemiştir. Ayrıca başka bir çalışmada (Chattopadhyay vd., 2014) jeotermal topraklarından izole edilen *Alicyclobacillus pohliae*, *Aneurinibacillus terranovensis*, *Anoxybacillus amylolyticus*, *Bacillus thermantarcticus* ve *Brevibacillus levickii* gibi bazı kültürlerin termofilik yapıda bakteri olduğu gözlemlenmiştir. Antarktika'dan kültürlenebilir bakterilerin nispi bolluğu topraklarda *Firmicutes* (%35), *Actinobacteria* (%25) ve *Proteobacteria* (%18); suda *Proteobacteria* (%42), *Bacteroidetes* (%31) ve *Actinobacteria* (%23); alg matlarında *Proteobacteria* (%40), *Firmicutes* (%28) ve *Bacteroidetes* (%24), buzlarda *Proteobacteria* (%48), *Bacteroidetes* (%21) ve *Firmicutes* (%19); tortularda *Proteobacteria* (%50) ve *Actinobacteria* (%29) olarak gözlemlenmiştir



Şekil 2.6. Antarktika'dan toprak (soil), su (water), mat, buz (ice) ve sediment örneklerinden kültürlenebilir bakterilerin bakteri çeşitliliği ve nispi bolluğu (%) (Rampelotto, 2016).



Şekil 2.7. Kültürden bağımsız yöntemlere dayalı olarak Antarktika'dan çeşitli örneklerden alınan bakteri çeşitliliği ve nispi bolluğu (%) (Rampelotto, 2016).

Kutup bölgelerindeki genel biyoçeşitlilik çalışmalarının yanında, biyoaktif moleküllerin üretimi ile ilgili çeşitlilik çalışmaları da gerçekleştirilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Rizzo & Giudice, 2020) kutup örneklerinde, biyoaktif moleküllerin üreticisi olarak rapor edilen organizmalardan en çok temsil edilen taksonomik grupların, Antarktika için %53,4 *Gammaproteobacteria* ve %22,6 *Actinobacteria* üyeleri olduğu görülmüştür.

Günümüzde, antibiyotik direnci mikrobiyoloji dünyasında çok önemli bir yer tutmaktadır. Artan insan faaliyetlerinden dolayı oluşan kontaminasyon, antibiyotik direncinin yayılmasında rol oynamaktadır. Günümüzde, antibiyotik direncinin geniş çapta yayılmasını kısıtlama çabaları ve toprak ortamlarında antibiyotik direncinin hem kökenlerini hem de mekanizmalarını keşfetme süreci önem kazanmıştır (Abraham, 1963). İnsan etkilerinden uzak ortamlardaki antibiyotik direnç genlerinin (ADG'ler) kaynaklarını saptamak, patojenlerin direnç mekanizması evrimini izlemek için önemlidir. Bu açıdan, mikrobiyal çeşitliliğin incelenmesi sürecinde, antibiyotik direncinin incelenmesi olmazsa olmaz bir durumdur. Kutupların antropojenik faaliyetlerinden uzak bölgelerinde yapılan antibiyotik direnci çalışmalarında, ilgi çekici antibiyotik direnci profilleri gözlemlenmiştir. Antarktika'da yapılan çalışmada (Bowlby, 2002), 177 antibiyotik direnç geninden (ADG) 126'sının (%71) Gram-negatif bakterilere ait olduğu gözlemlendi. Gram-negatif *Bacteroidetes* (41 ADG) ve *Acidobacteria* (37 ADG), tüm bölgelerde birincil ADG kaynaklarıydı. 16 ADG (%9) Gram-pozitif bakterilerde, özellikle *Bacilli* (*Firmicutes*) ve *Actinobacteria*'da bulunmuştur. *Proteobacteria* (30 ARG), *Firmicutes* (16 ARG), *Cyanobacteria* (8

ADG) ve *Actinobacteria* (5 ADG) dahil olmak üzere birçok filumda çoklu direnç mekanizmalarını kodlayan genler bulundu. Buna karşılık, *Nitrospira* (2 ADG), *Klorobi* (1 ADG), *Gemmatimonadetes* (1 ADG) ve *Marinimicrobia* (1 ADG), bu ortamdaki düşük bolluklarının yansıması olarak düşük miktarda ADG'ye sahiptiler.

İlginç bir şekilde, buradaki bazı organizmaların DNA sentezini engelleyen sentetik bir antibiyotik olan trimetoprim direnç kodlayan bir ADG bulunmuştur. Bu bulgu, yerli olmayan dirençli mikroorganizmaların hava yoluyla Antarktika kıtası içinde ve kıtalararası taşınması sonucu, uzak ve dokunulmamış toprak topluluklarına antibiyotik direnç genlerini aktarabileceğini desteklemektedir. Burada bulunan antibiyotik direnç genlerinin kaynağının temel olarak antibiyotik üreten türlerden kaynaklandığı, antibiyotik direncini kodlayan organizmalarda antibiyotik biyosentez genlerinin varlığı ve mobil genetik elementlerin (transpozonlar, integronlar ve rekombinazlar) tamamen yokluğu ile desteklenmiştir. Burada antibiyotik direnci genlerinin, türler arasında yatay gen transferinden ziyade nesiller boyunca dikey olarak aktarıldığı görülmektedir.

2.1.4.2. Kutup Mikrobiyomunun Soğuk Koşullara Karşı Adaptasyonları

Bugüne kadar, genomik ve postgenomikteki ilerlemelerden ve model türlerin genomik dizilerinden yararlanarak, kutup bölgelerinde yaşayan türlerde adaptasyonun neden olduğu evrimsel değişimleri anlamak mümkün olmuştur (Verde vd., 2016). Kutuplarda bulunan mikroorganizmalar kutup bölgelerinde hüküm süren koşullarda yaşamalarına ve etkili bir şekilde rekabet etmelerine izin veren genetik ve fizyolojik adaptasyonlar ile stratejiler geliştirmelidirler. Metagenomik çalışmalar sonucunda bu süreçteki önemli etkenlerin, hücreler ve popülasyonlar arasında iletişim ile alakalı genlerin ve yatay gen transferinin (HGT) önemli rol oynadığını göstermektedir (Li vd., 2014; Strom, 2008). Adaptasyonda soğuk koşullar baz alındığında, genlerin ve proteinlerin soğuğa karşı moleküler adaptasyondaki rolleri, erken biyolojik çalışmaların odak noktası olmuştur. Bu açıdan soğuğa adapte ekstremofiller, düşük sıcaklıkta hayatta kalmanın moleküler temeline ışık tutan dikkate değer bir modeldir. (Siddiqui vd., 2013). Kutuptaki soğuk ortamlar mikroorganizmalar açısından transkripsiyon, translasyon ve hücre bölünmesi oranlarında azalma, hatalı protein katlanmaları, soğuğa bağlı denatürasyon ve hücre içi buz kristali oluşumu gibi bazı sorunlar ortaya çıkarmaktadır (D'Amico vd., 2006). Dolayısıyla bu sorunlara karşı mikroorganizmalar birçok strateji üretmişlerdir. Bu

stratejiler arasında soğuk şok proteinleri ve moleküler şaperonlar, antifriz proteinleri, kriyotolerans veren bileşiklerin alımı ve sentezi, membran akışkanlığını korumak için yapısal modifikasyonlar bulunmaktadır (Verde vd., 2016). Soğukla başa çıkmak için kullanılan bazı bileşikler ozmoproteksiyon ve kriyoproteksiyonda önemli bir rol oynarlar ancak aynı zamanda karbon, nitrojen ve enerji kaynakları olarak da işlev görebilirler. Ana çalışılan bileşikler, glisin, betain, gliserol, trehaloz, sakaroz, mannitol ve sorbitoldür. Bu bileşikler sitoplazmanın donma noktasını azaltabilir, makromolekül agregasyonunu önleyebilir, serbest radikalleri temizleyebilir ve soğuk koşullar altında hücre zarlarını stabilize edebilir (Collins & Deming, 2013; Huston vd., 2004; Junge vd., 2003). Bu çalışmalardan bazılarına örnek olarak, kutup denizlerinden sıkça izole edilen *Colwellia psychrerythraea* 34H adlı bir *Gammaproteobacteria* sınıfı üyesinin, heterotetramerik sarkosin oksidazı kodlayan bir operon içerdiği ve ozmoregülasyon için yaygın olarak kullanılan glisin betain, dimetilglisin katabolizmasından sorumlu genleri ve sarkosin ve glisin gibi bileşiklerin kodladığı gözlemlenmiştir. Bu genlerin ürünleri sayesinde membran yapısını stabilize ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca ürettikleri M1 aminopeptidaz adlı soğuk aktif proteinleri ile soğuk ortamlarda enerji korunumu için aktivasyon enerjisini düşürerek, enzim etkinliğini artırmaktadır. Soğuk aktif proteinler, biyoteknoloji için birtakım avantajlar sunar. Bunlar kataliz sürelerinin kısaltılması, enerji maliyetlerinden tasarruf, enzimatik reaksiyon substratları ve/veya ürünleri dahil uçucu bileşiklerin kaybının önlenmesi, ısıya duyarlı bileşikler içeren reaksiyonların performansı ve kontaminasyon riskinin azaltılmasıdır (Margesin vd., 2007). Bu açıdan soğuk aktif proteinleri besin endüstrisi, deterjan üretimi ve moleküler biyoteknoloji araçları kullanımında bize avantajlar sağlayabilirler (Edwards vd., 2020). Translasyon ve transkripsiyon gibi önemli süreçlerdeki birçok enzim, süreçlerin düşük sıcaklıklarda optimal olarak aktif olacak şekilde uyarlanmasını sağlaması gerekmektedir. Bunun için soğuk şok proteinleri, mRNA ikincil yapılarının oluşumunu değiştirerek RNA şaperonları olarak işlev görebilirken, düşük sıcaklıklarda transkripsiyon ve translasyonun düzenlenmesinde yer aldığı düşünülmektedir (Verde vd., 2016). Düşük sıcaklıkta RNA yapıları daha kararlı hale gelir, bu şaperonlar ise çift sarmallı RNA'yı eritebilir ve tek sarmallı RNA yapısını stabilize edebilir. Soğuk sırasında yeni ikincil yapılar, farklı aşamalarda RNA metabolizmasını bozabilir; nükleazların ilerlemesini engelleyerek translasyonu ve ribozom alt birimleri tarafından translasyon başlatma kompleksinin oluşumunu

engelleyebilir; RNA polimerazın (RNAP) erken sonlandırılmasına neden olabilir. Soğuk şok proteinlerinin şaperon aktivitesi, bu istenmeyen etkileri önler (Barria vd., 2013). Bununla alakalı yapılan bir çalışmada (Lim vd., 2000), Antarktika'dan izole edilen bir arke olan *Methanococcoides burtonii* 'ye ait DEAD-box RNA helikaz adlı bir helikazın soğuk koşullarda aşırı ekspresyona uğradığı gözlemlenmiştir. Bu enzim, translasyon başlatma ve ribozom biyogenezi dahil birçok temel hücrel süreçlerde rol oynamaktadır.

Soğuk koşullarda membran akışkanlığını korumak için mikroorganizmalar bazı stratejiler geliştirmişlerdir. Bunlar, çoklu doymuş, doymamış ve metil dallı yağ asitlerinin oranını artırmak (D'Amico vd., 2006); lipidlerin bileşimini değiştirmek; lipid baş grubunu, zarın protein içeriğini, sentezlenen karotenoidlerin türünü, yağ asidi zincir uzunluğunu (kısa açıl zincir uzunluğu), cis-trans yağ asitlerinin oranını değiştirmek (Chintalapati vd., 2004; Nie vd., 2021) ve grupların yük boyutunu azaltmak (Guan vd., 2013) gibi bir dizi stratejilerdir. Özellikle membrandaki çoklu doymamış yağ asit oranlarını artırmak, düşük sıcaklıklarda membran geçirgenliğini artırır. Bu strateji biyoteknolojik açıdan insanlar, çiftlik hayvanları ve balıklar için besin takviyeleri üretimi açısından avantaj sağlayabilir (Edwards vd., 2020). Kutuplardaki soğuk koşullarda hayatta kalmak için en önemli stratejilerden biri de antifriz proteinleridir. Antifriz proteinleri (AFP'ler), ya çözeltinin donma noktasını düşürerek ya da yeniden kristalleşmeyi engelleyerek buzun büyümesini engelleyen, yapısal olarak çeşitli bir buz bağlayıcı protein grubudur. Bununla ilgili bir çalışmada (Gilbert vd., 2005), Kuzey Kutbu'ndan, antifriz aktivitesi olan 11 bakteri suşunun izolasyonu gerçekleştirildi. Halihazırda *Marinomonas primoryensis* olarak bilinen bir bakteri, çalışma sırasında tanımlanan en bol AFP üreten bakteri suşlarından biriydi. Bakterinin AFP aktivitesinin daha sonra Ca^{2+} bağımlı olduğu gözlemlenmiştir. AFP'lerin yeniden kristalleşme engelleme aktivitesi, buzullar ve buz taneleri arasındaki sınırları korumaya yardımcı olabilir. Bu tür sınırlar, iyonları ve besinleri biriktirme eğiliminde olan ve derin Antarktika buzunda mikrobiyal bir yaşam alanı olarak hareket edebilen bir sıvı damar ağı oluşturur. Buz damarı ortamında, AFP üretmeyen mikroorganizmalar, buzullar içerisinde AFP'lere sahip bakteri türleri ile ortak ilişkilerden yararlanabilir (Singh, vd., 2014). Biyoteknolojik açıdan AFP'ler kriyoprotektanların üretimi ve gıda endüstrisinde yarar sağlayabilme potansiyeline sahiptir (Edwards vd., 2020).

Kutuplardaki kısıtlayıcı özellikler, biyoteknoloji açısından büyük bir ilgiye neden olmuştur. Bunun nedeni, bu ortamlara adapte olmuş mikroorganizmaların keşfedilecek birçok metabolik çeşitlilik geliştirmeleridir (Silva vd., 2021). Bu özelliklerden birisi de özellikle yüksek UV radyasyonundan ve donmaya karşı korumak adına mikroorganizmaların ürettiği karotenoid gibi pigmentlerdir. Antarktika bakterilerinde donma ve çözülme döngülerinin ve radyasyona maruz kalmanın etkilerini değerlendiren önemli bir çalışmada (Dieser vd., 2010), pigmentli bakterilerden *Arthrobacter sp.* ANT16 koyu gül kırmızısı renkli, *Flavobacterium sp.* ANT11 turuncu renkli, *Flavobacterium sp.* ANT12, sarı renkli ve *Sphingomonas sp.* ANT20 sarı renkli, pigmentli bakterilere (*Flavobacterium sp.* ANT4, *Flavobacterium sp.* ANT1 ve *Janthinobacterium sp.* ANT3) kıyasla iki sınırlayıcı koşula karşı daha fazla direnç göstermiştir. Bu tür UV koruyucu pigmentler, biyomedikal, ilaç endüstrisi, gıda teknolojisi ve kozmetik endüstrisi gibi alanlarda biyoteknolojik açıdan potansiyele sahiptirler.

2.1.4.3. Kutup Mikrobiyomlarının Metabolik Özellikleri

Deterjanlarda ve endüstride katkı maddesi olarak yaygın olarak kullanılan proteazlar, lipazlar, amilazlar ve selülozlar gibi enzimlerin pazarı, enzimlerin toplam satışının yarıya yakın yüzdesini temsil ettiğinden, endüstriden ilk önce söz edilmelidir. Soğuk aktif deterjanlara ilgi gittikçe büyümektedir çünkü yıkama artık sıklıkla optimum sıcaklıklarında gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle soğuğa adapte edilmiş enzimler, bu tip endüstriyel ve gıda uygulamalarında yüksek miktarda potansiyel sunar. Ancak üretim maliyetleri kullanımlarını şu anda sınırlandırmaktadır. Kutup bölgelerinden elde edilen mikroorganizmalar ve bunların enzim uygulamaları ile ilgili birçok çalışma vardır.

Beta-galaktozidaz üretimi ile düşük sıcaklıklarda süt ürünlerinden laktozun uzaklaştırılması; alfa-amilaz, proteaz, peptidaz, lipaz, esteraz gibi bileşiklerin üretimi ile deterjan katalizatörü ve temizlik ürünlerinde kullanımı; ksilanaz, proteaz gibi bileşiklerin deterjan, tekstil ve gıda endüstrisi, biyoremediasyonda kullanımı gibi birçok uygulama konusunda önemli çalışmalar yapılmıştır (Bruno vd., 2019) (Duarte vd., 2018). Besin endüstrisi ile alakalı dosyalanan patentlerden W02004023879 ve W0200587916 patentleri ile korunan önemli bir uygulamada (Collins vd., 2006), Antarktika deniz sularından *Pseudoalteromonas haloplanktis* adlı bakterilere ait yüksek derecede soğuk aktif bakteriyel ksilanazların (*family 8 xylanases*) fırıncılık

endüstrisinde, artan ekmek hacmini ve kırıntı kalitesini desteklediği gözlemlenmiştir. Kutuplardan izole edilen mikroorganizmaların enzimlerinden moleküler biyolojiye katkı sağlayanlardan önemli bir çalışmada (Georlette vd., 2003), *Thermus scotoductus* adlı bir bakteriden elde edilen soğuğa adapte DNA ligaz enzimleri, düşük sıcaklıklarda mezofilik versiyonu olan *Escherichia coli*'den daha yüksek bir verim göstermiştir. Bu açıdan oligonükleotidlerin soğuk adapte edilmiş DNA ligazları kullanılarak birleştirilmesi, düşük sıcaklıklarda ligasyon veriminin çok daha yüksek olduğu için umut verici görünmektedir (Marx vd., 2007).

Mikroorganizmaların diğer mikroorganizmalara karşı çeşitli aktivitesi ilaç endüstrisinde en önemli yerini korumaktadır. Kutup bakterileri, daha önce henüz tanımlanmamış biyoaktif moleküllerin senteziyle ilişkilendirilebilecek, keşfedilmemiş bir biyoçeşitlilik deposunu temsil eder. Günümüzde birçok enfeksiyon hastalıklarının yönetimindeki temel sorunlar, hastalığa neden olan mikroorganizmaların çeşitli antimikrobiyallere direnci ile daha yeni ve etkili antibiyotiklerin olmamasıdır (Papaleo vd., 2013). Dolayısıyla yeni bir antibiyotik ajanın bulunması biyoteknolojik açıdan çok önemlidir. Bir çalışmada (Papaleo vd., 2012), Antarktika'da yaşayan bir süngerden izole edilen bakterilerin bir dizi mikrobiyal Uçucu Organik Bileşik (mVOC) üretimi yoluyla *Burkholderia cepacia* (Kistik Fibrozis hastalarında 'cepacia' sendromundan sorumlu) kompleksine (Bcc) ait insanda fırsatçı, çok dirençli, patojenik bakterilerin büyümesini engellediği tespit edilmiştir. Elde edilen veriler, bu bakterilerinin çoğunun farklı cinslere ait olduğunu ve Bcc'ye ait bakterilerin büyümesini tamamen engelleyebildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca uçucu bileşik, Bcc bakterilerine karşı ampisilin, tetrasiklin, rifampisin, kloramfenikol, siprofloksasin, gentamisin, nalidiksik asit gibi yaygın antibiyotiklerden çok daha yüksek bir etkinlik sergilemiştir. Öte yandan birçok Bcc suşuna ait bakteriye karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, diğer insan patojenlerine karşı bir etkinlik göstermemiştir. Bu durum, inhibisyonun Bcc bakterileri için spesifik olduğunu göstermiştir.

Benzer bir çalışmada (Tedesco vd., 2016), Antarktika'nın denizinden alınan *Pseudomonas* sp. BNT1 izolatından izole edilen üç ramnolipid (biyosürefektan) üzerinde yapılan biyolojik araştırmalar, üç rhamnolipidden ikisinin yeni bir metabolit olduğunu ve *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia metallica*, *Burkholderia seminalis*,

Burkholderia latens ve *Staphylococcus aureus* gibi insan patojenlerini inhibe edebildiğini göstermiştir.

Antimikrobiyal aktivite açısından, kutup bölgelerinden izole edilen mikroorganizmaların ürettikleri pigmentler büyük önem arz etmektedir. Bununla alakalı geniş bir çalışmada (Leiva vd., 2015), Antarktik makroalglerden elde edilen aktinobakteri türlerinin ürettiği pigmentlerin antimikrobiyal aktivite özelliği saptanmıştır. 16S rRNA çalışmaları sonucu bu çalışmada izole edilen 31 örnekten, 28'inin *Actinobacteria* şubesinden (11 cins: *Agrococcus*, *Arthrobacter*, *Brachybacterium*, *Citricoccus*, *Kocuria*, *Labeledella*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Salinibacterium* ve *Sanguibacter*) ve 3 tanesinin *Firmicutes* şubesinden (1 cins: *Staphylococcus*) olduğu tespit edilmiştir. Bunlar arasından sadece beş çeşit *Actinobacteria* türünün ürettiği sarı renkli pigmentler antimikrobiyal aktivite gösterebilmiştir.

Pigment üretimi açısından Antarktika'dan izole edilmiş diğer önemli organizma gruplarından biri de *Proteobacteria* şubesidir. Bu bakterilerin bazıları violasein adlı mor renkli pigmentleri sayesinde birçok patojene karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışmalardan birinde (Atalah vd., 2020), bir *Iodobacter* suşunun *Pseudomonas aeruginosa* adlı insan patojenine karşı antimikrobiyal testinde etkinlik gözlemlenmiştir. Benzer başka çalışmalarda, Antarktika'nın farklı noktalarından elde edilen *Janthinobacterium* sp. cinsi bakterilerin sentezlediği mor pigmentlerin antibakteriyel aktiviteleri gözlemlenmiştir (Asencio vd., 2014; Baricz vd., 2018). Bu çalışmalarda ham bakteri ekstraktların, hem klinik hem de çevresel kökenli çoklu ilaca dirençli bakteri suşlarına karşı aktivitesi incelenmiştir. Bu test sonucu suşların büyük çoğunluğunun net bir bakterisidal etki ve çok küçük bir kısmının bakteriyostatik etkisi saptanmıştır. Yapılan diğer bir çalışmada ise (Mojib vd., 2010), Antarktika sularından izole edilen *Janthinobacterium* sp. Ant5-2'nin violacein adlı mor pigmenti ve *Flavobacterium* sp. Ant342'ye ait fleksirubin adlı sarı-turuncu pigmentin insanda tuberkuloz hastalığına neden olan *Mycobacterium tuberculosis* adlı insan patojeninin ve *Mycobacterium smegmatis* adlı avirü lent suşlarına karşı antimikrobiyal testinde etkinlik gözlemlenmiştir. Antarktika deniz suyundan izole edilen 63 soğuğa adapte edilmiş bakteri suşundan oluşan bir çalışmada gerçekleştirilen taramalar (Danilovich vd., 2018), geniş pH ve sıcaklık aralıklarında stabilite ile düşük moleküler ağırlıklı antimikrobiyaller üretebilen

Halomonas titanicae türüne bağlı üç izolat ortaya çıkarmıştır. İzolatlar, hem insan patojenik hem de fitopatojenik bakterilere (*Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marscecens*, *Shigella* spp., *Staphylococcus* spp., *Xanthomonas* ve *Erwinia*) karşı geniş bir inhibisyon spektrumu göstermiştir.

Antiviral aktivite açısından kutuplardan elde edilen mikroorganizmalardan büyük miktarda çalışmalar bulunmamaktadır. Antiviral aktivite çalışmalarından birinde (Yang vd., 2013), Kuzey Kutbu'ndan izole edilen bir aktinobakteri olan *Streptomyces nitrosporeus* CQT14-24 suşunun istisnai bir iskelete sahip nitrosporeusines A ve B adlı yeni alkaloidler ürettiği bildirilmiştir. Bu bileşiklerin her ikisi de Madin-Darby köpek böbrek (MDCK) hücrelerinde çoğaltılan H1N1 influenza virüsüne karşı önemli inhibitör etkiler göstermiştir.

Herbisit teknolojisi, yeri geldiğinde istenmeyen parazitik bitkilerin uzaklaştırılmasını sağlarken, yeri geldiğinde de istenen bitkilerin herbisit-dirençliliği kazanarak daha kaliteli üretimlerini gerçekleştirmeyi sağlar. Bu açıdan herbisit teknolojisi önem arz etmektedir. Kutup mikroorganizmalarının herbisidal aktiviteleri hakkında henüz geniş çalışmalar gerçekleştirilmemiştir. Yapılan bir çalışmada, (Gomes vd., 2018), *Pseudogymnoascus destructans*, *Mortierella parvispora* ve *Penicillium chrysogenum* gibi Antarktika toprak izolatları *Trypanosoma cruzi* ve *Leishmania amazonensis*'e karşı antiparaziter aktiviteler sergilemiştir. Diğer yandan, *Pseudogymnoascus destructans*, *Mortierella amoeboides*, *Mortierella* sp. 3 ve *Penicillium tardochrysogenum*'a ait ham özütler ise *Lactuca sativa* (marul) ve *Allium schoenoprasum* (frenk soğanı)'a karşı herbisidal aktiviteler göstermiştir.

Kutup bölgeleri, insan araştırmaları ve bilimsel araştırmalar için çok önemli bir hedeftir. Ancak insan faaliyetlerinin bu kıtalardaki olumsuz etkileri uzun sürelidir ve doğal ekosistem üzerinde ciddi sonuçlar doğurabilmektedir (Gran-Scheuch vd., 2017). Gemicilik ve petrol kullanımı gibi yeni ekonomik gelişmeler, benzeri görülmemiş deniz petrol sızıntısı risklerini beraberinde getirmektedir (Vergeynst vd., 2018). Yenilenebilir enerji kullanımına yönelik daha fazla çaba sarf edilmesine rağmen, kutuplardaki çoğu faaliyet hala büyük ölçüde dizel kullanımına bağlıdır (Wong vd., 2021). Kutupların çeşitli bölgeleri, ağır metaller ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) gibi zararlı bileşikler içeren dizel yakıtla kirlenmiştir. Dolayısıyla yakıt sızıntısı olaylarına bakteri topluluğunun tepkileri, akuatik ortamlarında hidrokarbon kirliliğinin kaderini tahmin etmek için kilit unsurlardır

(Rizzo vd., 2019). Mikroorganizmaların aktivitesi ile PAH'ların biyoremediasyonu, ekolojik, ekonomik ve güvenli bir dekontaminasyon yaklaşımıdır. Kutupların - özellikle Antarktika'nın- diğer bölgelerden izole olması ve dolayısıyla yabancı organizmaların girişinin zorlu olmasından, dizel biyoremediasyon için kullanılabilecek yerli bakterileri keşfetmek çok önemlidir (Gran-Scheuch vd., 2017). Mikrobiyal olarak yönlendirilen mineralizasyon süreçleri, temel olarak hidrokarbon degradasyon ve petrol sızıntısının neden olduğu zararlı etkilerin doğal olarak azalmasına katkıda bulunmaktadır. Düşük sıcaklıklar ve aydınlık-karanlık döngüleri, kirlenmelerin uzaklaştırılması için abiyotik süreçlerin etkinliğini sınırlayabildiğinden, özellikle kutup bölgelerinde bakteriyel biyolojik degradasyon potansiyeli son derece önemlidir (Rizzo vd., 2019). Arktik ve Antarktika deniz suyu ve buz örneklerine odaklanan çalışmalar, hidrokarbonların varlığı, hidrokarbon degrade eden özel mikroorganizmaların seçici büyümesini uyardığını göstermiştir (Powell vd., 2005). Bunlar çoğunlukla *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter* spp., *Shewanella* (Deppe vd., 2005), *Marinobacter*, *Oleispira* gibi *Proteobacteria* üyelerini ve ayrıca *Bacteroidetes* ve *Actinobacteria* (L. Giudice vd., 2010) üyelerini içerir. Hidrokarbonu parçalayan bakteri yüzdesinin on kata kadar arttığı rapor edilmiştir (Michaud vd., 2004). Kutup mikroorganizmalarının bioremediasyonda kullanımı hakkında çalışmalar, artan kirlilik ve insan faaliyetlerine paralel olarak beklenilenden daha düşük bir hız ile artmaktadır.

Biyoremediasyon bağlamında, PAH fenantrenin degradasyonu ile ilgili yapılan önemli bir çalışmada (Gran-Scheuch vd., 2017), dizel ile kirlenmiş Antarktika toprak örneklerinden 53 tane PAH metabolize eden bakteri izole edilmiştir ve *Rhodococcus erythropolis*, *Sphingobium xenophagum* ve *Pseudomonas guineae* olmak üzere üçü yüksek fenantren degradasyon kapasitesi sergilemektedir. Özellikle, *Sphingobium xenophagum* izolatu, ilk fenantrenin %95'e kadar bozunmasını sağlayarak en yüksek fenantren degradasyon kabiliyetini sergilemiştir. Bu izolat ayrıca, ağır metal kadmiyum varlığında fenantreni degrade edebilir ve tek karbon kaynağı olarak dizel yakıtı kullanarak büyüme kabiliyeti gösterebilmektedir.

2.1.4. Horseshoe Adası

67°51'G, 67°12'B koordinatları içerisinde yer alan Horseshoe Adası, Antarktika kıtasının batısındaki Marguerite Körfezi'nde yer alan, kıtanın en buzsuz ve üçüncü en büyük adasıdır. Adanın yapısı çoğunlukla kayalıktır ve üçte ikisi buzullar ile kaplı

olup, toplam yüzey alanı 60 km²'dir (Çiner vd., 2019; Yirmibeşoğlu vd., 2022; Yıldırım, 2019). Adanın kuzey kısmı çoğunlukla bir buz örtüsüyle, orta kısmı ise buzul ve buzul çevresi yer şekilleri ile kaplıdır (Selbesoğlu vd., 2023). Adanın yapısal tarihi incelendiğinde, 20 bin yıl önce tamamıyla bir buz tabakasıyla kaplıydı. 14,2 bin yıl önce buz tabakasının kalkması ve 10,6 bin yıl önce körfezin iç kısmının sular altında kalmasından oluşan büyük buzullaşma sürecinden sonra Horseshoe Adası oluşmuştur (Yıldırım, 2019).

Jeolojik yapısı incelendiğinde adada beş tatlı su gölü bulunup, temel kaya yapısı granit gnayslarından oluşmuştur. Bu yapılardan pembe granitler adanın sadece kuzey kesiminde görülür. Ayrıca volkanik kayaç ve çökeltiler mevcuttur. Gabro ve diyorit ile birlikte beyazdan pembeye ve kiremit kırmızısına kadar değişen renklere sahip granitler bulunmakta; peş peşe gelen gabroik ve granitik yapılar sayesinde makalit yeşili bakır cevherleri oluşmaktadır. Horseshoe Adası'nın en büyük buzulu olan Shoesmith Buzulu, kuzeybatıya doğru akar ve iki kola ayrılır. Biyoçeşitlilik açısından incelendiğinde, kış aylarında Güney Okyanusu'nu tamamen kaplayan deniz buzu, altında sualtı ekosistemi oluşturmaktadır. Antarktika kıtasının düşük çeşitliliğine rağmen, adada kriptogamik bitkilerin varlığı gözlemlenmiştir. Burada 29 çeşit liken, 15 çeşit yosun, martı familyasından birkaç kuş türü, Adelie pengueni ve yengeç yiyen foklar bulunmaktadır (Çiner vd., 2019).

2.2. Aktinobakteriler

Aktinobakteriler, genomunda %55 ve %75 arasında değişebilen yüksek G+C içeriğine sahip, tipik olarak bir plazma zarı ve kalın bir peptidoglikan tabakasından oluşan bir Gram-pozitif hücre duvarına sahip bakterilerin bir şubesidir. Aktinobakterilerin temsil ettiği şubenin latince adı *Actinomycetota*'dır (Tablo 2.1.) ve 6 sınıftan oluşur. Bu bakteri şubesindeki çoğu tür, toprakta bulunan ipliksi aeroblardır. Bunun yanı sıra bazı türleri ise basit kok veya çubuk yapılı olabilmekte ve fakültatif veya zorunlu anaerob profili sergileyebilmektedir. Filamentli fungusların morfolojik organizasyonuna sahip aktinobakteriler, Gram-pozitif bakteriler arasında en zengin morfolojik farklılaşma çeşitliliğine sahiptirler. Aktinobakteriler, kok veya kok-çubuk yapısı, parçalı hif yapısı ve oldukça farklılaşmış dallı miselyuma kadar çok çeşitli morfolojiler sergilemektedir (Rahlwes vd., 2019; Ventura vd., 2007). Ayrıca, hücre dışı enzimlerin üretimi ve çok çeşitli sekonder metabolitlerin oluşumu gibi çeşitli fizyolojik ve metabolik özellikler sergilerler (Schrempf, 2001). Bu sekonder metabolitlerin en önemlileri antibiyotiklerdir ve ilaç endüstrisindeki en önemli aktinobakteriyel temsilcileri *Streptomyces* türleridir (Berdy, 2005). Aktinobakteri sınıfındaki çoğu bakteri, nispeten kalın bir peptidoglikan tabakası ile tipik monoderm hücre zarı taşır. Bununla birlikte, *Mycobacterium* türleri gibi bazı üyeler, bir diderm hücre zarfı geliştirmiştir (Rahlwes vd., 2019).

Micrococcales

- Carbodinatosporaceae*
- Streptomycetaceae*
- Beutenbergiaceae*
- Bogoriellaceae*
- Brevibacteriaceae*
- Cellulomonadaceae*
- Demequinaceae*
- Dermabacteraceae*
- Dermacoccaceae*
- Dermatophilaceae*
- Intrasporangiaceae*
- Jonesiaceae*
- Kytococcaceae*

Micrococcales

- Riftasutospirales*
- Carbonitimosporaceae*
- Streptomycetaceae*
- Beutenbergiaceae*
- Bogoriellaceae*
- Brevibacteriaceae*
- Cellulomonadaceae*
- Demequinaceae*
- Dermabacteraceae*
- Dermacoccaceae*
- Dermatophilaceae*
- Intrasporangiaceae*
- Jonesiaceae*
- Kytococcaceae*

Tablo 2.1. Aktinobakteri şubesine dahil olan taksonlar (devam).

Sınıf	Takım	Aile
Actinomycetes	<i>Nakamurellales</i>	<i>Nakamurellaceae</i>
	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Actinopolymorphaceae</i>
		<i>Kribbellaceae</i>
		<i>Nocardiodaceae</i>
		<i>Propionibacteriaceae</i>
	<i>Pseudonocardiales</i>	<i>Pseudonocardaceae</i>
	<i>Sporichthyales</i>	<i>Sporichthyaceae</i>
	<i>Streptosporangiales</i>	<i>Nocardiopsaceae</i>
		<i>Streptosporangiaceae</i>
		<i>Thermomonosporaceae</i>
Coriobacteriia		<i>Treboniaceae</i>
	<i>Anaerosomatales</i>	<i>Anaerosomataceae</i>
	<i>Coriobacteriales</i>	<i>Atopobiaceae</i>
Nitriliruptoria		<i>Coriobacteriaceae</i>
	<i>Eggerthellales</i>	<i>Eggerthellaceae</i>
	<i>Egibacterales</i>	<i>Egibacteraceae</i>
	<i>Egicoccales</i>	<i>Egicoccaceae</i>
	<i>Euzebyales</i>	<i>Euzebyaceae</i>
Rubrobacteria	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>
	<i>Salsipaludibacterales</i>	<i>Salsipaludibacteraceae</i>
	<i>Gaiellales</i>	<i>Gaiellaceae</i>
	<i>Rubrobacterales</i>	<i>Baekduiaceae</i>
		<i>Rubrobacteraceae</i>
Thermoleophilia	<i>Miltoncostaeales</i>	<i>Miltoncostaeaceae</i>
	<i>Solirubrobacterales</i>	<i>Capillimicrobiaceae</i>
		<i>Conexibacteraceae</i>
		<i>Paraconexibacteraceae</i>
		<i>Parviterribacteraceae</i>
		<i>Patulibacteraceae</i>
		<i>Solirubrobacteraceae</i>
	<i>Thermoleophilales</i>	<i>Thermoleophilaceae</i>

Aktinobakteri üyelerinin laboratuvar çalışmalarında izole edilmesi için çeşitli ortam ve koşullar kullanılmaktadır. Özellikle nadir aktinobakterilerin izolasyonunu gerçekleştirmek oldukça zordur. İzolasyon sırasında diğer bakteriler, mantarlar gibi hızlı çoğalan mikroorganizmalar, nadir aktinobakterileri baskılayabilmektedir (Lazzarini vd., 2000). Bundan dolayı aktinobakteri izolasyonunda hümitik asit veya kazein gibi makromoleküller içeren uygun seçici besiyerleri tercih edilmektedir. Ayrıca aktinobakterilerin büyümesine yardımcı olmak ve bakteriyel ve fungal kontaminantları baskılamak için izolasyon besiyerlerine sikloheksimid, gentamisin, kanamisin, nalidiksik asit, nistatin, polimiksin, rifampisin, streptomisin gibi antibakteriyel ve antifungal antibiyotikler eklenerek seleksiyon teşvik edilmektedir (Amin vd., 2020). Tablo 2.2 aktinobakterilerin izolasyonu için kullanılan yaygın besiyerlerinden bazılarını içermektedir.

Tablo 2.2. Aktinobakterilerin izolasyonu için kullanılan bazı besiyerleri (Hazarika & Thakur, 2020a).

Besiyeri	Referanslar
Nişasta-kazein besiyeri	(Küster & Williams, 1964)
Hümik asit-vitamin agar	(Hayakawa & Nonomura, 1987)
Nişasta kazein nitrat agar (SCS)	(Hayakawa & Nonomura, 1989)
Bennett's Agar (BA)	(Jones, 1949)
Arjinin-gliserol tuzu (AGS) besiyeri	(Porter vd., 1960)
Kitin agar besiyeri	(Lingappa & Lockwood, 1962)
Gauze agar	(Rehacek, 1959)
Czapek's agar	(Waksman, 1961)
Mineral tuz (MS) ortamı	(Rehacek, 1959)
Maya özü-malt özü agarı	(Shirling & Gottlieb, 1966)
Toprak özü agarı	(Shivaji vd., 1988)
M3 agar besiyeri	(Jones, 1949)
Nişasta kazein agar	(Küster & Williams, 1964)
Asparajin agar	(Grein & Meyers, 1958)
Gliserol-glisin agar	(Porter vd., 1960)
Nişasta maya kazein agar (SYCA)	(Zin vd., 2007)
Aktinomiset izolasyon agarı (AIA)	(Zin vd., 2007)
Hümik asit-vitamin jellan sakızı (HVG)	(Zin vd., 2007)
<i>Streptomyces</i> agar	(Okami vd., 1963)
Trypton-maya özütü sıvı besiyeri	(Pridham & Gottlieb, 1948)
Oatmeal agar	(Küster, 1959)
İnorganik tuz-nişasta agar	(Küster, 1959)
Gliserol-asparajin agar	(Pridham & Lyons, 1961)
Pepton- maya özütü demir agar	(Shirling & Gottlieb, 1966)
Karbon kullanım besiyeri	(Pridham & Gottlieb, 1948)
Triptik soy agar (TSA)	(Küster, 1959)
Musluk suyu maya özü agar	(Crawford vd., 1993)

Aktinobakterilerin yaşam tarzları da son derece çeşitlidir. Birçoğu, besin mevcudiyetinin dalgalandığı toprakta ve su ortamlarında yaşayan çevresel olmakla birlikte patojenik veya saprofitik organizmalar da bu gruba aittir. Aktinobakteriler patojenler, toprak sakinleri, nitrojeni fikse edenler, simbiyontlar, gastrointestinal sistem sakinleri gibi farklı yaşam tarzlarında üyeler bulundurmaktadır (Benson & Silvester, 1993; Jensen vd., 2005). Aktinobakteriler, hem karasal hem de sucul (deniz dahil) ekosistemlerde (Kurtböke, 2017), özellikle de dayanıklı biyomateriyallerin geri dönüşümünde çok önemli bir rol oynadıkları toprakta yaygın olarak dağılmıştır (Goodfellow & Williams, 1983; Stach & Bull, 2005). Ayrıca, birçok bifidobakteri, patojenlere karşı koruma, safra tuzu hidrolaz aktivitesi, bağışıklık modülasyonu, mukus veya bağırsak epiteline yapışma yeteneği gibi sağlığı geliştirici veya

probiyotik özellikleri nedeniyle çeşitli gıdalarda aktif bileşenler olarak kullanılır (Lievin vd., 2000; Ouwehand vd., 2002; Stanton vd., 2005).

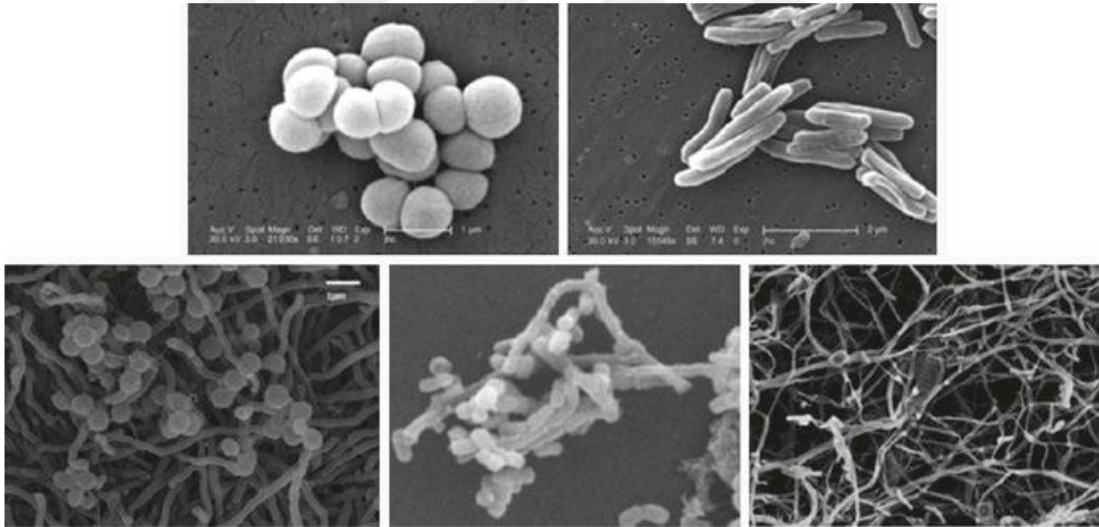
Aktinobakteriler, alkali tuzlu toprak, deniz süngerleri ve deniz sedimentleri, kaplıcalar, bağırsaklar ve şifalı bitkiler dahil olmak üzere çeşitli ekosistemlerden izole edilmiştir. Çeşitli ekolojik işlevleri nedeniyle antibiyotik üretimi dışında tarım ve çevre korumada geniş uygulama potansiyeline sahiptir. Son birkaç on yılda, aktinobakteriyel araştırmalar özel yaşam alanlarına ve ekstrem ortamlara odaklanmıştır (Qin vd., 2016). Bu bağlamda araştırmacılar tarafından aside toleranslı ve alkali toleranslı, psikrotolerant, ısıya toleranslı, halotolerant, haloalkalitolerant veya kserofil gibi ekstremofilik aktinobakterilerle ilgili çalışmalar yapılmıştır (Anandan vd., 2016). Aktinobakteriler çeşitli koşullardaki ortamlarda yaşayabilmektedirler. Mezofilik aktinobakteriler, 20-42°C arasındaki optimal bir sıcaklıkta büyüeyen, 50°C'de hayatta kalabilen türlerden oluşur. Orta derecede termofilik aktinobakteriler, 45°C-55°C'de optimum bir büyüme sıcaklığına sahiptir (Jensen vd., 2005). Tam termofilik aktinobakteriler ise optimum sıcaklıkları 55°C-60°C olup 37°C-65°C'de büyüeyebilir (C. Jiang & Xu, 1993). Psikrofilik aktinobakteriler <10°C'de optimal bir sıcaklıkta büyüeyen, <0 ile 20°C hayatta kalabilen türlerden oluşur. Psikrotolerant aktinobakteriler ise 7-15°C'de en iyi şekilde büyür (Mohammadipanah & Dehghani, 2017). Asidik orman ve maden drenaj toprağı gibi karasal habitatlarda yaygın olan asidofilik aktinobakteriler, pH 4,5 ile 5,5'te optimum oranlarla yaklaşık 3,5 ile 6,5 pH aralığında büyüeyebilir. Deniz suyu, tuzlu topraklar, tuz gölleri, tuzlu sular gibi alkali tuzlu habitatlarda yaygın olan halofil aktinobakterilerden ekstrem halofiller en iyi 2,5-5,2 M tuz içeren ortamlarda ve orta dereceli halofiller en iyi 0,5-2,5 M tuz içeren ortamlarda gelişirken; halotolerant aktinobakteriler en az 1,7 M tuz içeren ortamları tolere edebilir (Anandan vd., 2016).

Şimdiye kadar dizilenen aktinobakteriyel genomlar, insan ve veterinerlik tıbbı, biyoteknoloji ve ekoloji ile ilgili organizmalara aittir ve gözlemlenen genomik heterojenliğin, bunların biyolojik çeşitliliğinin bir yansıması olduğu varsayılmaktadır. Aktinobakteriler çeşitli fenotipik, kemotaksonomik ve genotipik verileri bir araya getiren polifazik yaklaşım kullanılarak karakterize edilmektedir (Schleifer, 2009). Çoğu aktinobakteri, öncelikle morfolojilerine göre karakterize

edilir ve sınıflandırılır. Morfolojik özellikler, bir takson hakkında derinlemesine bilgi sağlayan en temel indekslerden biridir (Li vd., 2016).

2.2.1. Aktinobakterilerin Morfolojisi

Aktinobakterilerin morfolojik özellikleri, filogenetik sistematığının temel dayanağıdır. Yapısal olarak aktinobakteriler miselyumlardan oluşur ve bu miselyumlar yapıları işlev ve morfolojilerine bağlı olarak substrat miselyum ve hava miselyum olmak üzere ikiye ayrılır. Bazı aktinobakteriler, spor, spor zinciri, sporangia ve sporangiospor gibi karmaşık yapılar oluşturabilir. Bu yapıların incelenmesi ve kategorilendirilmesi mikroskop ile gözlemlenerek yapılır. Aktinobakteriler, çeşitli kültür ortamlarında farklı kültürel özelliklere sahiptir. Besiyeri ve çevresel diğer koşullara bağlı olarak renkli veya renksiz spor veya hava hifleri oluşturma, çözünür pigment üretme ve çeşitli sekonder metabolitleri üretebilme gibi özellikleri değişebilir. Bu değişimler, çevresel koşullara bağlı olarak ilgili genlerce yönetilir (Li vd., 2016).



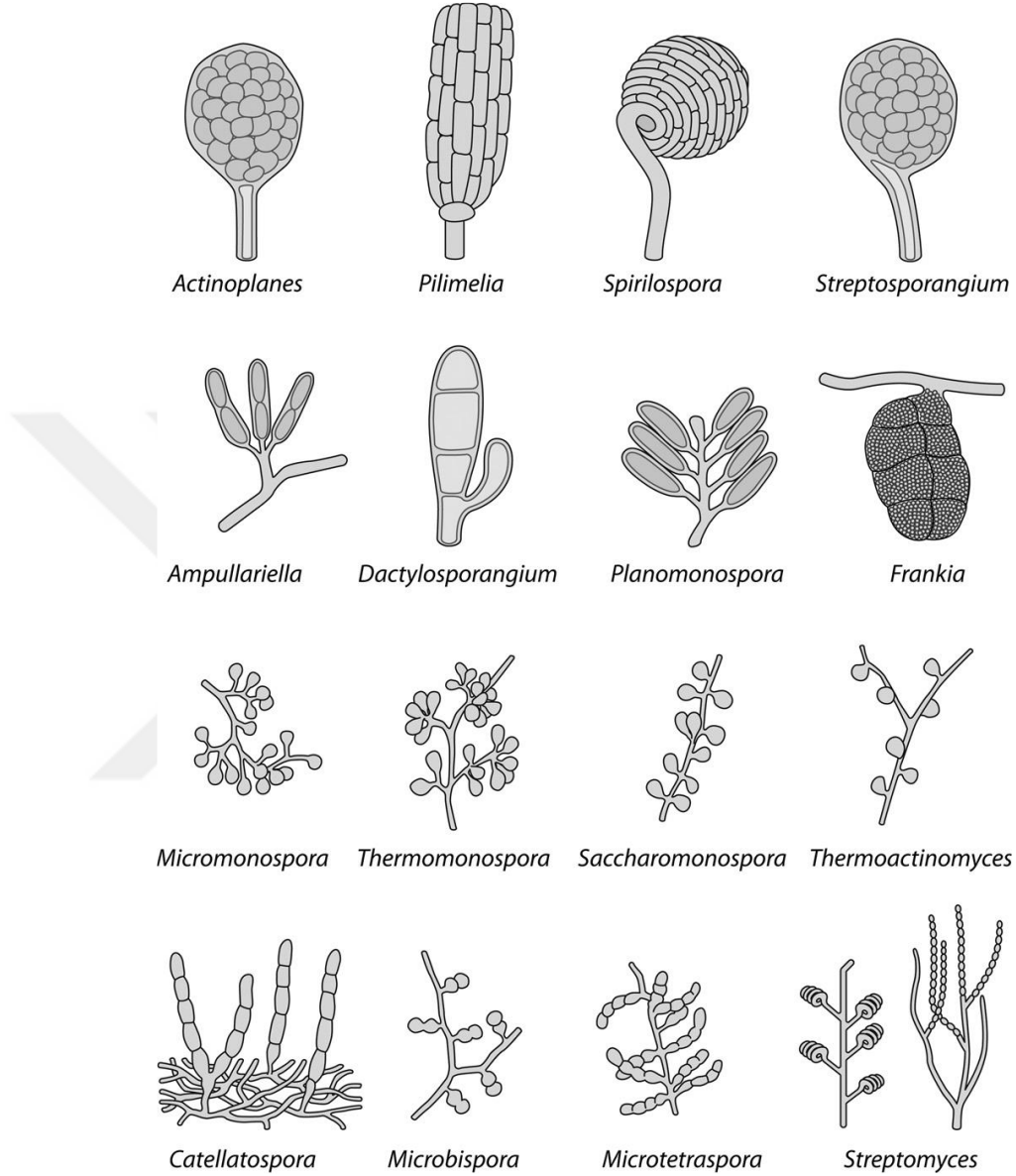
Şekil 2.8. Bazı aktinobakteriyel yapıların SEM mikroskopundaki görüntüleri: a. kok yapısı, b. çubuk yapısı, c. dallı hif yapısı, d. parçalı misel yapısı, e. dallanmış hava hifleri (Hamed & Poorinmohammad, 2017).

Aktinobakteriler hücre yapısı olarak tipik prokaryotlara benzerler ve funguslardan tamamen farklıdır. Morfolojik olarak aktinobakteriler, kok ve kok-çubuk dahil olmak üzere çok çeşitli yapılar sergileyebilir (Şekil 2.8). Ayrıca parçalanan hif formları ve oldukça farklılaşmış dallı misel içeren formlar sergiler ve flagellar yapılar oluşturabilir (Barka vd., 2016). Şekil olarak kompakt, sert ve genellikle besiyeri üzerinde kuru/mat bir yapıya sahiptir ve hava miselyumu ve

sporlarla kaplıdır (Klieneberger-Nobel, 1947). Aktinobakterilerin yapısındaki miselyumlardan substrat miselyumları, diğer adlarıyla vejetatif miselyum veya primer miselyum, kültür ortamının yüzeyinde gelişen çimlenmekte olan bir sporun büyümesinden gelişmiştir ve organizmanın kendisini temsil eder. Substrat miselyumunun temel görevi, aktinobakterilerin büyümesi için besin maddelerinin emilmesidir (Hazarika & Thakur, 2020a). Hava miselyumlarının gelişiminde ise substrat miselyum belirli bir aşamaya geldiğinde havaya karışır ve reproduktif sporları üreten bir hif geliştirir. Bu yapılar hava miselyumlarını oluşturur (Hamedi vd., 2017). Aktinobakteriyel spor zincirleri uzunluklarına ve spor sayılarına göre farklı morfolojik profiller sergileyebilir (Şekil 2.9). Bu yapılar iki sporlu yani di/bisporlu, birkaç sporlu yani oligosporlu ve birçok sporlu yani poli-sporlu olabilirler. Aktinobakterilerin spor zincirinin uzunluğu, şekli, konumu ve rengi sınıflandırma için önemli kriterlerdir (Li vd., 2016). Aktinobakterilerin filogenetik olarak farklı gruplarındaki birçok cinsi, sporangia içine alınmış sporlar oluşturur. Sporangium, sporların geliştirildiği ve salınana kadar bir arada tutulduğu, genellikle boş bir sporangial zarf bırakan çuval benzeri bir yapıdır. Sporangia hem boyut hem de şekil açısından önemli ölçüde değişir. Silindirik, klavatl, tübüler, şişe şekilli, çan şekilli parmaklı, düzensiz, loblu, umbelliform, piriform veya küresel olabilirler. Sporangia, substrat miselyumu veya hava miselyumundan oluşur (Hazarika ve Thakur, 2020a).

Substrat miselyumları beyaz, sarı, turuncu, kırmızı, yeşil, mavi, mor, kahverengi, siyah ve diğer renklere sahip olabilmekte ve bazı hifler suda çözünür veya yağda çözünür pigment üretebilmektedir. Suda çözünür pigmentler, besiyerine sızarak besiyerinin rengini değiştirebilmektedir. Suda çözünmeyen yani yağda çözünen pigmentler ise koloni renginin oluşmasını sağlar. Substrat miselyumlarının rengi ve çözünür pigmentlerin olup olmadığı yeni türlerin belirlenmesinde önemli kriterlerdir (Li vd., 2016). Aktinobakterilerin ürettiği pigment olarak genelde siyah veya koyu kahverengi görünen ve çeşitli moleküler yapılara sahip melanin bileşikler üretirler ve aktinobakteriler tarafından fenolik ve indolik bileşiklerin oksidatif polimerizasyonu ile oluşturulur. Kültür aktinobakterileri, kullanılan besiyerine, türüne ve yaşına bağlı olarak kırmızı, pembe, sarı, turuncu, kahverengimsi, yeşilimsi kahverengi, belirgin kahverengi, siyah, mor veya mavi olabilen pigmentler üretir. Bu

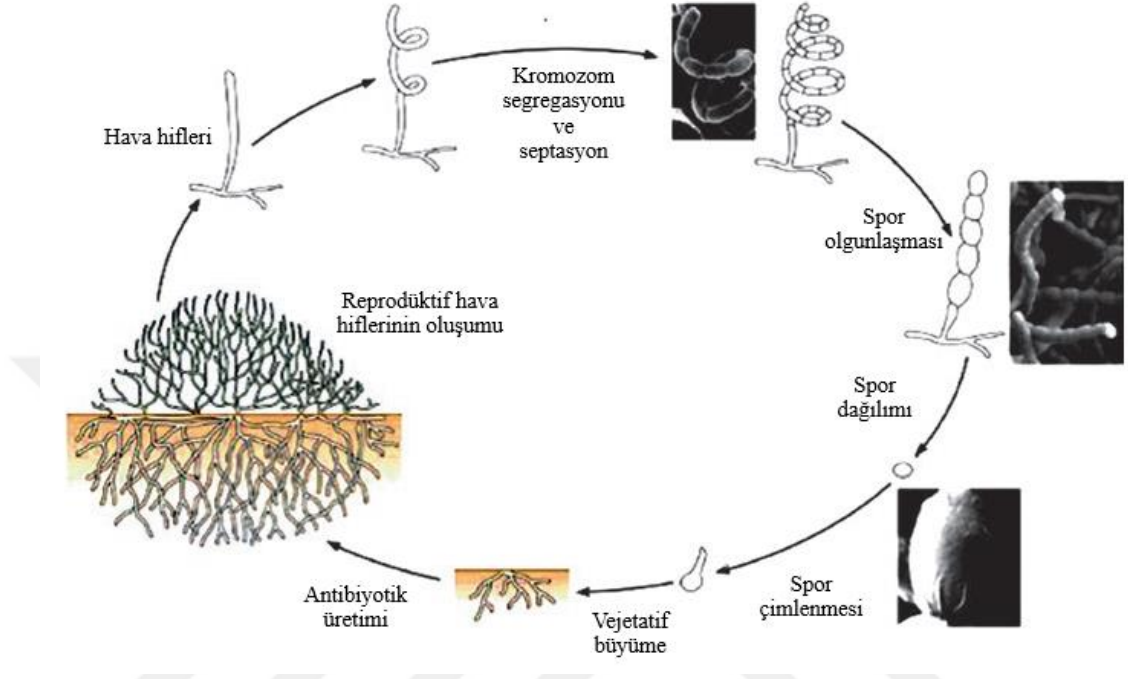
pigmentler ortam içinde çözülebilir veya miselyumda tutulabilir (Conn ve Conn, 1941).



Şekil 2.9. Farklı aktinobakteriyel cinslerine ait spor zincirlerinin şematik çizimleri (Barka vd., 2016).

Aktinobakteri grubu içerisinde özellikle sekonder metabolitlerin üretilmesindeki önemli rollerinden dolayı, yaşam döngüsü çalışmaları açısından en çok çalışılan aktinobakteri grubu *Streptomyces*'tir. *Streptomyces* sporu uygun besin ve çevresel koşullarda çimlenir ve uç uzamasıyla büyüyen hifler oluşturarak bir substrat miselyumu oluşturur (Şekil 2.10). Ancak besin eksikliği veya daha farklı stres faktörleriyle karşılaştığında, birçok morfolojik farklılaşma meydana gelir.

Örneğin, bazı stres koşulları altında hava hifleri oluşarak, kontrollü hücre bölünmesinin ardından spor öncesi zincirlere bölünür ve yaşam döngüsünü sürdürmek için olgun sporlar oluşur (Hamed vd., 2017).



Şekil 2.10. Sporlanan aktinobakterilerin hayat döngüsü (Mohammadipanah & Dehghani, 2017).

Bakteriler, çevresel stres ve elverişsiz koşullar altında hayatta kalma stratejileri olarak dirençli vejetatif olmayan hücreler oluşturdukları çeşitli farklılaşma süreçlerine sahiptir. Bu bakterilerde endospor, endosporlar kadar dayanıklı olan ancak hücrenin bir ucundan büyüyerek veya tomurcuklanarak dışarıda oluşan ekzosporeler, kistler, hücre dışı dinlenme durumundaki formlar ve konidia gibi farklı dirençli formları gözlenir. Endosporlar $>100^{\circ}\text{C}$ gibi yüksek sıcaklıklara dayanabilir; asitler, bazlar, alkol, kloroform gibi birçok kimyasal maddelere karşı dayanıklıdır. Ayrıca endosporlar, kurumaya ve sporun yüksek konsantrasyonda spesifik DNA koruyucu proteinler gibi doğal özelliklerinden dolayı radyasyona karşı ve sitoplazmanın dehidrasyonu ve endospor kılıfının geçirimsizliğine karşı son derece dirençlidir. Aktinobakteriler arasında *Arthrobacter* cinsi, şiddetli karbon ve enerji eksikliği gibi elverişsiz ortamlara tepki olarak aşırı derecede düşürülmüş metabolizmaya sahip kist benzeri dinlenme hücrelerini oluşturur. Genelde spor olarak adlandırılan aktinobakteriyel konidialar, uzun süre hayatta kalabilmelerine rağmen üreme sürecinin bir parçasıdır. Bu nedenle, konidialar hem replikasyon hem

de hayatta kalma ile ilgiliyken, kistler ve sporlar sadece hayatta kalma stratejileri içindir (Hamedî & Poorinmohammad, 2017).

2.2.2. Aktinobakterilerin Fenotipik, Kemotaksonomik ve Genomik Özellikleri

Geçmişten günümüze, canlılığın sınıflandırılması bilim insanları için önemli bir konu olmuştur. Bunun için filogenetik/sistemik adı verilen sınıflandırma sistemi oluşturulmuştur. Son birkaç on yıldır, filogenetik/sistemik, insanlar arasında kısa sürede güçlü bir yarar sağlamadığından dolayı belki de değerini kaybetmiş görünmekteydi. Ancak günümüzde, doğal kaynakların dikkatli kullanılması ihtiyacının farkına varılması, gıda ile tıp endüstrisinde gün geçtikçe artan gelişmeler ve yeni hesaplama ve moleküler tekniklerin keşfi, bilim insanlarını bu alanda yeni yöntemler geliştirmeye yöneltmiştir. Evrim teorisinin yeniden sentezi, biyoçeşitlilik ve bunların etkileşimlerinin anlaşılması, popülasyon biyolojisinin oluşumu ve biyoloji disiplinleri olarak genetiğin tümü sistemik çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Deneysel ve karşılaştırmalı yöntemler olmak üzere iki ana bilimsel metodoloji, sistematik temeli oluşturan iki ana yapıdır. Genel biyolojide amaç, tüm biyolojik süreçlerin araştırılmasıdır ve bu süreçlerin araştırılması için, süreci en iyi yansıtacak organizmalar kullanılır. Diğer yandan, karşılaştırmalı biyolojide amaç, organizmalar arası farklılıkların incelenmesi ve bu farklılıkların açıklanmasıdır. Karşılaştırmalı biyolojide süreçlerin, hangi organizmalar arasında ortak olduğu, nasıl köken aldığı ve mevcut zamandaki organizmalarda neden varlığını sürdürdüğü incelenir (Wiley & Lieberman, 2001).

Fenotipik ve Kemotaksonomik Yaklaşım

Morfolojik, fizyolojik, kemotaksonomik analizler, genomik analiz ve patojenite gibi çeşitli yöntemlerin kapsamlı sonuçları olan polifazik yaklaşım yeni bir türün tanımlanması için kullanılır. Aktinobakterilerin sınıflandırılması günümüzde büyük ölçüde nükleotit dizilerinin, özellikle 16S rRNA genlerinin analizine dayanmaktadır (Krieg & Padgett, 2011; Ludwig & Klenk, 2001; Vandamme vd., 1996). Prokaryotların sınıflandırılması, gelişen teknikler ve ulaşılabilirliklerine bağlı olarak günümüze kadar değişiklik göstererek gelmiştir. İlk sınıflandırma çalışmaları esas olarak mikrobiyal morfolojik özelliklere, büyüme gereksinimlerine, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere dayanan klasik veya geleneksel sınıflandırmalardır.

Ardından çok sayıda mikroorganizma arasında anlamlı ilişkiler türetmek için büyük hacimli fenotipik verileri analiz eden sayısal taksonomi, bilgisayar programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sınıflandırma için önemli yaklaşım olan kemotaksonomik yöntemler, aktinobakterilerdeki amino asitler, yağ asitleri, polar lipidler, şekerler, mikolik asit ve enzimler gibi kimyasal varyasyonları da sınıflandırmada göz önüne almaya başlamıştır (Başbüyük ve Çıplak, 1997; Wiley ve Lieberman, 2001).

Fizyolojik ve biyokimyasal özellikler, mikrobiyal enzimlerin ve düzenleyici proteinlerin aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir. Enzimler ve proteinler gen ürünleridir; dolayısıyla aktinobakterilerin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması, genomun dolaylı olarak karşılaştırılmasına olanak vermektedir. Bu nedenle, aktinobakteriyel sistematikteki fizyolojik ve biyokimyasal özellikler göz önüne alınarak tanımlama hala anlamlıdır. Fenotipik testler, test ortamında ve aynı standart koşullar altında gerçekleştirilmelidir. Bunun nedeni fenotipik testlerin sonuçlarının metodolojiye göre yani organizma üzerindeki çevre koşullarının değişimine bağlı olarak değişebilmesidir (Li vd., 2016a; Xu vd., 2007).

Fenotipik analiz, aktinobakterilerin sınıflandırılmasında morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri içerir. Morfolojik özellikler hem hücre şekli ve boyutu, spor, sporangia, sporların veya sporangianın konumu ve boyutları, flagella, motilite, hücre içi yapılar, vb. gibi hücresel; hem de şekil, biçim, boyut ve renk gibi koloni karakterlerini içerir. Fizyolojik ve biyokimyasal özellikler, farklı sıcaklıklarda büyüme, pH değerleri, tuz konsantrasyonları, atmosferik koşullar (aerobik/anaerobik), bileşiklerin metabolize edilmesi, antimikrobiyal ajanlar gibi çeşitli maddelerin varlığında büyüme ve çeşitli enzimlerin varlığı veya aktivitesi hakkındaki verileri içerir (Amann ve Rossello, 2001; Sutcliffe vd., 2012; Tindall vd., 2010).

Kemotaksonomik analizler, mikrobiyal hücredeki kimyasal varyasyonun incelenmesi ve aktinobakteriler dahil bakterilerin sınıflandırılmasında ve tanımlanmasında kimyasal özelliklerin kullanılmasıdır. Günümüzde kemotaksonomi, bakterilerin modern sınıflandırmasında temel bir araçtır ve tür, cins ve daha yüksek takson seviyesine uygulanması için polifazik bir yaklaşım olarak kullanılmaktadır (Busse vd., 1996; Murray vd., 1990; Xu vd., 2007). Aktinobakterilerin kemotaksonomisi diaminopimelik asit, amino asit, şeker, polar lipidler,

menakinonlar, mikolik asit ve yağ asidi gibi aktinobakteri hücre zarının ve peptidoglikan, teikoik asitler, mikolik asitler gibi dış hücre katmanlarındaki sitoplazmik bileşenlerinin spesifik kimyasallarının ekstraksiyon, fraksiyonlama, saflaştırma ve çözündürme dahil olmak üzere kimyasal teknikler kullanılarak dağılımı ile ilgilidir (Gökdemir ve Aras, 2019; Wang ve Jiang, 2016)

Aktinobakterilerin hücre duvarı, 20-80 nm kalınlığında tek bir homojen peptidoglikandan ve peptidoglikana doğrudan ya da birbirine kovalent olarak bağlı olan lipidler, teikoik asitler ve asidik polisakkaritler ve proteinler gibi diğer makromoleküllerden oluşur. Peptidoglikan yapısal olarak çapraz bağlı peptit bağlarından oluşan glisin ipliklerinin çok kararlı bir polimeridir. Yapısında β 1-4 bağlantılı disakkaritler, N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit ve birkaç farklı amino asit içerir. Bu polimerin omurgası, değişen N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit birimlerinden ve β -1,4 glikozidik bağlı disakkaritlerden oluşur. (Gökdemir & Aras, 2019; Mohammadipanah & Dehhaghi, 2017; Rahlwes vd., 2019; Wang & Jiang, 2016)

Diaminopimelik asitler hücre duvarında 3. pozisyonda bulunur. Yapısal olarak LL-DAP, mezo-DAP ve OH-DAP olmak üzere üç çeşit formları vardır ve kimyasal yapılarına göre α - ve ϵ - olarak adlandırılırlar. Aktinobakteriler diaminopimelik asit tipine, varlığı veya yokluğuna bağlı olarak farklı gruplara ayrılırlar (Wang & Jiang, 2016). Sporlanma sırasında hücre duvarı kompozisyonları değişirken, sporlarda sadece mezo-DAP bulunabilir (Takahashi vd., 1984). Hücre duvarı polisakkaritleri açısından şekerler, aktinobakterilerde diaminopimelik asit varlığında i. şekersiz, ii. arabinoz, ksiloz, iii. maduroz, iv. arabinoz, galaktoz ve v. ornitin olmak üzere beş profile ayrılmıştır. Tipik olarak ksiloz, galaktoz ve arabinoz diagnostik şekerler iken, *Streptomyces* üyelerinde tipik olarak mannoz, riboz ve glikoz küçük miktarlarda kaydedilmiştir (Dworkin vd., 2005).

Tablo 2.3. Aktinobakterilerdeki çeşitli hücre duvarı komponentleri (Barka vd., 2016).

Hücre duvarı kemotipi	Hücre duvarı ana komponentleri	Cins
I	LL-DAP, glisin, şeker yok	<i>Arachnia</i> , <i>Nocardioides</i> , <i>Pimelobacter</i> , <i>Streptomyces</i>
II	meso-DAP, glisin, arabinoz, ksiloz	<i>Actinomyces</i> , <i>Actinoplanes</i> , <i>Ampulariella</i> , <i>Catellatosporia</i> , <i>Dactylosporangium</i> , <i>Glycomyces</i> , <i>Micromonospora</i> , <i>Pilimelia</i> , <i>Actinocorallia</i> , <i>Actinomadura</i> , <i>Dermatophylus</i> , <i>Frankia</i> , <i>Geodermatophilus</i> , <i>Kitasatospora</i> , <i>Maduromyces</i> , <i>Microbispora</i> , <i>Microtetraspora</i> , <i>Nonomuraea</i> , <i>Planobispora</i> , <i>Planomonospora</i> , <i>Planotetraspora</i> , bazı <i>Frankia</i> spp., <i>Spirillospora</i> , <i>Streptosporangium</i> , <i>Thermoactinomyces</i> , <i>Thermomonospora</i>
III	meso-DAP, maduroz	
IV	meso-DAP, arabinoz, galaktoz	<i>Micropolyspora</i> , <i>Nocardioformis</i>
V	DAP yok, lizin ve ornitin	<i>Actinomyces</i>
VI	DAP yok, değişken olarak galaktoz	<i>Arcanobacterium</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Oerskovia</i> , <i>Promicromonospora</i>
VII	DAP yok, diaminobütirik asit, glisin, değişken olarak lizin	<i>Agromyces</i> , <i>Clavibacter</i>
VIII	DAP yok, ornitin	<i>Aureobacterium</i> , <i>Curtobacterium</i> , <i>Cellulomonas</i>

Respiratuar izoprenoid kinonlar, elektron taşıma zincirinde önemli bir rol oynadıkları mitokondriyal zarın ve bakteriyel sitoplazmik zarın solunum bileşenleridir. Bakterilerde ubikinonlar, menakinonlar ve bunların türevleri olan dihidromenakinon, demetilmenakinon ve rhodokinon gibi farklı formları vardır ve izoprenoid yan zincirinin uzunluğuna ve doymuş izoprenoidin sayısına göre tür ayrımı yapmak mümkündür (Rahlwes vd., 2019; Wang & Jiang, 2016). Bunlardan menakinonlar, aktinobakterilerde bulunan tek izoprenoid kinon türüdür. Çoğu aktinobakterilerde, naftokinon halkasının 3. pozisyonunda doymuş izoprenoid yan zincire sahip kinonlara sahiptir (Mohammadipanah & Dehghani, 2017). Tablo 2.4'te aktinobakterilerdeki bazı baskın menakinonlar gösterilmiştir.

Tablo 2.4. Aktinobakterilerdeki çeşitli baskın menakinon aileleri (M. Goodfellow, 2012)

Familya	Menakinonlar
<i>Acidimicrobiaceae</i>	MK-9(H8), MK-10(H10), MK-(H8)
<i>Actinomycetaceae</i>	MK-9, MK-10(H4), MK-9(H4), MK-8
<i>Actinopolysporaceae</i>	MK-9(H4)
<i>Beutenbergiaceae</i>	MK-8(H4)
<i>Actinospicaceae</i>	MK-9(H6), MK-9(H4), MK-9(H8)
<i>Cellulomonadaceae</i>	MK-9(H4), MK10(H4)
<i>Conexibacteraceae</i>	MK-7 veya türevleri
<i>Patulibacteraceae</i>	MK-7 veya türevleri
<i>Solirubrobacteraceae</i>	MK-7 veya türevleri
<i>Coriobacteriaceae</i>	DMMK-6, MK-6
<i>Corynebacteriaceae</i>	MK-8(H2), MK-9(H2)
<i>Cryptosporangiaceae</i>	MK-9(H6)
<i>Dermabacteraceae</i>	MK 7, MK8 or MK9
<i>Dermatophilaceae</i>	MK-8(H4)
<i>Dietziaceae</i>	MK-8(H2)
<i>Gaiellaceae</i>	MK-7
<i>Geodermatophilaceae</i>	MK-9(H4)
<i>Iamiaceae</i>	MK-9(H4) veya MK-9(H8)
<i>Intrasporangiaceae</i>	MK-8(H4)
<i>Jonesiaceae</i>	MK-9
<i>Ruaniaceae</i>	MK-8(H4)
<i>Bogoriellaceae</i>	MK-8(H4)
<i>Kineosporiaceae</i>	MK-9(H4); MK-9(H2) veya MK-8(H2)
<i>Micrococcaceae</i>	MK-7, MK-8, MK-9, MK-10
<i>Micromonosporaceae</i>	MK-9, MK-10
<i>Mycobacteriaceae</i>	MK-9(H2)
<i>Nakamurellaceae</i>	MK-8(H4)
<i>Nocardiaceae</i>	MK-8(H4) cyclo, MK-9(H2), MK-8(H2)
<i>Nocardioidaceae</i>	MK-10(H8)
<i>Nocardiopsaceae</i>	MK-9(H4)
<i>Promicromonosporaceae</i>	MK-9(H4)
<i>Propionibacteriaceae</i>	MK-9(H4)
<i>Pseudonocardiaceae</i>	MK-9(H4)
<i>Rubrobacteraceae</i>	MK-8
<i>Sanguibacteraceae</i>	MK-9(H4)
<i>Rarobacteraceae</i>	MK-9
<i>Segniliparaceae</i>	MK-8(H2), MK-8(H4)
<i>Sporichthyaceae</i>	MK-9(H6), MK-9(H8)
<i>Streptomyetaceae</i>	MK-9(H6), MK-9(H8)
<i>Streptosporangiaceae</i>	MK-9(H2), MK-9(H4), MK-9(H6)
<i>Thermoleophilaceae</i>	MK-7(H4)
<i>Tsukamurellaceae</i>	MK-9

Mikolik asitler genellikle α -alkil yan zincirlerinden ve β -oksi bazik zincirlerden oluşur ve 20 ile 90 atom arasında değişen uzun hidrokarbon zinciri yapısına sahiptir. Karbon zincirlerinin sayısı taksonlar arasındaki ayrımı sağlar. *Mycobacterium*, *Gordonia*, *Nocardia* ve *Rhodococcus* gibi aktinobakterilerde bulunan mikolik asitler, lipidden zengin hücre duvarları arasında yer alır ve asitlere karşı direnç sağlarlar. *Mycobacterium tuberculosis* suşları alfa-, metoksi- ve keto- olmak üzere üç temel tip mikolik asit üretir. Alfa-mikolik asit hücredeki tüm mikolik asitlerin %70'ini oluştururken, keto- ve metoksi-mikolik asitler hücredeki mikolik asitlerin sadece %10-15'ini oluşturur. Mikolik asitler bakterilerin kimyasal değişikliklere, dehidrasyona ve patojenlere karşı direncinin artmasını ve bakterilerin kolay üremesini sağlar. Bu özelliklerinden dolayı mikolik asitler hidrofobik antibiyotiklerle bağlantılıdır (Gökdemir ve Aras, 2019; Kanetsuna vd., 1969).

Spesifik zar proteinleri ile ilişkili amfipatik polar lipidler, bakteriyel plazma zarlarının önemli bileşenleridir. Polar lipidler genellikle iki hidrofobik yağ asidi zincirine bağlı hidrofilik baş gruplarından oluşur ve aktinobakterilerde beş çeşit fosfolipit tipi tanımlanmıştır. Fosfolipitler, fosfatidigliserol, difosfatidigliserol, fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, fosfatidiliozitol ve diğer fosfatidilgliserol lipidler aktinobakterilerdeki en yaygın polar lipidlerdir (Lechevalier vd., 1971; Lechevalier vd., 1977).

Tablo 2.5. Aktinobakterilerdeki çeşitli fosfolipit tipleri (Lechevalier vd., 1977).

Fosfolipid Tipi	Karakteristik Fosfolipit	Cins
P I	Azotlu fosfolipit yok	<i>Actinomadura</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Microtetraspora</i> , <i>Nocardioides</i> <i>Actinoplanes</i> , <i>Chania</i> , <i>Dactylosporangium</i> , <i>Microellobosporia</i> , <i>Micromonospora</i> , <i>Micropolyspora</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Streptomyces</i>
P II	Sadece bir azotlu fosfolipit fosfatidiletanolamin	<i>Actinomadura</i> , <i>Micropolyspora</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Pseudonocardia</i>
P III	Fosfatidilkolin ve karakteristik fosfolipit	<i>Intrasporangium</i> , <i>Microbispora</i> , <i>Streptosporangium</i>
P VI	Glukozamin içeren fosfolipitler	
P V	Fosfatidigliserol ve glukozamin içeren fosfolipitler	<i>Oerskovia</i> , <i>Promicromonospora</i>

Yağ asitleri, aktinobakteriler gibi Gram-pozitif bakterilerin dış zarının lipopolisakkaritlerinde bulunur ve 8 ile 20 karbon atomuna sahip basit yapılardan oluşur. Taksonlar arasındaki ayrım, karbon zinciri uzunluğunun değişimi, doymuş ve doymamış yağ asitlerinin varlığı, izo-, anteizo- ve metil gruplu yağ asitlerinin oluşumu, siklo 17:0, siklo 19:0 gibi siklo- yağ asidi oluşumu, ve molekülün 2 veya 3 pozisyonunda bir OH-grubu ile hidroksil-yağ asidinin oluşumuna bağlı olarak yapılır. Genel olarak, farklı bakteriler farklı yağ asitlerine sahip olabilir. Bazı yağ asitleri sınırlı bir dağılıma sahiptir ve belirli gruplar için tanısal olabilmektedir (Wang ve Jiang, 2016). Tablo 2.6'da aktinobakterilerdeki çeşitli yağ asidi profilleri gösterilmiştir.

Tablo 2.6. Aktinobakterilerdeki çeşitli yağ asidi profilleri (Mohammadipanah & Dehghani, 2017).

Yağ Asidi	Tipi	1a	1b	1c	2a	2b	2c	2d	3a	3b	3c	3d	3e	3f	3g
<i>iso</i> -15		-	-	-	1	4 ^a	2	3	-	4 ^a	2	1	2	2	2
<i>anteiso</i> -15:0		-	-	-	-	2	3	2	-	1	1	1	-	1	1
<i>iso</i> -16:0		-	-	-	3 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	2 ^a	2 ^a	3 ^a	3 ^a	4 ^a	4 ^a	4 ^a
16:0		3 ^a	3 ^a	3 ^a	2	1	1	2	3	-	1	1	1	1	1
10-Metil 16:0		-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
<i>iso</i> -17:0		-	-	-	1 ^a	3 ^a	1 ^a	2 ^a	1	2	1	1	1	1	1
<i>anteiso</i> -17:0		-	-	-	1 ^a	1 ^a	2 ^a	2 ^a	-	2	1	3 ^a	1	1	2
17:0		-	-	-	1	-	-	1	1	1	2	1	-	2	1
17:1		-	-	-	1	-	-	-	1 ^a	2 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a
10-Metil 17:0		-	1	-	-	-	-	-	1 ^a	1 ^a	2 ^a	2 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a
<i>iso</i> -18:0		-	-	-	1	-	-	1 ^a	1	-	1	1	-	-	-
18:0		1 ^a	1 ^a	1 ^a	-	-	-	1 ^a	1	-	1	1	-	-	-
18:1		3 ^a	3 ^a	2 ^a	-	-	-	2 ^a	2 ^a	1	-	2 ^a	-	-	-
10-Metil 18:0		-	3 ^a	-	-	-	-	-	2 ^a	-	-	2 ^a	-	-	-
OH2		-	-	-	2 ^a	-	v	-	-	-	2 ^a	-	-	1 ^a	1 ^a
cyclo 19		-	-	2 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: 1–5%, 2: 5–15%, 3: 15–25%, 4: > 25%, v = genelde 2% altında, değişebilir, ^a: diagnostik yağ asitleri

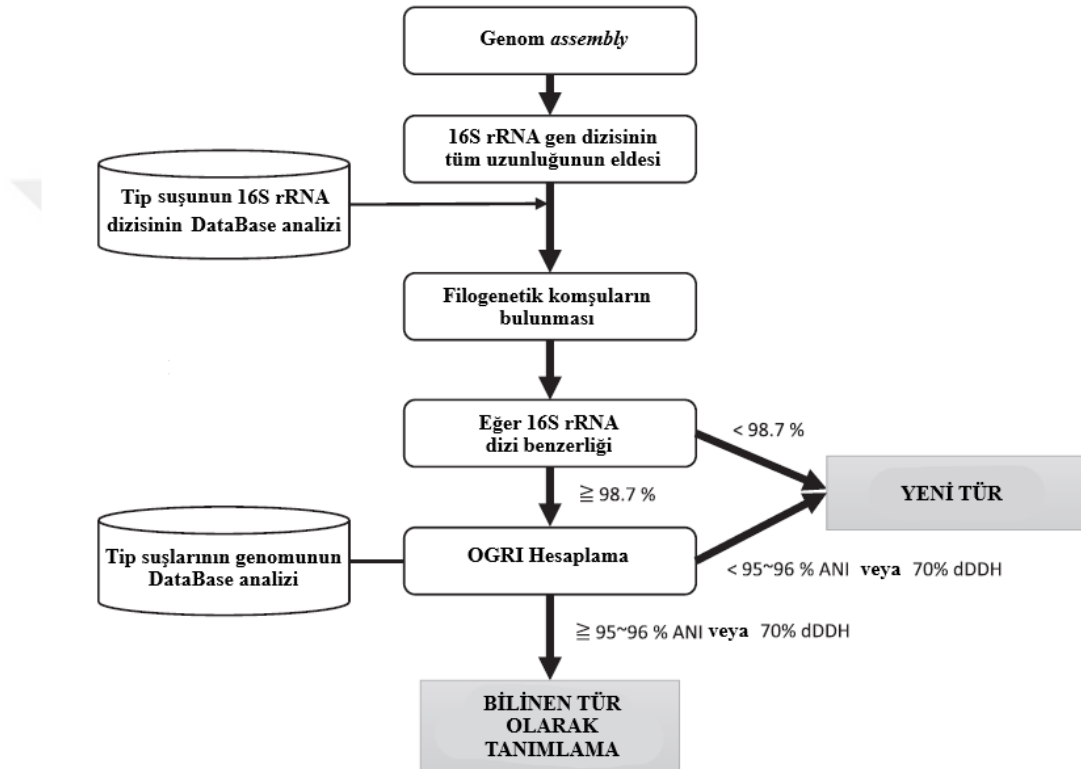
Genomik Yaklaşım

Günümüzde, tür ayrımının en temel tekniklerinden, homolog makromoleküllerin, özellikle rRNA'nın karşılaştırmalı dizi analizleri ve DNA-DNA hibridizasyonu (DDH)'na bağlı genetik akrabalığa dayalı genotipik sınıflandırmalar ön plana çıkmıştır (Başbüyük vd., 2016). Ayrıca son yıllarda, aktinobakterilerin sınıflandırılmasında multilokus dizi analizleri (MLSA) (Maiden, 2006), ortalama nükleotid kimliği (ANI) (Yoon vd., 2017) ve tüm genom analizi en önemli genomik

karakterizasyonu oluşturmuştur. Takson analizinde karşılaştırma amaçlı kullanılan referans dizilerin en önemli özelliği, organizmalarda yapı ve fonksiyon açasından korunmuş durumda olmasıdır. Diğer yandan kullanılacak dizi, ata-soy ilişkisini yansıtabilmek adına yatay gen transferiyle aktarılmamalıdır ve sadece dikey gen transferiyle aktarılmalıdır. Bahsedilen bu tür diziler belirteç dizilerdir. Tüm genler veya makromoleküller uygun filogenetik belirteçler değildir ve tüm belirteç molekülleri belirli bir organizma grubunun analizi için kullanmak doğru değildir. Bu bakımdan 16S rRNA dizisi, filogenetik ilişkiyi incelemek için en iyi belirteç olarak kabul edilir; çünkü evrenseldir ve yüksek oranda korunmuş ve yakın türler arasında bile değişebilen değişken bölgelerden oluşur. 16S rRNA dizilerinin yanı sıra sitokromlar gibi mitokondriyal genler ve yukarıdaki kriterlere uygun *housekeeping* özellikteki genler de filogenetikte kullanılabilir (Başbüyük vd., 2016; Sarıçam & Müştak, 2015). 16S rRNA dizileri dışında AtpD, TrpB, RecA, DnaK, GrpE, GyrB, GroEL, YchF, RelA, RpoB ve SecY genleri *Frankia*, *Kribbella*, *Bifidobacterium*, *Mycobacterium* ve *Streptomyces* gibi bazı aktinobakteri grupları arasındaki takson karşılaştırılmasında da kullanılmaktadır. Bu alternatif genlerin bazılarının kullanılması multilokus dizi analizleri (MLSA)'nin temelini oluşturmaktadır (Adékambi vd., 2011; Bernèche-D'Amours vd., 2011; Curtis & Meyers, 2012; Devulder vd., 2005; Guo vd., 2008; Kirby vd., 2010; David P. Labeda, 2011; Leblond-Bourget vd., 1996; Shivannavar vd., 1996).

Filogenetik açından, yeni türlerin analizinde 16S rRNA önemli yer tutarken, her zaman doğru bir filogenetik ilişkiyi yansıtmaz; ancak ilk analizde cins düzeyinde muhtemel akraba ilişkilerinin saptanmasını sağlar. 16S rRNA canlılar arasında evrensel olduğundan dolayı doğru olabilecek filogenetik ağaçları verir. Ancak nihayetinde rRNA tek bir kriterdir ve tek bir kritere göre tüm bir organizmanın karşılaştırılması doğru olmayabilir. Bu bağlamda, genomik, prokaryotlar arasındaki filogenetik ilişkileri ortaya çıkarmak için tekrarlanabilir, güvenilir, oldukça bilgilendirici bir araç sağlayan önemli bir metodolojidir. Prokaryot taksonomisinde DNA-DNA hibridizasyonu (DDH) 'altın standart' olarak kabul edilen yöntemlerden biridir. Burada çalışılan organizmanın genomu, referans organizmanın genomuyla karşılaştırılır. Bu genomik karşılaştırma 30, 40 veya daha fazla moleküler belirtecin karşılaştırmasını sağlayarak, organizmanın filogenetik ilişkileri açasından çok daha güvenilir bilgiler sunar. Türleri ayırt etmek için DDH'nin yerini alacak bir

biyoinformatik yöntem geliştirmeye yönelik bir dizi çalışma gerçekleşmiştir. DDH değeri iki genom arasındaki ilişkiyi veya benzerliği yansıttığından, bilim insanları DDH değerlerine benzer değerler geliştirmeye odaklandı. Bu değerler, benzerlik veya uzaklık biçimleri olarak, genel genomla ilgili indeks (OGRI) olarak türetilmiştir. OGRI, iki genom dizisinin ne kadar benzer olduğunu gösteren herhangi bir ölçümü temsil eder. Günümüzde ortalama nükleotid kimliği (ANI) ve dijital DDH (dDDH) en yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir (Jongsik Chun vd., 2018).



Şekil 2.11. Türlerin belirlenmesinde genom tabanlı analizlerin basamakları (Jongsik Chun vd., 2018).

Burada bir türün yeni bir tür olarak ifade edilmesinde, 16S rRNA, ANI ve dDDH benzerlik değerleri için önerilen ve genel olarak kabul edilen benzerlik değeri sırasıyla ~%98,7 (Jongsik Chun vd., 2007), %95~96 (Richter & Rosselló-Móra, 2009) ve %70'dir (Auch vd., 2010; Goris vd., 2007). Eğer benzerlik oranları bu değerlerin altındaysa çalışılan tür, yeni bir tür olarak kabul edilir. Eğer benzerlik oranları bu değerlerin üstünde ise bilinen bir tür olarak tanımlanır. Ayrıca dDDH benzerlik değerleri 70–79% olan organizmalar aynı türe düşmekte ve aynı tür içerisindeki alt türler olarak kategorize edilmektedir (Choo vd., 2020; Meier-Kolthoff vd., 2014; Thorell vd., 2019). Ancak bu durumların tümü diğer polifazik süreçlerce

desteklenerek kabul edilir. Bakteriyolojide tür tanımının yeniden değerlendirilmesi için özel komite raporlarında, türlerin tanımlanması için DNA±DNA hibridizasyon değerlerinin tekrarlanabilirlik, işlenebilirlik ve katı uygulaması ile ilgili bazı dezavantajlara rağmen, mevcut sistemin sağlam olduğu sonucuna varılmış ve şu an için DNA± DNA hibridizasyon benzerliği türlerin tanımlanması için kabul edilmiş standart olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, diğer genomik yöntemleri veya teknikleri kullanarak yeni türler önermeye teşvik edilmektedir. Ancak buradaki kriter, diğer genomik yöntemler veya tekniklerin kullanımından elde edilen ilişki değerlerinin dDDH sonuçlarıyla uyum göstermesidir. Komiteye göre tür kavramı, birçok bağımsız özellikte yüksek derecede benzerlik paylaşan, yüksek derecede standartlaştırılmış koşullar altında karşılaştırmalı olarak test edilen, genomik olarak izole edilen tutarlı bir bireysel suş grubudur. Burada türler, hali hazırda mevcut yöntemlerle (fenotipik, genomik) tanımlanabilir olmalıdır. Fenotipik ve genomik verileri raporlamak için standartlaştırılmış yöntemler oluşturmak için çaba gösterilmelidir (Stackebrandt vd., 2002).

Genom Analizleri

Aktinobakteriler, topraktaki karmaşık organik maddenin geri dönüştürülmesinde önemli bir rol oynayan ve her yerde bulunan önemli bir bakteri grubudur. Aktinobakterilerdeki biyosentetik çeşitlilik muazzamdır ve birçok biyoteknolojik uygulamaya sahip çeşitli metabolitlerin çok yönlü üreticileri oldukları için araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmektedirler (Lee vd., 2020). Aktinobakteriler, biyosentetik gen kümeleri (BGC) tarafından kodlanan multi-enzim katalitik yolları sayesinde metabolitler üretir. Biyotik ve abiyotik stresler, bu gen kümelerinin gelişen doğal ortamlarındaki ifadesini sıkı bir şekilde düzenler. Bu nedenle, laboratuvarların kontrollü stres ortamlarında az çeşitte metabolit üretilmektedir (Singh vd., 2021). Bugün aktinobakteriler klinik kullanımda olan toplam antibiyotiklerin üçte ikisinin üretiminden sorumludurlar (Bergeijk & Wezel, 2020; Takahashi & Nakashima, 2018).

Bugüne kadar keşfedilen aktinobakterilerden elde edilen biyoaktif bileşiklerin çoğu *Streptomyces* türlerine aittir. Kateşin, kaempferol, chebulagic asit, klorojenik asit, asiatik asit, ferulik asit, arjunik asit, gallik asit ve boswellik asit gibi bazı fenolik bileşikler ve bir antikanser bileşik olan paklitaksel gibi birçok sekonder metabolit *Streptomyces* türlerinde tespit edilmiştir (Passari vd., 2017). Onlarca yıldır

aktinobakterilerin, şu anda klinik kullanımda olan antibiyotikleri türetmek için yeni doğal metabolitleri (NP'ler) yoğun bir şekilde kullanılmıştır (Genilloud, 2018). Farklı habitatlardan izole edilen, non-streptomyces kategorisindeki nadir aktinobakteriler, yeni biyoaktif bileşiklerin keşfi için etkinliğe sahiptir. Dolayısıyla aktinobakteriyel genomları incelemek ve keşfedilmemiş özellikteki genlere sahip nadir aktinobakterileri kullanmak, sürekli artan yeni antibiyotik ihtiyaına bir cevap olabilir (Ward & Allenby, 2018). Bu bağlamda genom madenciliği (*genome mining*) araçları, araştırmacıların aktinobakterilerden üretilen birçok sekonder metabolit bileşiklerinin biyosentetik gen kümeleri (BGC) belirlemelerine yardımcı olabilir (Lee vd., 2020).

Son on yılda, yeni nesil dizileme (NGS) teknikleri sayesinde çok sayıda aktinobakteri genomu dizilenmiş ve farklı araştırmacılar tarafından NCBI gibi veri tabanlarına gönderilmiştir (Singh vd., 2021). Günümüzde genomik veri kümeleri, binlerce aktinobakteri için genetik bilgi içeren büyük suş koleksiyonları, pangenomlar ve metagenomlarla giderek daha büyük hale gelmiştir (Bergeijk & Wezel, 2020). Böylece araştırmacılar başarılı bir şekilde genom madenciliği yapmaya başlamış ve bu mevcut veri tabanlarına dayalı olarak mevcut genetik verilerden potansiyel metabolitleri izole etmişlerdir. Son on yılda, aktinobakteriyel genomlardaki BGC'lerin tanımlanmasını otomatikleştiren ve bir dereceye kadar ürünlerinin yapılarının tahmin edilmesini kolaylaştıran antiSMASH (Blin vd., 2019), PRISM (Skinnider vd., 2017), ClustScan (Starcevic vd., 2008) ve CLUSEAN (Weber vd., 2009) gibi biyoinformatik araçlar, araştırmacıların genom madenciliği deneyiminde devrim yaratmıştır (Singh vd., 2021). Günümüzdeki genom dizilemedi ilerleyişimize rağmen, dizi sonuçlarının kalitesi her zaman iyi olmayabilir. Dolayısıyla eksik olabilecek çeşitli dizilerdeki BGC'leri incelemek için, tahmin edilen BGC'leri bilinen işleve sahip gen kümeleriyle otomatik olarak ilişkilendirmek ve onları gen kümesi ailelerinde (GCFs) gruptandırmak için dizi benzerliği aę oluştırma yaklaşımları geliştirilmiştir. GCF yelerinin oldukça benzer molekülleri üreteceği tahmin edilmiştir. Araştırmacılar yakın zamanda BGC benzerlik ağı için basitleştirilmiş hesaplama çerçevelerini kullanarak 3.080 aktinobakteriyel genom üzerinde çalışmışlar ve bunların yaklaşık ~18.000 farklı GCF içerdiklerini keşfetmişlerdir. Keşfedilen bu grupların büyük çoğunluğunun bilinen hiçbir ürünü bulunmuyordu (Navarro-Muñoz vd., 2020). Bu geniş çaplı keşif potansiyelinin en

büyük zorluğunu ise bilinen hiçbir işlevin veya kimyanın bağlanamadığı GCF'lerin sayısının çok fazla olması ve bunlara ait BGC'lerden hangisinin farmasötik açıdan potansiyel yeni moleküllerin üretimini kodladığının tahmin edilmesinin zorluğudur (Van Bergeijk vd., 2020).

Günümüzdeki antiSMASH gibi biyoinformatik araçlar kullanıcı tarafından gönderilen genomları mevcut BCG veri tabanı ile verimli bir şekilde karşılaştırabilmekte ve tahmin edebilmektedir. Yapısal tahmin için kullanılan yöntemlerde, metabolit yapısının omurgasını geliştirmek için biyosentetik gen yolağı modüllerinin katalitik alanının substrat özgüllüğünün dikkate alınmasını içeren belirli temel kurallar bulunur. Tahmin doğruluğu tamamen algoritmaya ve mevcut veri tabanlarına bağlıdır. Şu anda, veri tabanı sınırlı sayıda deneysel olarak doğrulanmış gen içermektedir. Hatalı gen anotasyonları, genom madenciliğinin doğruluğunu sektöre uğratarak, biyosentetik gen kümelerinin görevleri hakkında yanlış bilgilerin yayılmasına neden olmaktadır (Salzberg, 2019).

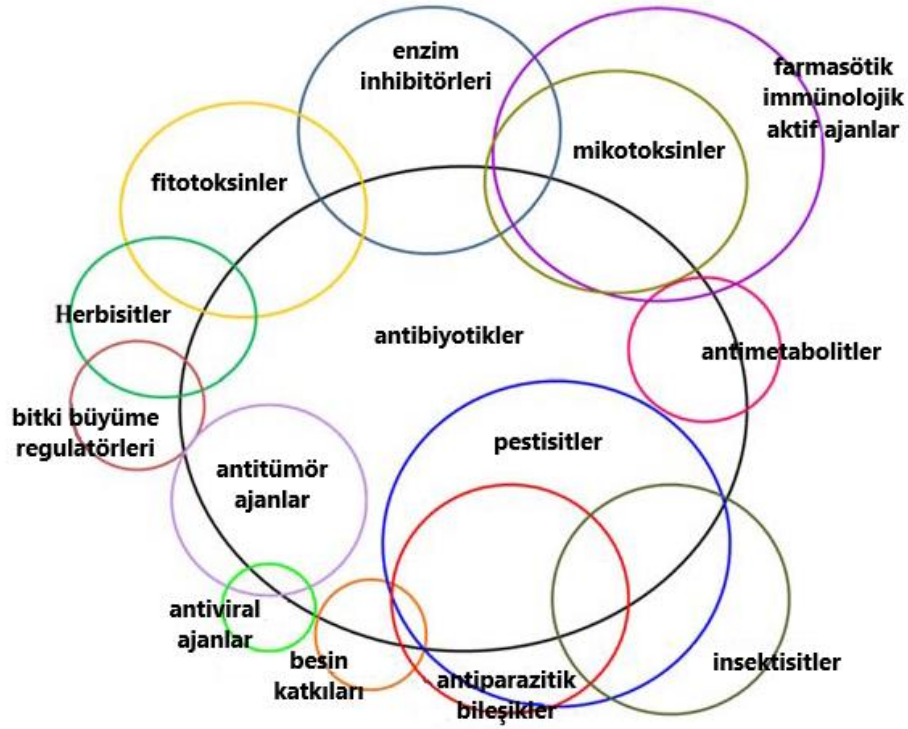
BGC'lerin işlevlerini tahmin etmek için diğer biyoinformatik araç olan 'Antibiotic Resistance Target Seeker (ARTS)' (Alanjary vd., 2017), direnç genleriyle kollokalizasyona dayalı olarak BGC'leri inceler. Bunun ardındaki mantık, bakterilerin kendilerini, ürettikleri antibiyotik moleküllerine karşı korumak için bir mekanizmaya ihtiyaç duymalarıdır. Böylece antibiyotik direnç genleri, antibiyotik keşfi için belirli BGC'lere işaret eden belirteç görevi alabilirler. Ancak BGC'lerin yalnızca küçük bir yüzdesi ayırt edilebilir direnç belirteçlerine sahiptir. Bundan dolayı hangi mikroorganizmaların potansiyel olarak ilgilenilen biyosentetik yolları kodladığını, bu BGC'ler arasında hangisinin işlevsel olarak arzu edilebileceği ve bu genlerin nasıl etkinleştirilebileceğini bilmek için tamamlayıcı stratejiler sağlamak üzere ekolojik içgörülere ihtiyaç vardır (Van Bergeijk vd., 2020).

2.2.3. Aktinobakterilerin Biyoteknolojideki Roller

Aktinobakteriler, çeşitli biyoteknolojik alanlarda önemli uygulamalara sahip olan primer ve sekonder metabolitleri üretmeleriyle tanınmaktadır. Endüstriyel ölçekte üretilen çok çeşitli antibiyotiklerin büyük bir kısmının üreticileri ve önemli enzimlerin umut verici bir kaynağıdır. Kanser tedavisi için yararlı enzim inhibitörleri ve bağışıklık tepkisini artıran bağışıklık düzenleyiciler üretirler. Çok çeşitli hidrokarbonları, böcek ilaçlarını ve alifatik ve aromatik bileşikler parçalama

yeteneğine sahiptirler. Sahip oldukları geniş metabolik çeşitliliğe bağlı olarak ticari değeri büyük organik bileşiklerin mikrobiyal dönüşümlerini gerçekleştirirler. Bitki patojenlerine karşı antagonistik aktiviteye sahip suşlar biyokontrolde yararlı olduğundan, aktinobakteriler bitki biyoteknolojisinde de önemlidir (Anandan vd., 2016).

Son zamanlarda çoklu ilaca dirençli patojenik bakterilerin neden olduğu hastalıklar hızla artmaktadır. Bu sorunu çözmek için bilim insanları çoklu ilaca dirençli patojenlere karşı yeni etki mekanizmasına sahip yeni antibiyotiklerim arayışları içine girmişlerdir (Dancer, 2004). Antibiyotiklerin çoğu mikroorganizmalardan, özellikle aktinobakteri türlerinden elde edilir. Dünyadaki antibiyotiklerin neredeyse %80'inin aktinobakterilerden ve çoğunlukla *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinslerinden türetildiği bilinmektedir (Hassan vd., 2011). Kullanılan ilk antibiyotiklerden biri *Streptomyces griseus* tarafından üretilen streptomisin (Schatz vd., 2005). Aktinobakteriler bakteri hücre duvarını hedefleyen sefamisin gibi β -laktamlar (Liras, 1999) ile vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid antibiyotikler (Butler vd., 2014; Van Bambeke, 2006); β -laktamaz inhibitörleri (Jensen & Paradkar, 1999; Saudagar vd., 2008); protein sentezini inhibe eden neomisin, kanamisin, streptomisin gibi aminoglikozitler (Busscher vd., 2005; S. R. Park vd., 2013; Vakulenko & Mobashery, 2003), kloramfenikol (Özcan vd., 2015), makrolid (Gaynor & Mankin, 2012; Horan & Brodsky, 1986; Poehlsgaard & Douthwaite, 2003) ve tetrasiklinler (Innes & Allan, 2001); DNA sentezini sekteye uğratan kinolonlar (Siegmond vd., 2005); hücre büyümesini engelleyen sülfonamid (Awakawa vd., 2021) ve çeşitli aktivitelere sahip ansamisin (Kang vd., 2012; Wilson vd., 2010) türündeki antibiyotikleri üretebilmektedirler. Daha birçok aktinobakteriyel antibiyotikler Sharma vd. (2018) ve Simeis & Serra (2021) tarafından bahsedilmiştir. Ayrıca immünsüpresif (Kim vd., 2014; Palaniappan vd., 2006), antikanser/antitümör (Asolkar vd., 2006; Kanoh vd., 2005; Kwon vd., 2006; Yingqing vd., 1999), antioksidatif, antimalaryal (Prudhomme vd., 2008), sitotoksik (Hohmann vd., 2009; Hughes vd., 2008) ve fitotoksik (Wu vd., 2006) etkilerde bileşikler aktinobakteriler tarafından üretilmektedir.



Şekil 2.12. Aktinobakteriler tarafından üretilen biyoaktif metabolitler (Sharma vd., 2018).

Endüstride katkı maddesi olarak kullanılan enzimler ve biyosüpfaktanlar açısından aktinobakteriler büyük önem taşır. Hem denizde hem de karada yaşayan aktinobakteriler tarafından çok çeşitli biyolojik aktif enzimler üretilir. Yapılan birçok çalışmada aktinobakterilerin amilazlar (Yang & Liu, 2004), selülozlar (Saini vd., 2016), lipazlar (Sadati vd., 2013), proteazlar (Kumar vd., 2015; Mukhtar vd., 2017), kitinazlar (Dutta & Thakur, 2017; Gomes vd., 2000), ksilanazlar (Priya, 2012), pektinazlar (Jacob vd., 2008), L-asparajinaz (DeJong, 1972; Narayana vd., 2008), keratinaz (Saha vd., 2013), fitaz (Latha & Dhanasekaran, 2013) gibi enzimleri ve çeşitli biyosüpfaktanları (Kügler vd., 2015) üretebilme kabiliyetleri görülmüştür.

Son yıllarda farklı ekosistemlerden izole edilen aktinobakterilerin antibakteriyel, antifungal, antikanser, antibiyokirlenme, antimalarial, antiparazitik ve antioksidan gibi bir dizi biyolojik özellik gösteren verimli metal nanopartiküllerin potansiyel sentezleyicileri olduğu görülmüştür (Anandan vd., 2016). Metalik nanoparçacıklar, tek zincirli DNA'ya zarar vermeyecek şekilde bağlama yeteneğine sahiptir ve yeni terapötik, görüntüleme ve biyomedikal uygulamalara yol açacak herhangi bir hedef organa ulaşmak için kullanılabilir (Dhillon vd., 2012). Özellikle *Streptomyces* ve *Arthrobacter* cinsleri, gümüş ve altın nanopartiküllerin sentezinde temiz ve toksik olmayan yöntemlerin geliştirilmesi için potansiyel "nano fabrikalar"

olarak incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda nanopartiküllerin biyosentezinde farklı aktinobakteriyel cinsler de rapor edilmiştir. *Streptomyces* cinsi üyelerinin altın, gümüş ve çinko nanopartikülleri (Kalaba vd., 2021; Karthik vd., 2014; Park vd., 2006; Sadhasivam vd., 2012; Shanmugasundaram vd., 2013); *Nocardia* cinsi üyelerinin altın (Oza vd., 2012); *Nocardiopsis* cinsi üyelerinin gümüş (Manivasagan vd., 2013); *Rhodococcus* (Ahmad vd., 2003a) ve *Thermomonospora* (Ahmad vd., 2003b) cinsi üyelerinin altın nanopartikülleri sentezleyebildiği bildirilmiştir.

Tarımda, aktinobakteriler bitki büyümesinde önemli rol oynarlar. Serbest yaşayan aktinobakteriler bitkilerle spesifik simbiyotik ilişkiler geliştirirken, aktinobakteriyel endofitler bir bitkinin iç dokularının bir kısmını kolonize ederler. Bu aktinobakteriler bitkilere düzenli olarak nitrojen, demir ve fosfor gibi yoksun kaldıkları kaynakları veya besinleri sağlayarak fitostimülant etki yaratırlar. Simbiyotik aktinobakterilerden *Frankia* gibi bazı üyeler iyi bilinen nitrojen sabitleyicilerdir. Aktinobakteriler azot fiksasyonuna ek olarak sitokin, indol asetik asit, giberellin gibi fitohormonları üretir; fosfor ve potasyum bileşiklerinin immobilize formlarını çözerek toprakta bitkiler için gerekli besin maddelerinin ulaşılabilirliğini artırır; organik maddelerin ayrışmasını kolaylaştırmak için selülozları, ksilanazları, glukanazları, lipazları ve proteazları üretir; sideroforlar, amonyak, hidrojen siyanür ve kitinaz üreterek toprak kaynaklı patojenleri baskılar (Jog vd., 2012; Mitra vd., 2022; Oliveira vd., 2009; Passari vd., 2015; Shrivastava vd., 2008; Sziderics vd., 2007; Wang vd., 2014). Diğer yandan zengin bir indol kaynağı olan simbiyotik aktinobakteriler, bitki büyümesi için çok önemli olan indol asetik asidin sentezini gerçekleştirirler. İndol asetik asit, bitkilerde hücre bölünmesini, büyümesini ve farklılaşmasını, tohum çimlenmesini, ışığa ve yerçekimine karşı tepkiyi, fotosentezi, pigment oluşumunu, çeşitli metabolitlerin biyosentezini ve stresli koşullara direnci kontrol eder. Aktinobakteriler tarafından yönetilen indol asetik asidin sentezinde öncül molekül L-triptofandır. Aktinobakteriler arasında indol asetik asidin üreticisinin çoğunluğu *Kitasatospora*, *Nocardiopsis*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Microbacterium*, *Brevibacterium*, *Leifsonia*, *Pseudonocardia*, *Kocuria*, *Promicromonospora* ve *Amycolatopsis* cinslerine aittir (Hazarika & Thakur, 2020b).

2.2.4. Antarktika'dan Aktinobakteri İzolasyonu Gerçekleştirilen Bazı Çalışmalar

Aktinobakteriler, sekonder metabolit üretimi açısından en önemli mikroorganizma gruplarından biridir. Bu açıdan aktinobakteriler üzerinde yapılan Antarktik çalışmalar, daha önce keşfedilmemiş yeni aktivitelere sahip aktinobakterilerin tanımlanması için önemli bir adımdır. Antarktika'nın çeşitli tatlı su ve tuzlu göllerindeki mikrobiyal biyoçeşitliliğini ve yeni tür antibiyotiklerin araştırıldığı çalışmada (Rojas vd., 2009) bir aktinobakteri olan *Arthrobacter agilis*'in iki suşu, Gram-pozitiflere karşı aktiviteye sahip ve muhtemelen yeni siklik tiyazolil peptitlerle ilişkili olan güçlü antibakteriyel bileşikler ürettiği saptanmıştır.

Yeni bir antibiyotik olan frigosiklinon, Antarktika'dan izole edilen *Streptomyces griseus* NTK 97 suşundan izole edilmiştir (Bruntnier vd., 2005). Yapılan çalışmada bu metabolitin Gram-pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*'e karşı önemli bir antibakteriyel aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. Ancak Gram-pozitif *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Proteus mirabilis* bakterileri; *Botrytis cinerea*, *Aspergillus viridinutans*, *Penicillium notatum* ve *Paecilomyces variotii* gibi funguslar ile *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans* gibi mayalara karşı herhangi bir aktivitesi gözlemlenmemiştir.

Yapılan son çalışmalardan birinde (Giugliano vd., 2021), Antarktika'dan izole edilen *Pseudomonas gessardii* M15 suşuna ait mikrobiyal sürfaktan olan ramnolipid (RL) karışımının zarflı virüsler olan herpes-simpleks ve koronavirüslere karşı antiviral aktivitesinin olduğu gözlemlenmiştir. Burada, sırasıyla 6 µg/mL'de M15RL'ler tarafından HSV-1 ve HSV-2'nin ve sırasıyla 25 ve 50 µg/mL'de HCoV-229E ve SARSCoV-2'nin tamamen etkisiz hale getirildiğini ortaya çıkmıştır. HCoV-OC43'e karşı aktivite ile ilgili olarak, sitopatik etkinin %80 inhibisyonu kaydedilirken, çıplak Poliovirüs Tip 1'e (PV-1) karşı hiçbir aktivite tespit edilememiştir. Bu durum, M15RL'lerin antiviral etkisinin esas olarak zarfa yönelik olduğunu düşündürmektedir. Çalışma ramnolipidlerin SARS-CoV-2'ye karşı antiviral etkisini ilk kez göstermiştir.

Kutup organizmalarından izole edilen bazı doğal metabolitler, yukarıda açıklananların dışında aktiviteler göstermiştir. Kutup mikroorganizmalarının sinir sistemine etki edecek aktiviteleri sıkça incelenmese de yapılan bir çalışmada

(Bringmann vd., 2005), Antarktik topraktan izole edilen *Streptomyces griseus* NTK14 suşunun, anti-glutaminerjik aktivite gösteren gefiromisin adlı yeni bir tip metabolit ürettiği ortaya çıkmıştır. Ayrıca, aynı suşun bilinen antibiyotikler olan dehidrorabelomisin ve fridamisin E ürettiği ortaya çıkmıştır. Burada primer kortikal hücre kültürü 3 µg/mL gefiromisin ile inkübe edildiğinde, 5 dakika sonra hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunda önemli bir artışa neden olmuştur. Kontrol grubunda ise Ca^{2+} seviyesinde herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. Gefiromisin için aktif olduğu bulunan konsantrasyon, en güçlü glutamat agonisti olduğu düşünülen bir glisin türevinin sahip olduğu aralık olarak bulunmuştur. Gefiromisinin hangi yol ile etkisini gösterdiği bilinmese bile, şimdiye kadar elde edilen sonuçlar bir glutaminerjik aktivite önermektedir. Öte yandan, içinde bulunduğu angusiklinon tipi bileşiklerden farklı olarak gefiromisinin, L5178y fare lenfoma hücre hattı üzerinde yapılan MTT testi sonucunda hiçbir akut sitostatik veya antibakteriyel aktivite sergilemediği gözlemlenmiştir. Gefiromisinin sitotoksitesinin olmaması, nöroprotektif özelliklerini daha da değerli kılmaktadır. Bu molekülün henüz glutamat reseptörleri üzerindeki etkisi incelenmeliyse de potansiyel olarak antipsikotik bir molekül olarak kullanıma sunulabilir.

2.3. Antarktika Horseshoe Adası'ndan İzole Edilen Bazı Aktinobakteri Cinsleri

2.3.1. *Amycolatopsis* cinsi

Amycolatopsis cinsi, Gram-pozitif, genomik DNA'ya ait G+C oranı %66 ile %75 arasında olan, aerobik veya fakültatif aerobik, katalaz pozitif, kremi yapıda ve hiflerle karakterize edilen bir aktinomiset grubudur (R. Li vd., 2021; Zakalyukina vd., 2022). Bu cins *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetia* sınıfı, *Pseudonocardiales* takımı, *Pseudonocardiaceae* familyasına aittir (Oren & Garrity, 2021).

Tip türü *Amycolatopsis orientalis* IMET 7653^T (Lechevalier vd., 1986) olan bu cinsin günümüzde geçerli olarak yayınlanan 87 tane türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/amycolatopsis>). *Amycolatopsis* cinsi habitat açısından bitki, toprak, kaya, akuatik habitatlar ve insan-hayvan klinik örnekleri gibi alanlarda bulunmaktadır (Bian vd., 2009; Carlsohn vd., 2007; Lechevalier vd., 1986; Lee, 2009; Tang vd., 2010). Kemotaksonomik analizler bu cinsin genel olarak tüm hücre şekerleri olarak arabinoz ve galaktoz; diamino asit olarak mezo-2,6-diaminopimelik

asit açısından zengin olduğunu göstermiştir. Polar lipit açısından sıklıkla fosfatidiletanolamin ve/veya fosfatidilmetiletanolamin bulunur ancak difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol, fosfatidilinozitol ve fosfatidilinozitol mannozidlerin varlığı değişkenlik göstermektedir. Tüm organizma hidrolizatları mezo-2,6-diaminopimelik asit, arabinoz ve galaktoz açısından zengindir (Tan & Goodfellow, 2015). Ayrıca hücre duvarındaki yağ asitleri izo- ve anteizo- dallanma açısından zengin olan ve mikolik asit içermeyen bu cinsin, peptidoglikanı Alg tipinde ve muramik asitleri N-asetillenmiş durumdadır (Lechevalier & Lechevalier, 1970). Yapısındaki baskın menakinon tipi MK-9(H₄)'tür (Zakalyukina vd., 2022).

Amycolatopsis cinsi, biyoaktif sekonder metabolit üretimi açısından çok önemli bir gruptur. Başta glikolipit ve poliketid grubu antibiyotikleri olmak üzere, çok sayıda antibiyotiğin kaynakları olarak kabul edilmiştir (Kisil vd., 2021). Rifamisin ve vankomisin üretimi açısından önemli olan bu cinsin ilk üyesi *Amycolatopsis orientalis*, klinik çalışmalar için önemli olan vankomisini üretmekteydi. *Amycolatopsis* türlerinden izole edilen ve başka aktivitelere sahip bazı bileşiklere örnek ansamycin (Khalil vd., 2017), makrotermisin A-D (Beemelmans vd., 2017) ve kigamisindir (Kunimoto vd., 2003).

Genomik analizler sonucunda, *Amycolatopsis* kaynaklı sekonder metabolitlerin polifenol, lineer poliketidler, makrolidler, makrolaktamlar, tiyazolil peptidler, siklik peptidler, glikopeptidler, amid ve amino türevleri, glikozit türevleri, enediyn türevleri ve seskiterpenler olarak sınıflandırılmıştır (Song vd., 2021). Patojenite açısından dört türün patojenik özellikler gösterdiği görülmüştür (Huang vd., 2004; D. P. Labeda vd., 2003).

2.3.2. *Arthrobacter* cinsi

Arthrobacter cinsi turuncu-sarı-soluk kırmızı renkli, Gram-pozitif, genomik DNA'ya ait GC oranı %59 ile %66 arasında olan, hareketsiz ya da bir subpolar veya birkaç lateral flagellaya sahip, aerobik, çubuk-kok yapılı, spor oluşturmeyen ve patojenik olabilen bir aktinomiset grubudur (Jones & Keddie, 2006; Lipski, 2022; Mages vd., 2008). Ancak insanlarda bakteriyemi gibi bazı hastalıklara neden olduğu çok nadiren tanımlanan *Arthrobacter* üyelerinin bazıları, hastalarda ciddi ve yaşamı tehdit eden enfeksiyona neden olmadığından, hiç veya oldukça düşük patojeniteye sahip bir mikroorganizma gibi görünmektedir (Gobbetti & Rizzello, 2014). Bu cins

Actinomycetota filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Micrococcaceae* familyası içinde *Falsarthrobacter*, *Paenarthrobacter* ve *Pseudarthrobacter* ile birlikte bulunur. *Arthrobacter* cinsinin tip türü olan *Arthrobacter globiformis* DSM 20124^T (Conn & Dimmick, 1947) ile birlikte günümüzde, geçerli olarak yayınlanan 63 türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/arthrobacter>).

Arthrobacter'ler doğada yaygın olarak bulunur ve özellikle çiğ gıdalara, süt ve süt ürünlerine kolayca bulaşır. *Arthrobacter* cinsi habitat açısından peynir ve süt ürünleri (Feurer vd., 2004; Goerges vd., 2008; Irlinger, 2008; Irlinger vd., 2005), toprak (Dsouza vd., 2015; Eschbach vd., 2003), yeraltı mağaraları (Fang vd., 2022), denizler (Chen vd., 2005; Chen vd., 2009), buzul (Q. Liu vd., 2018), kanalizasyon (Agunbiade vd., 2017), bitkiler (Chhetri vd., 2022; Krishnan vd., 2016), duvar resimleri (Heyrman vd., 2005), sebzeler, balıklar ve çeşitli hayvan türleri (Kämpfer vd., 2020), insan klinik örnekleri (Funke vd., 1998) gibi alanlarda bulunmaktadır. *Arthrobacter* cinsi üyeleri biyoremediasyonda ve heterosiklik organosülfür bileşiklerinin, haloaromatiklerin (Bjerketorp vd., 2018; Shi vd., 2014) ve herbisit, böcek ilaçları gibi diğer karbon kaynaklarının çevreden ayrıştırılmasında sıklıkla kullanıldığından, bu cins çevresel ve endüstriyel uygulamalarda büyük öneme sahiptir (Comi & Cantoni, 2002).

Kemotaksonomik analizler A3α veya A4α peptidoglikan içeren *Arthrobacter* cinsinin genel olarak yapısında diamino asit olarak lizin; baskın respiratuar menakinon olarak MK-9(H₂) ve MK-8/MK-9'un yanı sıra MK-10; polar lipid olarak fosfatidilgliserol, difosfatidilgliserol, fosfatidilinozitol ve dimannosilgliserid; yağ asidi olarak ise izo-C_{15:0}, anteizo-C_{15:0}, izo-C_{16:0} ve anteizo-C_{17:0} bulundurduğunu göstermiştir. Türlerin çoğu şeker olarak tek başına veya glikoz, ramnoz, mannoz, riboz ve ksiloz gibi diğer şekerlerle kombinasyon halinde galaktoza sahiptir (Busse, 2016; Ding vd., 2009; Reed & Cummings, 1945; Roy & Kumar, 2020; Yan vd., 2019).

2.3.3. *Cryobacterium* cinsi

Cryobacterium cinsi sarı-turuncu renkli, Gram-pozitif, DNA'ya ait G+C oranı % 63.5 ile % 70 arasında olan, aerobik, hareketli veya hareketsiz, flagellasız veya tek flagella taşıyan, çubuk yapılı, katalaz pozitif ve spor oluşturmeyen bir aktinomiset grubudur (Dastager vd., 2008; Gong vd., 2020; Liu vd., 2023; Wang vd., 2019). Bu

cins *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Microbacteriaceae* familyasına aittir. Tip türü *Cryobacterium psychrophilum* ATCC 43563^T (K. Suzuki vd., 1997) olan *Cryobacterium* cinsi ile ilgili günümüzde geçerli olarak yayınlanan 15 türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/cryobacterium>).

Temel olarak Arktik, Antarktika gibi soğuk yerlerde yaşayan ve soğuk aktif bir cins olan *Cryobacterium* habitat olarak incelendiğinde yaygın olarak toprak (Gong vd., 2020), dağ buzulları (Chen vd., 2016; Liu vd., 2012, 2013; Reddy vd., 2010), permafrost toprakları (Bajerski vd., 2011; Schuerger & Nicholson, 2016; K. Suzuki vd., 1997), yüzey deniz suları (Lo Giudice vd., 2010), kriyokonit delikleri (Singh, vd., 2014) gibi bölgelerde bulunmaktadır. Soğuk adapte yapısından ve özellikle soğuk şok proteinlerinden dolayı biyoteknolojik olarak umut vaat eden *Cryobacterium* genomu incelendiğinde, sıklıkla gen kazanımı/kayıp olayları gözlemlenmiştir (Liu vd., 2020).

Kemotaksonomik analizler bu cinsin yapısında baskın respiratuar menakinon olarak MK-10, MK-9 ve MK-11 olmakla birlikte nadiren MK-12 ; polar lipid olarak difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol ile tanımlanamayan bir glikolipit ve bir lipid; yağ asidi olarak ise anteizo-C_{15:0}, anteizo-C_{15:1}, izo-C_{15:1}, izo-C_{16:0} ve anteizo-C_{17:0} bulundurduğunu göstermiştir (Liu vd., 2023).

2.3.4. *Lacisediminihabitans* cinsi

Lacisediminihabitans cinsi sarı pigmentli, Gram-pozitif, genomik DNA'ya ait G+C oranı %66.2 ve %67.3 arasında olan, heterotrofik, hareketsiz, diffüze pigment üretmeyen, kısa çubuk yapılı ve spor oluşturmamasıyla karakterize edilen bir aktinomiset grubudur. Bu cins *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Microbacteriaceae* familyasına aittir. Bu cins ile ilgili günümüzde, sadece iki bilimsel makale yayınlanıp, tip türü *Lacisediminihabitans profunda* KCTC49081^T (Zhuo vd., 2020) olmak üzere geçerli olarak yayınlanan sadece bir türü bulunmaktadır. Geçerliliği henüz kabul edilmemiş diğer tür ise *Lacisediminihabitans changchengi*'dir (<https://lpsn.dsmz.de/genus/lacisediminihabitans>). Bu cinsin habitatı açısından incelendiğinde, bataklık çamuru ve Antarktik sedimentten izole edildiği görülmüştür.

Kemotaksonomik analizler B1α peptidoglikan içeren bu cinsin genel olarak yapısında diamino asit olarak 2,4-diaminobutirik asit (DAB); baskın respiratuar

menakinon olarak MK-10; polar lipit olarak fosfatidilgliserol (PG), difosfatidilgliserol (DPG) ve tanımlanamayan bir lipit ve glikolipit; yağ asidi olarak ise izo-C_{16:0}, anteizo C_{15:0} ve anteizo-C_{17:0} bulundurduğunu göstermiştir. Sekonder metabolit açısından ise betalakton, redoks-kofaktör ve terpen biyosentetik gen kümeleri içerdiği görülmüştür (Liang vd., 2021; Zhuo vd., 2020).

2.3.5. *Microbacterium* cinsi

Microbacterium cinsi Gram-pozitif, beyaz-sarı-turuncu pigmentli, çubuk şekilli, genomik DNA'ya ait G+C oranı % 63 ile % 75 arasında olan, aerobik, patojen olabilen, hareketli veya hareketsiz, spor oluşturmayan veya çok nadiren spor oluşturan bir aktinomiset grubudur (Goodfellow vd., 2012). *Microbacterium* cinsi, *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Microbacteriaceae* familyası içinde yer almaktadır. Tip türü *Microbacterium lacticum* IFO 14135^T olan bu cinsin, günümüzde geçerli olarak yayınlanan 132 türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/microbacterium>). İzole edildikleri alan olarak *Microbacterium* cinsinin üyeleri, toprak, su, bitki, böcek, süt ve süt ürünleri, insan klinik örnekleri olmak üzere çok çeşitli ortamlarda bulunabilmektedirler (Mounier vd., 2017; Speck, 1943).

Kemotaksonomik analizler B peptidoglikan içeren ve muramik asitleri N-glikolil formundaki bu cinsin yapısında baskın respiratuar menakinon olarak MK-11, MK-12, MK-13, MK-14 ve nadiren MK-10; hücrel şeker olarak galaktoz ve ramnoz; polar lipit olarak difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol ve bir veya birkaç glikolipit; yağ asidi olarak ise anteizo-C_{15:0}, anteizo-C_{17:0} ve izo-C_{16:0} bulundurduğunu göstermiştir (Goodfellow vd., 2012).

Genomik analizler sonucunda, *Microbacterium* cinsi üyelerinin sekonder metabolitlerin üretimi açısından genellikle siderofor benzeri bileşiklerin sentezinden sorumlu olan terpenoidler, tip III poliketid sentazlar ve ribozomal olmayan peptid sentetazlardan oluşan biyosentetik gen kümelerine sahip oldukları görülmüştür (Corretto vd., 2020). Diğer yandan, yapılan bazı klinik çalışmalar bu cins üyelerinin insanlar için patojenik olabileceğini göstermiştir. *Microbacterium* cinsinin bazı üyelerinin insanlarda bakteriyemiye neden olduğu, tüberküloz ve kistik fibröz gibi hastalıklarla ilişkili olduğu kayıt edilmiştir (Buss vd., 2014; Sharma vd., 2023; P. Sharma vd., 2013).

2.3.6. *Micrococcus cinsi*

Micrococcus cinsi Gram-pozitif, kok şekilli, genomik DNA'ya ait G+C oranı %66.4 ile %75.5 arasında olan, aerobik, hareketsiz, spor oluşturmeyen bir aktinomiset grubudur (Goodfellow vd., 2012). *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Micrococcaceae* familyası içinde yer almaktadır. Tip türü *Micrococcus luteus* JCM 1464^T olan bu cinsin, *Micrococcus aloeverae*, *Micrococcus antarcticus*, *Micrococcus cohnii*, *Micrococcus endophyticus*, *Micrococcus flavus*, *Micrococcus lylae*, *Micrococcus terreus* ve *Micrococcus yunnanensis* ile birlikte olmak üzere günümüzde geçerli olarak yayınlanan sadece 9 türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/micrococcus>). Habitat olarak bu cinsin üyeleri hava, toprak, çamur ve bitkiler gibi bölgelerden izole edilmişlerdir (Chen vd., 2009; Liu vd., 2000; Liu vd., 2007; Rieser vd., 2013; Zhang vd., 2010; Zhao vd., 2009).

Micrococcus cinsinin kayıt edilen patojenik aktivitesi olmamasına rağmen, son yıllarda kan enfeksiyonları ve pnömoni gibi insan hastalıklarıyla ilişkili olduğu görülmüştür (Y. Zhang vd., 2022; Zhu vd., 2021). *Micrococcus* stres koşullarına adaptasyonlarından dolayı biyoteknolojik açıdan ilgi çekici bir organizma grubudur. Madenlerden ağır metalleri konsantre ederek maden işleme ve biyoremediasyon uygulamaları için potansiyel olarak önemlidirler (Doddamani & Ninnekar, 2001; Levchenko vd., 1997, 2002; Martínez vd., 2021; Sims vd., 1986).

Kemotaksonomik analizler A peptidoglikan içeren bu cinsin yapısında diamino asit olarak lizin; baskın respiratuar menakinon olarak MK-8 ile MK-8(H₂) veya MK-8(H₂) veya MK-7(H₂) ile MK-8(H₂); hücresel şeker olarak galaktoz ve ramnoz; polar lipid olarak fosfatidilgliserol, difosfatidilgliserol, fosfatidilinositol, bir bilinmeyen glikolipit ve bir bilinmeyen ninhidrin-negatif fosfolipit; yağ asidi olarak ise anteizo-C_{15:0} ve anteizo-C_{15:0} veya izo-C_{15:0} bulundurduğunu göstermiştir (Liu vd., 2000; Liu vd., 2007; Wieser vd., 2002).

2.3.7. *Paenarthrobacter cinsi*

Habitatını temel olarak toprakların oluşturduğu *Paenarthrobacter* cinsi Gram-pozitif, sarı pigmentli, düzensiz, çubuk-kok şekilli, genomik DNA'ya ait G+C oranı % 61.3 ile % 63.6 arasında olan, aerobik, hareketli veya hareketsiz, spor oluşturmeyen bir aktinomiset grubudur (Busse & Wieser, 2018a). *Paenarthrobacter*

cinsi *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Micrococcaceae* familyası içinde *Arthrobacter*, *Falsarthrobacter* ve *Pseudarthrobacter* ile birlikte bulunur. Tip türü *Paenarthrobacter aurescens* LMG 3815^T (Busse, 2016) olan bu cinsin, *Paenarthrobacter histidinovorans*, *Paenarthrobacter ilicis*, *Paenarthrobacter nicotinovorans*, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* ve *Paenarthrobacter ureafaciens* ile birlikte olmak üzere günümüzde geçerli olarak yayınlanan sadece 6 türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/paenarthrobacter>).

Yapılan çalışmalarda *Paenarthrobacter* cinsi üyelerinin atıkları uzaklaştırmak için ilginç metabolik özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir. Bu cins, evsel ve endüstriyel atıklardan kaynaklanan kirleticilerin, özellikle nikotin metabolizması (Mihâşan vd., 2018, 2019; Mihâşan vd., 2021), ağır metal (S. Wu vd., 2023), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (Rosas-Díaz vd., 2021), herbisit (Ofaim vd., 2020; Y. Zhao vd., 2023) ve antibiyotik (Cao vd., 2019; Qi vd., 2022; Yu vd., 2022; Zhang vd., 2021) atıklarını uzaklaştırma açısından bioremediasyon çalışmaları için çok önemli bir organizma grubudur. Atıkları uzaklaştırmanın yanı sıra, *Paenarthrobacter* cinsinin bitki büyümesini, toprak kalitesini ve fertilitasını artırabileceğini gösteren önemli çalışmalar da bulunmaktadır (Riva vd., 2021; Sherpa vd., 2021).

Kemotaksonomik analizler A3 α peptidoglikan içeren bu cinsin yapısında baskın respiratuar menakinon olarak MK-9(H₂); polar lipit olarak difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol, fosfatidilinozitol, dimannozilgliserid ve monogalaktozildiasilgliserol ve nadiren trimannozildiasilgliserol; yağ asidi olarak ise anteizo-C_{15:0}, izo-C_{15:0}, izo-C_{16:0} anteizo-C_{17:0} ve izo-C_{14:0} bulundurduğunu göstermiştir (H. Busse & Wieser, 2018a).

2.3.8. *Pseudarthrobacter* cinsi

Pseudarthrobacter cinsi Gram-pozitif, krem-beyaz-açık sarı pigmentli, düzensiz, çubuk-kok şekilli, genomik DNA'ya ait G+C oranı %62.3 ile %71 arasında olan, hareketli veya hareketsiz, spor oluşturmeyen bir aktinomiset grubudur. Cinsin üyelerinin bazıları çeşitli besiyerlerinde gri, yeşilimsi ve mavi pigmentasyon gösterebilir (H. Busse & Wieser, 2018b). *Pseudarthrobacter* cinsi *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Micrococcaceae* familyası içinde *Arthrobacter*, *Falsarthrobacter* ve *Paenarthrobacter* ile birlikte bulunur. Tip türü

Pseudarthrobacter polychromogenes CCUG 23891^T (Busse, 2016) olan bu cinsin günümüzde geçerli olarak yayınlanan 14 türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/pseudarthrobacter>).

Habitat olarak incelendiğinde yaygın olarak toprak (Borodina vd., 2002; Buckley vd., 2019; Kallimanis vd., 2009; Santacruz-Calvo vd., 2013; Shin vd., 2020), insan klinik örnekleri (Huang vd., 2005), bitkiler (Ham vd., 2022; Issifu vd., 2022; Tshishonga & Serepa-Dlamini, 2020) gibi bölgelerde bulunmaktadır. *Pseudarthrobacter*'lerin bazıları bitkinin azot, fosfat gibi besinlerin bitki tarafından alımını artıran, bitki patojenlerini kontrol etmeyi sağlayan sekonder metabolitleri üreten ve fitohormonların üretimi yoluyla fitostimülasyonu kontrol eden endofitler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu açıdan *Pseudarthrobacter* türlerinin bazıları bitki yaşamı için önem arz etmektedir. Bununla birlikte cinsin, önemli terapötik potansiyellere sahip bitkilerle de ilişkili olduğu görülmüştür (Tshishonga & Serepa-Dlamini, 2020). Ayrıca *Pseudarthrobacter* cinsi, birçok endüstriyel süreçten kaynaklanan başlıca çevresel kirleticiler olan polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH'lar) degradasyonunda kullanılabilecek önemli bir cinstir (Asimakoula vd., 2023).

Kemotaksonomik analizler A3 α peptidoglikan içeren bu cinsin yapısında baskın respiratuar menakinon olarak MK-9(H₂) ve nadiren MK-8(H₂); polar lipid olarak difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol, fosfatidilinozitol, dimannosilgliserit ve monogalaktozildiasilgliserol; yağ asidi olarak ise anteizo-C_{15:0} ile nadiren izo-C_{15:0}, izo-C_{16:0}, ve anteizo-C_{17:0} bulundurduğunu göstermiştir (Busse, 2016; Busse & Wieser, 2018; M. D. Collins vd., 1982).

2.3.9. *Rhodococcus* cinsi

Rhodococcus cinsi Gram-pozitif, genomik DNA'ya ait G+C oranı %63 ile %73 arasında olan, krem-turuncu-kırmızı-sarı pigmentli veya renksiz, hareketsiz, çubuk-kok şeklinde, patojenik olabilen, spor oluşturan veya oluşturmeyen bir aktinomiset grubudur (Goodfellow vd., 2012). Bu cins *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Mycobacteriales* takımı, *Nocardiaceae* familyası içerisinde bulunur. Tip türü *Rhodococcus rhodochrous* IFM 0163^T olan bu cinsin, günümüzde geçerli olarak yayınlanan 54 türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/rhodococcus>). *Rhodococcus*'lar hava (Li vd., 2004), toprak (Li vd., 2007; Matsuyama vd., 2003;

Zhang vd., 2002; Zhang vd., 2005), atık sular (J. H. Yoon vd., 2000), bitkiler (Li vd., 2008; Wang vd., 2008), derin sular (Helmke & Weyland, 1984), böcekler (M Goodfellow & Alderson, 1977, 1979; Yassin, 2005), insan klinik örnekleri (Jones vd., 2004) gibi çok çeşitli habitatlardan izole edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda *Rhodococcus* cinsi üyelerinin bitki ve hayvan patojeni olabildiği görülmüştür. *Rhodococcus equi*, cins içerisinde hayvanlarda genellikle akciğer apselerine dönüşen pnömoniye neden olan önemli türdür. Hastalığın ilk klinik belirtileri ateş, öksürük ve yorgunluk olarak başlarken, hastalığın ileri aşamalarında anoreksi, taşikardi, alevlenmiş burun delikleri, solunumda zorluk ve vücudun çeşitli yerlerinde apseler olarak ortaya çıkmaktadır (Giguère vd., 2011; Prescott, 1991; Suzuki vd., 2021). Diğer yandan *Rhodococcus fascians* ise önemli bir bitki patojenidir. Bu patojen, bitkilerin toprak üstünde kalan kısımlarında malformasyonlara ve apikal meristemlerde urlara neden olur (Cornelis vd., 2001).

Rhodococcus cinsi üyelerinin çok yönlü metabolik özellikleri, çeşitli çevresel atıkları parçalayabilmeleri, çeşitli bileşikleri dönüştürebilmeleri veya sentezleyebilmeleri, çevresel atıklara karşı direnç, stres koşullarına karşı dayanıklılıklarından biyoteknoloji açısından önemli kılmaktadır (Cappelletti vd., 2020). Cinsin bu özelliklere sahip olması muhtemelen çeşitli bileşikleri parçalayabilen enzimleri kodlayan genleri taşıyan mobil, büyük ve genellikle doğrusal plazmitlere sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (Gürtler & Seviour, 2010). *Rhodococcus* üyeleri genel olarak biyosüpfaktan üretimi (Marqués vd., 2009; Pirog vd., 2008), biyoflokulan üretimi (Kurane vd., 1994), biyoremediasyon (Garrido-Sanz vd., 2020; Zampolli vd., 2022) gibi çeşitli alanlarda önemli potansiyellere sahiptir. Bunun yanı sıra antimikrobiyal ajan üretimi (Inokoshi vd., 2012; Kitagawa vd., 2018), metal nanomateriyaller (Ahmad, Senapati, Khan, Kumar, Ramani, vd., 2003; Kundu vd., 2014) gibi birçok çalışma için umut vaat etmektedir.

Kemotaksonomik analizler A1 γ peptidoglikana sahip ve muramik asitleri N-glikolatlı *Rhodococcus* cinsinin yapısında diamino asit olarak meso-2,6-diaminopimelik asit; baskın şeker olarak arabinoz ve galaktoz; baskın respiratuar menakinon olarak MK-8(H₂); polar lipid olarak difosfatidilgliserol, fosfatidiletanolamin, fosfatidilinozitol ve fosfatidilinozitol mannozidler bulundurduğunu göstermiştir (Gürtler & Seviour, 2010). *Rhodococcus* cinsinin ayırt edilmesi için temel kriterler: 1. Yapısında tüberkülostearik asit bulunması; 2.

uzunlukları 34-64 karbon atomu olan mikolik asitler; 3. *Nocardia*'nın bir motif özelliği olan siklik elementten yoksun sekiz izoprenoid birimine sahip dihidrojene menakinonlardır (Bell vd., 1998; Goodfellow vd., 2012).

2.3.10. *Salinibacterium* cinsi

Salinibacterium cinsi Gram-pozitif, aerobik, genomik DNA'ya ait G+C oranı %60.1 ile %64.2 arasında olan, hareketsiz, düzensiz, çubuk şeklinde ve spor oluşturmamasıyla karakterize edilen bir aktinomiset grubudur. Bu cins *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Micrococcales* takımı, *Microbacteriaceae* familyasına aittir. Tip türü *Salinibacterium amurskyense* KCTC 9931^T (Han vd., 2003) olan bu cinsin, *Salinibacterium hongtaonis* ve *Salinibacterium xinjiangense* ile birlikte olmak üzere günümüzde geçerli olarak yayınlanan sadece üç türü bulunmaktadır (<https://lpsn.dsmz.de/genus/salinibacterium>). Bu cins habitat açısından, hayvan dışkısı, deniz suyu, buzul ve Antarktik permafrosttan izole edilmiştir. Kemotaksonomik analizler B peptidoglikana sahip ve mikolik asit içermeyen bu cinsin genel olarak yapısında diamino asit olarak lizin, alanin, glisin, glutamik asit ve ornitin; baskın respiratuar menakinon olarak MK-10 ve düşük miktarda MK-11; polar lipid olarak fosfatidilgliserol ve difosfatidilgliserol ile değişken olarak tanımlanamayan bir glikolipit; yağ asidi olarak temelde anteizo-C_{15:0} ve anteizo-C_{17:0} olmakla birlikte izo-C_{15:0}, izo-C_{16:0} ve izo-C_{14:0} bulundurduğunu göstermiştir (Han vd., 2003; Li vd., 2019; Shin vd., 2012; D. C. Zhang vd., 2008).

2.3.11. *Streptomyces* cinsi

Streptomyces cinsi Gram-pozitif, aerobik, genomik DNA'ya ait G+C oranı %66 ile %78 arasında olan, geniş ölçüde dallanmış substrat ve hava miselleri oluşturabilen, vejetatif ve hava miselyumları için ve diffüze etmek için pigment üretebilmeleriyle karakterize edilen bir aktinomiset grubudur. Bu cinsin bir çok üyesi geniş ölçüde antimikrobiyal ajan üretebilme yeteneğine sahip, tek karbon kaynağı olarak çok çeşitli organik bileşikleri kullanabilen ve optimum gelişim sıcaklığı 25 ile 35°C arasında değişebilen çok önemli mikroorganizmalar grubu içerisindedir (Gopalakrishnan vd., 2020). *Streptomyces* cinsi *Actinomycetota* filumu, *Actinomycetes* sınıfı, *Kitasatosporales* takımı, *Streptomycetaceae* familyası içinde yer almaktadır. Tip türü *Streptomyces albus* RIA 1206^T olan bu cinsin, günümüzde

geçerli olarak yayınlanan 707 türü bulunmaktadır
(<https://lpsn.dsmz.de/genus/streptomyces>).

Streptomyces cinsinin antibiyotikler, antifungaller, antiviraller, antiparazitik bileşikler, antitümöraller, antihipertansifler ve immüsupresanlar gibi biyoaktif bileşikler üretebildiğiyle alakalı birçok çalışma vardır (Brock, 1961; Higgens & Kastner, 1971; Kong vd., 2018; Ottesen & Campbell, 1994; Petković vd., 2006; Schatz vd., 2005; Sehgal, 2003; Seipke vd., 2012; Shishlyannikova vd., 2017; Torres-Rodriguez vd., 2022) *Streptomyces* türleri, özellikle bitki büyümesinin ve sağlığının desteklenmesinde, organik kalıntıların parçalanmasında ve birçok alanda öneme sahip sekonder metabolitlerin üretiminde rol oynayan en önemli aktinobakterilerdir. Bitki verimini, azot fiksasyonunu, toprak minerallerinin çözünmesini ve bitki patojenlerinin kontrolünü sağlayarak bitki gelişimine katkıda bulunur (Aggarwal vd., 2016). Ayrıca, *Streptomyces* türlerinin ürettiği antimikrobiyaller veya sideroforlar gibi sekonder metabolitler, akuakültürde probiyotik olarak kullanılabilecek potansiyel aktiviteler göstermiştir (Tan vd., 2016; You vd., 2005). Genom analizlerinde *Streptomyces* türlerinin biyosentetik gen kümeleri olarak ribozomal olmayan peptid sentetaz (NRPS), terpenler, tip 1 poliketid sentazlar (T1PKS) ve sideroforlar açısından yaygın olduğu gözlemlenmiştir (Caicedo-Montoya vd., 2021).

Streptomyces cinsi üyelerinin kemotaksonomik analizlerinden çıkan sonuçlara göre kesin diagnostik parametrelerin varlığının söylenmesi mümkün değildir. Ancak genel olarak söylenmek gerekirse mikolik asitlerden yoksundurlar; yağ asitleri açısından yüksek miktarlarda doymuş izo- ve anteizo- yağ asitleri içerirler. Hücre şekeri açısından baskın olarak arabinoz, galaktoz ve ksiloz bulunmaktadır. Baskın menakinon açısından dokuz izopren birimi olan hekza- veya oktahidrojene menakinonlara sahiptirler ancak sekiz ve on izopren birimine sahip menakinonlar da bulunmaktadır. Polar lipid olarak difosfatidilgliserol, fosfatidiletanolamin, fosfatidilinozitol ve fosfatidilinozitol mannozitler bulunmaktadır (Goodfellow vd., 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. İzolasyonda Kullanılan Toprak, Sediment ve Su Örnekleri

Aktinobakteri izolasyonu gerçekleştirmek amacıyla Antarktika Horseshoe Adası'nın Tablo 3.1'de belirtilen lokasyonlarından toprak ve sediment örnekleri spatula yardımı ile steril falkon tüplerine konulmuştur. Diğer yandan su örnekleri için ise Horseshoe Adası kıyısından 4 lt deniz suyu, vakum pompası ve membran filtre kullanılarak örneklenmiş olup, filtreler falkon tüpleri içerisine yerleştirilerek -20°C'de saklanmıştır. Örnekler buz kaplarında muhafaza edilerek, 6. Ulusal Antarktika Seferi sonunda Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Bakteri Sistematigi Laboratuvarı'na getirilmiştir. Ardından, izolasyonları gerçekleştirilene kadar +4°C'de saklanmıştır. Toprak ve sediment örneklerinin fizikokimyasal özelliklerini belirlemek için sadece pH analizi gerçekleştirilmiştir. Su örneklerinin pH'ı, örnek miktarının azlığından dolayı ölçülememiştir. Toprak ve sediment örneklerinin pH'ı, saturasyon çamurunda ortalama 2 saat beklendikten sonra cam elektrotlu pH-metre ile ölçülmüştür (Reed ve Cummings, 1945).

Tablo 3.1. İzolasyonda kullanılan örnekler ve lokaliteleri

Örnek kodu	Örnek cinsi	Toplandığı lokalite
H10	Sediment	67° 49' 54.1'' G 67° 14' 15.7'' B
H14	Toprak	67° 49' 58.7'' G 67° 14' 18.5'' B
H18	Sediment	67° 49' 56.2'' G 67° 14' 15.6'' B
H20	Toprak	67° 49' 47'' G 67° 14' 11.9'' B
H27	Toprak	67° 50' 3.4'' G 67° 13' 41'' B
H29	Sediment	67° 50' 00.4'' G 67° 13' 11.6'' B
H3	Toprak	67° 49' 27.5'' G 67° 12' 12.8'' B
H31	Sediment	67° 49' 50.8'' G 67° 12' 37.5'' B
H34	Toprak	67° 49' 43.9'' G 67° 12' 22.8'' B
H35	Sediment	67° 49' 13.2'' G 67° 12' 23.2'' B
H36	Sediment	67° 49' 10.0'' G 67° 12' 15.7'' B
H37	Kaya	67° 49' 05.2'' G 67° 12' 02.3'' B
H39	Kaya	67° 49' 04.0'' G 67° 12' 02.1'' B

Tablo 3.1. İzolasyonda kullanılan örnekler ve lokaliteleri (devam)

Örnek kodu	Örnek cinsi	Toplandığı lokalite
H9	Toprak	67° 49' 43.5'' G 67° 13' 37.7'' B
BSY	Sediment	67° 48' 31.5'' G 67° 17' 43.3'' B
BT	Toprak	67° 48' 31.5'' G 67° 17' 43.3'' B
BYY	Toprak	67° 48' 31.5'' G 67° 17' 43.3'' B
DIS	Toprak	68° 05' 29.6'' G 68° 50' 37.5'' B
G	Sediment	67° 49' 27.8'' G 67° 12' 12.1'' B
GS	Su	67° 49' 27.8'' G 67° 12' 12.1'' B
NAN	Sediment	64° 33' 01.6'' G 62° 05' 00.1'' B
LİV	Toprak	62° 38' 29'' G 60° 21' 53'' B
S (1,2,3,4,5)	Su	67° 49' 01.5'' G 67° 14' 00.5'' B

3.2. Aktinobakteri Üyelerinin Seçici İzolasyonu

Antarktika Horseshoe Adası'ndan aktinobakteri üyelerinin seçici izolasyonunu gerçekleştirmek üzere toplam 18 çeşit besiyeri kullanılmıştır. Kullanılan bu besiyerleri ve seçiciliği sağlayacak maddeler Tablo 3.3'te belirtildiği gibidir. Besiyerlerinin içerikleri EK-1'de verilmiştir.

Steril tüpler içerisinde getirilen toprak ve sediment örneklerinden hassas terazi yardımıyla Tablo 3.2'de belirtilen miktarlarda tartılmıştır ve 9 mL'lik izotonik seyreltme çözeltisi olan Ringer's (Oxoid) çözeltisi içerisine eklenerek 10^{-1} 'lik bir dilüsyon gerçekleştirilmiştir. Örnekler, ortalama 1,5 saat boyunca rotorda çalkalanarak, toprak/sedimentin parçalanması ve yüzey alanının artırılarak mikrobiyal popülasyonun ortama salınması amaçlanmıştır. Sadece BYY, H3, H9 ve H18 örnekleri, 9 mL Ringer içeren bir behere aktarılarak 3 gün boyunca 17°C'de 150 rpm çalkalamada inkübasyona bırakılmıştır. Çalkalanmanın ardından 10^{-1} 'lik dilüsyondan otomatik pipet yardımı ile 1 mL alınarak boş bir 9 mL'lik Ringer's çözeltisine eklenmiştir ve 10^{-2} 'lik bir dilüsyon gerçekleştirilmiştir. Örnekler, 1 dk boyunca alt üst edilerek, aynı yöntem ile 10^{-3} 'lük dilüsyonlar hazırlandı. Su örneklerinin izolasyonu için ise 5 mL'lik Ringer's çözeltisi, su filtresi içeren falkonlara döküldü ve vorteks yardımıyla iyice karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler, ortalama 1,5 saat boyunca rotorda çalkalanmıştır. Ardından, otomatik pipet

yardımıyla 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} 'lük dilüsyonların her birinden 200 μ L alınarak Tablo 3.3'te belirtilen seçici izolasyon besiyerlerine dökülmüştür ve steril plastik öze kullanılarak yayma plak yöntemi ile ekim gerçekleştirilmiştir. Yayma plak yönteminde örneğin, öze yardımıyla petrinin her yerini kaplayacak şekilde yayılması sağlanmıştır. Her dilüsyon için 2'şer besiyerinin kullanıldığı çift tekrarlı ekim gerçekleştirilmiştir. Ekimi gerçekleştirilen örnekler 10 dk boyunca oda sıcaklığında, petri kapağı kapalı bir şekilde kurumaya bırakıldıktan sonra bir kısmı $+4^{\circ}\text{C}$ 'de, bir kısmı ise $+17^{\circ}\text{C}$ 'de 30 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İlk izolasyon çalışmasında besiyerlerine hızlı gelişen bakterilerin ve fungusların gelişimini baskılama için rifampisin, nalidiksik asit, neomisin, nystatin ve sikloheksimid antibiyotikleri eklenmiştir. Ancak izole edilebilen aktinobakteri sayısının çok az olması nedeniyle sadece antifungal bileşikler olan nystatin ve sikloheksimid antibiyotiklerinin eklendiği besiyerleri ile izolasyon çalışmaları tekrarlanmıştır. Ayrıca ilk izolasyon çalışmasında örnekler ilk olarak 28°C ve 15°C sıcaklıktaki inkübatörlerde bir ay boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Ancak 28°C 'de inkübe edilen petrilere neredeyse hiçbir bakteri gözlenememiş veya aktinobakteri benzeri kolonilerin gözlenememiş olması nedeniyle inkübasyon sıcaklıkları 4°C ve 17°C olacak şekilde izolasyon çalışmaları tekrarlanmıştır.

Tablo 3.2. Toprak ve sediment örneklerinin izolasyonu için ölçülen örnek miktarı

Örnek kodu	Örnek Miktarı
H10	2 g
H14	1 g
H18	2 g
H20	2 g
H24	1 g
H27	3 g
H29	4 g
H3	2 g
H31	2 g
H34	2 g
H35	3 g
H36	1 g
H37	1 g
H39	2 g
H9	1.5 g
BSY	2 g
BT	2 g
BYY	2 g
DIS	1 g
G	4 g
GS	1 mL
NAN	2 g
LİV	1 g
S	Filtre

Tablo 3.3. Toprak, sediment ve su örneklerinin izolasyonu için kullanılan besiyerleri ve seçici ajanlar

Besiyerleri	Kısaltma	Seçici Ajanlar	Ekilen Örnekler
Hümkik Asit- Vitamin Agar	H	Cycloheximide (50 µg/mL), Nystatin (25 µg/mL), vitamin solüsyonu	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
Hümkik Asit- Vitamin Agar	H	Vitamin solüsyonu	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Arjinin - Vitamin Agar	A	Nystatin (25 µg/L), vitamin solüsyonu, trace element solüsyonu	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
Arjinin - Vitamin Agar	A	Vitamin solüsyonu, trace element solüsyonu	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Gauze's No. 1 Agar	G	Nystatin (25 µg/mL)	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
Gauze's No. 1 Agar	G	-	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Modifiye Oligotropik Agar	O	Düşük karbon ve azot miktarları	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
R2A Besiyeri	R	Nystatin (25 µg/mL)	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN, H29, G
R2A Besiyeri	R	-	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G
Starch Casein Agar	C	Nystatin (25 µg/mL)	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
Starch Casein Agar	C	-	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G
Glucose Yeast Extract Agar	Y	Rifampicin (20 µg/mL)	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
Glucose Yeast Extract Agar	Y	-	H39, BT, H34, H20, H31, H10, S1, S2, S3, S4, S5
SM3 Agar	S	Nystatin (25 µg/mL)	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
SM3 Agar	S	-	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Luedemann's Agar	L	Nystatin (25 µg/mL)	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
Luedemann's Agar	L	-	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Aktinomiset İzolasyon Agar	AA	Cycloheximide (50 µg/mL), Nystatin (25 µg/mL)	BSY, H37, H27, G, H36, LIV, H14, NAN
Aktinomiset İzolasyon Agar	AA	-	H39, BT, H34, H20, H31, H10, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Marine Agar	M	Cycloheximide (50 µg/mL), Nystatin (25 µg/mL)	H35, H27, H24, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Modifiye Starch Casein Agar	MC	Cycloheximide (50 µg/mL), Nystatin (25 µg/mL)	H35, H27, H24, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5

Tablo 3.3. Toprak, sediment ve su örneklerinin izolasyonu için kullanılan besiyerleri ve seçici ajanlar (devam).

Besiyerleri	Kısaltma	Seçici Ajanlar	Ekilen Örnekler
YPD Agar	P	Cycloheximide (50 µg/mL), Nystatin (25 µg/mL)	H35, H27, H24, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Czapek-Dox Agar	D	Cycloheximide (50 µg/mL), Nystatin (25 µg/mL)	H35, H27, H24, H29, G, S1, S2, S3, S4, S5
Modifiye Rubrobacter Carboxydovorans Besiyeri	RM	Trace element solüsyonu	H3, H9, H18, BYY, GS
Trypticase Soy Broth Agar With 2% MgSO ₄ and 3% NaCl	B	-	H3, H9, H18, BYY, GS
Modifiye GPHF Besiyeri	F	-	H3, H9, H18, BYY, GS
N-Z-Amine Besiyeri	N	-	H3, H9, H18, BYY, GS

3.4. İzolatların Seçilmesi, Saflaştırılması ve Stoklanması

İzolasyon besiyerlerinden elde edilen kolonilerden morfoloji ve spor oluşturma özellikleri açısından sporlu, sert ve tepe oluşturan/deri yapıda olması muhtemel koloniler; ayrıca besiyerleri üzerinde diğer mikroorganizmalara karşı zon oluşturan koloniler işaretlenmiştir. İşaretlenen örneklerin saflaştırılması amacıyla, koloninin etrafındaki kontaminasyon yapısına bağlı olarak ince ve kalın uçlu steril kürdan ile kolonilerden örnek alınarak, GYM katı besiyerine (DSMZ Besiyeri No. 65) çizgi ekim yöntemi ile pasajlama gerçekleştirilmiştir. Ardından bu izolatlar, izolasyon koşullarına bağlı olarak +4°C ve 17°C’de inkübasyona bırakılmıştır. GYM besiyerinde iyi gelişmeyen koloniler N-Z-Amine katı besiyerine (DSMZ Besiyeri No. 554) veya R2A katı besiyerine (DSMZ Besiyeri No. 830) koloni düşürme yöntemiyle ekilmiştir. Saflaştırılan izolatların adlandırılması, izole edildikleri örnek kodu, izole edildikleri besiyeri ve izole edildikleri sıcaklığa göre yapılmıştır. +4°C’den izole edilmiş psikrofilik örneklerin adlandırmasında isim önüne “P” ifadesi bulunurken, 17°C’den izole edilen örneklerin isimlerinin önünde ifade bulunmamaktadır. Stoku alınacak izolatlar iyi büyüdükleri besiyerlerinde yoğun olarak geliştirildikten sonra, %30’luk gliserol içeren (v/v) steril stok tüplerine, steril kürdan yardımı ile aktararak -20°C ve -80°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Stokun aktifleştirilmesi sürecinde, -20°C sıcaklıkta muhafaza edilen ilgili örnekler birkaç dakika çözünmeye bırakıldıktan sonra steril öze ile GYM, N-Z-Amine ve R2A besiyerlerine pasajlanmıştır. Ardından stoklar hemen -20°C sıcaklıkta muhafaza edilmeye bırakılmıştır. Pasajlanan örnekler ise psikrofiliklerse +4°C’ye, değilse 17°C’ye inkübasyona bırakılmıştır.

3.5. Moleküler ve Taksonomik Yöntemler

3.5.1. İzolatların Genomik DNA İzolasyonu

İzolatların 16S rRNA gen dizi analizi için genomik DNA izolasyonu PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

1. Bunun için Lizozim Sindirim Tamponu'ndan 180 µL alınarak, steril eppendorf içerisindeki hücre pelletine eklenmiş ve pipet ucuyla hafifçe karıştırılmıştır. Ardından 37°C'lik ısıtıcı blokunda bir gece bekletilmiştir.
2. Örnekler 2 µl Triton-X ilave edilerek hafifçe pipetaj yapılmış ve 37°C'lik ısıtıcı blokunda 1 saat bekletilmiştir.
3. Ardından örnekler 20 µl RNaz ve 20 µl Proteinaz K eklenmiş ve hafif pipetaj ile karıştırılmıştır. Üstüne 200 µl PureLink Genomik Liziz/Bağlanma Tamponu (Genomic Lysis/Binding Buffer) eklenmiş ve bir-iki kere alt-üst şeklinde hafifçe döndürülerek iyice karıştırılmıştır. Örnekler 55°C'lik ısıtıcı blokunda 30 dakika bekletilmiştir. Bu esnada 30 dk'yı aşmamaya dikkat edilmiştir.
4. Ardından örnekler %96-100'lük etanolden otomatik mikropipet yardımı ile 200 µL eklenmiş ve bir-iki kere hafif pipetaj yapılmıştır. Yaklaşık 640 µL'lik lizatlar PureLink spin kolonlarına yerleştirilmiştir. Kolonlar mikrosantrifüj aracılığıyla oda sıcaklığında 10,000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüjün ardından kolondan geçmeyen örnekler için yeniden santrifüj yapılmıştır. Burada santrifügasyon hızı 13,000 rpm'e çıkarılabilir ve santrifügasyon süresi 3 dk'ya kadar artırılabilir.
5. Kolondan geçen örnekler için toplama tüpü atılıp, spin kolonu temiz bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Kolondan geçen örnekler için Yıkama Tamponu 1'den 500 µL eklenmiş ve kolonu oda sıcaklığında 10,000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir.
6. Aynı şekilde kolondan geçen örnekler için toplama tüpü atılıp, spin kolonu temiz bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Kolondan geçen örnekler için Yıkama Tamponu 2'den 500 µL eklenmiş ve kolonu oda sıcaklığında 13,000 rpm'de 3 dk santrifüjlenmiştir.
7. Toplama tüpü atılmış ve spin kolonu steril 1.5 ml' lik eppendorf tüpüne yerleştirilmiştir. Kolona 50 µL PureLink Genomik Ayırma Tamponu (Genomic Elution Buffer) eklenmiş ve oda sıcaklığında 13,000 rpm'de 1 dk

santrifüjlenmiştir. Burada Genomik Ayırma Tamponu eklenirken, kolonun tam ortasındaki noktaya eklenmesi gereklidir. Eppendorf tüpü, saflaştırılan genomik DNA'nın yoğun halini içermektedir.

8. DNA örneklerini 1-2 gün içerisinde kullanılacağı durumlar için +4°C'de, uzun süre sonra kullanılacağı durumlar için ise -20°C'de muhafaza edilmiştir. Bir miktar DNA'nın spin kolonda kalma ihtimaline karşı kolonlar bir tane daha steril 1.5 mL' lik eppendorf tüpüne yerleştirilmiş ve 50 µL Genomik Ayırma Tamponu eklenerek oda sıcaklığında 13,000 rpm'de 1,5 dk santrifüjlenmiştir.
9. İkinci eppendorf tüpü, saflaştırılan genomik DNA'nın daha seyrek halini içermektedir. Bu DNA örnekleri de 1-2 gün içerisinde kullanılacağı durumlar için +4°C'de, uzun süre sonra kullanılacağı durumlar için ise -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Elde edilen saf DNA'ların kalitesini kontrol etmek için agaroz jel elektroforezi gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA'nın jel elektroforeziyle görüntülenmesi için %0,8'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Bunun için jelin döküleceği elektroforez tankındaki kasetin mL cinsinden hacminin %0,8'i kadar agaroz, hassas terazi ile gram cinsinden ölçülmüştür. Ardından kasetin aldığı hacim kadar 1X TBE Buffer, bir erlenin içine eklenmiş ve içerisine ölçülen agaroz eklenerek hafifçe sallayarak karıştırılmıştır. Erlenin ağzı, alüminyum folyo ile sıkıca bağlamamak suretiyle kapatılıp mikrodalga fırında ısınmaya koyulmuştur. Jel kaynamaya başladığından itibaren dakikada bir kontrol edilmiştir. Çözünmemiş agaroz partikülleri yok olana kadar bu süreç devam etmiştir. Jel hazır olduğunda köpük oluşturmayacak kadar hafif sallanarak soğuk suyun altında soğutulmuştur. Bu süreçte yüksek sıcaklıktan dolayı köpük oluşmaması için hava alması amacıyla erlenin ağzındaki alüminyum folyo çıkarılmıştır. Hazırlanan jel hacminin yaklaşık %6-7'sine denk gelecek değer kadar µL cinsinden etidyum bromür, sıvı haldeki ılık jele eklenmiş ve karışması için köpük oluşturmayacak kadar hafif sallanmıştır. Elektroforez kasetine uygun kuyucuk taraklarının eklenmesinin ardından jel, elektroforez kasetine dökülerek yaklaşık 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Döküm sırasında kuyucuklara yakın veya jelin ortalarında baloncuklar kalma durumunda, pipet ucuyla patlatılmış veya patlatılamıyorsa kasetin sağ veya sol kenarına itilmiştir. Jel katılaştıktan sonra elektroforez tankı, tank üzerinde gösterilen işaretin seviyesine uygun olarak 1X TBE

Buffer ile doldurulmuştur. Jel katılaştıktan sonra kaset, tanka yerleştirilmiştir. Kuyucuk taraklarının çıkarılmasının ardından, DNA yürümesini engelleyebilme ihtimaline karşı, kuyucukların üzerinde veya yakınlarındaki baloncuklar pipet ucuyla uzaklaştırılmıştır. Ardından örneklerden 2-3 µL, DNA'ların yürümesini görüntülemek için kullanılan uygun boyadan 3 µL alınarak birbiriyle karıştırılmış ve kuyucuklara eklenmiştir. İşlem tamamlandıktan sonra jel yürütme kaynağı 100 Volt'a ayarlanarak 30-45 dk boyunca örnekler yürütülmüştür. Ardından jel görüntüleri UV transillüminatör ve jel görüntüleme sistemi kullanılarak incelenmiştir.

3.5.2. İzolatların 16S rRNA Geninin PCR Amplifikasyonları ve Analizi

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), 1980'lerde Kary Mullis tarafından geliştirilen bir yöntemdir. PCR, DNA polimerazın kalıp DNA'ya tamamlayıcı olan yeni DNA zincirinin sentezlemesine dayanır. PCR için kullanılan DNA polimeraz, daha önceden var olan bir 3'-OH grubuna bir nükleotid ekleyebildiği için, ilk nükleotidi ekleyebileceği bir primere ihtiyaç duymaktadır. Bundan dolayı bu yöntem, istenilen bölgeye spesifik başlangıç ve bitiş primerleri kullanılması durumunda, çalışılması hedeflenen bölgenin spesifik amplifikasyonunu sağlamaktadır. PCR reaksiyonunun sonunda, ampikon adı verilen milyonlarca spesifik dizi kopyası elde edilmektedir (Garibyan & Avashia, 2013). Çalışılan Antarktik izolatların bakteri grubuna ait olmasından dolayı, onların cins düzeyindeki taksonomik analizleri için 16S rRNA gen bölgesi hedeflenmiştir. 16S rRNA gen bölgesi bakteriler arasında gerek işlevselliği bakımından, gerek korunmuş bölgeleri bakımından, gerek korunmuş bölgeler içerisindeki değişken bölgeler bakımından cins düzeyinde ayrımı sağlamakta güven veren evrensel bir gen bölgesi olarak kabul edilmektedir (Sarıçam & Müştak, 2015). PCR amplifikasyonu sırasında enzim olarak içerisinde Taq Polimeraz, dNTP'ler ve divalent katyonlar bulunduran GoTaq Hot Start Master Mix (Promega) ve primer olarak 27F (Lane, 1991) ve 1525R (Lane, 1991) primerleri kullanılmıştır.

16S rRNA gen bölgesinin PCR amplifikasyonu için bileşenler hazırlanırken kullanılan içerikler:

- GoTaq Hot Start Master Mix: 25 µL
- 10 mM 27F primer: 1 µL
- 10 mM 1525R primer: 1 µL

- Nükleaz içermeyen su: 21 µL
- DNA: 2 µL

Primerler kullanılmadan önce 100 mM konsantrasyonlu stok primerler, nükleaz içermeyen su kullanılarak 10 mM konsantrasyonuna seyreltilmişlerdir. Bunun için 100 mM'lık stok primerlerden 10'ar µL alınarak yeni eppendorf tüplerine aktarılmış ve üstlerine 90 µL nükleaz içermeyen su eklenerek, seyreltilmiş 10 mM konsantrasyonlu primerler hazırlanmıştır. Primerler hazırlandıktan sonra 2'şer µL DNA örnekleri küçük PCR tüplerine konmuştur. DNA'lara kalan bileşenler eklemekten önce ana PCR Mix hazırlanması gerekir. Bunun için kullanılacak her bir bileşen, pipetin pipetaj ayarından kaynaklanan farkları önlemek için örnek sayısından bir fazla ile çarpılmıştır. Daha sonra ise elde edilen miktarlar kadar bileşenler steril bir eppendorf tüpünde birleştirilmiştir. Bileşenler eklenirken çok hafif pipetaj yapılarak, pipet ucunda kalan bileşenlerin Mix içerisinde karışması sağlanmıştır. Ardından ana Mix'ten 48 µL alınarak 2 µL DNA bulunan PCR tüplerine eklenmiş ve karışması için çok hafif pipetaj yapılmıştır. Böylece toplamda örnek başına 50 µL'lik PCR reaksiyon tüpleri hazır olmuştur. PCR tüpleri, reaksiyonun gerçekleşmesini sağlayacak özel bir cihaz olan Thermal Cycler (Bio Rad) içerisine düzgün bir şekilde yerleştirilerek, kapaklarının kapalı olduğundan emin olunmuştur. Ardından PCR protokolü başlatılmıştır. 16S rRNA bölgesinin amplifikasyonu için PCR protokolü; 2, 3 ve 4. adımlarının 30 defa tekrar edildiği:

1. Ön denatürasyon: 95°C, 2 dakika
2. Denatürasyon: 95°C, 1 dakika
3. Bağlanma: 55°C, 1,5 dakika
4. Uzama: 72°C, 3 dakika
5. Son Uzama: 72°C, 10 dakika
6. Bekletme: 4°C, ∞

adımlarından oluşmaktadır. PCR'ın ardından, PCR ürünleri 1-2 gün içerisinde kullanılacağı durumlar için +4°C'de, uzun süre sonra kullanılacağı durumlar için ise -20°C'de muhafaza edilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin kalitesini kontrol etmek için agaroz jel elektroforezi gerçekleştirilmiştir. Bunun için genomik DNA için agaroz jel elektroforezi bölümünde bahsedilen süreç ile benzer şekilde devam etmiştir. Örnekler kuyucuklara eklendikten sonra jel yürütme kaynağı 70 Volt'a ayarlanarak 30-45 dk boyunca örnekler yürütülmüştür. Yürütmenin ardından oluşan görüntüde 1500 bp uzunlukta tek bir bandın görülmesi beklenmiştir. PCR ürünlerinin kalite analizinin ardından örneklerin 16S rRNA gen bölgesine bağlı dizilenmesi MacroGen Inc. firması tarafından yapılmıştır. Dizileme primerleri olarak evrensel

518F (Buchholz-Cleven vd., 1997) ve 800R (J. Chun & Goodfellow, 1995) primerlerinin yanı sıra MG5F (J. Chun & Goodfellow, 1995) primeri kullanılmıştır.

3.5.3. 16S rRNA Gen Dizi Verilerinin Analizi ve Filogenetik Ağaçlarının Oluşturulması

16S rRNA gen dizi verileri ChromasPro Version 1.7.6 (Technelysium Pty Ltd) programı kullanılarak primerlere ait okumalar çıkarılmış ve her organizmaya ait FASTA formatında 16S rRNA gen dizileri elde edilmiştir. Suşun filogenetik analizini gerçekleştirmek amacıyla, 16S rRNA gen dizilerinin kalite kontrollü veri tabanlarına karşı kanıtlanmış benzerlik tabanlı aramaları sağlayan EzBioCloud platformunun EzTaxon sunucusunda (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim vd., 2012) çalışılan suşun 16S rRNA gen dizileri yüklenmiştir. Sunucuda bulunan global hizalama algoritmaları kullanılarak izolatların en yakın akraba organizmalarla olan 16S rRNA gen dizi benzerliği belirlenmiştir. 16S rRNA gen dizi verileri NCBI (National Center for Biotechnology Information) GenBank veritabanına kaydedilerek erişim numaraları alınmıştır. İzolatların 16S rRNA gen dizilerine ait NCBI erişim numaraları EK-4'te verilmiştir. Cins düzeyinde tanımlanması yapılan toplam 68 izolatın ve akrabalarının 16S rRNA gen dizilerinin hizalanması yapılmak üzere MEGA X (Kumar vd., 2018) programının ClustelW (Thompson vd., 1994) algoritması kullanılmıştır. Bootstrap testli Neighbor-Joining algoritmasına (Saitou & Nei, 1987) ve Jukes-Cantor modeline göre filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçlar, Neighbor-Joining analizlerinin 1000 kopyasından alınan bootstrap değerleri (Felsenstein, 1985) ile değerlendirilmiştir.

Tablo 3.4. 16S rRNA geninin PCR amplifikasyonlarında ve dizilenmesinde kullanılan primerler

Primer	5'-3' Dizi	Bağlanma aralığı		Kullanıldığı alan	
		5'	3'	PCR	Dizileme
27F	AGAGTTTGATCTGGCTCAG	8	27	x	
1525R	AAGGAGGTGWTCCARCC	1544	1525	x	
518F	CCAGCAGCCGCGTAATACG	518	534		x
800R	TACCAGGGTATCTAATCC	800	782		x
MG5F	AAACTCAAAGGAATTGACGG	907	926		x

3.5.4. Tüm Genom Analizleri ve Dijital DNA-DNA Homolojisi (dDDH)

Tüm genom analizleri için morfolojik olarak ve 16S rRNA geni açısından en yakın akrabalarından ciddi derecede farklılaşmış türler seçilmiştir. Bunun yanı sıra, barındırdığı tür sayısı veya nadirliği açısından düşük olan cins grupları da seçim için

önemli kriterlerden olmuştur. Örneklerin 16S rRNA genine göre elde edilen dizi sonuçlarına bağlı olarak taksonomik analizinin ve cins düzeyinde belirlenmesinin ardından, yeni tür olma potansiyeli yüksek olan 33 izolatın tüm genomu MicrobesNG (Birmingham, İngiltere) firmasına hizmet alımı kapsamında diziletilmiştir. Dizilemeye gönderilen izolatların 27 tanesi saf kültür halinde MicrobesNG özel DNA/ RNA Shield (Zymo Research) Tamponuna aktararak dizilemeye gönderilmiştir. Kalan 6 izolatın ise PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen) kullanılarak genomik DNA'sı izole edilmiş ve dizilemeye gönderilmiştir. Burada DNA izolasyonu sırasında lizozim sindirim çözeltisi Tris-HCl Tamponu (10 mM Tris-HCl pH 8.5) ile hazırlanmış; DNA izolasyonunun son aşamasında Elution Buffer yerine yine Tris-HCl kullanılmıştır. Ardından NanoDrop'ta konsantrasyonları ve saflıkları ölçüldükten sonra, firmadan alınan barkodlar DNA tüplerine yapıştırılarak dizilemeye gönderilmişlerdir. MicrobesNG firması genom dizileme için Illumina HiSeq 2500 yeni nesil dizileme platformunu kullanarak elde ettiği dizi okumalarını .fastq formatında iletmiştir. Dizi okumalarından adaptör kalıntılarının temizlenmesi için Trimmomatic programı (Bolger vd., 2014) kullanılmıştır. Ardından dizi okumalarının genom birleştirme analizi KBase sunucusunda (<https://www.kbase.us/>; Arkin vd., 2018) SPAdes 3.15.3 programı (Bolger vd., 2014) algoritması kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm genomu dizilenen izolatların listesi Tablo 3.5'te verilmiştir. Tüm genom dizi birleştirme verileri NCBI GenBank veri tabanına kaydedilerek erişim numaraları alınmıştır. İzolatların tüm genom dizilerine ait NCBI erişim numaraları EK 4' te belirtildiği gibidir. Tüm genomu dizilenen izolatlardan H27-G8 ve H27-C9'un genom dizi verileri boyut ve dizi kalitesi açısından kontrol edildiğinde ikisinde de fungal kontaminasyon olduğu anlaşılmıştır. Çalışmada incelenen suşları doğru bir şekilde sınıflandırmak ve tüm genom filogenetik ağaçlarını oluşturmak amacıyla, tüm genom dizilerini, bilinen tip suşların tüm genom dizileriyle karşılaştırarak daha sağlam bir tüm genom tabanlı taksonomik sınıflandırma yapan Tip Suşu Genom Sunucusu (TYGS; <https://tygs.dsmz.de/>; Meier-Kolthoff & Göker, 2019) kullanılmıştır. Burada sınıflandırma, dijital DNA-DNA hibridizasyonu (dDDH) ile GBDP yaklaşımına göre oluşturulan filogenomik ağacı FastME 2.1.6.1 (Lefort vd., 2015) algoritması kullanılarak oluşturulmuştur. Genom BLAST Mesafesi Filogenisi yaklaşımı (GBDP), belirli tam (veya eksik) dizili genomlardan filogenetik ağaçların çıkarılması için tasarlanan bir yaklaşımdır. Burada iki genom bir dizi yüksek puanlı

segment çifti (HSP; bunlar intergenomik eşleşmelerdir) üreten BLAST gibi araçlar kullanılarak yerel olarak hizalanır. Daha sonra ise bu HSP'lerde bulunan bilgiler, d_0 ve d_9 'a kadar sıralanan 9 çeşit uzaklık formülünden biri kullanılarak tek bir genom-genom mesafe değerine dönüştürülür. Bunlar arasından en çok kullanılanları d_0 , d_4 ve d_6 'dır. Her bir formül, ilişkilerin farklı yönlerini dikkate almak için tasarlanmıştır. Formül d_6 , d_0 ve d_4 'ün bir tür birleşimidir ve çoğu bilgiyi korur. Ayrıca filogenetik bağlamda en iyi performansı gösterir. Ancak d_4 , genom uzunluklarını dikkate almadığı için eksik dizili genomların neden olduğu sorunlarda daha yüksek performans gösterir (Meier-Kolthoff vd., 2013). Bu çalışmada, d_4 formülü baz alınarak filogenetik ilişkilendirme yapılmıştır. Genomik ağacın altta yatan genom verileri, GBDP mesafe formülü ve algoritma hakkında bilgileri görüntülemektedir. Genomik ağacın sağ tarafında, türler (species cluster) ve tür altı (subspecies cluster) kümeleri, genomik G+C içeriği (%), δ değerleri (düşük delta değeri yüksek doğruluğu ifade eder), toplam dizi uzunluğu (bp), protein sayısı ve suşun kullanıcı tarafından sağlanıp sağlanmadığına dair gösterge bulunmaktadır.

Tablo 3.5. Tüm genomu dizilenen izolatların listesi

No	Organizma
1	<i>Streptomyces</i> sp. G-G2
2	<i>Rhodococcus</i> sp. G-MC3
3	<i>Salinibacterium</i> sp. G-O1
4	<i>Streptomyces</i> sp. H10-C2
5	<i>Arthrobacter</i> sp. H14-L1
6	<i>Amycolatopsis</i> sp. H20-H5
7	<i>Streptomyces</i> sp. H27-C3
8	<i>Streptomyces</i> sp. H27-D2
9	<i>Streptomyces</i> sp. H27-G5
10	<i>Streptomyces</i> sp. H27-H1
11	<i>Streptomyces</i> sp. H27-H5
12	<i>Streptomyces</i> sp. H27-S2
13	<i>Rhodococcus</i> sp. H29-C3
14	<i>Streptomyces</i> sp. H34-AA3
15	<i>Streptomyces</i> sp. H34-S4
16	<i>Streptomyces</i> sp. H34-S5
17	<i>Arthrobacter</i> sp. H35-D1
18	<i>Arthrobacter</i> sp. H35-MC1
19	<i>Rhodococcus</i> sp. H36-A4
20	<i>Microbacterium</i> sp. H37-C3
21	<i>Streptomyces</i> sp. H39-C1
22	<i>Micrococcus</i> sp. H39-S4
23	<i>Streptomyces</i> sp. H39-S7
24	<i>Streptomyces</i> sp. PH10-H1
25	<i>Cryobacterium</i> sp. PH29-G1
26	<i>Cryobacterium</i> sp. PH31-AA6
27	<i>Cryobacterium</i> sp. PH31-L1

Tablo 3.5. Tüm genomu dizilenen izolatların listesi (devam)

No	Organizma
28	<i>Cryobacterium</i> sp. PH31-O1
29	<i>Pseudarthrobacter</i> sp. PH31-O2
30	<i>Pseudarthrobacter</i> sp. PH39-S1
31	<i>Pseudarthrobacter</i> sp. PS3-L1

3.5.5. Biyoinformatik Analizler

İzolatların dizi bilgilerinden yola çıkarak toksik bileşiklere direnç, invazyon ve hücre içi direnç gibi mekanizmalarla ilişkili genomik fonksiyonlarının incelenmesi ve mevcut veritabanlarıyla karşılaştırılması amacıyla genom anotasyonu RAST sunucusunda (<https://rast.nmpdr.org>; Aziz vd., 2008) gerçekleştirilmiştir. İzolatların insan patojeni olup olmadığını incelemek üzere Genomik Epidemiyoloji Merkezi (CGE) üzerinden Pathogen Finder (<https://cge.food.dtu.dk/services/PathogenFinder/>; Cosentino vd., 2013) algoritması ile analiz edilmiştir. Ayrıca izolatların sekonder metabolit üretiminden sorumlu olduğu ve biyoteknolojik açıdan önemli biyosentetik gen kümelerinin (BGC) analizi AntiSMASH (<https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>; Blin vd., 2023) sunucusunda; BGC'lere yakın konumlanan genler ve antimikrobiyal direnç genleri ARTS sunucusunda (<https://arts.ziemertlab.com/index>; Mungan vd., 2020) analiz edilmiştir.

3.6. Fenotipik Karakterizasyon

3.6.1. Kültürel ve Morfolojik Özellikler

Yeni tür olma ihtimali yüksek bazı aktinobakteriler, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7 (Shirling & Gottlieb, 1966), Bennett's Agar (Jones, 1949), Czapek's Dox Agar (Weyland, 1969), Nutrient Agar (DSMZ Besiyeri No. 1) ve Tryptic Soy Agar (DSMZ Besiyeri No. 535) besiyerlerine ekilmiştir. Burada test suşları, 2 mL'lik Ringer's çözeltisinde süspanse edildikten sonra uygun besiyerlerine 200 µL eklenmiş ve 17°C'de 14 gün inkübasyona bırakılmıştır. Ardından organizmaların gelişim özellikleri inkübasyon boyunca 7. ve 14. günlerde kontrol edilerek değerlendirmeye alınmıştır. Kullanılan besiyerleri EK-2'de belirtildiği gibidir. Burada organizmaların substrat miselyum rengi, varsa hava miselyum rengi, varsa çözünür pigment rengi ve gelişim gibi özellikleri incelenmiş, ISCC-NBS renk kataloğuna göre kategorize edilmiştir.

Tablo 3.6. Nümerik çalışmalarında kullanılan testler

Besinsel Testler	
<u>Azot Kaynakları (% 0.1)</u>	<u>Biyokimyasal Testler</u>
1. L-Alanin	44. Allantoin
2. L-Asparajin	45. Arbutin
3. L-Fenilalanin	46. Askülin
4. L-Glisin	47. H ₂ S
5. L-Hidroksiprolin	48. Nitrat
6. L-Histidin	49. Üre
7. L-İzölösin	
8. L-Metionin	
9. L-Prolin	
10. L-Serin	
11. L-Sistein	
12. L-Tirozin	
13. L-Treonin	
<u>Karbon Kaynakları (%1)</u>	<u>Fizyolojik Testler</u>
14. D-Adonitol	<u>Sıcaklık Toleransı (°C)</u>
15. D-Arabinoz	50. 4°C
16. Dekstran	51. 10°C
17. Dekstrin	52. 20°C
18. D-Fruktoz	53. 28°C
19. D-Galaktoz	54. 37°C
20. D-Glikoz	55. 45°C
21. D-Mannoz	56. 50°C
22. D-Meleziyoz	<u>pH Toleransı</u>
23. D-Melibioz	57. pH: 4
24. D-Raffinoz	58. pH: 5
25. D-Sellobioz	59. pH: 6
26. İnülin	60. pH: 7
27. L-Glutamin	61. pH: 8
28. L-Ramnoz	62. pH: 9
29. L-Sorboz	63. pH: 10
30. Maltoz	64. pH: 11
31. myo-inositol	65. pH: 12
32. Sükroz	<u>NaCl Toleransı (% w/v)</u>
33. Süksinik asit	66. % 1 NaCl
<u>Degredasyon Testleri (%)</u>	67. % 2 NaCl
34. Guanin (%0.05)	68. % 3 NaCl
35. Hipoksantin (%0.4)	69. % 4 NaCl
36. Jelatin (%0.4)	70. % 5 NaCl
37. Kazein (%1)	71. % 6 NaCl
38. Kitin (%0.4)	72. % 7 NaCl
39. Ksantin (%0.4)	73. % 8 NaCl
40. Ksilen (%0.4)	74. % 9 NaCl
41. Nişasta (%1)	75. % 10 NaCl
42. Tween 20 (%1)	76. % 11 NaCl
43. Tween 40 (%1)	77. % 12 NaCl
	78. % 13 NaCl
	79. % 14 NaCl
	80. % 15 NaCl

3.6.2. Nümerik Karakterizasyon

Nümerik karakterizasyon için seçilmiş yeni tür olma ihtimali yüksek aktinobakteriyel izolatlar besinsel, biyokimyasal ve fizyolojik testlerden oluşan, toplam 80 karakter bakımından test edilmiştir (Tablo 3.6). Kullanılan besiyerleri EK-2’de belirtilmiştir. Besiyerleri hazırlanmadan önce besiyerlerinin içerisindeki seçici faktörler (azotlar, karbonlar, degradasyon ajanları ve tuzlar) belirtilen konsantrasyonlarda 25 mL saf suyun içinde çözdürülerek, 50 mL’lik otoklav şişesine aktarılmıştır. Ardından 3 gün boyunca süren tindalizasyon sürecinden geçmiştir. Bu yöntem, besiyerlerini buhar sayesinde sterilize etmeye dayanır ve ardındaki temel mantık çimlenen sporlara sahip vejetatif hücrelerin 100°C’de öldürülebilmesidir (Brown vd., 1979). Ardından seçici faktörler ilgili bazal besiyerlerine eklenmiştir. Besinsel testler, degradasyon testleri ve fizyolojik testlere uygun besiyerlerinin hazırlanmasının ardından test suşlarının inokülasyonu, Multipoint Inokülatör (Order Code SCAN 400, Mast Group Ltd., Merseyside, UK) kullanılarak yapılmıştır. Burada test suşları otomatik pipet yardımıyla 2 mL’lik steril Ringer’s çözeltilerine aktarılmış, vorteks yardımıyla süspanse edilmiş ve inokülatöre aktararak uygun besiyerine inokülasyonu sağlanmıştır. Ardından 17°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Degradasyon testleri için ise uygun besiyerleri 5 mL’lik tüplere 2 mL olacak şekilde eklenerek sterilize edilmiş, ardından 45° yatay şekilde konumlandırılarak soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan besiyerlerine test suşlarından otomatik pipet yardımıyla 50 µL eklenerek inokülasyonları sağlanmıştır. Ayrıca bazı suşların farklı karbon kaynaklarını kullanabilme ve inhibitör maddeler varlığında gelişebilme özellikleri Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından Biolog GenIII MicroPlate™ mikropalakaları kullanılarak belirlenmiştir.

3.6.2.1. Biyokimyasal Testler

Test suşları biyokimyasal testler için allantoin (Gordon vd., 1974), arbutin (Kutzner, 1976), askülin (Kutzner, 1976) ve üre hidrolizi (Korn-Wendisch & Kutzner, 1992), H₂S üretimi (Küster & Williams, 1964) ve nitrat redüksiyonu (Gordon & Mihm, 1962) açısından analiz edilmiştir. 17°C’de 7 gün inkübasyonun ardından inokülasyonu gerçekleştirilmemiş negatif kontrollerle karşılaştırılarak kaydedilmiştir. Test sonuçlarının değerlendirmesi besiyerindeki renk değişimine göre incelenmiştir. Allantoin testi için allantoin hidrolizine bağlı olarak demir iyonlarıyla

tepkime sonucunda negatif kontrolden farklı ve koyu pembe rengine dönüşen izolatlar; arbutin testi için negatif kontrolden farklı ve koyu kahverengi-siyah renge dönüşen izolatlar; askülin testi için negatif kontrolden farklı ve kahverengi/siyah renge dönüşen izolatlar; üre testi için negatif kontrolden farklı ve parlak pembe/kırmızı renge dönüşen izolatlar pozitif (+) kabul edilmiştir. H₂S üretimi testinde izolatlardan, H₂S üretimine bağlı olarak demir iyonlarıyla tepkime sonucunda siyah renge dönüşenler pozitif (+) kabul edilmiştir. Nitrat redüksiyonu testinde ise inokülasyonun ardından A ve B sölüsyonu (Goodfellow, 1971) eklenen tüplerden kırmızı renge dönüşenler pozitif (+) kabul edilmiştir. Burada kırmızı rengin oluşumu nitrat redüksiyonuna bağlı olarak ortamda nitritin varlığına işaret eder. Ancak renk değişiminin olmaması nitratın daha ileri aşamalarda redükte olduğunu veya hiç redükte olmadığını gösterir. Bundan dolayı renk değişimi olmayan tüplere nitrat redüktaz aktivitesine benzer etkinlik gösteren çinko tozu ilave edilmiştir. Çinko eklendikten sonra renk değişimi yoksa nitratın nitrojene dönüştüğü, kırmızı renge dönüşüm varsa da nitratın redükte olmadığı kabul edilmiştir.

3.6.2.2. Degradasyon Testleri

Test suşları degradasyon testleri için Guanin (%0.05), Hipoksantin (%0.4), Jelatin (%0.4), Kazein (%1), Kitin (%0.4), Ksantin (%0.4), Ksilen (%0.4), Nişasta (%1), Tween 20 (%1) ve Tween 40 (%1) degradasyonu açısından (Williams vd., 1983) 17°C’de inkübasyonun ardından analiz edilmiştir. Tween 20 ve Tween 40 degradasyonu için Pepton Agar (Nash & Krent, 1991) bazal besiyerleri kullanılırken, diğer degradasyonlar için Bennett’s Agar (Jones, 1949) kullanılmıştır. Nişasta ve kitin besiyerlerine doğrudan eklenip 121°C’de 25 dakika otoklavlanırken, diğer maddeler tindalize edilerek bazal besiyerlerine eklenmiştir. İnkübasyonun 7. gününde nişasta ve jelatin, 30. gününde guanin ve ksantin, 14. gününde ise diğer testler kontrol edilmiştir. Test suşlarının etrafında açık bir zon oluşmuşsa pozitif (+), zon oluşmamışsa negatif (-) olarak kabul edilmiştir. Nişasta testinde inkübasyonun 7. gününde Lugol’s iodin çözeltisi petriye tüm besiyerini kaplayacak ince tabaka şeklinde dökülmüştür. Nişastanın varlığında iyodun damlatılması, besiyerini koyu maviye çevirir. Bu bağlamda suşların etrafında açık bir zon oluşmuşsa pozitif (+), zon oluşmamışsa ve mavi besiyeri varsa negatif (-) olarak kabul edilmiştir. Tween 20 ve 40 testinde inkübasyonun 14. gününde test suşlarının etrafında opak bir halka oluşmuşsa pozitif (+), zon oluşmamışsa negatif (-) olarak kabul edilmiştir. Jelatin

testinde inkübasyonun 7. gününde trikloroasetik asit solüsyonu (% 3) petriye tüm besiyerini kaplayacak ince tabaka şeklinde dökülmüş, test suşlarının etrafında opak bir halka oluşmuşsa pozitif (+), zon oluşmamışsa negatif (-) olarak kabul edilmiştir. Kitin degradasyonunda inkübasyonun 14. gününde test suşlarının etrafında açık zon oluşmuşsa pozitif (+), zon oluşmamışsa negatif (-) olarak kabul edilmiştir.

3.6.2.3. Besinsel Testler

Test suşları besinsel testleri için karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme açısından 17°C'de 14 gün inkübasyonun ardından analiz edilmiştir. Karbon kaynakları testi için ISP9 bazal besiyeri (Shirling & Gottlieb, 1966), azot kaynakları testi için ise azot kaynağı bazal besiyeri (Williams vd., 1983) kullanılmıştır. Her iki kaynak testinde negatif kontrol olarak sadece bazal besiyeri kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise karbon kaynakları testi için D-glikoz içeren bazal besiyeri ve azot kaynakları testi için L-asparajin içeren bazal besiyeri kullanılmıştır. Test suşlarının gelişim açısından pozitif kontrol plağındaki gelişmeye yakın olanları pozitif (+), negatif kontrol plağındaki gelişmeye yakın olanları negatif (-) olarak kabul edilmiştir.

3.6.2.4. Fizyolojik Tolerans Testleri

Test suşları besinsel testleri için farklı değerlerde pH, farklı konsantrasyonlarda NaCl ve farklı sıcaklıkları tolere edebilme açısından analiz edilmiştir. NaCl ve pH tolerans testleri için farklı NaCl konsantrasyonları ve pH değerleriyle modifiye edilmiş ISP2 besiyeri kullanılıp, 17°C'de 14 gün inkübasyonun ardından değerlendirilmiştir. Sıcaklık tolerans testi için modifiye edilmemiş ISP2 kullanılıp 4°C, 10°C, 20°C, 28°C, 37°C, 45°C ve 50°C'de 14 gün inkübasyonun ardından değerlendirilmiştir. Test suşlarından gelişim gösterenler pozitif (+), gelişim göstermeyenler negatif (-) olarak kabul edilmiştir.

3.7. Kemotaksonomik Karakterizasyon

Kemotaksonomik karakterizasyonun yapılması amacıyla seçilmiş, yeni tür olma ihtimali yüksek aktinobakteriyel izolatlar için polar lipid, respiratuar izoprenoid kinon, diaminopimelik asit ve tüm hücre şekeri analizi yapılmıştır. Kemotaksonomik karakterizasyonun yapılması için bakteriyel biyokütlenin toplanması gerekmektedir. Biyokütlenin toplanması için biyokütlesi alınacak örnekler bulundukları katı besiyerinden, hazırlanan steril sıvı besiyerlerine steril kürdan ve öze yardımı ile

inoküle edilmiştir. Ardından örnekler, 17°C'lik çalkalamalı inkübatöre bırakılarak gelişimleri iki haftaya kadar izlenmiştir. Çalkalamalı inkübatörler, organizmaların ve besinlerin sıvı besiyeri içerisinde homojen dağılmasını ve sürekli bir oksijen sirkülasyonunun gerçekleşmesini sağlayarak, organizmaların besin ve oksijene ulaşabilmesini sağlamaktadır. İyi gelişen örnekler daha sonra, biyokütlenin elde edilmesi için yıkanmıştır. Yıkanmanın amacı, örneklerin besiyeri ve diğer çevresel maddelerden uzaklaştırılıp saf halinde elde edilmesini sağlamaktır. Bunun için, iyi gelişen örnekler inkübatörden alınarak bir kontaminasyonun olmadığından emin olmak için NZA besiyerlerine kontrol ekimleri yapılmıştır. Ardından örnekler, isimlerinin yazıldığı steril falkon tüplerine dökülmüşlerdir. Falkon tüpleri 10.000 rpm'de 5 dk boyunca santrifüj edilmişlerdir. Ardından pellet bırakılarak, süpernatant uzaklaştırılmıştır. Örneklerin bulunduğu erlenlerin tamamı bitene kadar bu süreç tekrarlanmıştır. Organizmalara ait tüm pellet elde edildikten sonra yıkanmak üzere %0.8'lik NaCl solüsyonu pellete eklenmiştir. NaCl solüsyonu pellete eklendikten sonra iyice karıştırılarak, pelletin solüsyon içinde homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Ardından falkon tüpleri 10.000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmişlerdir. Burada da santrifüj sonrası pellet bırakılarak, süpernatant uzaklaştırılmıştır. NaCl solüsyonu ile yıkama süreci iki kere tekrarlanmıştır. Son olarak pelletin tüm tuz ve kalıntılardan uzaklaştırılması için steril distile su ile benzer şekilde yıkaması ve santrifügasyonu gerçekleştirilmiştir. Distile su ile yıkama süreci tek tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ardından süpernatant uzaklaştırılarak, örnekler dondurulmak üzere -20°C'ye bırakılmışlardır. Yıkama sonrası elde edilen saf donmuş pelletlerin, arta kalan sudan uzaklaştırılması ve kuru bir biyokütle eldesi için liyofilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama sonrası -20°C'ye bırakılan örnekler alınarak, donuk bir haldelerken -80°C sıcaklık ve 0.0002 mBar basınç altında 3 gün boyunca liyofilize edilmiştir. Liyofilizasyonun ardından falkon tüplerinin ağızları sıkıca bağlanıp, karanlık ve oda sıcaklığındaki bir ortama bırakılarak fenotipik ve kemotaksonomik analizler için hazır hale getirilmiştir. Oda sıcaklığına bırakılmasının nedeni, daha düşük sıcaklıkta bırakılma durumunda örneklerin nemleneceği ve tekrardan liyofilize edilmesi gerekeceğidir.

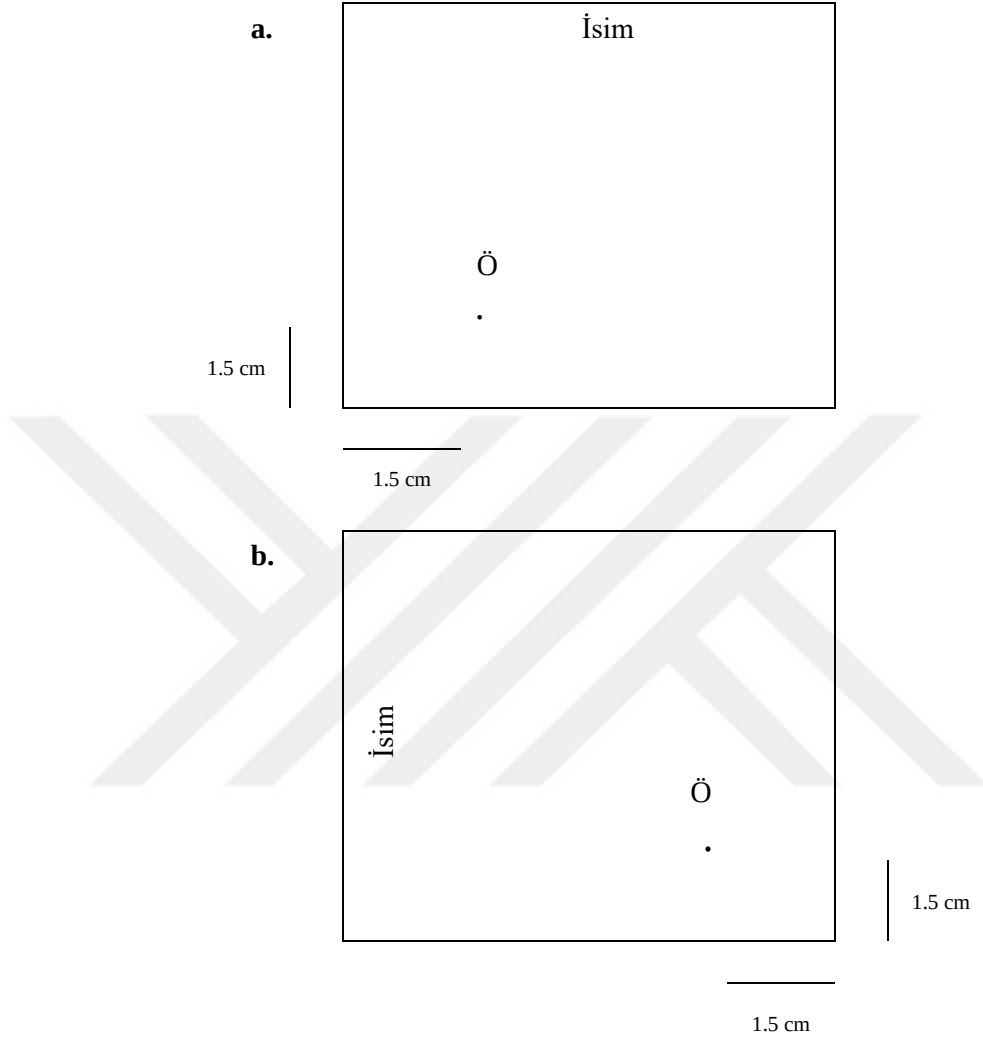
3.7.1. Polar Lipit Analizi

İzolatların polar lipit analizi için Minnikin vd. (1984) tarafından tanımlanan ve Kroppenstedt & Goodfellow (2006) tarafından modifiye edilen yöntem

kullanılmıştır. Burada yaklaşık 100 mg liyofilize örnek 10 mL teflon kapaklı bir tüpe eklenmiştir. Örnek başına 2 mL sıvı metanol (sıvı metanol: 90 mL metanol + 10 mL %0,3 sıvı NaCl) ve 2 mL petrol eter (K.S: 60-80°C) eklenerek rotorda 15 dk döndürülmüştür. Ardından oda sıcaklığında 1800 rpm'de 5 dk santrifüjlendikten sonra üst faz izoprenoid kinon analizi için ayrı bir teflon kapaklı tüpe yerleştirilmiştir. Santrifüjlenen polar lipid tüpündeki sıvı faza 1 mL petrol eter (K.S: 60-80°C) eklenmiş, rotorda 15 dk rotorda döndürülmüş ve 1800 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası üst faz izoprenoid kinon analizi için yeniden ayrılmış ve izoprenoid kinon analizi için ayrılan teflon kapaklı -20 °C'de saklanmıştır. Polar lipid tüpündeki alt faz bir vorteks ile karıştırılarak 5 dk boyunca 99°C'lik su banyosunda ısıtılmış, ardından 37°C'de 5 dk boyunca soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan tüplere 2,3 mL CHCl_3 - CH_3OH -%0,3 NaCl (90:100:30 v/v) eklenerek, 1 saat boyunca rotorda döndürülmüştür. Ardından 1800 rpm'de 5 dk santrifüjlendikten sonra solvent temiz bir 10 mL'lik teflon kapaklı bir tüpe aktarılmıştır. Pellete 0,75 mL CHCl_3 - CH_3OH - %0,3 NaCl (50: 100: 40 v/v) eklenerek 30 dk rotorda döndürülmüş ve oda sıcaklığında 1800 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Ardından sıvı fazlar birleştirilmiş ve kombine ekstraktlara 1,3 mL CHCl_3 + 1,3 ml %0,3 NaCl eklenerek 2700 rpm'de 20 saniye vortekslenmiştir. Vorteksin ardından oda sıcaklığında 1800 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiş ve alt faz doğrudan bir evaporatör tüpüne (Fiolax Schott tüpü) aktarılmıştır. Alt faz, 40°C'lik su banyosuna sahip evaporatörde kuruyana kadar konsantre edilmiş ve son kalıntı 0,4 mL CHCl_3 - CH_3OH (2:1) içinde çözündürülerek küçük vial tüplere transfer edilmiştir. Ardından vial tüpler yürütme için -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Polar lipid profilinin belirlenmesi için 2-boyutlu ince-tabaka kromatografisi gerçekleştirmek üzere, organizma başına dört kromatografi plakası (Silika-gel No.1.05721, Merck; 10x10 cm) kullanılmıştır. Pastör pipeti yardımıyla plakaların köşesine 20 µl lipid örnekleri yüklenmiş ve saç kurutma makinesiyle kurutulmuştur. Örnek ismi plakanın üst kısmına yazılmıştır. Ardından ilk yürütme için CHCl_3 : CH_3OH : distile su (65:25:4 v/v) içeren kromatografi tankına plaklar yerleştirilmiştir ve solvent tepeden 1 cm geriye ulaşana kadar yürütülmüştür. İlk yürütmede plaka, isim sağda kalacak şekilde 90° döndürülerek yürütülmüştür. Birinci yürütmenin ardından, ikinci yürütme için CHCl_3 : glacial asetik asit: CH_3OH : distile su (80:12:15:4 v/v) içeren kromatografi tankına plaklar yerleştirilmiştir ve aynı şekilde

solvent tepeden 1 cm geriye ulaşana kadar yürütülmüştür. İkinci yürütmede ise plaka, isim üstte kalacak şekilde düzgün pozisyonunda yürütülmüştür. Yürütmenin ardından plakalar çeker ocak altında 30 dk kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.1. Polar lipidlerin yürütülmesi için tasarlanan TLC plakası temsili çizimi: a. ikinci yürütme, b. birinci yürütme; ö: örnek

Plaka 1: Amino- Gruplarının Tespiti

Aseton veya metanol içinde bulunan %0,2 ninhidrin plakaya püskürtülmüştür. Plaka kuruyana kadar çeker ocak altında kurutulduktan sonra 80°C'deki inkübatörde 10 dk bekletilmiş ve oda sıcaklığında soğutulduktan sonra incelenmiştir. Amino-gruplar plakalarda pembe lekeler şeklinde görülmektedir. Plakalar tarayıcı ile taranarak amino- grup profilleri kaydedilmiştir.

Plaka 1: Fosfo- Gruplarının Tespiti

4,5 M sülfürik asit (1:1) ile seyreltilmiş %1,3 molibden mavisi, aminolipit tespiti için kullanılan plakaya püskürtülmüştür. Plaka kuruyana kadar çeker ocak altında oda sıcaklığında kurutulduktan sonra incelenmiştir. Fosfo- gruplar plakalarda mavi noktalar şeklinde görülmektedir. Plakalar tarayıcı ile taranarak fosfo- grup profilleri kaydedilmiştir.

Plaka 2: Gliko- Grupları Tespiti

40.5 mL etanol, 4 mL dH₂O, 6.5 mL konsantre sülfürik asit ve 10.5 mL α -naftol (etanolda 15 g/L) karışımından oluşan α -nafto-sülfürik asit plakaya püskürtülmüştür. Plaka çeker ocak altında kurutulduktan sonra 80°C'deki inkübatörde 10 dk bekletilmiş ve oda sıcaklığında soğutulduktan sonra incelenmiştir. Gliko-gruplar plakalarda kahverengi lekeler şeklinde görülmektedir. Plakalar tarayıcı ile taranarak gliko- grup profilleri kaydedilmiştir.

Plaka 3: Tüm Lipitlerin Tespiti

%5 etanol içinde bulunan molibdatofosforik asit (Sigma P1518, Merck 100480) plakaya püskürtülmüştür. Plaka kuruyana kadar çeker ocak altında kurutulduktan sonra 150°C'deki inkübatörde 20 dk bekletilmiş, ardından 170°C'deki inkübatörde 20 dk daha bekletilmiştir. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra incelenmiştir. Lipitler plakalarda siyah noktalar şeklinde görülmektedir. Plakalar tarayıcı ile taranarak lipit profilleri kaydedilmiştir.

Plaka 4: Kolin Gruplarının Tespiti

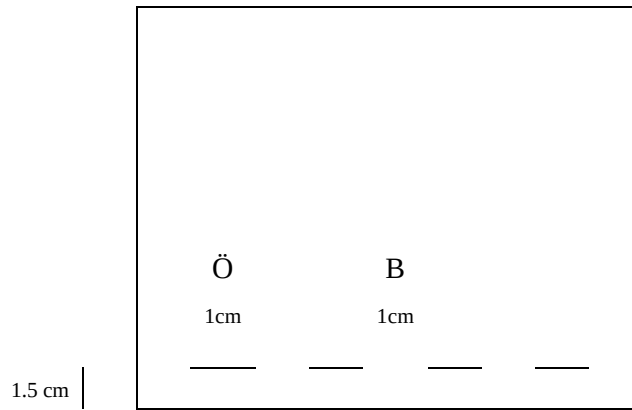
3,5 M asetik asit içinde 0,11 M potasyum iyodür ve 0,6 mM bizmut subnitratından oluşan Dragendorff reaktifi plakaya püskürtülmüştür. Plaka çeker ocak altında oda sıcaklığında kurutulduktan sonra incelenmiştir. Kolin gruplar plakalarda sarı-turuncu lekeler şeklinde görülmektedir. Plakalar tarayıcı ile taranarak kolin grup profilleri kaydedilmiştir.

3.7.2. Diaminopimelik Asit (DAP) Analizi

İzolatların diaminopimelik asit analizi için Staneck & Roberts (1974) tarafından tanımlanan yöntem kullanılmıştır. Burada yaklaşık 10 mg liyofilize örnek 1.5 mL'lik steril eppendorf tüplerine eklenmiştir. Örnek başına 200 μ L 6N HCl eklenerek 100°C'lik ısı blokunda 16 saat bekletilmiştir. Ardından örnekler 2000

rpm'de 5 dk santrifüj edilerek süpernatant yeni 1.5 mL'lik eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Ardından örnekler, 65°C'lik ısı blokunda eppendorf kapağı açık olacak şekilde buharlaştırılmış ve son kalıntı 0,1 mL steril distile suda çözündürülerek yürütme için -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Diaminopimelik asit profilinin belirlenmesi için ince-tabaka kromatografisi gerçekleştirmek üzere kromatografi plakası (TLC selüloz cam tabaka, Ref 809013; 20x20 cm) kullanılmıştır. Yürütmeyi iyileştirmek için plakanın her iki kenarından yaklaşık 0.5 cm boydan çizgi çekilmiştir. Ateş ile kılcal hale getirilmiş pastör pipeti yardımıyla plaka başına 9 örnek 1 cm genişlikte pipet ucu kadar yüklenmiş ve çeker ocak altında kurutulmuştur. Ardından yürütme için metanol: distile su: 6N HCl: piridin (80:26:4:10 v/v) içeren kromatografi tankına plaklar yerleştirilmiştir ve solvent plakanın tepesinden 2 cm geriye ulaşana kadar (yaklaşık 3 saat) yürütülmüştür. Yürütmenin ardından plakalar çeker ocak altında 10-15 dk kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan plakaya aseton içinde çözünmüş %2'lik ninhidrin reaktifi püskürtülmüştür. Plaka çeker ocak altında kurutulduktan sonra 100°C'deki inkübatörde 5 dk bekletilmiş, ardından amino asitler görünür hale gelmiştir. Örnekler standartlarla karşılaştırılarak izomer tipleri belirlenmiştir.



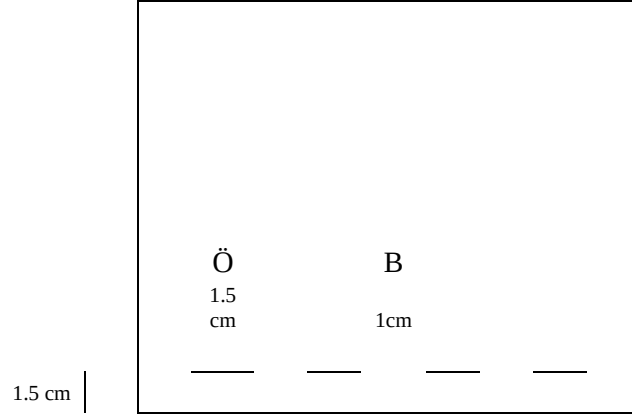
Şekil 3.2. Diaminopimelik asitlerinin yürütülmesi için tasarlanan TLC plakası temsili çizimi: ö: örnek, b: boşluk

3.7.3. Tüm Hücre Şeker Analizi

İzolatların tüm hücre şeker analizi için Lechevalier & Lechevalier (1970) tarafından tanımlanan yöntem kullanılmıştır. Burada yaklaşık 50 mg liyofilize örnek 10 mL teflon kapaklı bir tüpe eklenmiştir. Örnek başına 1 mL 1N H₂SO₄ eklenerek

95°C'lik su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. Oda sıcaklığında soğuduktan sonra, otomatik pipet yardımıyla 1 mL doymuş Ba(OH)₂ eklenmiş ve 10 mL'lik bir behere aktarılmıştır. Ardından beher içerisindeki solüsyon sürekli karıştırılma eşliğinde doymuş Ba(OH)₂ veya 1N H₂SO₄ çözeltileri eklenerek pH 5,0-5,5'e ayarlanmıştır. pH ayarlanırken behere genelde 1 mL daha Ba(OH)₂ eklendiğinde pH seviyesi ortalama 4'lere gelmektedir. Bu noktadan sonra pH aniden oynayabileceğinden dolayı çözeltiler yavaş yavaş eklenmiştir. Ardından şeker örnekleri 50 mL'lik falkon tüplerine eklenerek oda sıcaklığında 1800 rpm'de 5 dk santrifüj edilmişlerdir. Santrifügasyondan sonra yeni falkon tüplerine aktarılan örnekler 45° açıyla -20°C'de 1 gece dondurulmuş ve 2 gece boyunca liyofilize edilmiştir. Son kalıntılar 0,5 mL distile su ile çözündürülmüş ve 1.5 mL'lik eppendorf tüplerine transfer edilmiştir. Ardından örnekler 13.000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Santrifügasyondan sonra süpernatant yeni bir eppendorf tüpüne aktararak +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Tüm hücre şeker profilinin belirlenmesi için kromatografi tankı, çözücüye doymun homojen bir ortam oluşturmak için 1 gün önceden hazırlanmıştır. Burada tankın her iki tarafına 2 şerit filtre kağıdı (10x10 cm) yerleştirilmiş ve etil asetat: piridin: distile su (100:35:25 v/v) çözeltilisi tanka eklenmiştir. İnce-tabaka kromatografisi gerçekleştirmek üzere kromatografi plakası (TLC selülüz cam tabaka, Ref 809013; 20x20 cm) kullanılmıştır. Pastör pipeti yardımıyla plaka başına 6 örnek ve 2 standart (Standart 1 ve Standart 2: %1 Ramnoz, %1 Riboz, %1 Ksiloz, %1 Arabinoz, %1 D-mannoz, %1 D-(+) glikoz, %1 galaktoz) 1,5 cm genişlikte 5 µl kadar yüklenmiş ve çeker ocak altında kurutulmuştur. Ardından yürütme için kromatografi tankına plaklar yerleştirilmiştir ve solvent plakanın tepesinden 1 cm geriye ulaşana kadar (yaklaşık 2 saat) yürütülmüştür. Yürütmenin ardından plakalar çeker ocak altında 10-15 dk kurumaya bırakılmış ve 2 saat daha yürümeye bırakılmıştır. Yürütmenin ardından plakalar çeker ocak altında kurutulmuş ve kuruyan plakaya anilin ftalat reaktifi püskürtülmüştür. Plaka çeker ocak altında kurutulduktan sonra 105°C'deki inkübatörde 5 dk bekletilmiş, şekerler görünür hale gelmiştir. Örnekler standartlarla karşılaştırılarak şeker türleri belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Tüm hücre şekerlerinin yürütülmesi için tasarlanan TLC plakası temsili çizimi: ö: örnek, b: boşluk

4. BULGULAR

4.1. Toprak, Sediment ve Su Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri

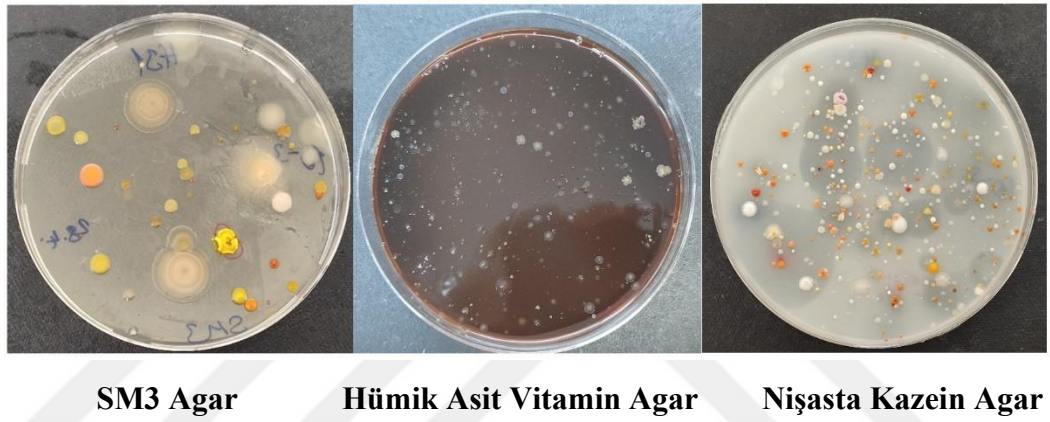
Antarktika Horseshoe Adası'nda 23 lokaliteden alınan toprak, sediment ve su örneklerinin pH değerleri Tablo 4.1'deki gibidir. Örneklerin pH değerleri tipik olarak 7.2 ile 8.47 arasında ve baziktir. Bunun yanı sıra H18, NAN ve S örnekleri nötre yakın asidik iken, H14 örneği diğerlerine kıyasla daha asidiktir.

Tablo 4.1. Aktinobakterilerin izolasyonu için kullanılan çevresel örneklerin pH değerleri

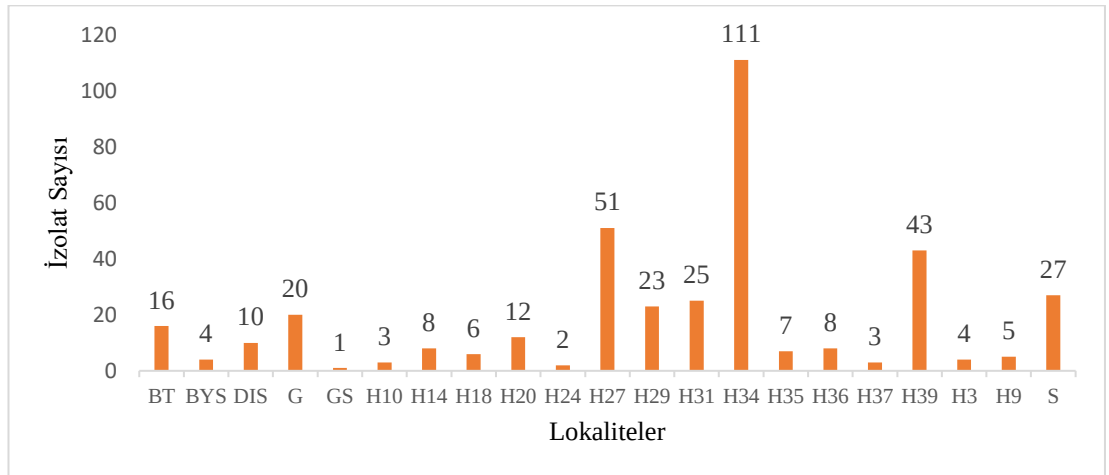
Örnek kodu	Örnek cinsi	pH
H10	Sediment	7.2
H14	Toprak	6.97
H18	Sediment	6.1
H20	Toprak	7.6
H27	Toprak	8.01
H29	Sediment	8.08
H3	Toprak	8.16
H31	Sediment	7.76
H34	Toprak	8.46
H35	Sediment	7.76
H36	Sediment	7.51
H37	Kaya	7.6
H39	Kaya	8.47
H9	Toprak	8.11
BSY	Sediment	7.07
BT	Toprak	8.6
BYY	Toprak	7.46
DIS	Toprak	8.34
G	Sediment	7.47
GS	Su	8.27
NAN	Sediment	6.68
LİV	Toprak	7.47
S	Su	6.8

4.2. İzole Edilen Aktinobakteri Suşları, PCR Amplifikasyonları ve Dizi Analizi

23 lokasyona ait toprak, sediment ve su örneklerinden aktinobakteri izolasyonu için 18 farklı seçici izolasyon besiyeri +17°C ve +4°C’de bir ay boyunca inkübasyona bırakılarak, aktinobakterilere spesifik morfolojilere sahip koloniler izole edilmiştir. Bu bağlamda EK-5’te bazı örneklerinin gösterildiği toplam 389 izolatin saf kültürleri elde edilerek stokları alınmış ve -20°C ve -80°C sıcaklıklarda muhafaza edilmiştir. Bazı izolasyon petrileri Şekil 4.1’de görülmektedir. Örneklerin izole edildikleri lokasyonlara göre dağılımı Şekil 4.2’deki gibidir.



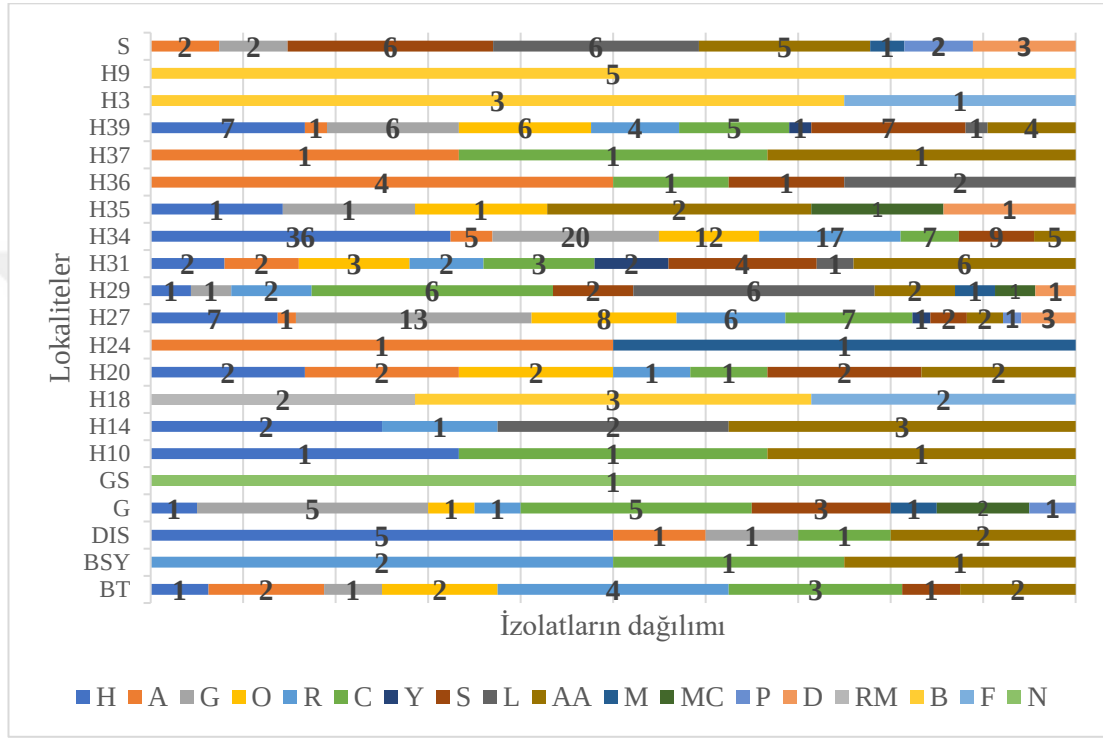
Şekil 4.1. İzolasyonda kullanılan bazı besiyerlerinin petri görüntüleri



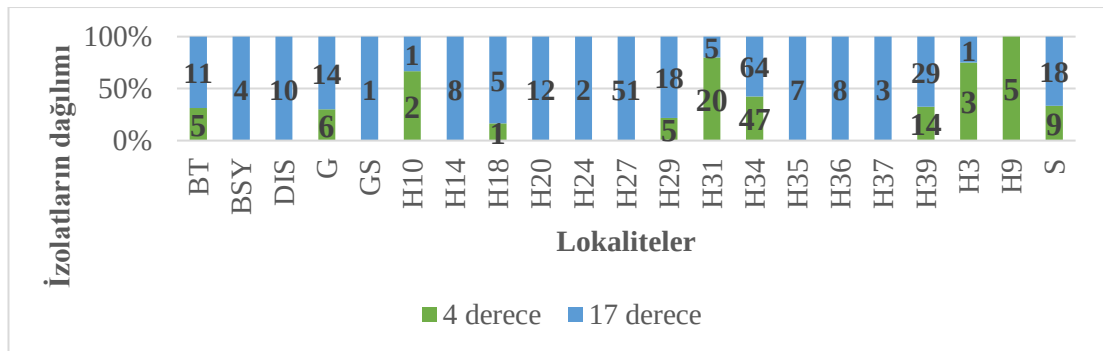
Şekil 4.2. İzole edilen örneklerin lokasyonlara göre dağılımı

Şekil 4.3’te görüldüğü üzere elde edilen izolatların çok önemli bir kısmı (111 izolat) H34 toprak örneğinden izole edilmiştir. Ardından en çok izolatin elde edildiği örnek H27 toprak örneğidir (51 izolat). En az izolatin elde edildiği örnek ise GS su

örneğidir (1 izolat). Ayrıca izole edilen örneklerin çok büyük bir kısmı Hümik-asit vitamin agar besiyerinden (66 izolat), en az izolasyonu sağlayan besiyeri ise N-Z-Amine besiyeridir (1 izolat). Şekil 4.4'te görüldüğü üzere en çok suşun izole edildiği sıcaklık 17°C'dir. Her iki sıcaklıkta da en çok izolat H34 örneğinden izole edilmiştir. H34 örneğinden sonra en çok izolat 17°C için H27 sediment örneğinden, 4°C için H31 sediment örneğinden izole edilmiştir.



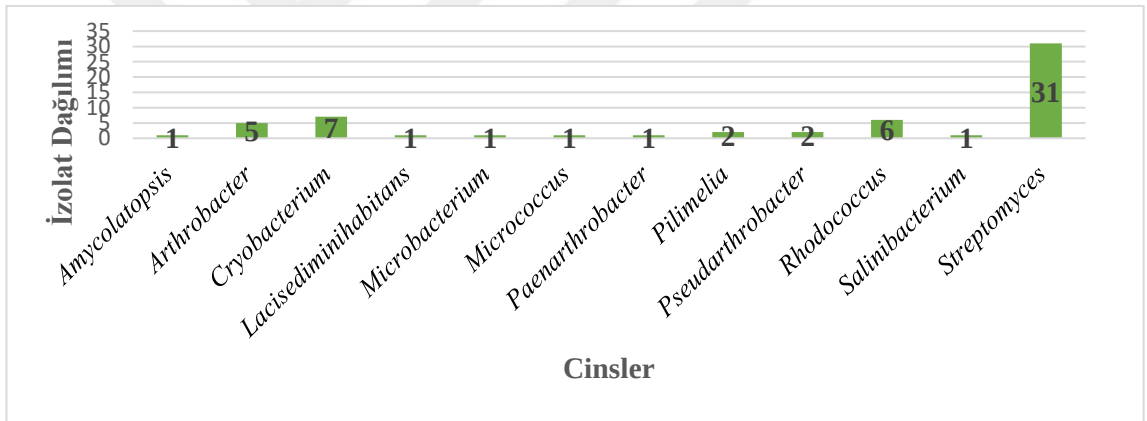
Şekil 4.3. İzolatların besiyerleri ve lokasyonlara göre dağılımı.



Şekil 4.4. İzolatların inkübe edildiği sıcaklıklara ve izole edildiği lokasyonlara göre dağılımı

Antarktika Horseshoe Adası'ndan izole edilen örneklerin 16S rRNA gen dizi analizine göre 68 izolat; *Algoriphagus*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Cryobacterium*, *Deinococcus*, *Flavobacterium*, *Hymenobacter*, *Lacisediminihabitans*, *Massilia*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Paenarthrobacter*, *Planococcus*, *Pseudarthrobacter*,

Rhodococcus, *Salinibacterium*, *Sphingomonas*, *Streptomyces* ve *Variovorax* olmak üzere 20 farklı cinsten dağılım göstermektedir. Bu cinslerden *Algoriphagus*, *Flavobacterium* ve *Hymenobacter* cinsleri *Bacteroidota*; *Deinococcus* cinsi *Deinococcota*; *Massilia*, *Sphingomonas* ve *Variovorax* cinsleri *Pseudomonadota*; *Planococcus* cinsi *Bacillota* üyesi iken; *Amycolatopsis* (1 izolat), *Arthrobacter* (5 izolat), *Cryobacterium* (7 izolat), *Lacisediminihabitans* (1 izolat), *Microbacterium* (1 izolat), *Micrococcus* (1 izolat), *Paenarthrobacter* (1 izolat), *Pseudarthrobacter* (2 izolat), *Rhodococcus* (6 izolat), *Salinibacterium* (1 izolat) ve *Streptomyces* (33 izolat) cinsleri *Actinomycetota* filumunun üyeleri olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5). Yapılan 16S rRNA gen dizi analizine göre aktinobakteri üyelerinden G-G2, G-MC3, H10-C2, H14-L1, H20-H5, H27-A1, H27-C3, H27-D2, H27-G8, H35-AA1, H35-D1, H35-MC1, H37-C3, PG-G2 ve PH10-H1 izolatlarının en yakın tip türleri ile 16S rRNA gen dizi benzerlik oranının %99'un altında olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Antarktika Horseshoe Adası aktinobakteriyel izolatlarının cinslere göre dağılımı.

Antarktika Horseshoe Adası'nın aktinobakteri çeşitliliği çalışmaları sonucunda elde edilen toplam 389 izolat, GYM ve NZ-Amine besiyerlerindeki miselyumu rengi, çözünebilir pigment üretimi, substrat miselyum rengi gibi morfolojik özelliklerine göre incelenerek renk gruplarına ayrılmıştır. Bu izolatlar arasında 59'unun aktinobakteri olduğu toplam 68 örnek, bulunduğu grubun temsilcisi olarak kabul edilmiş ve 16S rRNA dizilemesi yapılmak üzere DNA izolasyonu ve ardından 16S rRNA genine bağlı PCR'ı gerçekleştirilmiştir. Ardından 16S rRNA dizi analizi ile morfolojik analizler sonucunda yeni tür potansiyelindeki farklı 36 koloninin tüm genom dizilemesi gerçekleştirilmiştir.

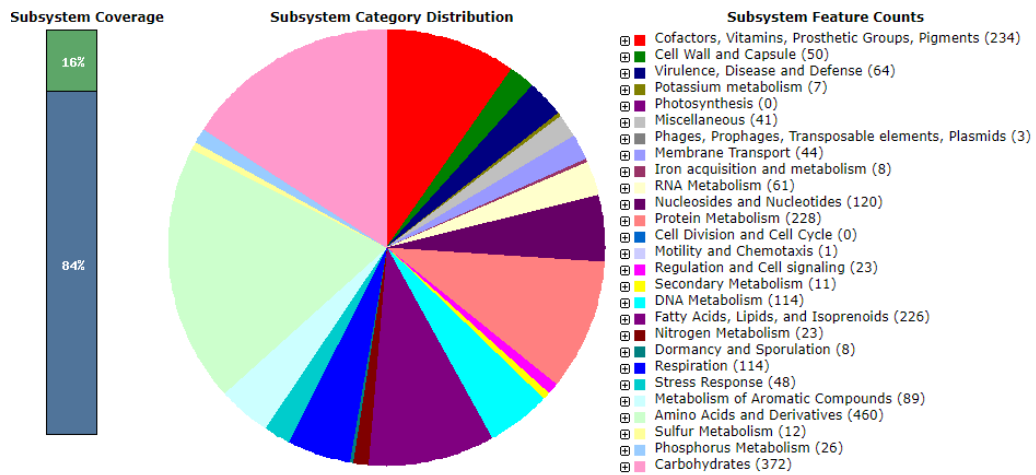
4.3. *Amycolatopsis* cinsi

4.3.1. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 İzolatının Genom Özellikleri

Genom birleştirme raporu incelendiğinde, toplam 307 kontigden oluşan bir profil ortaya çıkmıştır. Bu kontiglerden 21'i ≥ 100000 bp; 173'ü $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 96 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp arasındadır. Tüm kontiglerin toplam uzunluğu 10.034.247 bp olup, bunlardan en büyüğü 211.683 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi beklendiği üzere %68,9'dır. N_{50} değeri 64.644 bp ve L_{50} değeri 44'tür.

H20-H5 suşunun RAST platformu ile genom anotasyonu gerçekleştirildiğinde, Şekil 4.6'da görüldüğü gibi, dizilerin %16'sı belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %84'lük sistemler ise RAST platformunda belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. RAST platformu ile genom anotasyonu gerçekleştirildikten sonra rapor incelendiğinde, kontiglerin sayısı 307, genom uzunluğu 10,034,247 bp, GC %68,9 ve N_{50} ve L_{50} değerleri sırasıyla 53,557 bp ve 54 olduğu görülmektedir. Ayrıca, RAST raporunda, kodlama yapan 10069 dizinin, 61 RNA'nın ve 316 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. Genel olarak organizmanın tanımlanabilen fonksiyonel 1532 gen grubu içerisinde 46'sı antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 18'i invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 64 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Ayrıca sekonder metabolizma açısından 2'si antibiyotiklerden virülans faktörlerine kadar çeşitli görevlere sahip tiyazol-oksazol-modifiye mikrosinlerin (TOMM) sentezi ve 9'u lantionin biyosentezinde görevli toplam 11 bölgesi bulunmaktadır. Profaj dizileri mozaik olduğundan ve birçok varsayımsal proteini kodladığından, bakteri genom dizilerinde profajları tanımlamak zordur. İntegrazlar genellikle tanınabilecek kadar korunur. Çoğu fajın bir integras geni olmasına rağmen, bir profajın varlığını kanıtlamak için gerekli ve yeterli bir koşul değildir. Profajlar terminaz, portal proteini, baş olgunlaşma proteazı, zarf proteini, kuyruk uzunluk kayıtlayıcı protein gibi bazı faj-virion montaj proteinlerini barındırır (Srividhya vd., 2007). H20-H5 suşunun faj, profaj, yer değiştirebilen (transposable) element veya plazmide bağlı fonksiyonları açısından incelendiğinde faj terminaz büyük alt birimine bağlı faj paketleme mekanizmalarından sorumlu ve faj endolizine bağlı faj parçalama modüllerinden sorumlu bir mekanizması bulunmaktadır. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan faj bütünleştirici aile proteini, faj kuyruk uzunluk kayıtlayıcı proteini T, faj şok proteini A, faj

rekombinasyon proteini Bet, faj baş morfogenez proteini, faj proteini, faj kuyruğu düzeneği benzeri protein, faj integras, faj kuyruğu kılıf proteini FI, makrofaj enfeksiyon güçlendirici madde ile ilgili protein, faj pentapeptit tekrar ailesi proteini ve faj Gp37Gp68 ailesi proteini genleri bulundurmaktadır. Bu genlerin varlığı, H20-H5 izolatının bir profajla enfekte olabileceğini göstermektedir. Diğer yandan, bir profaj enfeksiyonunun olması durumu söz konusu olduğu için muhtemelen CRISPR dizilerinin de bulunması gerekmektedir. Subsystem dışı bölgeleri incelendiğinde 104. kontigde 13 spacer ve 14 CRISPR tekrar dizileri ile 157. kontigde Cse1 ailesi CRISPR ile ilişkili protein gözlemlenmiştir. Ayrıca H20-H5 suşu, yüksek miktarda transpozaz geni kodlamaktadır. Transpozon hareketi, mutasyonlara neden olabilir, gen ekspresyonunu değiştirebilir, kromozom yeniden düzenlemelerini indükleyebilir ve kopya sayılarındaki artış nedeniyle genom boyutlarını büyütebilir. Bu nedenle, gen ve genom evrimi için önemli bir katkı olarak kabul edilirler (Gao vd., 2015). Transpozazlar, ya transpozisyonlar sırasında bitişik genleri dahil ederek ya da çoklu kopyalarda bulunarak genetik rekombinasyonu sağlayarak genomik yeniden düzenlemeleri ve gen duplikasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu açıdan incelendiğinde transpozazlar genom plastisitesinde ve adaptasyonda büyük roller taşımaktadır (Vigil-Stenman vd., 2017). Bakterilerde yatay gen transferinde plazmidler ve konjugatif transpozonlar çok önemlidir.



Şekil 4.6. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

Virülans genleri incelendiğinde, protein sentezinde (16S [S12p, S7p, translasyon elongasyon faktörü G, translasyon elongasyon faktörü Tu] ve 23S ribozomal proteinler [L35p, L20p, translasyon elongasyon faktörü 3] yer alan *Mycobacterium* virülans operonu; DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium*

virölans operonu (DNA bağımlı RNA polimeraz beta alt birimi); yağ asidi biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virölans operonu (asil taşıyıcı protein olan 3-oksoasil sentaz ve propiyonil-CoA karboksilaz beta zinciri) ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virölans operonunun varlığı (kinolinat sentetaz, L-aspartat oksidaz, kinolinat fosforibosiltransferaz) saptanmıştır. İnvazyon genlerinin varlığı, enfeksiyona neden olabileceği varsayımını düşündürmektedir. Ayrıca translasyon elongasyon faktörü G ve Tu'nun genomda iki bölgede bulunduğu görülmektedir. Bu durumda bu suşun, evölüsyonun bir noktasında *Mycobacterium* ile bir yatay gen transferi gerçekleştirebileceğini söylese bile, daha doğru yorum farklı sunucularda bu genlerin filogenetik olarak aktarıldığının incelenmesi ile yapılabilir. Diğer yandan, birden fazla kopya muhtemelen hücre içi fonksiyonlarını gerçekleştirme sürecinde çok miktarda gen ürününe ihtiyaçtan kaynaklanmaktadır. Ancak çoğunlukta bu operonlar, birçok organizmada bulunabilirler ve bu virölans operonlarının yatay gen transferiyle aktarıldığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bir çalışmada (Rosas-Magallanes vd., 2006), özellikle aktinobakteriler arasında bu operonun *Mycobacterium tuberculosis* kompleksine ve atasal *Mycobacterium tuberculosis* türlerine özgü olduğunu görülmüştür. Elde edilen veriler, bu operonun *M. tuberculosis* kompleksinin klonal benzeri evriminden önceki son evrimsel darboğazdan önce, *M. tuberculosis*'in atası tarafından yatay olarak elde edildiğine dair güçlü kanıtlar sağlamıştır. Genomik imza profili ayrıca aktarımın plazmit aracılı olduğunu ve operonun bir γ -proteobakteri donör türünden kaynaklandığını ileri sürmüştür. Kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virölans operonunun varlığı sayesinde, insanda bir enfeksiyona neden olduğunda endotoksin üretebilme özelliğinin olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu operonlar olsa bile, bu organizmanın kesin bir patojen olabilme özelliğini gösterebilmesi için daha geniş çeşitlilikte patojenite genlerinin incelenmesi gereklidir. Çünkü *Mycobacterium* virölans operonları, sadece korunmuş dizi olarak kalıp, işlev göstermeyebilirler.

Mikroorganizmanın stres cevabı açısından RAST platformunda incelendiğinde, özellikle oksidatif stresten sorumlu 23 gen, ozmotik stresten sorumlu 6 gen, selenit ve selenat detoksifikasyonunda rol alan 3 gen, sigmaB-dimetilarjinin metabolizması-bakteriyel hemoglobin stres cevabından sorumlu 151 gen ve periplazmik stres cevabında rol alan bir gen görülmektedir. Özellikle oksidatif stres ve çeşitli stres koşullarında dirençliliği sağlayan sigmaB stres cevabından sorumlu genlerin olması,

mikroorganizmanın bulunduğu ortam ile alakalı olduğunu düşündürmektedir. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit tuzu degradasyonu, benzoat degradasyonu, p-Hidroksibenzoat degradasyonu, gentisat degradasyonu, salisilat ester degradasyonu, salisilat ve gentisat katabolizması, aromatik amin katabolizması, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, aromatik bileşik degradasyonunun homojenleştirme yolağı, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı ve beta-ketoadipat yolağının protokateşik asit dalından oluşan mekanizmalar görülmektedir. Soğuk şok proteinleri, soğuk aktif enzimler, antifriz proteinleri, ekzopolisakkaritler ve pigmentler gibi soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde herhangi özel bir mekanizmaya sahip olmadığı görülmüş ancak CSp ailesi soğuk şok proteinine ait beş diziye sahip olduğu görülmüştür.

H20-H5 izolatu antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından RAST platformunda incelendiğinde tetrasiklin ve florokinolon direnci, β -laktamaz aktivitesi, bakır ve civa direnci ile toleransı, kobalt-çinko-kadmiyum direncinin varlığı gözlemlenmiştir. Suşun florokinolon direnci incelendiğinde, tek kopyalı DNA giraz A ve B altbirimleri genleri gözlemlenmektedir. Bu durum, muhtemelen DNA giraz A ve B alt birimlerini genlerinin kromozomal mutasyonları sonucu florokinolon direnci oluştuğunu göstermektedir. Diğer yandan tetrasiklin antibiyotiğine karşı direnç incelendiğinde, translasyon elongasyon faktörü G ve ribozom koruma tipi tetrasiklin direnci ile ilgili proteinlerin varlığı gözlemlenmiştir. β -laktamaz aktivitesinde β -laktam halkasını parçalayan β -laktamaz süper ailesi III'ün metale bağımlı hidrolaz aktivitesinin bulunduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra alt sistem dışı bölgelerde vankomisin direnci, tellür direnci, glioksalaz/bleomisin direnci, arsenik direnci, organik hidroperoksit direnci, akriflavin direnci ve çoklu ilaç direnci pompaları ile ilgili genler gözlemlenmiştir.

Amycolatopsis sp. H20-H5 suşu, sekonder metabolit üretimi açısından AntiSMASH platformunda incelendiğinde, sekonder metabolitlerin biyosentezini yönlendirdiği bilinen bazı proteinler gözlemlenmiştir. Aşağıda görünen Tablo 4.2'de gösterilen bu proteinler başlıca ribozomal olmayan peptit sentetazlar, ribozomal olmayan peptit sentetaz benzeri moleküller, poliketid sentaz, poliketid sentaz benzeri moleküller, lantiopeptid, rantipeptid, terpen, ladderan, lassopeptid, arilpolien, NRP-metalofor, butirolakton, tiyopeptid, tioamititler, ektoin, linaridin, metalofor-NRP, redoks-kofaktör, e-polilizin gibi non-alfa poliaminoasit ve RiPP tanıma elementidir.

Bu çok geniş çeşitlilikte gen kümelerinin bulunduğu toplamda 47 biyosentetik gen kümesinden 2-metilizoborneol, ϵ -poli-L-lizin, geosmin ve ektoin gen kümelerine %100 benzerlik göstermiştir. Bunlardan en önemlisi ektoin ve geosmindir. Ektoin, aşırı tuzluluk, kuraklık, radyasyon, pH ve sıcaklık koşullarının neden olduğu hasara karşı proteinleri ve biyolojik zarları koruma yeteneğine sahip, bakteri kaynaklı bir ekstremolittir (Bilstein vd., 2021). Bu metabolitin varlığı, bakterinin ekstrem koşullarda hayatta kalma ihtimali özelliği olduğunu göstermektedir. Geosmin ise aktinobakterilerin ürettiği, nemli toprağın veya yeni sürülmüş toprağın karakteristik kokusundan sorumlu terpenoiddir (Jiang vd., 2007). Ayrıca terpen biyosentetik kümeleri pigment tipindeki izorenieraten gen kümesine % 62 ve bir siderofor tipindeki scabichelin gen kümesine % 50 benzerlik göstermiştir. Kalan 39 biyosentetik gen kümesi ise yapısı bilinen herhangi bir bileşiğin gen kümesi ile benzerlik göstermemekte veya çok düşük benzerlik göstermektedir. AntiSMASH platformu tarafından bilinen biyosentetik gen kümesine benzerlik oranı yaklaşık %50'nin altında olan veya hiçbir biyosentetik gen kümesine benzemeyen sekonder metabolitlerde, bu durum onların potansiyel olarak yeni bir sekonder metabolit olabileceklerini göstermektedir. Aktivite açısından lantiopeptidler haricinde, bir o kadar önemli olanlar sideroforlardır. Sideroforlar mikroorganizmalar tarafından üretilen ve en önemli işlevi demiri topraktan ayıran ve metal besinini diğer mikroorganizmalara ve bitkilere sağlayan şelatörlerdir. Tıpta, antibiyotiklere dirençli bakterilere antibiyotiği ulaştırmak (Truva atı stratejisi) veya kanser ve sıtma gibi hastalıkları tedavi etmek için kullanılabilir (Khasheii vd., 2021). Scabichelin muhtemelen siderofor özelliğine sahip yeni keşfedilen bir metabolittir (Kodani vd., 2013). H2O-H5 suşunda terpenin bilinen scabichelin biyosentetik gen kümesine %50 benzerliğe sahip olduğundan, bunun tamamen yeni bir siderofor olma ihtimali bulunmaktadır. Ayrıca organizma tarafından siderofor üretimi, bulunduğu ortamdaki düşük demir miktarıyla alakalı olduğu veya bileşik halindeki demirden yararlanabilme kapasitesini artırmak (Lurthy vd., 2020) için olduğu düşünülebilir. NRP tipindeki ve bu sideroforlara benzeyen metabolitlerin bilinen kümelerle BLAST tablosu incelendiğinde albachelin, peucechelin, erythrochelin ve daha birçok siderofor gen kümesine benzerlik gösterdiği görülmüştür. Düşük benzerlikler bu NRPS tipindeki metabolitin yeni bir siderofor türü olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bir önemli görüntü de pigment tipindeki izorenieraten gen kümesine %62'lik benzerlik gözlemlenmesidir. İzorenieraten, su yerine hidrojen sülfid kullanarak

fotosentez gerçekleştiren yeşil kükürt bakterilerinin (*Chlorobium*) kahverengi pigmentli suşlarının ana karotenoidleridir. Bu pigment, anoksijenik fotosentezini sağlayabilmekte ve düşük güneş ışığı koşullarında güneş ışığını toplayan klorofil görevi görebilmektedir (Maresca vd., 2008). Bu durum organizmanın substrat miselyumundaki turuncu pigmentin varlığını açıklayabilir.

Tablo 4.2. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 3.1	NRPS	K-252a	14%
Bölge 4.1	T1PKS		
Bölge 4.2	lanthipeptide-class-i,T2PKS,NRPS	FD-594	19%
Bölge 5.1	T1PKS	tetrocarcin A	4%
Bölge 5.2	T1PKS	thiolutin	8%
Bölge 8.1	T1PKS,NRPS	crochelin A	12%
Bölge 9.1	RiPP-like	granaticin	5%
Bölge 12.1	hglE- KS,linaridin,T2PKS,T1PKS,NRPS,l adderane,lassopeptide	BE-7585A	28%
Bölge 13.1	terpene	2-methylisoborneol	100%
Bölge 17.1	NRP-metallophore,NRPS	albachelin	30%
Bölge 18.1	PKS-like	toxoflavin/ferrenulin	7%
Bölge 19.1	NAPAA,T1PKS	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 22.1	terpene	SF2575	6%
Bölge 23.1	T1PKS	ansaseomycin A/ansaseomycin B	16%
Bölge 25.1	thiopeptide	disgocidine/distamycin/congocidine	23%
Bölge 25.2	T1PKS,other,lanthipeptide-class-iii	amycolamycin A/amycolamycin B	37%
Bölge 26.1	T1PKS	divergolide A/divergolide B/divergolide C/divergolide D	31%
Bölge 30.1	ranthipeptide		
Bölge 31.1	PKS-like,butyrolactone	coprisamide C/coprisamide D	13%
Bölge 33.1	PKS-like,butyrolactone	ulleungmycin	5%
Bölge 36.1	NRPS,NRPS-like	friulimicin A/friulimicin B/friulimicin C/friulimicin D	9%
Bölge 43.1	NRPS	marineosin A/marineosin B	18%
Bölge 43.2	NRPS	paromomycin	5%
Bölge 44.1	NRPS,NRPS-like	omnipectin	14%
Bölge 46.1	T1PKS		
Bölge 48.1	NAPAA		
Bölge 50.1	redox-cofactor	lankacidin C	20%
Bölge 51.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 57.1	NRPS-like,NRPS	matlystatin A	11%
Bölge 63.1	T1PKS,NRPS-like	candicidin	42%
Bölge 68.1	arylpolyene,ladderane,NRPS,NRPS -like	WS9326B/WS9326A/WS9326G/W S9326F	45%
Bölge 77.1	RRE-containing		
Bölge 80.1	terpene	carotenoid	18%
Bölge 83.1	thioamitides		
Bölge 89.1	NRPS	atratumycin	13%
Bölge 92.1	NRPS,NRPS-like	tiacumicin B	9%

Tablo 4.2. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri (devam)

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 107.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 108.1	NRPS,NRPS-like	WS9326B/WS9326A/WS9326G/ WS9326F	20%
Bölge 112.1	T1PKS	67-121C	29%
Bölge 114.1	NI-siderophore	nonactin/monactin/dinactin/trinactin/tetranactin	33%
Bölge 126.1	NRPS	scabichelin	50%
Bölge 142.1	T1PKS	ECO-0501	14%
Bölge 145.1	terpene	geosmin	100%
Bölge 160.1	T1PKS	polyketomycin	4%
Bölge 177.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 192.1	hglE-KS		
Bölge 194.1	terpene	isorenieratene	62%

Bilinen sekonder metabolitlere dizi benzerliğine sahip olmayan veya düşük benzerliğe sahip gruptan bazıları önemlidir. Bunlardan antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahip olanlar incelendiğinde lantiopeptid, terpen, lassopeptid, arilpolien ve tiyopeptid gözlemlenmiştir. Lantiopeptidler, antifungal, antimikrobiyal ve antiviral gibi çeşitli biyoaktiviteler sergileyen, ribozomal olarak sentezlenmiş ve translasyon sonrası modifiye edilmiş peptitlerdir (Lagedroste vd., 2020). Terpenler, kanser ve sıtma dahil olmak üzere birçok hastalıklara karşı güçlü ve spesifik biyolojik aktiviteye sahiptirler. Antiinflamatuvar özellikleri açısından kozmetik ve ilaç gibi birçok alanda kullanılabilecek metabolit türleridir (Del Prado-Audelo vd., 2021). Diğer yandan tiopeptidler bir antibiyotik türüdür. Tiopeptid antibiyotikler, doğal olarak oluşan ve yüksek oranda modifiye edilmiş makrosiklik peptitlerdir ve bunların neredeyse tamamı bakterilerde protein sentezini inhibe eder. Gram-negatif bakterilere karşı çok düşük aktivite gösterirken, Gram-pozitif bakterilere karşı oldukça yüksek aktivite gösterirler (Bagley vd., 2005). Lassopeptidler antimikrobiyal aktivite, enzim inhibisyonu, reseptör bloke etme, antikanser özellikler ve HIV antagonizmi gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir (Cheng & Hua, 2020). Diğer fonksiyonlar açısından homoserin laktonlar ve rantipeptidler bakteriler arası iletişim şekli olan *quorum-sensing*'de rol oynayan önemli metabolitlerdir. Birçok proteobakteri, hücre yoğunluğuna bağlı bir şekilde virülans ve biyofilm oluşumunu koordine etmek için homoserin laktonları kullanır. Homoserin laktonlar ramnolipid, alkalın proteaz, siyanür, elastaz, hemolizin, piyosianin gibi metabolitlerdir; bunlar çeşitli antimikrobiyal biyoaktivitelere sahip, virülans faktörleri görevi alabilecek ve biyoluminesansta rol oynayabilecek bileşiklerdir (Chen vd., 2020; Robson vd.,

1997). Tioamitler tirozin kalıntılarının iyotlanmasını önleyerek T4 sentezini bloke eder (Shehata, 2010). Antibiyotik olma potansiyellerine bakıldığında düşük oranlarda K-252a, FD-594, tetrocarcin A, thiolutin, crochelin A, granaticin, BE-7585A, ansaseomycin A/ansaseomycin B, amycolamycin A/amycolamycin B, marineosin A/marineosin B, paromomycin ve daha bir çok poliketid yapıdaki metabolitler gözlemlenmiştir.

H20-H5 suşu için ARTS sunucusu toplam 9926 gen ve 375 primer metabolizmadan sorumlu genin varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan 44 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 43 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 40 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 59 bölge saptanmıştır. ARTS platformu antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde: glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim, ısı şoku proteini 90, ornitin karbamoiltransferaz, ABC-antibiyotik pompası, beta-laktamaz, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları, proteazom, pentapeptid, kloramfenikol ve vankomisin direnci gibi mekanizmaların da dahil olduğu toplam 43 direnç modeli içerdiğini göstermektedir. Proteazom, alfa ve beta alt birimleri ile alakalı genler gözlemlenmesi, çok büyük ihtimal antibiyotik degradasyonu ile alakalı ilacın ubikinasyonu ve proteazom tarafından parçalanması gibi bir mekanizmadan kaynaklanabilir. Aspartat karbamoiltransferazın gözlemlenmesi, pirimidin biyosentez yolunun doğrudan veya dolaylı olarak durdurulması ile alakalı bir mekanizmadan kaynaklanabilir (Patel vd., 2020). Diğer yandan ornitin karbamoiltransferazın varlığı ise, muhtemelen başka antimikrobiyal ajanların bu molekülü inhibe etmesini engelleyecek bir mekanizma ile alakalıdır (Chen vd., 2015). Bu mekanizma mutasyon sonucu konformasyonel bir değişimle, antibiyotik bağlama bölgesini devre dışı bırakıp, proteinin hücresel işlevselliğini sağlam bırakan bir mekanizma olabilir. DNA polimeraz III, beta alt birimi hem direnç ile alakalı iken ayrıca duplikasyona uğrayan bölge olarak gözükmektedir. Bu durum, DNA polimerazı hedef alan antibiyotiğe dirençli bir mutant bölge ve antibiyotiğe duyarlı yabanıl bir bölgenin var olabileceğini göstermektedir. Bu durum ise, antimikrobiyal ajanın yokluğunda yabanıl bölgenin anlatımı yapılırken, antimikrobiyal ajanın varlığında mutant bölgenin aktive edilebileceği ile açıklanabilir.

Tablo 4.3. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	3079
PF00183.13	HSP90	2855
PF00185.19	OTCace	387
PF00185.19	OTCace	7802
PF00204.20	DNA_gyraseB	955
PF00204.20	DNA_gyraseB	5021
PF00227.21	Proteasome	5973
PF00227.21	Proteasome	5972
PF00364.17	Biotin_lipoyl	9030
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2519
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6311
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4278
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7407
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4615
PF00364.17	Biotin_lipoyl	73
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2425
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3000
PF00521.15	DNA_topoisoIV	954
PF00521.15	DNA_topoisoIV	5020
PF01039.17	Carboxyl_trans	4600
PF01039.17	Carboxyl_trans	4940
PF01039.17	Carboxyl_trans	715
PF01039.17	Carboxyl_trans	1373
PF01039.17	Carboxyl_trans	4277
PF01039.17	Carboxyl_trans	2520
PF01039.17	Carboxyl_trans	6929
PF13599.1	Pentapeptide_4	3783
PF13599.1	Pentapeptide_4	9147
PF13599.1	Pentapeptide_4	6237
PF13599.1	Pentapeptide_4	3207
RF0007	ABC_efflux	4264
RF0007	ABC_efflux	8400
RF0007	ABC_efflux	7014
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	8654
RF0053	ClassA	8183
RF0123	SubclassB1	1791
RF0123	SubclassB1	4973
RF0154	vanR	7604
RF0155	vanS	7603
TIGR00663	TIGR00663	959
TIGR00663	TIGR00663	1392
TIGR00663	TIGR00663	587
TIGR02013	TIGR02013	5765

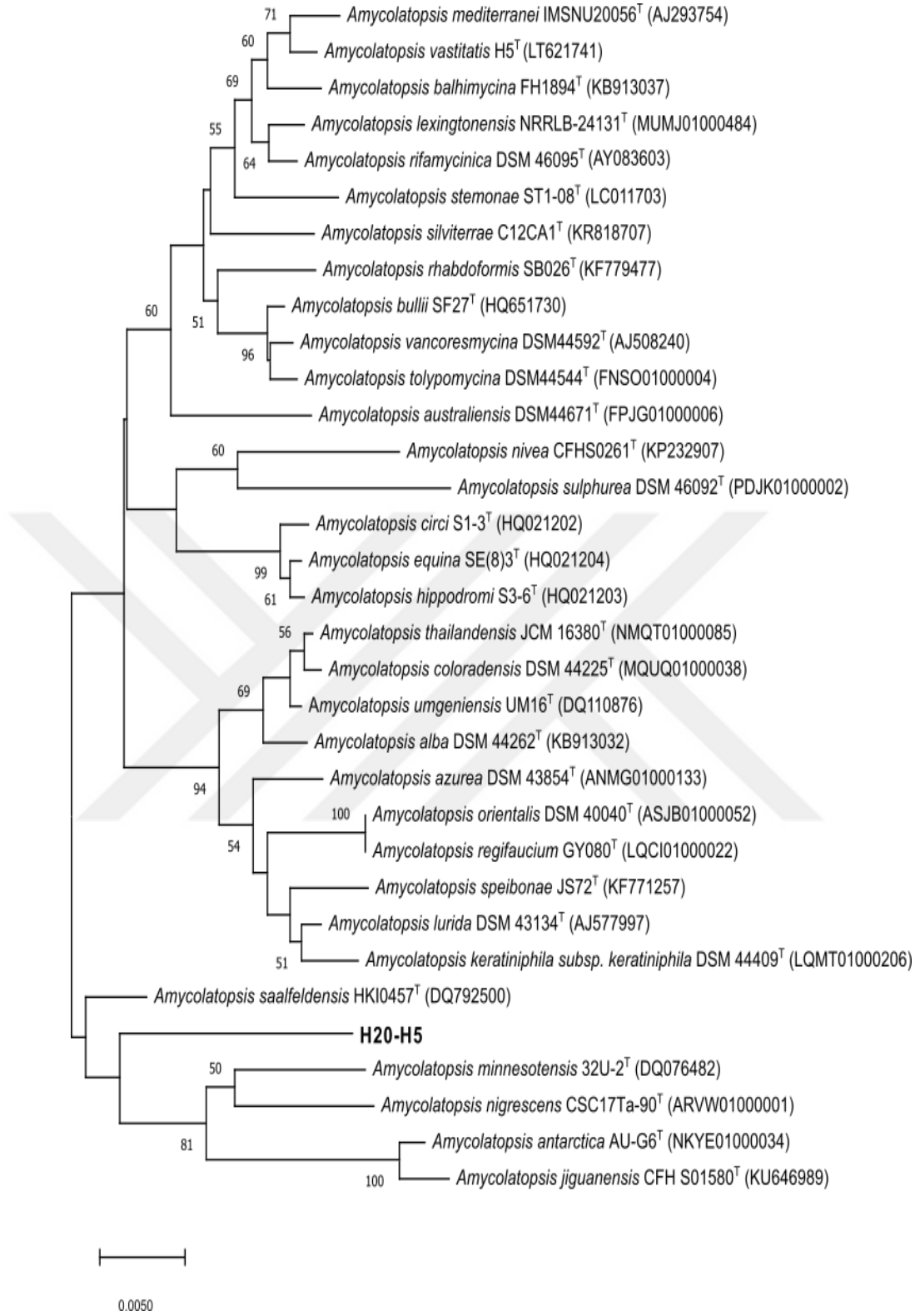
DNA bağımlı-RNA polimeraz, beta alt biriminin varlığı, bu enzimi hedef alan bir antimikrobiyal ajana karşı, o enzimde bir mutasyonun ve konformasyon değişikliğinin varlığı ile açıklanabilir. Piruvat karboksilazın varlığı, β -laktam gibi bazı antibiyotiklere karşı, piruvat karboksilazın yapısında baskılayıcı mutasyonların varlığının sağlanması ile açıklanabilir (Whiteley vd., 2017). Tek kopyalı DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV'ün varlığı, bu enzimlerin yapılarında bir mutasyon ile açıklanabilir. ARTS platformunda pentapeptid genlerinin varlığı görülmektedir. Bu

yapılar, tek başlarına antibiyotik direnci oluşturan yapılardır. Ayrıca glikopeptid direnç genlerinin transkripsiyonel düzenleyicisi olan *vanS* geni ve hücrenin hayatta kalmasında rol oynayan HSP90 ısı şoku proteini (şaperon) bulunmaktadır.

ARTS sonucunda *hisS*, *panD* gibi bazı genler hem duplikasyona uğramış hem de biyosentetik gen kümelerine yakın konumlanmıştır. BGC yakınlığı ve duplikasyon varlığı, çok büyük ihtimal organizmanın kendisinin bir antimikrobiyal ajan üretimi sırasında kendi metabolik yollarını bozmamak adına bir koruma mekanizması olarak ortaya çıkmış olabilir. Diğer yandan hem BGC yakınlığı hem de duplikasyon varlığı ve gen transferiyle alım özelliği incelendiğinde ise, muhtemelen var olan duplikasyon ve BGC'ye yakınlığı durumu, antimikrobiyal ajan üretimi becerisinin ve korunma mekanizmasının gen transferiyle elde edilmesinden kaynaklanmaktadır. Tek bir özellik taşıma açısından incelendiğinde ise sadece duplikasyona uğrayan genlerin varlığı, muhtemelen hücre içi fonksiyonlarını gerçekleştirme sürecinde çok miktarda gen ürününe ihtiyaçtan kaynaklanmaktadır.

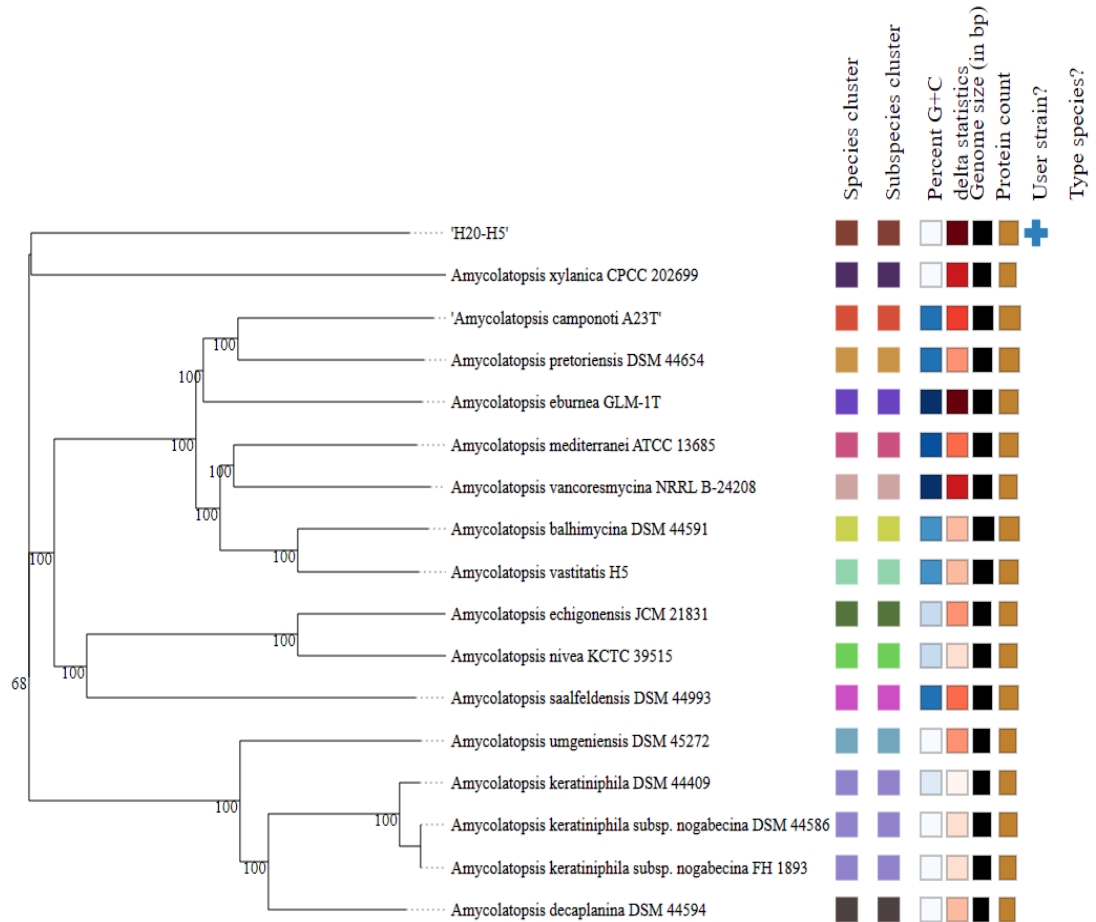
4.3.2. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni ve tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Amycolatopsis* cinsine ait tek izolat H20-H5'tir. Suşa ait dizi ve suşa en yakın 32 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün %98 tamamlayıcılıkla, %98.12'lik bir benzerlik değerine sahip *Amycolatopsis saalfeldensis* HKI0457^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1383 nükleotidden 26 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bu iki organizma arasındaki 16S rRNA dizi benzerlik değerinin ~%98,7'nin (Chun vd., 2007) altında olması, *Amycolatopsis* sp. H20-H5 suşunun yeni bir türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.7), çalışılan suşa en yakın türün de *Amycolatopsis saalfeldensis* HKI0457^T olduğu görülmektedir.



Şekil 4.7. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Amycolatopsis sp. H20-H5 izolatının TYGS platformunda tüm genoma bağlı filogenetik ağacı FastME 2.1.6.1 ile oluşturulduğunda 17 türden oluşan bir küme ortaya çıkmıştır. Ağaç, *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatı *Amycolatopsis keratiniphila* subsp. *nogabecina* DSM 44586^T ile güvenilirlik değeri % 20.5 ile 25.2 arasında değişebilen % 22.8'lük bir benzerlik göstermektedir. Bir türün, bilinen bir tür ile aynı olduğunu söyleyebilmek için DNA-DNA hibridizasyonu sonucunda %70 veya daha yüksek bir benzerlik göstermesi gerekmektedir (Meier-Kolthoff vd., 2013). Bu açıdan, oluşturulan filogenetik ağaçta *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının yeni bir türü temsil ettiği kesin olarak söylenebilir. H20-H5 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farkı 0.07'dir. Bu değerın 1'e yaklaşması yüksek farklılığı temsil etmektedir. Buradaki iki suşun, filogenetik ağaçta incelendiğinde farklı tür kümesine düştükleri görülmektedir.



Şekil 4.8. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı.

Bununla birlikte, ağaçta görünen diğer türlerin de H20-H5 suşu ile benzerlikleri %22,7 (*Amycolatopsis decaplanina* DSM 44594^T) ve %21.7

(*Amycolatopsis nivea* KCTC 39515) arasında değişerek, farklı türler olduğu söylenebilir. GBDP sonuçları, yüksek bootstrap değerleri göstermiştir. Burada bootstrap, 100 replikasyondan kaç tanesinin bu dallanma şemasını oluşturduğunu göstermektedir. Şekilde %60'ın üstündeki bootstrap değerleri görülmektedir ve dalların ortalama destek değeri %94,6'dır. Yüksek destek değerleri ve düşük delta (δ) değerlerinden (0,058 – 0,134 arası değişen), filogenetik ağacın doğruluğunun yüksek olduğu söylenebilir. Filogenetik ağaçta, GC yüzdeleri % 68,6 ile % 71,98 arasında; genom büyüklükleri 8,533,248 - 10,857,597 bp arasında; protein sayısı ise 7,716 - 10,133 arasında değişmektedir.

Tablo 4.4. *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H20-H5	<i>Amycolatopsis keratiniphila</i> subsp. <i>nogabecina</i> DSM 44586	22.8
	<i>Amycolatopsis keratiniphila</i> DSM 44409	22.8
	<i>Amycolatopsis decaplanina</i> DSM 44594	22.7
	<i>Amycolatopsis saalfeldensis</i> DSM 44993	22.7
	<i>Amycolatopsis keratiniphila</i> subsp. <i>nogabecina</i> FH 1893	22.7
	<i>Amycolatopsis umgeniensis</i> DSM 45272	22.6
	<i>Amycolatopsis mediterranei</i> ATCC 13685	22.5
	<i>Amycolatopsis camponoti</i> A23T	22.4
	<i>Amycolatopsis balhimycina</i> DSM 44591	22.3
	<i>Amycolatopsis vastitatis</i> H5	22.3
	<i>Amycolatopsis pretoriensis</i> DSM 44654	22.2
	<i>Amycolatopsis vancoremycina</i> NRRL B-24208	22.2
	<i>Amycolatopsis eburnea</i> GLM-1T	22.1
	<i>Amycolatopsis xylanica</i> CPCC 202699	22
	<i>Amycolatopsis echigonensis</i> JCM 21831	21.7
	<i>Amycolatopsis nivea</i> KCTC 39515	21.7

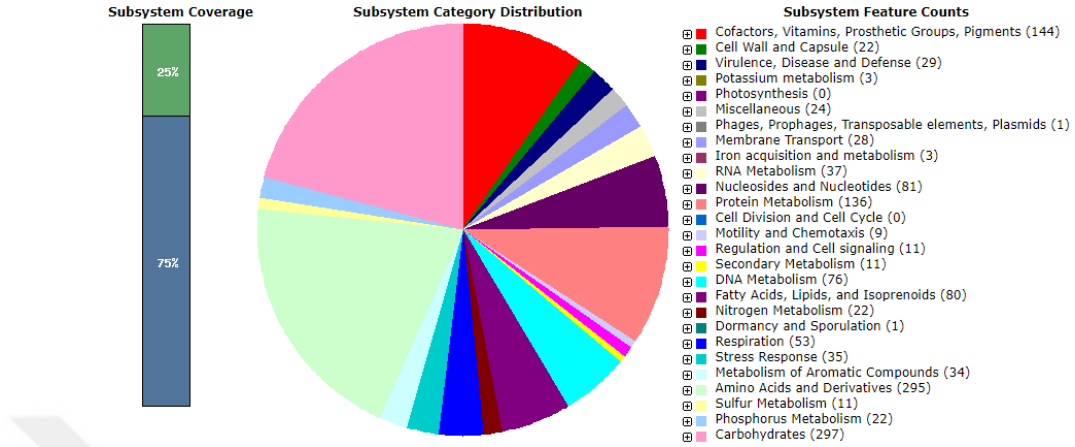
4.4. *Arthrobacter* cinsi

4.4.1. *Arthrobacter* Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri

H14-L1 izolatı için genom birleştirme raporu incelendiğinde, toplam 72 kontigden oluşan bir profil ortaya çıkmıştır. Bu kontiglerden 14'ü ≥ 100000 bp; 22'si $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 28 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp; 8 tanesi $1000 >$ ile ≥ 0 bp arasındadır. Tüm kontiglerin toplam uzunluğu 3957403 bp olup, bunlardan en büyüğü 380642 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi beklendiği üzere %63,1'dir. N_{50} değeri 175551 bp ve L_{50} değeri 8'dir. H35-D1 izolatı için toplam 86 kontigden oluşan bir profil ortaya çıkmıştır. Bu kontiglerden 13'ü ≥ 100000 bp; 28'i $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 31 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp; 14 tanesi $1000 >$ ile ≥ 0 bp arasındadır. Tüm kontiglerin toplam uzunluğu 4464106 bp olup, bunlardan en büyüğü 745861 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi %62,39'dur. N_{50} değeri 151598 bp ve L_{50} değeri 7'dir. H35-MC1 izolatı için toplam 21 kontigden oluşan bir profil ortaya çıkmıştır. Bu kontiglerden 1 tanesi ≥ 1000000 bp; 8 tanesi $1000000 >$ ile ≥ 100000 bp; 4 tanesi $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 5 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp; 3 tanesi $1000 >$ ile ≥ 0 bp arasındadır. Tüm kontiglerin toplam uzunluğu 3792603 bp olup, bunlardan en büyüğü 1101844 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi %57,26'dır. N_{50} değeri 506775 bp ve L_{50} değeri 3'tür.

H14-L1 izolatının RAST platformu ile genom anotasyonu gerçekleştirildiğinde, Şekil 4.9'da görüldüğü gibi, dizilerin %25'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %75'lik sistemler ise RAST platformunda belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. RAST platformu ile genom anotasyonu gerçekleştirildikten sonra rapor incelendiğinde, kontiglerin sayısı 72, genom uzunluğu 3,957,403 bp, GC oranı %63,1 ve N_{50} ve L_{50} değerleri sırasıyla 219.699 bp ve 7 olduğu görülmektedir. Kodlama yapan 3838 dizinin, 50 RNA'nın ve 286 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. H14-L1 suşunun tanımlanabilen fonksiyonel 1465 gen grubu içerisinde 17'si antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'i invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 29 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Ayrıca sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde görevli toplam 4 bölgesi bulunmaktadır. H14-L1 suşunun faj endolizine bağlı faj parçalama modüllerinden sorumlu bir mekanizması bulunmaktadır. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan faj DNA invertaz, faj integras, faj kuyruğu proteini, makrofaj enfektivite güçlendiricisi ile

ilgili protein ve faj kuyruğu kılıf proteini FI genleri bulundurmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.

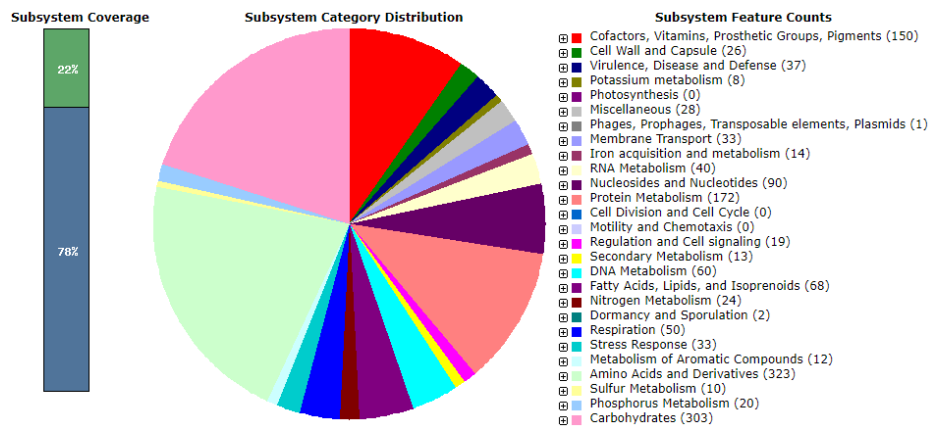


Şekil 4.9. *Arthrobacter* sp. H14-L1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H14-L1 izolatının virülans genleri RAST platformunda incelendiğinde, protein sentezinde (16S [S12p, S7p, translasyon elongasyon faktörü G, translasyon elongasyon faktörü Tu] ve 23S ribozomal proteinler [L35p, L20p, translasyon elongasyon faktörü 3] yer alan *Mycobacterium* virülans operonu; DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium* virülans operonu (DNA bağımlı RNA polimeraz beta alt birimi) ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonunun (kinolinat sentetaz, L-aspartat oksidaz, kinolinat fosforibosiltransferaz) varlığı saptanmıştır. H14-L1 izolatı stres cevabı açısından RAST platformunda incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain senteziyle ilgili mekanizmalar olmak üzere, ozmotik stresten sorumlu toplam 15 mekanizma; glutaredoksin ile glutatyon redoks ve non-redoks reaksiyonlarının da dahil olduğu oksidatif stresten sorumlu 15 mekanizma; bakteriyel hemoglobin ve karbon açlığıyla alakalı stres cevabının da dahil olduğu toplam 35 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, p-hidroksibenzoat degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, beta-ketoadipat yolağının protokateşik asit dalı, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı, gentisat degradasyonu ve aromatik amin katabolizmasından oluşan mekanizmalar görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteinine ait dizilere sahip olduğu görülmüştür. H14-L1 izolatı antibiyotik ve

toksik maddelere direnç genleri açısından RAST platformunda incelendiğinde florokinolon direnci, bakır ve civa direnci ile toleransının varlığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde kobalt-çinko-kadmiyum direnci, metisilin direnci, β -laktamaz aktivitesi, organik hidroperoksit direnci, tellür direnci, glioksalaz/bleomisin direnci, arsenik direnci, akriflavin direnci ve çoklu ilaç direnci pompaları ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

H35-D1 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.10'da görüldüğü gibi, dizilerin %22'si belirli işlev grupları ile ilişkilendirilirken, kalan %78'i ise belirli bir gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu incelendiğinde, kontiglerin sayısı 86, genom uzunluğu 4,464,106 bp, GC oranı %62,4 ve N₅₀ ve L₅₀ değerleri sırasıyla 116.785 bp ve 13 olduğu görülmektedir. Kodlama yapan 4437 dizinin, 55 RNA'nın ve 293 işlev grubu ile ilişkili gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. H35-D1 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1536 gen grubu içerisinde 25'i antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 37 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde görevli toplam dört bölge ve oksin biyosentezinde görevli dokuz mekanizması bulunmaktadır. H35-D1 izolatının faj parçalama modüllerinden sorumlu bir mekanizması bulunmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan faj integras, faj endolizin, faj pentapeptit tekrar ailesi proteini, faj DNA invertaz, faj kuyruğu kılıf proteini FI ve faj birleştirme proteini mekanizmaları bulundurmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.

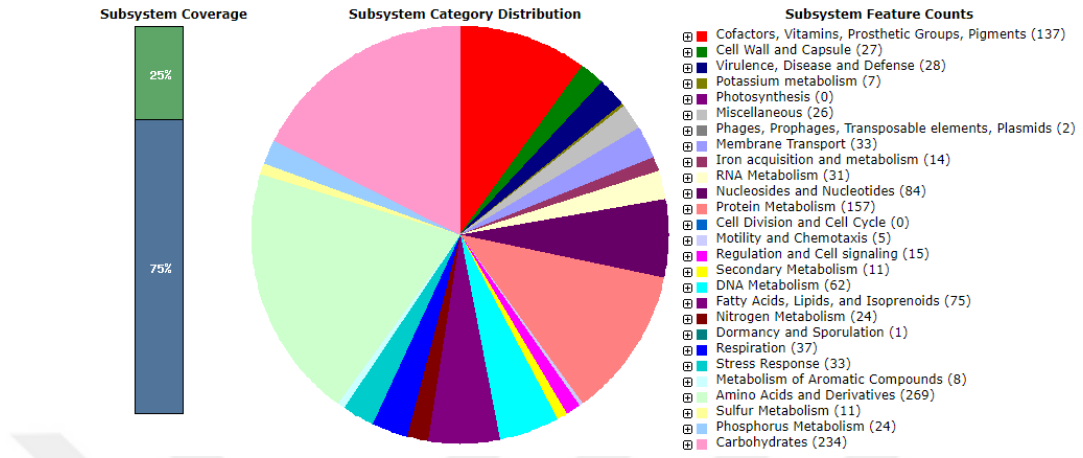


Şekil 4.10. *Arthrobacter* sp. H35-D1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H35-D1 izolatının virölans genleri incelendiğinde, protein sentezinde (16S ve 23S ribozomal proteinler) yer alan *Mycobacterium* virölans operonu; DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium* virölans operonu ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virölans operonunun (kinolinat sentetaz, L-aspartat oksidaz, kinolinat fosforiboziltransferaz) varlığı saptanmıştır. H35-D1 izolatının stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain senteziyle ilgili mekanizmaların dahil olduğu ozmotik stres, glutaredoksin ile glutatyon redoks ve non-redoks reaksiyonlarının da dahil olduğu oksidatif stres, bakteriyel hemoglobin ve periplazmik stres, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmalarının dahil olduğu toplam 33 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı ve gentisat degradasyonundan oluşan mekanizmalar görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteinine ait dizilere sahip olduğu görülmüştür. H35-D1 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, β -laktamaz aktivitesi, bakır ve civa direnci ile toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direncinin varlığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde metisilin direnci, çoklu ilaç direnci pompaları, arsenik direnci, tellür direnci, organik hidroperoksit direnci, glioksalaz/bleomisin direnci ve akriflavin direnci ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

H35-MC1 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.11’de görüldüğü gibi, dizilerin %25’i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %75’i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu incelendiğinde, kontiglerin sayısı 21, genom uzunluğu 3,792,603 çifti, GC oranı %57,3 ve N₅₀ ve L₅₀ değerleri sırasıyla 269.487 bp ve 4 olduğu görülmektedir. Kodlama yapan 3668 dizinin, 54 RNA’nın ve 279 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. H35-MC1 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1355 gen grubu içerisinde 16’sı antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12’si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 28 tane virölans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde görevli toplam 4 bölge ve oksin biyosentezinde görevli 4 mekanizması bulunmaktadır. H35-

MC1 izolatının faj kuyruğuyla alakalı 2 mekanizması bulunmaktadır. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.



Şekil 4.11. *Arthrobacter* sp. H35-MC1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H35-MC1 izolatının virülans genleri incelendiğinde, protein sentezinde (16S ve 23S ribozomal proteinler) yer alan *Mycobacterium* virülans operonu; DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium* virülans operonu ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonunun (kinolinat sentetaz, L-aspartat oksidaz, kinolinat fosforiboziltransferaz) varlığı saptanmıştır. H35-MC1 izolatının stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain senteziyle ilgili mekanizmaların dahil olduğu ozmotik stres, glutaredoksin ile glutatyon redoks reaksiyonlarından oluşan oksidatif stres, bakteriyel hemoglobin, karbon açlığı ve periplazmik stres ile ilgili mekanizmalar, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmalarının dahil olduğu toplam 33 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, salisilat ve gentisat katabolizması, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı ve gentisat degradasyonundan oluşan mekanizmalar görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteinine ait dizilere sahip olduğu görülmüştür. H35-MC1 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, β -laktamaz aktivitesi, bakır ve civa toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direncinin varlığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde glioksalaz/bleomisin direnci, arsenik direnci, çoklu ilaç

direnci pompaları ve organik hidroperoksit direnci ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

Arthrobacter sp. H14-L1 suşunun biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti için yapılan analizde, terpen, tip-3 poliketid, betalakton ve ribozomal olarak sentezlenip translasyon sonrası modifiye edilen peptid (RiPP) benzeri molekül olmak üzere dört biyosentetik gen kümesi bulunmaktadır. Bunlardan terpen gen kümesi karotenoid gen kümesi ile %21 benzerlik göstermektedir. Betalakton gen kümesi ise α,β -epoksiketon gen kümesi ile %15 benzerlik göstermektedir. Karotenoidler, bitkilerin fotooksidatif süreçlere karşı korunmasında önemli rol oynayan ve oksijen ve peroksil radikallerini temizleyen etkili antioksidan özelliğindeki pigmentlerdir. İnsan organizmasında karotenoidler, antioksidan savunma sisteminin bir parçasıdır (Stahl & Sies, 2003). Diğer iki gen kümesi ise yapısı bilinen herhangi bir bileşiğin gen kümesi ile benzerlik göstermemektedir. Bu durum, Antarktika Horseshoe Adası'ndan izole ettiğimiz yeni bir *Arthrobacter* türünün ilk temsilcisi olan H14-L1 izolatının farklı biyoaktivite özelliklerine sahip yeni bileşikler üretebileceğini göstermektedir.

Tablo 4.5. *Arthrobacter* sp. H14-L1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 2.1	terpene	carotenoid	21%
Bölge 2.2	T3PKS	-	-
Bölge 4.1	betalactone	α,β -epoxyketone	15%
Bölge 27.1	RiPP-like	-	-

Arthrobacter sp. H35-D1 izolatının genomunda biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti için yapılan analizde, lineer azolin içeren peptid (LAP), betalakton, poliketid sentaz, non-ribozomal peptid sentaz, terpen ve RiPP benzeri olmak üzere sekonder metabolit üretiminden sorumlu toplam 6 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. Bunlardan betalakton gen kümesi mikroansamisin gen kümesi ile %7, poliketid sentaz gen kümesi kinamisin gen kümesi ile %5 benzerlik, poliketid sentaz gen kümesi rothibin A gen kümesi ile %21 benzerlik ve terpen gen kümesi karotenoid gen kümesi ile %21 benzerlik göstermektedir. Diğer iki gen kümesi ise yapısı bilinen herhangi bir bileşiğin gen kümesi ile benzerlik göstermemektedir. Bunlardan en önemlileri olan kinamisinler, sitotoksiteleri ile bilinen ve anti-kanser tedavilerinde kullanım için potansiyel olarak görülen

poliketidlerdir (O'Hara vd., 2007). Rotihibin, hücre bölünmesi sırasında hasarlara yol açarak bitki büyümesinin baskılar (Halder vd., 2018). Ayrıca ansamisinler, rifamisinler gibi anti tüberküloz ajanlar, maytansinoidler gibi antitümör ajanlar ve geldanamisinler gibi biyoaktivitelere sahip bir makrolaktam ailesidir (Wang vd., 2018).

Tablo 4.6. *Arthrobacter* sp. H35-D1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	LAP		
Bölge 5.1	betalactone	microansamycin	7%
Bölge 13.1	T3PKS	kinamycin	5%
Bölge 15.1	NRPS	rothibin A	21%
Bölge 23.1	terpene	carotenoid	21%
Bölge 27.1	RiPP-like		

Arthrobacter sp. H35-MC1'in genomunda terpen, ϵ -polilizin gibi non-alfa poliaminoasit kümesi (NAPAA), poliketid sentaz, betalakton, metalofor, lineer azolin içeren peptid (LAP), ektoin ve RiPP gibi farklı yapılarda sekonder metabolit üretiminden sorumlu dokuz biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. Bu biyosentetik gen kümelerinin yedisinin bilinen biyoaktif gen kümelerine benzerliği düşükken, diğer iki gen kümesinin bilinen biyoaktif gen kümelerine benzerliği görülmemiştir. Bunlardan terpen gen kümesi karotenoid gen kümesi ile %14, NAPAA gen kümesi stenotrisin gen kümesi ile %31 benzerlik, betalakton gen kümesi mikroansamisin gen kümesi ile %7, metalofor gen kümesi trikrisobaktin/siklik trikrisobaktin/krisobaktin/dikrisobaktin gen kümesi ile %46 benzerlik, RiPP gen kümesi streptamidin gen kümesi ile %16 benzerlik, LAP gen kümesi plantazolisin gen kümesi ile %16 benzerlik ve ektoin gen kümesi skyllamisin D/skylamisin E gen kümesi ile %2 benzerlik göstermektedir. Diğer iki gen kümesi ise yapısı bilinen herhangi bir bileşiğin gen kümesi ile benzerlik göstermemektedir. Bunlardan en önemlileri olan stenotrisin, belirli bakterilerin hücre duvarı sentezini engelleyen bir antibiyotiktir (Diekmann & Krezdorn, 1975). Plantazolisin bitki büyümesinin uyarılması ve bakteriyel ve fungal bitki patojenlerinin büyümesini baskılayan ve bitki büyümesini teşvik eden metabolittir (Kalyon vd., 2011; Scholz vd., 2011). Skyllamisin D/skylamisin E ise antimikrobiyal aktiviteye sahip metabolittir. Metalofor tipindeki ve siderofora benzeyen metabolitin bilinen kümelerle BLAST tablosu incelendiğinde myxochelin B/myxochelin A, vibriobactin,

bacillibactin, enterobactin ve daha birçok siderofor gen kümesine benzerlik gösterdiği görülmüştür. Düşük benzerlikler bu NRPS tipindeki metabolitin yeni bir siderofor türü olabileceğini göstermektedir.

Tablo 4.7. *Arthrobacter* sp. H35-MC1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	terpene	carotenoid	14%
Bölge 4.1	NAPAA	stenothricin	31%
Bölge 4.2	T3PKS		
Bölge 6.1	betalactone	microansamycin	7%
Bölge 7.1	NRP- metallophore,NRPS	trichrysobactin/cyclic trichrysobactin/chrysobactin/dichrysobactin	46%
Bölge 9.1	RiPP-like	streptamidine	16%
Bölge 9.2	LAP	plantazolicin	16%
Bölge 9.3	ectoine	skyllamycin D/skylamycin E	2%
Bölge 11.1	RiPP-like		

H14-L1 izolatı için ARTS sunucusunda total 3790 gen ve 332 primer metabolizmadan sorumlu genin varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan dört bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 30 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 17 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 132 bölge saptanmıştır. ARTS platformu antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde: glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz, DNA giraz ve DNA topoizomeras IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası, DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları, pentapeptid, beta-laktamaz direnci gibi mekanizmaların da dahil olduğu toplam 30 direnç modeli içerdiğini göstermektedir. Ayrıca, ARTS sunucusunda glisin parçalama sistemi H proteini *gcvH* gibi bazı genler hem duplikasyona uğramış hem de biyosentetik gen kümelerine yakın konumlanmıştır.

Tablo 4.8. *Arthrobacter* sp. H14-L1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0007	ABC_efflux	2011
RF0007	ABC_efflux	1559
RF0054	ClassB	680
RF0054	ClassB	536
PF00044.19	Gp_dh_N	2020
PF00044.19	Gp_dh_N	3683
PF00044.19	Gp_dh_N	3194
PF00044.19	Gp_dh_N	3316
PF00185.19	OTCace	1515
PF00185.19	OTCace	485
PF00204.20	DNA_gyraseB	1871
PF00204.20	DNA_gyraseB	1014
PF00227.21	Proteasome	3244
PF00227.21	Proteasome	3245
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1006
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1398
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1803
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2176
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1401
PF00364.17	Biotin_lipoyl	681
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2474
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3008
PF00364.17	Biotin_lipoyl	946
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1872
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1023
PF01039.17	Carboxyl_trans	2462
PF01039.17	Carboxyl_trans	1400
PF13599.1	Pentapeptide_4	2354
TIGR02013	TIGR02013	1222
TIGR00663	TIGR00663	1867

Arthrobacter sp. H35-D1 izolatı için ARTS sunucusunda total 4288 gen; 336 primer metabolizmadan sorumlu gen; bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan altı bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 33 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 14 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 32 bölge gözlemlenmiştir. ARTS platformu antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde H14-L1 izolatına benzer bir şekilde glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası, DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları, pentapeptid gibi mekanizmaların da dahil olduğu toplam 33 direnç modeli içerdiğini göstermektedir. Ancak beta-laktamaz bulunmamaktadır.

Tablo 4.9. *Arthrobacter* sp. H35-D1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	3721
PF00044.19	Gp_dh_N	4137
PF00044.19	Gp_dh_N	4145
PF00044.19	Gp_dh_N	3408
PF00185.19	OTCace	2212
PF00185.19	OTCace	1798
PF00204.20	DNA_gyraseB	445
PF00204.20	DNA_gyraseB	1618
PF00227.21	Proteasome	3268
PF00227.21	Proteasome	3269
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1627
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2086
PF00364.17	Biotin_lipoyl	365
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3479
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1179
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2835
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1206
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2538
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1691
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2090
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1023
PF00521.15	DNA_topoisoIV	444
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1609
PF01039.17	Carboxyl_trans	2578
PF01039.17	Carboxyl_trans	2089
PF01039.17	Carboxyl_trans	2834
PF13599.1	Pentapeptide_4	253
PF13599.1	Pentapeptide_4	3189
RF0007	ABC_efflux	655
RF0007	ABC_efflux	3711
RF0007	ABC_efflux	3011
TIGR00663	TIGR00663	449
TIGR02013	TIGR02013	1321

Arthrobacter sp. H35-MC1 izolatı için ARTS sunucusunda total 3537 gen; 337 primer metabolizmadan sorumlu gen; bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan sekiz bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 26 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 14 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 27 bölge gözlemlenmiştir. ARTS platformu antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde H14-L1 izolatına benzer bir şekilde glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası, DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları gibi mekanizmaların da dahil olduğu toplam 26 direnci profili tespit etmiştir. Ancak beta-laktamaz aktivitesi ve pentapeptid yapısı bulunmamaktadır.

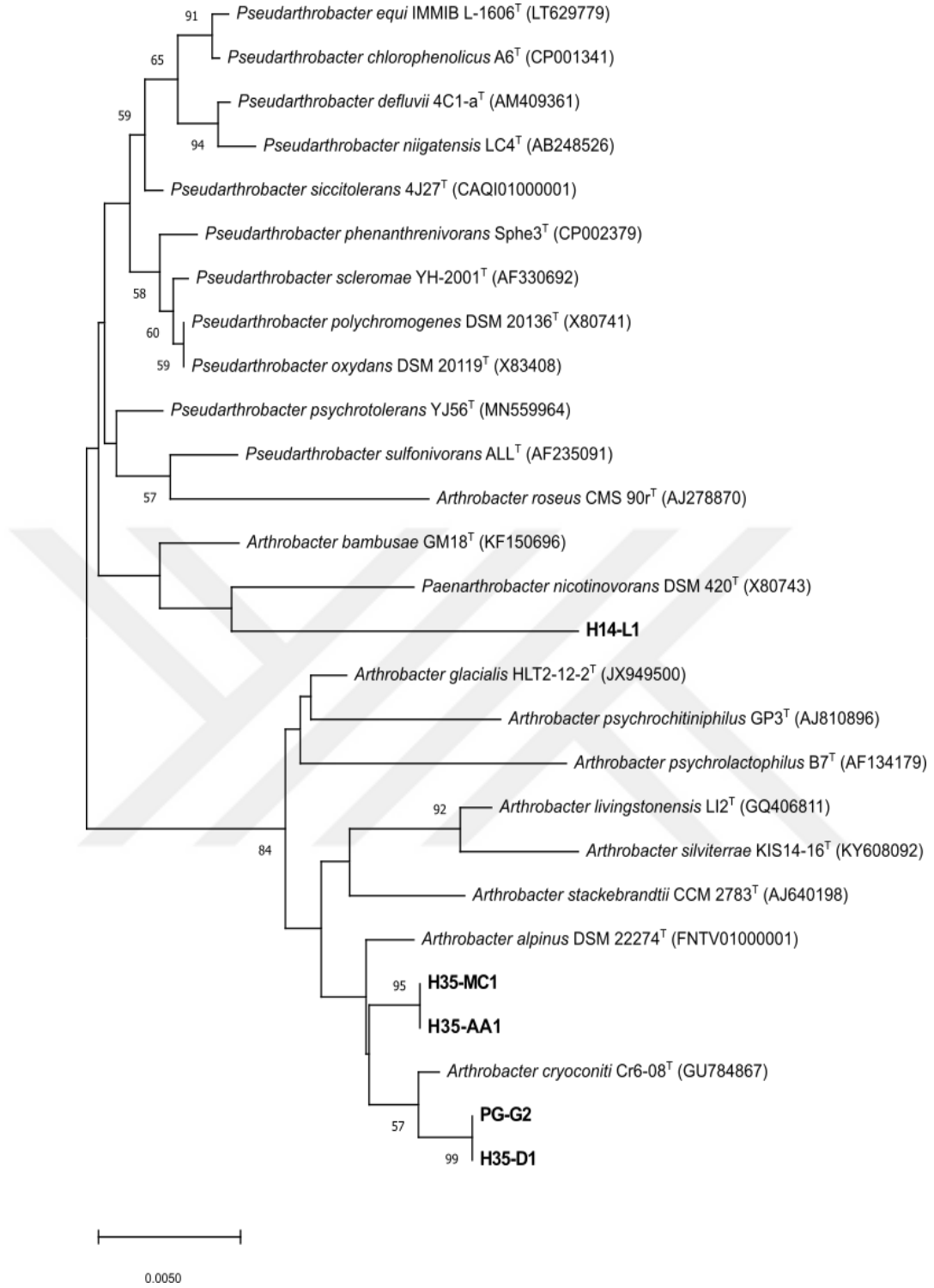
Ayrıca biyosentetik gen kümesine yakın konumlanan ve direnç geniyle ilişkili pirüvat karboksilaz geninin varlığı, organizmanın kendi ürettiği bir antibiyotik özellikteki metabolite dirençliliğinden kaynaklanıyor olabilir.

Tablo 4.10. *Arthrobacter* sp. H35-MC1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veri tabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	109
PF00044.19	Gp_dh_N	599
PF00185.19	OTCace	2189
PF00185.19	OTCace	364
PF00185.19	OTCace	1890
PF00204.20	DNA_gyraseB	1053
PF00204.20	DNA_gyraseB	2656
PF00227.21	Proteasome	180
PF00227.21	Proteasome	181
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2666
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2293
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2008
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3080
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1616
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1911
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2290
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2726
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1052
PF00521.15	DNA_topoisoIV	2647
PF01039.17	Carboxyl_trans	1600
PF01039.17	Carboxyl_trans	2291
PF01039.17	Carboxyl_trans	2009
RF0007	ABC_efflux	1251
RF0007	ABC_efflux	99
TIGR00663	TIGR00663	1057
TIGR02013	TIGR02013	1520

4.4.2. *Arthrobacter* Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan izole edilen, 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Arthrobacter* cinsine ait izolatlar H14-L1, H35-D1, H35-MC1, H35-AA1 ve PG-G2'dir. Suşlara ait diziler ve suşlara en yakın 22 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Arthrobacter* sp. H14-L1 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün %82,8 tamamlayıcılıkla, %97,18'lik bir benzerlik değerine sahip *Arthrobacter psychrochitiniphilus* GP3^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1204 nükleotidden 34 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bu iki organizma arasındaki 16S rRNA dizi benzerlik değerinin ~%98,7'in altında olması, *Arthrobacter* sp. H14-L1 suşunun yeni bir türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Nükleotid farklılıkları incelendiğinde çalışılan suşun 16S rRNA bazında en yakın türlerine benzemediği görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H14-L1 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri %97,03 (*Arthrobacter glacialis* HLT2-12-2^T) ve % 95,89 (*Paenarthrobacter ureafaciens* DSM 20126^T) arasında değişmektedir.



Şekil 4.12. *Arthrobacter* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Arthrobacter sp. H35-D1 ve *Arthrobacter* sp. PG-G2 suşlarının 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşlara en yakın türün %100 tamamlayıcılıkla, sırasıyla %98,83'lük ve %98,82'lik bir benzerlik değerine sahip *Arthrobacter cryoconiti* Cr6-08^T olduğunu göstermektedir. Bu üç organizma karşılaştırıldığında

H35-D1 ile *Arthrobacter cryoconiti* arasında 1450 nükleotidden 17 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülürken; PG-G2 için 1445 nükleotidden 17 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bu üç organizma arasındaki 16S rRNA dizi benzerlik değerinin ~%98,6'nın üstünde olması, *Arthrobacter* sp. H35-D1 ve PG-G2 suşlarının *Arthrobacter cryoconiti* ile aynı türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Ancak benzerlik değerinin eşiğe çok yakın olmasından dolayı kesin yorum için genomik verilere ihtiyaç vardır. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.12), suşlara en yakın türün de *Arthrobacter cryoconiti* Cr6-08^T olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin H35-D1 ve PG-G2 suşları ile 16S rRNA gen dizi benzerlikleri %98 (*Arthrobacter livingstonensis* LI2^T) ve % 95,38 (*Paenarthrobacter histidinovorans* DSM 20115^T) arasında değişmektedir.

Arthrobacter sp. H35-MC1 ve *Arthrobacter* sp. H35-AA1 suşlarının 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşlara en yakın türlerin %100 tamamlayıcılıkla, sırasıyla %98,69'luk ve %98,70'lik bir benzerlik değerine sahip *Arthrobacter alpinus* DSM 22274^T ile aynı benzerlik değerlerine sahip *Arthrobacter glacialis* HLT2-12-2^T olduğunu göstermektedir. Bu dört organizma karşılaştırıldığında H35-MC1 ile *Arthrobacter alpinus* ve *Arthrobacter glacialis* arasında 1450 nükleotidden 19 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülürken; H35-AA1 için 1458 nükleotidden 19 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bu dört organizma arasındaki 16S rRNA dizi benzerlik değerinin ~%98,7 olması, *Arthrobacter* sp. H35-MC1 ve H35-AA1 suşlarının *Arthrobacter glacialis* veya *Arthrobacter alpinus* ile aynı türü temsil edip edemeyeceği hakkında yorum yaptırılmamaktadır. Dolayısıyla kesin yorum için genomik verilere ihtiyaç vardır. Filogenetik ağaç incelendiğinde, suşlara en yakın türün *Arthrobacter alpinus* DSM 22274^T olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H35-D1 ve PG-G2 suşları ile 16S rRNA dizi benzerlikleri %98,50 (*Arthrobacter psychrochitiniphilus* GP3^T) ve %96,13 (*Arthrobacter bambusae* GM18^T) arasında değişmektedir.

Tablo 4.11. *Arthrobacter* spp. H14-L1, H35-D1 ve H35-MC1 izolatlarının birbiri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

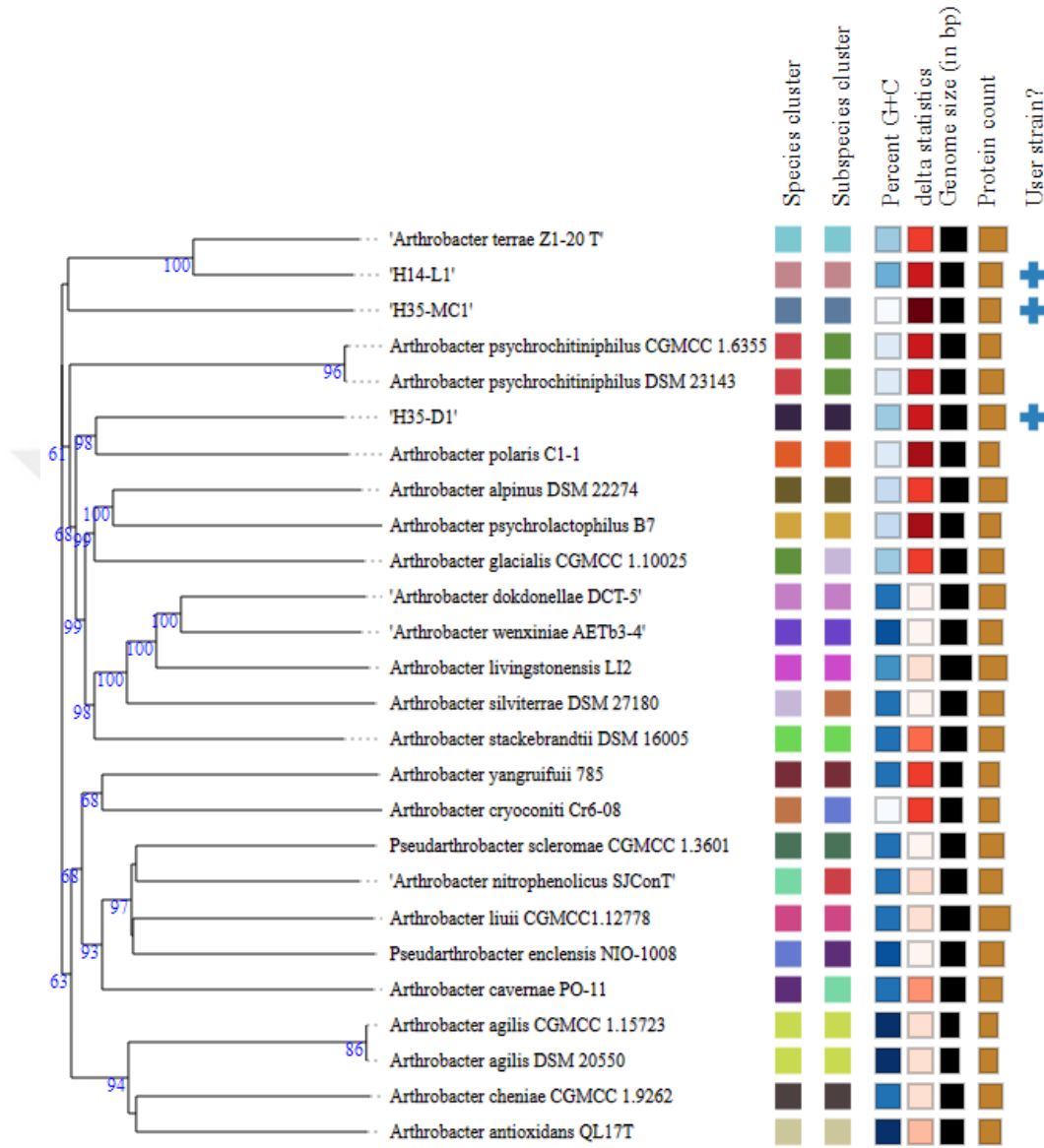
İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H14-L1	<i>Arthrobacter terrae</i> Z1-20 T	33.6
	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> DSM 23143	21.5
	<i>Arthrobacter polaris</i> C1-1	21.4
	<i>Arthrobacter dokdonellae</i> DCT-5	21.4
	<i>Arthrobacter stackebrandtii</i> DSM 16005	20.8
	<i>Arthrobacter antioxidans</i> QL17T	20.5
	<i>Arthrobacter liuii</i> CGMCC1.12778	20.4
	<i>Arthrobacter wenxiniae</i> AETb3-4	20.2
	<i>Arthrobacter glacialis</i> CGMCC 1.10025	20.2
	<i>Pseudarthrobacter enclensis</i> NIO-1008	20.2
	<i>Arthrobacter cavernae</i> PO-11	20
	<i>Arthrobacter agilis</i> DSM 20550	19.7
	<i>Arthrobacter agilis</i> CGMCC 1.15723	19.7
	<i>Micrococcus yunnanensis</i> DSM 24531	19.7
	<i>Arthrobacter silviterrae</i> DSM 27180	19.7
	<i>Arthrobacter cheniae</i> CGMCC 1.9262	19.5
H35-D1	<i>Arthrobacter polaris</i> C1-1	23.9
	<i>Arthrobacter stackebrandtii</i> DSM 16005	22.7
	<i>Arthrobacter livingstonensis</i> LI2	21.9
	<i>Arthrobacter glacialis</i> CGMCC 1.10025	21.9
	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> DSM 23143	21.8
	<i>Arthrobacter wenxiniae</i> AETb3-4	21.6
	<i>Arthrobacter dokdonellae</i> DCT-5	21.6
	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> CGMCC 1.6355	21.6
	<i>Arthrobacter alpinus</i> DSM 22274	21.5
	<i>Arthrobacter silviterrae</i> DSM 27180	21.5
	<i>Arthrobacter psychrolactophilus</i> B7	20.9
	<i>Arthrobacter cryoconiti</i> Cr6-08	20.1
	<i>Pseudarthrobacter enclensis</i> NIO-1008	19.9
H35-MC1	<i>Arthrobacter polaris</i> C1-1	21.7
	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> DSM 23143	21.6
	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> CGMCC 1.6355	21.4
	<i>Pseudarthrobacter scleromae</i> CGMCC 1.3601	21.1
	<i>Arthrobacter stackebrandtii</i> DSM 16005	20.9
	<i>Arthrobacter glacialis</i> CGMCC 1.10025	20.5
	<i>Arthrobacter alpinus</i> DSM 22274	20.5
	<i>Arthrobacter nitrophenolicus</i> DSM 23165	20.3
	<i>Arthrobacter dokdonellae</i> DCT-5	20.2
	<i>Arthrobacter psychrolactophilus</i> B7	20.1
	<i>Pseudarthrobacter enclensis</i> NIO-1008	20
	<i>Arthrobacter cavernae</i> PO-11	19.5
	<i>Arthrobacter cryoconiti</i> Cr6-08	19.2
H14-L1	H35-D1	21.3
H14-L1	H35-MC1	21.4
H35-D1	H35-MC1	21.1

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan izole edilen, tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Arthrobacter* cinsine ait izolatlar H14-L1, H35-D1 ve H35-MC1'dir. *Arthrobacter* sp. H14-L1 izolatının TYGS sunucusunda tüm genomla bağlı filogenetik analizi, izolatın *Arthrobacter terrae* Z1-20^T suşu ile güvenilirlik değeri %31,2 ile 36,1 arasında değişebilen %33,6'lık bir benzerlik göstermektedir. H14-L1 suşunun dijital DNA-DNA hibridizasyonu sonucunda %70'ten düşük bir benzerlik göstermesinden yola çıkarak *Arthrobacter* sp. H14-L1 izolatının yeni bir türü temsil ettiği kesin olarak söylenebilir. H14-L1 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 0,47'dir. Buradaki iki suşun, filogenetik ağaçta incelendiğinde farklı tür kümesine düştükleri görülmektedir. Bununla birlikte, ağaçta görünen diğer türlerin de H14-L1 suşu ile benzerlikleri %21,5 (*Arthrobacter psychrochitiniphilus* DSM 23143) ve %19,5 (*Arthrobacter cheniae* CGMCC 1.9262) arasında değişerek, farklı türler olduğu söylenebilir.

Arthrobacter spp. H35-D1 ve H35-MC1 izolatlarının tüm genomla bağlı filogenetik analizi, H35-D1 ve H35-MC1 izolatlarının *Arthrobacter polaris* C1-1^T suşu ile güvenilirlik değeri %21,5 - 26,3 ve %19,4 - 24,1 arasında değişebilen sırasıyla %23,9'luk ve %21,7'lik bir benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla, *Arthrobacter* spp. H35-D1 ve H35-MC1 izolatlarının yeni bir türü temsil ettiği kesin olarak söylenebilir. H35-D1 ve H35-MC1 suşlarının bu tür ile arasındaki %GC farklı sırasıyla 3,44 ve 1,68'dir. Bununla birlikte, ağaçta görünen diğer türlerin H35-D1 suşu ile benzerlikleri %22,7 (*Arthrobacter stackebrandtii* DSM 16005) ve %19,9 (*Pseudarthrobacter enclensis* NIO-1008) arasında değişirken, H35-MC1 suşu ile benzerlikleri %21,4 (*Arthrobacter psychrochitiniphilus* CGMCC 1.6355) ve %19,2 (*Arthrobacter cryoconiti* Cr6-08) arasında değişerek farklı türler olduğu söylenebilir.

Arthrobacter üyeleri için tüm genom filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak %81,7'dir. Delta (δ) değerleri 0,271 - 0,378 arası değişip; GC yüzdeleri %57,26 ile %69,49 arasında; genom büyüklükleri 3,220,798 - 5,028,704 bp arasında; protein sayısı ise 2,887 - 4,689 arasında değişmektedir. Üç *Arthrobacter* izolatının TYGS sunucusunda tüm genomla bağlı filogenetik ağacı FastME 2.1.6.1 ile oluşturulduğunda H14-L1 ile H35-MC1 izolatlarının, H35-D1'e kıyasla filogenetik olarak birbirlerine daha yakın oldukları görülmektedir. İzolatlar arasında dDDH oranı incelendiğinde H14-L1 ve H35-D1 arasında benzerlik %21,3; H14-L1 ve H35-MC1 arasında benzerlik %21,4; H35-MC1 ve H35-D1 arasında benzerlik %21,1

çıkıştır. Bundan yola çıkarak her üç *Arthrobacter* izolatının da yeni bir türü temsil ettiği söylenebilir.



Şekil 4.13. *Arthrobacter* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı %81.7'dir.

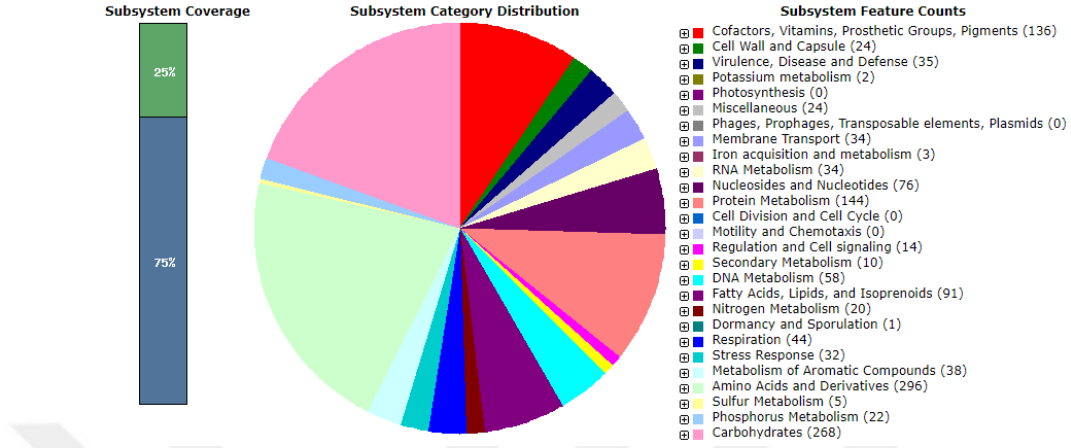
4.5. *Cryobacterium* cinsi

4.5.1. *Cryobacterium* Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri

PH29-G1 izolatının genomu 31 kontigden oluşmaktadır. Bu kontiglerden 12 tanesi ≥ 100000 bp; 23 tanesi $100000 > \text{ile } \geq 10000$ bp; 11 tanesi $10000 > \text{ile } \geq 1000$ bp; 5 tanesi $1000 > \text{ile } \geq 0$ bp arasındadır. Tüm kontiglerin toplam uzunluğu 3.781.687 bp olup, bunlardan en büyüğü 490.740 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi % 64,5; N_{50} değeri 151.946 bp ve L_{50} değeri 7'dir. PH31-AA6 izolatının genomu toplam 63 kontigden oluşmaktadır. Bu kontiglerden 11 tanesi ≥ 100000 bp; 35 tanesi $100000 > \text{ile } \geq 10000$ bp; 15 tanesi $10000 > \text{ile } \geq 1000$ bp; 2 tanesi $1000 > \text{ile } \geq 0$ bp arasındadır. Genom uzunluğu 3.681.542 bp olup, kontiglerin en büyüğü 401.285 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi %67,3; N_{50} değeri 116.065 bp; L_{50} değeri 9'dur. PH31-L1 izolatında toplam 33 kontig vardır. Bu kontiglerden sekiz tanesi ≥ 100000 bp; 11 tanesi $100000 > \text{ile } \geq 10000$ bp; 6 tanesi $10000 > \text{ile } \geq 1000$ bp; 8 tanesi $1000 > \text{ile } \geq 0$ bp arasındadır. Genom uzunluğu 3.662.145 bp olup, kontiglerin en büyüğü 899.593 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi %65,04; N_{50} değeri 46.4715 bp; L_{50} değeri 3'tür. PH31-O1 izolatında toplam 17 kontig vardır. Bu kontiglerden 9 tanesi ≥ 100000 bp; 1 tanesi $100000 > \text{ile } \geq 10000$ bp; 3 tanesi $10000 > \text{ile } \geq 1000$ bp; 4 tanesi $1000 > \text{ile } \geq 0$ bp arasındadır. Genom uzunluğu 3.644.359 bp olup, kontiglerin en büyüğü 966.964 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi %64,5; N_{50} değeri 421.034 bp; L_{50} değeri 3'tür.

PH29-G1 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.14'te görüldüğü gibi, dizilerin %25'i belirli işlev grubu ile ilişkili gruba dahil edilmiş, kalan %75'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu incelendiğinde, kontiglerin sayısı 31, genom uzunluğu 3,801,588 bp, GC oranı % 64,5 ve N_{50} ile L_{50} değerleri sırasıyla 306.319 bp ve 5 olduğu görülmektedir. Kodlama yapan 3576 dizinin, 51 RNA'nın ve 273 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. PH29-G1 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1411 gen grubu içerisinde 23'ü antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 35 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde görevli toplam 4 mekanizma ve oksin biyosentezinde görevli 6 mekanizması bulunmaktadır. PH29-G1 izolatının faj parçalama modüllerinden sorumlu herhangi bir mekanizması bulunmamaktadır. Herhangi bir kategoriye

koyulamayan faj invertaz ve faj kuyruğu mekanizmaları bulundurmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.

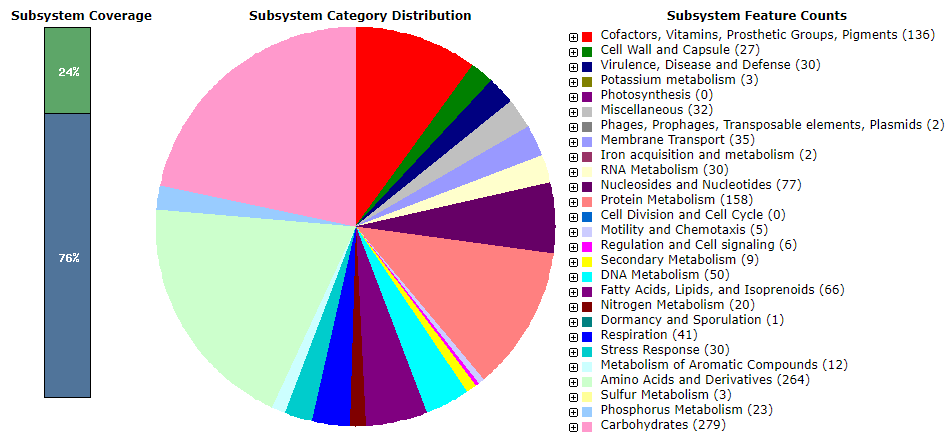


Şekil 4.14. *Cryobacterium* sp. PH29-G1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

PH29-G1 izolatının virülans genleri incelendiğinde, protein sentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonu; DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium* virülans operonu ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonunun varlığı saptanmıştır. PH29-G1 izolatının stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain senteziyle ilgili mekanizmaların dahil olduğu ozmotik stres; glutaredoksin ile glutatyon redox reaksiyonları ve CoA disülfür tiyol-disülfür redoks sisteminin de dahil olduğu oksidatif stres; bakteriyel hemoglobin, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmaları, dimetiltarjinin metabolizması ve karbon açlığı dahil olduğu toplam 32 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, benzoat degradasyonu, p-hidroksibenzoat degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, beta-ketoadipat yolağının protokateşik asit dalı, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı, gentisat degradasyonu ve aromatik amin katabolizmasından oluşan mekanizmalar görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteini ve antifriz proteinlerine sahip olduğu görülmüştür. PH29-G1 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, bakır ve civa direnci ile toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direncinin varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde organik hidroperoksit

direnci, tetrasiklin direnci, arsenik direnci, çoklu ilaç direnci pompaları ile tanımlanamayan ve muhtemelen antibiyotik direnci ile ilişkili protein ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

PH31-AA6 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.15'te görüldüğü gibi, dizilerin %24'ü belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %76'sı ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu kontiglerin sayısının 63, genom uzunluğunun 3,681,542 bp, GC oranının % 67.3 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 95.458 bp ve 11 olduğunu göstermektedir. Kodlama yapan 3541 dizinin, 58 RNA'nın ve 273 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. PH31-AA6 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1341 gen grubu içerisinde 18'i antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 30 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde görevli toplam 4 bölge ve oksin biyosentezinde görevli 8 mekanizması bulunmaktadır. PH31-AA6 izolatının konakçı dizilerine hareketlilik sağlayan HNH homing endonükleaza bağlı faj intronları ve faj paketleme mekanizması ile ilgili genleri bulunmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan faj integras, faj terminaz ve faj invertaz proteini mekanizmaları bulundurmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.



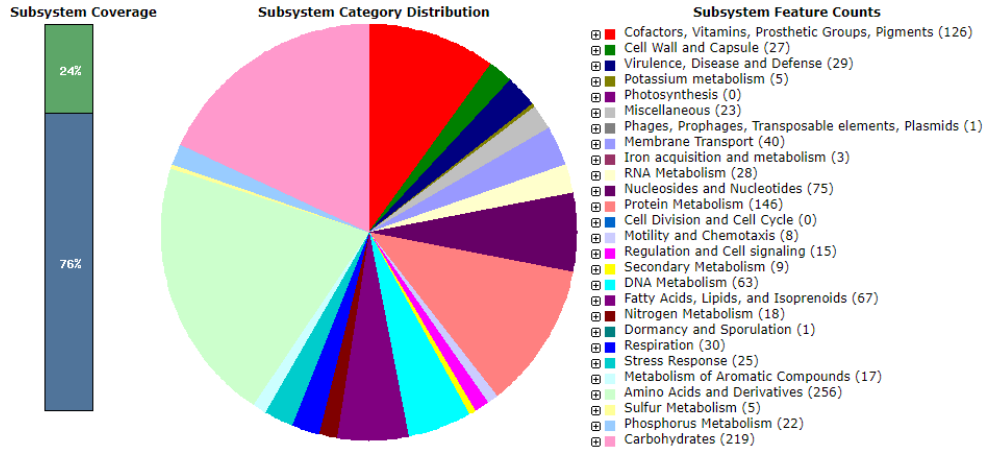
Şekil 4.15. *Cryobacterium* sp. PH31-AA6 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

PH31-AA6 izolatının virülans genleri incelendiğinde, protein sentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonu; DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium* virülans operonu ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan

Mycobacterium virülans operonunun varlığı saptanmıştır. PH31-AA6 izolatının stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain sentezi ve osmoregüle periplazmik glukanların sentezi ile ilgili mekanizmaların dahil olduğu ozmotik stres; glutaredoksin ile glutatyon redox ve CoA disülfür tiyol-disülfür redoks sisteminin dahil olduğu oksidatif stres; bakteriyel hemoglobin, dimetilarjinin metabolizması, karbon açlığı, sigmaB stres cevabı regülasyonu ve selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmalarının dahil olduğu toplam 30 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, benzoat degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı ve gentisat degradasyonu mekanizmaları görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteini ve antifriz proteinlerine sahip olduğu görülmüştür. PH31-AA6 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, kobalt-çinko-kadmiyum direnci ve bakır-civa direnci ile toleransının varlığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde çoklu ilaç direnci pompaları, arsenik direnci, tetrasiklin direnci pompaları, organik hidroperoksit direnci ve glioksalaz/bleomisin direnci ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

PH31-L1 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.16'da görüldüğü gibi, dizilerin %24'ü belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %76'sı ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu kontiglerin sayısının 33, genom uzunluğunun 3,662,145 bp, GC oranının % 65.0 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 464.715 bp ve 3 olduğunu göstermektedir. Kodlama yapan 3540 dizinin, 50 RNA'nın ve 268 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. PH31-L1 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1258 gen grubu içerisinde 17'si antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 29 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde görevli 4 bölge ve oksin biyosentezinde görevli 5 mekanizma bulunmaktadır. PH31-L1 izolatının faj paketleme mekanizmasından sorumlu 1 bölgesi bulunmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan faj terminaz ve Lp2 profajı 6 proteini mekanizmaları bulundurmaktadır. Farklı faj genlerinin bulunmaması, bu izolatın faj genlerini gen transferiyle almış olabileceğini düşündürmektedir. Herhangi bir

kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.

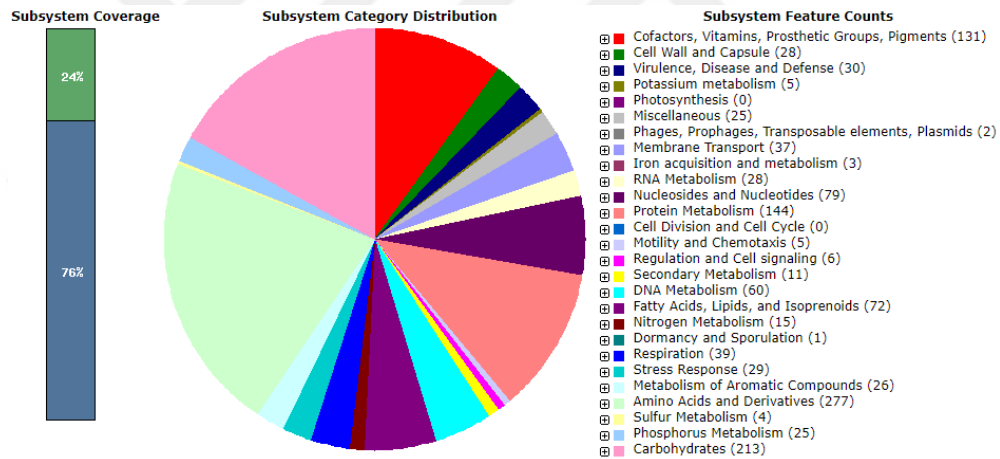


Şekil 4.16. *Cryobacterium* sp. PH31-L1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

PH31-L1 izolatının virülans genleri incelendiğinde daha önceden bahsedilen *Mycobacterium* virülans operonlarının varlığı saptanmıştır. PH31-L1 izolatının stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain senteziyle ilgili mekanizmaların dahil olduğu ozmotik stres; glutaredoksin ile glutasyon redox reaksiyonlarının da dahil olduğu oksidatif stres; bakteriyel hemoglobin, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmaları, dimetilarjinin metabolizması ve karbon açlığının dahil olduğu toplam 25 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, benzoat degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı, gentisat degradasyonu ve aromatik amin katabolizması görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları olarak CSp ailesi soğuk şok proteini ve antifriz proteinlerine sahip olduğu görülmüştür. PH31-L1 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde bakır ve civa toleransı, kobalt-çinko-kadmiyum direnci ve florokinolon direncinin varlığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde organik hidroperoksit direnci, arsenik direnci ve çoklu ilaç direnci pompaları ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

PH31-O1 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.17’de görüldüğü gibi, dizilerin %24’ü belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %76’sı ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu

kontiglerin sayısının 17, genom uzunluğunun 3,644,359 bp, GC oranının % 64.5 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 400.324 bp ve 3 olduğunu göstermektedir. Kodlama yapan 3514 dizinin, 51 RNA'nın ve 266 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. PH31-O1 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1295 gen grubu içerisinde 18'i antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 30 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde ve oksin biyosentezinde görevli 11 mekanizması bulunmaktadır. PH31-O1 izolatının faj kuyruğu lifi proteinleri ve kapsid proteinleriyle alakalı 2 mekanizması bulunmaktadır. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan faj endopeptidaz, faj DNA invertaz, faj integras, faj kapsid ve taslak mekanizmaları, faj kuyruğu lif proteini ve faj kodlu kromozom parçalayıcı nükleaz YokF mekanizmaları bulundurmaktadır. Bunun yanı sıra, CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.



Şekil 4.17. *Cryobacterium* sp. PH31-O1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

PH31-O1 izolatının virülans genleri incelendiğinde daha önceden bahsedilen *Mycobacterium* virülans operonlarının varlığı saptanmıştır. PH31-O1 izolatının stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain senteziyle ilgili mekanizmaların dahil olduğu ozmotik stres; glutaredoksin ile glutatyon redox reaksiyonlarını içeren oksidatif stres, bakteriyel hemoglobin, karbon açlığı, dimetilarjinin metabolizması, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmalarının dahil olduğu toplam 29 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, benzoat degradasyonu, p-hidroksibenzoat degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol

dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı, gentisat degradasyonu ve aromatik amin katabolizması görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları olarak CSp ailesi soğuk şok proteini ve antifriz proteinlerine sahip olduğu görülmüştür. PH31-O1 izolatu antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, bakır ve civa direnci ile toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direncinin varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde gliksalaz/bleomisin direnci, tetrasiklin direnci, organik hidroperoksit direnci, çoklu ilaç direnci pompaları ve arsenik direnci ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

AntiSMASH sunucusunda biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti analizine göre *Cryobacterium* sp. PH29-G1'in genomunda tespit edilen 4 biyosentetik gen kümesinden poliketid sentaz biyosentetik gen kümesi echoside A/echoside B/echoside C/echoside D/echoside E gen kümesine %11, terpen biyosentetik gen kümesi karotenoid gen kümesine %50, RIPP-benzeri biyosentetik gen kümesi streptamidin gen kümesine %33 ve NAPAA biyosentetik gen kümesi ϵ -poli-L-lizin gen kümesine %100 benzerlik göstermektedir. %100 benzerlik gösteren gen kümelerinden ϵ -poli-L-lizin, çok iyi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olan ve gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan, değişen polimerizasyon derecesine sahip, doğal olarak oluşan bir poli-aminoasittir (Wang vd., 2021) Streptamidin, biyolojik olarak görevi henüz keşfedilmemiş yeni bir sekonder metabolit türüdür (Russell vd., 2021). Bu durum PH29-G1 izolatının ileride keşfedilecek olan streptamidin metabolitine benzer özelliklerde bir metabolit üretebiliyor olduğunu düşündürmektedir. Echoside A/echoside B/echoside C/echoside D/echoside E, son zamanlarda SARS-CoV-2 virüsüne karşı üretilen ilaçlar için potansiyel komponent olarak görülmektedir (Melinda vd., 2021).

Tablo 4.12. *Cryobacterium* sp. PH29-G1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	T3PKS	echoside A/echoside B/echoside C/echoside D/echoside E	11%
Bölge 2.1	betalactone,terpene	carotenoid	50%
Bölge 10.1	RiPP-like	streptamidine	33%
Bölge 16.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%

Biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti analizine göre *Cryobacterium* sp. PH31-AA6 izolatının genomunda terpen, betalakton, ϵ -polilizin gibi non-alfa poliaminoasit kümesi (NAPAA) ve poliketid sentaz olmak üzere toplam 3 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. Bunlardan NAPAA biyosentetik gen kümesi ϵ -poli-L-lizin gen kümesine %100, terpen biyosentetik gen kümesi karotenoid gen kümesine %21 benzerlik göstermektedir. Poliketid sentaz biyosentetik gen kümesi ise bilinen herhangi bir biyosentetik gen kümesine benzerlik göstermemektedir.

Tablo 4.13. *Cryobacterium* sp. PH31-AA6 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 7.1	terpene,betalactone	carotenoid	21%
Bölge 14.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 18.1	T3PKS		

Cryobacterium sp. PH31-L1 izolatının biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri analiz edildiğinde tespit edilen 3 biyosentetik gen kümesinden NAPAA biyosentetik gen kümesinin ϵ -poli-L-lizin gen kümesine %100, terpen biyosentetik gen kümesinin karotenoid gen kümesine %50 ve poliketid sentaz biyosentetik gen kümesinin echoside A/echoside B/echoside C/echoside D/echoside E gen kümesine %11 benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Tablo 4.14. *Cryobacterium* sp. PH31-L1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktifsekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	T3PKS	echoside A/echoside B/echoside C/echoside D/echoside E	11%
Bölge 2.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 5.1	betalactone,terpene	carotenoid	50%

Cryobacterium sp. PH31-O1 izolatının biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri analiz edildiğinde, PH31-O1 izolatının genomunda siderofor, poliketid sentaz, ϵ -polilizin gibi non-alfa poliaminoasit kümesi (NAPAA), RIPP-benzeri moleküller, betalakton ve terpen olmak üzere toplam 5 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. Bunlardan NAPAA biyosentetik gen kümesi ϵ -poli-L-lizin gen kümesine %100, siderofor biyosentetik gen kümesi desferrioksamin E gen kümesine %75, terpen biyosentetik gen kümesi karotenoid gen kümesine %50 benzerlik göstermektedir. Bunlardan desferrioksamin, demir ve alüminyumu bağlayan bir

ilaçtır. Özellikle aşırı dozda demir, çoklu kan transfüzyonları veya altta yatan bir genetik duruma bağlı hemokromatoz ve diyalize giren kişilerde alüminyum toksisitesinde kullanılır (Ballas vd., 2018; Merlot vd., 2013). Kalan iki biyosentetik gen kümesinden biri streptomidin gen kümesine düşük benzerlik gösterirken, diğer gen kümesi bilinen herhangi bir biyosentetik gen kümesine benzerlik göstermemektedir.

Tablo 4.15. *Cryobacterium* sp. PH31-O1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	NI-siderophore	desferrioxamine E	75%
Bölge 3.1	T3PKS		
Bölge 3.2	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 4.1	RiPP-like	streptomidine	33%
Bölge 5.1	betalactone,terpene	carotenoid	50%

PH29-G1 izolatı için ARTS sunucusunda total 3509 gen ve 322 primer metabolizmadan sorumlu genin varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan 3 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 28 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 8 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 153 bölge saptanmıştır. PH31-AA6 izolatı için total 3519 gen ve 320 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 3 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 28 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 9 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 133 bölge saptanmıştır. PH31-L1 izolatı için total 3493 gen ve 319 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 3 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 27 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 2 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 143 bölge saptanmıştır. PH31-O1 izolatı için total 3436 gen ve 318 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 4 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 29 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 8 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 152 bölge saptanmıştır.

ARTS platformu antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde *Cryobacterium* spp. PH29-G1, PH31-AA6, PH31-L1 ve PH31-O1 izolatlarının her

birinde glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası, pentapeptid motifleri ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları gibi mekanizmaların dahil olduğu direnç modeli içerdiği görülmektedir. Ayrıca tüm izolatlarda biyosentetik gen kümesine yakın konumlanan ve direnç geniyle ilişkili pruvat karboksilaz geninin varlığı gözlemlenmiş ve PH31-AA6 izolatı haricinde tüm izolatlarında antimikrobiyal direnç mekanizmalarında rol oynayan DNA polimeraz III, beta alt biriminin filogenetik olarak aktarıldığı görülmüştür.

Tablo 4.16. *Cryobacterium sp.* PH29-G1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	3230
PF00044.19	Gp_dh_N	451
PF00044.19	Gp_dh_N	1531
PF00185.19	OTCace	1615
PF00185.19	OTCace	2740
PF00204.20	DNA_gyraseB	1039
PF00204.20	DNA_gyraseB	572
PF00364.17	Biotin_lipoyl	581
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1002
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1679
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2430
PF00364.17	Biotin_lipoyl	958
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2832
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3339
PF00364.17	Biotin_lipoyl	853
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3422
PF00364.17	Biotin_lipoyl	923
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2039
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1040
PF00521.15	DNA_topoisoIV	571
PF01039.17	Carboxyl_trans	3346
PF01039.17	Carboxyl_trans	924
PF13599.1	Pentapeptide_4	1377
RF0007	ABC_efflux	1787
RF0007	ABC_efflux	2490
RF0007	ABC_efflux	178
TIGR00663	TIGR00663	1036
TIGR02013	TIGR02013	32

Tablo 4.17. *Cryobacterium* sp. PH31-AA6 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	620
PF00044.19	Gp_dh_N	105
PF00185.19	OTCace	1928
PF00185.19	OTCace	663
PF00204.20	DNA_gyraseB	3372
PF00204.20	DNA_gyraseB	436
PF00364.17	Biotin_lipoyl	426
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1423
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2908
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1864
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2736
PF00364.17	Biotin_lipoyl	38
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1434
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1868
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2565
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2849
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2532
PF00364.17	Biotin_lipoyl	733
PF00521.15	DNA_topoisoIV	3371
PF00521.15	DNA_topoisoIV	438
PF01039.17	Carboxyl_trans	2792
PF01039.17	Carboxyl_trans	1867
PF13599.1	Pentapeptide_4	1075
RF0007	ABC_efflux	861
RF0007	ABC_efflux	1269
RF0007	ABC_efflux	2035
TIGR00663	TIGR00663	3376
TIGR02013	TIGR02013	2946

Tablo 4.18. *Cryobacterium* sp. PH31-L1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	1913
PF00044.19	Gp_dh_N	2869
PF00185.19	OTCace	849
PF00185.19	OTCace	1966
PF00204.20	DNA_gyraseB	1568
PF00204.20	DNA_gyraseB	1816
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1807
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1531
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1495
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1019
PF00364.17	Biotin_lipoyl	776
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2043
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1243
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2257
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1268
PF00364.17	Biotin_lipoyl	784
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1569
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1817
PF01039.17	Carboxyl_trans	1275
PF01039.17	Carboxyl_trans	783
PF01039.17	Carboxyl_trans	228
PF13599.1	Pentapeptide_4	2736
RF0007	ABC_efflux	666
RF0007	ABC_efflux	940
RF0007	ABC_efflux	283
TIGR00663	TIGR00663	1565
TIGR02013	TIGR02013	122

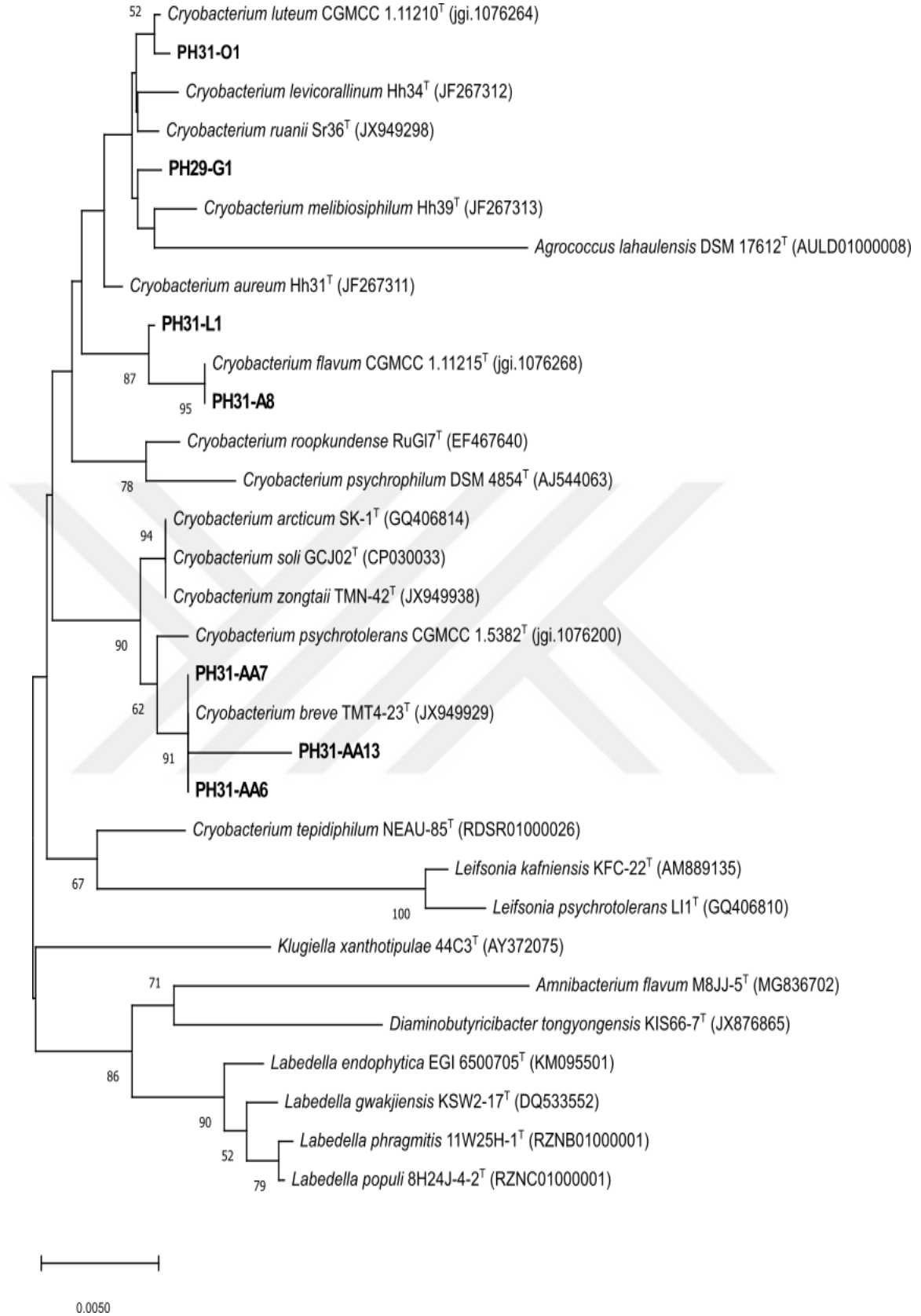
Tablo 4.19. *Cryobacterium sp.* PH31-O1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	290
PF00044.19	Gp_dh_N	1823
PF00044.19	Gp_dh_N	624
PF00185.19	OTCace	3064
PF00185.19	OTCace	335
PF00204.20	DNA_gyraseB	3412
PF00204.20	DNA_gyraseB	188
PF00364.17	Biotin_lipoyl	179
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3267
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1940
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2994
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3234
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1673
PF00364.17	Biotin_lipoyl	414
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1035
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3000
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2318
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2487
PF00521.15	DNA_topoisoIV	3411
PF00521.15	DNA_topoisoIV	189
PF01039.17	Carboxyl_trans	1028
PF01039.17	Carboxyl_trans	2999
PF13599.1	Pentapeptide_4	814
RF0007	ABC_efflux	2888
RF0007	ABC_efflux	2005
RF0007	ABC_efflux	1095
RF0053	ClassA	51
TIGR00663	TIGR00663	3415
TIGR02013	TIGR02013	1238

4.5.2. *Cryobacterium* Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Antarktika Horseshoe Adası'ndan izole edilen, 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Cryobacterium* cinsine ait izolatlar PH31-O1, PH29-G1, PH31-L1, PH31-A8, PH31-AA7, PH31-AA13 ve PH31-AA6'dır. Suşlara ait diziler ve suşlara en yakın 24 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Cryobacterium* sp. PH31-AA13 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün %97,2 tamamlayıcılıkla %99,40'luk bir benzerlik değerine sahip *Cryobacterium breve* TMT4-23^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1170 nükleotidden yedi tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Benzerliğin, eşik değerinin üstünde olması PH31-AA13 suşunun *Cryobacterium breve* türü ile aynı türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Nükleotid farklılıkları incelendiğinde diğer türlerin de H14-L1 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri %99,30 (*Cryobacterium arcticum* SK-1^T) ve %97,39 (*Labedella populi* 8H24J-4-2^T) arasında değişmektedir.

Cryobacterium sp. PH29-G1 ve *Cryobacterium* sp. PH31-O1 suşlarının 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşlara en yakın türün %100 tamamlayıcılıkla %99,73'lük bir benzerlik değerine sahip *Cryobacterium luteum* CGMCC 1.11210^T olduğunu göstermektedir. PH29-G1 ve PH31-O1 suşları ile *Cryobacterium luteum* arasında 1456 nükleotidden dört tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Benzerliğin, eşik değerinin üstünde olması PH29-G1 ve PH31-O1 suşlarının bahsedilen türler ile aynı türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Nükleotid farklılıkları incelendiğinde diğer türlerin PH29-G1 ve PH31-O1 suşları ile 16S rRNA dizi benzerlikleri %97,72 - 99,50 (*Cryobacterium levicorallinum* DSM 4854^T) ve %96,73-96,38 (*Agrococcus sediminis* NS18^T) arasında değişmektedir.



Şekil 4.18. *Cryobacterium* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

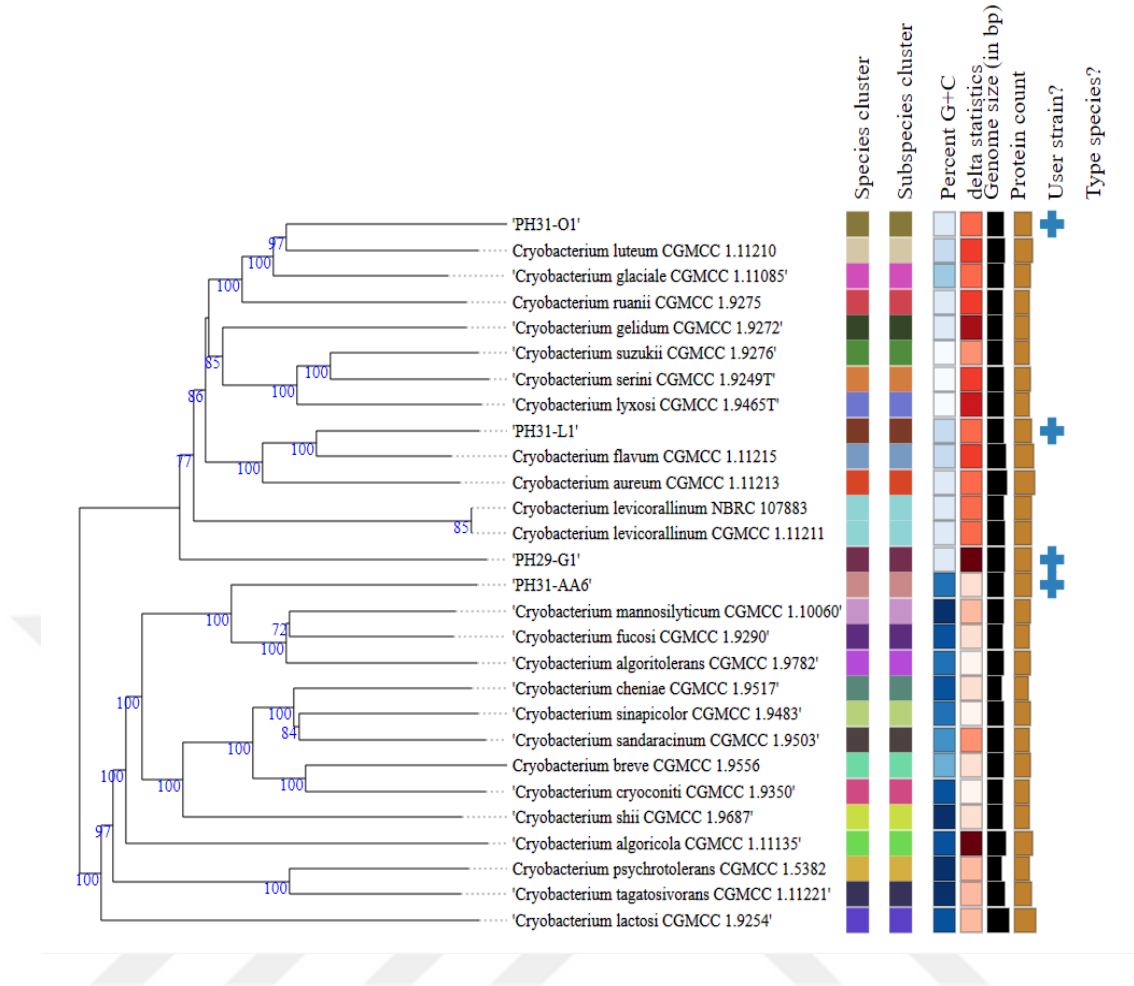
Cryobacterium sp. PH31-A8 ve *Cryobacterium* sp. PH31-L1 suşlarının 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşlara en yakın türün %100 tamamlayıcılıkla sırasıyla %100 ve %99,79'luk bir benzerlik değerine sahip *Cryobacterium flavum* CGMCC 1.11215^T olduğunu göstermektedir. PH31-A8 suşu ile *Cryobacterium flavum* arasında 16S rRNA geni için nükleotit farklılığı bulunmazken; PH31-L1 suşu ile *Cryobacterium flavum* arasında 1456 nükleotidden 3 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Benzerliğin, eşik değerinin üstünde olması PH31-A8 ve PH31-L1 suşlarının bahsedilen türler ile aynı türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Nükleotid farklılıkları incelendiğinde diğer türlerin de PH31-A8 ve PH31-L1 suşları ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 99,59 - 99,66 (*Cryobacterium aureum* Hh31^T) ve % 96,19 - 96,40 (*Cryobacterium mesophilum* MSL-15^T) arasında değişmektedir.

Cryobacterium sp. PH31-AA6 ve *Cryobacterium* sp. PH31-AA7 suşlarının 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşlara en yakın türün %100 tamamlayıcılıkla %99,17'lik bir benzerlik değerine sahip *Cryobacterium psychrotolerans* CGMCC 1.5382^T olduğunu göstermektedir. Bu iki suş ile *Cryobacterium psychrotolerans* arasında 1439 nükleotidden 12 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Benzerliğin, eşik değerinin üstünde olması PH31-AA6 ve PH31-AA7 suşlarının bahsedilen tür ile aynı türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca dizi benzerliğinin aynı olması da PH31-AA6 ve PH31-AA7 suşlarının birbiriyle aynı suşu temsil ettiğini düşündürmektedir. Nükleotid farklılıkları incelendiğinde diğer türlerin de PH31-AA6 ve PH31-AA7 suşları ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 99,14 (*Cryobacterium breve* TMT4-23^T) ve % 96,67 (*Klugiella xanthotipulae* 44C3^T) arasında değişmektedir. Antarktika Horseshoe Adası'ndan izole edilen tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Cryobacterium* cinsine ait izolatlar PH29-G1, PH31-AA6 ve PH31-L1 ve PH31-O1'dir. *Cryobacterium* sp. PH29-G1 izolatının TYGS sunucusunda tüm genomu bağlı filogenetik analize göre, izolat *Cryobacterium glaciale* CGMCC 1.11085^T suşu ile güvenilirlik değeri %25,5 ile 30,4 arasında değişebilen %27,9'luk bir benzerlik göstermektedir. PH29-G1 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 0.9'dur. Buradaki iki suşun, filogenetik ağaçta incelendiğinde farklı tür kümesine düştükleri görülmektedir. Ağaçta görünen diğer türlerin de PH29-G1 suşu ile benzerlikleri %27,7 (*Cryobacterium gelidum* CGMCC 1.9272) ve %26,3 (*Cryobacterium lyxosi* CGMCC 1.9465^T) arasında değişerek, farklı türler olduğu söylenebilir.

Tablo 4.20. *Cryobacterium* cinsine ait izolatların bibiri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
PH29-G1	<i>Cryobacterium glaciale</i> CGMCC 1.11085	27.9
	<i>Cryobacterium gelidum</i> CGMCC 1.9272	27.7
	<i>Cryobacterium luteum</i> CGMCC 1.11210	27.4
	<i>Cryobacterium flavum</i> CGMCC 1.11215	27.3
	<i>Cryobacterium ruanii</i> CGMCC 1.9275	27.3
	<i>Cryobacterium aureum</i> CGMCC 1.11213	27.1
	<i>Cryobacterium suzukii</i> CGMCC 1.9276	26.7
	<i>Cryobacterium levicorallinum</i> CGMCC 1.11211	26.4
	<i>Cryobacterium serini</i> CGMCC 1.9249T	26.4
	<i>Cryobacterium levicorallinum</i> NBRC 107883	26.4
	<i>Cryobacterium lyxosi</i> CGMCC 1.9465T	26.3
PH31-AA6	<i>Cryobacterium mannosilyticum</i> CGMCC 1.10060	32.4
	<i>Cryobacterium fucosi</i> CGMCC 1.9290	32.4
	<i>Cryobacterium algoritolerans</i> CGMCC 1.9782	31.4
	<i>Cryobacterium shii</i> CGMCC 1.9687	24.7
	<i>Cryobacterium cheniae</i> CGMCC 1.9517	24.5
	<i>Cryobacterium sinapicolor</i> CGMCC 1.9483	24.3
	<i>Cryobacterium sandaracinum</i> CGMCC 1.9503	23.9
	<i>Cryobacterium cryoconiti</i> CGMCC 1.9350	23.8
	<i>Cryobacterium breve</i> CGMCC 1.9556	23.5
	<i>Cryobacterium algicola</i> CGMCC 1.11135	23.2
	<i>Cryobacterium psychrotolerans</i> CGMCC 1.5382	22.7
	<i>Cryobacterium lactosi</i> CGMCC 1.9254	21.7
	<i>Cryobacterium flavum</i> CGMCC 1.11215	45
	<i>Cryobacterium aureum</i> CGMCC 1.11213	35.5
PH31-L1	<i>Cryobacterium glaciale</i> CGMCC 1.11085	30.5
	<i>Cryobacterium luteum</i> CGMCC 1.11210	29.7
	<i>Cryobacterium suzukii</i> CGMCC 1.9276	29.4
	<i>Cryobacterium ruanii</i> CGMCC 1.9275	28.9
	<i>Cryobacterium serini</i> CGMCC 1.9249T	28.8
	<i>Cryobacterium gelidum</i> CGMCC 1.9272	28.7
	<i>Cryobacterium lyxosi</i> CGMCC 1.9465T	28.6
	<i>Cryobacterium levicorallinum</i> NBRC 107883	28.1
	<i>Cryobacterium levicorallinum</i> CGMCC 1.11211	28.1
	<i>Cryobacterium glaciale</i> CGMCC 1.11085	35.9
	<i>Cryobacterium luteum</i> CGMCC 1.11210	35.8
	<i>Cryobacterium ruanii</i> CGMCC 1.9275	31.3
	<i>Cryobacterium flavum</i> CGMCC 1.11215	29.3
	<i>Cryobacterium aureum</i> CGMCC 1.11213	29.1
PH31-O1	<i>Cryobacterium suzukii</i> CGMCC 1.9276	28.3
	<i>Cryobacterium gelidum</i> CGMCC 1.9272	28.3
	<i>Cryobacterium serini</i> CGMCC 1.9249T	27.7
	<i>Cryobacterium levicorallinum</i> NBRC 107883	27.5
	<i>Cryobacterium levicorallinum</i> CGMCC 1.11211	27.5
	<i>Cryobacterium lyxosi</i> CGMCC 1.9465T	27.5
	<i>Cryobacterium glaciale</i> CGMCC 1.11085	35.9
	<i>Cryobacterium luteum</i> CGMCC 1.11210	35.8
	<i>Cryobacterium ruanii</i> CGMCC 1.9275	31.3
	<i>Cryobacterium flavum</i> CGMCC 1.11215	29.3
	<i>Cryobacterium aureum</i> CGMCC 1.11213	29.1
	<i>Cryobacterium suzukii</i> CGMCC 1.9276	28.3
	<i>Cryobacterium gelidum</i> CGMCC 1.9272	28.3
	<i>Cryobacterium serini</i> CGMCC 1.9249T	27.7
PH29-G1	PH31-AA6	20.7
	PH31-L1	27.3
PH29-G1	PH31-O1	26.8
PH31-AA6	PH31-L1	20.5
PH31-AA6	PH31-O1	20.6
PH31-L1	PH31-O1	28.8

Cryobacterium sp. PH31-AA6 izolatu *Cryobacterium mannosilyticum* CGMCC 1.10060^T ve *Cryobacterium fucosi* CGMCC 1.9290^T suşları ile güvenilirlik değeri %30,0 - 34,9 ve %29,9 - 34,9 arasında değişebilen %32,4'lük bir benzerlik göstermektedir. PH31-AA6 suşunun bu iki tür ile arasındaki %GC farklı sırasıyla 1,34 ve 0,74'tür. Ağaçta görünen diğer türlerin de PH31-AA6 suşu ile benzerlikleri %31,4 (*Cryobacterium algoritolerans* CGMCC 1.9782) ve %21,7 (*Cryobacterium lactosi* CGMCC 1.9254) arasında değişmektedir. PH31-L1 izolatu *Cryobacterium flavum* CGMCC 1.11215^T suşu ile güvenilirlik değeri % 42,5 - 47,6 arasında değişebilen % 45,0'lik bir benzerlik göstererek, PH31-L1 izolatının yeni bir türü temsil ettiği kesin olarak söylenebilir. PH31-L1 suşunun *Cryobacterium flavum* ile arasındaki %GC farkı 0,37'dir. Diğer türlerin de PH31-L1 suşu ile benzerlikleri %35,5 (*Cryobacterium aureum* CGMCC 1.11213) ve %30,5 (*Cryobacterium levicorallinum* CGMCC 1.11211) arasında değişerek, farklı türler olduğu söylenebilir. PH31-O1 izolatu *Cryobacterium glaciale* CGMCC 1.11085^T suşu ile güvenilirlik değeri % 33,4 - 38,4 arasında değişebilen % 35,9'luk bir benzerlik göstererek, PH31-O1 izolatının yeni bir türü temsil ettiği kesin olarak söylenebilir. PH31-O1 suşunun *Cryobacterium flavum* ile arasındaki %GC farkı 0,89'dur. Diğer türlerin PH31-O1 suşu ile benzerlikleri % 35,8 (*Cryobacterium luteum* CGMCC 1.11210) ve % 27,5 (*Cryobacterium lyxosi* CGMCC 1.9465^T) arasında değişerek, farklı türler olduğu söylenebilir.



Şekil 4.19. *Cryobacterium* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 93.5'tir.

Cryobacterium üyeleri için tüm genom filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 93,5'tir. Delta (δ) değerleri 0,088 – 0,198 arası değişip; GC yüzdeleri %63,52 – 68,64 arasında; genom büyüklükleri 3,189,267 - 4,653,879 bp arasında; protein sayısı ise 2,870 - 4,208 arasında değişmektedir. Dört *Cryobacterium* izolatının TYGS sunucusunda FastME 2.1.6.1 ile oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacında PH29-G1, PH31-L1 ve PH31-O1 aynı kladda kümeleşirken, PH31-AA6 hepsinden farklı kladda kümeleşerek filogenetik olarak birbirlerine daha uzak oldukları görülmektedir. İzolatlar arasında dDDH benzerlikliği incelendiğinde PH31-L1 ve PH29-G1 arasında benzerlik %27,3; PH31-L1 ve PH31-AA6 arasında benzerlik %20,5; PH31-L1 ve PH31-O1 arasında benzerlik %28,8; PH31-O1 ve PH29-G1 arasında benzerlik %26,8; PH31-O1 ve PH31-AA6 arasında benzerlik %20,6; PH29-G1 ve PH31-AA6 arasında benzerlik %20,7 çıkmıştır.

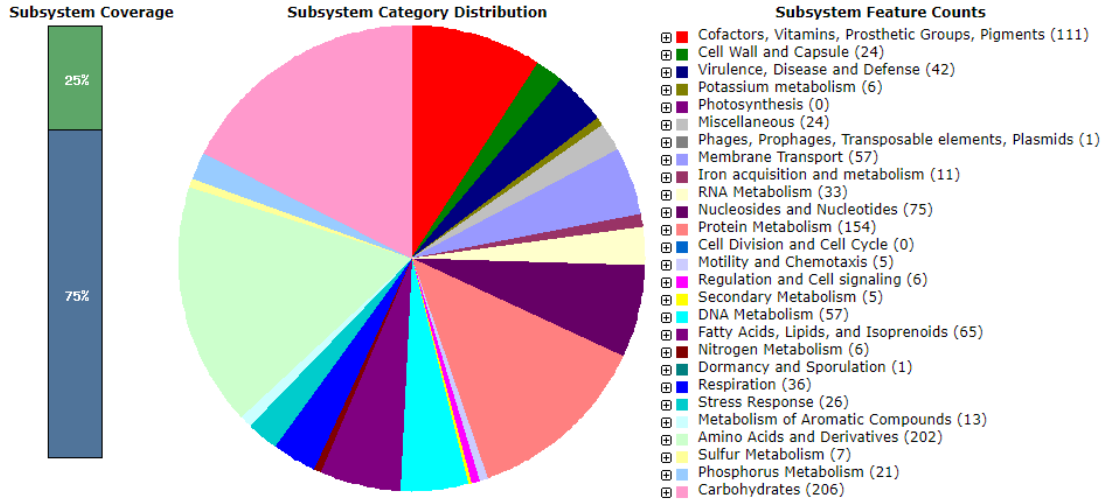
Bundan yola çıkarak her dört *Cryobacterium* izolatının da yeni bir türü temsil ettiği söylenebilir.

4.6. *Microbacterium* cinsi

4.6.1. *Microbacterium* sp. H37-C3 İzolatının Genom Özellikleri

H37-C3 izolatında toplam 11 kontig vardır. Bunlardan 1 tanesi ≥ 1000000 bp; 5 tanesi $1000000 >$ ile ≥ 100000 bp; 4 tanesi $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 1 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp arasındadır. Genom uzunluğu 3.373.651 bp olup, kontiglerin en büyüğü 1.017.892 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi % 69.61; N₅₀ değeri 846.105 bp; L₅₀ değeri 2'dir.

Microbacterium sp. H37-C3 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.20'de görüldüğü gibi, dizilerin %25'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %75'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu kontig sayısının 11, genom uzunluğunun 3,373,651 bp, GC oranının % 69.6 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 713.115 bp ve 2 olduğunu göstermektedir. Kodlama yapan 3310 dizinin, 53 RNA'nın ve 268 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. H37-C3 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1194 gen grubu içerisinde 30'u antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 42 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde görevli 4 mekanizma ve lantionin senteziyle alakalı 1 mekanizması bulunmaktadır. Ayrıca aromatik bileşiklerin metabolizması incelendiğinde aromatik bileşiklerin katabolizması için periferik yollarda kinik asit tuzu degradasyonu; merkezi aromatik ara ürünlerin metabolizmasında ise salisilat ve gentisat katabolizması ile aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yollarını içeren 13 mekanizma bulunmaktadır. H37-C3 izolatının faj ile alakalı bölgeleri incelendiğinde faj kuyruğu lif proteinleri ile ilgili 1 mekanizması bulunmaktadır. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan faj proteinleri, faj DNA invertaz, faj proteini Pham242, faj antirepresör proteini ve faj ile ilişkili integras mekanizmaları bulundurmaktadır. Ancak CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.



Şekil 4.20. *Microbacterium* sp. H37-C3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H37-C3 izolatının virülans genleri incelendiğinde, protein sentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonları tespit edilmiştir. Stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon, kolin ile betain alımı ve betain sentezi, osmoregüle periplazmik glukozların sentezini içeren ozmotik stres; glutaredoksin ile glutatyon redox reaksiyonlarını içeren oksidatif stres; bakteriyel hemoglobin, karbon açlığı, sigmaB stres cevabı regülasyonu, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmalarının dahil olduğu toplam 26 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, alisilat ve gentisat katabolizması, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı ve gentisat degradasyonu mekanizmaları görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteini ve antifriz proteinlerine sahip olduğu görülmüştür. H37-C3 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, safra hidrolizi, arsenik direnci, bakır-civa direnci ile toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direncinin bulunduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde organik hidroperoksit direnci, akriflavin direnci, çoklu ilaç direnci pompaları, tetrasiklin direnci pompaları ve nisin direncini içeren mekanizmalar gözlemlenmiştir.

Microbacterium sp. H37-C3'ün biyosentetik gen kümelerinin tespiti için antiSMASH sunucusunda gerçekleştirilen analizine göre izolat, tip-III poliketid, terpen, betalakton, sınıf-III lantipeptid ve tiyopeptid yapısında biyoaktif metabolit kodlayan 6 farklı gen kümesine sahiptir. Bu gen kümelerinden tiyopeptid gen kümesi dışındakiler yapısı bilinen metabolitleri kodlayan gen kümeleri ile düşük düzeyde

(%7-30) benzerlik göstermekte olup, bu durum yeni bir *Microbacterium* türünün ilk temsilcisi olan H37-C3 izolatının yeni biyoaktif metabolitler sentezleyebileceğini göstermektedir. Bilinen metabolitleri kodlayan gen kümelerinden en önemlisi olan meroklorinler yakın zamanda izole edilmiş ve önemli antibakteriyel aktiviteler sergileyebilen halojenli meroterpenoid antibiyotik grubudur (Miles vd., 2017; Teufel vd., 2014). Higromisin A ise Lyme hastalığına neden olan *Borrelia burgdorferi* patojenine karşı kullanılan seçici bir antibiyotiktir (Leimer vd., 2021). Ayrıca anti-inflamatuar, anti-siliate, bitki düzenleyici ve çeşitli biyoaktivitelere sahip ikarugamisinin türevi olan klifednamid A, terapötik, endüstriyel veya tarımsal potansiyellere sahip bileşiktir (Qi vd., 2018).

Tablo 4.21. *Microbacterium* sp. H37-C3'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	T3PKS	merochlorin A / merochlorin B / deschloro-merochlorin A / deschloro-merochlorin B / isochloro-merochlorin B / dichloro-merochlorin B / merochlorin D / merochlorin C	12%
Bölge 1.2	terpene	carotenoid	14%
Bölge 1.3	betalactone	microansamycin	7%
Bölge 2.1	T3PKS	hygromycin A	6%
Bölge 2.2	lanthipeptide-class-iii	clifednamide A	30%
Bölge 5.1	RRE-containing,thiopeptide,LAP		

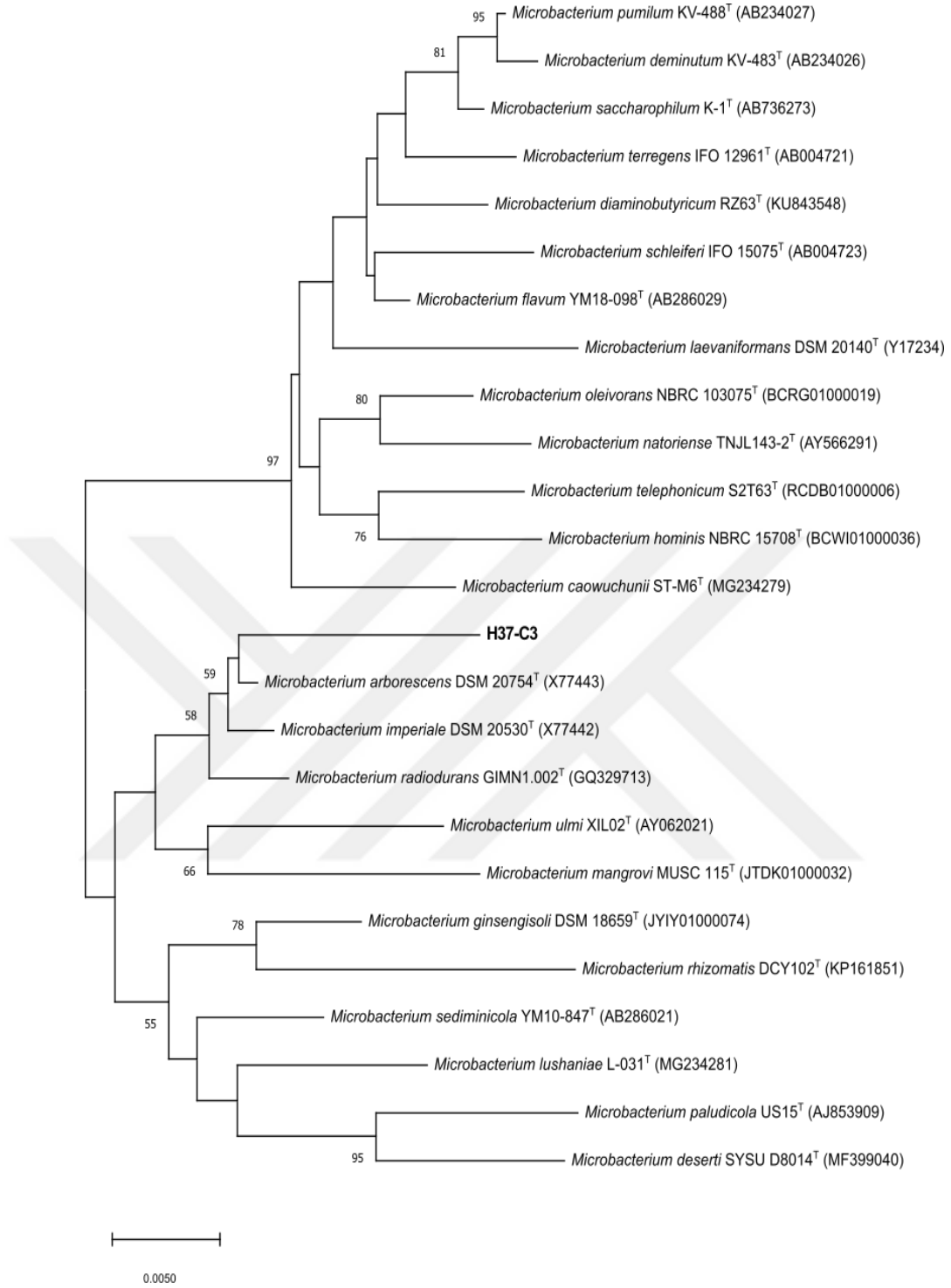
Microbacterium sp. H37-C3 izolatının genomunda total 3265 gen ve 301 primer metabolizmadan sorumlu gen; bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan 5 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 20 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 6 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 115 bölge saptanmıştır. ARTS platformu antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim ile alakalı mekanizmalar, ısı şoku proteini HSP90'a karşı direnç, ornitin karbamoiltransferaz ile alakalı mekanizmalar, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz ile alakalı mekanizmalar, ABC-antibiyotik pompası, aminoglikozit direnci, kloramfenikol direnci, MFS-antibiyotik pompası ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonlarını içeren direnç modellerini içerdiğini göstermektedir.

Tablo 4.22. *Microbacterium* sp. H37-C3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0007	ABC_efflux	1643
RF0033	APH3	1317
RF0050	Chlor_Acetyltrans_CAT	2557
RF0104	MFS_efflux	2519
PF00044.19	Gp_dh_N	756
PF00183.13	HSP90	1675
PF00185.19	OTCace	876
PF00185.19	OTCace	199
PF00204.20	DNA_gyraseB	2743
PF00204.20	DNA_gyraseB	676
PF00364.17	Biotin_lipoyl	685
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2652
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2153
PF00364.17	Biotin_lipoyl	825
PF00521.15	DNA_topoisoIV	675
PF00521.15	DNA_topoisoIV	2744
PF00521.15	DNA_topoisoIV	2783
PF01039.17	Carboxyl_trans	2146
TIGR02013	TIGR02013	2445
TIGR00663	TIGR00663	2740

4.6.2. *Microbacterium* sp. H37-C3 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni ve tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Microbacterium* cinsine ait tek izolat H37-C3'tür. Suşa ait dizi ve suşa en yakın 24 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Microbacterium* sp. H37-C3 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün % 100 tamamlayıcılıkla, % 98,47'lik bir benzerlik değerine sahip *Microbacterium arborescens* DSM 20754^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1437 nükleotidden 22 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.21), çalışılan suşa en yakın türün de *Microbacterium arborescens* DSM 20754^T olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H37-C3 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri %98,26 (*Microbacterium imperiale* DSM 20530^T) ve %95,66 (*Microbacterium rhizomatis* DCY102^T) arasında değişmektedir.

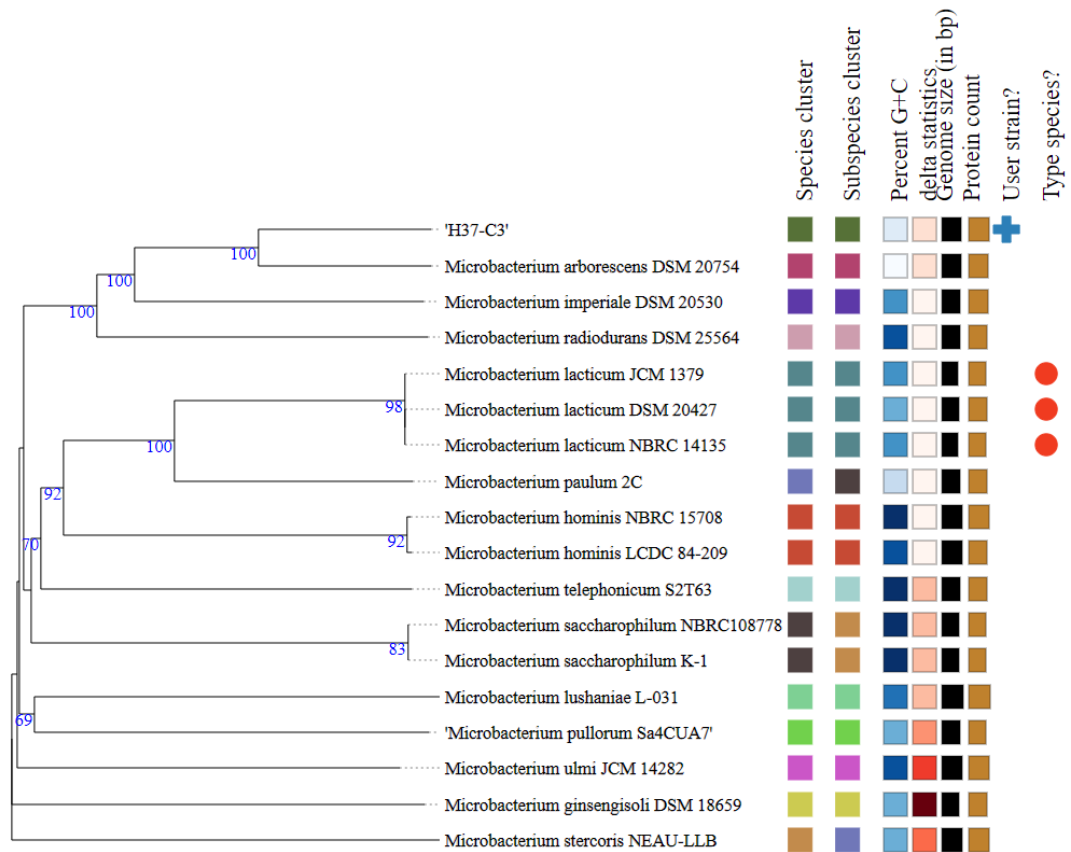


Şekil 4.21. *Microbacterium* sp. H37-C3 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Microbacterium sp. H37-C3 izolatının TYGS platformunda tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 14 türden oluşan bir küme ortaya çıkmıştır. *Microbacterium* sp. H37-C3 izolatı *Microbacterium arborescens* DSM 20754 suşu ile güvenilirlik değeri % 38.9 - 43.9 arasında değişebilen % 41.4'lük benzerlik göstermektedir. H37-C3 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 0.3'tür. Buradaki iki suşun, filogenetik ağaçta incelendiğinde farklı tür kümesine düştükleri görülmektedir. Ağaçta görünen diğer türlerin de H37-C3 suşu ile benzerlikleri % 27,3 (*Microbacterium imperiale* DSM 20530) ve % 19.7 (*Microbacterium stercoris* NEAU-LLB) arasında değişmektedir. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 69.2'dir. Delta (δ) değerleri 0.137 - 0.368 arası değişip; GC yüzdeleri % 69.32 - 71.16 arasında; genom büyüklükleri 2,853,757 - 3,650,161 bp arasında; protein sayısı ise 2,724 - 3,375 arasında değişmektedir.

Tablo 4.23. *Microbacterium* sp. H37-C3 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H37-C3	<i>Microbacterium arborescens</i> DSM 20754	41.4
	<i>Microbacterium imperiale</i> DSM 20530	27.3
	<i>Microbacterium radiodurans</i> DSM 25564	24.4
	<i>Microbacterium paulum</i> 2C	21.2
	<i>Microbacterium lacticum</i> NBRC 14135	21.1
	<i>Microbacterium lacticum</i> JCM 1379	21.1
	<i>Microbacterium lacticum</i> DSM 20427	21.1
	<i>Microbacterium saccharophilum</i> NBRC108778	21
	<i>Microbacterium telephonicum</i> S2T63	20.7
	<i>Microbacterium hominis</i> LCDC 84-209	20.7
	<i>Microbacterium hominis</i> NBRC 15708	20.7
	<i>Microbacterium ulmi</i> JCM 14282	20.7
	<i>Microbacterium pullorum</i> Sa4CUA7	20.3
	<i>Microbacterium caowuchunii</i> ST-M6	20.1
	<i>Microbacterium lushaniae</i> L-031	20
	<i>Microbacterium ginsengisoli</i> DSM 18659	19.8
	<i>Microbacterium stercoris</i> NEAU-LLB	19.7



Şekil 4.22. *Microbacterium* sp. H37-C3 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı.

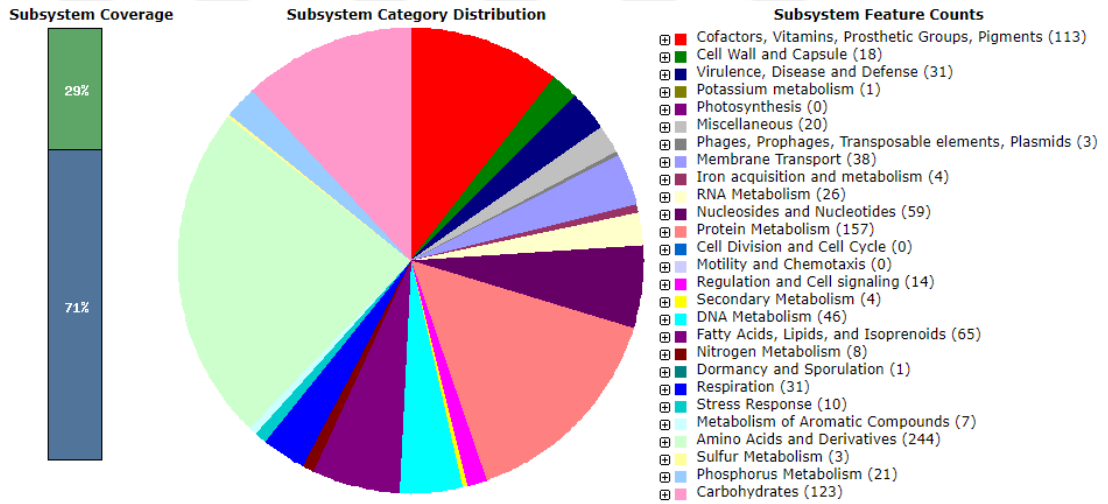
4.7. *Micrococcus cinsi*

4.7.2. *Micrococcus* sp. H39-S4 İzolatının Genom Özellikleri

H39-S4'ün genomunda toplam 35 kontig vardır. Bunlardan 8 tanesi ≥ 100000 bp; 9 tanesi $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 12 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp; 6 tanesi $1000 >$ ile ≥ 0 bp arasındadır. Genom uzunluğu 2.541.514 bp olup, kontiglerin en büyüğü 409.263 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi % 73.01; N₅₀ değeri 264.673 bp; L₅₀ değeri 4'tür.

Micrococcus sp. H39-S4 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.23'te görüldüğü gibi, dizilerin %29'u belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %71'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonunda kontiglerin sayısının 35, genom uzunluğunun 2,541,514 bp, GC oranının % 73.0 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 190.579 bp ve 5 olduğunu göstermektedir. Kodlama yapan 2379 dizinin, 51 RNA'nın ve 243 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. *Micrococcus* sp. H39-S4 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1047 gen grubu içerisinde 22'si antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 9'u

invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 31 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından sadece alkan sentezinde görevli toplam 4 mekanizması bulunmaktadır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit tuzu degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı ve aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağından oluşan 7 mekanizma görülmektedir. H39-S4 izolatının faj ile ilgili mekanizmalarında faj kuyruğu faj kuyruğu lifi ile ilgili genleri bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, herhangi bir kategoriye koyulamayan faj şok proteini C (PspC), faj holin, faj eksizyonaz ve faj integras mekanizmaları bulundurmaktadır. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı bölgeler incelendiğinde, CRISPR ile ilişkili Csb1, Cas2 proteinleri ve Cas4 ekzonükleaz mekanizmaları, spacer ve CRISPR tekrar dizilerinden oluşan 51 bölge görülmektedir.



Şekil 4.23. *Micrococcus* sp. H39-S4 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

Micrococcus sp. H39-S4 izolatının virülans genleri açısından protein sentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonları görülmektedir. H39-S4 izolatının stres cevabında glutaredoksin ve glutatyon redox tepkimelerini içeren oksidatif stres; kolin ile betain alımı ve betain sentezi, akuaporin Z ve gliserol alımını kolaylaştıran proteine bağlı ozmotik regülasyon mekanizmalarını içeren ozmotik stres; bakteriyel hemoglobin ve karbon açlığı ile alakalı mekanizmaların dahil olduğu toplam 10 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı ve aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı mekanizmaları görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteinine sahip

olduğu görülmüştür. H39-S4 izolatu antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde beta-laktamaz aktivitesi, florokinolon direnci, civa redüktaza ve civa direnç operonuna bağlı civa direnci ve toleransı, bakır homeostazına bağlı bakır toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direnci gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde akriflavin direnci, etidyum bromür-metil viologen direnci ve organik hidroperoksit direnci ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

AntiSMASH sunucusunda biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti analizine göre *Micrococcus* sp. H39-S4'ün genomunda RiPP, betalakton, terpen, NAPAA, siderofor ve ektoin yapıda metabolitler kodlayan 6 biyosentetik gen kümesinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bunlardan betalakton biyosentetik gen kümesi lavendiol gen kümesine %6, terpen biyosentetik gen kümesi karotenoid gen kümesine %66 ve NAPAA biyosentetik gen kümesi stenotrisin gen kümesine %31 benzerlik göstermiştir. Kalan RiPP, siderofor ve ektoin gen kümeleri, bilinen biyosentetik gen kümelerinin kodladığı herhangi bir metabolite benzerlik göstermemektedir.

Tablo 4.24. *Micrococcus* sp. H39-S4'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 4.1	RRE-containing		
Bölge 5.1	betalactone	lavendiol	6%
Bölge 8.1	terpene	carotenoid	66%
Bölge 10.1	NAPAA	stenothricin	31%
Bölge 14.1	siderophore		
Bölge 15.1	ectoine		

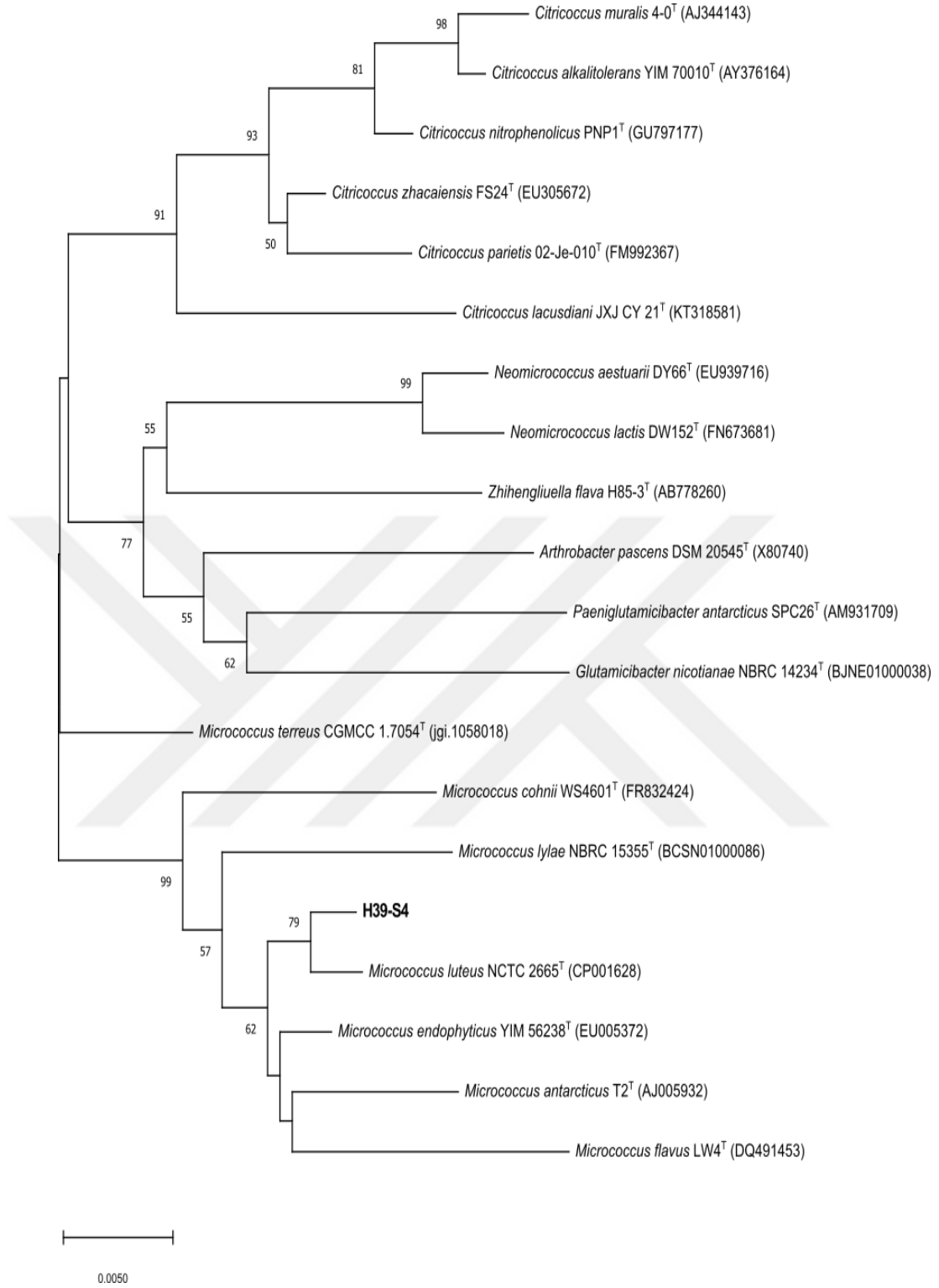
Micrococcus sp. H39-S4'ün genomunda total 2332 gen ve 311 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan 5 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 20 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 5 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 135 bölge saptanmıştır. Antimikrobiyal direnç genleri analizi glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz ile ilgili mekanizmalar, DNA giraz ve DNA topoizomerez IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları gibi mekanizmaları içerdiğini göstermektedir.

Tablo 4.25. *Micrococcus* sp. H39-S4 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0007	ABC_efflux	514
PF00044.19	Gp_dh_N	1633
PF00044.19	Gp_dh_N	295
PF00185.19	OTCace	1918
PF00185.19	OTCace	1366
PF00204.20	DNA_gyraseB	941
PF00204.20	DNA_gyraseB	1295
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1288
PF00364.17	Biotin_lipoyl	44
PF00364.17	Biotin_lipoyl	461
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1171
PF00364.17	Biotin_lipoyl	48
PF00364.17	Biotin_lipoyl	583
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1240
PF00521.15	DNA_topoisoIV	940
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1302
PF01039.17	Carboxyl_trans	1175
PF01039.17	Carboxyl_trans	47
TIGR02013	TIGR02013	411
TIGR00663	TIGR00663	944

4.7.2. *Micrococcus* sp. H39-S4 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni ve tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Micrococcus* cinsine ait tek izolat H39-S4'tür. Suşa ait dizi ve suşa en yakın 19 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Micrococcus* sp. H39-S4 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türlerin sırasıyla % 100 ve % 98.2 tamamlayıcılıkla, % 99.58 ve %99.01'lik bir benzerlik değerine sahip *Micrococcus luteus* NCTC 2665^T ile *Micrococcus endophyticus* YIM 56238^T olduğunu göstermektedir. Bu organizmalar karşılaştırıldığında *Micrococcus luteus* için 1445 nükleotidden 6 tanesinin birbirinden farklı olduğu; *Micrococcus endophyticus* için ise 1417 nükleotidden 14 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.24), çalışılan suşa en yakın türün de *Micrococcus luteus* NCTC 2665^T olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H39-S4 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 98.48 (*Micrococcus antarcticus* T2^T) ve % 96.26 (*Glutamicibacter nicotianae* NBRC 14234^T) arasında değişmektedir.



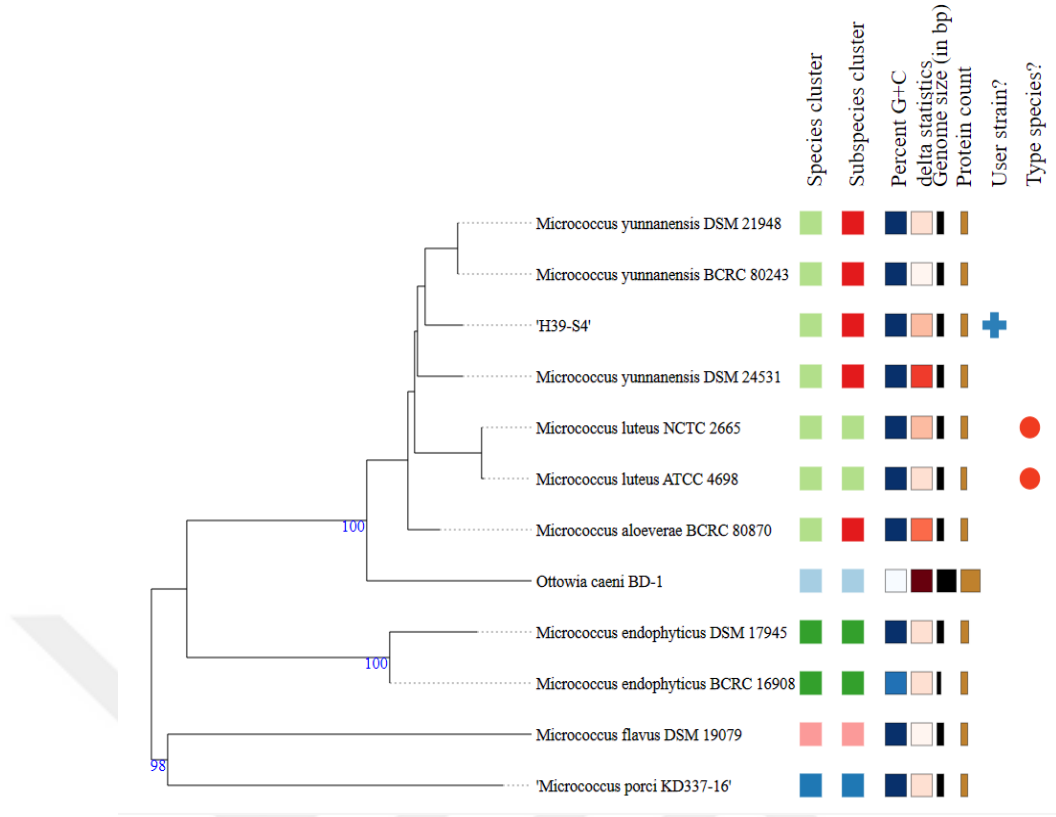
Şekil 4.24. *Micrococcus* sp. H39-S4 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Micrococcus sp. H39-S4 izolatının TYGS platformunda tüm genomla bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 12 türden oluşan bir küme ortaya çıkmıştır. *Micrococcus* sp. H39-S4 izolatı, *Micrococcus yunnanensis* DSM 21948 ve

Micrococcus yunnanensis BCRC 80243 suşları ile güvenilirlik değeri % 81.4 - 86.6 arasında değişebilen %84.2'lik benzerlik göstermektedir. H39-S4 suşunun bu türler ile arasındaki %GC farklı sırasıyla 0.11 ve 0.05'tir. Buradaki üç suşun, filogenetik ağaçta incelendiğinde aynı tür ve alt tür kümesine düştükleri görülmektedir. Ağaçta görünen diğer türlerin H37-C3 suşu ile benzerlikleri %82,1 (*Micrococcus aloeverae* BCRC 80870) ve % 23.3 (*Micrococcus flavus* DSM 19079) arasında değişmektedir. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 53.3'tür. δ değerleri 0.122 - 0.298 arası değişip; GC yüzdeleri % 63.64 - 73.57 arasında; genom büyüklükleri 1,520,292 - 6,816,142 bp arasında; protein sayısı ise 2,069 - 6,086 arasında değişmektedir.

Tablo 4.26. *Micrococcus* sp. H39-S4 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H39-S4	<i>Micrococcus yunnanensis</i> DSM 21948	84.2
	<i>Micrococcus yunnanensis</i> BCRC 80243	84.2
	<i>Micrococcus aloeverae</i> BCRC 80870	82.1
	<i>Micrococcus yunnanensis</i> DSM 24531	79.4
	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665	74.8
	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	74.7
	<i>Ottowia caeni</i> BD-1	43.5
	<i>Micrococcus endophyticus</i> BCRC 16908	43.1
	<i>Micrococcus endophyticus</i> DSM 17945	32.6
	<i>Micrococcus porci</i> KD337-16	24.9
	<i>Micrococcus flavus</i> DSM 19079	23.3



Şekil 4.25. *Micrococcus* sp. H39-S4 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı.

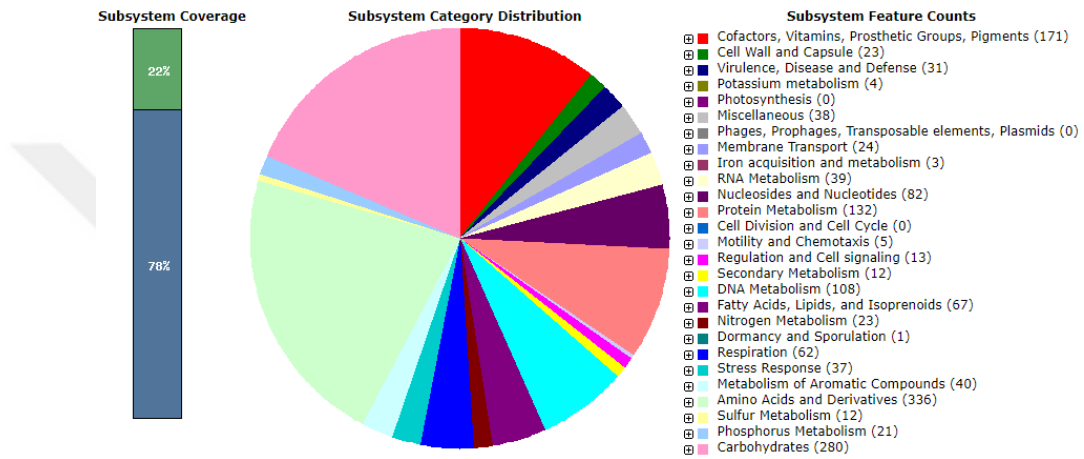
4.8. *Paenarthrobacter* cinsi

4.8.1. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 İzolatının Genom Özellikleri

PH39-S1 izolatında toplam 135 kontig vardır. Bunlardan 19 tanesi ≥ 100000 bp; 45 tanesi $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 48 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp; 23 tanesi $1000 >$ ile ≥ 0 bp arasındadır. Genom uzunluğu 4.649.047 bp olup, kontiglerin en büyüğü 277.632 bp uzunluğundadır. GC yüzdesi % 64.03; N_{50} değeri 123.393 bp; L_{50} değeri 14'tür.

Paenarthrobacter sp. PH39-S1 izolatının genom anotasyonunda, dizilerin %22'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %78'i belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Genom anotasyonu raporu kontiglerin sayısının 15, genom uzunluğunun 4,649,047 bp, GC oranının % 64.0 ve N_{50} ile L_{50} değerlerinin sırasıyla 106.398 bp ve 15 olduğunu göstermektedir. Kodlama yapan 4831 dizinin, 50 RNA'nın ve 285 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. PH39-S1 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1564 gen grubu içerisinde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç mekanizmalarının ve *Mycobacterium* virülans operonlarının dahil olduğu 31 tane

virölans/hastalık/savunma mekanizması bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde oksin biyosentezinde görevli toplam 12 mekanizması bulunmaktadır. PH39-S1 izolatu faj genleri ve CRISPR dizileri açısından incelendiğinde, bu mekanizmalarla alakalı fonksiyonel herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır. Ancak herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde faj DNA invertaz, faj kuyruğu proteinleri, faj integrasi faj birleştirme proteinleri ve abortif enfeksiyon bakteriyofaj direnç proteini dizilerinin bulunduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.26. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

PH39-S1 izolatının stres cevabı incelendiğinde sigmaB stres cevabı regülasyonu, bakteriyal hemoglobin, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmaları, kolin-betain alımı ve betain sentezi ile ozmotik regülasyondan sorumlu ozmotik stres; glutaredoksin ve glutatyon redox reaksiyonlarından sorumlu oksidatif stres modellerinin bulunduğu 37 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında salisilat ester degradasyonu, kinik asit tuzu degradasyonu, benzoat degradasyonu, p-hidroksibenzoat degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, beta-ketoadipat yolağının protokateşik asit dalı, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı, gentisat degradasyonu ve aromatik amin katabolizmasından oluşan mekanizmalar görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteinine sahip olduğu görülmüştür. PH39-S1 izolatu antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde kobalt-çinko-kadmiyum direnci, bakır homeostazına bağlı bakır tolerans ve direnci, civa direnci operonuna ve civa redüktaza bağlı civa tolerans

ve direnci ve florokinolon direnci gözlemlenmiştir. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde ise metisilin direnci, glioksalaz/bleomisin direnci, akriflavin direnci, arsenik direnci, organik hidroperoksit direnci ve çoklu ilaç direnci pompaları gibi mekanizmalar gözlemlenmiştir.

Paenarthrobacter sp. PH39-S1 izolatının genomunda poliketid sentaz, terpen, RIPP, butirolakton ve betalakton olmak üzere toplam 5 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. Bunlardan sadece terpen biyosentetik gen kümesi, karotenoid gen kümesine %83 benzerlik gösterirken, diğer gen kümeleri bilinen herhangi bir gen kümesine benzerlik göstermemekte veya düşük benzerlik göstermektedir. Bilinen kümelerine benzerlik düşük benzerlik gösteren betalakton gen kümesi incelendiğinde α,β -epoksiketon gen kümesine %15 benzerliği görülmüştür. α,β -epoksiketonlar güçlü bir anti-anjiyojenik aktiviteye sahip güçlü antitümör ajanlardır ve hücre içi hedefleri proteazomlardır (Delcros vd., 2012). Bu durum, PH39-S1 izolatının kesin olmamakla birlikte, α,β -epoksiketon gibi bir aktiviteye sahip metaboliti üretiyor olabileceğini ve bu metabolite karşı direnç mekanizmasına da sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bilinen herhangi bir gen kümesinin ürününe benzerlik göstermeyen biyosentetik gen kümelerinden butirolaktonlar önemlidir. Butirolaktonlardan en yaygın olan gamma-butirolakton merkezi sinir sistemini baskılayan ve boya sökücüler, temizleyiciler, yapıştırıcılar ve oje çıkarıcılarda bulunan, yaygın olarak kullanılan bir endüstriyel kimyasal ara madde ve çözücüdür. Ayrıca yasa dışı olmasına rağmen, insanlar tarafından atletik performansı artırmak, uyku ve cinsel performansı artırmak, depresyon ve stresi azaltmak, gevşemeyi sağlamak gibi amaçlarla kullanılmaktadırlar (Flanagan vd., 2014; Horinouchi vd., 2010; Ladinsky vd., 1983; Lee vd., 2011).

Tablo 4.27. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 5.1 Bölge 8.1 Bölge 16.1 Bölge 17.1 Bölge 18.1	T3PKS terpene RiPP-like butyrolactone betalactone	carotenoid α,β -epoxyketone	83% 15%

Paenarthrobacter sp. PH39-S1'in genomunda total 4775 gen ve 339 primer metabolizmadan sorumlu gen; bilinen BGC'lere yakın konumlanan 5 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 31 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 17 bölge ve

filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 126 bölge saptanmıştır. Antimikrobiyal direnç genleri analizi, glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim ile alakalı 4 mekanizma, ornitin karbamoiltransferaz ile ilgili 2 mekanizma, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları ile ilgili 4 mekanizma, biyotin ve lipoik asit metabolizmasıyla alakalı 8 mekanizma, proteazom degradasyonu ile alakalı 2 mekanizma, karboksil transferaz ile alakalı 2 mekanizma, pentapeptid motiflerinden 2 çeşit, ABC-antibiyotik pompalarından 2 mekanizma, beta laktamaz aktivitesinden 3 mekanizma ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları ile alakalı 2 mekanizma içerdiğini göstermektedir.

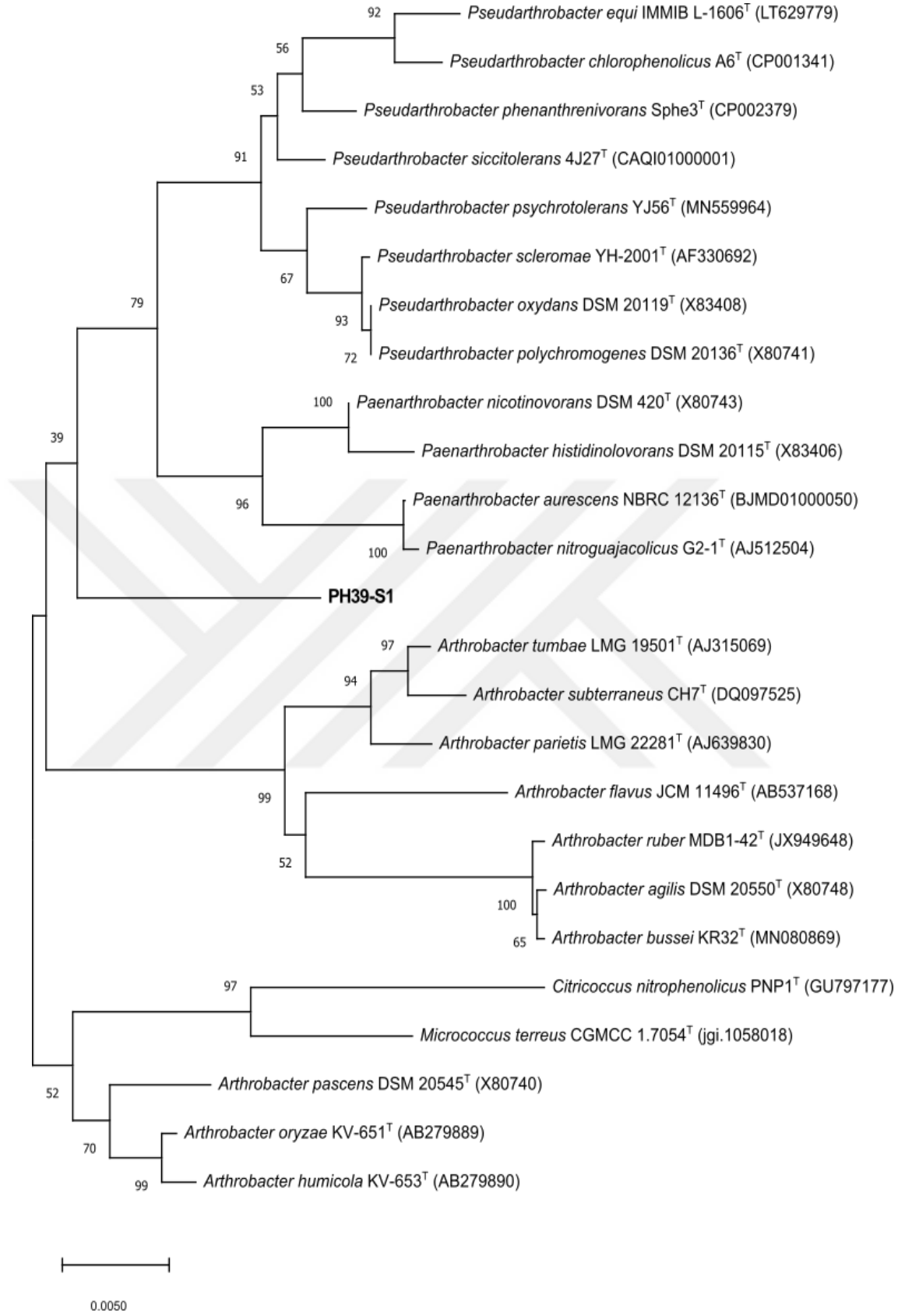
Tablo 4.28. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	3690
PF00044.19	Gp_dh_N	4497
PF00044.19	Gp_dh_N	4379
PF00044.19	Gp_dh_N	2769
PF00185.19	OTCace	3090
PF00185.19	OTCace	1069
PF00204.20	DNA_gyraseB	1327
PF00204.20	DNA_gyraseB	3193
PF00227.21	Proteasome	2461
PF00227.21	Proteasome	2462
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3202
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2847
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2130
PF00364.17	Biotin_lipoyl	587
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1659
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3889
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2518
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2680
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1326
PF00521.15	DNA_topoisoIV	3173
PF01039.17	Carboxyl_trans	4330
PF01039.17	Carboxyl_trans	3890
PF13599.1	Pentapeptide_4	712
PF13599.1	Pentapeptide_4	2379
RF0007	ABC_efflux	3698
RF0007	ABC_efflux	2476
RF0054	ClassB	2389
RF0054	ClassB	586
RF0054	ClassB	1006
TIGR00663	TIGR00663	1331
TIGR02013	TIGR02013	1455

4.8.2. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni ve tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Paenarthrobacter* cinsine ait tek izolat PH39-S1'tür. Suşa ait dizi ve suşa en yakın 24 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün % 100 tamamlayıcılıkla, % 97.57'lik bir benzerlik değerine sahip *Paenarthrobacter nicotinovorans* DSM 420^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1440 nükleotidden 35 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H37-C3 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri %97,44 (*Pseudarthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3^T) ve % 96.66 (*Arthrobacter humicola* KV-653^T) arasında değişmektedir.

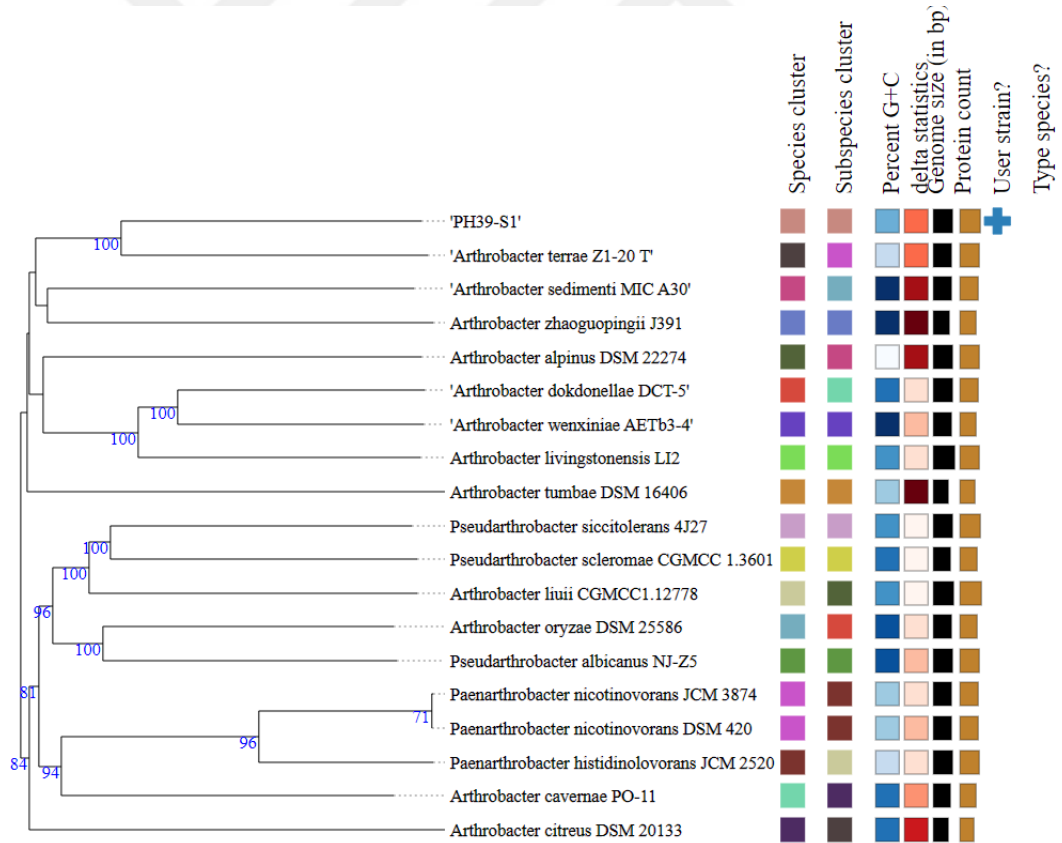
Paenarthrobacter sp. PH39-S1 izolatının TYGS platformunda tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 19 türden oluşan bir küme ortaya çıkmıştır. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatı *Arthrobacter terrae* Z1-20^T suşu ile güvenilirlik değeri %23.6 - 28.4 arasında değişebilen %26'lık benzerlik göstermektedir. PH39-S1 suşunun bu tür ile arasındaki % GC farkı 1.4'tür. Buradaki iki suşun, filogenetik ağaçta incelendiğinde farklı tür kümesine düştükleri görülmektedir. Ağaçta görünen diğer türlerin de PH39-S1 suşu ile benzerlikleri %21.1 (*Arthrobacter cavernae* PO-11) ve % 20.2 (*Paenarthrobacter histidinovorans* JCM 2520) arasında değişmektedir. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 76.8'dir. Delta (δ) değerleri 0.24 – 0.366 arası değişip; GC yüzdeleri % 60.6-67.99 arasında; genom büyüklükleri 3,547,394 – 5,028,704 bp arasında; protein sayısı ise 3,263 – 4,689 arasında değişmektedir.



Şekil 4.27. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Tablo 4.29. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
PH39-S1	<i>Arthrobacter terrae</i> Z1-20 T	26
	<i>Arthrobacter dokdonellae</i> DCT-5	21.9
	<i>Pseudarthrobacter albicanus</i> NJ-Z5	21.7
	<i>Arthrobacter livingstonensis</i> LI2	21.6
	<i>Arthrobacter sedimenti</i> MIC A30	21.4
	<i>Arthrobacter oryzae</i> DSM 25586	21.3
	<i>Arthrobacter cavernae</i> PO-11	21.1
	<i>Paenarthrobacter nicotinovorans</i> DSM 420	21
	<i>Pseudarthrobacter siccitolerans</i> 4J27	20.9
	<i>Arthrobacter wenxiniae</i> AETb3-4	20.9
	<i>Arthrobacter liuii</i> CGMCC1.12778	20.9
	<i>Arthrobacter zhaoguopingii</i> J391	20.8
	<i>Arthrobacter tumbae</i> DSM 16406	20.8
	<i>Arthrobacter alpinus</i> DSM 22274	20.7
	<i>Pseudarthrobacter scleromae</i> CGMCC 1.3601	20.6
	<i>Paenarthrobacter nicotinovorans</i> JCM 3874	20.3
	<i>Arthrobacter citreus</i> DSM 20133	20.2
	<i>Paenarthrobacter histidinovorans</i> JCM 2520	20.2



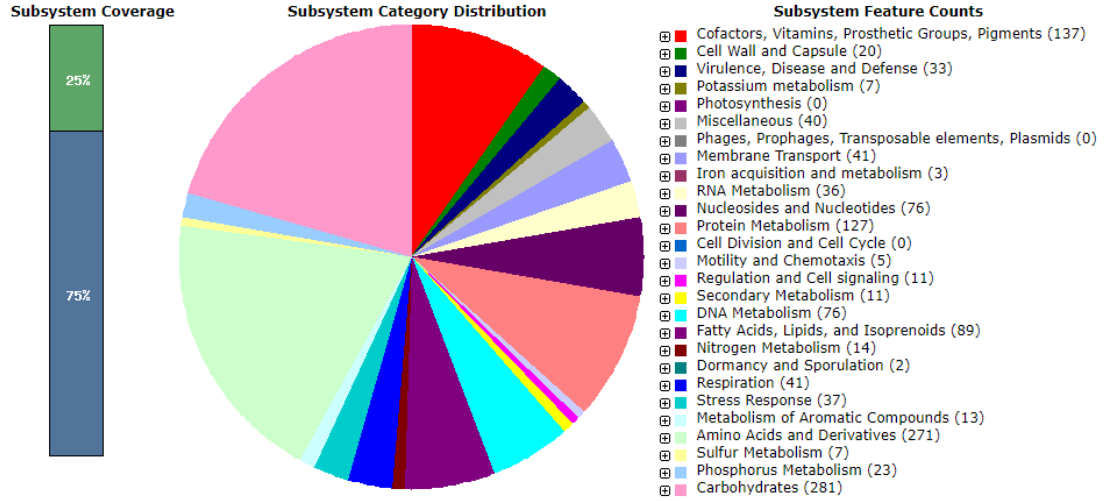
Şekil 4.28. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı.

4.9. *Pseudarthrobacter* cinsi

4.9.1 *Pseudarthrobacter* Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri

PH31-O2 izolatında toplam 29 kontig vardır. Bunlardan 11 tanesi ≥ 100000 bp; 6 tanesi $100000 > \text{ile } \geq 10000$ bp; 11 tanesi $10000 > \text{ile } \geq 1000$ bp; 1 tanesi $1000 > \text{ile } \geq 0$ bp arasındadır. Genom uzunluğu 3.828.043 bp olup, kontiglerin en büyüğü 888.503 bpdır. GC yüzdesi % 65.7; N_{50} değeri 311.402 bp; L_{50} değeri 4'tür. PS3-L1 izolatında toplam 18 kontig vardır. Bunlardan 6 tanesi ≥ 100000 bp; 5 tanesi $100000 > \text{ile } \geq 10000$ bp; 6 tanesi $10000 > \text{ile } \geq 1000$ bp; 1 tanesi $1000 > \text{ile } \geq 0$ bp arasındadır. Genom uzunluğu 3.574.198 bp olup, kontiglerin en büyüğü 954.248 bpdır. GC yüzdesi % 61.1; N_{50} değeri 733.966 bp; L_{50} değeri 3'tür.

Pseudarthrobacter sp. PH31-O2 izolatının genom anotasyonunda, %25'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %75'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Ayrıca kontiglerin sayısının 29, genom uzunluğunun 3,828,043 bp, GC oranının % 65.7 ve N_{50} ile L_{50} değerlerinin sırasıyla 260.108 bp ve 6 olduğu; kodlama yapan 3625 dizinin, 54 RNA'nın ve 281 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın olduğu saptanmıştır. PH31-O2 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1401 gen grubu içerisinde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile *Mycobacterium* virülans operonunu içeren toplam 33 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonu bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından apigenin türevleri gibi fenilpropanoidlerin biyosentezi, alkan biyosentezi ve oksin biyosentezinden sorumlu toplam 11 mekanizma bulunmaktadır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit tuzları ve p-Hidroksibenzoat degradasyonu, salisilat ve gentisat katabolizması ve aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağından oluşan 13 mekanizma bulunmuştur. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteinine sahip olduğu görülmüştür. PH31-O2 izolatının fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı herhangi bir mekanizma ve CRISPR ile alakalı herhangi bir dizi bulunmamıştır. Ancak kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgeler incelendiğinde fajlar ile alakalı sadece faj şok proteini C (PspC) bulunmuştur.

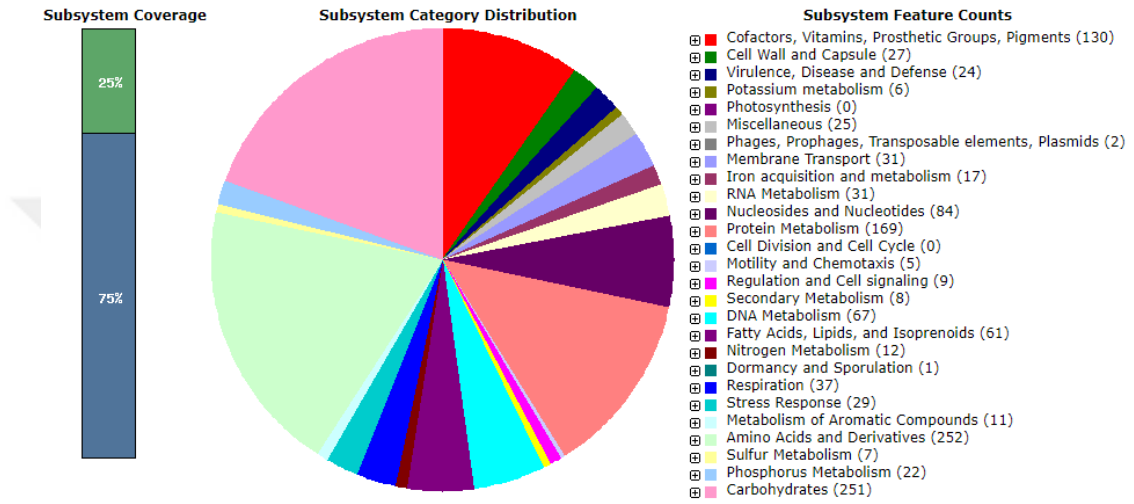


Şekil 4.29. *Pseudarthrobacter* sp. PH31-O2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

PH31-O2 izolatının stres cevabı incelendiğinde, karbon açlığı, bakteriyel hemoglobin, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmaları; kolin ile betain alımı, betain sentezi ve ozmotik regülasyonu içeren ozmotik stres; glutaredoksin ile glutatyon redox reaksiyonlarından oluşan oksidatif stres mekanizmaları olmak üzere 37 model bulunmuştur. PH31-O2 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, beta-laktamaz aktivitesi, civa direnci, civa toleransı, bakır toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direnci mekanizmaları gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde glioksalaz/bleomisin direnci ile ilgili mekanizma bulunmuştur.

Pseudarthrobacter sp. PS3-L1 izolatının genom anotasyonunda, %25'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %75'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısı 18, genom uzunluğu 3,574,198 bp, GC oranı % 61.1 ve N₅₀ ile L₅₀ değerleri sırasıyla 733.966 bp ve 3 bulunmuştur. Ayrıca kodlama yapan 3462 dizi, 53 RNA ve 3462 fonksiyonel gruba dahil mekanizma bulunmuştur. PS3-L1 izolatının fonksiyonel 1318 gen grubu içerisinde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile *Mycobacterium* virülans operonunu içeren toplam 24 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonu bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından alkan sentezinde ve oksin biyosentezinde görevli 8 mekanizması bulunmaktadır. Aromatik bileşiklerin metabolizması incelendiğinde PH31-O2 izolatı ile benzer bir profil görülmektedir. Aralarındaki fark, PH31-O2 izolatında p-hidroksibenzoat degradasyonu bulunurken, PS3-L1 izolatında benzoat degradasyonu

gözlemlenmiştir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde PH31-O2'ye benzer şekilde CSp ailesi soğuk şok proteinine sahip olduğu görülmüştür. PS3-L1 izolatında fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler açısından faj paketleme mekanizması ve faj kapsid proteinleri ile ilgili genleri bulunmaktadır. Ayrıca kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgeler incelendiğinde faj Pham132 proteini, faj integras, Lp2 profajı 6 proteini, faj şok proteini C (PspC) ve faj terminaz genleri bulunmuştur. Ancak CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.



Şekil 4.30. *Pseudarthrobacter* sp. PS3-L1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

Pseudarthrobacter sp. PS3-L1 stres cevabı açısından incelendiğinde, PH31-O2 izolatında gözlemlenen profilin aynısı görülmüş ve stres cevabıyla alakalı 37 mekanizma saptanmıştır. PS3-L1 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde beta-laktamaz aktivitesi, florokinolon direnci, kobalt-çinko-kadmiyum direnci ile bakır-civa toleransı gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde çoklu ilaç direnci pompaları, metisilin direnci, arsenik direnci, tellür direnci, organik hidroperoksit direnci ve glioksalaz/bleomisin direnci ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

AntiSMASH sunucusunda biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti analizine göre *Pseudarthrobacter* sp. PH31-O2 izolatının genomunda poliketid, non-ribozomal poliketid, betalakton ve NAPAA olmak üzere toplam 4 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. *Pseudarthrobacter* sp. PS3-L1 izolatının genomunda ise poliketid, betalakton, siderofor, non-ribozomal poliketid ve NAPAA kümesi olmak üzere toplamda 5 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. *Pseudarthrobacter* spp. PH31-O2 ve PS3-L1 izolatlarının genomunda ortak olarak

NAPAA, betalakton ve tip-III poliketidler bulunmaktadır. Bunlardan tip-III poliketidler her iki izolatta bilinen herhangi bir gen kümesinin ürününe benzerlik göstermezken; her iki izolatta da betalakton gen kümesi mikroansamisin gen kümesiyle %7, NAPAA gen kümesi ise stenotrisin gen kümesiyle %31 benzerlik göstermektedir.

Tablo 4.30. *Pseudarthrobacter* sp. PH31-O2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	T3PKS		
Bölge 4.1	NRPS	s56-p1	9%
Bölge 7.1	betalactone	microansamycin	7%
Bölge 14.1	NAPAA	stenothricin	31%

Bunlara ek olarak, PH31-O2 izolatının non-ribozomal poliketid biyosentetik gen kümesi s56-p1 gen kümesi ile %9'luk bir benzerliğe sahiptir. PS3-L1 izolatının siderofor biyosentetik gen kümesi ise desferoksamin gen kümesine %66'luk, non ribozomal poliketid biyosentetik gen kümesi kolibrimisin gen kümesine %5'lik benzerlik göstermektedir.

Tablo 4.31. *Pseudarthrobacter* sp. PS3-L1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 2.1	T3PKS		
Bölge 2.2	betalactone	microansamycin	7%
Bölge 3.1	NI-siderophore	desferrioxamine	66%
Bölge 4.1	NRPS	colibrimycin	5%
Bölge 6.1	NAPAA	stenothricin	31%

PH31-O2 izolatının genomunda total 3592 gen ve 343 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 4 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 30 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 18 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 111 bölge bulunmuştur. PS3-L1 izolatının genomunda ise total 3389 gen ve 341 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 5 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 27 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 7 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 131 bölge bulunmuştur.

Antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde *Pseudarthrobacter* spp. PH31-O2 ve PS3-L1 izolatlarının her birinde glikoliz ve glikoneogeneze yer alan NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz, proteazom degradasyonu, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası, beta-laktamaz aktivitesi ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları ile ilgili mekanizmalar görülmektedir. Bunun yanı sıra, PH31-O2 izolatında pentapeptid motifleri ve PS3-L1 izolatında vankomisin gibi glikolipid antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları gözlemlenmiştir.

Tablo 4.32. *Pseudarthrobacter* sp. PH31-O2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	199.8
PF00044.19	Gp_dh_N	124.8
PF00185.19	OTCace	169.8
PF00185.19	OTCace	112.7
PF00204.20	DNA_gyraseB	203.4
PF00204.20	DNA_gyraseB	156
PF00227.21	Proteasome	117.3
PF00227.21	Proteasome	76.1
PF00364.17	Biotin_lipoyl	153.9
PF00364.17	Biotin_lipoyl	74.8
PF00364.17	Biotin_lipoyl	74.6
PF00364.17	Biotin_lipoyl	74
PF00364.17	Biotin_lipoyl	69.1
PF00364.17	Biotin_lipoyl	68.8
PF00364.17	Biotin_lipoyl	63.8
PF00364.17	Biotin_lipoyl	63.4
PF00364.17	Biotin_lipoyl	62.4
PF00364.17	Biotin_lipoyl	57.3
PF00364.17	Biotin_lipoyl	46.6
PF00521.15	DNA_topoisoIV	488.1
PF00521.15	DNA_topoisoIV	476.9
PF01039.17	Carboxyl_trans	642.5
PF01039.17	Carboxyl_trans	537.6
PF13599.1	Pentapeptide_4	50.7
RF0007	ABC_efflux	305.8
RF0007	ABC_efflux	296.1
RF0007	ABC_efflux	256.5
RF0054	ClassB	86.6
TIGR00663	TIGR00663	303.2
TIGR02013	TIGR02013	1740.9

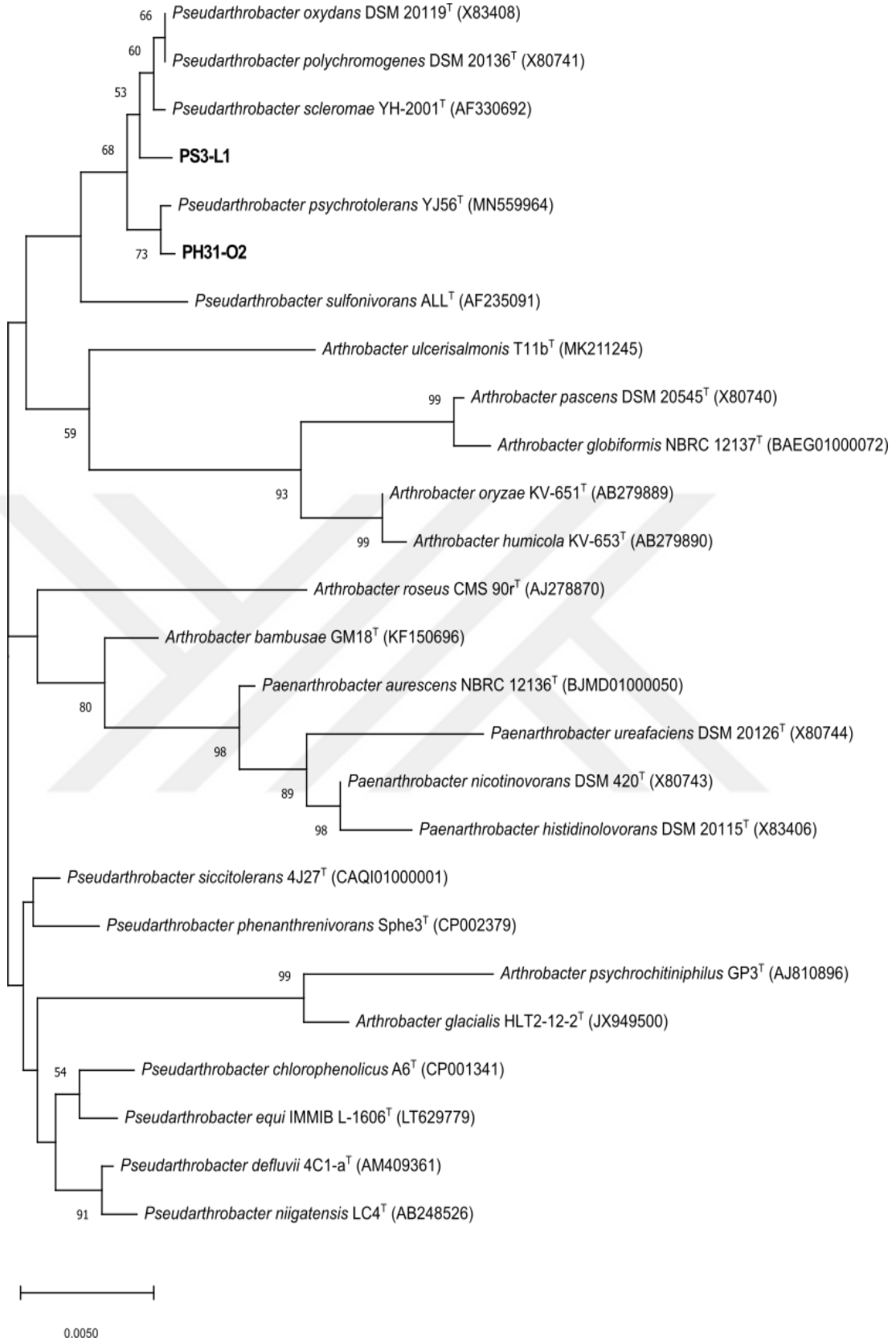
Tablo 4.33. *Pseudarthrobacter* sp. PS3-L1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	1363
PF00044.19	Gp_dh_N	909
PF00185.19	OTCace	3133
PF00185.19	OTCace	1202
PF00204.20	DNA_gyraseB	2117
PF00204.20	DNA_gyraseB	1483
PF00227.21	Proteasome	1291
PF00227.21	Proteasome	1290
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1491
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2786
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2204
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3366
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2315
PF00364.17	Biotin_lipoyl	794
PF00364.17	Biotin_lipoyl	245
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3369
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1555
PF00521.15	DNA_topoisoIV	2116
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1475
PF01039.17	Carboxyl_trans	802
PF01039.17	Carboxyl_trans	3368
RF0007	ABC_efflux	524
RF0007	ABC_efflux	3296
RF0123	SubclassB1	2316
RF0155	vanS	3121
TIGR00663	TIGR00663	2121
TIGR02013	TIGR02013	2435

4.9.2. *Pseudarthrobacter* Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan izole edilen izolatlardan 16S rRNA geni ve tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Pseudarthrobacter* cinsine ait izolatlar PS3-L1 ve PH31-O2'dir. Suşlara ait diziler ve suşlara en yakın 24 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Pseudarthrobacter* sp. PH31-O2 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün % 95.2 tamamlayıcılıkla, % 99.35'lik bir benzerlik değerine sahip *Pseudarthrobacter psychrotolerans* YJ56^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1376 nükleotidden 9 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.31), çalışılan suşa en yakın türün de *Pseudarthrobacter psychrotolerans* YJ56^T olduğu görülmektedir. Filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de PH31-O2 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 99.31 (*Pseudarthrobacter siccitolerans* 4J27^T) ve % 97.64 (*Paenarthrobacter ureafaciens* DSM 20126^T) arasında değişmektedir.

Pseudarthrobacter sp. PS3-L1 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün % 100 tamamlayıcılıkla, % 99.37'lik bir benzerlik değerine sahip *Pseudarthrobacter oxydans* DSM 20119^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1435 nükleotidden 9 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de PS3-L1 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 99.36 (*Pseudarthrobacter scleromae* YH-2001^T) ve % 97.41 (*Paenarthrobacter ureafaciens* DSM 20126^T) arasında değişmektedir.



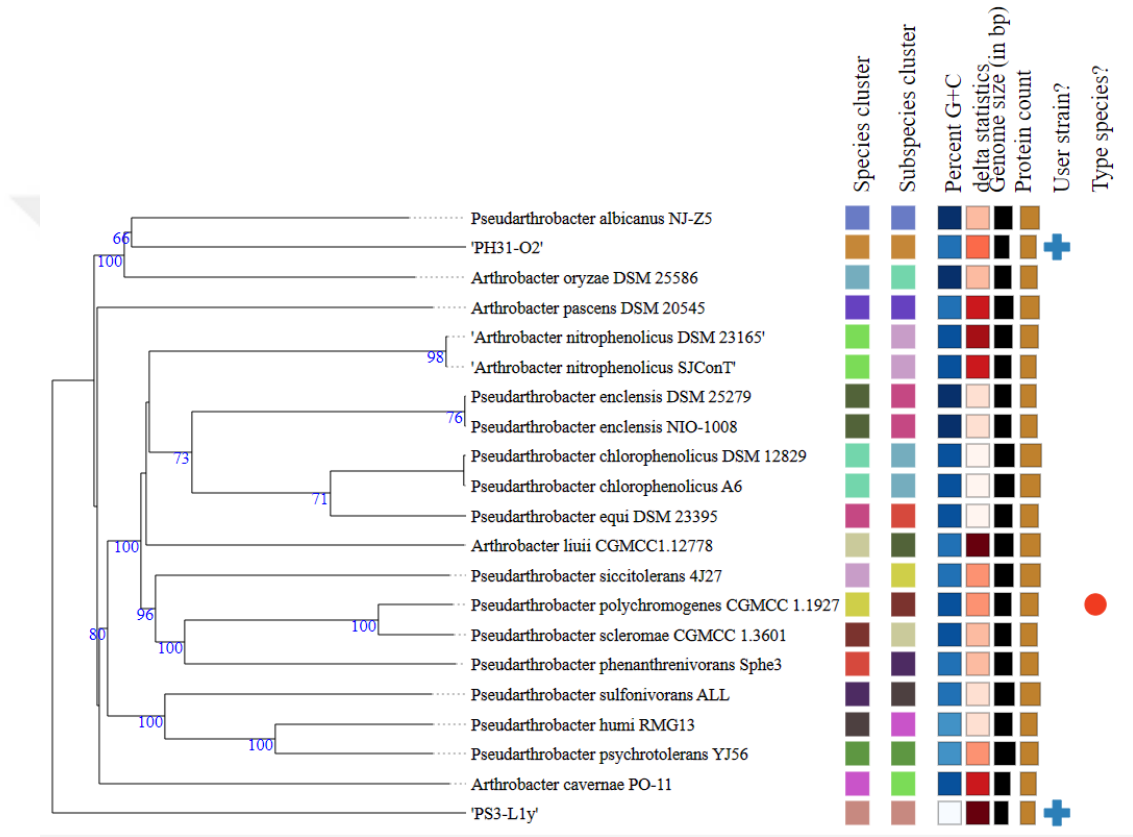
Şekil 4.31. *Pseudarthrobacter* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Pseudarthrobacter sp. PH31-O2 izolatının TYGS platformunda tüm genomla bağlı filogenetik analizine göre, PH31-O2 izolatı *Pseudarthrobacter albicanus* NJ-Z5 suşu ile güvenilirlik değeri % 22.8 - 27.6 arasında değişebilen % 25.1'lik benzerlik göstermektedir. PH31-O2 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 1.38'dir. Ağaçta görünen diğer türlerin de PH31-O2 suşu ile benzerlikleri % 24,1 (*Arthrobacter oryzae* DSM 25586) ve % 21,2 (*Pseudarthrobacter polychromogenes* CGMCC 1.1927) arasında değişmektedir. Bu ağaca göre PH31-O2 suşunun hangi cins grubuna ait olduğunu belirlemek için kemotaksonomik analizlerin desteğine ihtiyaç vardır.

Tablo 4.34. *Pseudarthrobacter* spp. PH31-O2 ve PS3-L1 izolatlarının birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
PH31-O2	<i>Pseudarthrobacter albicanus</i> NJ-Z5	25.1
	<i>Arthrobacter oryzae</i> DSM 25586	24.1
	<i>Pseudarthrobacter psychrotolerans</i> YJ56	22.5
	<i>Arthrobacter pascens</i> DSM 20545	22.1
	<i>Pseudarthrobacter sulfonivorans</i> ALL	22
	<i>Pseudarthrobacter humi</i> RMG13	21.9
	<i>Pseudarthrobacter siccitolerans</i> 4J27	21.7
	<i>Pseudarthrobacter phenanthrenivorans</i> Sphe3	21.5
	<i>Arthrobacter cavernae</i> PO-11	21.5
	<i>Pseudarthrobacter scleromae</i> CGMCC 1.3601	21.5
	<i>Pseudarthrobacter equi</i> DSM 23395	21.4
	<i>Pseudarthrobacter enclensis</i> NIO-1008	21.3
	<i>Pseudarthrobacter polychromogenes</i> CGMCC 1.1927	21.2
PS3-L1	<i>Pseudarthrobacter psychrotolerans</i> YJ56	20.7
	<i>Pseudarthrobacter chlorophenolicus</i> A6	20
	<i>Pseudarthrobacter chlorophenolicus</i> DSM 12829	20
	<i>Pseudarthrobacter equi</i> DSM 23395	19.9
	<i>Pseudarthrobacter scleromae</i> CGMCC 1.3601	19.9
	<i>Arthrobacter nitrophenolicus</i> SJConT	19.9
	<i>Pseudarthrobacter sulfonivorans</i> ALL	19.9
	<i>Arthrobacter liuii</i> CGMCC1.12778	19.9
	<i>Pseudarthrobacter polychromogenes</i> CGMCC 1.1927	19.8
	<i>Pseudarthrobacter siccitolerans</i> 4J27	19.8
	<i>Pseudarthrobacter humi</i> RMG13	19.8
	<i>Pseudarthrobacter enclensis</i> DSM 25279	19.7
	<i>Arthrobacter nitrophenolicus</i> DSM 23165	19.7
	<i>Pseudarthrobacter enclensis</i> NIO-1008	19.7
	<i>Pseudarthrobacter phenanthrenivorans</i> Sphe3	19.7
PH31-O2	PS3-L1	19.6

Pseudarthrobacter sp. PS3-L1 izolatının tüm genoma bağlı filogenetik analizine göre, PS3-L1 izolatu, *Pseudarthrobacter psychrotolerans* YJ56 suşu ile güvenilirlik değeri % 18.5 - 23.1 arasında değişebilen % 20.7'lik benzerlik göstermektedir. PS3-L1 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 0.3'tür. Ağaçta görünen diğer türlerin de PS3-L1 suşu ile benzerlikleri % 20.0 (*Pseudarthrobacter chlorophenolicus* A6) ve % 19.7 (*Pseudarthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3) arasında değişmektedir.



Şekil 4.32. *Pseudarthrobacter* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 76.3'tür.

Pseudarthrobacter üyelerinin TYGS platformunda tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 21 türden oluşan bir küme ortaya çıkmıştır. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak %76,3'tür. Delta (δ) değerleri 0,133 – 0,251 arası değişip; GC yüzdeleri %61,1 – 67,1 arasında; genom büyüklükleri 3,574,198 - 5,170,670 bp arasında; protein sayısı ise 3,364 - 4,697 arasında değişmektedir. *Pseudarthrobacter* cinsine ait izolatların tüm genoma bağlı filogenetik ağaçları incelendiğinde PS3-L1 izolatu, dizi benzerliğine bağlı olarak

PH31-O2'nin bulunduğu kladdan tamamen ayrılmıştır. İzolatlar arasında dDDH benzerlikliği incelendiğinde PS3-L1 ve PH31-O2 arasında benzerlik % 19.6 çıkmıştır. Bundan yola çıkarak her iki *Pseudarthrobacter* izolatının da farklı bir türü temsil ettiği söylenebilir.

4.10. *Rhodococcus* cinsi

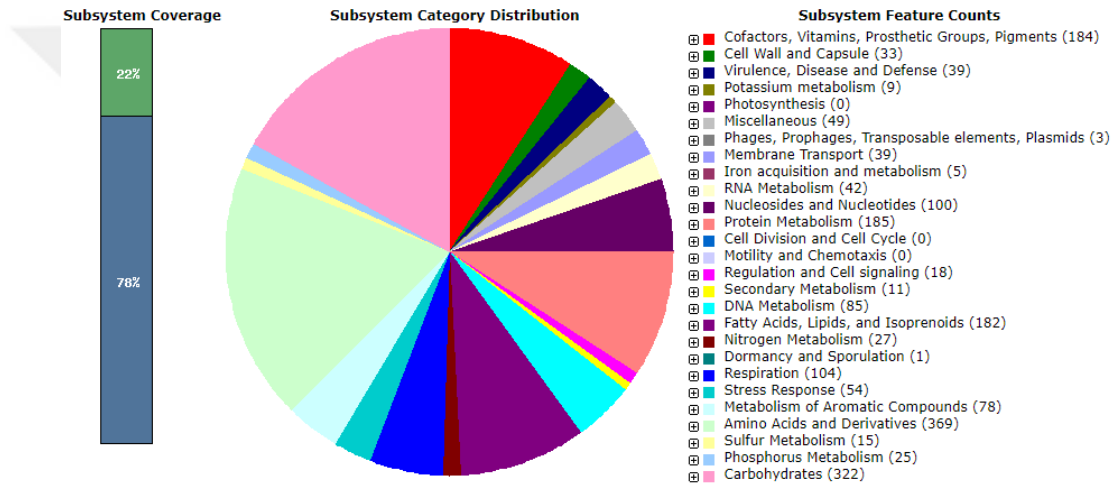
4.10.1. *Rhodococcus* Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri

KBase Genom Birleştirme

G-MC3 izolatında toplam 102 kontig vardır. Bunlardan 21 tanesi ≥ 100000 bp; 25 tanesi $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 45 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp; 11 tanesi $1000 >$ ile ≥ 0 bp arasındadır. Genom uzunluğu 5.597.903 bp olup, kontiglerin en büyüğü 380.519 bp'dir. GC yüzdesi % 62.65; N_{50} değeri 195707 bp; L_{50} değeri 10'dur. H29-C3 izolatında toplam 73 kontig vardır. Bunlardan 13 tanesi ≥ 100000 bp; 22 tanesi $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 25 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp; 13 tanesi $1000 >$ ile ≥ 0 bp arasındadır. Genom uzunluğu 5.339.474 bp olup, kontiglerin en büyüğü 832.331 bp'dir. GC yüzdesi % 62.16; N_{50} değeri 609.477 bp; L_{50} değeri 4'tür. H36-A4 izolatında ise toplam 29 kontig vardır. Genom uzunluğu 4.652.229 bp olup, kontiglerin en büyüğü 966.964 bpdır. GC yüzdesi % 62.1; N_{50} değeri 588.850 bp; L_{50} değeri 3'tür.

Rhodococcus sp. G-MC3 izolatının genom anotasyonunda, %22'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %78'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Ayrıca kontiglerin sayısının 102, genom uzunluğunun 5,597,903 bp, GC oranının % 62.7 ve N_{50} ile L_{50} değerlerinin sırasıyla 195.707 bp ve 10 olduğu; kodlama yapan 5611 dizinin, 52 RNA'nın ve 314 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın olduğu saptanmıştır. G-MC3 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1979 gen grubu içerisinde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç, *Mycobacterium* virülans operonları ve fazladan süperoksit dismutaz ile ilişkili *Mycobacterium* virulans operonunu içeren toplam 39 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonu bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından oksin biyosentezi ve mikosporin sentez kümesinden sorumlu toplam 11 mekanizma bulunmaktadır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit tuzlarının degradasyonu, bifenil degradasyonu, benzoat degradasyonu, p-hidroksibenzoat degradasyonu, aromatik amin katabolizması, salisilat ve gentisat katabolizması, beta-ketoadipat yolğunun

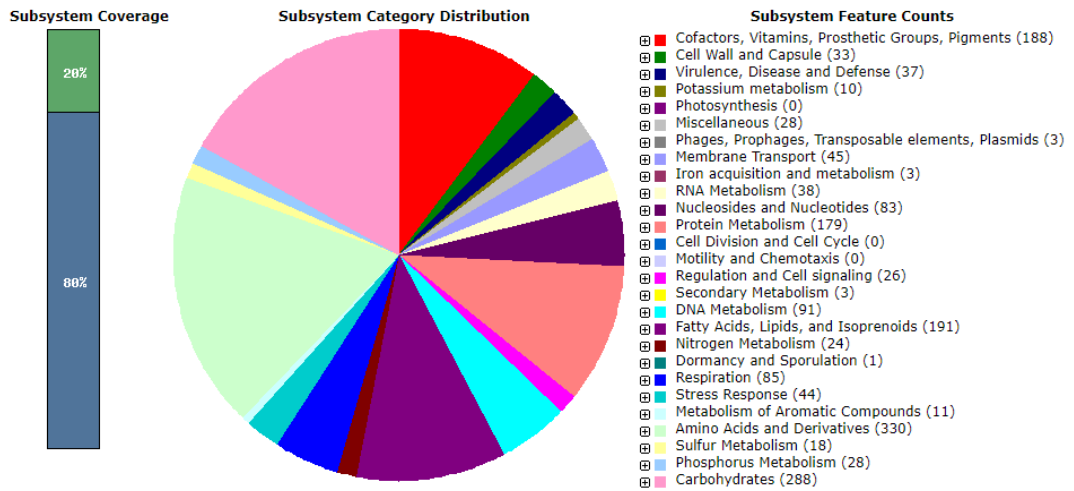
katekol dalı, beta-ketoadipat yolağının protokateşik asit dalı ve aromatik bileşik degradasyonunun homojenleştirme yolağından oluşan 78 mekanizma bulunmuştur. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteini ve antifriz proteinlerine sahip olduğu görülmüştür. G-MC3 izolatının fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı faj paketleme ve liziz modülleri bulunmuştur. Kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgelerde ise faj ile ilişkili DNA primaz, faj şok proteini A (IM30), bakteriyofaj proteini, faj terminaz, faj portal proteini, varsayılan faj eksizyonaz proteini, faj integras ve faj kuyruk ucu birleştirme proteinleri bulunmuştur. Ancak CRISPR ile alakalı herhangi bir dizi bulunmamıştır.



Şekil 4.33. *Rhodococcus* sp. G-MC3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

G-MC3 izolatının stres cevabı incelendiğinde, kolin ile betain alımı, betain sentezi ve ozmotik regülasyonu içeren ozmotik stres; glutaredoksin, glutatyon redox ve non-redox reaksiyonları, NADPH kinon oksidoredüktaz 2, glutatyon biyosentez ve gama-glutamil döngüsü ve rubreritrinden oluşan oksidatif stres; selenat ve selenit alımı, bakteriyel hemoglobinler, karbon açlığı, sigmaB stres cevabı regülasyonu ve periplazmik stres cevapları olmak üzere toplam 54 model bulunmuştur. G-MC3 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, beta-laktamaz aktivitesi, civa direnci ile toleransı, bakır toleransı ve kobalt-çinko-kadmiyum direnci mekanizmaları gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde tellür direnci, arsenik direnci, çoklu ilaç direnci pompaları, organik hidroperoksit direnci ve glioksalaz/bleomisin direnci ile ilgili mekanizma bulunmuştur.

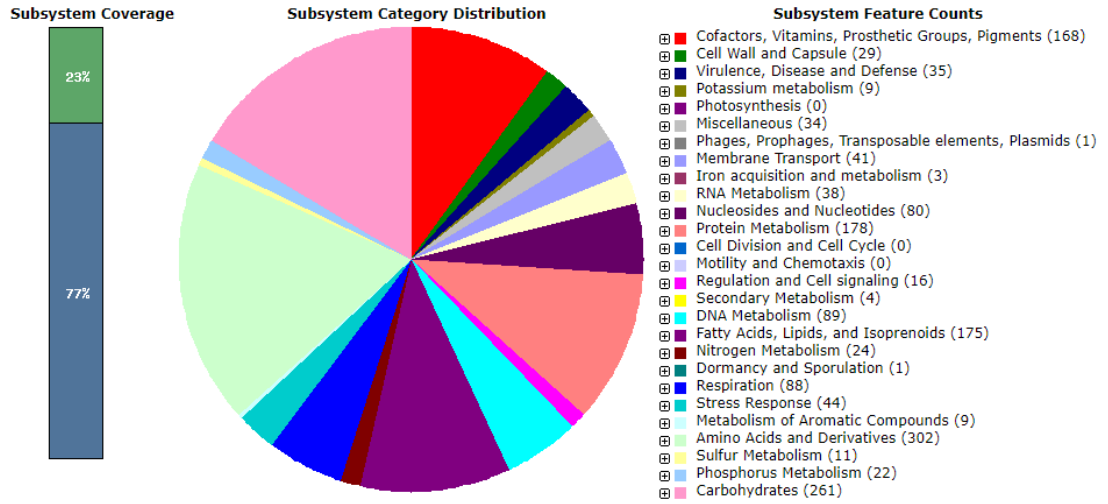
Rhodococcus sp. H29-C3 izolatının genom anotasyonunda, %20'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %80'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Ayrıca kontiglerin sayısının 73, genom uzunluğunun 5,339,474 bp, GC oranının % 62.2 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 322.915 bp ve 5 olduğu; kodlama yapan 5400 dizinin, 50 RNA'nın ve 303 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın olduğu saptanmıştır. H29-C3 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1787 gen grubu içerisinde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile *Mycobacterium* virulans operonları ve fazladan süperoksit dismutaz ile ilişkili *Mycobacterium* virulans operonunu içeren toplam 37 tane virulans/hastalık/savunma fonksiyonu bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından sadece mikosporin biyosentezinden sorumlu 3 mekanizma bulunmaktadır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit tuzlarının degradasyonu, bifenil degradasyonu, benzoat degradasyonu, gentisat degradasyonu ve beta-ketoadipat yolağının katekol dalından oluşan 11 mekanizma gözlemlenmiştir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde sadece CSp ailesi soğuk şok proteinine sahip olduğu görülmüştür. H29-C3 izolatının fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı mekanizmaları incelendiğinde TniB NTP bağlayıcı protein, TniA varsayılan transpozaz ile segregasyon ve yoğunlaşma proteini B bulunmuştur. Kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgeler incelendiğinde faj protein, faj interaz, faj şok proteini A (IM30), Lp1 profajı protein 5, faj Gp37Gp68 ailesi proteini ve fak ea59 proteini bulunmuştur. Ancak CRISPR ile alakalı herhangi bir dizi bulunamamıştır.



Şekil 4.34. *Rhodococcus* sp. H29-C3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H29-C3 izolatının stres cevabı incelendiğinde, sigmaB stres cevabı regülasyonu, karbon açlığı, bakteriyel hemoglobin, periplazmik stres cevabı, selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmaları; ozmotik regülasyonu içeren ozmotik stres; glutaredoksin, rubreritritin, glutatyon biyosentez ve gama-glutamil döngüsü, glutatyon redox ve non-redox reaksiyonlarından oluşan oksidatif stres mekanizmaları olmak üzere 44 model gözlemlenmiştir. H29-C3 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde G-MC3 izolatıyla aynı profil gözlemlenmiştir. Ayrıca herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde de G-MC3 izolatıyla benzer profil gözlenmesinin yanısıra, fazladan etidyum bromür- metil viologen direnci ve para-aminosalisilik asit direnci ile ilgili mekanizma bulunmuştur.

Rhodococcus sp. H36-A4 izolatının genom anotasyonunda, %23'ü belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %77'si ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Ayrıca kontiglerin sayısının 29, genom uzunluğunun 4,652,229 bp, GC oranının % 62.1 ve N50 ile L50 değerlerinin sırasıyla 588.850 bp ve 3 olduğu; kodlama yapan 4499 dizinin, 51 RNA'nın ve 296 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın olduğu saptanmıştır. H36-A4 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1662 gen grubu içerisinde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile *Mycobacterium* virölans operonları ve fazladan süperoksit dismutaz ile ilişkili *Mycobacterium* virulans operonunu içeren toplam 35 tane virölans/hastalık/savunma fonksiyonu bulundurduğu görülmektedir. Sekonder metabolizma açısından fenilpropiyonat degradasyonu ve mikosporin sentez kümesinden sorumlu toplam 4 mekanizma bulunmaktadır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit tuzları, bifenil, benzoat ve gentisat degradasyonundan oluşan 9 mekanizma bulunmuştur. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteinine sahip olduğu görülmüştür. H36-A4 izolatının fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı sadece faj kapsid proteinleri ile alakalı mekanizması gözlemlenmiştir. Kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgeler incelendiğinde fajlar ile alakalı faj ana kapsid proteini, faj şok proteini A (IM30) ve Lp1 profajı protein 5 dizileri gözlemlenmiş, ancak CRISPR ile alakalı herhangi bir dizi bulunmamıştır.



Şekil 4.35. *Rhodococcus* sp. H36-A4 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H36-A4 izolatının stres cevabı incelendiğinde G-MC3 izolatıyla aynı mekanizma profili olmak üzere 44 model gözlemlenmiştir. Benzer şekilde H36-A4 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde G-MC3 izolatıyla aynı direnç profili gözlemlenmiştir. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde direnç profili ise H29-C3 izolatıyla aynıdır.

AntiSMASH sunucusunda biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti analizinde *Rhodococcus* sp. G-MC3 izolatının tip I poliketid, non-ribozomal peptid, metalofor, terpen, NAPAA, lantipeptid sınıf-V, heterosist glikolipid sentaz benzeri poliketid (hglE-KS), ektoin, ribozomal olarak sentezlenmiş ve translasyon sonrası modifiye edilmiş peptid ürünler (RiPP), butirolakton, betalakton ve furan gibi farklı metabolit sınıflarına ait biyoaktif sekonder metabolit sentezinden sorumlu 23 adet gen kümesinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu gen kümelerinden üçü ϵ -Poli-L-lizin, heterobaktin A/heterobaktin S2, ve ektoin gen kümeleri ile %50'nin üstünde benzerlik gösterirken, büyük çoğunluğu bilinen metabolitlerle düşük benzerliğe sahip veya benzerlik göstermeyen yeni metabolitleri kodlayan gen kümelerini temsil etmektedir. Düşük benzerliğe sahip olan ve antibiyotik potansiyele sahip metabolitler rifamorfolinler, kloramfenikol, nanchangmisin, misinamisin II, SF2575, endurasidin, tomaymisin ve epemisin B/epemisin A'dır. Terapötik özelliklere sahip olabilecek metabolitler ise epemisin B/epemisin A, klipibisiklen/azabisiklen B/azabisiklen C/azabisiklen D ve ϵ -Poli-L-lizindir.

Tablo 4.35. *Rhodococcus sp.* G-MC3 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri.

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 2.1	T1PKS	rifamorpholine A/rifamorpholine B/rifamorpholine C/rifamorpholine D/rifamorpholine E	9%
Bölge 3.1	NRPS-like		
Bölge 3.2	NRP-metallophore,NRPS	heterobactin A/heterobactin S2	63%
Bölge 4.1	NRPS,redox-cofactor	chloramphenicol	11%
Bölge 4.2	NRPS-like	hexose-palythine-serine/hexose-shinorine	42%
Bölge 4.3	NRPS		
Bölge 5.1	terpene	isorenieratene	25%
Bölge 6.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 7.1	NRPS		
Bölge 7.2	NRPS-like	clipibicyclene/azabicyclene B/azabicyclene C/azabicyclene D	11%
Bölge 8.1	lanthipeptide-class-v	nanchangmycin	6%
Bölge 9.1	NRPS	chloramphenicol	11%
Bölge 9.2	hglE-KS		
Bölge 10.1	T1PKS	mycinamicin II	9%
Bölge 11.1	ectoine	ectoine	50%
Bölge 12.1	RiPP-like		
Bölge 14.1	terpene	SF2575	6%
Bölge 26.1	NRPS	enduracidin	6%
Bölge 28.1	PKS-like,butyrolactone	tomaymycin	11%
Bölge 31.1	NRPS	epemicin B/epemicin A	7%
Bölge 38.1	betalactone		
Bölge 50.1	butyrolactone		
Bölge 51.1	furan		

Rhodococcus sp. H29-C3 izolatının genomunda NAPAA, tip-I ve tip-II poliketid, non-ribozomal peptid, metalofor, ektoin, terpen, butirolakton, betalakton, hglE-KS gibi gen kümelerinin bulunduğu toplamda 25 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir. Bunlardan ϵ -poli-L-lizin, 1-nonadesen/(14Z)-1,14-nonadekadien ve ikosalid A/ikosalid B gen kümelerine %100 benzerlik görülürken; heterobaktin A/heterobaktin S2 gen kümesine %63, ektoin gen kümesine %50 ve gilvokarsin V gen kümesine %62 benzerlik görülmüştür. Diğer biyosentetik gen kümelerinin bilinen gen kümelerine benzerliği düşük veya hiç bulunmamaktadır. Düşük benzerliğe sahip olan ve antibiyotik potansiyele sahip metabolitler kloramfenikol, SF2575, katomisin, atratumisin, julikrom, loboamid ve ikosaliddir. Terapötik özelliklere sahip olabilecek metabolit ise gilvokarsindir.

Tablo 4.36. *Rhodococcus* sp. H29-C3 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri.

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 2.1	T1PKS	cathomycin	10%
Bölge 2.2	NRPS	gobichelin A/gobichelin B	11%
Bölge 3.1	NRP-metallophore,NRPS	heterobactin A/heterobactin S2	63%
Bölge 3.2	redox-cofactor,NRPS		
Bölge 4.1	ectoine	ectoine	50%
Bölge 4.2	PKS-like,T1PKS	1-nonadecene/(14Z)-1,14-nonadecadiene	100%
Bölge 4.3	terpene	isorenieratene	42%
Bölge 6.1	NRPS-like	atratumycin	10%
Bölge 7.1	NRPS		
Bölge 8.1	terpene	SF2575	6%
Bölge 9.1	butyrolactone		
Bölge 9.2	T2PKS	gilvocarcin V	62%
Bölge 11.1	T2PKS	julichrome Q3-3/julichrome Q3-5	35%
Bölge 12.1	NRPS,betalactone		
Bölge 14.1	hglE-KS	lobosamide A/lobosamide B/lobosamide C	6%
Bölge 15.1	NRPS-like		
Bölge 18.1	T1PKS,NRPS		
Bölge 26.1	NRPS	chloramphenicol	11%
Bölge 30.1	NRPS		
Bölge 31.1	NRPS		
Bölge 38.1	NRPS		
Bölge 46.1	NRPS		
Bölge 51.1	NRPS		
Bölge 56.1	NRPS-like	icosalide A/icosalide B	100%

H36-A4 izolatının biyosentetik sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri için yapılan analizde, izolatın non-ribozomal peptid, betalakton, tip I-poliketid, NAPAA, terpen ve ektoin gibi farklı metabolit sınıflarına ait toplam 15 adet sekonder metabolit kodlayan gen kümesi kodladığı tespit edilmiştir. Bunlardan heterobaktin A / heterobaktin S2 gen kümesine %54, ektoin gen kümesine %50 ve isorenieratene gen kümesine %42 benzerlik görülmüştür. Kalan 12 biyosentetik gen kümeleri, bilinen gen kümelerine benzerliği düşük veya hiç bulunmamıştır. Düşük benzerliğe sahip olan ve antibiyotik potansiyele sahip metabolitler kloramfenikol, SF2575, atratumisin, arenimisin ve lipopeptidlerdir.

Tablo 4.37 *Rhodococcus* sp. H36-A4 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri.

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	NRPS,redox-cofactor		
Bölge 1.2	NRPS	heterobactin A / heterobactin S2	54%
Bölge 1.3	NRPS,betalactone		
Bölge 2.1	T1PKS,NRPS	arenimycin A	7%
Bölge 2.2	NRPS-like		
Bölge 2.3	NAPAA		
Bölge 3.1	NRPS-like	atratumycin	7%
Bölge 4.1	terpene	isorenieratene	42%
Bölge 4.2	ectoine	ectoine	50%
Bölge 6.1	terpene	SF2575	6%
Bölge 6.2	NRPS	chloramphenicol	11%
Bölge 6.3	NRPS		
Bölge 15.1	NRPS		
Bölge 16.1	NRPS	lipopeptide 8D1-1 / lipopeptide 8D1-2	4%
Bölge 18.1	NRPS		

Rhodococcus sp. G-MC3 izolatının genomunda total 5413 gen ve 370 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 22 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 38 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 22 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 46 bölge bulunmuştur. H29-C3 izolatının genomunda total 5218 gen ve 365 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 26 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 39 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 18 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 43 bölge bulunmuştur. H36-A4 izolatının genomunda ise total 4338 gen ve 363 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 15 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 37 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 16 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 34 bölge bulunmuştur.

Antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde *Rhodococcus* spp. G-MC3, H29-C3 ve PS3-L1 izolatlarının her birinde NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz, proteazom degradasyonu, ısı şoku proteini HSP90'a karşı direnç, DNA giraz ve DNA topoizomera IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası, beta-laktamaz aktivitesi ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları ile ilgili mekanizmalar görülmektedir. Bunun yanı sıra, H29-C3 izolatında kloramfenikol antibiyotiklere karşı direnç mekanizması gözlemlenmiştir.

Tablo 4.38. *Rhodococcus sp.* G-MC3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri.

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	3257
PF00044.19	Gp_dh_N	2505
PF00183.13	HSP90	2199
PF00185.19	OTCace	1522
PF00185.19	OTCace	3178
PF00185.19	OTCace	3919
PF00204.20	DNA_gyraseB	1874
PF00227.21	Proteasome	3346
PF00227.21	Proteasome	3345
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1344
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3144
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3725
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3124
PF00364.17	Biotin_lipoyl	514
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3510
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2516
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4770
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3569
PF00364.17	Biotin_lipoyl	243
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1873
PF01039.17	Carboxyl_trans	3524
PF01039.17	Carboxyl_trans	2517
PF01039.17	Carboxyl_trans	2630
PF01039.17	Carboxyl_trans	1288
PF01039.17	Carboxyl_trans	513
PF01039.17	Carboxyl_trans	2180
PF13599.1	Pentapeptide_4	5045
RF0007	ABC_efflux	673
RF0007	ABC_efflux	5161
RF0007	ABC_efflux	2804
RF0007	ABC_efflux	2938
RF0007	ABC_efflux	3104
RF0007	ABC_efflux	3105
RF0053	ClassA	2011
RF0054	ClassB	3491
RF0123	SubclassB1	4394
TIGR00663	TIGR00663	1880
TIGR02013	TIGR02013	480

Tablo 4.39. *Rhodococcus* sp. H29-C3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri.

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	3554
PF00044.19	Gp_dh_N	3700
PF00183.13	HSP90	1770
PF00185.19	OTCace	2587
PF00185.19	OTCace	3527
PF00204.20	DNA_gyraseB	1295
PF00227.21	Proteasome	3643
PF00227.21	Proteasome	3642
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2374
PF00364.17	Biotin_lipoyl	971
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3108
PF00364.17	Biotin_lipoyl	186
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3056
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3947
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4328
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1982
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2726
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1294
PF01039.17	Carboxyl_trans	3101
PF01039.17	Carboxyl_trans	1981
PF01039.17	Carboxyl_trans	1137
PF01039.17	Carboxyl_trans	2329
PF01039.17	Carboxyl_trans	187
PF01039.17	Carboxyl_trans	3503
PF01039.17	Carboxyl_trans	1717
PF01039.17	Carboxyl_trans	3866
PF13599.1	Pentapeptide_4	3178
RF0007	ABC_efflux	46
RF0007	ABC_efflux	4408
RF0007	ABC_efflux	4433
RF0007	ABC_efflux	962
RF0007	ABC_efflux	2136
RF0007	ABC_efflux	4407
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	5187
RF0054	ClassB	5086
RF0123	SubclassB1	373
TIGR00663	TIGR00663	1301
TIGR02013	TIGR02013	213

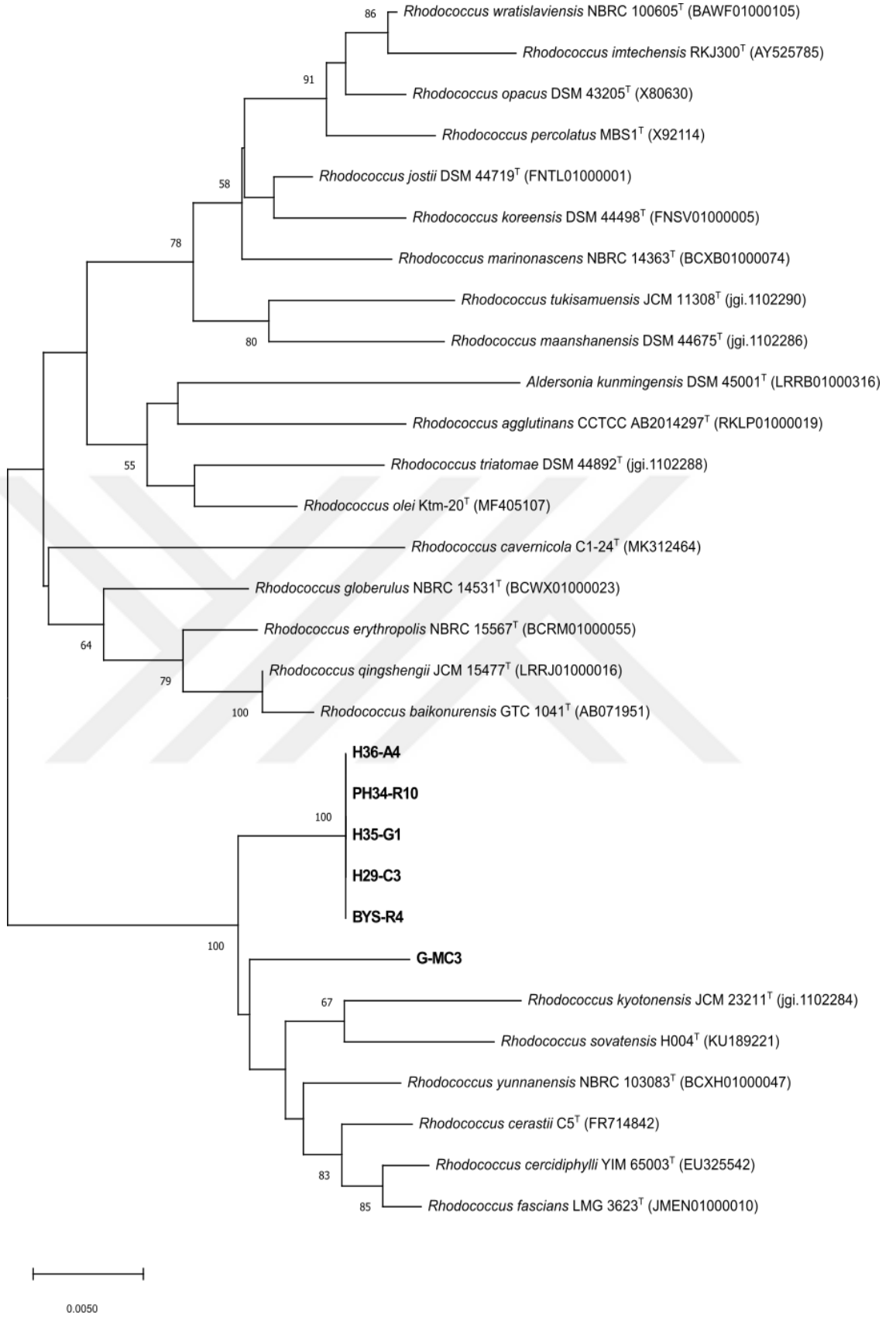
Tablo 4.40. *Rhodococcus* sp. H36-A4 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri.

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0007	ABC_efflux	3268
RF0007	ABC_efflux	1375
RF0007	ABC_efflux	1399
RF0007	ABC_efflux	906
RF0007	ABC_efflux	2804
RF0007	ABC_efflux	1374
RF0054	ClassB	3866
RF0123	SubclassB1	2940
PF00044.19	Gp_dh_N	3468
PF00183.13	HSP90	273
PF00185.19	OTCace	2374
PF00185.19	OTCace	3441
PF00204.20	DNA_gyraseB	1174
PF00227.21	Proteasome	3560
PF00227.21	Proteasome	3559
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2580
PF00364.17	Biotin_lipoyl	913
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1978
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3129
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2029
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3307
PF00364.17	Biotin_lipoyl	58
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2178
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1173
PF01039.17	Carboxyl_trans	1985
PF01039.17	Carboxyl_trans	59
PF01039.17	Carboxyl_trans	1023
PF01039.17	Carboxyl_trans	2625
PF01039.17	Carboxyl_trans	3128
PF01039.17	Carboxyl_trans	3609
PF01039.17	Carboxyl_trans	326
PF01039.17	Carboxyl_trans	3789
PF13599.1	Pentapeptide_4	1908
PF13599.1	Pentapeptide_4	3956
PF13599.1	Pentapeptide_4	3543
TIGR02013	TIGR02013	3102
TIGR00663	TIGR00663	1180

4.10.2. *Rhodococcus* Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan izole edilen, 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Rhodococcus* cinsine ait izolatlar H29-C3, PH34-R10, BYS-R4, H36-A4, H35-G1 ve G-MC3'tür. Suşlara ait diziler ve suşlara en yakın 26 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Rhodococcus* spp. H29-C3, PH34-R10, BYS-R4, H36-A4 ve H35-G1 suşlarının 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşlara en yakın türün % 100.0 tamamlayıcılıkla, % 99.17'lik bir benzerlik değerine sahip *Rhodococcus yunnanensis* NBRC 103083^T olduğunu göstermektedir. Bu organizmalar *Rhodococcus yunnanensis* ile karşılaştırıldığında 1440 nükleotidden 12 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.36), çalışılan suşların beraber aynı dalda kümelendiği görülmektedir. Ayrıca H29-C3, PH34-R10, BYS-R4, H36-A4 ve H35-G1 izolatları 16S rRNA dizisi bakımından birbirleriyle karşılaştırıldığında %100 benzerliğe sahip oldukları görülmüştür. Nükleotid farklılıkları incelendiğinde diğer türlerin de H29-C3, PH34-R10, BYS-R4, H36-A4 ve H35-G1 suşları ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 98.58 (*Rhodococcus cerastii* C5^T) ve % 96.59 (*Rhodococcus maanshanensis* DSM 44675^T) arasında değişmektedir.

Rhodococcus sp. G-MC3 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün % 100 tamamlayıcılıkla, % 98.74'lik bir benzerlik değerine sahip *Rhodococcus fascians* LMG 3623^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1431 nükleotidden 18 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. Benzerliğin, eşik değerinin üstünde olması G-MC3 suşunun *Rhodococcus fascians* türü ile aynı türü temsil edebileceğini düşündürmektedir. Filogenetik ağaç incelendiğinde, G-MC3 izolatı, diğer *Rhodococcus* izolatlarından ayrılmıştır. Nükleotid farklılıkları incelendiğinde diğer türlerin de G-MC3 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 98.74 (*Rhodococcus cercidiphylli* YIM 65003^T) ve % 96.38 (*Rhodococcus cavernicola* C1-24^T) arasında değişmektedir.



Şekil 4.36. *Rhodococcus* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Rhodococcus spp. H29-C3 ve H36-A4 izolatlarının TYGS platformunda tüm genomla bağlı filogenetik analizine göre H29-C3 izolatı *Rhodococcus yunnanensis* NBRC 103083 suşu ile güvenilirlik değeri % 17,7 - 22,7 arasında değişebilen % 20.3'lük benzerlik göstermektedir. H29-C3 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 1.74'tür. Ağaçta görünen diğer türlerin de H29-C3 suşu ile benzerlikleri %20 - 19,9 (*Rhodococcus kyotonensis* JCM 23211) ve % 18,0 - 18,9 (*Rhodococcus zopfii* NBRC 100606 ile *Rhodococcus phenolicus* DSM 44812) arasında değişmektedir.

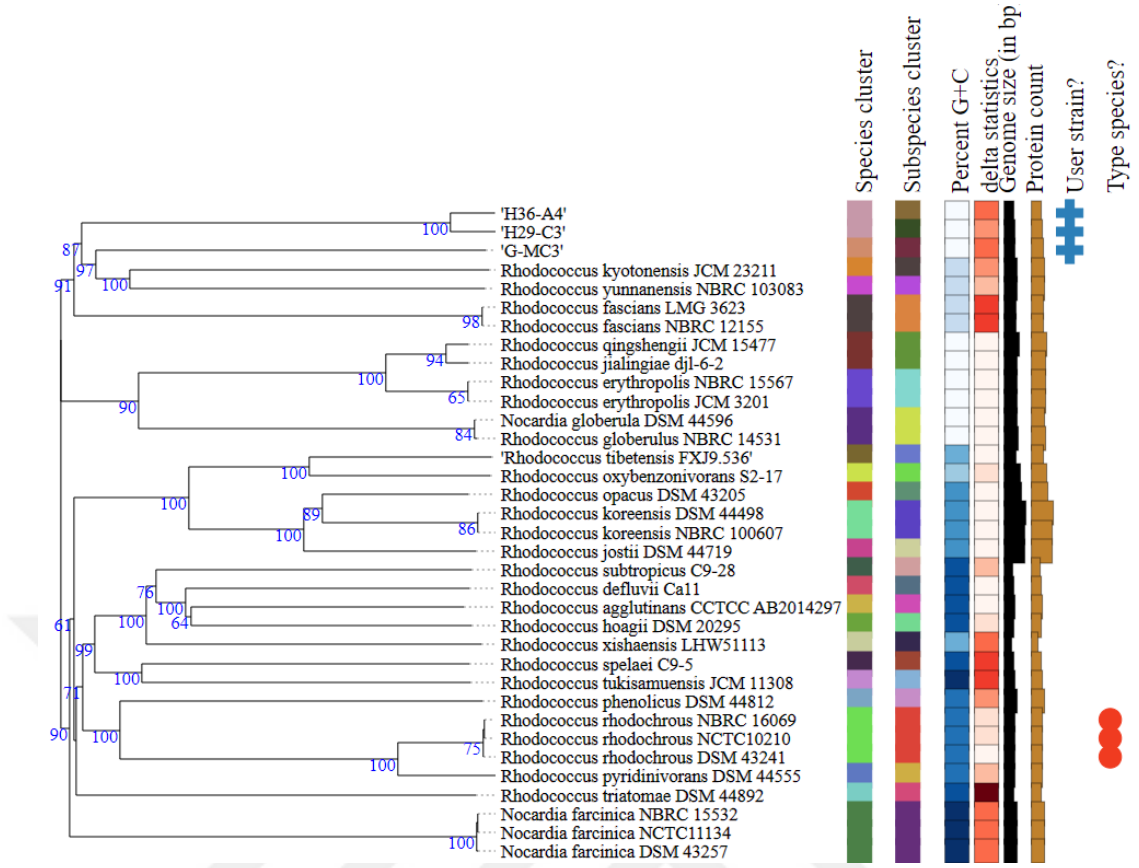
Tablo 4.41. *Rhodococcus* izolatlarının birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H29-C3	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	20.3
	<i>Rhodococcus kyotonensis</i> JCM 23211	19.9
	<i>Rhodococcus spelaei</i> C9-5	19.8
	<i>Rhodococcus fascians</i> LMG 3623	19.7
	<i>Rhodococcus erythropolis</i> NBRC 15567	19.6
	<i>Nocardia globerula</i> DSM 44596	19.6
	<i>Rhodococcus fascians</i> NBRC 12155	19.6
	<i>Rhodococcus jialingiae</i> djl-6-2	19.6
	<i>Rhodococcus qingshengii</i> JCM 15477	19.5
	<i>Rhodococcus globerulus</i> NBRC 14531	19.5
	<i>Rhodococcus oryzae</i> NEAU-CX67	19.5
	<i>Rhodococcus defluvii</i> Ca11	19.4
	<i>Rhodococcus opacus</i> DSM 43205	19.3
	<i>Rhodococcus subtropicus</i> C9-28	19.3
	<i>Rhodococcus koreensis</i> DSM 44498	19
	<i>Rhodococcus phenolicus</i> DSM 44812	18.8
	<i>Rhodococcus koreensis</i> NBRC 100607	18.8
	<i>Rhodococcus zopfii</i> NBRC 100606	18
H36-A4	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	20.3
	<i>Rhodococcus kyotonensis</i> JCM 23211	20
	<i>Rhodococcus tukisamuensis</i> JCM 11308	19.8
	<i>Rhodococcus luteus</i> DSM 43673	19.7
	<i>Rhodococcus jialingiae</i> djl-6-2	19.7
	<i>Rhodococcus spelaei</i> C9-5	19.7
	<i>Rhodococcus globerulus</i> NBRC 14531	19.6
	<i>Rhodococcus fascians</i> NBRC 12155	19.6
	<i>Nocardia globerula</i> DSM 44596	19.6
	<i>Rhodococcus fascians</i> LMG 3623	19.6
	<i>Rhodococcus opacus</i> DSM 43205	19.5
	<i>Rhodococcus qingshengii</i> JCM 15477	19.3
	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> DSM 43241	19.3
	<i>Rhodococcus defluvii</i> Ca11	19.3
	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> NBRC 16069	19.3
	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> NCTC10210	19.3
	<i>Rhodococcus koreensis</i> DSM 44498	19.1
	<i>Rhodococcus agglutinans</i> CCTCC AB2014297	19.1
	<i>Rhodococcus phenolicus</i> DSM 44812	18.9

Tablo 4.40. *Rhodococcus* izolatlarının birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları (devam)

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
G-MC3	<i>Rhodococcus kyotonensis</i> JCM 23211	20.9
	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	20.9
	<i>Rhodococcus erythropolis</i> JCM 3201	20.6
	<i>Rhodococcus erythropolis</i> NBRC 15567	20.4
	<i>Rhodococcus triatomae</i> DSM 44892	20
	<i>Rhodococcus oxybenzonivorans</i> S2-17	19.9
	<i>Rhodococcus fascians</i> LMG 3623	19.8
	<i>Rhodococcus fascians</i> NBRC 12155	19.8
	<i>Rhodococcus opacus</i> DSM 43205	19.7
	<i>Rhodococcus subtropicus</i> C9-28	19.6
	<i>Rhodococcus tibetensis</i> FXJ9.536	19.4
	<i>Rhodococcus jostii</i> DSM 44719	19.4
	<i>Williamsia herbipolensis</i> ARP1	19.4
	<i>Nocardia farcinica</i> DSM 43257	19.3
	<i>Nocardia farcinica</i> NCTC11134	19.3
	<i>Nocardia farcinica</i> NBRC 15532	19.2
H29-C3	H36-A4	77.4
H29-C3	G-MC3	20.1
H36-A4	G-MC3	19.8

Rhodococcus sp. G-MC3 izolatının TYGS platformunda tüm genoma bağlı filogenetik analizinde G-MC3 izolatı, *Rhodococcus kyotonensis* JCM 23211 ve *Rhodococcus yunnanensis* NBRC 103083 suşları ile güvenilirlik değeri % 18.6 - 23.4 arasında değişebilen % 20.9'luk benzerlik göstermektedir. G-MC3 suşunun bu türler ile arasındaki %GC farklı sırasıyla 1.51 ve 1.24'tür. Ağaçta görünen diğer türlerin de G-MC3 suşu ile benzerlikleri % 20.6 (*Rhodococcus erythropolis* JCM 3201) ve % 19.2 (*Nocardia farcinica* NBRC 15532) arasında değişmektedir.



Şekil 4.37. *Rhodococcus* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 85.5'tir.

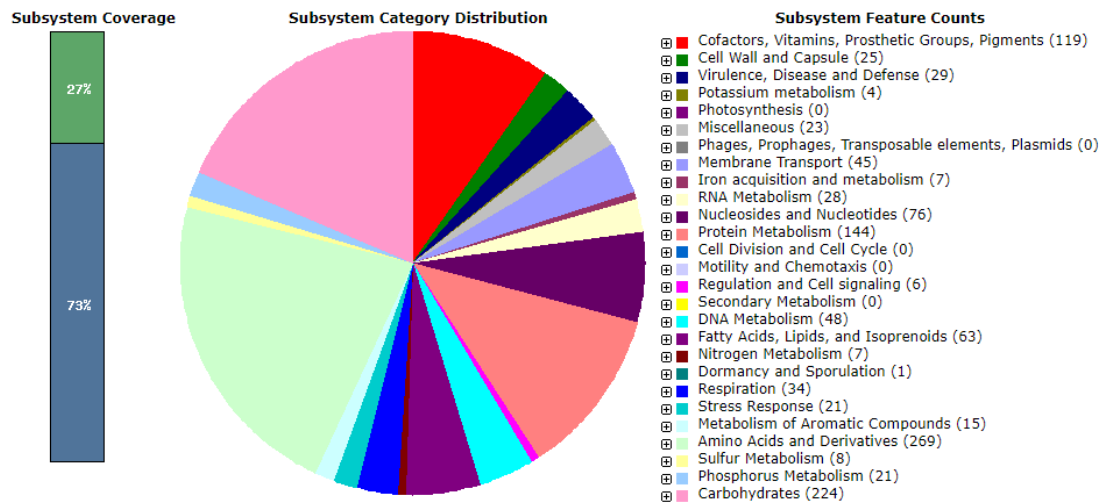
Rhodococcus üyelerinin TYGS platformunda tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 35 türden oluşan bir küme ortaya çıkmıştır. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak %85,5'tir. Delta (δ) değerleri 0,215 - 0,348 arası değişip; GC yüzdeleri % 61,67 - 70,68 arasında; genom büyüklükleri 3,702,492 - 10,311,574 bp arasında; protein sayısı ise 3,281 - 9,444 arasında değişmektedir. *Rhodococcus* cinsine ait izolatların tüm genoma bağlı filogenetik ağaçları incelendiğinde G-MC3 izolatı, dizi benzerliğine bağlı olarak H36-A4 ve H29-C3'ün bulunduğu kladdan ayrılmıştır. İzolatlar arasında dDDH benzerlikliği incelendiğinde H29-C3 ve H36-A4 arasında benzerlik % 77.4; H29-C3 ve G-MC3 arasında benzerlik % 20.1; H36-A4 ve G-MC3 arasında benzerlik ise % 19.8 çıkmıştır. Buna bağlı olarak H29-C3 ile H36-A4'ün aynı türe düştükleri ancak yeni bir türü temsil ettikleri çıkarılabilir. Ayrıca G-MC3 izolatının da yeni bir türü temsil ettiği söylenebilir.

4.11. *Salinibacterium* cinsi

4.11.1. *Salinibacterium* sp. G-O1 İzolatının Genom Özellikleri

G-O1 izolatında toplam 6 kontig vardır. Bunlardan 2 tanesi ≥ 1000000 bp; 2 tanesi $1000000 >$ ile ≥ 100000 bp; 1 tanesi $100000 >$ ile ≥ 10000 bp; 1 tanesi $10000 >$ ile ≥ 1000 bp arasındadır. Genom uzunluğu 3.143.343 bp olup, kontiglerin en büyüğü 1.302.674 bpdır. GC yüzdesi % 64.38; N_{50} değeri 1.072.763 bp; L_{50} değeri 2'dir.

G-O1 izolatının genom anotasyonunda, Şekil 4.38'de görüldüğü gibi, dizilerin %27'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, kalan %73'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Annotasyon raporu kontiglerin sayısının 6, genom uzunluğunun 3,143,343 bp, GC oranının % 64.4 ve N_{50} ile L_{50} değerlerinin sırasıyla 1.072.763 bp ve 2 olduğunu göstermektedir. Kodlama yapan 3074 dizinin, 50 RNA'nın ve 255 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın varlığı saptanmıştır. G-O1 izolatının tanımlanabilen fonksiyonel 1217 gen grubu içerisinde 17'si antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile 12'si invazyon ve hücre içi direnç olmak üzere toplam 29 tane virülans/hastalık/savunma fonksiyonuna sahip bölge bulunmaktadır. Sekonder metabolizma açısından belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş mekanizması bulunmamıştır. Ayrıca G-O1 izolatının belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş faj mekanizması ile ilgili genleri de bulunmamıştır. Ancak herhangi bir kategoriye koyulamayan bölgelerde faj integraz ve faj eksizyonaz mekanizmaları tespit edilmiştir. Herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgeler incelendiğinde CRISPR ile alakalı herhangi bir bölgeye rastlanmamıştır.



Şekil 4.38. *Salinibacterium* sp. G-O1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

G-O1 izolatının virölans genleri incelendiğinde, protein sentezinde yer alan *Mycobacterium* virölans operonu, DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium* virölans operonu ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virölans operonunun varlığı saptanmıştır. G-O1 izolatının stres cevabı incelendiğinde, ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain sentezi ile ilgili mekanizmalarını içeren ozmotik stres; glutatyon redox reaksiyonlarını içeren oksidatif stres; bakteriyel hemoglobin, dimetilarjinin metabolizması ve selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmalarının dahil olduğu toplam 21 mekanizma saptanmıştır. Aromatik bileşiklerin metabolizmasında kinik asit esteri degradasyonu, bifenil degradasyonu, benzoat degradasyonu, beta-ketoadipat yolağının katekol dalı, salisilat ve gentisat katabolizması, aromatik bileşik degradasyonunun merkezi meta-kesim yolağı ve gentisat degradasyonu mekanizmaları görülmektedir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde CSp ailesi soğuk şok proteini ve antifriz proteinlerine sahip olduğu görülmüştür. G-O1 izolatı antibiyotik ve toksik maddelere direnç genleri açısından incelendiğinde florokinolon direnci, civa direnci operonuna bağlı civa direnci, bakır homeostazına bağlı bakır toleransı, civa redüktaz aktivitesine bağlı civa toleransı ile CusA katyon pompasına bağlı kobalt-çinko-kadmiyum direncinin varlığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra herhangi bir kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde organik hidroperoksit direnci, glioksalaz/bleomisin direnci ve çoklu ilaç direnci pompaları ile ilgili mekanizmalar gözlemlenmiştir.

AntiSMASH sunucusunda biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin analizine göre *Salinibacterium* sp. G-O1, tip III poliketid sentaz, terpen ve betalakton gen kümeleri olmak üzere toplamda 3 biyosentetik gen kümesine sahiptir. Bu gen kümelerinden sadece alkilrezorsinol metabolitini kodlayan gen kümesi ile %100 benzerlik gösterirken, karotenoid metabolitini kodlayan gen kümesine benzerlik %50 çıkmıştır. Mikroansamisin metabolitini kodlayan gen kümesine ise çok düşük benzerlik görülmüştür. Bu gen kümeleri arasında en önemli olan alkilrezorsinoller, bakteriler, mantarlar, süngerler ve yüksek bitkiler tarafından sentezlenen, lipofilik bir polifenol yapıya sahip metabolitlerdir. İnsan tüketimi açısından tam tahıl ürünlerinde bulunurlar. Ayrıca alkilrezorsinoller antimikrobiyal ve antikanser tedavisi için adjuvan terapötik ajanları ile metabolik ve immün

süreçlerin umut verici biyo-düzenleyicileri olarak kabul edilmektedirler (Zabolotneva vd., 2022).

Tablo 4.42. *Salinibacterium* sp. G-O1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri.

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 1.2	terpene	carotenoid	50%
Bölge 2.1	betalactone	microansamycin	7%

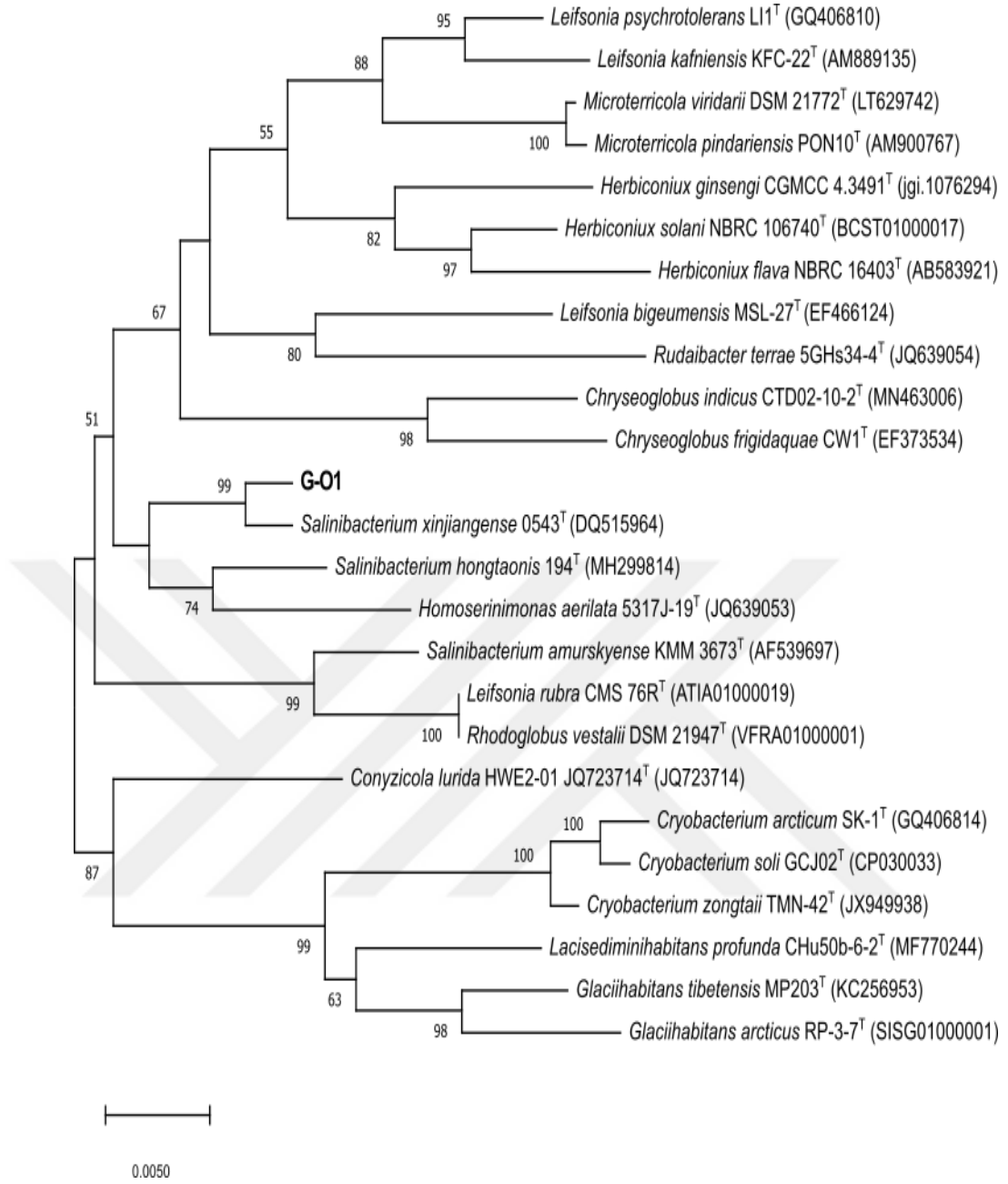
Salinibacterium sp. G-O1 izolatı için ARTS sunucusunda total 3038 gen ve 320 primer metabolizmadan sorumlu genin varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bilinen biyosentetik gen kümesine (BGC) yakın konumlanan 3 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 21 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 5 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 123 bölge saptanmıştır. ARTS platformu antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde glikoliz ve glikoneogenezde yer alan NAD bağlayıcı enzim ile alakalı 1 mekanizma, ornitin karbamoiltransferazla alakalı 2 mekanizma, DNA giraz beta altbirimi ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları ile ilgili toplam 4 mekanizma, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler ile ilgili 7 mekanizma, karboksil transferazla ilgili 3 mekanizma, ABC-antibiyotik pompası ile ilgili 2 mekanizma ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları ile ilgili 2 mekanizmanın bulunduğu toplam 21 direnç modeli içerdiğini göstermektedir. Ayrıca, ARTS sonucunda enerji metabolizmasından sorumlu pruvat karboksilaz ile DNA giraz A ve B altbirimlerinin biyosentetik gen kümesine yakın konumlandığı ve dirençten sorumlu olduğu görülmüştür.

Tablo 4.43. *Salinibacterium* sp. G-O1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	1547
PF00185.19	OTCace	1248
PF00185.19	OTCace	1605
PF00204.20	DNA_gyraseB	83
PF00204.20	DNA_gyraseB	1675
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1684
PF00364.17	Biotin_lipoyl	118
PF00364.17	Biotin_lipoyl	272
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2742
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2912
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1384
PF00364.17	Biotin_lipoyl	266
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1663
PF00521.15	DNA_topoisoIV	82
PF01039.17	Carboxyl_trans	2919
PF01039.17	Carboxyl_trans	265
PF01039.17	Carboxyl_trans	805
RF0007	ABC_efflux	725
RF0007	ABC_efflux	646
TIGR00663	TIGR00663	87
TIGR02013	TIGR02013	529

4.11.2. *Salinibacterium* sp. G-O1 İzolatının 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni ve tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Salinibacterium* cinsine ait tek izolat G-O1'dir. Suşa ait dizi ve suşa en yakın 24 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Salinibacterium* sp. G-O1 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın türün % 97.4 tamamlayıcılıkla, % 99.36'lık bir benzerlik değerine sahip *Salinibacterium xinjiangense* 0543^T olduğunu göstermektedir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1407 nükleotidden 9 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.39), çalışılan suşa en yakın türün de *Salinibacterium xinjiangense* 0543^T olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H37-C3 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 98.20 (*Salinibacterium hongtaonis* 194^T) ve % 96.40 (*Microterricola pindariensis* PON10^T) arasında değişmektedir.

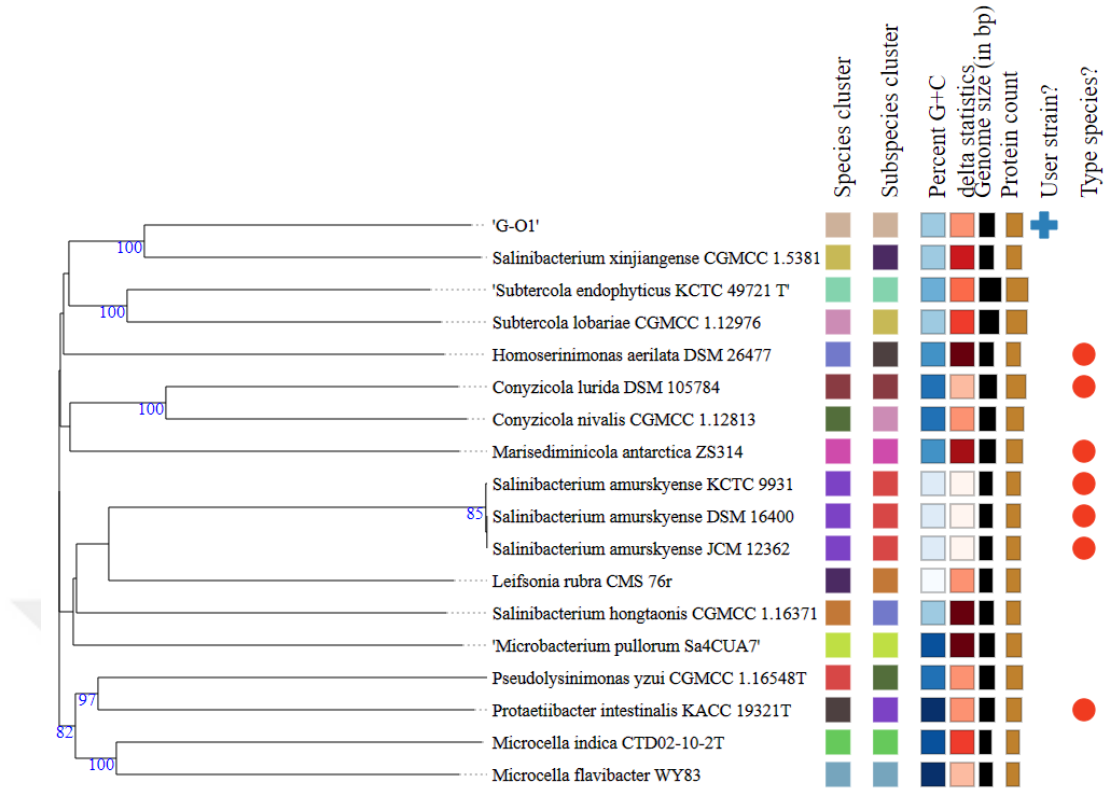


Şekil 4.39. *Salinibacterium* sp. G-O1 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Salinibacterium sp. G-O1 izolatının TYGS platformunda tüm genomla bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 14 türden oluşan bir küme ortaya çıkmıştır. *Salinibacterium* sp. G-O1 izolatının *Salinibacterium xinjiangense* CGMCC 1.5381 suşu ile güvenilirlik değeri % 21.0 - 25.8 arasında değişebilen % 23.3'lük benzerlik göstermektedir. G-O1 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 0.42'tür. *Salinibacterium xinjiangense* türünden sonraki en yakın tür *Microbacterium pullorum* Sa4CUA7 suşuna aittir ve % 20.5'lik bir benzerlik göstermektedir. Ağaçta görünen diğer türlerin de G-O1 suşu ile benzerlikleri % 20.3 (*Subtercola endophyticus* KCTC 49721^T) ve % 18.4 (*Microcella indica* CTD02-10-2^T) arasında değişmektedir. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 55.5'tir ve düşük kalitede bir filogenetik ağacı yansıtmaktadır. Delta (δ) değerleri 0,293 – 0,433 arası değişip; GC yüzdeleri %59,24 – 72,36 arasında; genom büyüklükleri 2,585,348 - 4,318,731 bp arasında; protein sayısı ise 2,470 - 3,874 arasında değişmektedir.

Tablo 4.44. *Salinibacterium* sp. G-O1 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
G-O1	<i>Salinibacterium xinjiangense</i> CGMCC 1.5381	23.3
	<i>Microbacterium pullorum</i> Sa4CUA7	20.5
	<i>Subtercola endophyticus</i> KCTC 49721 T	20.3
	<i>Subtercola lobariae</i> CGMCC 1.12976	20.2
	<i>Homoserinimonas aerilata</i> DSM 26477	20
	<i>Leifsonia rubra</i> CMS 76r	19.6
	<i>Salinibacterium amurskyense</i> JCM 12362	19.5
	<i>Salinibacterium hongtaonis</i> CGMCC 1.16371	19.5
	<i>Salinibacterium amurskyense</i> DSM 16400	19.5
	<i>Conyzicola lurida</i> DSM 105784	19.5
	<i>Salinibacterium amurskyense</i> KCTC 9931	19.4
	<i>Conyzicola nivalis</i> CGMCC 1.12813	19.2
	<i>Marisediminicola antarctica</i> ZS314	19.1
	<i>Protaetiaibacter intestinalis</i> KACC 19321T	18.9
	<i>Microcella flavibacter</i> WY83	18.8
	<i>Pseudolysinimonas yzui</i> CGMCC 1.16548T	18.7
	<i>Microcella indica</i> CTD02-10-2T	18.4



Şekil 4.40. *Salinibacterium* sp. G-O1 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı.

4.12. *Streptomyces* cinsi

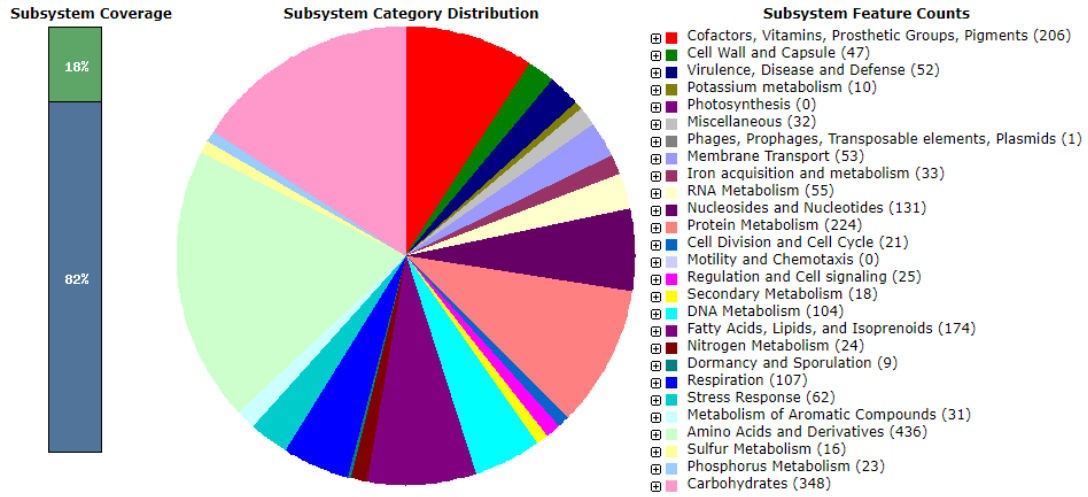
4.12.1. *Streptomyces* Cinsine Ait İzolatların Genom Özellikleri

G-G2 izolatında toplam 141 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.1 megabaz olup; GC yüzdesi % 71.9; N₅₀ değeri 129914 bp; L₅₀ değeri 21'dir. H10-C2 izolatında toplam 192 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.6 megabaz olup; GC yüzdesi % 70.1; N₅₀ değeri 117472 bp; L₅₀ değeri 20'dir. H27-C3 izolatında toplam 128 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.0 megabaz olup; GC yüzdesi % 69.9; N₅₀ değeri 165176 bp; L₅₀ değeri 17'dir. H27-D2 izolatında toplam 243 kontig vardır. Genom uzunluğu 7.4 megabaz olup; GC yüzdesi % 71.0; N₅₀ değeri 58394 bp; L₅₀ değeri 39'dur. H27-G5 izolatında toplam 448 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.9 megabaz olup; GC yüzdesi % 71.4; N₅₀ değeri 58566 bp; L₅₀ değeri 45'tir. H27-H1 izolatında toplam 176 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.9 megabaz olup; GC yüzdesi % 71.1; N₅₀ değeri 139997 bp; L₅₀ değeri 20'dir. H27-H5 izolatında toplam 380 kontig vardır. Genom uzunluğu 9.1 megabaz olup; GC yüzdesi % 71.5; N₅₀ değeri 77653 bp; L₅₀ değeri 42'dir. H27-S2 izolatında 89 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.5 megabaz

olup; GC yüzdesi % 72.3; N₅₀ değeri 220250 bp; L₅₀ değeri 13'tür. H34-AA3 izolatında 160 kontig vardır. Genom uzunluğu 9.1 megabaz olup; GC yüzdesi % 71.9; N₅₀ değeri 116243 bp; L₅₀ değeri 26'dır. H34-S4 izolatında 186 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.0 megabaz olup; GC yüzdesi % 71.2; N₅₀ değeri 79368 bp; L₅₀ değeri 28'dir. H34-S5 izolatında 303 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.9 megabaz olup; GC yüzdesi % 72.0; N₅₀ değeri 54499 bp; L₅₀ değeri 46'dır. H39-C1 izolatında 306 kontig vardır. Genom uzunluğu 10.3 megabaz olup; GC yüzdesi % 70.3; N₅₀ değeri 68923 bp; L₅₀ değeri 47'dir. H39-S7 izolatında 146 kontig vardır. Genom uzunluğu 9.5 megabaz olup; GC yüzdesi % 70.7; N₅₀ değeri 114.846 bp; L₅₀ değeri 25'tir. PH10-H1 izolatında 237 kontig vardır. Genom uzunluğu 8.5 megabaz olup; GC yüzdesi % 70.1; N₅₀ değeri 81534 bp; L₅₀ değeri 32'dir.

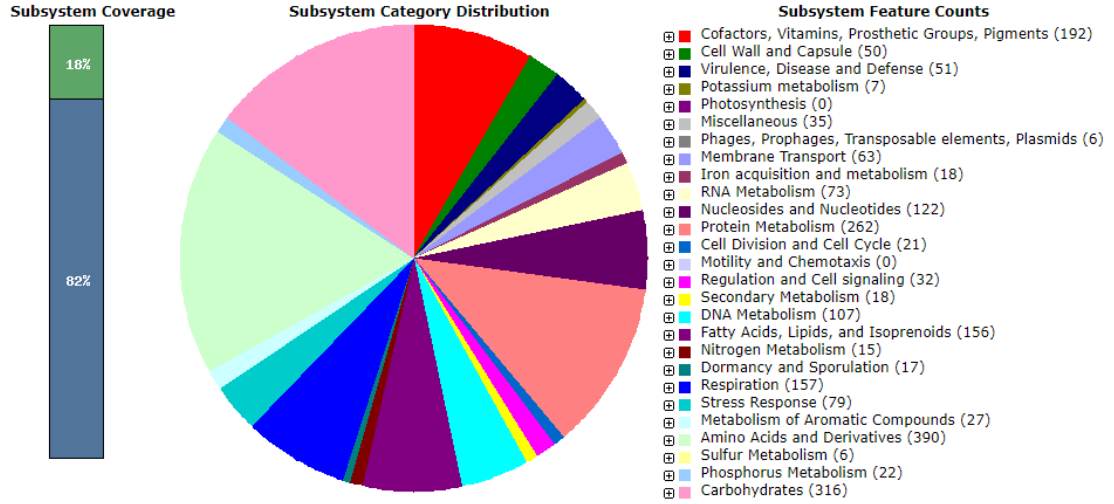
RAST ile Genom Annotasyonu

Streptomyces sp. G-G2 izolatının genom annotasyonunda, %18'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %82'si ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 141, genom uzunluğunun 8,191,296 bp, GC oranının % 71.9 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 117.797 bp ve 23 olduğu; kodlama yapan 7937 dizinin, 77 RNA'nın, 325 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2242 gen grubunun olduğu saptanmıştır. G-G2 izolatının fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı *Listeria* patojenite adası LIPI-1 bulunmuştur. Kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgelerde ise faj ile ilişkili faj kuyruk proteini T, faj endonükleazı VII, faj kuyruk birleştirme proteini, faj integras, faj kuyruğu kılıf proteini FI proteinleri bulunmuştur. CRISPR dizilerinden ise CRISPR ile ilişkili protein, Cas5e ailesi proteini bulunmuştur.



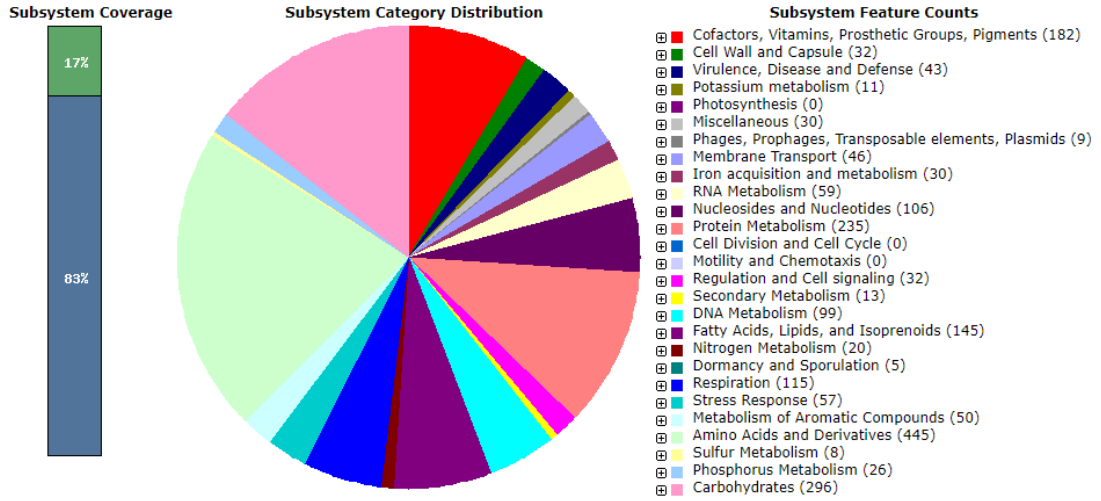
Şekil 4.41. *Streptomyces* sp. G-G2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H10-C2 izolatının genom anotasyonunda, %18'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %82'si ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 192, genom uzunluğunun 8,627,315 bp, GC oranının % 70.1 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 116.339 bp ve 21 olduğu; kodlama yapan 8751 dizinin, 73 RNA'nın, 326 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2242 gen grubunun olduğu saptanmıştır. H10-C2 izolatının fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı faj kuyruk ve kapsid proteinleri bulunmuştur. Ayrıca kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgelerde ise faj ile ilişkili faj kuyruk proteini T, faj integras, faj proteini, LambdaBa02 profajı integras proteini, faj endopeptidaz ve faj ana kapsid proteini bulunmuştur. CRISPR dizilerinden ise, CRISPR ile ilişkili Cas3 helikazı ile Cse3 ve Cse1 proteinleri bulunmuştur.



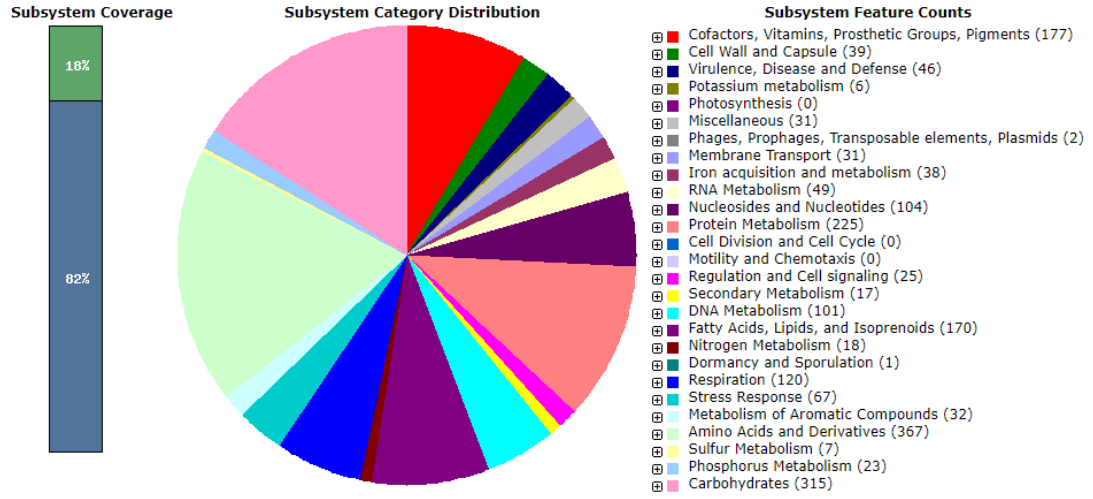
Şekil 4.42. *Streptomyces* sp. H10-C2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H27-C3 izolatının genom anotasyonunda, %17'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %83'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 128, genom uzunluğunun 8,023,791 bp, GC oranının % 69.9 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 123.234 bp ve 21 olduğu; kodlama yapan 7995 dizinin, 75 RNA'nın, 326 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2094 gen grubunun olduğu saptanmıştır. H27-C3 izolatının fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı *Listeria* patojenite adası LIPI-1'in yanısıra, faj replikasyon, faj paketleme, faj kuyruk ve kapsid proteinleri bulunmuştur. Ayrıca kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgelerde faj integras, faj proteini, muhtemelen peptidaz yapıdaki faj yapısal proteini, profaj Clp proteini, faj helikaz, çeşitli faj kuyruk ve kuyruk kılıf proteinleri, faj kapsid proteinleri, LambdaBa02 profajı integras proteini, faj portal proteinleri, fajla ilişkili DNA primaz, faj antirepresör proteini, faj endonükleaz ve faj terminaz proteinleri gibi çok çeşitte protein bulunmuştur. Ancak CRISPR dizileri bulunmamıştır.



Şekil 4.43. *Streptomyces* sp. H27-C3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

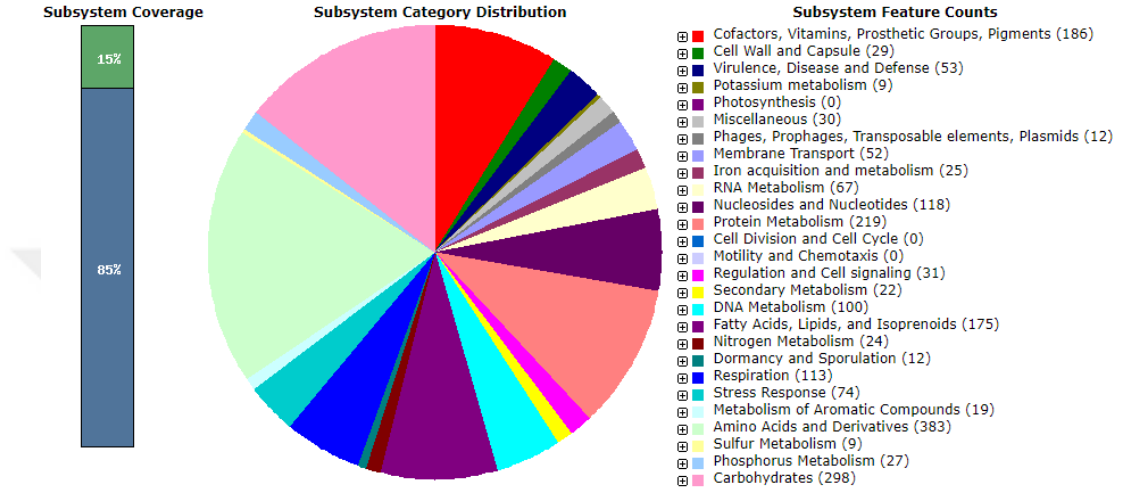
H27-D2 izolatının genom anotasyonunda, %18'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %82'si ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 243, genom uzunluğunun 7,457,460 bp, GC oranının % 71.0 ve N_{50} ile L_{50} değerlerinin sırasıyla 51.550 bp ve 48 olduğu; kodlama yapan 7188 dizinin, 75 RNA'nın, 320 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2011 gen grubunun olduğu saptanmıştır. H27-D2 izolatının fajlar, profajlar, transpozabl elementler, plazmitler ile alakalı faj kuyruk ucu proteinleri ve *Listeria* patojenite adası LIPI-1 proteinleri bulunmuştur. Ayrıca kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgelerde faj proteini, faj ile ilişkili endonükleaz, çeşitli faj kuruk proteinleri, faj lizin/glikozil hidrolaz ailesi 25 proteini ve faj integraz proteinleri bulunmuştur. CRISPR dizileri olarak ise CRISPR ile ilişkili protein Cas1, Cas2, Cse3, Cse4, Cas5e protein dizileri bulunmuştur.



Şekil 4.44. *Streptomyces* sp. H27-D2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

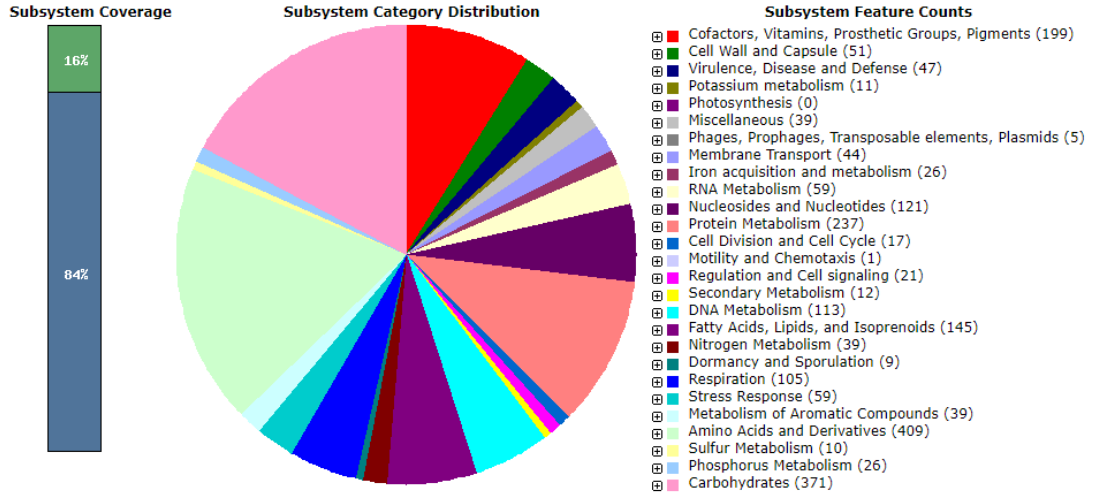
Kalan *Streptomyces* spp. H27-G5, H27-H1, H27-H5, H27-S2, H27-AA3, H34-S4, H34-S5, H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1 izolatlar, bahsedilen önceki *Streptomyces* izolatlarına benzer şekilde kategorize edilemeyen fonksiyonel bölgelerde çok çeşitte faj proteinlerine sahiptirler. Bunun yanı sıra, H27-G5, H27-S2 ve H34-S4 izolatlarının genomunda CRISPR dizileri bulunmamışken, H27-H1, H27-H5, H27-AA3, H34-S5, H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1 izolatlarında çeşitli CRISPR dizi ve proteinlerine rastlanmıştır. Tanımlanabilen fonksiyonel gen grupları incelendiğinde H27-G5 ve H27-H5 izolatlarında faj paketleme, faj kuyruk ve kapsid proteinleri; H27-H1 izolatında faj kuyruk, kapsid ve liziz modülleri; H27-S2 izolatında faj kuyruk proteinleri; H27-AA3 ve H34-S5 izolatlarında faj kuyruk, replikasyon ve paketleme mekanizmaları; H34-S4 izolatında faj replikasyon, paketleme mekanizmaları, kuyruk proteinleri ile liziz modülleri; H39-C1 izolatında faj replikasyon, paketleme mekanizmaları ve kapsid proteinleri; H39-S7 izolatında faj replikasyon ve paketleme mekanizmaları; PH10-H1 izolatında ise faj kuyruk ve kapsid proteinleri bulunmuştur. Ayrıca H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1 hariç kalan tüm *Streptomyces* izolatlarında *Listeria* patojenite adası LIPI-1 proteinleri gözlemlenmiştir.

H27-G5 izolatının genom anotasyonunda, %15'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %75'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 448, genom uzunluğunun 8,925,343, GC oranının % 71.4 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 58.115 bp ve 45 olduğu; kodlama yapan 9118 dizinin, 81 RNA'nın, 314 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2087 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



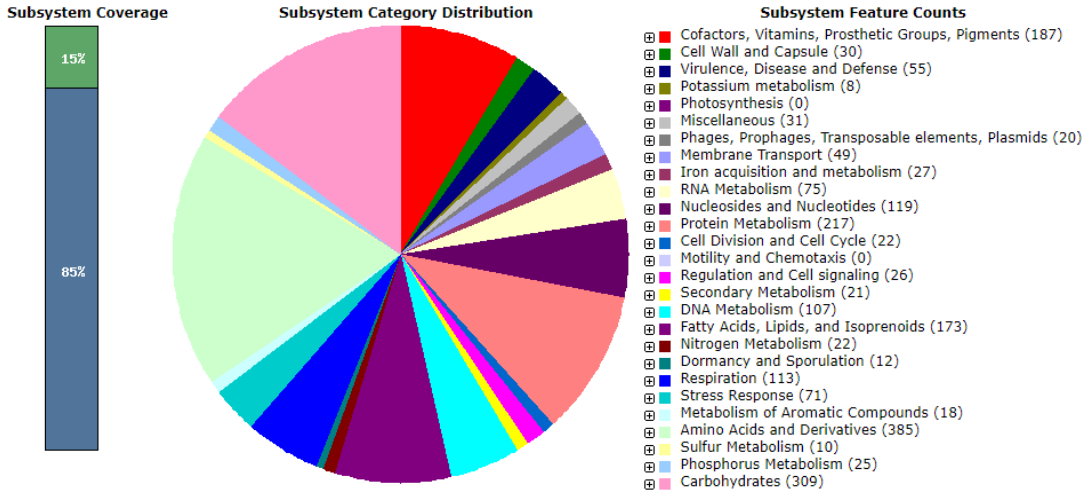
Şekil 4.45. *Streptomyces* sp. H27-G5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H27-H1 izolatının genom anotasyonunda, %16'sı belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %84'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 176, genom uzunluğunun 8,945,399 bp, GC oranının % 71.1 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 123.918 bp ve 20 olduğu; kodlama yapan 9007 dizinin, 83 RNA'nın, 332 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2215 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.46. *Streptomyces* sp. H27-H1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

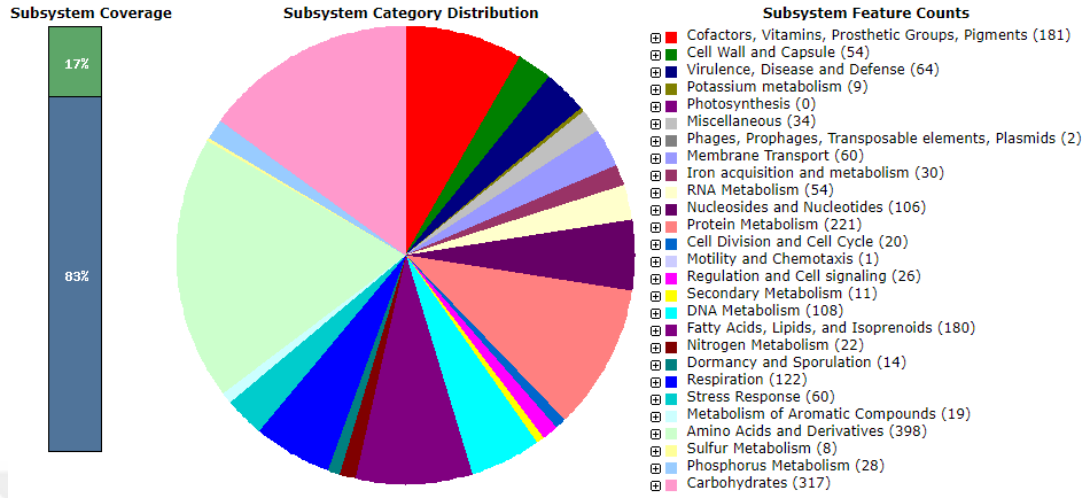
H27-H5 izolatının genom anotasyonunda, %15'i belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %75'i ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 380, genom uzunluğunun 9,134,251 bp, GC oranının % 71.5 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 74.088 bp ve 42 olduğu; kodlama yapan 9336 dizinin, 87 RNA'nın, 317 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2132 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.47. *Streptomyces* sp. H27-H5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

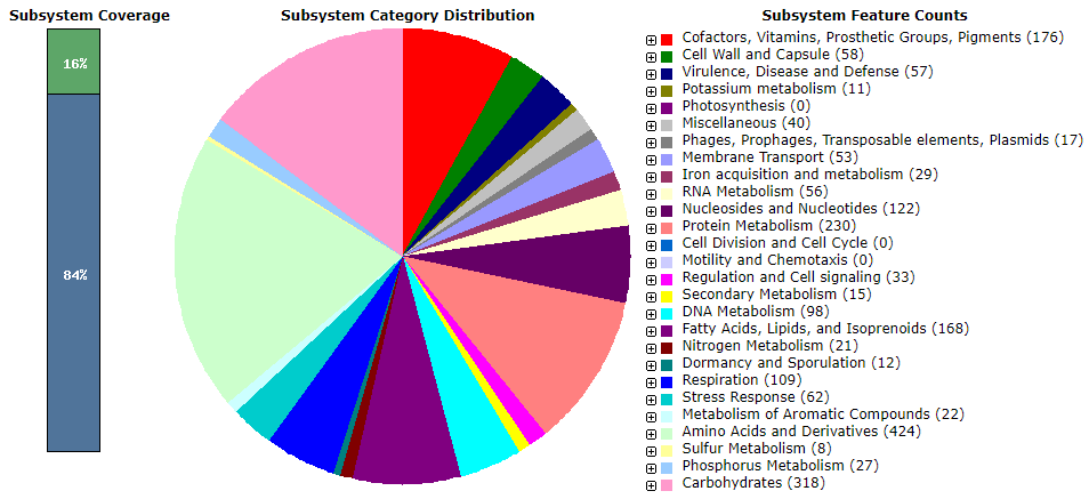
H27-S2 izolatının genom anotasyonunda, %17'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %83'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 89, genom uzunluğunun 8,504,971 bp, GC oranının % 72.3 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 217.159 bp ve 13 olduğu; kodlama yapan 8323

dizinin, 77 RNA'nın, 320 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2149 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



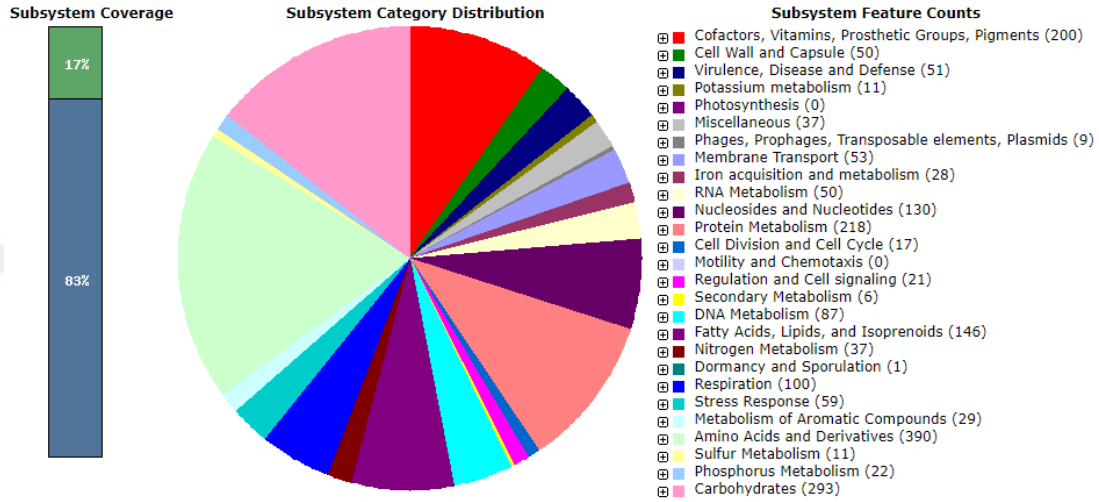
Şekil 4.48. *Streptomyces* sp. H27-S2 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H27-AA3 izolatının genom anotasyonunda, %16'sı belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %84'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 160, genom uzunluğunun 9,184,247 bp, GC oranının % 71.9 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 113.610 bp ve 26 olduğu; kodlama yapan 9190 dizinin, 87 RNA'nın, 318 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2166 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



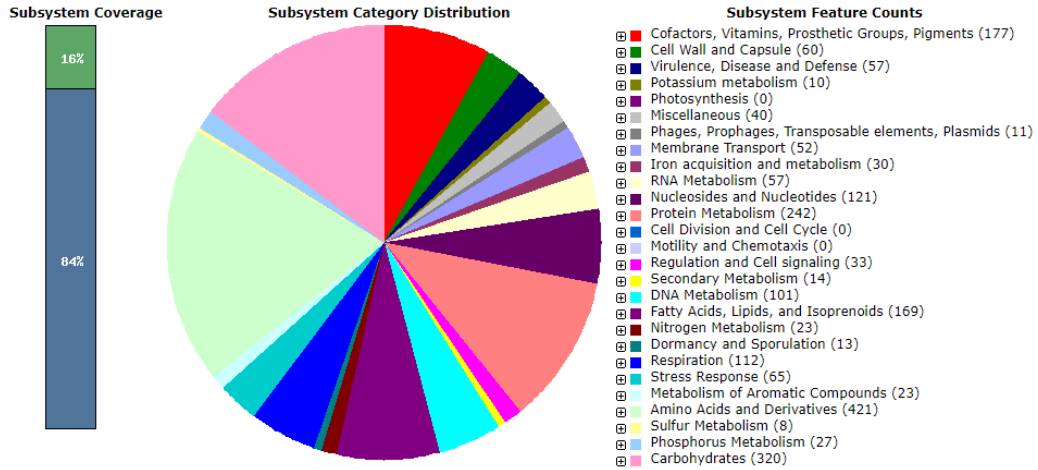
Şekil 4.49. *Streptomyces* sp. H27-AA3 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H34-S4 izolatının genom anotasyonunda, %17'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %83'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 186, genom uzunluğunun 8,018,717 bp, GC oranının % 71.2 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 79.368 bp ve 28 olduğu; kodlama yapan 7828 dizinin, 74 RNA'nın, 322 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2056 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



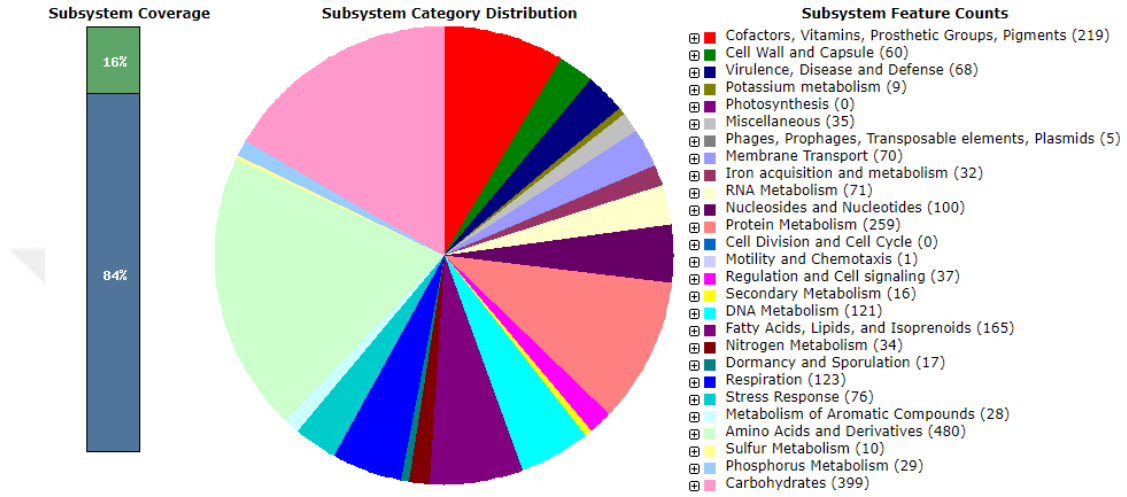
Şekil 4.50. *Streptomyces* sp. H34-S4 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H34-S5 izolatının genom anotasyonunda, %16'sı belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %84'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 303, genom uzunluğunun 8,978,247 bp, GC oranının % 72.0 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 54.003 bp ve 47 olduğu; kodlama yapan 9056 dizinin, 87 RNA'nın, 320 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2186 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



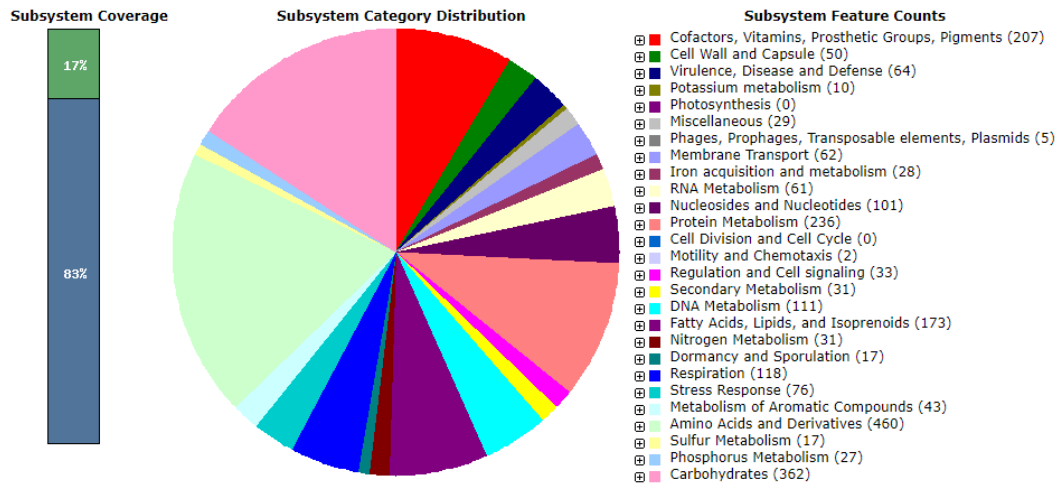
Şekil 4.51. *Streptomyces* sp. H34-S5 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H39-C1 izolatının genom anotasyonunda, %16'sı belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %84'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 306, genom uzunluğunun 10,348,935 bp, GC oranının % 70.3 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 67.905 bp ve 48 olduğu; kodlama yapan 10158 dizinin, 78 RNA'nın, 342 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2464 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



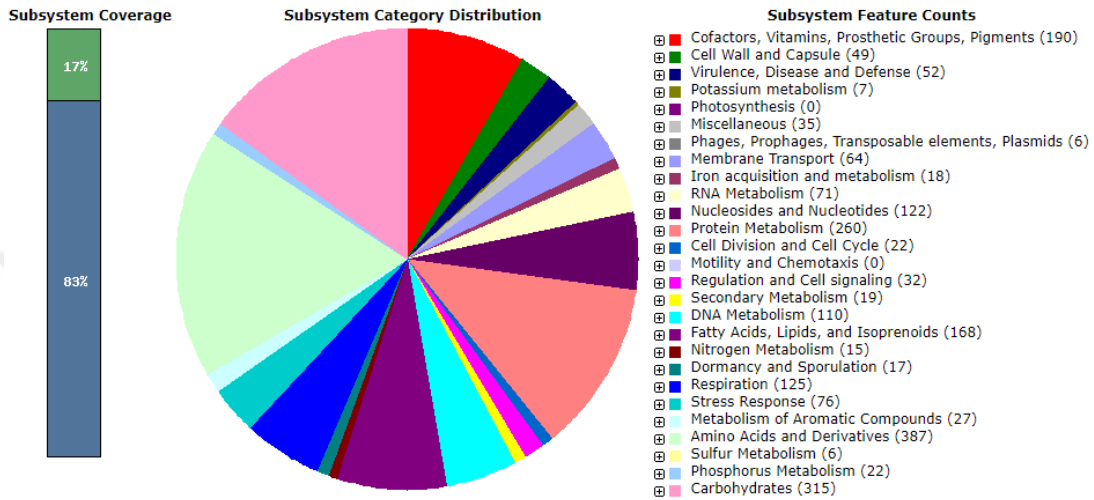
Şekil 4.52. *Streptomyces* sp. H39-C1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

H39-S7 izolatının genom anotasyonunda, %17'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %83'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 146, genom uzunluğunun 9,545,662 bp, GC oranının % 70.8 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 111.259 bp ve 26 olduğu; kodlama yapan 9136 dizinin, 93 RNA'nın, 339 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2354 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.53. *Streptomyces* sp. H39-S7 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

PH10-H1 izolatının genom anotasyonunda, %17'si belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş, %83'ü ise belirli bir fonksiyonel gruba dahil edilememiştir. Kontiglerin sayısının 237, genom uzunluğunun 8,547,335 bp, GC oranının % 70.1 ve N₅₀ ile L₅₀ değerlerinin sırasıyla 71.524 bp ve 37 olduğu; kodlama yapan 8749 dizinin, 72 RNA'nın, 326 fonksiyonel gruba dahil mekanizmanın ve tanımlanabilen fonksiyonel 2215 gen grubunun olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.54. *Streptomyces* sp. PH10-H1 suşunun RAST sunucusunda genom anotasyonu.

İnvazyon ve intrasellüler direnç açısından RAST sunucusunda analiz gerçekleştirildiğinde, tüm *Streptomyces* üyelerinin protein sentezinde (16S ve 23S) yer alan *Mycobacterium* virülans operonu, DNA transkripsiyonunda yer alan *Mycobacterium* virülans operonu ve muhtemelen kinolinat biyosentezinde yer alan *Mycobacterium* virülans operonuna sahip oldukları görülmüştür. Sekonder metabolit açısından RAST sunucusunda belirli işlev grubu ile ilişkili gruplar içine dahil edilmiş mekanizmalara göre, *Streptomyces* spp. G-G2, H27-C3, H27-D2, H27-G5, H27-H1, H27-H5, H27-S2, H27-AA3 ve H34-S5 izolatlarında lantiyonin sentetaz ve oksin biyosentezinde rol oynayan mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlardan *Streptomyces* spp. H27-D2, H27-G5 ve H27-H5 izolatlarında ayrıca tiyazol-oksazol-modifiye mikrosin (TOMM) sentezinde görevli mekanizmalar bulunmaktadır. Tüm genoma bağlı filogenetik ağaca göre aynı grupta bulunan *Streptomyces* spp. H10-C2, H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1 izolatlarında sadece lantiyonin sentezi ve TOMM sentezinde görevli mekanizmalar bulunmaktadır. Ayrıca H34-S4 izolatında sadece oksin biyosentezinde rol oynayan mekanizma bulunmaktadır. *Streptomyces*

üyelerinin antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç analizleri Tablo 4.45 ve Tablo 4.46'da gösterildiği gibidir.

Tablo 4.45. *Streptomyces* izolatlarında belirli fonksiyonel gruplar içine dahil edilmiş bölgelerde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile ilgili mekanizmaların dağılımı

Direnç Mekanizması/ İzolatlar	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii	ix	x	xi	xii
G-G2	6	17	4	3	-	3	2	3	-	-	-	-
H10-C2	8	18	4	3	-	-	3	1	1	-	-	-
H27-C3	8	14	2	1	-	2	2	1	-	-	-	-
H27-D2	8	10	2	1	6	3	2	1	-	-	-	1
H27-G5	9	21	1	-	-	2	3	1	-	-	1	-
H27-H1	8	19	1	-	-	3	3	-	-	-	-	-
H27-H5	9	23	1	-	-	2	3	1	-	-	1	1
H27-S2	19	19	1	-	-	3	6	1	2	-	-	-
H27-AA3	11	20	1	-	-	2	6	2	2	-	-	-
H34-S4	16	15	1	-	-	2	2	1	-	1	-	-
H34-S5	11	19	1	-	-	2	6	3	2	-	-	-
H39-C1	16	23	2	2	6	2	2	1	1	-	-	-
H39-S7	10	22	4	4	4	2	3	1	1	-	-	-
PH10-H1	8	18	4	3	-	-	3	2	1	-	-	-

- *i. Bakır homeostazisi
ii. Kobalt-çinko-kadmiyum direnci
iii. Civa redüktaz
iv. Civa direnci operonu
v. Tetrasiklin direnci
vi. Bakır homeostazisi, bakır toleransı
vii. Florokinolonlara direnç
viii. Beta-laktamaz aktivitesi
ix. Krom bileşiklerine direnç
x. Safra hidrolizi
xi. Vankomisine direnç
xii. Aminoglikozit adenililtransferazlar

Tablo 4.46. *Streptomyces* izolatlarında belirli fonksiyonel kategoriye koyulamayan fonksiyonel bölgelerde antibiyotik ve toksik bileşiklere direnç ile ilgili mekanizmaların dağılımı

Direnç Mekanizması/ İzolatlar	G G2	H10 C2	H27 C3	H27 D2	H27 G5	H27 H1	H27 H5	H27 S2	H27 AA3	H34 S4	H34 S5	H39 C1	H39 S7	PH10 H1
Çoklu ilaç dirençliliği atım pompası	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tellür direnci	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tellürit direnci	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Etidyum bromür metil viologen direnci	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Arsenik direnci	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksitetrasiklin direnci	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bisiklomisın direnci	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Organik hidroperoksit direnci	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kloramfenikol direnci	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Varsayılan toksik katyon direnci	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Glioksalaz /bleomisin direnci	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
Fosmidomisin direnci	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Akriflavin direnci	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Polimiksin direnci	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Kadmiyum direnci	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Nisin direnci	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Tunikamisin direnci	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Daunorubisin/ doksorubisin direnci	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Teikoplanin direnci	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

Stres cevabı açısından incelendiğinde tüm *Streptomyces* izolatlarında ozmotik regülasyon ve kolin ile betain alımı ve betain sentezi ile ilgili mekanizmaları içeren ozmotik stres; glutatyon redox ve non-redox reaksiyonlarının, glutatyon biyosentezi ve gama-glutamil döngüsünü içeren oksidatif stres; selenat ve selenit alımıyla alakalı detoksifikasyon mekanizmaları, bakteriyel hemoglobin, sigmaB stres cevabı regülasyonu ve dimetilarjinin metabolizması gibi mekanizmalar gözlemlenmiştir. Ayrıca H27-H1 haricinde tüm organizmalarda periplazmik stres cevabı; H10-C2, H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1 haricinde tüm izolatlarda karbon açlığı stres mekanizmaları; H10-C2, H27-D2 ve PH10-H1 haricinde tüm izolatlarda da glutatyonilsperridin ve tripanotion ile ilgili stres mekanizmaları gözlemlenmiştir. Tüm genoma bağlı filogenetik ağaca göre aynı grupta bulunan *Streptomyces* spp. H27-S2, H27-AA3, H34-S5 izolatlarında ozmotik stres mekanizmalarından ayrıca ektoin biyosentezi ve düzenlenme modelleri görülmüştür. Oksidatif stres açısından H10-C2 izolatında fazladan rubreritrin ile ilgili mekanizma; H27-G5 ve H27-H5 izolatlarında fazladan reaktif oksijen türlerinden (ROS) koruma sistemleri bulunmaktadır. Ayrıca H10-C2, H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1 izolatlarında ek olarak soğuk şok CspA protein ailesi; H27-G5, H27-H1, H27-H5, H34-S4 ve H34-S5 izolatlarında evrensel stres protein ailesi bulunmaktadır. Aromatik bileşiklerin metabolizması ile ilgili analizler ise Tablo 4.47’de görüldüğü gibidir. Soğuğa adaptasyon mekanizmaları incelendiğinde tüm izolatlarda CSp ailesi soğuk şok proteini ve H27-C3 hariç tüm izolatlarda antifriz proteini tespit edilmiştir. bulunmuştur. H10-C2, H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1 izolatlarında stres cevabı olarak soğuk şok CspA protein ailesi bulunmuştur.

Tablo 4.47. *Streptomyces* izolatlarında aromatik bileşiklerin metabolizması ile ilgili mekanizmaların dağılımı.

Aromatik Bileşik Metabolizması/İzolatlar	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii	ix	x	xi
G-G2	1	1	6	2	-	-	4	-	16	1	-
H10-C2	1	1	1	-	-	-	8	-	14	2	-
H27-C3	-	2	-	-	1	8	5	16	11	3	4
H27-D2	1	1	-	-	-	5	2	9	10	-	4
H27-G5	1	1	-	-	-	-	2	-	15	-	-
H27-H1	1	-	9	-	1	4	5	-	17	2	-
H27-H5	-	1	-	-	-	-	1	-	16	-	-
H27-S2	1	1	-	-	-	-	3	-	13	1	-
H27-AA3	2	1	-	-	1	-	4	-	13	1	-
H34-S4	1	-	6	-	1	-	5	-	14	2	-
H34-S5	2	1	-	-	1	-	4	-	14	1	-
H39-C1	1	1	2	-	1	-	7	-	12	3	-
H39-S7	-	1	5	-	1	7	2	14	12	1	-
PH10-H1	1	1	1	-	-	-	8	-	14	2	-

- *i. Salisilat ester degradasyonu
ii. Kinik asit esteri degradasyonu
iii. Bifenil degradasyonu
iv Benzoat degradasyonu
v. p-hidroksibenzoat degradasyonu
vi. Beta-ketoadipat yolağının katekol dalı
vii. Salisilat ve gentisat katabolizması
viii. Beta-ketoadipat yolağının protokateşik asit dalı
ix. Aromatik bileşik degradasyonunun homojenleştirme yolağı
x. Gentisat degradasyonu
xi. Aromatik amin katabolizması

G-G2 izolatının biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin tespiti için yapılan analize göre, izolatta tRNA'ya bağımlı siklodipeptit sentaz (CDPS), NRPS'den bağımsız-IucA/IucC benzeri sideroforlar (NI-siderofor), melanin, ribozomal olmayan peptit sentetazlar, ribozomal olmayan peptit sentetaz benzeri moleküller, tip II poliketid sentaz, sınıf I ve sınıf III lantiopeptid, terpen, ladderane, arilpolien, butirolakton, furan, poliketid sentetaz benzeri moleküller ve α -polilizin gibi non-alfa poliaminoasit gen kümelerinin bulunduğu toplamda 29 biyosentetik gen kümesi bulunmaktadır. Bunlardan NI-siderofor gen kümesi desferoksamin B gen kümesi ile; melanin gen kümesi melanin pigmentiyle; terpen gen kümesi isorenieraten gen kümesiyle; sınıf I ve sınıf III lantiopeptid gen kümeleri sırasıyla sınıf IV lantipeptid/SfIA ve SapB gen kümesiyle %100 benzerlik göstermiştir. Bölge 3.4. ve 17.1 dışındaki diğer gen kümeleri ise yapısı bilinen herhangi bir bileşiğin gen kümesi ile benzerlik göstermemekte veya çok düşük benzerlik göstermektedir. Bu durum, Antarktika Horseshoe Adası'ndan izole ettiğimiz *Streptomyces* sp. G-G2 izolatının farklı biyoaktivite özelliklerine sahip yeni bileşikler üretebileceğini göstermektedir.

Streptomyces sp. H10-C2'nin genomunda krokagin, lineer azolin-içeren peptidler (LAP), ektoin, terpen ve butirolakton gibi farklı yapılarda sekonder metabolit üretiminden sorumlu 29 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir.

Tablo 4.48. *Streptomyces* sp. G-G2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	CDPS	BD-12	7%
Bölge 2.1	NI-siderophore	desferrioxamin B	100%
Bölge 3.1	melanin	melanin	100%
Bölge 3.2	melanin	melanin	28%
Bölge 3.3	NI-siderophore		
Bölge 3.4	NRPS-like,T2PKS	spore pigment	66%
Bölge 5.1	melanin	saframycin A/saframycin B	4%
Bölge 5.2	NRPS,transAT-PKS,T1PKS	kirromycin	88%
Bölge 7.1	lanthipeptide-class-i		
Bölge 14.1	NI-siderophore	schizokinen	25%
Bölge 15.1	terpene	isorenieratene	100%
Bölge 15.2	terpene	ebelactone	5%
Bölge 17.1	NRPS-like,NRPS,ladderane, arylpolyene	kitacinnamycin A/kitacinnamycin B/kitacinnamycin C/kitacinnamycin D/kitacinnamycin E/kitacinnamycin F	61%
Bölge 19.1	butyrolactone	griseoviridin/fijimycin A	5%
Bölge 20.1	terpene	hopene	61%
Bölge 22.1	butyrolactone,furan,PKS-like,phenazine	lomofungin	43%
Bölge 24.1	NRPS-like		
Bölge 25.1	NRPS-like		
Bölge 28.1	resorcinol	A-503083 A/A-503083 B/A-503083 E/A-503083 F	5%
Bölge 29.1	lanthipeptide-class-ii,NRPS		
Bölge 30.1	terpene	toxoflavin/ferrenulin	14%
Bölge 35.1	lanthipeptide-class-iv	class IV lanthipeptide/SflA	100%
Bölge 43.1	arylpolyene,NRPS	SF2575	13%
Bölge 44.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 45.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 48.1	lanthipeptide-class-iii,terpene	SapB	100%
Bölge 52.1	terpene	bombyxamycin A/bombyxamycin B	3%
Bölge 52.2	terpene		
Bölge 78.1	butyrolactone	lactonamycin	10%

Tablo 4.49. *Streptomyces* sp. H10-C2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	melanin	istamycin	5%
Bölge 3.1	other	A-503083 A/A-503083 B/A-503083 E/A-503083 F	3%
Bölge 4.1	CDPS		
Bölge 6.1	NRPS,NRP-metallophore,NRPS-like,crocagin	phthoxazolin	4%
Bölge 6.2	NRPS-like	diisonitrile antibiotic SF2768	61%
Bölge 9.1	terpene	geosmin	100%
Bölge 9.2	T1PKS,T2PKS,LAP	xantholipin	48%
Bölge 14.1	melanin	melanin	28%
Bölge 15.1	NI-siderophore	synechobactin C9/synechobactin C11/synechobactin 13/synechobactin 14/synechobactin 16/synechobactin A/synechobactin B/synechobactin C	9%
Bölge 17.1	NRPS-like,NRPS	antipain	100%
Bölge 19.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 20.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 22.1	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 22.2	CDPS	tylactone	6%
Bölge 26.1	T3PKS	fredericamycin A	6%
Bölge 29.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 30.1	T1PKS	microansamycin	44%
Bölge 32.1	terpene	hopene	69%
Bölge 33.1	terpene	pristinol	100%
Bölge 35.1	NI-siderophore	peucechelin	25%
Bölge 37.1	terpene		
Bölge 48.1	T2PKS,lanthipeptide-class-iv	spore pigment	83%
Bölge 52.1	NRPS,arylpolyyene,ladderane	coprisamide C/coprisamide D	65%
Bölge 65.1	RRE-containing		
Bölge 73.1	terpene	legonindolizidine A6	12%
Bölge 75.1	NRPS-like,butyrolactone	microansamycin	37%
Bölge 82.1	lanthipeptide-class-iii	SapB	100%
Bölge 88.1	lanthipeptide-class-i		
Bölge 109.1	T1PKS	trichostatin RK	20%

Tablo 4.50. *Streptomyces* sp. H27-D2 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 2.1	NI-siderophore	desferrioxamine E	100%
Bölge 2.2	butyrolactone	neocarzinostatin	4%
Bölge 5.1	melanin	melanin	28%
Bölge 5.2	PKS-like	bonnevillamide D/bonnevillamide E	10%
Bölge 9.1	NI-siderophore	schizokinen	25%
Bölge 13.1	T1PKS	BD-12	17%
Bölge 14.1	NRPS,T3PKS	corbomycin	66%
Bölge 23.1	NRP-metallophore,NRPS	griseobactin	53%
Bölge 32.1	NRPS	cinnapeptin	28%
Bölge 33.1	terpene	tetronasin	9%
Bölge 34.1	PKS-like,T2PKS,LAP,betalactone	trioxacarcin A	37%
Bölge 38.1	furan		
Bölge 51.1	terpene	pristinol	100%
Bölge 53.1	hglE-KS	dutomycin	4%
Bölge 54.1	other	A-503083 A/A-503083 B/A-503083 E/A-503083 F	7%
Bölge 58.1	NRPS	versipelostatin	5%
Bölge 63.1	terpene	hopene	61%
Bölge 70.1	NRPS,indole	teleocidin B1	100%
Bölge 72.1	lanthipeptide-class-iii	SapB	100%
Bölge 78.1	terpene		
Bölge 79.1	hglE-KS	divergolide A/divergolide B/divergolide C/divergolide D	6%
Bölge 81.1	phenazine,melanin	diastaphenazine/izumiphenazine C	45%
Bölge 82.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 83.1	NRPS,NRPS-like	WAP-8294A2	30%
Bölge 87.1	RiPP-like		
Bölge 89.1	NRPS	feglymycin	36%
Bölge 90.1	aminopolycarboxylic-acid	EDHA	88%
Bölge 104.1	T3PKS	naringenin	100%
Bölge 105.1	NRPS-like	holomycin	69%
Bölge 108.1	LAP,thiopeptide	griselimycin	15%
Bölge 113.1	NRPS,NRPS-like	antipain	100%
Bölge 131.1	butyrolactone		
Bölge 136.1	NRPS	ishigamide	27%
Bölge 157.1	NI-siderophore	peucechelin	10%
Bölge 165.1	NI-siderophore	peucechelin	15%
Bölge 178.1	NRPS		
Bölge 199.1	T1PKS		
Bölge 209.1	NRPS		
Bölge 210.1	hglE-KS	hexacosalactone A	4%

Streptomyces sp. H27-D2 izolatının AntiSMASH biyosentetik gen analizinde siderofor, metalofor, butirolakton, melanin, poliketid sentaz, poliketid sentaz benzeri moleküller, lineer azolin içeren peptidler (LAP), non-ribozomal peptit sentetazlar, non-ribozomal peptit sentetaz benzeri moleküller, lantiopeptid, terpen, betalakton, furan, indol, fenazin, ektoin, aminopolikarboksilik asit, tiyopeptid ve butirolakton gibi geniş çeşitlilikte gen kümelerinin bulunduğu toplamda 39 biyosentetik gen kümesi bulunmaktadır. Bunlardan siderofor gen kümesi desferrioksamin E gen kümesine, terpen gen kümesi pristinol gen kümesine, non-ribozomal peptit gen kümeleri teleosidin B1 ve antipain gen kümelerine, lantiopeptid gen kümesi SapB gen kümesine, ektoin gen kümesi ektoin gen kümesine ve tip III poliketid sentaz gen kümesi naringenin gen kümesine %100 benzerlik göstermiştir. Bunlardan başka non-ribozomal peptit gen kümeleri korbomisin ve holomisin gen kümelerine sırasıyla %66 ve %69, metalofor biyosentetik gen kümesi griseobaktin gen kümesine %53 ve aminopolikarboksilik asit gen kümesi EDHA gen kümesine %88 benzerlik göstermektedir. Diğer gen kümeleri ise yapısı bilinen herhangi bir bileşiğin gen kümesi ile benzerlik göstermemekte veya çok düşük benzerlik göstermektedir.

Tablo 4.51. *Streptomyces* sp. PH10-H1 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	CDPS		
Bölge 2.1	melanin	istamycin	5%
Bölge 5.1	NRPS-like	diisonitrile antibiotic SF2768	61%
Bölge 8.1	other	A-503083 A/A-503083 B/A-503083 E/A-503083 F	3%
Bölge 9.1	NI-siderophore	synechobactin C9/synechobactin C11/synechobactin 13/synechobactin 14/synechobactin 16/synechobactin A/synechobactin B/synechobactin C	9%
Bölge 11.1	LAP,T1PKS	4-hexadecanoyl-3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2H-furan-5-one	54%
Bölge 11.2	terpene	geosmin	100%
Bölge 20.1	T3PKS	fredericamycin A	6%
Bölge 23.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 27.1	NAPAA	ϵ -Poly-L-lysine	100%
Bölge 28.1	NRPS-like,NRPS	antipain	100%
Bölge 34.1	terpene		
Bölge 37.1	RRE-containing		
Bölge 37.2	terpene	pristinol	100%
Bölge 41.1	CDPS		
Bölge 41.2	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 44.1	NI-siderophore	peucechelin	25%
Bölge 47.1	NRPS,NRP-metallophore,NRPS-like,crocagin	phthoxazolin	4%
Bölge 53.1	T2PKS,lanthipeptide-class-iv	spore pigment	83%
Bölge 59.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 72.1	terpene	hopene	69%
Bölge 77.1	melanin	melanin	28%
Bölge 88.1	arylpyrene,NRPS,ladderane	youssofene A1/youssofene B1/youssofene B2/youssofene B3/youssofene B4	64%
Bölge 95.1	NRPS-like,butyrolactone	microansamycin	37%
Bölge 101.1	T1PKS	microansamycin	44%
Bölge 105.1	NRPS	coprisamide C/coprisamide D	17%
Bölge 106.1	T2PKS	griseorhodin A	54%
Bölge 111.1	lanthipeptide-class-iii	SapB	100%
Bölge 119.1	lanthipeptide-class-i		
Bölge 129.1	terpene	legonindolizidine A6	12%
Bölge 143.1	T1PKS	trichostatin RK	20%
Bölge 150.1	NRPS	actinomycin D	7%

Streptomyces sp. PH10-H1 genomunda tespit edilen 32 biyosentetik gen kümesinden geosmin, ϵ -poli-L-lizin antipain, pristinol, alkilrezorsinol, ektoin ve SapB gen kümelerine %100 benzerlik görülürken, diisonitril antibiyotik SF2768 gen kümesine %61, 4-heksadekanoil-3-hidroksi-2-(hidroksimetil)-2H-furan-5-on gen kümesine %54, spor pigmentiyle ilişkili gen kümesine %83, hopen gen kümesine %69, youssoufene A1/youssoufene B1/youssoufene B2/youssoufene B3/youssoufene B4 gen kümesine %64 ve griseorhodin A gen kümesine %54 benzerlik görülmüştür. Diğer biyosentetik gen kümelerinin bir kısmının bilinen gen kümelerine benzerliği düşükken, kalanlarının bilinen biyoaktif gen kümelerine benzerliği görülmemiştir.

Streptomyces sp. H27-G5 izolatının poliketid, RiPP, siderofor, non-ribozomal peptid, terpen gibi farklı metabolit sınıflarına ait biyoaktif sekonder metabolit sentezinden sorumlu 33 adet gen kümesinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu gen kümelerinden birkaçı koelikelin, alkilrezorsinol, ektoin, SapB, melanin ve avermitilol gen kümeleri ile %100 benzerlik gösterirken, büyük çoğunluğu bilinen metabolitlerle düşük benzerliğe sahip veya benzerlik göstermeyen yeni metabolitleri kodlayan gen kümelerini temsil etmektedir. *Streptomyces sp.* H27-H5 izolatı da benzer bir profile sahip olmakla birlikte, toplam 42 biyosentetik gen kümesi kodladığı tespit edilmiştir. AntiSMASH analizi sonuçları, *Streptomyces sp.* H27-G5 ve H27-H5 izolatlarının çeşitli biyoaktif özellikler gösterebilen yeni metabolitler için iyi birer kaynak olabileceğini göstermektedir.

Tablo 4.52. *Streptomyces* sp. H27-G5'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 4.1	CDPS	BD-12	10%
Bölge 5.1	T2PKS,thiopeptide,LAP	kinamycin	48%
Bölge 5.2	terpene,PKS-like	colabomycin E	4%
Bölge 13.1	T2PKS,NAPAA	spore pigment	66%
Bölge 16.1	NRPS-like,NRPS,T1PKS	bleomycin	6%
Bölge 23.1	RiPP-like		
Bölge 24.1	hglE-KS,T1PKS	a201a	8%
Bölge 27.1	NAPAA	formicamycins A-M	6%
Bölge 29.1	terpene	toxoflavin / fervenulin	14%
Bölge 29.2	lanthipeptide-class-i,lassopeptide	citrulassin B	40%
Bölge 31.1	terpene		
Bölge 33.1	NRPS,NRPS-like,arylpolyyene,ladderane	atratumycin	68%
Bölge 36.1	LAP		
Bölge 38.1	siderophore	ficellomycin	3%
Bölge 39.1	RiPP-like		
Bölge 40.1	butyrolactone	prejadomycin / rabelomycin / gaudimycin C / gaudimycin D / UWM6 / gaudimycin A	12%
Bölge 41.1	NRPS-like		
Bölge 44.1	butyrolactone	lactonamycin	10%
Bölge 46.1	NRPS	coelichelin	100%
Bölge 48.1	siderophore		
Bölge 58.1	T3PKS,thiopeptide,LAP	alkylresorcinol	100%
Bölge 61.1	other	A-503083 A / A-503083 B / A-503083 E / A-503083 F	5%
Bölge 67.1	T1PKS,NRPS-like		
Bölge 79.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 81.1	lanthipeptide-class-iii	SapB	100%
Bölge 82.1	T1PKS	tirandamycin	26%
Bölge 85.1	terpene	hopene	61%
Bölge 86.1	melanin	melanin	100%
Bölge 87.1	NRPS,NRPS-like,butyrolactone	deimino-antipain	66%
Bölge 92.1	melanin	melanin	28%
Bölge 130.1	terpene	avermilol	100%
Bölge 137.1	nucleoside		
Bölge 191.1	NRPS-like	echoside A / echoside B / echoside C / echoside D / echoside E	17%

Tablo 4.53. *Streptomyces* sp. H27-H5'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	T2PKS	spore pigment	66%
Bölge 1.2	terpene		
Bölge 2.1	terpene	toxoflavin / fervenulin	14%
Bölge 5.1	NRPS	coelichelin	100%
Bölge 8.1	RiPP-like		
Bölge 11.1	terpene,lanthipeptide-class-iv	venezuelin	100%
Bölge 11.2	RiPP-like		
Bölge 15.1	T1PKS	coelimycin P1	62%
Bölge 15.2	LAP		
Bölge 16.1	other	A-503083 A / A-503083 B / A-503083 E / A-503083 F	5%
Bölge 27.1	transAT-PKS,T1PKS	prejadomycin / rabelomycin / gaudimycin C / gaudimycin D / UWM6 / gaudimycin A	4%
Bölge 31.1	NAPAA		
Bölge 32.1	NRPS,T1PKS,NRPS-like	bleomycin	6%
Bölge 33.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 33.2	lanthipeptide-class-iii	SapB	100%
Bölge 38.1	hglE-KS,T1PKS	a201a	8%
Bölge 39.1	thiopeptide,LAP	lactazole	55%
Bölge 40.1	siderophore	salinomycin	4%
Bölge 46.1	siderophore	ficellomycin	3%
Bölge 47.1	terpene	hopene	61%
Bölge 50.1	CDPS	BD-12	10%
Bölge 51.1	NAPAA	stenothricin	9%
Bölge 56.1	melanin	melanin	100%
Bölge 57.1	T1PKS	natamycin	31%
Bölge 60.1	PKS-like,NRPS,butyrolactone,NRPS-like	deimino-antipain	66%
Bölge 67.1	T3PKS,thiopeptide,LAP	alkylresorcinol	100%
Bölge 69.1	NRPS-like		
Bölge 70.1	terpene		
Bölge 74.1	T1PKS,NRPS-like	istamycin	2%
Bölge 77.1	NRPS-like	echoside A / echoside B / echoside C / echoside D / echoside E	17%
Bölge 88.1	lassopeptide		
Bölge 117.1	melanin	melanin	28%
Bölge 121.1	butyrolactone	prejadomycin / rabelomycin / gaudimycin C / gaudimycin D / UWM6 / gaudimycin A	10%
Bölge 122.1	T2PKS	kinamycin	42%
Bölge 127.1	nucleoside		
Bölge 128.1	NRPS	RP-1776	12%
Bölge 131.1	butyrolactone	lactonamycin	10%
Bölge 158.1	NRPS-like	WS9326	27%
Bölge 173.1	ladderane,arylpoliyene	atratumycin	21%
Bölge 176.1	NRPS		
Bölge 177.1	NRPS		
Bölge 209.1	NRPS		

Tablo 4.54. *Streptomyces* sp. H27-H1'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 3.1	hglE-KS,T1PKS	rabelomycin / dehydrorabelomycin / fluostatin F / fluostatin G / fluostatin H	4%
Bölge 3.2	T2PKS	spore pigment	66%
Bölge 5.1	other	furaquinocin B	8%
Bölge 6.1	T1PKS,NAPAA	kosinostatin	3%
Bölge 12.1	CDPS		
Bölge 13.1	T3PKS,terpene	furaquinocin B	30%
Bölge 14.1	NRPS,NRPS-like	rustmicin	10%
Bölge 14.2	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 17.1	RiPP-like		
Bölge 17.2	terpene	geosmin	100%
Bölge 18.1	thiopeptide,thioamitides	a201a	5%
Bölge 20.1	terpene	rifamycin	4%
Bölge 20.2	ectoine	ectoine	100%
Bölge 20.3	terpene	azomycin	83%
Bölge 24.1	NRPS-like	zorbamycin	8%
Bölge 25.1	lassopeptide		
Bölge 27.1	NRPS	coelichelin	100%
Bölge 30.1	siderophore	salinomycin	4%
Bölge 32.1	lanthipeptide-class-iii	SapB	100%
Bölge 35.1	melanin	istamycin	4%
Bölge 38.1	terpene	hopene	61%
Bölge 41.1	siderophore	ficellomycin	3%
Bölge 44.1	lassopeptide		
Bölge 47.1	NRPS-like,betalactone,NRPS	feglymycin	31%
Bölge 75.1	lanthipeptide-class-i		

Streptomyces sp. H27-H1 izolatu, poliketid, terpen, non-ribozomal peptid, siderofor, ektoin ve RiPP gibi farklı metabolit sınıflarına ait 25 biyosentetik gen kümesine sahiptir. Bu gen kümelerinden 5'i alkilrezorsinol, geosmin, ektoin, koelikelin ve SapB metabolitlerini kodlayan gen kümeleri ile %100 benzerlik gösterirken diğer gen kümeleri veritabanı ile genel olarak çok düşük benzerlik düzeyine sahiptir. Bazı gen kümeleri ise yapısı bilinen metabolitlerden herhangi birine benzerlik göstermemektedir.

Streptomyces sp. H34-S4'ün genomunda non-ribozomal peptid, RiPP, terpen, poliketid, ektoin ve siderofor gibi farklı yapılarda sekonder metabolit üretiminden sorumlu 26 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir.

Tablo 4.55. *Streptomyces* sp. H34-S4'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 2.1	NRPS-like	zorbamycin	8%
Bölge 3.1	CDPS		
Bölge 6.1	RiPP-like		
Bölge 6.2	terpene	geosmin	100%
Bölge 10.1	butyrolactone		
Bölge 13.1	terpene	azomycin	83%
Bölge 15.1	T2PKS,butyrolactone,hgLE-KS,PKS-like	SF2575	21%
Bölge 16.1	NRPS-like	indigoidine	17%
Bölge 18.1	terpene	hopene	61%
Bölge 24.1	NRPS	coelichelin	100%
Bölge 25.1	thiopeptide,thioamitides	tylactone	6%
Bölge 33.1	CDPS	streptovaricin	9%
Bölge 35.1	T1PKS,NAPAA	oxalomycin B	6%
Bölge 40.1	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 48.1	T1PKS,butyrolactone	neocarzinostatin	45%
Bölge 53.1	arylpoliyene	streptonigrin	9%
Bölge 68.1	terpene		
Bölge 68.2	ectoine	ectoine	100%
Bölge 71.1	lassopeptide		
Bölge 74.1	butyrolactone	lactonamycin	3%
Bölge 75.1	siderophore		
Bölge 81.1	melanin	melanin	28%
Bölge 81.2	melanin	melanin	100%
Bölge 91.1	siderophore	ficellomycin	5%
Bölge 92.1	NRPS,NRPS-like	maduropeptin	13%
Bölge 137.1	RRE-containing		

Streptomyces sp. H27-S2 izolatının genomunda 32 biyoaktif sekonder metabolit gen kümesi tespit edilmiş olup bunlardan 4'ü melanin, alkilrezorsinol, izorenieraten ve JBIR-126 biyosentetik gen kümeleri ile %100 benzerlik göstermektedir.

Tablo 4.56. *Streptomyces* sp. H27-S2'nin antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	T2PKS	gilvocarcin V	81%
Bölge 1.2	CDPS	BD-12	10%
Bölge 3.1	NRPS-like,NRPS,lanthipeptide-class-iii	JBIR-126	100%
Bölge 4.1	melanin	melanin	100%
Bölge 4.2	siderophore,NRPS-like,T1PKS	mihamycin A / mihamycin B	92%
Bölge 4.3	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 4.4	butyrolactone		
Bölge 5.1	NRPS	salinichelins	69%
Bölge 5.2	indole	5-isoprenylindole-3-carboxylate β -D-glycosyl ester	23%
Bölge 5.3	NAPAA	yatakemycin	6%
Bölge 6.1	RiPP-like		
Bölge 6.2	terpene	toxoflavin / fervenulin	14%
Bölge 6.3	T1PKS	4-Z-annimycin	77%
Bölge 7.1	NRPS-like,NRPS	netropsin	72%
Bölge 7.2	NRPS,NRPS-like,NAPAA	deimino-antipain	66%
Bölge 7.3	amglyccycl,terpene	streptomycin	55%
Bölge 8.1	terpene	hopene	61%
Bölge 10.1	butyrolactone	griseoviridin / fijimycin A	8%
Bölge 14.1	T1PKS,hglE-KS	cosmomycin C	7%
Bölge 14.2	CDPS	mycotrienin I	7%
Bölge 20.1	other,arylpolyene	streptonigrin	7%
Bölge 20.2	T1PKS,butyrolactone	neocarzinostatin	54%
Bölge 21.1	terpene	isorenieratene	100%
Bölge 22.1	terpene		
Bölge 23.1	siderophore		
Bölge 25.1	NRPS-like	chejuenolide A / chejuenolide B	7%
Bölge 32.1	hglE-KS,T1PKS	nataxazole	7%
Bölge 35.1	NRPS	RP-1776	8%
Bölge 40.1	terpene	saframycin A / saframycin B	4%
Bölge 40.2	ectoine	kosinostatin	9%
Bölge 54.1	T2PKS	spore pigment	66%
Bölge 74.1	butyrolactone		

Streptomyces sp. H34-AA3'ün sekonder metabolit kodlayan gen kümelerinin sayısı 28 olup kodladığı gen kümelerinin tipi ve bilinen metabolitlere benzerlik oranı açısından, filogenetik ağaçta yakın olarak yer aldığı *Streptomyces* sp. H27-S2 izolatu ile benzerlik göstermektedir. *Streptomyces* sp. H34-S5 izolatu da 34 biyoaktif sekonder metabolit gen kümesi kodlamaktadır.

Tablo 4.57. *Streptomyces* sp. H34-AA3'ün antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	NRPS,RiPP-like	salinichelins	69%
Bölge 1.2	indole	5-isoprenylindole-3-carboxylate β-D-glycosyl ester	23%
Bölge 1.3	NAPAA	yatakemycin	6%
Bölge 3.1	terpene	hopene	61%
Bölge 3.2	ectoine	ectoine	100%
Bölge 5.1	NRPS-like	chejuenolide A / chejuenolide B	7%
Bölge 5.2	RiPP-like		
Bölge 5.3	terpene	toxoflavin / fervenulin	14%
Bölge 6.1	siderophore,NRPS-like,T1PKS	mihamycin A / mihamycin B	92%
Bölge 6.2	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 7.1	CDPS	BD-12	10%
Bölge 8.1	NRPS,T1PKS,PKS-like	maklamicin	10%
Bölge 10.1	lanthipeptide-class-iii,NRPS,NRPS-like	JBIR-126	100%
Bölge 18.1	T1PKS,butyrolactone	neocarzinostatin	54%
Bölge 18.2	arylpoliene,other	streptonigrin	7%
Bölge 20.1	terpene		
Bölge 25.1	T2PKS	spore pigment	66%
Bölge 28.1	NRPS-like,NRPS	netropsin	72%
Bölge 29.1	siderophore	ficellomycin	3%
Bölge 30.1	NRPS	RP-1776	8%
Bölge 43.1	terpene,amglyccycl	streptomycin	55%
Bölge 47.1	NAPAA,NRPS-like,NRPS	deimino-antipain	66%
Bölge 49.1	butyrolactone	griseoviridin / fijimycin A	8%
Bölge 52.1	terpene	isorenieratene	100%
Bölge 79.1	melanin	istamycin	4%
Bölge 80.1	terpene	saframycin A / saframycin B	6%
Bölge 96.1	ectoine	kosinostatin	9%
Bölge 127.1	butyrolactone	lactonamycin	3%

Streptomyces sp. H34-S5 izolatının genomunda non-ribozomal peptid, terpen, poliketid, ektoin, melanin, siderofor gibi farklı metabolit sınıflarına ait biyoaktif sekonder metabolit kodlayan 34 biyosentetik gen kümesi bulunduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.58. *Streptomyces* sp. H34-S5'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 3.1	NRPS,RiPP-like		
Bölge 4.1	terpene	isorenieratene	100%
Bölge 7.1	NRPS-like,NRPS,lanthipeptide-class-iii	JBIR-126	100%
Bölge 14.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 20.1	NRPS-like	chejuenolide A / chejuenolide B	7%
Bölge 21.1	other,arylpolylene	streptonigrin	7%
Bölge 21.2	T1PKS	neocarzinostatin	45%
Bölge 23.1	butyrolactone	griseoviridin / fijimycin A	8%
Bölge 27.1	terpene,amglyccycl	streptomycin	55%
Bölge 30.1	siderophore	ficellomycin	3%
Bölge 31.1	terpene	hopene	61%
Bölge 33.1	NRPS,NRPS-like,NAPAA	deimino-antipain	66%
Bölge 35.1	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 45.1	NRPS	leinamycin	4%
Bölge 52.1	NRPS	7-deoxypactamycin	13%
Bölge 55.1	terpene		
Bölge 62.1	NRPS-like,T1PKS,siderophore	mihamycin A / mihamycin B	88%
Bölge 65.1	T2PKS	spore pigment	66%
Bölge 72.1	CDPS	BD-12	10%
Bölge 74.1	NRPS,PKS-like,T1PKS	maklamicin	10%
Bölge 80.1	indole	5-isoprenylindole-3-carboxylate β-D-glycosyl ester	23%
Bölge 86.1	terpene	saframycin A / saframycin B	6%
Bölge 91.1	NRPS,NRPS-like	lipopeptide 8D1-1 / lipopeptide 8D1-2	4%
Bölge 95.1	NRPS-like,NRPS	netropsin	50%
Bölge 102.1	NRPS	salinichelins	30%
Bölge 112.1	melanin	melanin	100%
Bölge 115.1	RiPP-like		
Bölge 122.1	butyrolactone	neocarzinostatin	4%
Bölge 131.1	NRPS		
Bölge 135.1	terpene	toxoflavin / fervenulin	14%
Bölge 141.1	NRPS-like	netropsin	9%
Bölge 152.1	ectoine	kosinostatin	9%
Bölge 156.1	NRPS	enduracidin	8%
Bölge 231.1	butyrolactone		

Streptomyces sp. H39-C1 izolatının genomunda RiPP, non-ribozomal peptid, siderofor, poliketid, terpen gibi çeşitli yapılarda sekonder metabolit kodlayan 40 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir.

Tablo 4.59. *Streptomyces* sp. H39-C1'in antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	melanin	istamycin	4%
Bölge 2.1	lassopeptide	clavulanic acid	8%
Bölge 2.2	T3PKS,CDPS	alkylresorcinol	100%
Bölge 4.1	siderophore	ficellomycin	3%
Bölge 6.1	T1PKS,butyrolactone	4-hexadecanoyl-3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2H-furan-5-one	54%
Bölge 8.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 9.1	siderophore	vibrioferin	18%
Bölge 10.1	other	A-503083 A / A-503083 B / A-503083 E / A-503083 F	3%
Bölge 12.1	melanin	melanin	28%
Bölge 15.1	redox-cofactor	lankacidin C	20%
Bölge 17.1	NRPS	diisonitrile antibiotic SF2768	55%
Bölge 19.1	terpene,lanthipeptide-class-iv	geosmin	100%
Bölge 21.1	T2PKS,LAP,T1PKS	lysolipin I	65%
Bölge 22.1	RiPP-like		
Bölge 22.2	terpene	2-methylisoborneol	75%
Bölge 25.1	lanthipeptide-class-i	kanamycin	1%
Bölge 27.1	NRPS-like	stenothricin	18%
Bölge 28.1	lanthipeptide-class-iii	polyoxin A / polyoxin H	5%
Bölge 38.1	T3PKS	A-47934	23%
Bölge 42.1	other	actinomycin D	71%
Bölge 45.1	lanthipeptide-class-i		
Bölge 49.1	terpene	hopene	76%
Bölge 67.1	T2PKS	spore pigment	83%
Bölge 72.1	RiPP-like		
Bölge 76.1	NRPS		
Bölge 80.1	NRPS	qinichelins	22%
Bölge 82.1	NRPS	actinomycin D	28%
Bölge 93.1	lanthipeptide-class-iii	SAL-2242	100%
Bölge 98.1	NRPS-like,NRPS	deimino-antipain	66%
Bölge 100.1	LAP	dutomycin	4%
Bölge 107.1	lanthipeptide-class-i		
Bölge 109.1	butyrolactone		
Bölge 111.1	T1PKS,NRPS-like	hitachimycin	22%
Bölge 135.1	terpene	pristinol	100%
Bölge 138.1	T1PKS,NRPS	auroramycin	7%
Bölge 155.1	T1PKS	sceliphrolactam	24%
Bölge 158.1	lassopeptide	anantin C	50%
Bölge 172.1	NRPS		
Bölge 185.1	RiPP-like	microansamycin	7%
Bölge 273.1	NRPS-like		

Streptomyces sp. H39-S7'nin genomunda sekonder metabolit üretiminden sorumlu 32 farklı gen kümesi tespit edilmiştir.

Tablo 4.60. *Streptomyces* sp. H39-S7'nin antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyosentetik gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	melanin	istamycin	5%
Bölge 1.2	lanthipeptide-class-i	kanamycin	5%
Bölge 5.1	terpene	hopene	76%
Bölge 6.1	siderophore	ficellomycin	3%
Bölge 7.1	T1PKS,LAP	maduropeptin	3%
Bölge 7.2	NRPS	diisonitrile antibiotic SF2768	61%
Bölge 7.3	T1PKS,LAP	4-hexadecanoyl-3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2H-furan-5-one	36%
Bölge 8.1	T3PKS	alkylresorcinol	100%
Bölge 10.1	lanthipeptide-class-i	chejuenolide A / chejuenolide B	7%
Bölge 16.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 17.1	siderophore	vibrioferrin	18%
Bölge 18.1	other	A-503083 A / A-503083 B / A-503083 E / A-503083 F	3%
Bölge 20.1	RiPP-like,T1PKS,NRPS-like,butyrolactone	microansamycin	75%
Bölge 21.1	melanin	melanin	28%
Bölge 24.1	RiPP-like		
Bölge 27.1	lanthipeptide-class-iii	AmfS	80%
Bölge 30.1	terpene	pristinol	100%
Bölge 31.1	terpene	geosmin	100%
Bölge 31.2	NRPS	bacillibactin	15%
Bölge 32.1	NRPS,aminocoumarin,arylpolyene,ladderane	atratumycin	44%
Bölge 33.1	T1PKS,NRPS-like,butyrolactone	chlorothricin / deschlorothricin	23%
Bölge 36.1	lanthipeptide-class-i		
Bölge 38.1	lanthipeptide-class-i,NAPAA,T2PKS	spore pigment	83%
Bölge 45.1	NRPS,NRPS-like	deimino-antipain	66%
Bölge 50.1	NAPAA,thiopeptide,LAP		
Bölge 51.1	terpene	isorenieratene	75%
Bölge 52.1	T3PKS	germicidin	100%
Bölge 55.1	RiPP-like		
Bölge 60.1	terpene	2-methylisoborneol	75%
Bölge 65.1	NRPS	phoslactomycin B	7%
Bölge 67.1	T1PKS,NRPS	vicenistatin	35%
Bölge 89.1	T2PKS	griseorhodin A	51%

Tablo 4.61. *Streptomyces* sp. H27-C3 izolatının antiSMASH sunucusunda tespit edilen biyoaktif sekonder metabolit kodlayan gen kümeleri

Gen küme no	Tipi	Benzerlik gösterdiği metabolit	Benzerlik oranı
Bölge 1.1	terpene,T1PKS	pentamycin	60%
Bölge 1.2	melanin	melanin	100%
Bölge 1.3	transAT-PKS,T3PKS,PKS-like,NRPS	kalimantacin A	17%
Bölge 4.1	NI-siderophore	speibonoxamine/desoxy-desferrioxamine D1/desferrioxamine D1/desferrioxamine B/didesoxy-desferrioxamine D1/desoxy-desferrioxamine B/didesoxy-desferrioxamine B	22%
Bölge 6.1	NRPS	rotihibin A	21%
Bölge 7.1	ectoine	ectoine	100%
Bölge 8.1	NRPS-like		
Bölge 8.2	T3PKS	naringenin	100%
Bölge 10.1	RiPP-like	detoxin S1	44%
Bölge 11.1	crocagin,other	mitomycin	63%
Bölge 11.2	terpene	isorenieratene	100%
Bölge 13.1	lanthipeptide-class-iii	SapB	100%
Bölge 18.1	melanin	melanin	28%
Bölge 18.2	T1PKS	neocarzilin A/neocarzilin B	100%
Bölge 20.1	NRP-metallophore,NRPS	coelichelin	100%
Bölge 23.1	T3PKS	naringenin	100%
Bölge 23.2	NI-siderophore	schizokinen	25%
Bölge 26.1	CDPS	glycinocin A	4%
Bölge 39.1	terpene	hopene	84%
Bölge 42.1	butyrolactone,lassopeptide	lagmysin	100%
Bölge 45.1	lanthipeptide-class-i		
Bölge 49.1	T2PKS	prejadomycin/ rabelomycin/gaudimycin C/gaudimycin D/UWM6/gaudimycin A	33%
Bölge 62.1	terpene	ECO-0501	4%
Bölge 63.1	NRPS,NRPS-like	GE81112	28%
Bölge 64.1	butyrolactone	lactonamycin	3%

Streptomyces sp. H27-C3'ün genomunda non-ribozomal peptid, ektoin, poliketid sentaz, terpen, lantiopeptid, butirolakton, lassopeptid, metalofor ve siderofor gibi farklı yapılarda sekonder metabolit üretiminden sorumlu 21 biyosentetik gen kümesi tespit edilmiştir.

Streptomyces sp. G-G2 izolatının genomunda total 7665 gen ve 390 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 31 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 39 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 31 bölge ve filogenetik olarak ilişkilendirilebilecek/yatay gen transferiyle aktarılmış olabilecek 186 bölge bulunmuştur. H10-C2 izolatının genomunda total 8491 gen ve 387 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 28 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 43 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 50 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 280 bölge bulunmuştur. H27-C3 izolatının genomunda total 7798 gen ve 389 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 26 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 40 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 30 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 177 bölge bulunmuştur. H27-D2 izolatının genomunda total 7023 gen ve 385 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 39 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 37 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 29 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 193 bölge bulunmuştur. H27-G5 izolatının genomunda toplam 8819 gen ve 384 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 33 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 44 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 33 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 184 bölge bulunmuştur. H27-H1 izolatının genomunda toplam 8700 gen ve 389 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 25 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 39 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 40 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 161 bölge bulunmuştur. H27-H5 izolatının genomunda toplam 9027 gen ve 384 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 42 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 42 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 31 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 202 bölge bulunmuştur. H27-S2 izolatının genomunda toplam 7897 gen ve 384 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 31 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 39 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 43 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış

olabilecek 254 bölge bulunmuştur. H34-AA3 izolatının genomunda toplam 8801 gen ve 378 primer metabolizmadan sorumlu gen, bilinen BGC'lere yakın konumlanan 28 bölge, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 44 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 48 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 210 bölge bulunmuştur. H34-S4 izolatının genomunda toplam 7714 gen ve 387 kor gen, bilinen 25 BGC modeli, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 39 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 34 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 173 bölge bulunmuştur. H34-S5 izolatının genomunda toplam 8801 gen ve 378 kor gen, bilinen 33 BGC modeli, bilinen antibiyotik direnci modellerinden 44 bölge, gen duplikasyonunun olduğu 46 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 252 bölge bulunmuştur. H39-C1 izolatının genomunda toplam 9952 gen ve 389 kor gen, bilinen 40 BGC modeli, bilinen 45 antibiyotik direnci modeli, gen duplikasyonunun olduğu 51 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 331 bölge bulunmuştur. H39-S7 izolatının genomunda toplam 8949 gen ve 394 kor gen, bilinen 33 BGC modeli, bilinen 48 antibiyotik direnci modeli, gen duplikasyonunun olduğu 45 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 282 bölge bulunmuştur. PH10-H1 izolatının genomunda ise toplam 8596 gen ve 389 kor gen, bilinen 31 BGC modeli, bilinen 43 antibiyotik direnci modeli, gen duplikasyonunun olduğu 44 bölge ve filogenetik olarak aktarılmış olabilecek 273 bölge bulunmuştur.

Antimikrobiyal direnç genleri açısından incelendiğinde *Streptomyces* üyelerinin hepsinde ortak olarak NAD bağlayıcı enzim, ornitin karbamoiltransferaz, proteazom degradasyonu, kloramfenikol direnci, beta-laktamaz aktivitesi, DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV mutasyonları, biyotin ve lipoik aside bağlanan motifler, karboksil transferaz, ABC-antibiyotik pompası ve DNA bağımlı RNA polimeraz alt birim beta mutasyonları ile ilgili direnç mekanizmaları görülmektedir. Bunun yanı sıra, H27-G5, H27-H5, H27-H1, H34-S4 ve H39-S7 izolatlarında ısı şoku proteini HSP90 ile ilgili direnç; H27-H1, H34-S4, H39-C1 ve H39-S7 izolatlarında vankomisin gibi glikopeptidlere karşı direnç; G-G2, H10-C2, PH10-H1, H27-G5, H27-H5, H27-H1, H34-S4, H27-S2, H34-AA3, H34-S5, H39-S7 ve H27-C3 izolatlarında aminoglikozitlere direnç gibi mekanizmalar gözlemlenmiştir. Ayrıca H34-S4 ve H39-S7 izolatlarında MFS antibiyotik direnci pompası bulunmuştur.

Duplike gen veya filogenetik aktarım açısından incelendiğinde enerji metabolizmasında yer alan ve antimikrobiyal dirençte rol oynayan gliseraldehit-3-

fosfat dehidrojenaz proteini H39-S7, H34-S4 ve H27-H1 izolatlarında hem duplikasyona uğramış, hem BGC bölgelerine yakın konumlanmış, hem de filogenetik olarak kazanılmıştır. H39-C1 ve G-G2 izolatlarında ise hem duplikasyona uğramış, hem de ilogenetik olarak kazanılmıştır. H34-AA3, H27-S2 ve H34-S5'te sadece duplikasyona uğrarken; H10-C2, H27-H5, H27-C3 ve PH10-H1'de sadece filogenetik olarak kazanılmıştır. Ayrıca G-G2, H10-C2, H27-C3, H27-D2, H27-S2, H34-AA3, H34-S5, H39-C1, H27-H1 ve H34-S4 izolatlarında, antimikrobiyal dirençte görev alan DNA giraz B altbirimlerinden ikisi veya biri, proteazom altbirimlerinden de ikisi veya biri filogenetik olarak aktarılmıştır. H27-H5 izolatında ise DNA giraz genlerinin ikisi de filogenetik olarak kazanılmışken, proteazom direnç genleri filogenetik olarak kazanılmamıştır. H39-S7 izolatında DNA giraz B altbirimi filogenetik olarak kazanılmış ve duplikasyona uğramıştır. Bunun yanı sıra, florokinolon direncine bağlı DNA polimeraz III, beta altbirimi mutasyonu H39-S7, H34-S4, H27-H1, H34-S5, H27-S2, H27-D2, H27-C3 ve G-G2 izolatlarında filogenetik olarak kazanılmış; H39-C1, H34-AA3, H27-G5, PH10-H1 ve H10-C2 izolatlarında ise ayrıca duplikasyona uğramıştır.

Tablo 4.62. *Streptomyces* sp. G-G2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	2183
PF00044.19	Gp_dh_N	1153
PF00044.19	Gp_dh_N	2726
PF00185.19	OTCace	979
PF00185.19	OTCace	1841
PF00204.20	DNA_gyraseB	1673
PF00204.20	DNA_gyraseB	2786
PF00227.21	Proteasome	2453
PF00227.21	Proteasome	2454
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1540
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4183
PF00364.17	Biotin_lipoyl	479
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1556
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6740
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6652
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1672
PF00521.15	DNA_topoisoIV	2801
PF01039.17	Carboxyl_trans	301
PF01039.17	Carboxyl_trans	5735
PF01039.17	Carboxyl_trans	6745
PF01039.17	Carboxyl_trans	3118
PF01039.17	Carboxyl_trans	480
PF01039.17	Carboxyl_trans	6651
PF01039.17	Carboxyl_trans	4815
PF01039.17	Carboxyl_trans	5802
PF13599.1	Pentapeptide_4	7310
PF13599.1	Pentapeptide_4	4966
PF13599.1	Pentapeptide_4	5056
RF0002	AAC3	6406
RF0007	ABC_efflux	497
RF0007	ABC_efflux	4802
RF0007	ABC_efflux	1943
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	5579
RF0053	ClassA	1110
RF0054	ClassB	2011
RF0123	SubclassB1	2405
RF0123	SubclassB1	6827
TIGR00663	TIGR00663	1677
TIGR02013	TIGR02013	2359

Tablo 4.63. *Streptomyces* sp. H10-C2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	6549
PF00185.19	OTCace	3231
PF00185.19	OTCace	4944
PF00185.19	OTCace	2706
PF00204.20	DNA_gyraseB	230
PF00204.20	DNA_gyraseB	3356
PF00204.20	DNA_gyraseB	4213
PF00227.21	Proteasome	5478
PF00227.21	Proteasome	5477
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1415
PF00364.17	Biotin_lipoyl	157
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1286
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6386
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7729
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5861
PF00364.17	Biotin_lipoyl	176
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2622
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1027
PF00521.15	DNA_topoisoIV	229
PF00521.15	DNA_topoisoIV	3361
PF01039.17	Carboxyl_trans	7724
PF01039.17	Carboxyl_trans	966
PF01039.17	Carboxyl_trans	6587
PF01039.17	Carboxyl_trans	8257
PF01039.17	Carboxyl_trans	2543
PF01039.17	Carboxyl_trans	1285
PF01039.17	Carboxyl_trans	5860
PF01039.17	Carboxyl_trans	3075
PF01039.17	Carboxyl_trans	6385
PF13599.1	Pentapeptide_4	2552
PF13599.1	Pentapeptide_4	7664
RF0002	AAC3	6275
RF0002	AAC3	3086
RF0007	ABC_efflux	1273
RF0007	ABC_efflux	4446
RF0007	ABC_efflux	3502
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	7598
RF0054	ClassB	7024
RF0123	SubclassB1	3045
RF0123	SubclassB1	5257
TIGR00663	TIGR00663	234
TIGR00663	TIGR00663	7312
TIGR02013	TIGR02013	2312

Tablo 4.64. *Streptomyces* sp. H27-D2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	5163
PF00044.19	Gp_dh_N	2055
PF00185.19	OTCace	2038
PF00185.19	OTCace	847
PF00204.20	DNA_gyraseB	1042
PF00204.20	DNA_gyraseB	1160
PF00227.21	Proteasome	2120
PF00227.21	Proteasome	2119
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2663
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2789
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3581
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2805
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2277
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5230
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1041
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1149
PF01039.17	Carboxyl_trans	2739
PF01039.17	Carboxyl_trans	5238
PF01039.17	Carboxyl_trans	2554
PF01039.17	Carboxyl_trans	3101
PF01039.17	Carboxyl_trans	3582
PF01039.17	Carboxyl_trans	2278
PF01039.17	Carboxyl_trans	6606
PF13599.1	Pentapeptide_4	5602
PF13599.1	Pentapeptide_4	908
PF13599.1	Pentapeptide_4	2200
RF0007	ABC_efflux	3599
RF0007	ABC_efflux	978
RF0007	ABC_efflux	6149
RF0007	ABC_efflux	3673
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	6372
RF0053	ClassA	1694
RF0054	ClassB	3126
RF0123	SubclassB1	4123
RF0123	SubclassB1	59
TIGR00663	TIGR00663	1046
TIGR02013	TIGR02013	4611

Tablo 4.65. *Streptomyces* sp. PH10-H1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	5811
PF00185.19	OTCace	5048
PF00185.19	OTCace	5030
PF00185.19	OTCace	5607
PF00204.20	DNA_gyraseB	282
PF00204.20	DNA_gyraseB	1689
PF00204.20	DNA_gyraseB	5744
PF00227.21	Proteasome	4042
PF00227.21	Proteasome	4041
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1295
PF00364.17	Biotin_lipoyl	354
PF00364.17	Biotin_lipoyl	72
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5523
PF00364.17	Biotin_lipoyl	523
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4583
PF00364.17	Biotin_lipoyl	336
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3454
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1546
PF00521.15	DNA_topoisoIV	283
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1685
PF01039.17	Carboxyl_trans	518
PF01039.17	Carboxyl_trans	1789
PF01039.17	Carboxyl_trans	7115
PF01039.17	Carboxyl_trans	8307
PF01039.17	Carboxyl_trans	2713
PF01039.17	Carboxyl_trans	73
PF01039.17	Carboxyl_trans	4582
PF01039.17	Carboxyl_trans	3330
PF01039.17	Carboxyl_trans	5522
PF13599.1	Pentapeptide_4	2703
PF13599.1	Pentapeptide_4	7607
RF0002	AAC3	3342
RF0002	AAC3	6543
RF0007	ABC_efflux	85
RF0007	ABC_efflux	3976
RF0007	ABC_efflux	3171
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	7740
RF0054	ClassB	6227
RF0123	SubclassB1	4870
RF0123	SubclassB1	3898
TIGR00663	TIGR00663	278
TIGR00663	TIGR00663	6890
TIGR02013	TIGR02013	734

Tablo 4.66. *Streptomyces* sp. H27-G5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	3675
RF0007	ABC_efflux	153
RF0007	ABC_efflux	1709
RF0007	ABC_efflux	5121
RF0007	ABC_efflux	4570
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	365
RF0053	ClassA	5963
RF0053	ClassA	1959
RF0054	ClassB	2190
RF0123	SubclassB1	7251
RF0123	SubclassB1	1648
PF00044.19	Gp_dh_N	1138
PF00044.19	Gp_dh_N	1905
PF00183.13	HSP90	6970
PF00185.19	OTCace	2838
PF00185.19	OTCace	3358
PF00204.20	DNA_gyraseB	1888
PF00204.20	DNA_gyraseB	4031
PF00227.21	Proteasome	7761
PF00227.21	Proteasome	7760
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1279
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2750
PF00364.17	Biotin_lipoyl	173
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2733
PF00364.17	Biotin_lipoyl	775
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3841
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5755
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4345
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1889
PF00521.15	DNA_topoisoIV	4046
PF01039.17	Carboxyl_trans	3943
PF01039.17	Carboxyl_trans	3729
PF01039.17	Carboxyl_trans	4929
PF01039.17	Carboxyl_trans	787
PF01039.17	Carboxyl_trans	3894
PF01039.17	Carboxyl_trans	172
PF01039.17	Carboxyl_trans	3840
PF01039.17	Carboxyl_trans	1717
PF13599.1	Pentapeptide_4	5622
PF13599.1	Pentapeptide_4	4597
TIGR02013	TIGR02013	1076
TIGR00663	TIGR00663	1884
TIGR00663	TIGR00663	6758
TIGR00663	TIGR00663	6100

Tablo 4.67. *Streptomyces* sp. H27-H5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	4747
RF0007	ABC_efflux	3902
RF0007	ABC_efflux	2254
RF0007	ABC_efflux	5399
RF0007	ABC_efflux	4168
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	3438
RF0053	ClassA	5624
RF0053	ClassA	28
RF0054	ClassB	1246
RF0123	SubclassB1	4793
RF0123	SubclassB1	7046
PF00044.19	Gp_dh_N	813
PF00044.19	Gp_dh_N	84
PF00183.13	HSP90	1518
PF00185.19	OTCace	5488
PF00185.19	OTCace	1724
PF00204.20	DNA_gyraseB	3335
PF00204.20	DNA_gyraseB	6878
PF00227.21	Proteasome	4280
PF00227.21	Proteasome	4281
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2967
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6205
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3883
PF00364.17	Biotin_lipoyl	9008
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6222
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7262
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3398
PF00521.15	DNA_topoisoIV	3334
PF00521.15	DNA_topoisoIV	5056
PF01039.17	Carboxyl_trans	6830
PF01039.17	Carboxyl_trans	7740
PF01039.17	Carboxyl_trans	7686
PF01039.17	Carboxyl_trans	1962
PF01039.17	Carboxyl_trans	3884
PF01039.17	Carboxyl_trans	3399
PF01039.17	Carboxyl_trans	8505
PF01039.17	Carboxyl_trans	2245
PF13599.1	Pentapeptide_4	507
PF13599.1	Pentapeptide_4	5679
PF13599.1	Pentapeptide_4	8618
TIGR02013	TIGR02013	606
TIGR00663	TIGR00663	3339

Tablo 4.68. *Streptomyces* sp. H27-H1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	3653
RF0002	AAC3	660
RF0007	ABC_efflux	5942
RF0007	ABC_efflux	1134
RF0007	ABC_efflux	1812
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	2886
RF0053	ClassA	769
RF0054	ClassB	8236
RF0123	SubclassB1	595
RF0155	vanS	2144
PF00044.19	Gp_dh_N	5648
PF00044.19	Gp_dh_N	1778
PF00044.19	Gp_dh_N	829
PF00183.13	HSP90	145
PF00185.19	OTCace	8143
PF00185.19	OTCace	378
PF00204.20	DNA_gyraseB	78
PF00204.20	DNA_gyraseB	6479
PF00204.20	DNA_gyraseB	7888
PF00227.21	Proteasome	552
PF00227.21	Proteasome	551
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2010
PF00364.17	Biotin_lipoyl	12
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5958
PF00364.17	Biotin_lipoyl	28
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1371
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2831
PF00521.15	DNA_topoisoIV	77
PF00521.15	DNA_topoisoIV	6495
PF01039.17	Carboxyl_trans	1365
PF01039.17	Carboxyl_trans	6726
PF01039.17	Carboxyl_trans	5957
PF01039.17	Carboxyl_trans	2832
PF01039.17	Carboxyl_trans	1144
PF13599.1	Pentapeptide_4	5109
PF13599.1	Pentapeptide_4	2934
PF13599.1	Pentapeptide_4	3011
TIGR02013	TIGR02013	6151
TIGR00663	TIGR00663	83

Tablo 4.69. *Streptomyces* sp. H34-S4 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	4792
RF0007	ABC_efflux	7032
RF0007	ABC_efflux	2623
RF0007	ABC_efflux	4355
RF0007	ABC_efflux	3328
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	2309
RF0054	ClassB	3905
RF0104	MFS_efflux	7233
RF0123	SubclassB1	2586
RF0123	SubclassB1	6484
RF0155	vanS	4736
PF00044.19	Gp_dh_N	1085
PF00044.19	Gp_dh_N	6170
PF00044.19	Gp_dh_N	4194
PF00183.13	HSP90	2469
PF00185.19	OTCace	3403
PF00185.19	OTCace	5770
PF00204.20	DNA_gyraseB	1704
PF00204.20	DNA_gyraseB	6879
PF00227.21	Proteasome	3703
PF00227.21	Proteasome	3702
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5596
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1637
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4207
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1653
PF00364.17	Biotin_lipoyl	169
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3658
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1703
PF00521.15	DNA_topoisoIV	5567
PF01039.17	Carboxyl_trans	163
PF01039.17	Carboxyl_trans	1955
PF01039.17	Carboxyl_trans	2585
PF01039.17	Carboxyl_trans	4206
PF01039.17	Carboxyl_trans	3659
PF01039.17	Carboxyl_trans	2657
PF13599.1	Pentapeptide_4	7609
PF13599.1	Pentapeptide_4	2262
TIGR02013	TIGR02013	368
TIGR00663	TIGR00663	2531

Tablo 4.70. *Streptomyces* sp. H27-S2 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	4613
RF0007	ABC_efflux	1025
RF0007	ABC_efflux	824
RF0007	ABC_efflux	1382
RF0007	ABC_efflux	1642
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	7742
RF0053	ClassA	7149
RF0054	ClassB	1473
RF0054	ClassB	4665
RF0123	SubclassB1	884
PF00044.19	Gp_dh_N	4491
PF00044.19	Gp_dh_N	5659
PF00185.19	OTCace	6030
PF00185.19	OTCace	4845
PF00204.20	DNA_gyraseB	5779
PF00204.20	DNA_gyraseB	3814
PF00204.20	DNA_gyraseB	1569
PF00227.21	Proteasome	4708
PF00227.21	Proteasome	4709
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3147
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6324
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1040
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6307
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7303
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5275
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7703
PF00521.15	DNA_topoisoIV	7431
PF00521.15	DNA_topoisoIV	5764
PF01039.17	Carboxyl_trans	733
PF01039.17	Carboxyl_trans	185
PF01039.17	Carboxyl_trans	7514
PF01039.17	Carboxyl_trans	5402
PF01039.17	Carboxyl_trans	1039
PF01039.17	Carboxyl_trans	7304
PF01039.17	Carboxyl_trans	804
PF13599.1	Pentapeptide_4	6155
PF13599.1	Pentapeptide_4	7762
TIGR02013	TIGR02013	6219
TIGR00663	TIGR00663	3818

Tablo 4.71. *Streptomyces* sp. H34-AA3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	6297
RF0007	ABC_efflux	2652
RF0007	ABC_efflux	7793
RF0007	ABC_efflux	2123
RF0007	ABC_efflux	1304
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	8546
RF0053	ClassA	4746
RF0054	ClassB	7672
RF0123	SubclassB1	4876
PF00044.19	Gp_dh_N	6118
PF00044.19	Gp_dh_N	3622
PF00185.19	OTCace	5009
PF00185.19	OTCace	6768
PF00185.19	OTCace	3876
PF00185.19	OTCace	1687
PF00204.20	DNA_gyraseB	4678
PF00204.20	DNA_gyraseB	8797
PF00204.20	DNA_gyraseB	3107
PF00204.20	DNA_gyraseB	8127
PF00227.21	Proteasome	5730
PF00227.21	Proteasome	5729
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4372
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5967
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7023
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4560
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5983
PF00364.17	Biotin_lipoyl	8601
PF00364.17	Biotin_lipoyl	8564
PF00521.15	DNA_topoisoIV	6032
PF00521.15	DNA_topoisoIV	4693
PF01039.17	Carboxyl_trans	1061
PF01039.17	Carboxyl_trans	1554
PF01039.17	Carboxyl_trans	8411
PF01039.17	Carboxyl_trans	3258
PF01039.17	Carboxyl_trans	7022
PF01039.17	Carboxyl_trans	8563
PF01039.17	Carboxyl_trans	7832
PF13599.1	Pentapeptide_4	8336
PF13599.1	Pentapeptide_4	2579
PF13599.1	Pentapeptide_4	6562
PF13599.1	Pentapeptide_4	8788
TIGR02013	TIGR02013	1882
TIGR00663	TIGR00663	3103
TIGR00663	TIGR00663	6929

Tablo 4.72. *Streptomyces* sp. H34-S5 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	4481
RF0007	ABC_efflux	201
RF0007	ABC_efflux	8223
RF0007	ABC_efflux	1067
RF0007	ABC_efflux	4422
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	5412
RF0054	ClassB	5731
RF0123	SubclassB1	2597
PF00044.19	Gp_dh_N	5340
PF00044.19	Gp_dh_N	5099
PF00185.19	OTCace	4313
PF00185.19	OTCace	8349
PF00185.19	OTCace	1214
PF00185.19	OTCace	4567
PF00185.19	OTCace	7654
PF00204.20	DNA_gyraseB	3568
PF00204.20	DNA_gyraseB	8793
PF00204.20	DNA_gyraseB	1034
PF00204.20	DNA_gyraseB	7223
PF00227.21	Proteasome	7777
PF00227.21	Proteasome	7776
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2277
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5113
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7351
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1809
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4750
PF00364.17	Biotin_lipoyl	8275
PF00364.17	Biotin_lipoyl	8083
PF00521.15	DNA_topoisolV	4701
PF00521.15	DNA_topoisolV	3583
PF01039.17	Carboxyl_trans	1550
PF01039.17	Carboxyl_trans	804
PF01039.17	Carboxyl_trans	7046
PF01039.17	Carboxyl_trans	8072
PF01039.17	Carboxyl_trans	7352
PF01039.17	Carboxyl_trans	8084
PF01039.17	Carboxyl_trans	3722
PF13599.1	Pentapeptide_4	6159
PF13599.1	Pentapeptide_4	8636
PF13599.1	Pentapeptide_4	2874
PF13599.1	Pentapeptide_4	4635
PF13599.1	Pentapeptide_4	8460
TIGR02013	TIGR02013	1397
TIGR00663	TIGR00663	1030

Tablo 4.73. *Streptomyces* sp. H39-C1 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0007	ABC_efflux	7716
RF0007	ABC_efflux	3685
RF0007	ABC_efflux	5288
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	5075
RF0053	ClassA	4869
RF0054	ClassB	1722
RF0123	SubclassB1	2003
RF0123	SubclassB1	515
RF0154	vanR	4876
RF0155	vanS	4877
RF0158	vanX	4870
PF00044.19	Gp_dh_N	1596
PF00044.19	Gp_dh_N	7187
PF00044.19	Gp_dh_N	2981
PF00185.19	OTCace	7194
PF00185.19	OTCace	929
PF00185.19	OTCace	2881
PF00204.20	DNA_gyraseB	110
PF00204.20	DNA_gyraseB	873
PF00227.21	Proteasome	4630
PF00227.21	Proteasome	4629
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3158
PF00364.17	Biotin_lipoyl	186
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4050
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6807
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5995
PF00364.17	Biotin_lipoyl	7338
PF00364.17	Biotin_lipoyl	168
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3371
PF00521.15	DNA_topoisoIV	111
PF00521.15	DNA_topoisoIV	882
PF01039.17	Carboxyl_trans	5990
PF01039.17	Carboxyl_trans	3756
PF01039.17	Carboxyl_trans	1900
PF01039.17	Carboxyl_trans	3237
PF01039.17	Carboxyl_trans	9113
PF01039.17	Carboxyl_trans	4049
PF01039.17	Carboxyl_trans	7337
PF01039.17	Carboxyl_trans	1968
PF01039.17	Carboxyl_trans	6806
PF13599.1	Pentapeptide_4	1277
PF13599.1	Pentapeptide_4	3323
TIGR02013	TIGR02013	5594
TIGR00663	TIGR00663	106
TIGR00663	TIGR00663	8570

Tablo 4.74. *Streptomyces* sp. H39-S7 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
RF0002	AAC3	4622
RF0007	ABC_efflux	1169
RF0007	ABC_efflux	3613
RF0007	ABC_efflux	2771
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	883
RF0053	ClassA	8708
RF0104	MFS_efflux	8751
RF0123	SubclassB1	417
RF0123	SubclassB1	3720
RF0154	vanR	5835
RF0155	vanS	5836
RF0158	vanX	5830
PF00044.19	Gp_dh_N	3503
PF00044.19	Gp_dh_N	5142
PF00044.19	Gp_dh_N	7322
PF00044.19	Gp_dh_N	5438
PF00183.13	HSP90	3295
PF00185.19	OTCace	8606
PF00185.19	OTCace	1525
PF00185.19	OTCace	661
PF00204.20	DNA_gyraseB	4737
PF00204.20	DNA_gyraseB	5198
PF00204.20	DNA_gyraseB	1588
PF00227.21	Proteasome	490
PF00227.21	Proteasome	491
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4008
PF00364.17	Biotin_lipoyl	234
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1159
PF00364.17	Biotin_lipoyl	4446
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1372
PF00364.17	Biotin_lipoyl	252
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2434
PF00521.15	DNA_topoisoIV	4736
PF00521.15	DNA_topoisoIV	1579
PF01039.17	Carboxyl_trans	4441
PF01039.17	Carboxyl_trans	3870
PF01039.17	Carboxyl_trans	5784
PF01039.17	Carboxyl_trans	8727
PF01039.17	Carboxyl_trans	7830
PF01039.17	Carboxyl_trans	1681
PF01039.17	Carboxyl_trans	1160
PF01039.17	Carboxyl_trans	1371
PF01039.17	Carboxyl_trans	380
PF13599.1	Pentapeptide_4	1310
PF13599.1	Pentapeptide_4	5642
PF13599.1	Pentapeptide_4	6670
TIGR02013	TIGR02013	6775
TIGR00663	TIGR00663	4741

Tablo 4.75. *Streptomyces* sp. H27-C3 izolatının ARTS sunucusunda tespit edilen antimikrobiyal direnç genlerinin veritabanları ile eşleşen direnç modelleri

Resfam direnç model no	Tanım	Dizi no
PF00044.19	Gp_dh_N	1741
PF00044.19	Gp_dh_N	6865
PF00185.19	OTCace	5630
PF00185.19	OTCace	5047
PF00204.20	DNA_gyraseB	2119
PF00204.20	DNA_gyraseB	3107
PF00227.21	Proteasome	3423
PF00227.21	Proteasome	3422
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1380
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1975
PF00364.17	Biotin_lipoyl	3943
PF00364.17	Biotin_lipoyl	983
PF00364.17	Biotin_lipoyl	1601
PF00364.17	Biotin_lipoyl	5362
PF00364.17	Biotin_lipoyl	2043
PF00364.17	Biotin_lipoyl	6290
PF00521.15	DNA_topoisoIV	2118
PF00521.15	DNA_topoisoIV	3126
PF01039.17	Carboxyl_trans	804
PF01039.17	Carboxyl_trans	5372
PF01039.17	Carboxyl_trans	6654
PF01039.17	Carboxyl_trans	982
PF01039.17	Carboxyl_trans	6291
PF01039.17	Carboxyl_trans	3040
PF13599.1	Pentapeptide_4	5201
PF13599.1	Pentapeptide_4	2345
PF13599.1	Pentapeptide_4	255
RF0002	AAC3	4139
RF0007	ABC_efflux	966
RF0007	ABC_efflux	3098
RF0007	ABC_efflux	3832
RF0007	ABC_efflux	6740
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	5169
RF0051	Chlor_Efflux_Pump	1788
RF0053	ClassA	6193
RF0054	ClassB	231
RF0123	SubclassB1	3489
RF0123	SubclassB1	4768
TIGR00663	TIGR00663	2123
TIGR02013	TIGR02013	5453

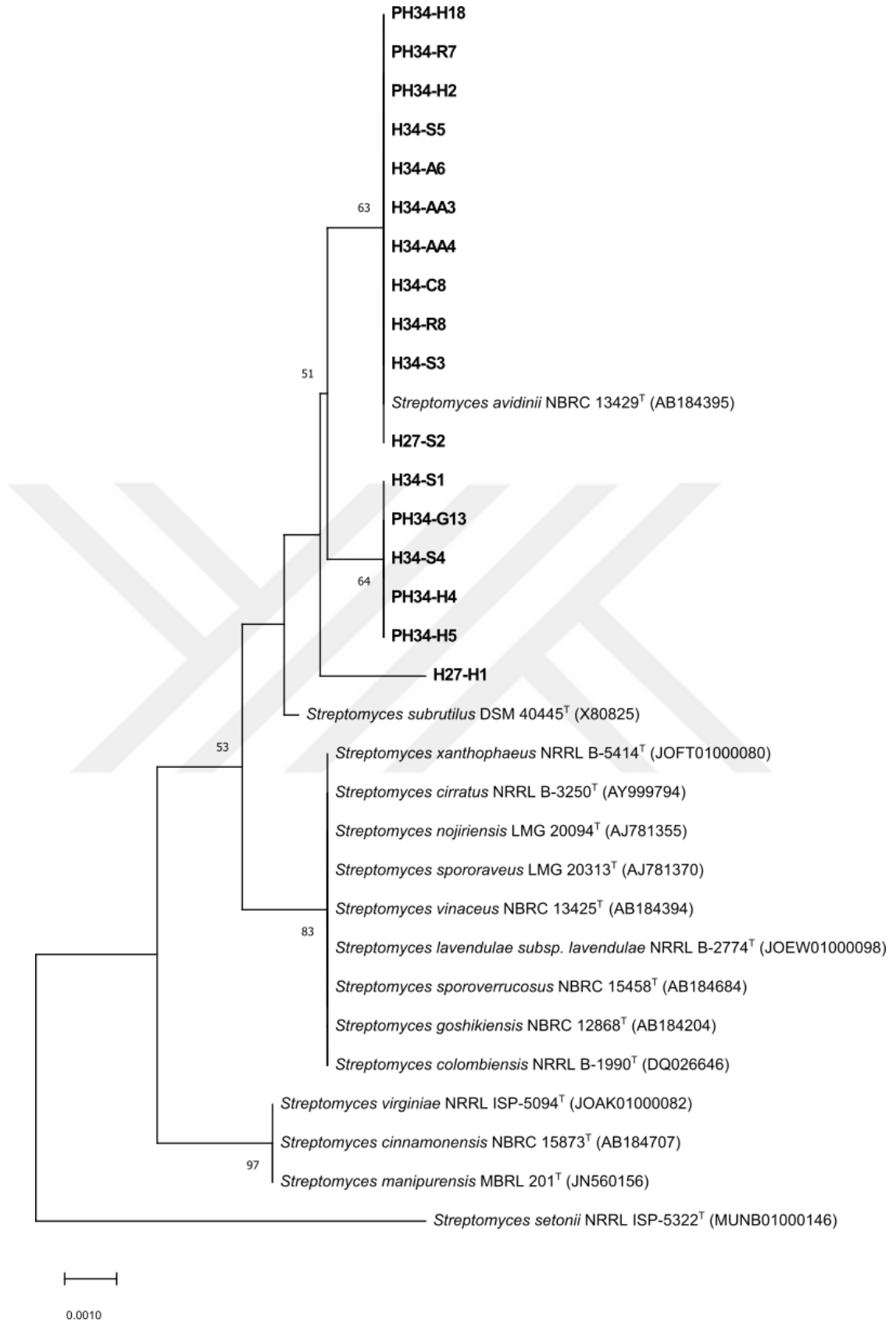
4.12.1. *Streptomyces* Cinsine Ait İzolatların 16S rRNA ve Tüm Genoma Dayalı Filogenetik Analizi

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Streptomyces* cinsine ait izolatlar G-G2, H10-C2, H27-AA3, H27-D2, H27-G5, H27-H1, H27-H5, H27-O3, H27-O6, H27-S2, H27-Y1, H34-A6, H34-AA3, H34-AA4, H34-C8, H34-R8, H34-S1, H34-S3, H34-S4, H34-S5, H39-C1, H39-S7, PH10-H1, PH34-G13, PH34-H18, PH34-H2, PH34-H3, PH34-H4, PH34-H5, PH34-R7 ve PH39-Y2'dir. Ayrıca H27-C3 ve H27-A1 izolatları da *Streptomyces* cinsi içerisinde iken, dizi analizlerindeki hatadan dolayı *Pilimelia* grubunda görülmüşlerdir. *Streptomyces*'lerden 16S rRNA geni dizisine göre *Streptomyces avidinii* türünü temsil eden izolatlar H27-H1, H27-S2, H34-A6, H34-AA3, H34-AA4, H34-C8, H34-R8, H34-S1, H34-S3, H34-S4, H34-S5, PH34-G13, PH34-H18, PH34-H2, PH34-H4, PH34-H5, PH34-R7; *Streptomyces fildesensis* türünü temsil eden izolatlar H10-C2, H39-C1, H39-S7, PH10-H1 ve PH39-Y2; *Streptomyces griseocarneus* türünü temsil eden izolat H27-D2; *Streptomyces scopuliridis* türünü temsil eden izolat G-G2; *Streptomyces cirratus* türünü temsil eden izolat PH34-H3; *Streptomyces xanthophaeus* türünü temsil eden izolatlar H27-AA3, H27-G5, H27-H5, H27-O3, H27-O6 ve H27-Y1'dir.

Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Streptomyces avidinii* türünü temsil eden suşlara ait dizi ve suşlara en yakın 15 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. Bunlardan H27-S2, PH34-H18, PH34-R7, PH34-H2, H34-A6, H34-AA3, H34-AA4, H34-C8 ve H34-S3 izolatları 16S rRNA dizisi bakımından birbirleriyle karşılaştırıldığında %100 benzerliğe sahip oldukları görülmüştür. En yakın akrabaları olan *Streptomyces avidinii* NBRC 13429^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %99.9 tamamlayıcılıkla % 99.86'lık bir benzerliğe sahiptirler. Bu organizmalar *Streptomyces avidinii* tip suşu ile karşılaştırıldığında 1446 nükleotidden 2 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. PH34-G13, PH34-H4, PH34-H5, H34-S1, H34-S4 ve H27-H1 izolatları 16S rRNA dizisi bakımından birbirleriyle karşılaştırıldığında %100 benzerliğe sahip oldukları görülmüştür. En yakın akrabaları olan *Streptomyces avidinii* NBRC 13429^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %99.9 tamamlayıcılıkla % 99.65'lik bir benzerliğe sahiptirler. Bu organizmalar *Streptomyces avidinii* tip suşu ile karşılaştırıldığında 1446 nükleotidden 5 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. H34-R8 ve H34-S5 suşları da en yakın

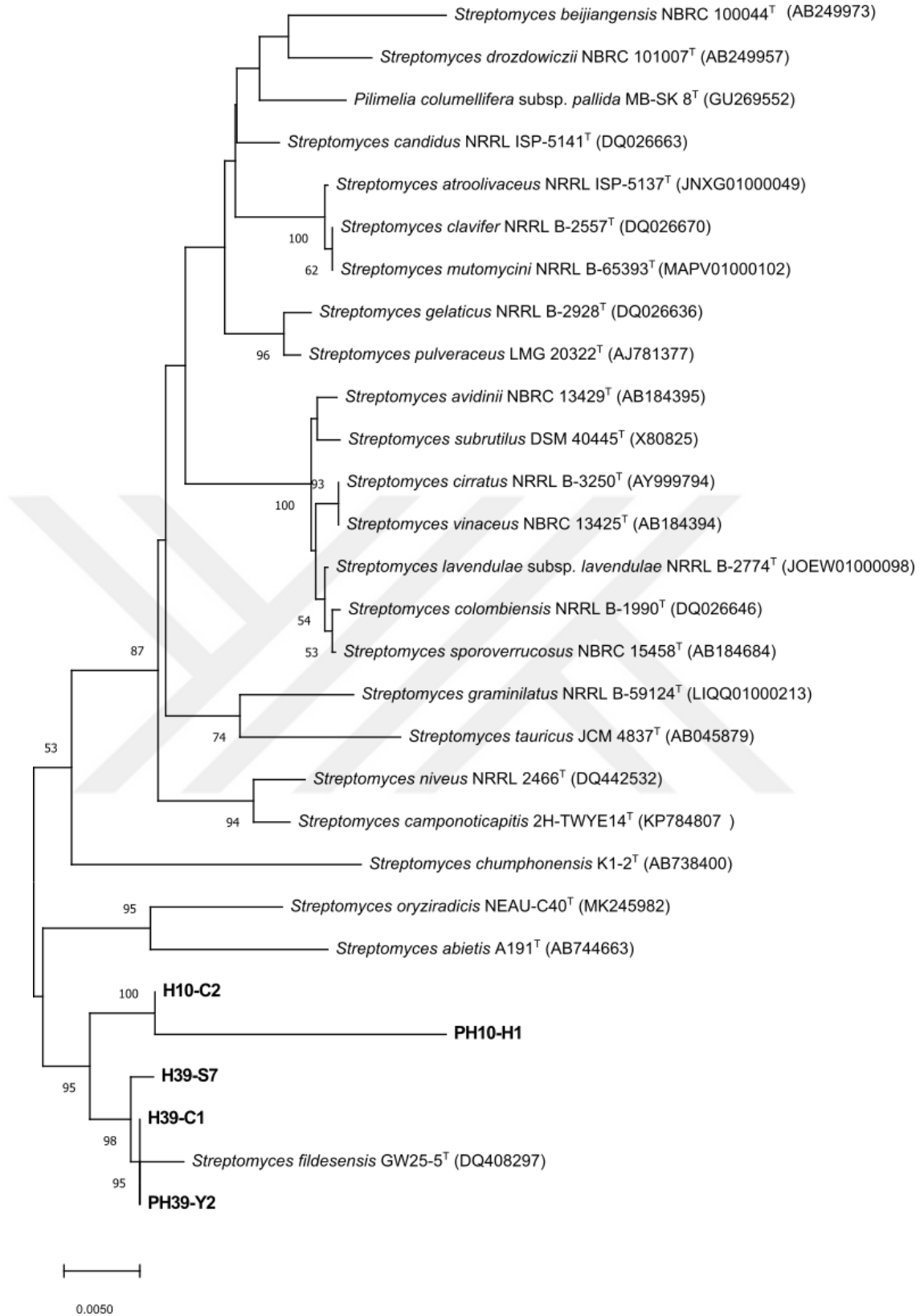
akrabaları olan *Streptomyces avidinii* NBRC 13429^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %99.9 tamamlayıcılıkla sırasıyla %100 ve % 99.77'lik bir benzerliğe sahiptirler. Bu organizmalar *Streptomyces avidinii* tip suşu ile karşılaştırıldığında H34-R8 için 928 nükleotidden tamamının aynı olduğu görülürken; H34-S5 için 1333 nükleotidden 3 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.55) PH34-H18, PH34-R7, PH34-H2, H34-S5, H34-A6, H34-AA3, H34-AA4, H34-C8, H34-R8, H34-S3 ve H27-S2 bir klad; H34-S1, PH34-H13, H34-S4, PH34-H4 ve PH34-H5 ise başka bir klad oluşturmuştur. Ancak bu kladlar *Streptomyces avidinii* NBRC 13429^T etrafında birbirine yakın konumlanmıştır. H27-H1 ise diğer kladlardan ayrı bir dala ayrılmış olarak *Streptomyces avidinii* NBRC 13429^T tip suşuna yakın konumlanmıştır.





Şekil 4.55. *Streptomyces avidinii* türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.001 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

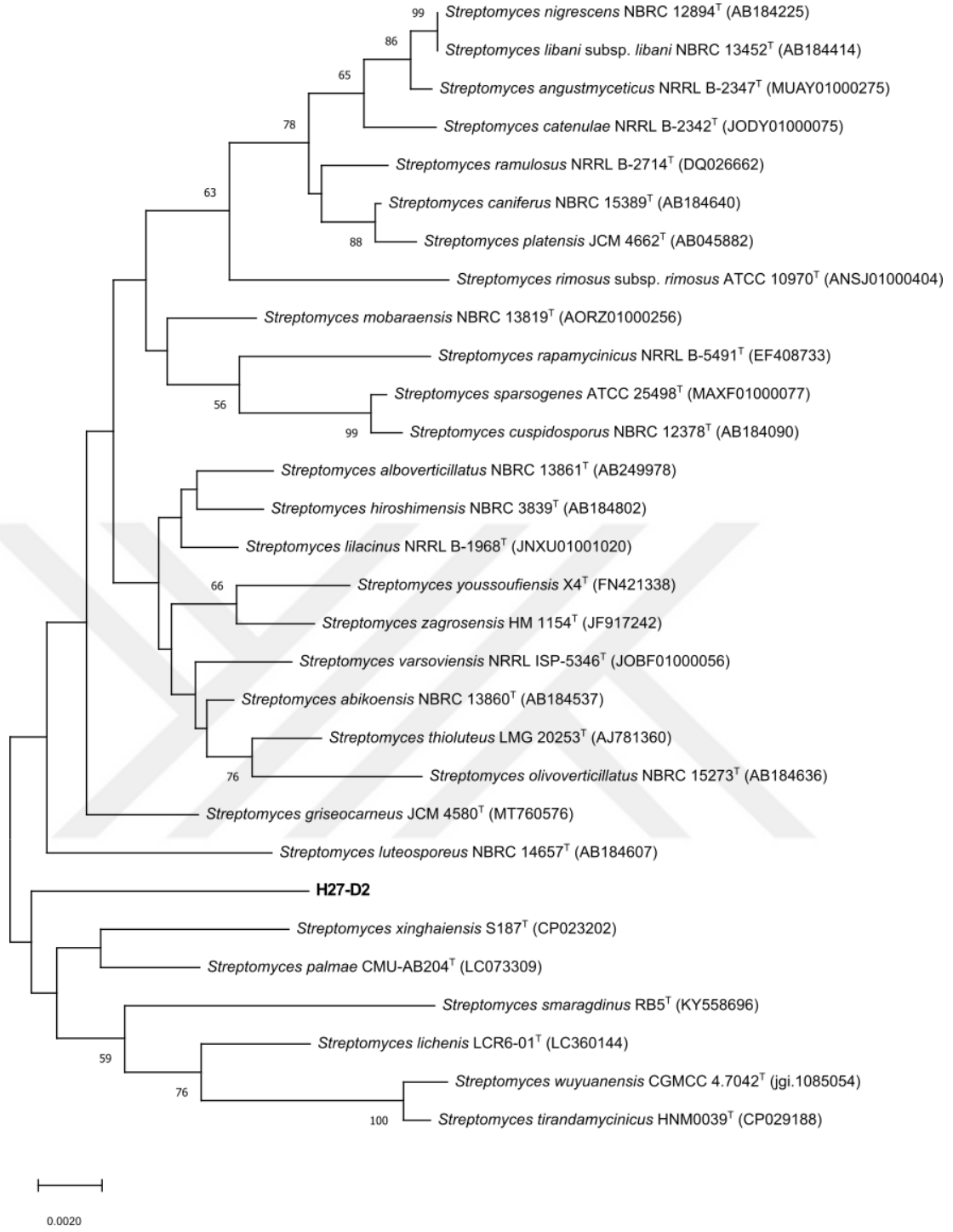
Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Streptomyces fildesensis* türünü temsil eden suşlara ait dizi ve suşlara en yakın 24 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. Bunlardan H39-C1 ve PH39-Y2 izolatları 16S rRNA dizisi bakımından birbirleriyle karşılaştırıldığında %100 benzerliğe sahip oldukları görülmüştür. En yakın akrabaları olan *Streptomyces fildesensis* GW25-5^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %100 tamamlayıcılıkla % 99.72'lik bir benzerliğe sahiptirler. Bu organizmalar *Streptomyces fildesensis* tip suşu ile karşılaştırıldığında 1447 nükleotidden 4 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. H10-C2 izolatu, *Streptomyces fildesensis* GW25-5^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %100 tamamlayıcılıkla % 98.96'lık bir benzerliğe sahip olup, karşılaştırıldığında 1447 nükleotidden 15 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. H39-S7 izolatu, *Streptomyces fildesensis* GW25-5^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %100 tamamlayıcılıkla % 99.38'lik bir benzerliğe sahip olup, karşılaştırıldığında 1445 nükleotidden 9 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. Diğer yandan PH10-H1 izolatu, *Streptomyces fildesensis* GW25-5^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %100 tamamlayıcılıkla % 97.15'lik bir benzerliğe sahip olup, karşılaştırıldığında 1438 nükleotidden 41 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.56), H39-C1, H39-S7 ve PH39-Y2 bir klad; H10-C2 ve PH10-H1 ise başka bir klad oluşturmuştur. Ayrıca bu kladlar *Streptomyces fildesensis* GW25-5^T etrafında birbirine yakın kümelenmiştir. PH10-H1 izolatu H10-C2 ile aynı klad içerisinde olsa bile H10-C2'den uzak konumlanarak yeni bir türün temsilcisi olma potansiyeline sahiptir.



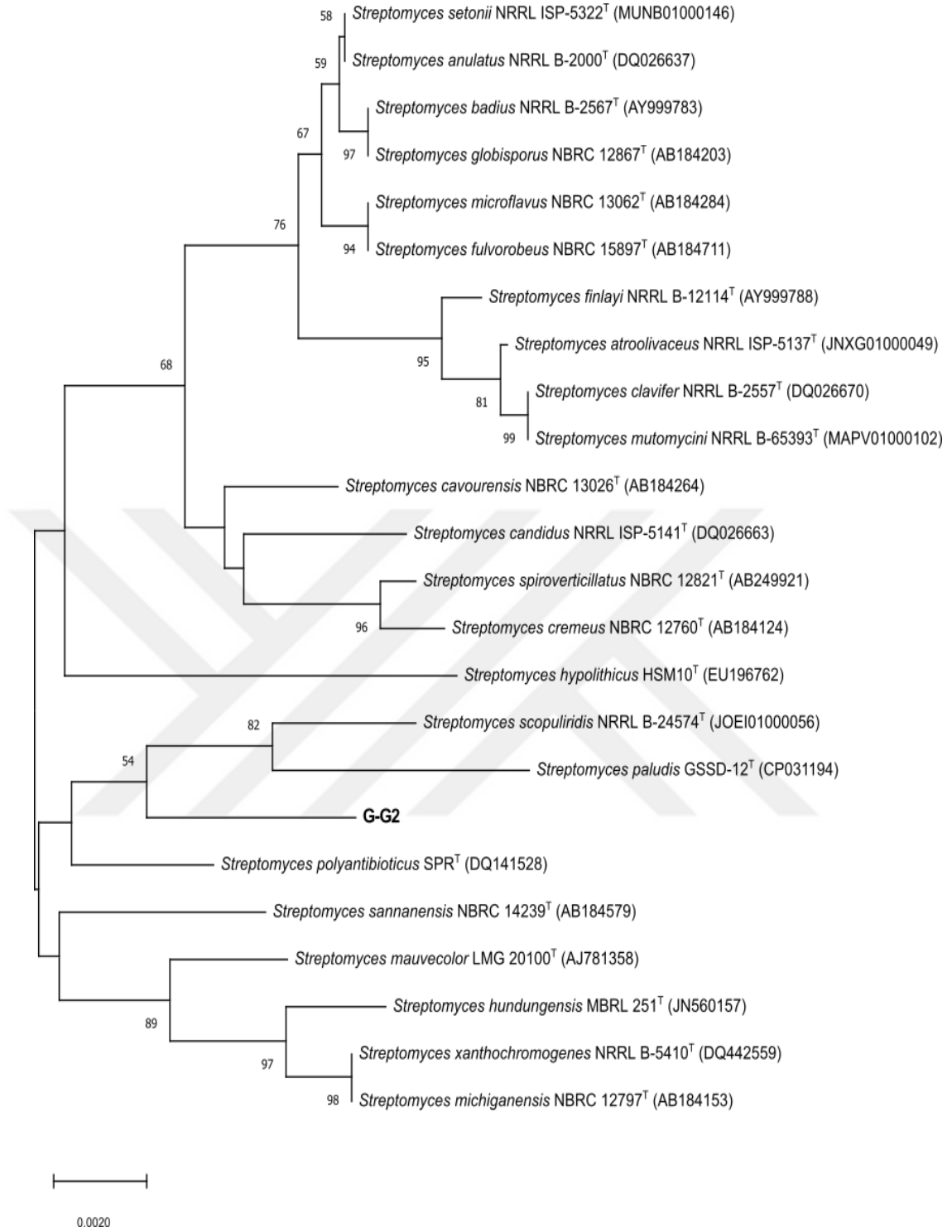
Şekil 4.56. *Streptomyces fildesensis* türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Streptomyces griseocarneus* türünü temsil eden H27-D2 suşuna ait dizi ve suşa en yakın 29 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Streptomyces* sp. H27-D2 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın *Streptomyces griseocarneus* JCM 4580^T tip suşuna % 94.5 tamamlayıcılıkla, % 98.09'luk bir benzerliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1364 nükleotidden 26 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. *Streptomyces mobaraensis* NBRC 13819^T tip suşunun, H27-D2 suşuna benzerliği %100 tamamlayıcılıkla % 98.06 olarak bulunmuştur. Burada, 1446 nükleotidden 28 tanesinin farklı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H27-D2 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 97.86 (*Streptomyces youssoufiensis* X4^T) ve % 97.44 (*Streptomyces platensis* JCM 4662^T) arasında değişmektedir.

Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Streptomyces scopuliridis* türünü temsil eden G-G2 suşuna ait dizi ve suşa en yakın 23 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Streptomyces* sp. G-G2 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın *Streptomyces scopuliridis* NRRL B-24574^T tip suşuna % 100 tamamlayıcılıkla, % 98.96'lık bir benzerliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1448 nükleotidden 15 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. G-G2 izolatına 16S rRNA dizi benzerliği eşik değerinin üstünde olan diğer tip suşları *Streptomyces candidus* NRRL ISP-5141^T, *Streptomyces spiroverticillatus* NBRC 12821^T, *Streptomyces mauvecolor* LMG 20100^T, *Streptomyces hundertgensis* MBRL 251^T ve *Streptomyces paludis* GSSD-12^T'dir. *Streptomyces xanthochromogenes* NRRL B-5410^T tip suşunun, G-G2 suşuna benzerliği %100 tamamlayıcılıkla % 98.62 olarak bulunmuştur. Burada, 1448 nükleotidden 20 tanesinin farklı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de G-G2 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 98.48 (*Streptomyces finlayi* NRRL B-12114^T) ve % 97.44 (*Streptomyces globisporus* NBRC 12867^T) arasında değişmektedir.

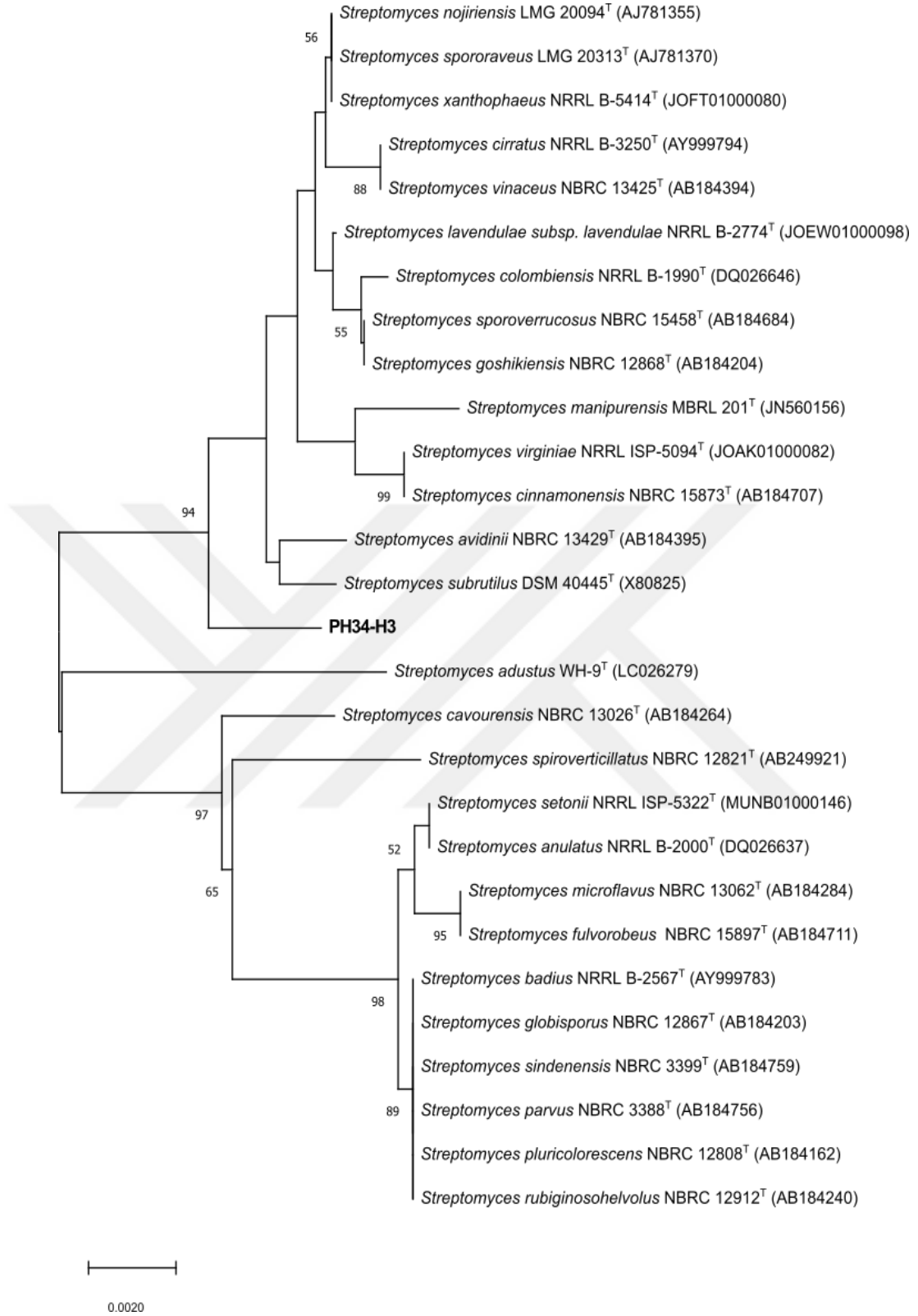


Şekil 4.57. *Streptomyces griseocarneus* türünü temsil eden H27-D2 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.002 nükleotid değişimini temsil etmektedir.



Şekil 4.58. *Streptomyces scopuliridis* türünü temsil eden G-G2 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.002 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Streptomyces cirratus* türünü temsil eden PH34-H3 suşuna ait dizi ve suşa en yakın 27 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. *Streptomyces* sp. PH34-H3 suşunun 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşa en yakın *Streptomyces cirratus* NRRL B-3250^T tip suşuna % 100 tamamlayıcılıkla, % 99.59'luk bir benzerliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu iki organizma karşılaştırıldığında 1447 nükleotidden 6 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. PH34-H3 izolatına 16S rRNA dizi benzerliği eşik değerinin üstünde olan diğer tip suşları *Streptomyces avidinii* NBRC 13429^T, *Streptomyces vinaceus* NBRC 13425^T, *Streptomyces xanthophaeus* NRRL B-5414^T, *Streptomycesnojiriensis* LMG 20094^T, *Streptomyces spororaveus* LMG 20313^T, *Streptomyces subrutilus* DSM 40445^T, *Streptomyces sporoverrucosus* NBRC 15458^T, *Streptomyces goshikiensis* NBRC 12868^T, *Streptomyces lavendulae* subsp. *lavendulae* NRRL B-2774^T, *Streptomyces colombiensis* NRRL B-1990^T, *Streptomyces virginiae* NRRL ISP-5094^T, *Streptomyces cinnamomensis* NBRC 15873^T, *Streptomyces manipurensis* MBRL 201^T, *Streptomyces cavourensis* NBRC 13026^T ve *Streptomyces adustus* WH-9^T'dur. *Streptomyces setonii* NRRL ISP-5322^T tip suşunun, PH34-H3 suşuna benzerliği %100 tamamlayıcılıkla % 98.62 olarak bulunmuştur. Burada, 1447 nükleotidden 20 tanesinin farklı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de PH34-H3 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 98.62 (*Streptomyces anulatus* NRRL B-2000^T) ve % 98.54 (*Streptomyces rubiginosohelvolus* NBRC 12912^T) arasında değişmektedir.

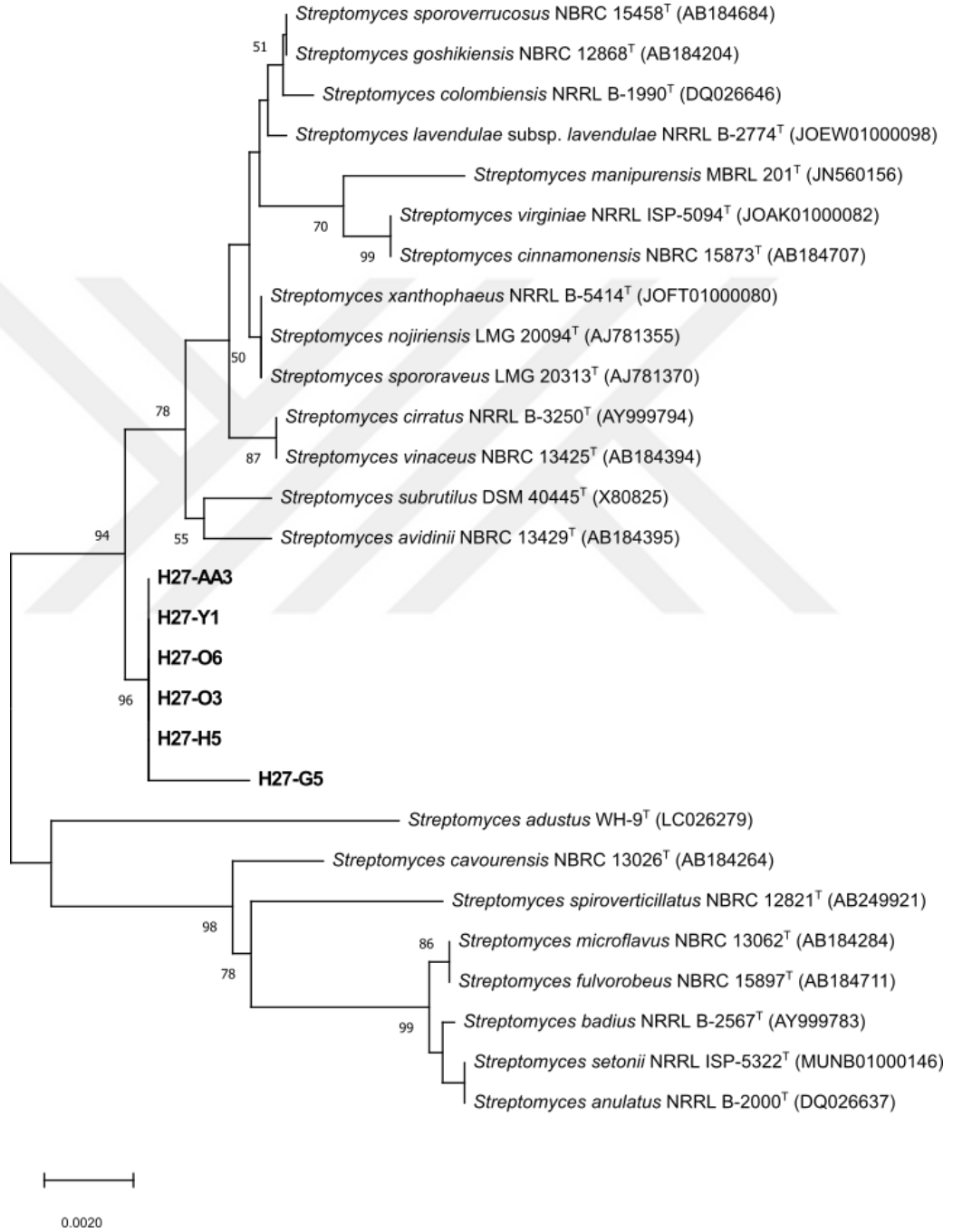


Şekil 4.59. *Streptomyces cirratus* türünü temsil eden PH34-H3 izolatının cinsin diğer türleri ile filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.002 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

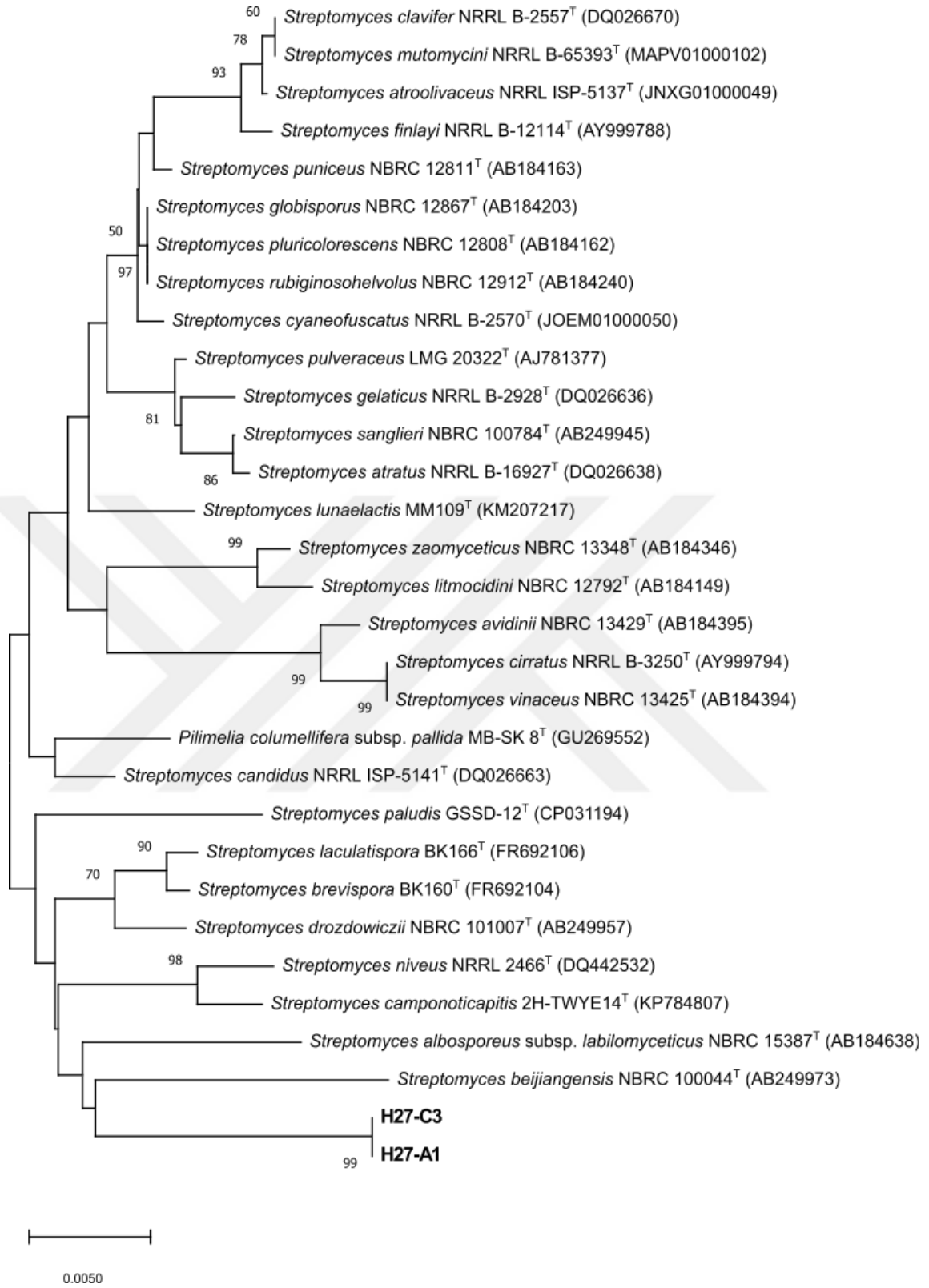
Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş örneklerden *Streptomyces xanthophaeus* türünü temsil eden suşlara ait dizi ve suşlara en yakın 23 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. Bunlardan H27-Y1, H27-O6, H27-O3, H27-H5 ve H27-AA3 izolatları 16S rRNA dizisi bakımından birbirleriyle karşılaştırıldığında %100 benzerliğe sahip oldukları görülmüştür. En yakın akrabaları olan *Streptomyces xanthophaeus* NRRL B-5414^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %100 tamamlayıcılıkla % 99.65'lik bir benzerliğe sahiptirler. Bu organizmalar *Streptomyces xanthophaeus* tip suşu ile karşılaştırıldığında 1447 nükleotidden 5 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. H27-G5 izolatı, *Streptomyces xanthophaeus* NRRL B-5414^T ile 16S rRNA dizisi bakımından %100 tamamlayıcılıkla % 99.40'lık bir benzerliğe sahip olup, karşılaştırıldığında 1332 nükleotidden 8 tanesinin farklı olduğu görülmüştür. 16S rRNA dizilerine dayalı filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.60), H27-Y1, H27-O6, H27-O3, H27-H5 ve H27-AA3 ve H27-G5 aynı klad içerisinde kümelenmiştir. H27-G5, diğerleri ile aynı klad içerisinde olsa bile uzak konumlanmıştır.

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan 16S rRNA geni dizilenmiş *Streptomyces* örneklerinden en yakın akrabasının *Pilimelia* cinsine ait olduğu izolatlar H27-C3 ve H27-A1'dir. Suşlara ait dizi ve suşlara en yakın 29 organizmanın 16S rRNA dizisinin analizi gerçekleştirilmiştir. H27-C3 ve H27-A1 suşlarının 16S rRNA genine bağlı filogenetik analizi, suşlara en yakın türün % 99.2 tamamlayıcılıkla, % 98.47'lik bir benzerlik değerine sahip *Pilimelia columelifera* subsp. *pallida* MB-SK 8^T olduğunu göstermektedir. Bu organizmalar karşılaştırıldığında 1435 nükleotidden 22 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Ayrıca H27-C3 ve H27-A1 izolatları 16S rRNA dizisi bakımından birbirleriyle karşılaştırıldığında %100 benzerliğe sahip oldukları görülmüştür. Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4.61), iki suşun da beraber kümelendiği ve en yakın akrabalarının *Streptomyces* türleri olduğu görülmektedir. Dizi veri bankalarına göre *Pilimelia columelifera* subsp. *pallida* MB-SK 8^T olarak tanımlanan suşun genomunda muhtemelen bir hata olmuş, taksonomik olarak yanlış tanımlanmış ve dolayısıyla taksonomik bir revizyona ihtiyacı vardır. 16S rRNA dizi benzerliği bakımından en yakın örnek olan *Streptomyces drozdowiczii* NBRC 101007^T tip suşunun, H27-C3 ve H27-A1 suşlarına benzerliği %100 tamamlayıcılıkla % 98.34 olup; 1447 nükleotidden 24 tanesinin birbirinden farklı olduğu görülmektedir. H27-C3 ve H27-A1 izolatlarının filogenetik ağaçta

Streptomyces cinsi üyeleriyle konumlandırması, bu izolatların aslında *Streptomyces* cinsi içerisinde yerleşim gösterdiklerini ve yeni bir türü temsil edebileceklerini düşündürmektedir. Filogenetik ağaçta görülen diğer türlerin de H27-C3 suşu ile 16S rRNA dizi benzerlikleri % 98.12 (*Streptomyces laculatispora* BK166^T) ve % 97.64 (*Streptomyces rubiginosohelvolus* NBRC 12912^T) arasında değişmektedir.



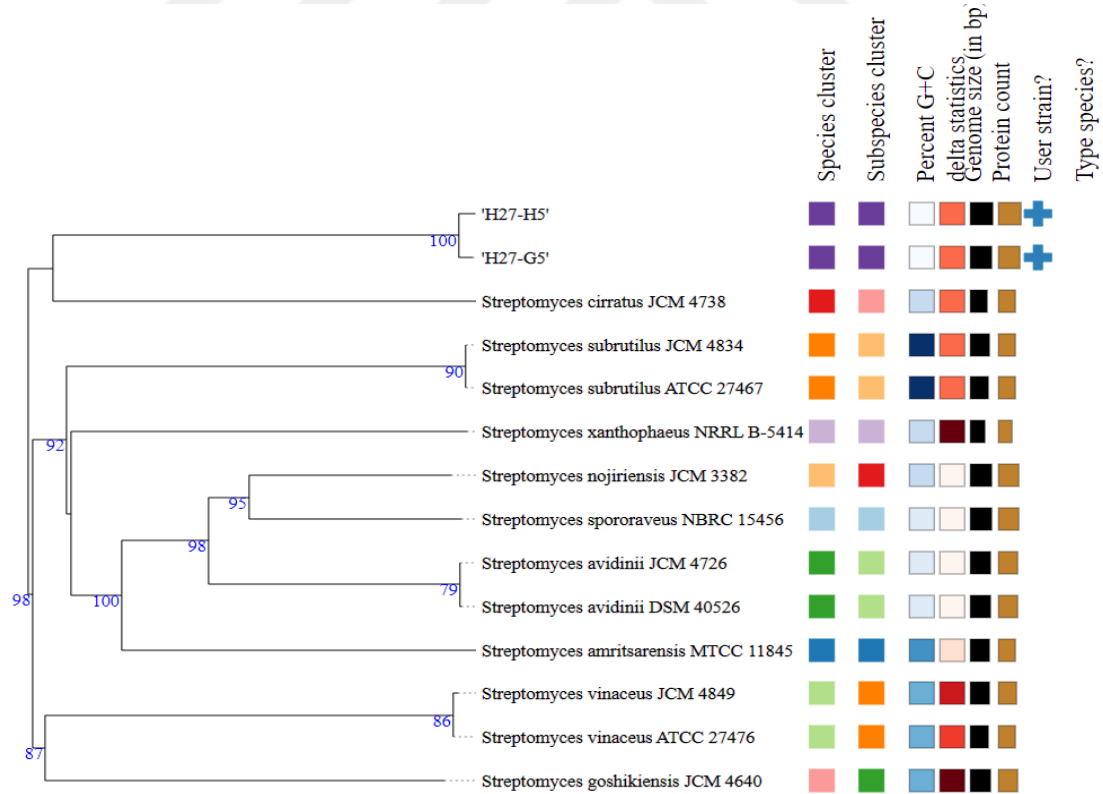
Şekil 4.60. *Streptomyces xanthophaeus* türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.002 nükleotid değişimini temsil etmektedir.



Şekil 4.61. *Streptomyces drozdowiczii* türünü temsil eden izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren neighbor-joining filogenetik ağacı. Ölçek çubuğu 0.005 nükleotid değişimini temsil etmektedir.

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Streptomyces* cinsine ait izolatlar G-G2, H10-C2, H27-D2, H27-G5, H27-H1, H27-H5, H27-S2, H34-AA3, H34-S4, H34-S5, H39-C1, H39-S7 ve PH10-H1'dir.

Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *Streptomyces cirratus* ile ilişkilendirilen izolatlardan *Streptomyces* spp. H27-G5 ve H27-H5'in tüm genomu bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 14 tür kümesi ortaya çıkmıştır. *Streptomyces* spp. H27-G5 ve H27-H5 izolatları, *Streptomyces cirratus* JCM 4738 suşu ile güvenilirlik değeri % 27.7 - 32.7 arasında değişebilen yaklaşık % 30.1-30.2'lik benzerlik göstermektedir. H27-G5 ve H27-H5 suşlarının bu tür ile arasındaki %GC farkı sırasıyla 0.55 ve 0.52'dir. Ağaçta görünen diğer türlerin H27-G5 ve H27-H5 suşları ile benzerlikleri %29,4 - 29,5 (*Streptomyces goshikiensis* JCM 4640) ve % 28.5 (*Streptomyces amritsarensis* MTCC 11845) arasında değişmektedir. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 88.3'tür. Delta (δ) değerleri 0,09 - 0,196 arası değişip; GC yüzdeleri %71,45 - 73,45 arasında; genom büyüklükleri 6,286,908 - 9,134,251 bp arasında; protein sayısı ise 5,684 - 8,814 arasında değişmektedir.



Şekil 4.62. *Streptomyces* cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. cirratus* olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomu bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 88.3'tir.

Tablo 4.76. *Streptomyces cirratus* ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H27-G5	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	30.2
	<i>Streptomyces goshikiensis</i> JCM 4640	29.5
	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	29.4
	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	29.3
	<i>Streptomycesnojiriensis</i> JCM 3382	29.1
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	29
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	29
	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	28.9
	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	28.9
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	28.9
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	28.7
	<i>Streptomyces amritsarensis</i> MTCC 11845	28.5
H27-H5	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	30.1
	<i>Streptomyces goshikiensis</i> JCM 4640	29.4
	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	29.3
	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	29.3
	<i>Streptomycesnojiriensis</i> JCM 3382	29
	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	28.9
	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	28.9
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	28.8
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	28.8
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	28.8
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	28.6
	<i>Streptomyces amritsarensis</i> MTCC 11845	28.5
H27-G5 H27-H5		95.9

Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. cirratus* olup benzer patternler içeren izolatların tüm genoma bağlı filogenetik ağaçları incelendiğinde H27-G5 ve H27-H5 beraber kümelenmiştir. İzolatlar arasında dDDH benzerlikliği incelendiğinde ise benzerlik % 95.9 çıkmıştır. Buna göre H27-G5 ve H27-H5 izolatlarının aynı türe düştüklerini ve yeni bir türü temsil ettikleri söylenebilir.

Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *Streptomyces oryiradicis* ile ilişkilendirilen *Streptomyces* spp. H10-C2, PH10-H1, H39-C1 ve H39-S7'nin tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 34 tür kümesi ortaya çıkmıştır. *Streptomyces* spp. H10-C2, PH10-H1, H39-C1 ve H39-S7 izolatlarının tüm genoma bağlı filogenetik analizinde, *Streptomyces oryiradicis* NEAU-C40T ve *Actinacidiphila soli* LAM7114 suşları ile güvenilirlik değeri % 20.7 - 25.8 arasında değişebilen neredeyse %23'lük benzerlik göstermektedir. H10-C2,

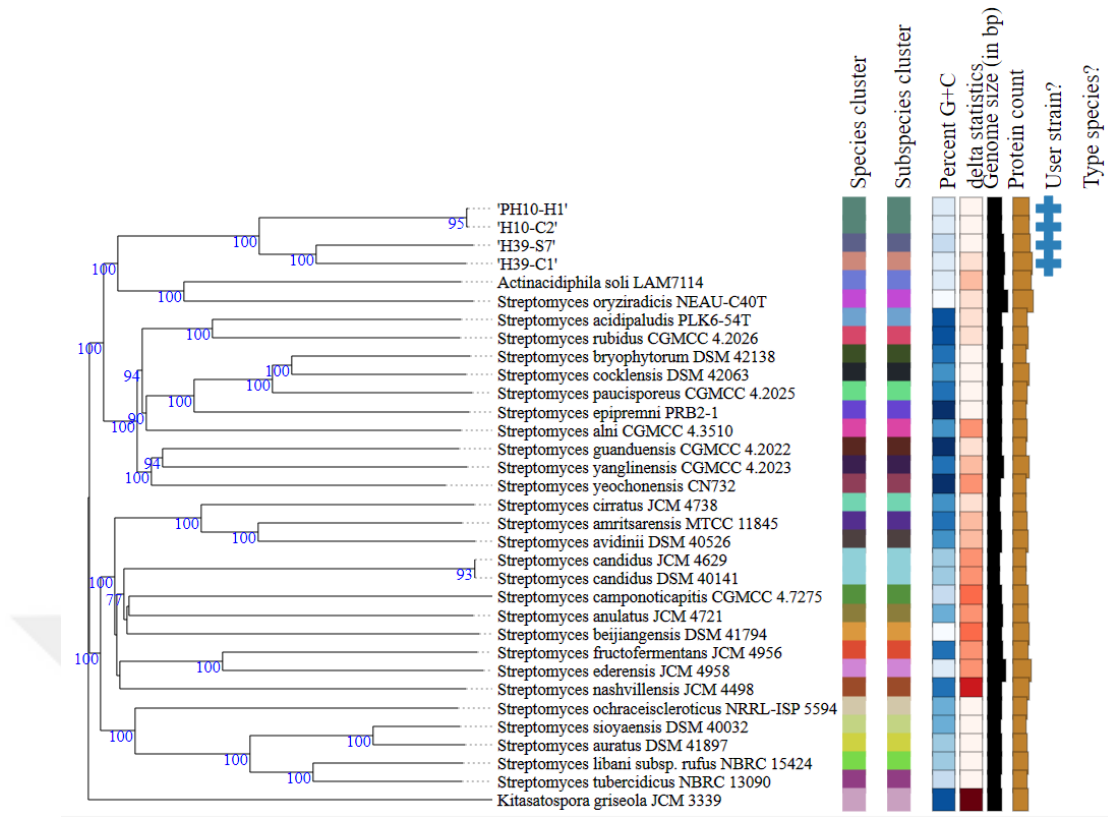
PH10-H1, H39-C1 ve H39-S7 suşlarının bu türler ile arasındaki %GC farkı sırasıyla ortalama 0.67, 0.2, 0.8 ve 1.27'dir. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 91'dir. Delta (δ) değerleri 0,115 - 0,268 arası değişip; GC yüzdeleri %69.48 - 73.58 arasında; genom büyüklükleri 7,223,965 - 11,516,514 bp arasında; protein sayısı ise 6,411 - 9,838 arasında değişmektedir.

Tablo 4.77. *Streptomyces oryzae* ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H10-C2	<i>Streptomyces oryzae</i> NEAU-C40T	23.4
	<i>Actinacidiphila soli</i> LAM7114	23.4
	<i>Streptomyces yeochonensis</i> CN732	23.2
	<i>Streptomyces alni</i> CGMCC 4.3510	23
	<i>Streptomyces bryophytorum</i> DSM 42138	22.6
	<i>Streptomyces paucisporeus</i> CGMCC 4.2025	22.6
	<i>Streptomyces cockleensis</i> DSM 42063	22.5
	<i>Streptomyces epipremni</i> PRB2-1	22.5
	<i>Streptomyces acidipaludis</i> PLK6-54T	22.5
	<i>Streptomyces yanglinensis</i> CGMCC 4.2023	22.4
	<i>Streptomyces ochraceiscleroticus</i> NRRL-ISP 5594	22
	<i>Streptomyces sioyaensis</i> DSM 40032	21.9
	<i>Streptomyces candidus</i> JCM 4629	21.8
	<i>Streptomyces anulatus</i> JCM 4721	21.7
	<i>Streptomyces edersensis</i> JCM 4958	21.6
	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	21.5
	<i>Streptomyces fructofermentans</i> JCM 4956	21.5
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	21.3
	<i>Kitasatospora griseola</i> JCM 3339	20.9
PH10-H1	<i>Streptomyces oryzae</i> NEAU-C40T	23.4
	<i>Actinacidiphila soli</i> LAM7114	23.4
	<i>Streptomyces yeochonensis</i> CN732	23.2
	<i>Streptomyces alni</i> CGMCC 4.3510	23.1
	<i>Streptomyces guanduensis</i> CGMCC 4.2022	22.6
	<i>Streptomyces bryophytorum</i> DSM 42138	22.6
	<i>Streptomyces paucisporeus</i> CGMCC 4.2025	22.5
	<i>Streptomyces cockleensis</i> DSM 42063	22.5
	<i>Streptomyces acidipaludis</i> PLK6-54T	22.5
	<i>Streptomyces eurocidicus</i> ATCC 27428	22.5
	<i>Streptomyces epipremni</i> PRB2-1	22.5
	<i>Streptomyces yanglinensis</i> CGMCC 4.2023	22.4
	<i>Streptomyces candidus</i> JCM 4629	21.8
	<i>Streptomyces anulatus</i> JCM 4721	21.7
	<i>Streptomyces edersensis</i> JCM 4958	21.6
	<i>Streptomyces fructofermentans</i> JCM 4956	21.5
	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	21.5
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	21.3
	<i>Kitasatospora griseola</i> JCM 3339	20.9

Tablo 4.77. *Streptomyces oryzae* ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları (devam)

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H39-C1	<i>Actinacidiphila soli</i> LAM7114	23.3
	<i>Streptomyces oryzae</i> NEAU-C40T	23
	<i>Streptomyces alni</i> CGMCC 4.3510	22.9
	<i>Streptomyces cockleensis</i> DSM 42063	22.7
	<i>Streptomyces acidipaludis</i> PLK6-54T	22.5
	<i>Streptomyces yanglinensis</i> CGMCC 4.2023	22.5
	<i>Streptomyces bryophytorum</i> DSM 42138	22.5
	<i>Streptomyces epipremni</i> PRB2-1	22.4
	<i>Streptomyces paucisporeus</i> CGMCC 4.2025	22.4
	<i>Streptomyces libani</i> subsp. <i>rufus</i> NBRC 15424	22
	<i>Streptomyces candidus</i> DSM 40141	21.9
	<i>Streptomyces candidus</i> JCM 4629	21.9
	<i>Streptomyces katrae</i> NRRL ISP-5550	21.8
	<i>Streptomyces auratus</i> DSM 41897	21.8
	<i>Streptomyces edersensis</i> JCM 4958	21.7
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	21.6
	<i>Streptomyces fructofermentans</i> JCM 4956	21.6
	<i>Streptomyces beijiensis</i> DSM 41794	21.5
	<i>Streptomyces anulatus</i> JCM 4721	21.5
	<i>Kitasatospora griseola</i> JCM 3339	20.9
H39-S7	<i>Streptomyces oryzae</i> NEAU-C40T	23
	<i>Actinacidiphila soli</i> LAM7114	23
	<i>Streptomyces alni</i> CGMCC 4.3510	22.7
	<i>Streptomyces paucisporeus</i> CGMCC 4.2025	22.4
	<i>Streptomyces acidipaludis</i> PLK6-54T	22.4
	<i>Streptomyces bryophytorum</i> DSM 42138	22.4
	<i>Streptomyces epipremni</i> PRB2-1	22.3
	<i>Streptomyces cockleensis</i> DSM 42063	22.3
	<i>Streptomyces amritsarensis</i> MTCC 11845	21.9
	<i>Streptomyces platensis</i> ATCC 23948	21.8
	<i>Streptomyces libani</i> subsp. <i>rufus</i> NBRC 15424	21.8
	<i>Streptomyces yangpuensis</i> fd2-tb	21.6
	<i>Streptomyces candidus</i> JCM 4629	21.6
	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	21.6
	<i>Streptomyces edersensis</i> JCM 4958	21.5
	<i>Streptomyces fructofermentans</i> JCM 4956	21.5
	<i>Streptomyces camponoticapitis</i> CGMCC 4.7275	21.3
	<i>Streptomyces beijiensis</i> DSM 41794	21.2
	<i>Streptomyces nashvillensis</i> JCM 4498	21.1
H10-C2	PH10-H1	99.8
H10-C2	H39-C1	36.1
H10-C2	H39-S7	34.1
PH10-H1	H39-C1	36.1
PH10-H1	H39-S7	34.1
H39-C1	H39-S7	43.4



Şekil 4.63. *Streptomyces* cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. oryzae radialis* olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 91.0'dir.

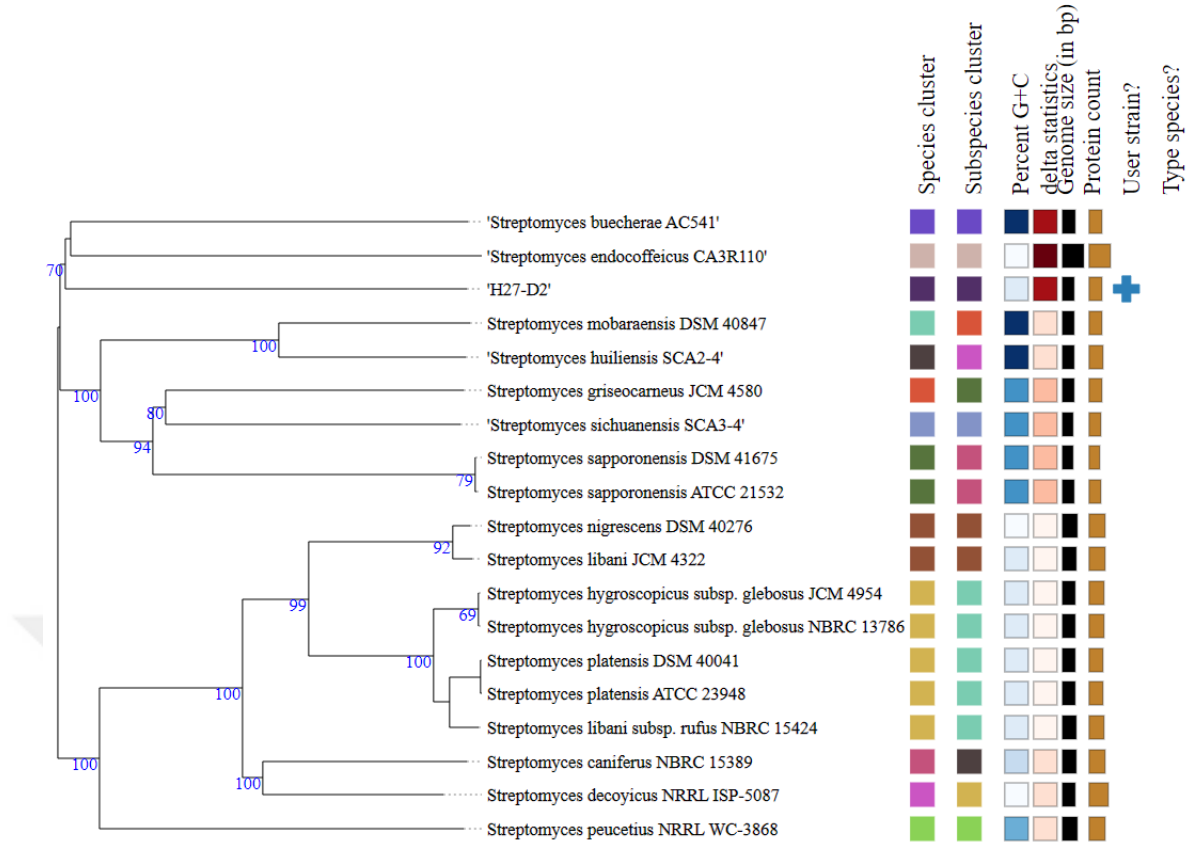
Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. oryzae radialis* olup benzer patternler içeren izolatların tüm genoma bağlı filogenetik ağaçları incelendiğinde PH10-H1, H10-C2, H39-S7 ve H39-C1 beraber kümelenmiştir. İzolatlar arasında dDDH benzerlikliği incelendiğinde H10-C2 ve PH10-H1 arasında benzerlik % 99.8; H10-C2 ve H39-C1 arasında benzerlik % 36.1; H10-C2 ve H39-S7 arasında benzerlik % 34.1; PH10-H1 ve H39-C1 arasında benzerlik % 36.1; PH10-H1 ve H39-S7 arasında benzerlik % 34.1; H39-C1 ve H39-S7 arasında benzerlik % 43.4 çıkmıştır. Buna göre H10-C2 ve PH10-H1 izolatlarının aynı türe düştüğü ve yeni bir türü temsil ettiği söylenebilir. Ayrıca, H39-C1 ve H39-S7 izolatları da yeni bir türü temsil etmektedir.

Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *Streptomyces sapporonensis* ile ilişkilendirilen *Streptomyces* sp. H27-D2'nin tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 19 tür kümesi ortaya çıkmıştır. *Streptomyces* sp. H27-D2 izolatı, *Streptomyces sapporonensis* ATCC suşu ile güvenilirlik değeri % 21.6 - 26.4 arasında değişebilen % 23.9'luk benzerlik göstermektedir. H27-D2

suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 1,23'tür. Ağaçta görünen diğer türlerin H27-D2 suşu ile benzerlikleri % 23.8 (*Streptomyces decoyicus* NRRL ISP-5087) ve % 22.9 (*Streptomyces platensis* DSM 40041) arasında değişmektedir. Filogenetik ağacın destek oranı % 84.3'tür. Delta (δ) değerleri 0,046 – 0,161 arası değişip; GC yüzdeleri %70,73 – 73,27 arasında; genom büyüklükleri 6,662,690 - 13,120,267 bp arasında; protein sayısı ise 5,471 - 10,447 arasında değişmektedir.

Tablo 4.78. *Streptomyces* sp. H27-D2 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H27-D2	<i>Streptomyces sapporonensis</i> ATCC 21532	23.9
	<i>Streptomyces decoyicus</i> NRRL ISP-5087	23.8
	<i>Streptomyces buecherae</i> AC541	23.7
	<i>Streptomyces sapporonensis</i> DSM 41675	23.6
	<i>Streptomyces griseocarneus</i> JCM 4580	23.5
	<i>Streptomyces mobaraensis</i> DSM 40847	23.4
	<i>Streptomyces sichuanensis</i> SCA3-4	23.4
	<i>Streptomyces endocoffeicus</i> CA3R110	23.3
	<i>Streptomyces huiliensis</i> SCA2-4	23.3
	<i>Streptomyces caniferus</i> NBRC 15389	23.3
	<i>Streptomyces peucetius</i> NRRL WC-3868	23.2
	<i>Streptomyces nigrescens</i> DSM 40276	23.2
	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> subsp. <i>glebosus</i> NBRC 13786	23.1
	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> subsp. <i>glebosus</i> JCM 4954	23
	<i>Streptomyces libani</i> subsp. <i>rufus</i> NBRC 15424	23
	<i>Streptomyces libani</i> JCM 4322	23
	<i>Streptomyces platensis</i> ATCC 23948	23
	<i>Streptomyces platensis</i> DSM 40041	22.9



Şekil 4.64. *Streptomyces* sp. H27-D2 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genomla bağlı filogenetik ağacı.

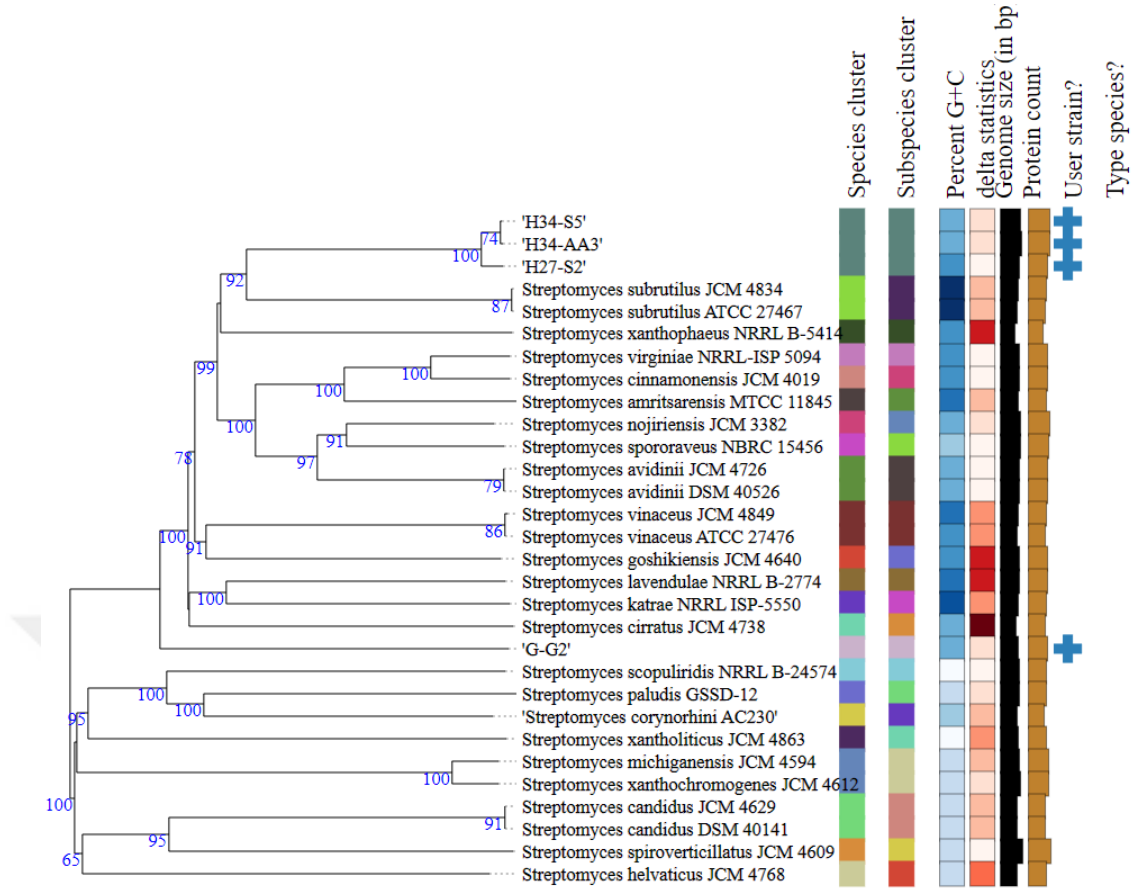
Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *Streptomyces subutilus* ile ilişkilendirilen *Streptomyces* spp. G-G2, H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5'in tüm genomla bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 30 tür kümesi ortaya çıkmıştır. *Streptomyces* spp. G-G2, H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5 izolatlarının tüm genomla bağlı filogenetik analizinde, *Streptomyces subutilus* ATCC 27467 suşu ile güvenilirlik değeri %25.0 - 36.8 arasında değişebilen neredeyse %27.4 (G-G2 için) ve %34.4'lük (H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5 için) benzerlik göstermektedir. G-G2, H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5 izolatlarının bu tür ile arasındaki %GC farkı sırasıyla ortalama 1.57, 1.02, 1.52 ve 1.33'tür. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 87,4'tür. Delta (δ) değerleri 0,106 - 0,218 arası değişip; GC yüzdeleri %70.39 - 73.45 arasında; genom büyüklükleri 6,286,908 - 9,655,459 bp arasında; protein sayısı ise 5,684 - 8,688 arasında değişmektedir.

Tablo 4.79. *Streptomyces subutilus* ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
G-G2	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	27.4
	<i>Streptomyces goshikiensis</i> JCM 4640	27.4
	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	27.3
	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	27.3
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	27.2
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	27.2
	<i>Streptomyces katrae</i> NRRL ISP-5550	27.2
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	27.2
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	27.2
	<i>Streptomyces lavendulae</i> NRRL B-2774	27
	<i>Streptomyces corynorhini</i> AC230	22.9
	<i>Streptomyces helveticus</i> JCM 4768	22.8
	<i>Streptomyces paludis</i> GSSD-12	22.8
	<i>Streptomyces candidus</i> DSM 40141	22.7
	<i>Streptomyces candidus</i> JCM 4629	22.7
	<i>Streptomyces xanthochromogenes</i> JCM 4612	22.7
	<i>Streptomyces michiganensis</i> JCM 4594	22.7
	<i>Streptomyces spiroverticillatus</i> JCM 4609	22.6
	<i>Streptomyces scopuliridis</i> NRRL B-24574	22.4
	<i>Streptomyces xantholiticus</i> JCM 4863	22.4
H27-S2	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	34.3
	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	34.3
	<i>Streptomycesnojiriensis</i> JCM 3382	32.4
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	32.1
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	32.1
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	32.1
	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	31.8
	<i>Streptomyces virginiae</i> NRRL-ISP 5094	31.7
	<i>Streptomyces amrithsarensis</i> MTCC 11845	31.4
	<i>Streptomyces goshikiensis</i> JCM 4640	30
	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	29.9
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	29.8
	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	29

Tablo 4.79. *Streptomyces subutilus* ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları (devam)

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H34-AA3	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	34.3
	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	34.2
	<i>Streptomycesnojiriensis</i> JCM 3382	32.5
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	32.3
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	32.2
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	32.2
	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	31.8
	<i>Streptomyces virginiae</i> NRRL-ISP 5094	31.6
	<i>Streptomyces amritsarensis</i> MTCC 11845	31.4
	<i>Streptomyces goshikiensis</i> JCM 4640	30
	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	29.9
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	29.8
	<i>Streptomyces lavendulae</i> NRRL B-2774	29.7
	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	29.1
H34-S5	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	34.4
	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	34.4
	<i>Streptomycesnojiriensis</i> JCM 3382	32.6
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	32.5
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	32.3
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	32.3
	<i>Streptomyces cinnamomensis</i> JCM 4019	31.9
	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	31.9
	<i>Streptomyces virginiae</i> NRRL-ISP 5094	31.7
	<i>Streptomyces amritsarensis</i> MTCC 11845	31.5
	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	30.1
	<i>Streptomyces goshikiensis</i> JCM 4640	30.1
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	30
	<i>Streptomyces lavendulae</i> NRRL B-2774	29.8
G-G2	H27-S2	27.9
G-G2	H34-AA3	27.8
G-G2	H34-S5	27.9
H27-S2	H34-AA3	90.2
H27-S2	H34-S5	90.2
H34-AA3	H34-S5	99.4



Şekil 4.65. *Streptomyces* cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. subutilus* olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 87.4'tür.

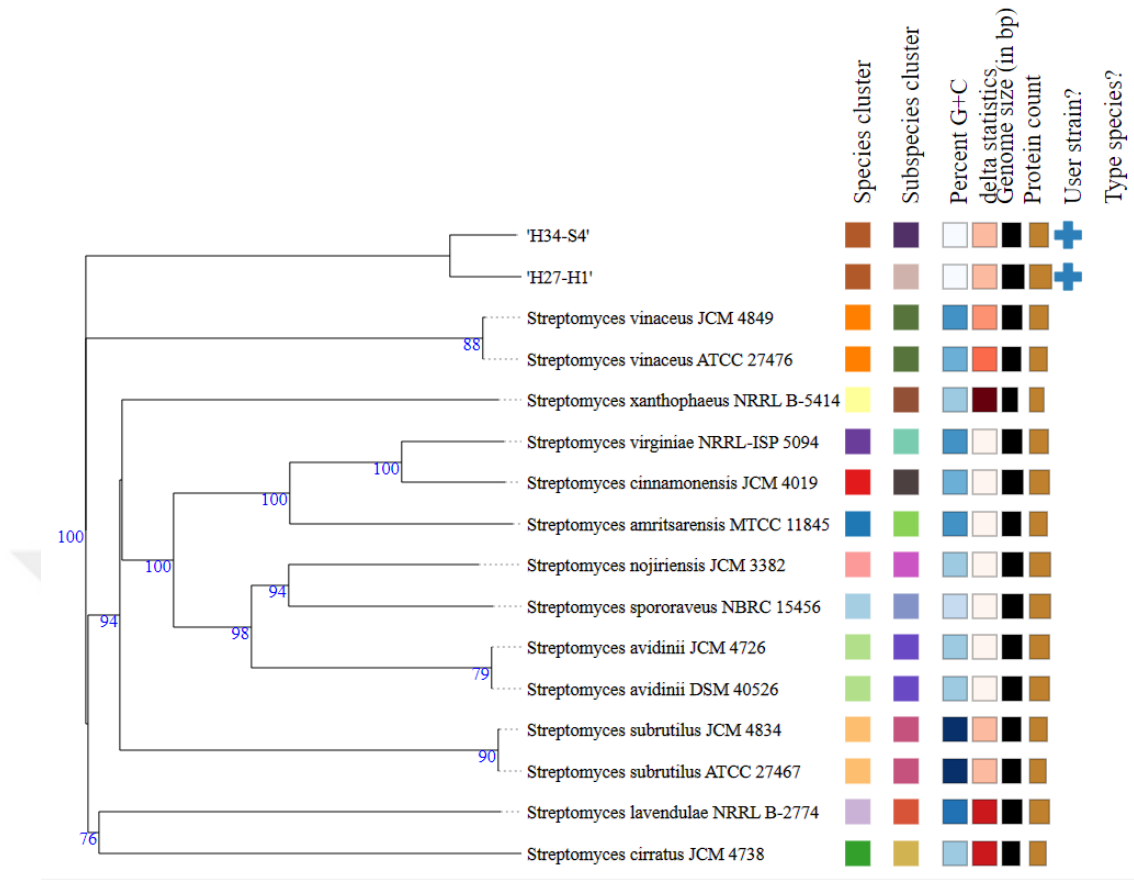
Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. subutilus* olup benzer patternler içeren izolatların tüm genoma bağlı filogenetik ağaçları incelendiğinde H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5 beraber kümelenirken, G-G2 ayrı kümelenmiştir. İzolatlar arasında dDDH benzerlikliği incelendiğinde H34-AA3 ve H34-S5 arasında benzerlik %99.4; H34-AA3 ve H27-S2 arasında benzerlik %90.2; H34-AA3 ve G-G2 arasında benzerlik %27.8; H34-S5 ve H27-S2 arasında benzerlik %90.2; H34-S5 ve G-G2 arasında benzerlik %27.9; H27-S2 ve G-G2 arasında benzerlik %27.9 çıkmıştır. Buna göre H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5 izolatları aynı türe düşmekte ve yeni bir türü temsil etmektedir. Ayrıca G-G2 izolatı da bunlardan farklı bir yeni bir türü temsil etmektedir.

Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *Streptomyces vinaceus* ile ilişkilendirilen *Streptomyces* spp. H27-H1 ve H34-S4'ün tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 16 tür kümesi ortaya çıkmıştır. *Streptomyces* spp.

H27-H1 ve H34-S4 izolatlarının tüm genoma bağlı filogenetik analizinde, *Streptomyces vinaceus* ATCC 27476 suşu ile güvenilirlik değeri % 26.7 - 31.7 arasında değişebilen yaklaşık % 29.0 - 29.2'lik benzerlik göstermektedir. H27-H1 ve H34-S4 izolatlarının bu tür ile arasındaki %GC farkı sırasıyla 1.29 ve 1.09'dur. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 84,9'dur. Delta (δ) değerleri 0,07 - 0,2 arası değişip; GC yüzdeleri %71,05 – 73,45 arasında; genom büyüklükleri 6,286,908 - 8,945,399 bp arasında; protein sayısı ise 5,684 - 8,434 arasında değişmektedir.

Tablo 4.80. *Streptomyces vinaceus* ile ilişkilendirilen izolatların birbirleri ve filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H27-H1	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	29
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	28.9
	<i>Streptomycesnojiriensis</i> JCM 3382	28.9
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	28.8
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	28.8
	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	28.8
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	28.7
	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	28.7
	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	28.7
	<i>Streptomyces lavendulae</i> NRRL B-2774	28.6
	<i>Streptomyces amritsarensis</i> MTCC 11845	28.4
	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	28
H34-S4	<i>Streptomyces vinaceus</i> ATCC 27476	29.2
	<i>Streptomyces vinaceus</i> JCM 4849	29.1
	<i>Streptomycesnojiriensis</i> JCM 3382	29.1
	<i>Streptomyces spororaveus</i> NBRC 15456	29
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	28.9
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	28.9
	<i>Streptomyces subutilus</i> ATCC 27467	28.8
	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	28.8
	<i>Streptomyces subutilus</i> JCM 4834	28.7
	<i>Streptomyces cinnamomensis</i> JCM 4019	28.6
	<i>Streptomyces virginiae</i> NRRL-ISP 5094	28.6
	<i>Streptomyces cinnamomensis</i> DSM 40803	28.6
	<i>Streptomyces amritsarensis</i> MTCC 11845	28.5
	<i>Streptomyces lavendulae</i> NRRL B-2774	28.5
H27-H1	H34-S4	77.2



Şekil 4.66. *Streptomyces* cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. vinaceus* olup benzer patternler içeren izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 84.9'tir.

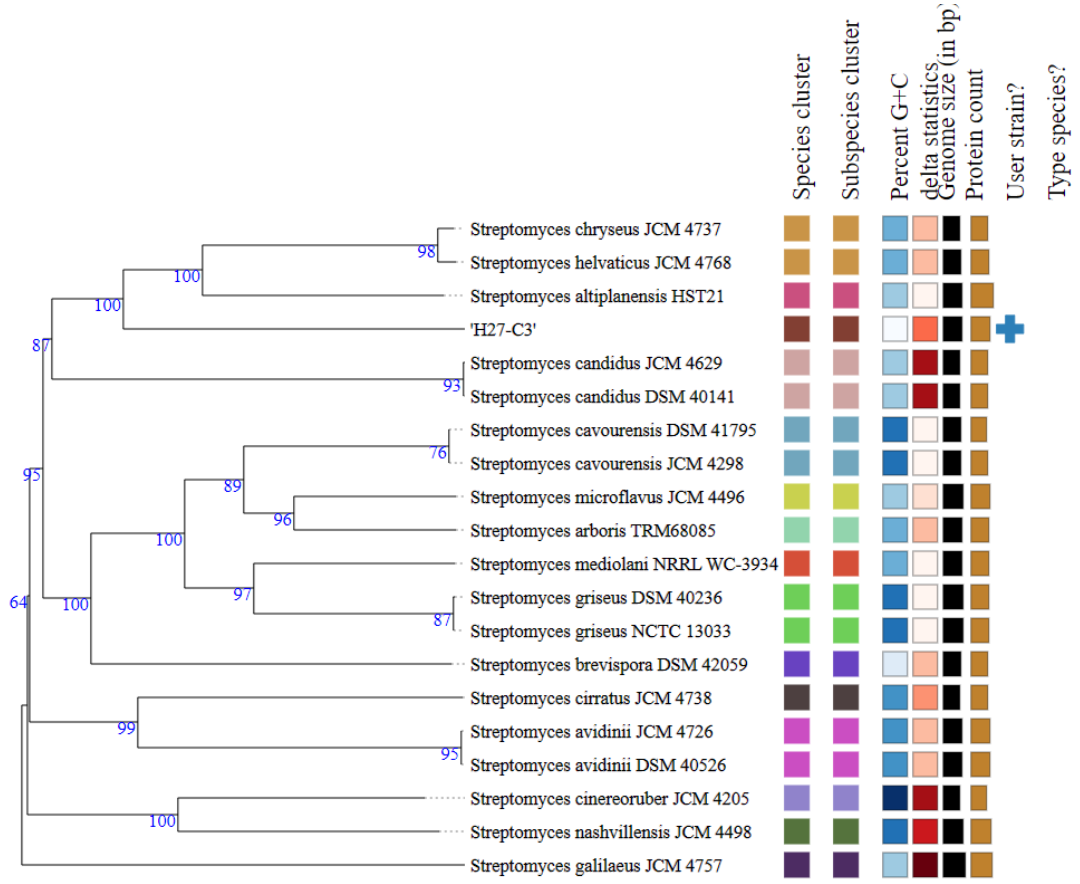
Streptomyces cinsine ait izolatlardan en yakın akrabası *S. vinaceus* olup benzer patternler içeren izolatların tüm genoma bağlı filogenetik ağaçları incelendiğinde H27-H1 ve H34-S4 beraber kümelenmiştir. İzolatlar arasında dDDH benzerlikliği incelendiğinde ise benzerlik % 77.2 çıkmıştır. Bu durumda H27-H1 ve H34-S4 izolatlarının aynı türe düştükleri ve yeni bir türü temsil ettikleri söylenebilir.

Ankarktika Horseshoe Adası'ndan tüm genomu dizilenmiş örneklerden *Streptomyces* cinsine ait diğer bir izolat ise H27-C3'tür. *Streptomyces* sp. H27-C3 izolatının TYGS platformunda tüm genoma bağlı filogenetik ağacı oluşturulduğunda 20 tür kümesi ortaya çıkmıştır. *Streptomyces* sp. H27-C3 izolatının *Streptomyces altiplanensis* HST21 suşu ile güvenilirlik değeri % 26.3 - 31.2 arasında değişebilen % 28.7'lik benzerlik göstermektedir. H27-C3 suşunun bu tür ile arasındaki %GC farklı 1.1'dir. 16S rRNA'ya bağlı filogenetik ağaç, tüm genoma bağlı filogenetik

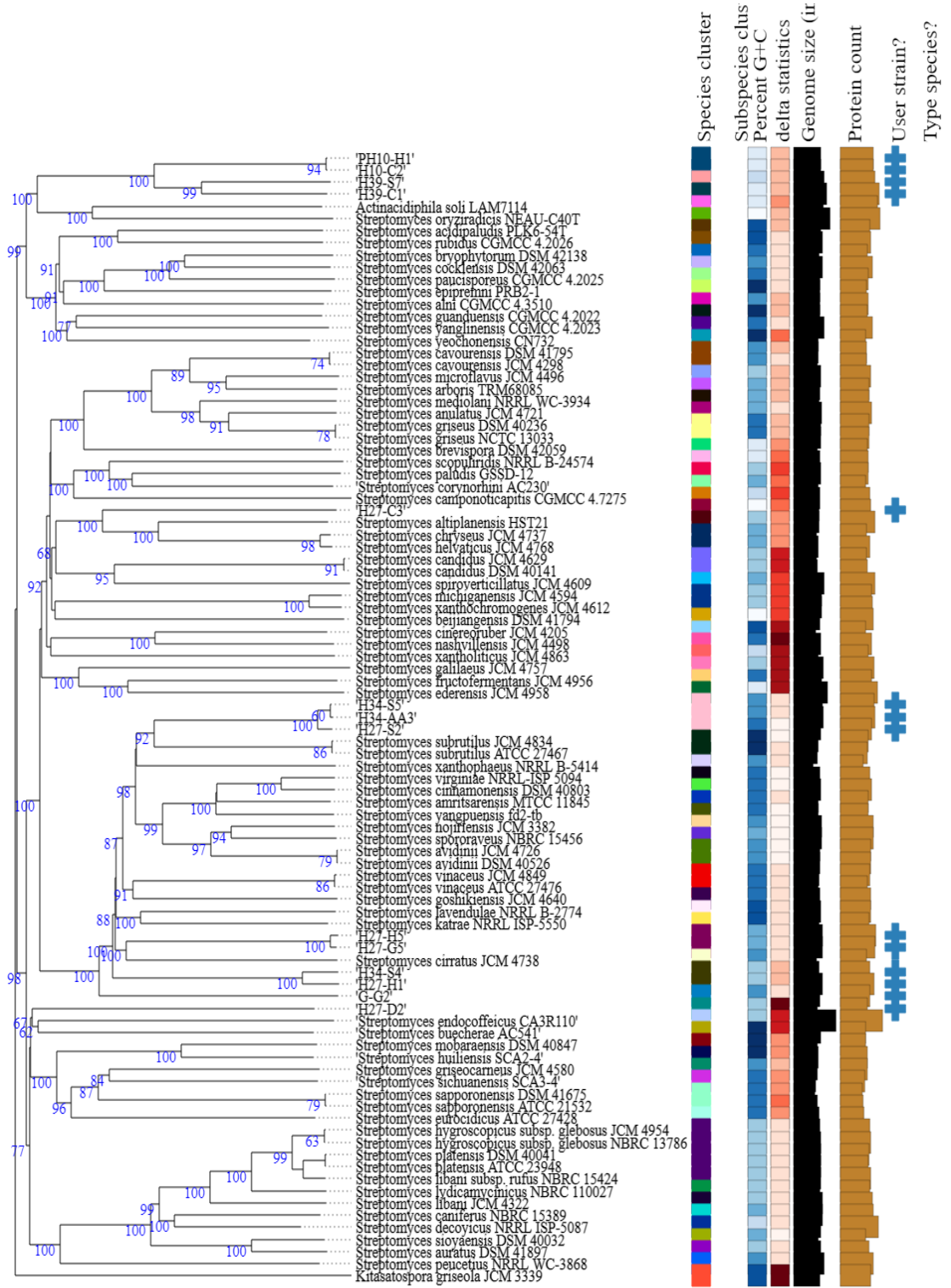
ağaç ve dDDH benzerlikleri incelendiğinde, H27-C3 izolatının en yakın tüm akrabalarının *Streptomyces* cinsine ait olduğu görülmektedir. Bu durumda, 16S rRNA dizi analizine göre en yakın akrabası *Pilimelia* olan ancak en yakın akrabası dışında tamamiyle *Streptomyces* türleriyle kümelenen H27-C3 izolatının kesin olarak bir *Streptomyces* türü olduğu ve dolayısıyla sadece 16S rRNA geni dizilenen H27-A1 izolatının da *Streptomyces* türü olabileceği düşünülmektedir. Bu durumu H27-C3 ve H27-A1 izolatlarının morfolojik özellikleri de desteklemektedir. Dolayısıyla bu tezde H27-C3 izolatı *Streptomyces* sp. H27-C3 olarak yeniden adlandırılmıştır. Ağaçta görünen diğer türlerin H27-C3 suşu ile benzerlikleri % 27.5 (*Streptomyces chryseus* JCM 4737) ve % 22.1 (*Streptomyces galilaeus* JCM 4757) arasında değişmektedir. Filogenetik ağacın destek oranı ortalama olarak % 92,7'dir. Delta (δ) değerleri 0,08 - 0,181 arası değişip; GC yüzdeleri % 69,89 - 73,06 arasında; genom büyüklükleri 7,010,414 - 9,281,418 bp arasında; protein sayısı ise 6,408 - 8,711 arasında değişmektedir.

Tablo 4.81. *Streptomyces* sp. H27-C3 izolatının filogenetik akrabaları ile yapılan dDDH analizi sonuçları

İzolat	Karşılaştırıldığı Tür	dDDH (%)
H27-C3	<i>Streptomyces altiplanensis</i> HST21	28.7
	<i>Streptomyces chryseus</i> JCM 4737	27.5
	<i>Streptomyces helveticus</i> JCM 4768	27.3
	<i>Streptomyces brevispora</i> DSM 42059	24
	<i>Streptomyces cavourensis</i> DSM 41795	23.7
	<i>Streptomyces cavourensis</i> JCM 4298	23.6
	<i>Streptomyces mediolani</i> NRRL WC-3934	23.5
	<i>Streptomyces griseus</i> DSM 40236	23.5
	<i>Streptomyces griseus</i> NCTC 13033	23.5
	<i>Streptomyces microflavus</i> JCM 4496	23.4
	<i>Streptomyces arboris</i> TRM68085	23.4
	<i>Streptomyces candidus</i> JCM 4629	23.3
	<i>Streptomyces candidus</i> DSM 40141	23.3
	<i>Streptomyces cinereoruber</i> JCM 4205	23
	<i>Streptomyces nashvillensis</i> JCM 4498	22.8
	<i>Streptomyces cirratus</i> JCM 4738	22.6
	<i>Streptomyces avidinii</i> DSM 40526	22.6
	<i>Streptomyces avidinii</i> JCM 4726	22.5
	<i>Streptomyces galilaeus</i> JCM 4757	22.1



Şekil 4.67. *Streptomyces* sp. H27-C3 izolatının TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı.



Şekil 4.68. *Streptomyces* cinsine ait izolatların cins içerisindeki filogenetik ilişkisini gösteren TYGS sunucusunda oluşturulan tüm genoma bağlı filogenetik ağacı. Nodlardaki sayılar 100 tekrar sonucu %60'tan yüksek olan pseudo-bootstrap değerlerini göstermektedir. Ortalama destek oranı % 85.7'dir.

Streptomyces cinsine ait izolatların beraber olduğu tüm genoma bağlı filogenetik ağaçları incelendiğinde (Şekil 4.68), PH10-H1, H10-C2, H39-S7 ve H39-

C1 beraber; H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5 beraber; H27-H5 ve H27-G5 beraber; H34-S4 ve H27-H1 beraber kümelenirken, G-G2, H27-D2 ve H27-C3 diğerlerinden ayrı kümelenmiştir. Bunlar arasından PH10-H1, H10-C2, H39-S7 ve H39-C1 bir klad; H27-C3 bir klad; H27-D2 bir klad; H27-S2, H34-AA3, H34-S5, H34-S4, H27-H1 ve G-G2 ayrı bir klad içerisinde beraber kümelenmişlerdir. Bu izolatlar arasından diğer *Streptomyces* üyelerinden ayrılan H27-C3 ve H27-D2 izolatları göze çarpmaktadır. Bu izolatların dDDH benzerlikliği incelendiğinde H27-C3 ve H27-H1 arasında benzerlik % 23.3; H27-C3 ve H34-S4 arasında benzerlik % 23.0; H27-C3 ve H27-S2 arasında benzerlik % 23.2; H27-C3 ve H34-AA3 arasında benzerlik % 23.2; H27-C3 ve H34-S5 arasında benzerlik % 23.1; H27-C3 ve PH10-H1 arasında benzerlik % 21.9; H27-C3 ve H10-C2 arasında benzerlik % 21.8; H27-C3 ve H39-S7 arasında benzerlik % 21.5; H27-C3 ve H39-C1 arasında benzerlik % 21.8; H27-C3 ve G-G2 arasında benzerlik % 23.0; H27-C3 ve H27-D2 arasında benzerlik % 23.2; H27-C3 ve H27-H5 arasında benzerlik % 22.9; H27-C3 ve H27-G5 arasında benzerlik % 22.8 çıkmıştır. Diğer yandan H27-D2'nin PH10-H1 ile benzerliği % 23.8; H10-C2 ile benzerliği % 23.7; H39-S7 ile benzerliği % 23.3; H39-C1 ile benzerliği % 23.5; H27-S2 ile benzerliği % 22.6; H34-AA3 ile benzerliği % 22.6; H34-S5 ile benzerliği % 22.6; H27-H5 ile benzerliği % 22.6; H27-G5 ile benzerliği % 22.6; H34-S4 ile benzerliği % 22.4; H27-H1 ile benzerliği % 22.4 ve G-G2 ile benzerliği % 22.6 çıkmıştır.

4.13. İzole Edilen Aktinobakteri Suşlarının Nümerik Karakterizasyonu

16S rRNA dizi analizi ve tüm genom dizi analizinin incelenmesinin ardından yeni tür olma potansiyeli yüksek 9 aktinobakteriyel izolat fenotipik olarak karakterize edilmiştir. İzolatlar karbon kaynağı kullanma, azot kaynağı kullanma, sıcaklık toleransı, pH toleransı, tuz toleransı, degradasyon testleri ve biyokimyasal özellikleri açısından 80 karakter bakımından analiz edilmiştir (Tablo 4.82). Ayrıca 7 aktinobakteriyel izolat farklı karbon kaynaklarını kullanabilme ve inhibitör maddeler varlığında gelişebilme gibi özellikleri açısından Biolog GenIII MicroPlate™ mikropalakaları kullanılarak analiz edilmiştir (Tablo 4.84). Bunun yanı sıra, 10 çeşit besiyerinde gelişimi, substrat miselyum, hava miselyumu ve çözünebilir pigment üretimi açısından incelenmiştir (Tablo 4.83).

Tablo 4.82. *Streptomyces* sp. H10-C2, *Amycolatopsis* sp. H20-H5, *Streptomyces* sp. H27-H1, *Streptomyces* sp. H27-H5, *Streptomyces* sp. H27-S2, *Streptomyces* sp. H34-S4, *Streptomyces* sp. H39-C1, *Streptomyces* sp. H39-S7 ve *Streptomyces* sp. PH10-H1 izolatlarının fenotipik karakterizasyon sonuçları

	H39 C1	H10 C2	H27 H5	H27 S2	H27 H1	H34 S4	PH10 H1	H39 S7	H20 H5
Azot Kaynakları									
L-Alanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Asparajin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Fenilalanin	+	+	-	-	-	-	+	+	+
L-Glisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Hidroksiprolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Histidin	+	-	+	+	+	+	-	+	+
L-İzolösin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Metionin	+	+	+	-	-	-	+	+	+
L-Prolin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Serin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Sistein	-	-	-	+	+	+	-	+	+
L-Tirozin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Treonin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Karbon Kaynakları									
D-Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Arabinoz	-	+	+	+	+	+	-	+	-
Dekstran	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dekstrin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Fruktoz	-	-	-	+	+	+	-	-	-
D-Galaktoz	+	+	+	-	+	+	-	+	+
D-Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannoz	+	+	+	+	+	+	-	-	+
D-Meleziyoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D-Melibioz	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-Raffinoz	-	+	+	+	+	+	-	+	+
D-Sellobioz	+	+	-	+	+	-	-	-	-
İnülin	+	+	-	-	-	-	+	+	+
L-Glutamin	-	-	+	+	+	-	-	-	-
L-Ramnoz	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Sorboz	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltoz	+	+	+	+	+	-	+	+	-
myo-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sükroz	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Süksinik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Degredasyon Testleri									
Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipoksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jelatin	+	+	-	+	-	-	-	+	+
Kazein	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kitin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ksilen	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nişasta	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Tween 20	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Tween 40	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Tablo 4.82. *Streptomyces* sp. H10-C2, *Amycolatopsis* sp. H20-H5, *Streptomyces* sp. H27-H1, *Streptomyces* sp. H27-H5, *Streptomyces* sp. H27-S2, *Streptomyces* sp. H34-S4, *Streptomyces* sp. H39-C1, *Streptomyces* sp. H39-S7 ve *Streptomyces* sp. PH10-H1 izolatlarının fenotipik karakterizasyon sonuçları (devam)

	H39 C1	H10 C2	H27 H5	H27 S2	H27 H1	H34 S4	PH10 H1	H39 S7	H20 H5
Degredasyon Testleri									
Guanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipoksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jelatin	+	+	-	+	-	-	-	+	+
Kazein	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kitin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ksantin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ksilen	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nişasta	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Tween 20	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Tween 40	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Tolerans Testleri									
Sıcaklık (°C)									
4°C	-	-	-	-	+	+	-	-	-
10°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28°C	-	-	+	+	+	-	-	-	-
37°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH									
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	-	+	+	+	+	+	+	+	+
10	-	+	+	+	+	+	+	+	-
11	-	+	+	+	+	+	-	-	-
12	-	-	+	+	+	+	-	-	-

Tablo 4.82. *Streptomyces* sp. H10-C2, *Amycolatopsis* sp. H20-H5, *Streptomyces* sp. H27-H1, *Streptomyces* sp. H27-H5, *Streptomyces* sp. H27-S2, *Streptomyces* sp. H34-S4, *Streptomyces* sp. H39-C1, *Streptomyces* sp. H39-S7 ve *Streptomyces* sp. PH10-H1 izolatlarının fenotipik karakterizasyon sonuçları (devam)

	H39 C1	H10 C2	H27 H5	H27 S2	H27 H1	H34 S4	PH10 H1	H39 S7	H20 H5
Tolerans Testleri									
NaCl (% , w/v)									
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	+	+	+	+	-	+	+
4	-	-	+	+	+	+	-	-	+
5	-	-	+	-	+	-	-	-	+
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Biyokimyasal Testler									
Allantoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Askülin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	-	-	+	+	+	-
Nitrat	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Üre	-	-	+	-	+	+	-	-	-

Tablo 4.83. *Streptomyces* sp. H10-C2, *Amycolatopsis* sp. H20-H5, *Streptomyces* sp. H27-H1, *Streptomyces* sp. H27-H5, *Streptomyces* sp. H27-S2, *Streptomyces* sp. H34-S4, *Streptomyces* sp. H39-C1, *Streptomyces* sp. H39-S7 ve *Streptomyces* sp. PH10-H1 izolatlarının 10 farklı besi ortamında gelişim özellikleri

Karakter	ISP2	ISP3	ISP4	ISP5	ISP6	ISP7	BEN.	CZA.	NUT.	TSA.
1 Gel.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Mis.	K. kahve	K. yeşil	Sarı	K. sarı	Sarı	K. kahve	Kahve	A. gri	A. kahve	K. sarı
Spor.	A. gri	A. gri	A. gri	A. yeşil	-	A. yeşil	Beyaz	Gri	-	-
Pigm.	A. kahve	A. kahve	-	Sarı	-	Sarı	A. kahve	-	A. kahve	-
2 Gel.	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++
Mis.	A. yeşil	A. gri/yeşil	A. kahve	A. kahve	Gri	A. kahve	A. kahve	Gri	A. kahve	A. kahve
Spor.	Gri/pembe	A. gri	Beyaz/a.yeşil	A. yeşil	-	Gri/kahve	A. yeşil	Açık gri	-	-
Pigm.	-	A. kahve	-	-	K. kahve	-	-	-	-	-
3 Gel.	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+	+++	+++
Mis.	Gri/yeşil	A. kahve	A. kahve	Sarı	Gri/yeşil	K. sarı	Sarı	Gri	K. sarı	K. krem
Spor.	Gri/pembe	Gri/pembe	Gri/pembe	Sarı/beyaz	A. gri	Gri/k. yeşil	Beyaz	Gri/kahve	Beyaz/a.yeşil	Krem
Pigm.	-	A. kahve	-	-	Kahve	-	-	-	-	-
4 Gel.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++
Mis.	Gri/yeşil	Gri/yeşil	K. krem	A. yeşil	K. krem	Yeşil	Gri/a.yeşil	Gri	K. krem	Krem
Spor.	Gri/pembe	Gri/pembe	Gri/pembe	-	-	-	-	Beyaz/pembe	-	-
Pigm.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 Gel.	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++
Mis.	A. kahve	K. krem	K. krem	A. yeşil	K. sarı	K. krem	A. sarı	Beyaz	A. sarı	Krem
Spor.	Gri/pembe	A. sarı	Sarı/beyaz	A. yeşil	-	-	-	-	-	-
Pigm.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 Gel.	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+	+++	+++
Mis.	K. kahve	K. kırmızı	Krem	A. yeşil	Gri/a.yeşil	K. krem	Gri/pembe	Beyaz	A. sarı	K. krem
Spor.	Beyaz	Beyaz	Beyaz	A. yeşil	A. gri	Gri/beyaz	-	Beyaz	-	-
Pigm.	-	K. kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-
7 Gel.	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+	+++	+++
Mis.	Kahve	K. krem	K. krem	A. yeşil	K. krem	K.gri/yeşil	K. krem	Beyaz	K. sarı	Krem
Spor.	A. gri	A. gri	Sarı/gri	A. yeşil	Mavi/gri	Gri/yeşil	-	-	-	-
Pigm.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8 Gel.	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	++	+++	+++
Mis.	K. krem	K. kahve	K. krem	K. krem	Siyah	K. krem	K. krem	A. yeşil	A. gri	Yeşil/sarı
Spor.	A. gri	A. yeşil	Beyaz/pembe	Beyaz	-	A. gri	-	A. yeşil	-	-
Pigm.	-	-	-	-	K. kahve/siyah	-	-	-	Kahve	A. kahve
9 Gel.	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	++	+++	+++
Mis.	A. kahve	K. krem	Sarı	Sarı	K. sarı	K. kahve	K. sarı	Beyaz	K. sarı	K. krem
Spor.	Beyaz	Beyaz	Beyaz	Beyaz	-	Beyaz	Beyaz	Beyaz	-	-
Pigm.	-	-	-	-	-	Kahve	-	-	-	-

1. *Streptomyces* sp. H39-C1, **2.** *Streptomyces* sp. H10-C2, **3.** *Streptomyces* sp. H27-H5, **4.** *Streptomyces* sp. H27-S2, **5.** *Streptomyces* sp. H27-H1, **6.** *Streptomyces* sp. H34-S4, **7.** *Streptomyces* sp. PH10-H1, **8.** *Streptomyces* sp. H39-S7, **9.** *Amycolatopsis* sp. H20-H5; **Gel.:** gelişim, **Mis.:** substrat miselyumu rengi, **Spor.:** hava miselyumu rengi, **Pigm.:** çözünebilir pigment; **Ben.:** Bennett's Agar, **Cza.:** Czapek's Dox Agar, **Nut.:** Nutrient Agar, **Tsa.:** Tryptic Soy Agar

Tablo 4.84. *Streptomyces* sp. H27-A1, *Arthrobacter* sp. H35-D1, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-MC1, *Rhodococcus* sp. H36-A4 ve *Streptomyces* sp. G-G2 izolatlarının Biolog GenIII MicroPlate™ mikropalakalarda fenotipik karakterizasyon sonuçları

	H27 A1	H35 D1	H14 L1	H35 MC1	H37 C3	H36 A4	G G2
Karbon kaynağı kullanımı							
D-Rafinoz	-	-	-	-	-	+	-
α -D-Glikoz	-	-	+	+	+	+	+
D-Sorbitol	-	+	-	-	W	+	-
Jelatin	-	+	-	+	+	-	-
Pektin	-	+	+	+	+	W	-
p-Hidroksi-Fenilasetik Asit	-	W	+	W	+	-	-
Tween 40	-	+	-	+	+	+	+
Dekstrin	-	-	W	+	+	W	-
α -D-Laktoz	-	-	-	-	+	-	-
D-Mannose	-	W	+	+	+	+	-
D-Mannitol	-	+	-	+	+	+	-
Glisil-L-Prolin	-	W	+	+	-	-	+
D-Galakturonik Asit	-	-	+	-	-	-	+
Metil Piruvat	-	-	+	-	+	-	-
γ -Amino-Butirik Asit	-	W	-	-	+	-	-
D-Maltoz	-	W	-	+	+	-	-
D-Melibiyoz	-	-	+	-	W	-	-
D-Fruktoz	-	+	+	-	+	+	W
D-Arabitol	-	+	-	+	-	+	W
L-Alanin	-	-	+	-	-	-	-
L-Galaktonik Asit Lakton	-	-	-	-	-	-	-
D-Laktik Asit Metil Ester	-	+	+	W	W	+	-
α -Hidroksi Bütirik Asit	-	W	-	-	W	-	-
D-Trehaloz	-	-	-	-	+	-	+
β -Metil-D-Glukosit	-	-	-	-	+	-	-
D-Galaktoz	-	W	+	+	+	-	+
Myo-İnositol	+	W	-	+	-	-	+
L-Arginin	-	-	+	-	-	-	W
D-Glukonik Asit	-	-	-	W	+	-	+
L-Laktik Asit	-	+	-	+	+	-	+
β -Hidroksi-D,L-Butirik Asit	-	W	-	+	W	+	-
D-Sellobiyoz	-	W	-	-	+	-	-
D-salisin	-	-	-	-	+	-	-
3-Metil Glikoz	-	W	+	-	-	W	W
Gliserol	-	+	-	W	+	-	+
L-Aspartik Asit	-	-	+	-	+	-	-

Tablo 4.84. *Streptomyces* sp. H27-A1, *Arthrobacter* sp. H35-D1, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-MC1, *Rhodococcus* sp. H36-A4 ve *Streptomyces* sp. G-G2 izolatlarının Biolog GenIII MicroPlate™ mikroplakalarda fenotipik karakterizasyon sonuçları (devam)

	H27 A1	H35 D1	H14 L1	H35 MC1	H37 C3	H36 A4	G G2
Karbon kaynağı kullanımı							
D-Glukuronik Asit	-	+	+	W	-	-	W
Sitrik asit	-	-	-	-	W	W	-
α -Keto-Butirik Asit	-	+	+	-	-	-	-
Gentiobiyoz	-	W	W	-	+	-	W
N-Asetil-D-Glukosamin	-	+	-	+	+	-	+
D-fukoz	-	-	W	-	-	-	-
D-Glikoz-6-PO ₄	-	W	+	-	-	-	-
L-Glutamik Asit	-	W	-	-	+	-	+
Glukuronamit	-	+	+	W	-	W	+
α -Keto-Glutarik Asit	-	-	W	-	-	+	-
Asetoasetik Asit	-	+	-	+	+	+	+
Sakaroz	-	W	-	+	+	W	-
N-Asetil- β -D-Mannosamin	-	+	-	W	W	-	+
L-fukoz	-	+	+	+	-	W	-
D-Fruktoz-6-PO ₄	-	W	+	-	-	-	+
L-Histidin	+	-	-	+	-	-	+
Musik asit	-	W	+	W	-	-	-
D-Malik Asit	-	-	-	-	-	W	+
propiyonik asit	-	+	-	+	+	+	-
D-Turanoz	-	W	-	+	+	-	+
N-Asetil-D-Galaktozamin	-	-	-	-	-	-	-
L-Ramnoz	-	-	-	-	+	W	-
D-Aspartik Asit	-	-	+	-	-	-	+
L-Piroglütamik Asit	-	-	-	-	-	-	+
Kinik asit	-	-	-	-	-	-	-
L-Malik Asit	-	-	+	+	+	+	-
Asetik asit	-	+	-	+	+	+	W
Stachyose	-	-	-	-	-	-	-
N-Asetil-Nöraminik Asit	-	+	-	+	-	-	-
inosin	-	-	-	-	+	-	-
D-Serin	-	-	-	-	-	-	-
L-Serin	-	-	+	W	-	-	-
D-Sakarik Asit	-	-	-	-	-	W	-
Bromo-Süksinik Asit	-	-	-	+	+	+	-
Formik asit	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.84. *Streptomyces* sp. H27-A1, *Arthrobacter* sp. H35-D1, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-MC1, *Rhodococcus* sp. H36-A4 ve *Streptomyces* sp. G-G2 izolatlarının Biolog GenIII MicroPlateTM mikroplakalarda fenotipik karakterizasyon sonuçları (devam)

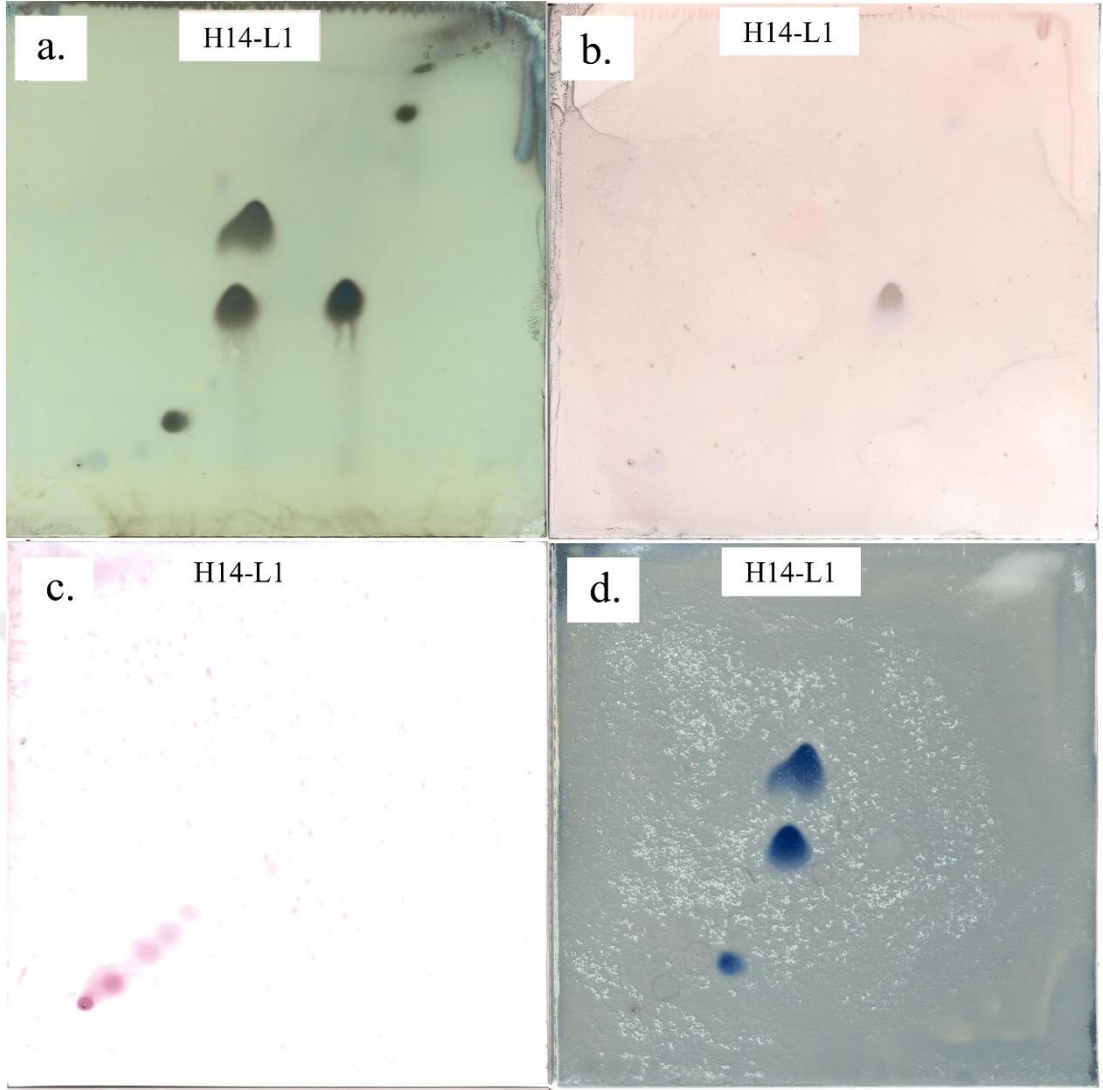
	H27 A1	H35 D1	H14 L1	H35 MC1	H37 C3	H36 A4	G G2
Kimyasal duyarlılık testleri							
%1 NaCl	+	+	+	+	+	+	+
%1 Sodyum laktat	+	+	+	+	+	+	+
Troleandomisin	-	-	-	-	-	-	-
Linkomisin	-	-	-	-	-	-	-
Vankomisin	-	-	-	-	-	-	-
Nalidiksik Asit	-	+	+	+	+	-	+
Aztreonam	+	+	+	-	+	+	+
pH 6	+	+	+	-	+	+	+
%4 NaCl	-	-	-	-	+	+	-
Fusidik asit	-	-	-	-	-	-	-
Rifamisin SV	-	-	-	-	-	-	-
Guanidin HCl	-	-	-	-	-	-	-
Tetrazolyum Menekşe	-	+	+	-	W	+	W
Lityum klorür	+	-	-	-	+	+	-
Sodyum bütirat	-	-	-	-	-	+	-
pH 5	-	-	-	-	-	W	-
%8 NaCl	-	-	-	-	-	-	-
D-Serin	-	-	-	+	-	+	-
Minosiklin	-	-	-	-	-	-	-
Niaproof 4	-	-	-	-	-	-	-
Tetrazolyum Mavisi	-	-	-	-	W	+	+
Potasyum tellürit	+	-	-	+	+	+	+
Sodyum bromat	-	-	-	-	W	+	+

4.14. İzole Edilen Aktinobakteri Suşlarının Kemotaksonomik Karakterizasyonu

16S rRNA dizi analizi ve tüm genom dizi analizinin incelenmesinin ardından yeni tür olma potansiyeli yüksek aktinobakteriyel izolat kemotaksonomik olarak karakterize edilmiştir. Kemotaksonomik karakterizasyonun yapılması amacıyla polar lipid, respiratuar izoprenoid kinon, diaminopimelik asit ve tüm hücre şeker analizi yapılmıştır.

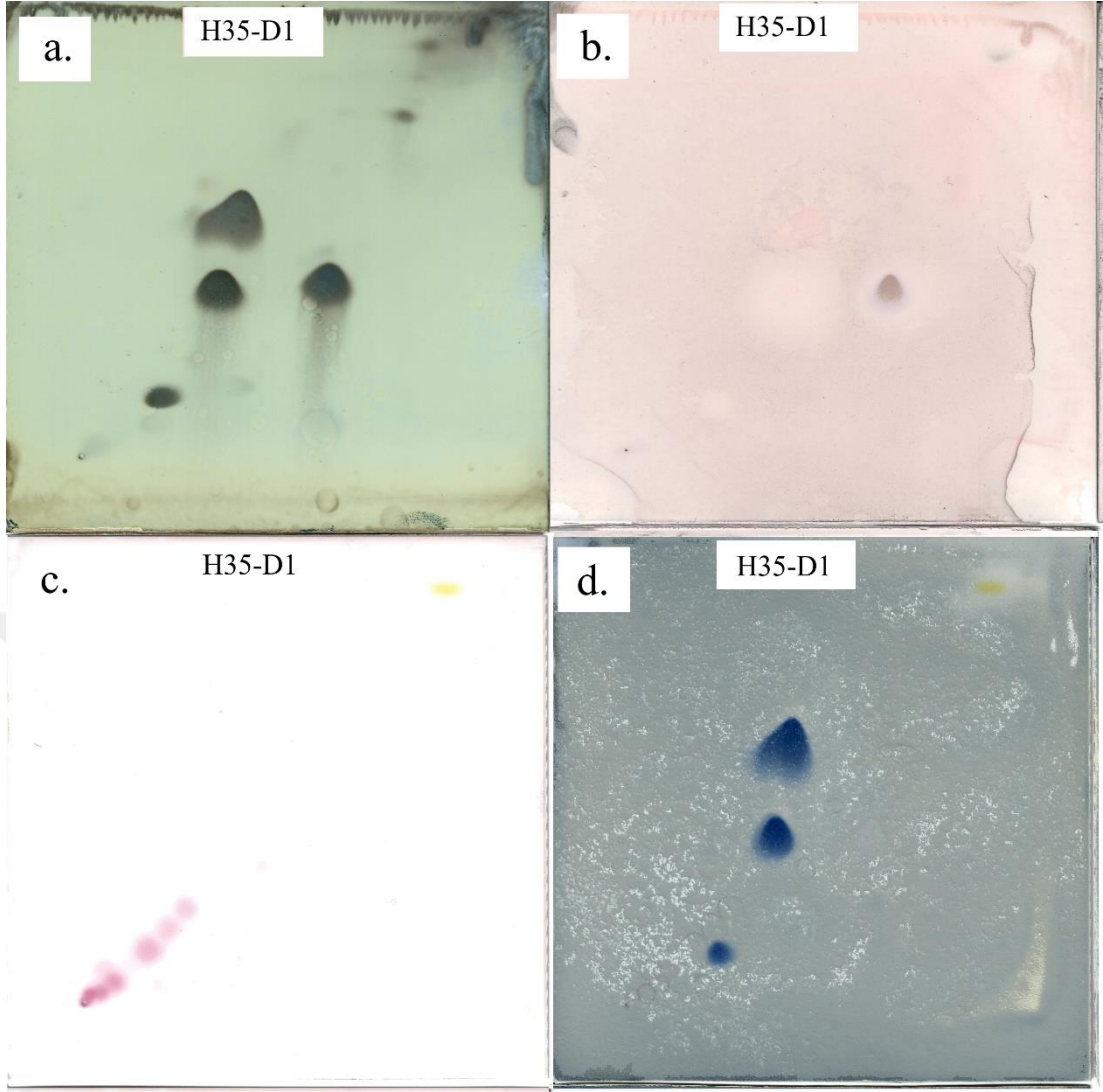
4.14.1. Polar Lipid Analizi

Cryobacterium sp. PH31-L1, *Cryobacterium* sp. PH31-O1, *Microbacterium* sp. H37-C3, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-D1 ve *Arthrobacter* sp. H35-MC1 polar lipid profilleri ince tabaka kromatografisi kullanılarak belirlenmiştir. Polar lipid analizi sonucunda tüm izolatlarda difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG) ve glikolipit (GL) varlığına rastlanmıştır. Bunun yanısıra *Arthrobacter* üyeleri olan H35-MC1, H35-D1 ve H14-L1 izolatlarında fazladan fosfatidilinozitole (PI) rastlanmıştır. Ayrıca *Microbacterium* sp. H37-C3'ün difosfatidilgliserol, fosfatidilgliserol ve glikolipit içermeye ek olarak tanımlanamayan lipidler içerdiği görülmüştür.



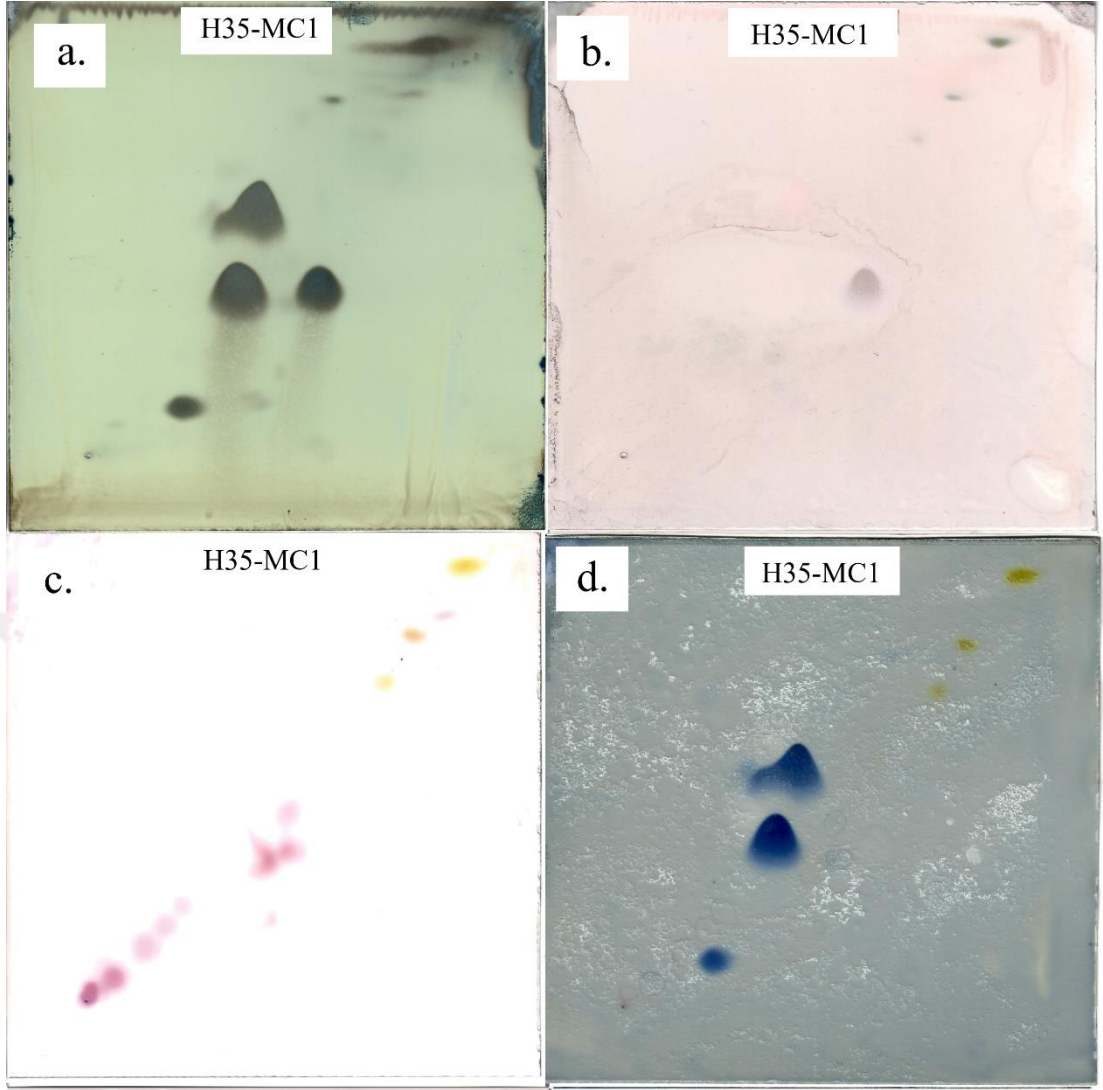
Şekil 4.69. *Arthrobacter* sp. H14-L1 suşunun polar lipid profili a. Molibdatofosforik asit ile spreylene tüm lipidler, b. α -naftol ile spreylene ve gliko gruplar taşıyan lipidler, c. ninhidrin ile spreylene ve amino gruplar taşıyan lipidler, d. molibren mavisi ile spreylene ve fosfo gruplar taşıyan lipidler.

Arthrobacter sp. H14-L1 izolatının polar lipit profilinde difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilinozitol (PI) ve glikolipit (GL) içerdiği tespit edilmiştir



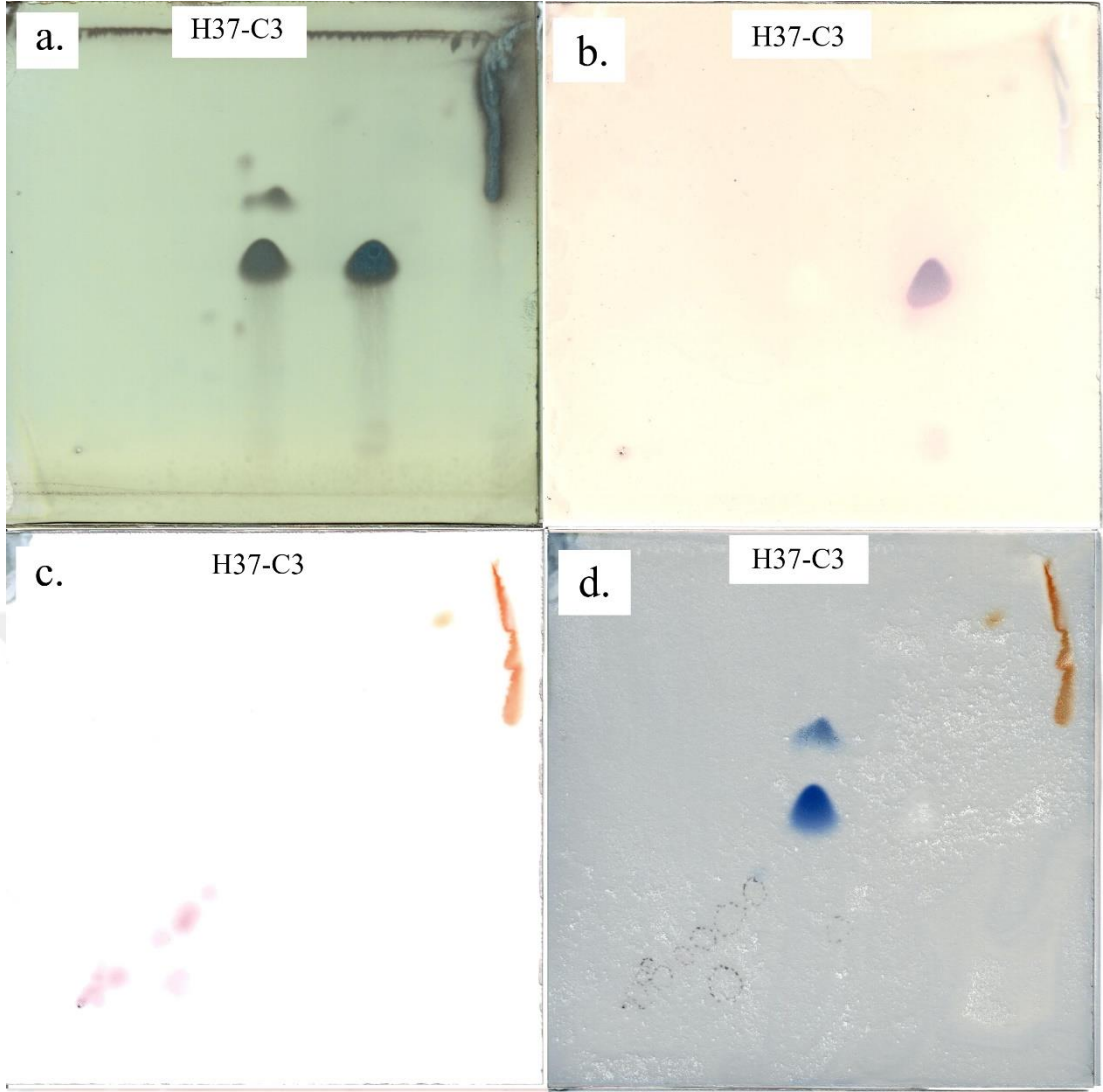
Şekil 4.70. *Arthrobacter* sp. H35-D1 suşunun polar lipid profili a. Molibdatofosforik asit ile spreylenen tüm lipidler, b. α -naftol ile spreylenen ve gliko gruplar taşıyan lipidler, c. ninhidrin ile spreylenen ve amino gruplar taşıyan lipidler, d. molibren mavisi ile spreylenen ve fosfo gruplar taşıyan lipidler.

Arthrobacter sp. H35-D1 izolatının polar lipid profilinde difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilinozitol (PI) ve glikolipit (GL) içerdiği tespit edilmiştir.



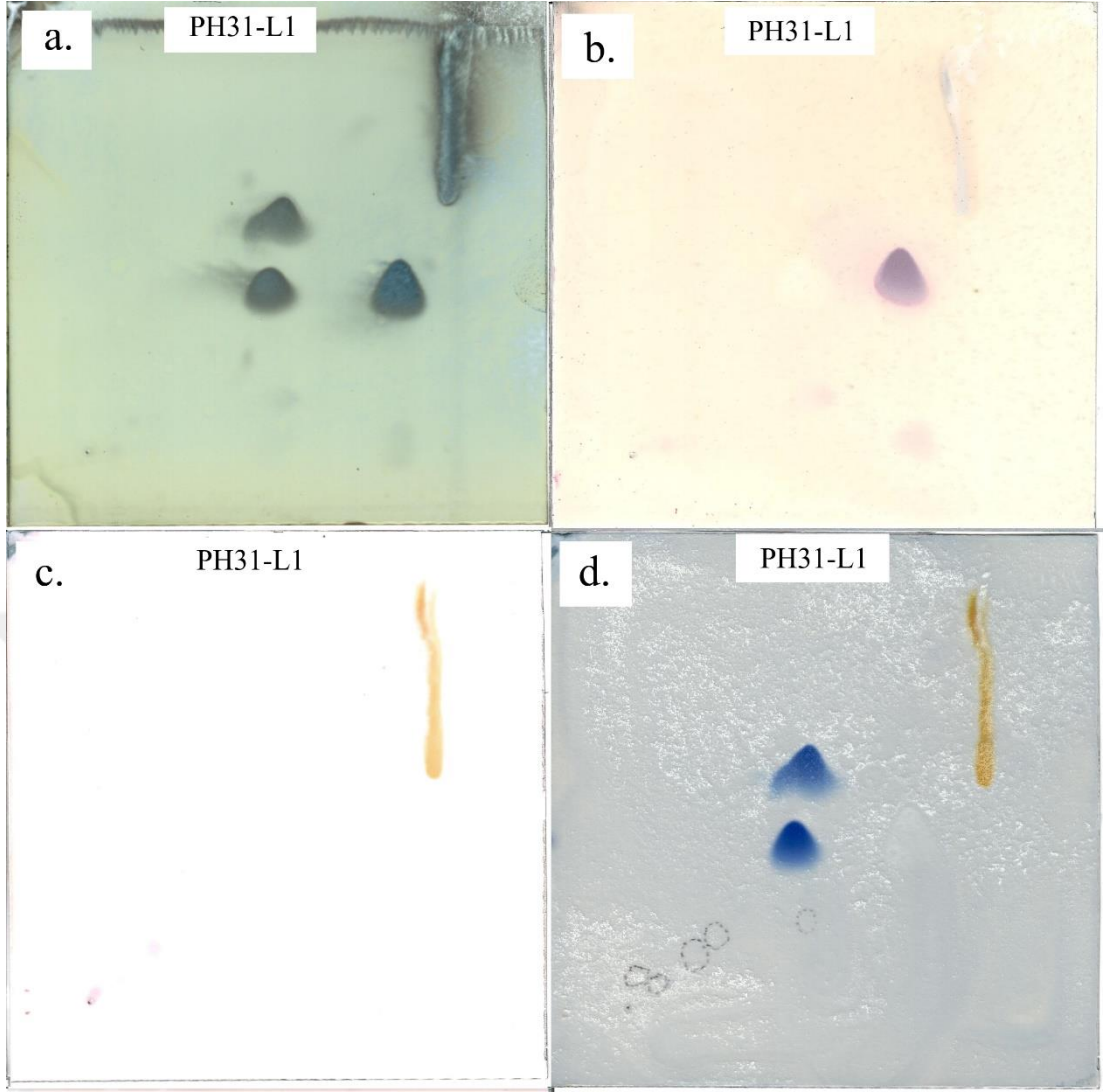
Şekil 4.71. *Arthrobacter* sp. H35-MC1 suşunun polar lipid profili a. Molibdatofosforik asit ile spreylene tüm lipidler, b. α -naftol ile spreylene ve gliko gruplar taşıyan lipidler, c. ninhidrin ile spreylene ve amino gruplar taşıyan lipidler, d. molibren mavisi ile spreylene ve fosfo gruplar taşıyan lipidler.

Arthrobacter sp. H35-MC1 izolatının polar lipit profilinde difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), fosfatidilinozitol (PI) ve glikolipit (GL) içerdiği tespit edilmiştir



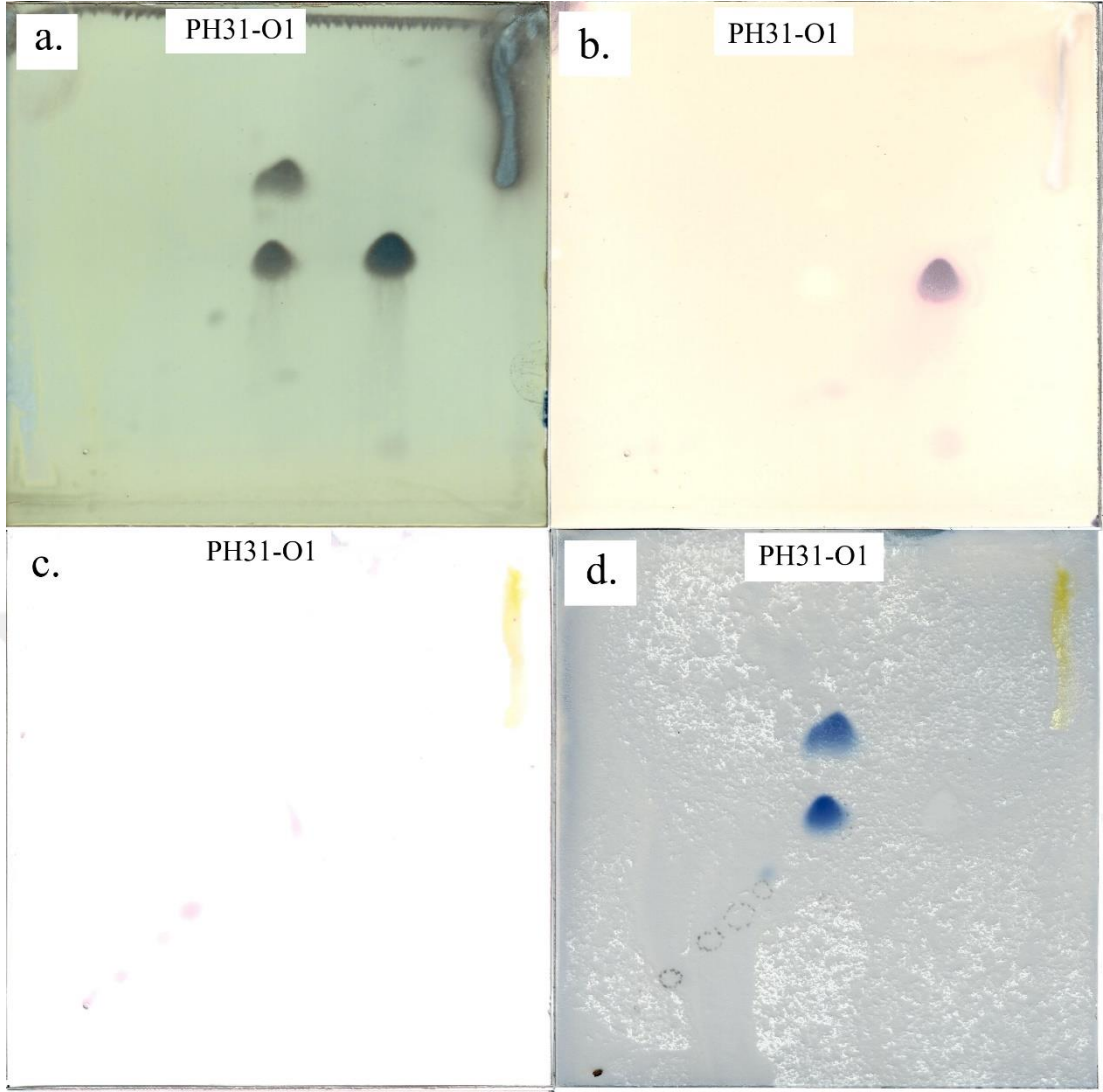
Şekil 4.72. *Microbacterium sp.* H37-C3 suşunun polar lipid profili a. Molibdatofosforik asit ile spreylene tüm lipidler, b. α -naftol ile spreylene ve gliko gruplar taşıyan lipidler, c. ninhidrin ile spreylene ve amino gruplar taşıyan lipidler, d. molibren mavisi ile spreylene ve fosfo gruplar taşıyan lipidler.

Microbacterium sp. H37-C3 izolatının polar lipit profilinde difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG), glikolipit (GL) ve tanımlanamayan lipitler içerdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.73. *Cryobacterium* sp. PH31-L1 suşunun polar lipid profili a. Molibdatofosforik asit ile spreylene tüm lipidler, b. α -naftol ile spreylene ve gliko gruplar taşıyan lipidler, c. ninhidrin ile spreylene ve amino gruplar taşıyan lipidler, d. molibren mavisi ile spreylene ve fosfo gruplar taşıyan lipidler.

Cryobacterium sp. PH31-L1 izolatının polar lipit profilinde difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG) ve glikolipit (GL) içerdiği tespit edilmiştir.

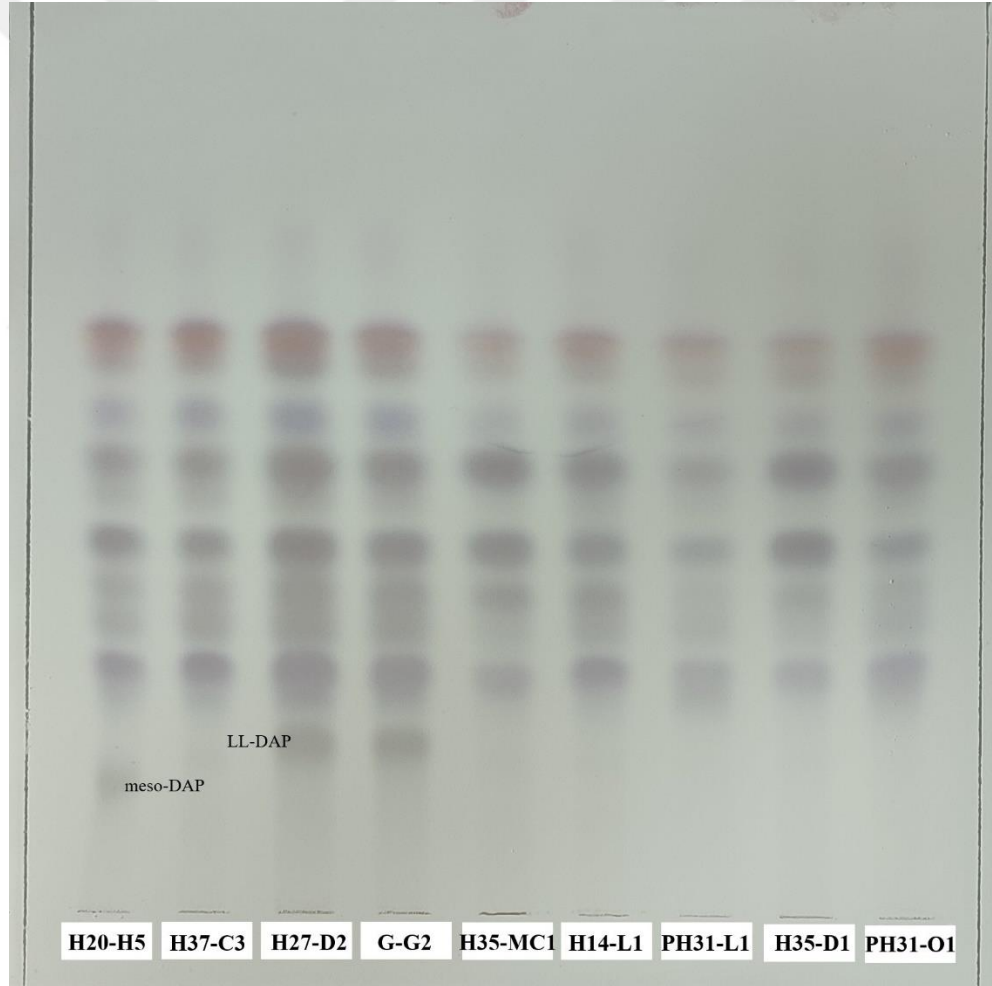


Şekil 4.74. *Cryobacterium* sp. PH31-O1 suşunun polar lipid profili a. Molibdatofosforik asit ile spreylene tüm lipidler, b. α -naftol ile spreylene ve gliko gruplar taşıyan lipidler, c. ninhidrin ile spreylene ve amino gruplar taşıyan lipidler, d. molibren mavisi ile spreylene ve fosfo gruplar taşıyan lipidler.

Cryobacterium sp. PH31-O1 izolatının polar lipit profilinde difosfatidilgliserol (DPG), fosfatidilgliserol (PG) ve glikolipit (GL) içerdiği tespit edilmiştir.

4.14.2. Diaminopimelik Asit Analizi

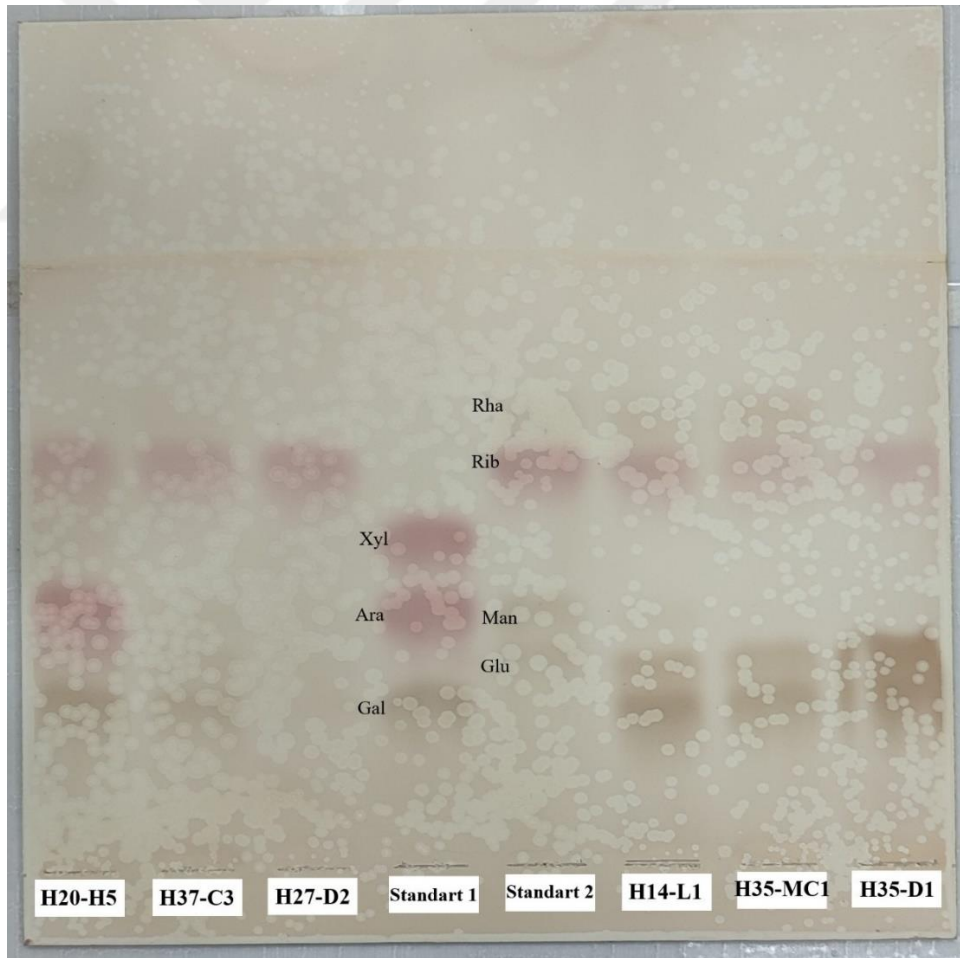
Amycolatopsis H20-H5, *Microbacterium* sp. H37-C3, *Streptomyces* sp. H27-D2, *Streptomyces* sp. G-G2, *Arthrobacter* sp. H35-MC1, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-D1, *Cryobacterium* sp. PH31-O1 ve *Cryobacterium* sp. PH31-L1 diaminopimelik asit (DAP) profilleri ince tabaka kromatografisi kullanılarak belirlenmiştir. DAP analizi sonucunda *Amycolatopsis* H20-H5 izolatının meso-diaminopimelik asit izomerine; *Streptomyces* spp. H27-D2 ve G-G2 izolatlarının ise LL-diaminopimelik asit izomerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Analizi yapılan *Microbacterium* sp. H37-C3, *Arthrobacter* spp H35-MC1, H14-L1 ve H35-D1 ile *Cryobacterium* spp. PH31-L1 ve PH31-O1 izolatlarının ise diaminopimelik asit içermediği görülmüştür.



Şekil 4.75. *Amycolatopsis* H20-H5, *Microbacterium* sp. H37-C3, *Streptomyces* sp. H27-D2, *Streptomyces* sp. G-G2, *Arthrobacter* sp. H35-MC1, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-D1, *Cryobacterium* sp. PH31-O1 ve *Cryobacterium* sp. PH31-L1 suşlarının DAP izomer profili.

4.14.3. Tüm Hücre Şeker Analizi

Amycolatopsis H20-H5, *Microbacterium* sp. H37-C3, *Streptomyces* sp. H27-D2, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-MC1 ve *Arthrobacter* sp. H35-D1 şeker profilleri ince tabaka kromatografisi kullanılarak standartlar eşliğinde belirlenmiştir. Şeker analizi sonucunda *Amycolatopsis* sp. H20-H5 izolatının hücre duvarında yüksek miktarda galaktoz, arabinoz ve riboz ile düşük miktarda glukoz ve mannoz; *Microbacterium* sp. H37-C3'te yüksek miktarda riboz ve galaktoz ile düşük miktarda glukoz ve mannoz; *Streptomyces* sp. H27-D2'de yüksek miktarda riboz ile düşük miktarda galaktoz ve glukoz; *Arthrobacter* sp. H14-L1'de yüksek miktarda galaktoz, glukoz ve riboz ile düşük miktarda ramnoz; *Arthrobacter* sp. H35-MC1'de yüksek miktarda galaktoz, glukoz ve riboz ile düşük miktarda ramnoz; *Arthrobacter* sp. H35-D1'de yüksek miktarda galaktoz, glukoz ve riboz şekerlerinin bulunduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.76. *Amycolatopsis* H20-H5, *Microbacterium* sp. H37-C3, *Streptomyces* sp. H27-D2, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Arthrobacter* sp. H35-MC1 ve *Arthrobacter* sp. H35-D1 suşlarının şeker profilleri.

5. TARTIŞMA

Önceleri, kutupların tek tip yapıya sahip ve dünyadaki en soğuk kıtalar olduğu düşünülmüştür. Ancak yer ekipmanı ve uydu güdümlü sistemlerdeki son gelişmelerle kutupların farklı tortu, farklı tuzluluk derecelerine sahip buz ve kar karışımı, farklı besin maddeleri ve termal değerler gibi çok çeşitli jeolojik varyasyonlara sahip oldukları keşfedilmiştir. Kutuplar içinde bulundurdıkları çeşitli habitatlar, sağladıkları çeşitli ekstrem koşullar ve izolasyon koşulları sayesinde bölgesel mikroçeşitliliğe katkıda bulunarak, potansiyel olarak yeni mikrobiyal metabolizma yollarının oluşumuna olağan sağlamaktadır (Tripathi vd., 2018). Bu yollar yeni çeşit antimikrobiyal aktivite, hidrokarbon degradasyonu, antibiyotik direnci ve daha birçok avantaj sağlayıcı özellik kazandıran sekonder metabolitler, enzimler veya moleküler bileşiklerin oluşumuna neden olabilmektedir. Dolayısıyla günümüzde, kutup bölgeleri potansiyel yeni metabolitlerin keşfi için odak noktalarından biri olmuştur (Silva vd., 2021). Kutup ekosistemleri incelendiğinde, en büyük canlılık ve çeşitliliği bakteriler ve funguslar oluşturmaktadır (Tripathi vd., 2018). Kutup bölgelerinde yapılan birçok çalışma, kutupların biyoçeşitlilik açısından geniş olduğunu ve metabolik yollar açısından farklı aktiviteler sergilediğini göstermiştir (Bowlby, 2002; Malard & Pearce, 2018; McCann vd., 2019; Ozturk vd., 2022; Yergeau vd., 2017). Keşfedilen onlarca kutup izolatlarından -yukarıda da bahsedildiği üzere- elde edilen yeni moleküllerin biyoteknolojik açıdan kullanım avantajları belirlenebilmişken, keşfedilen birçok yeni molekülün biyoteknolojik potansiyeli saptanamamıştır (Silva vd., 2021; Tripathi vd., 2018; Zucconi vd., 2020). Bu açıdan bakıldığında, kutup mikroorganizmalarının biyosentetik aktivite yollarının incelenmesi, biyoteknoloji açısından büyük önem arz etmektedir.

Yeni antibiyotiklerin keşfi için yoğun çabalar harcanmasına rağmen, bakteriler yeni bir ilacın piyasaya sürülmesinden daha kısa sürede herhangi bir antibiyotiğe karşı direnç kazanmaktadır Buna bağlı olarak yeni ilaçların keşfedilmesi büyük öneme sahiptir. Bu nedenle, Antarktika gibi, ekstrem koşullara sahip habitatlara uyum sağlamak için farklı fizyolojik ve metabolik özelliklere sahip mikroorganizmaların eşsiz biyoçeşitliliğinin araştırılması, yeni ilaç moleküllerinin keşfi için umut verici bir alternatif olarak görünmektedir. Terapötik kullanımı olan biyoaktif metabolitlerin büyük bölümü aktinobakteriler tarafından üretilirken, geri kalanın %20'si mantarlardan, %7'si *Bacillus* cinsinden ve %1-2'si *Pseudomonas*

cinsinden elde edilmektedir (Silva vd., 2009). Aktinobakteriler antibiyotikler, antitümör ve antiparazitik ajanlar gibi çeşitli sekonder metabolitleri üretebilmelerinden dolayı endüstriyel açıdan önemli bir mikroorganizma grubu olarak kabul edilmektedir (Sharma vd., 2018). Bu bağlamda aktinobakteriler ürettikleri çeşitli biyoaktif sekonder metabolitler nedeniyle mikrobiyal doğal bileşiklerin önemli bir kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Dolayısıyla aktinobakteriler, yeni ilaçların ve diğer biyoaktif metabolitlerin keşfi için yoğun olarak çalışılan en önemli organizma gruplarından biridir (Silva vd., 2009). Özellikle *Streptomyces* cinsinin üyelerinin ticari önemi olan bileşikleri üretebilme kapasitesi iyi bilinmektedir. Mikrobiyal biyoaktif sekonder metabolitlerin yaklaşık %45'i aktinobakterilerden ve bunun %80'ini teşkil eden 7600 metabolit *Streptomyces* türlerinden elde edilmektedir (Berdy, 2005). Son yıllarda, birbirine kısmen benzeyen ekosistemlerdeki türler arasındaki genetik madde değiş-tokuşu gibi nedenlerden dolayı aktinobakterilerden yeni antibiyotik moleküllerinin keşfinde bir düşüş gözlenmektedir. Buna bağlı olarak aktinobakterilerden yeni biyoaktif metabolitlerin keşfi amacıyla yapılan çalışmalar ekstrem fizikokimyasal özelliklere sahip, daha önce araştırılmamış habitatlara yönelmiştir. Antarktik ortamlardaki aktinobakterilerden yapılan izolasyon çalışmalarıyla, antimikrobiyal aktivite gösteren yeni aktinobakteriler açısından umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Cheah vd. 2015; Fischbach & Walsh 2006; Gesheva & Vasileva-Tonkova 2012; Lavin vd. 2016; Lee vd. 2012; Leiva vd. 2015; Lo Giudice vd. 2007; Silva vd. 2018)

Günümüzde mikroorganizma sınıflandırmasında, tür ayrımının en temel süreçleri olan fenotipik, genotipik ve kemotaksonomik karakterizasyondan oluşan polifazik karakterizasyon kullanılmaktadır. Türlerin izolasyonunun ardından filogenetik ilişkiyi incelemek için 16S rRNA dizi analizleri, ilk analizde cins düzeyinde muhtemel akraba ilişkilerinin saptanmasını sağlamakta ve ardından tüm genom analizleriyle tür düzeyinde kesin sonuca varılmaktadır. Ancak yeni türlerin kabul edilmesi için diğer polifazik süreçlerce desteklenmesi gereklidir. Bir türün yeni bir tür olarak ifade edilmesinde 16S rRNA, ANI ve dDDH benzerlik değerleri için sınırlar sırasıyla ~%98,7 (Chun vd., 2007), %95~96 (Richter & Rosselló-Móra, 2009) ve %70'dir (Auch vd., 2010; Goris vd., 2007) olarak kabul edilmiş ve benzerlik oranlarının bu değerlerin altında olmasının yeni bir türe işaret ettiği kabul edilmiştir. Ayrıca dDDH benzerlik değerleri 70–79% olan organizmalar aynı türe

düşmekte ve aynı tür içerisindeki alt türler olarak kabul edilmektedir (Choo vd., 2020; Meier-Kolthoff vd., 2014; Thorell vd., 2019). İleri polifazik çalışmalarda, genom analizine bakılarak yeni bir türü temsil ettiği kabul edilen örnekler hakkındaki kesin yargı, fenotipik ve kemotaksonomik analizler ile desteklenmelidir.

Bu tez çalışmasında, daha önceden aktinobakteriyel izolasyon çalışmaları yapılmamış Antarktika Horseshoe Adası'nın 23 farklı lokalitesinden alınan toprak, sediment ve su örneklerinden aktinobakteri sınıfının 11 farklı cinsine ait mikroorganizmalar izole edilmiştir. Antarktika Horseshoe Adası'nda daha önceden gerek aktinobakteriyel izolasyon gerek genel mikrobiyal çeşitlilik çalışmaları yapılmamıştır. Antarktika'nın sahip olduğu eşsiz ekstrem koşulları ve Horseshoe Adası'nda mikrobiyom çalışmalarının yapılmaması, izole edilecek mikroorganizmaların çok farklı metabolik potansiyele sahip türlere ait olacağını vaad etmiştir.

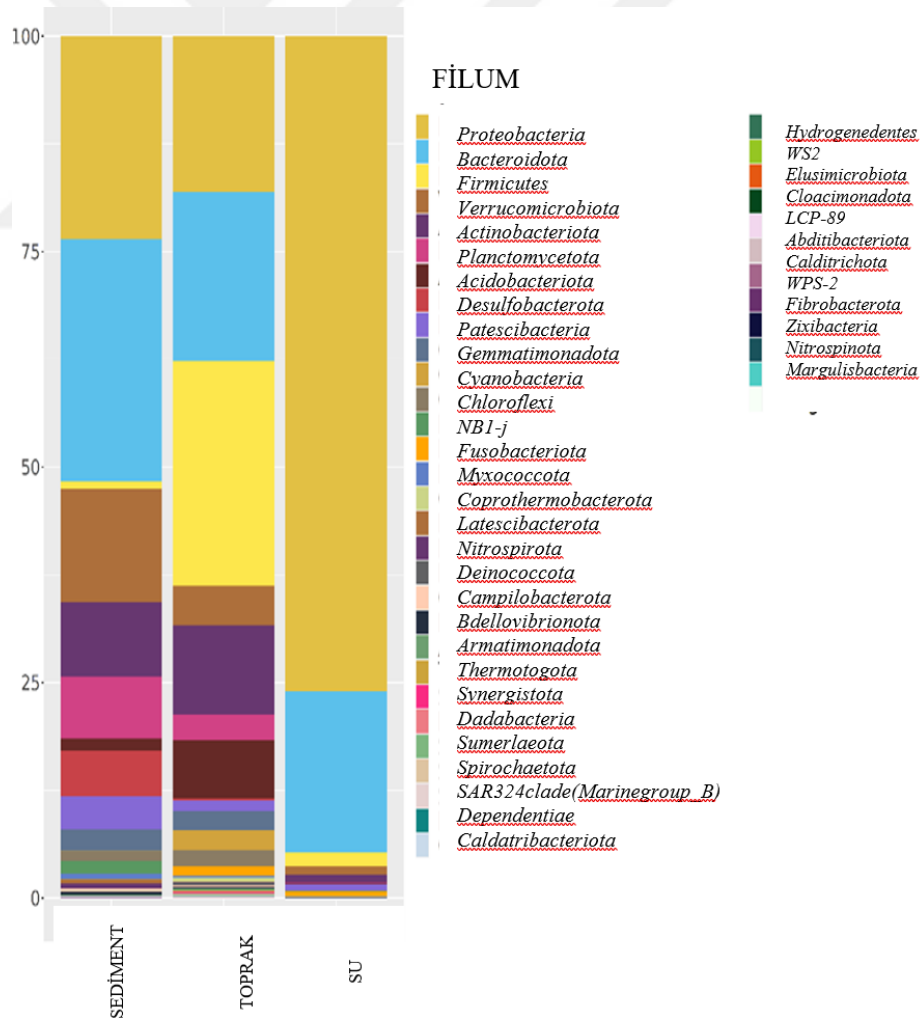
Antarktika Horseshoe Adası'ndan alınan toprak, sediment ve su örneklerin fizikokimyasal analizleri için yapılan pH analizi sonucunda pH değerleri 6.1 ile 6.97 arasında değişen H14, H18, NAN ve S örneklerinin hafif asidik; diğer örneklerin ise pH değerleri 7.2 ile 8.47 arasında değişmekte olup alkali olduğu belirlenmiştir. Aktinobakterilerin izolasyonu için yapılan bu tez çalışmasında GYM, NZ-Amine ve R2A besiyerlerinde 389 suş saflaştırılmış ve stoklanmıştır. Toplam izolat sayısına bakıldığında 4°C ve 17°C inkübasyon sıcaklıklarının her ikisinde de en çok izolat H34 toprak örneğinden izole edilmiştir. En az izolatın izole edildiği örnekler ise H10, H24, H37, BYS, H9, H3 ve GS'dir. Bunlar arasından en az izolat GS su örneğinden izole edilmiştir. En az izolatın GS örneğinden izole edilmesinin nedeninin, hem çok az sayıda izolasyon petrisi kullanılması, hem de su örneklerinin toprak ve sediment örneklerine kıyasla daha az aktinobakteriyel tür içermesinden dolayı olabileceği düşünülmektedir. Diğer izolasyon koşulları incelendiğinde H34 örneğinden sonra en çok izolat H27 kaya örneği ve H39 kaya örneklerinden izole edilmiştir. 17°C inkübasyon sıcaklığı için H34 örneğinden sonra en çok izolat H27 sediment örneğinden, 4°C inkübasyon sıcaklığı için ise H31 sediment örneğinden izole edilmiştir. Besiyerleri açısından incelendiğinde en çok izolat Hüyük Asit Vitamin agar (66), Gauze No.1 Agar (50) ve Starch Casein Agar (42) besiyerlerinden izole edilmiştir. Besiyeri içerikleri incelendiğinde, Antartik aktinobakterilerin eser miktarlarda ancak çok çeşitte mineral ve az karbon/azot kaynağına sahip

besiyerlerinde daha iyi geliştikleri sonucuna varılmıştır. NZ-Amine besiyeri, GPHF besiyeri ve *Rubrobacter carboxydovorans* besiyerlerinden izole edilen suř sayısı ise en dūřúktür. Bunun nedeninin ise bu besiyerlerinin diğer besiyerlerine göre daha bol iğeriklere sahip olmaları ve dolayısıyla oligotrofik ortamda büyümeye alışmış Antarktik aktinobakterilerin gelişimi için uygun olmadıklarından dolayı olabileceği fikrine varılmıştır.

Antarktik aktinobakterilerin izolasyonu için yapılan bu tez çalışmasında birbirinden morfolojik olarak farklı 68 izolatın 16S rRNA gen bölgesine ait dizi analizi gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen dizi analizine göre 68 izolat; *Algoriphagus*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Cryobacterium*, *Deinococcus*, *Flavobacterium*, *Hymenobacter*, *Lacisediminihabitans*, *Massilia*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Paenarthrobacter*, *Planococcus*, *Pseudarthrobacter*, *Rhodococcus*, *Salinibacterium*, *Sphingomonas*, *Streptomyces* ve *Variovorax* olmak üzere 20 farklı cinsten dağılım göstermektedir. Bu cinslerden *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Cryobacterium*, *Lacisediminihabitans*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Paenarthrobacter*, *Pseudarthrobacter*, *Rhodococcus*, *Salinibacterium* ve *Streptomyces* cinsleri *Actinomycetota* filumunun üyeleri iken; *Algoriphagus*, *Flavobacterium* ve *Hymenobacter* cinsleri *Bacteroidota*; *Deinococcus* cinsi *Deinococcota*; *Massilia*, *Sphingomonas* ve *Variovorax* cinsleri *Pseudomonadota*; *Planococcus* cinsi *Bacillota* üyesi olarak tespit edilmiştir. Yapılan 16S rRNA gen dizi analizine göre aktinobakteri üyelerinden *Streptomyces* spp. G-G2, H10-C2, H27-D2 ve PH10-H1, *Rhodococcus* sp. G-MC3, *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Amycolatopsis* sp. H20-H5, *Streptomyces* spp. H27-A1 ve H27-C3, *Lacisediminihabitans* sp. H27-G8, *Arthrobacter* spp. H14-L1, H35-AA1, H35-D1, H35-MC1 ve PG-G2, *Microbacterium* sp. H37-C3 ve *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatlarının en yakın tip suşları ile 16S rRNA gen dizi benzerlik oranının %99'un altında olduğu tespit edilmiştir. Bunlar arasından en yakın tip suşu ile 16S rRNA gen dizi benzerlik oranı özellikle %98'in altında olan *Arthrobacter* sp. H14-L1, *Streptomyces* sp. PH10-H1 ve *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1 izolatları, yeni tür olma potansiyeli yüksek olan izolatlardan sayılmıştır. Birbirlerinden hem morfolojik hem de 16S rRNA gen bölgesi dizi analizine göre farklı izolatların tüm genomu bağlı dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda genomu dizilenmiş 31 aktinobakteriyel izolatlardan *Micrococcus* sp. H39-S4 haricinde hepsi, literatürde tanımlanmış tip türlerinden genomik olarak farklı

olup, yeni tür olma potansiyelleri yüksektir. Yeni tür olma potansiyeli olan bu izolatların kemotaksonomik ve fenotipik tanımlanması ve biyoteknolojik potansiyellerinin ortaya çıkarılması bu tez çalışmasında amaçlanmıştır.

Bu tezin bağlı olduğu projenin metagenomik çalışmasında ise (Gürsoy, 2023) Horseshoe Adası'ndan elde edilen toprak, sediment ve su örneklerinin 16S rRNA'ya bağlı metagenom analizi gerçekleştirilmiştir. Yukarıda bahsedilen verileri desteklemek üzere burada her üç örnekte filum düzeyinde çoğunlukla *Acidobacteriota*, *Actinomycetota*, *Bacteroidota*, *Chloroflexota*, *Cyanobacteriota*; ayrıca *Armatimonadota*, *Calditrichota*, *Caldatribacteriota* ve *Campilobacterota* üyeleri bulunmaktadır. Örnekler mikrobiyal çeşitlilik açısından incelendiğinde bu tezde de olduğu gibi toprak örneği, su ve sediment örneklerine kıyasla daha fazla mikrobiyal çeşitlilik göstermiştir. Su ve sediment örnekleri karşılaştırıldığında sediment örneği, su örneğinden daha fazla mikrobiyal çeşitlilik göstermiştir.



Şekil 5.1. Gürsoy, 2023 metagenom çalışmasında toprak, sediment ve su örnekleri arasındaki mikrobiyal çeşitlilik farkı

Horseshoe Adası'ndan izole edilen suşlar yeni tür olma açısından incelendiğinde *Amycolatopsis* sp. H20-H5, *Arthrobacter* spp. H14-L1, H35-D1 ve H35-MC1, *Cryobacterium* sp. PH29-G1, PH31-AA6, PH31-L1 ve PH31-O1, *Microbacterium* sp. H37-C3, *Pseudarthrobacter* spp. PS3-L1 ve PH31-O2, *Rhodococcus* sp. G-MC3, *Salinibacterium* sp. G-O1, *Streptomyces* spp. G-G2, H39-C1 ve H39-S7 izolatları yeni tür kabul edilmiştir. Ayrıca, *Streptomyces sapporonensis* ile ilişkilendirilen H27-D2 ve *Streptomyces altiplanensis* ile ilişkilendirilen H27-C3'ün kendileri ve diğer bahsedilen tüm *Streptomyces* izolatları arasında benzerlikleri %70'in çok altında olduğundan dolayı bu izolatların diğer üyelerden farklı yeni bir *Streptomyces* türü olduğu kabul edilmiştir. Tüm genom dDDH analizlerine göre PH39-S1 suşunun *Paenarthrobacter*, *Pseudarthrobacter* ya da *Arthrobacter* cinslerinden hangisinin üyesi olduğu net olarak anlaşılamamıştır. Ancak en yakın tip türlerinden genomik olarak farklı olması, PH39-S1 izolatının yeni bir türün temsilcisi olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, *Micrococcus* sp. H39-S4'ün de tüm genomla bağlı dDDH analizi incelendiğinde *Micrococcus yunnanensis*, *Micrococcus luteus* ya da *Micrococcus aloeverae* türlerinden hangisinin üyesi olduğu net olarak anlaşılamamaktadır. Ancak H39-S4'ün en yakın akrabalarına dDDH benzerliğinin %70'in üstünde çıkmasından dolayı bilinen bir türün içinde olduğu kabul edilmiştir.

H27-C3 ve H27-A1 izolatlarının 16S rRNA gen dizi benzerliğine göre en yakın türün *Pilimelia columellifera* subsp. *pallida* olduğu görülmüştür. Ancak H27-C1 ve H27-A1 izolatları *Streptomyces* cinsi için karakteristik olan morfolojik özellikleri göstermekte olup, *Micromonosporaceae* familyasına ait bir cins olan *Pilimelia* ile yakın ilişkili görünmesi kuşkuludur. *Pilimelia columellifera* subsp. *pallida* türünün 16S rRNA gen dizisi ile ilgili yapılan literatür çalışmalarında (NCBI GenBank erişim no: GU269552), dizi verisinin ilgili taksonun tip türünden elde edildiği bilgisi yer almaktadır. Ancak, 16S rRNA gen dizi verisinin *Streptomyces* cinsi içerisinde yer alan türlerle yakın ilişki göstermesi, literatürde GU269552 erişim numarası ile kaydedilen dizi verisinin *Pilimelia columellifera* subsp. *pallida* türüne ait olmadığını; bir kontaminasyon veya yanlış etiketlemeden kaynaklanan bir sorun olduğunu düşündürmektedir. 16S rRNA gen dizi analizine göre *Pilimelia columellifera* subsp. *pallida* türü ile yakın ilişkili olduğu belirtilen H27-C3 ve H27-A1 izolatları aslında *Streptomyces* cinsi içerisinde yerleşim göstermekte olup 16S rRNA gen dizi analizine

göre cins içerisinde yeni bir türün temsilcileridir. Bu tez çalışmasında adlandırmaları *Pilimelia* sp. yerine *Streptomyces* sp. olacak şekilde düzeltilmiştir.

Rhodococcus spp. H29-C3 ve H36-A4'ün kendi aralarında, *Streptomyces. cirratus* ile ilişkilendirilen izolatlardan H27-G5 ve H27-H5'in kendi aralarında, *S. oryiradicis* ile ilişkilendirilen izolatlardan H10-C2 ve PH10-H1'in kendi aralarında, *S. subbrutillus* ile ilişkilendirilen izolatlardan H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5'in kendi aralarında, *S. vinaceus* ile ilişkilendirilen izolatlardan H27-H1 ve H34-S4'ün kendi aralarında dDDH benzerlik oranları %70'in üzerinde çıktığı için aynı türe düştikleri ancak kendi cinsine ait yeni bir türü temsil ettikleri kabul edilmiştir.

Biyosentetik gen kümeleri açısından *Amycolatopsis* sp. H20-H5 incelendiğinde düşük benzerlik gösterdiği 67-121C, WS9326A, ECO-0501, poliketomisin, tetrokarsin A, thiolutin, granatisin, anaseomisin, distamisin, kongosidin, ε-poli-L-lizin, divergolid, friulimisin, paromomisin, lansasidin, tiyakümisin, atratumisin ve kandisidin gen kümeleri antibakteriyel-antifungal-antiviral gibi aktivitelere sahip antimikrobiyal bir ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca FD-594, BE-7585A, SF2575, marineosiler, amikolamisin ve matlistatin gen kümeleri antitümör ve antikanser ajan olma açısından potansiyele sahipken, toxoflavin/fervenulin gen kümesi fitotoksik, antimikrobiyal ve antitümör ajan olma açısından potansiyele sahiptir. *Arthrobacter* izolatlarının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde her üç izolatın da düşük benzerlik gösterdiği karotenoid biyosentetik gen kümesi antioksidan ajan olma açısından potansiyele sahiptir. H35-D1 izolatının düşük benzerlik gösterdiği mikroansamisin ve rothibin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; kinamisin gen kümesi ise antitümör ve antikanser ajan olma açısından potansiyele sahiptir. H35-MC1 izolatının düşük benzerlik gösterdiği mikroansamisin, stenotrisin ve skylamisin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; ayrıca plantazolisin antimikrobiyal ve fitostimülan ajan olma açısından potansiyele sahiptir. *Cryobacterium* izolatlarının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde tüm izolatların düşük benzerlik gösterdiği ε-poli-L-lizin antimikrobiyal ajan ve karotenoid gen kümesi ise antioksidan olma açısından potansiyele sahiptir. Bunun yanı sıra, PH29-G1 ve PH31-L1 izolatlarının benzerlik gösterdiği echoside A/echoside B/echoside C/echoside D/echoside E gen kümesi antiviral ajan olma açısından potansiyel taşımaktadır. PH31-O1 izolatının benzerlik

gösterdiği desferrioksamin gen kümesi ise metal toksisitesinde terapötik ajan olarak kullanılma açısından potansiyele sahiptir.

Microbacterium sp. H37-C3'ün biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde düşük benzerlik gösterdiği meroklorin, mikroansamisin, higromisin ve klifenamid gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca karotenoid gen kümesi antioksidan ajan olma açısından potansiyele sahiptir. *Micrococcus* sp. H39-S4'ün biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde düşük benzerlik gösterdiği stenotrisin gen kümesi antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca karotenoid gen kümesi antioksidan ajan olma açısından potansiyele sahiptir. *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1'in biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde karotenoid gen kümesi antioksidan ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Kalan biyosentetik gen kümeleri, bilinen biyosentetik gen kümelerine benzerlik göstermeyip, yeni türdeki aktivite potansiyeline sahiptir. *Pseudarthrobacter* izolatlarının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde her iki izolatın da düşük benzerlik gösterdiği mikroansamisin ve stenotrisin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca PS3-L1 izolatının düşük benzerlik gösterdiği desferrioksamin gen kümesi ise metal toksisitesinde terapötik ajan olarak kullanılma açısından potansiyele sahiptir. *Rhodococcus* üyelerinden G-MC3 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde ϵ -Poli-L-lizin, nanchangmisin, kloramfenikol, mycinamisin ve enduracidin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca SF2575 ve tomaymisin gen kümesi antitümör ajan olma açısından potansiyele sahiptir. H29-C3 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde kloramfenikol, SF2575, katomisin, atratumisin, julikrom, loboamid ve ikosalid gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; gilvokarsin gen kümesi ise antitümör ajan olma açısından potansiyele sahiptir. H36-A4 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde kloramfenikol, atratumisin, arenimisin ve lipopeptid gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; SF2575 gen kümesi antitümör ajan olma açısından; heterobaktin gen kümesi siderofor olma açısından ve isorenieratenen antioksidan ajan olma açısından potansiyellere sahiptir. *Salinibacterium* sp. G-O1'in biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde ise benzerlik gösterdiği mikroansamisin gen kümesi antimikrobiyal; alkilrezorsinol gen kümesi antimikrobiyal, antioksidan ve antitümör/antikanser; karotenoid gen kümesi ise antioksidan potansiyellere sahiptir.

Streptomyces üyelerinden G-G2 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde benzerlik gösterdiği isorenieratenen gen kümesi antioksidan ajan olma açısından; ebelakton vücut homeostazı dengeliyicisi olma açısından; bombiksamisin gen kümesi hem antimikrobiyal hem de antitümör/antikanser ajan olma açısından; toxoflavin/fervenulin gen kümesi fitotoksik, antimikrobiyal ve antitümör ajan olma açısından; SF2575 gen kümesi ise antitümör ve antikanser ajan olma açısından potansiyele sahiptir. A-503083, ϵ -poli-L-lizin, saframisin, kirromisin ve lomofungin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca yüksek benzerlik gösterdiği melanin gen kümesi antioksidan, antienflamatuar, immünomodülatör, radyoprotektif özelliklere sahip ve iç organların sağlığını destekleyen bir pigmenttir (ElObeid vd., 2016). H10-C2 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde benzerlik gösterdiği istamisin, fitoksazolin, ksantolipin, tilakton, mikroansamisin, trichostatin, diisonitril antibiyotik SF2768, ϵ -poli-L-lizin ve A-503083 gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca antipain anti-inflamatuvar ajan; fredericamisin antikanser/antitümör ajan; ayrıca alkilrezorsinol antimikrobiyal, antioksidan ve antitümör/antikanser ajan olma açısından potansiyel göstermektedir. H27-D2 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde benzerlik gösterdiği korbomycin, sinnapeptin, tetronasin, divergolid, A-503083, WAP-8294A2, feglimisin, holomisin, griselimisin ve ishigamid gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca naringenin gen kümeleri antidiyabetik ve antifibrotik ajan olma açısından; neocarzinostatin, trioksakarsin, dutomisin, diastafenazin ve heksakosalakton gen kümeleri ise antikanser/antitümör ajan olma açısından potansiyele sahiptir. PH10-H1 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde istamisin, diisonitril antibiyotik SF2768, ϵ -poli-L-lizin, fitoksazolin, yusuffene, koprismid, mikroansamisin ve trikostatin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; fredericamisin, griseorhodin ve aktinomisin gen kümeleri antikanser/antitümör ajan olma açısından potansiyele sahiptir. H27-G5 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde kinamisin, a201a, formikamisin, citrulassin, atratumisin, ficellomisin, laktonamisin, tirandamisin, echoside A / echoside B / echoside C / echoside D / echoside E gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; kolabomisin ve bleomisin gen kümeleri ise antikanser/antitümör ajan olma açısından potansiyele sahiptir. Ayrıca toxoflavin/fervenulin gen kümesi fitotoksik, antimikrobiyal ve antitümör ajan olma açısından önemlidir.

H27-H5 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde venezuelin, koelimycin, salinomycin, ficellomycin, stenothricin, natamisin, A-503083, a201a, istamisin, echoside A / echoside B / echoside C / echoside D / echoside E, kinamisin, laktonamisin, atratumisin ve WS9326 gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; coelichelin gen kümesi siderofor olma açısından; bleomisin gen kümesi ise antikanser/antitümör ajan olma açısından potansiyele sahiptir. H27-H1 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde kosinostatin, rustmisin, rifamisin, azomisin, a201a, istamisin, ficellomisin ve feglimisin antimikrobiyal ajan olma açısından önemli iken; furakinosin ve zorbamisin gen kümeleri antikanser/antitümör ajan olma açısından önemlidir. Bunun yanı sıra salinomisin gen kümesi hem antimikrobiyal hem de antikanser ajan olma açısından umut vaad etmektedir. H34-S4 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde azomisin, tilakton, streptovarin ve laktonamisin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; zorbamisin, SF2575, neocarzinostatin, streptonigrin ve maduropeptin gen kümeleri antikanser/antitümör ajan olma açısından; indigoidine gen kümesi hem antioksidan hem antimikrobiyal ajan olma açısından önemlidir.

H27-S2 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde saframisin, tatakemisin annimisin, netropsin, streptomisin, mikotrienin ve kosinostatin gen kümeleri antimikrobiyal ajan olma açısından; SF2575, streptonigrin, kozmomisin, neokarzinostatin ve nataksazol gen kümeleri antitümör ve antikanser ajan olma açısından; gilvokarsin gen kümesi hem antimikrobiyal hem de antitümör ajan olma açısından; salinichelin gen kümesi siderofor olma açısından griseoviridin ise antiparazitik ajan olma açısından potansiyellere sahiptir. H34-AA3 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde H27-S2 izolatından farklı olarak laktonamisin, istamisin, yatakemisin, maklamisin ve ficellomisin gibi antimikrobiyal potansiyellere sahip metabolitlere benzerlik gösteren biyosentetik gen kümelerini taşımaktadır. H34-S5 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde ise H27-S2 ve H34-AA3 izolatından farklı olarak antitümör ajan potansiyelindeki netropsin gen kümesine %50 benzerlik gösteren biyosentetik gen kümesine sahipken, aynı zamanda antitümör ajan olan tambromisin (JBIR-126) gen kümesine %100 benzerliğe sahip biyosentetik gen kümesi taşımaktadır. Ayrıca düşük benzerlik gösterdiği leinamisin gen kümesi antitümör ve endurasidin gen kümesi anti-inflamatuvar ajan olma potansiyeline sahiptir. H39-C1 izolatının biyosentetik gen

kümeleri incelendiğinde istamisin, ficellomisin, A-503083, diisonitril antibiyotik SF2768, mikroansamisin, klavulanik asit, lankacidin, lizolipin, kanamisin, stenotrisin, polioksin, SAL-2242, auroramisin ve selifrolaktam gen kümeleri antimikrobiyal potansiyellere sahiptir. Diğer yandan aktinomisin ve dutomisin gen kümeleri antitümör/antikanser; hitachimisin hem antimikrobiyal hem antitümör potansiyellere sahip olup, qinichelin gen kümesi siderofor potansiyeline sahiptir. H39-S7 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde H39-C1 izolatından farklı olarak atratumycin, klorotrisin ve germisidin gibi antimikrobiyal; maduropeptin, foslaktomisin, vicienistatin gibi antitümör; vibrioferrin ve bacillibaktin gibi siderofor; desklorotrisin gibi anti-allerjenik potansiyellere sahip metabolitlere benzerlik gösteren biyosentetik gen kümelerini taşımaktadır. H27-C3 izolatının biyosentetik gen kümeleri incelendiğinde pentamycin, kalimantacin, ECO-0501, GE81112 ve laktonamisin gibi farklı gen kümeleri antimikrobiyal potansiyele; rothibin gen kümesi bitki büyüme regülatörü potansiyeline; naringenin gen kümesi antidiyabetik ve antifibrotik ajan olma potansiyeline; mitomisin ve neocarzinolone gen kümeleri antitümör/antikanser ajan olma potansiyeline ve şizokinler ise siderofor olma potansiyeline sahiptir.

Ayrıca metalofor veya siderofor biyosentetik gen kümelerinden bilinen biyoaktif gen kümelerine benzerlik gösterenler, muhtemel yeni siderofor olma açısından potansiyele sahiptirler. Organizmaların çoğunluğunun ektoin biyosentetik gen kümesini içeriyor olması ve benzerliğinin %100 olması, bu organizmaların ekstrem koşullarda hayatta kalmasını sağlamasından kaynaklanmaktadır. Biyosentetik gen kümesi analizi boyunca yapısı bilinen herhangi bir bileşiğin gen kümesi ile benzerlik göstermeyen veya çok düşük benzerlik gösteren metabolitler Antarktika Horseshoe Adası'ndan izole ettiğimiz tüm aktinobakteriyel izolatlarının farklı biyoaktivite özelliklerine sahip yeni bileşikler üretebileceğini göstermektedir. Bunun yanında, biyosentetik gen analizinde bulunan ancak tartışmada bahsedilmeyen biyoaktif gen kümeleri, henüz biyolojik fonksiyonları keşfedilmediğinden dolayı yeni aktivitelere sahip olmak açısından umut vaat etmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasıyla ilk kez Antarktika Horseshoe Adası'nın aktinobakteriyal biyoçeşitliliği çalışılmıştır. Adanın 23 farklı lokalitesinden elde edilen toprak, sediment ve su örneklerinin fizikokimyasal analizleri kapsamında pH analizleri gerçekleştirilmiştir. Genel olarak elde edilen örneklerin pH değerlerinin 6.1 ve 8.47 aralığında ve çoğunlukla alkali olduğu belirlenmiştir.

Yeni doğal biyoaktif metabolitleri üretebilen aktinobakterilerin izolasyonu amacıyla yapılan bu tez çalışmasında 18 farklı seçici izolasyon besiyeri kullanılarak aktinobakteri olma ihtimali yüksek 389 izolat saflaştırılmış ve stoklanmıştır. Gelişim açısından incelendiğinde 4°C ve 17°C inkübasyon sıcaklıklarının her ikisinde de en çok izolatan H34 toprak örneğinden izole edildiği belirlenmiştir. Ayrıca besiyerleri açısından incelendiğinde en çok izolat eser mineral ve karbon/azot kaynağına sahip Hümik Asit Vitamin agar, Gauze No.1 Agar ve Starch Casein Agar besiyerlerinden izole edilmiştir. Bu bağlamda Antarktik aktinobakterilerin izolasyonunda bu besiyerlerinden yararlanılmasının daha kullanışlı olduğu belirlenmiştir. Saflaştırılan 389 izolat arasından birbirinden morfolojik olarak farklı 68 izolat, 16S rRNA gen bölgesine ait dizi analizi yapılmak üzere seçilmiştir.

16S rRNA gen bölgesine ait dizi analizi gerçekleştirilmiş 68 izolat arasından 59'unun aktinobakteri üyeleri oldukları belirlenmiştir. Bu izolatlar arasından 20 farklı cinsin bulunduğu, bunlardan 11 cinsin *Actinobacteria* filumuna, 3 cinsin *Bacteroidota* filumuna, 1 cinsin *Deinococcota* filumuna, 3 cinsin *Pseudomonadota* ve 1 cinsin *Bacillota* filumuna ait olduğu belirlenmiştir.

Yapılan tüm genom dDDH analizleri ışığında Horseshoe Adası'nın aktinobakteri izolatlarından yeni tür olmadığı belirlenen *Micrococcus* sp. H39-S4 haricinde tüm aktinobakteriyel izolatlar, yeni tür olma ihtimali yüksek türler olarak belirlenmiş ve genom verileri GenBank veritabanına kaydedilmiştir. Filogenetik analizlerin sonucunda *Amycolatopsis* sp. H20-H5, *Arthrobacter* spp. H14-L1, H35-D1 ve H35-MC1, *Cryobacterium* spp. PH29-G1, PH31-AA6, PH31-L1 ve PH31-O1, *Microbacterium* sp. H37-C3, *Paenarthrobacter* sp. PH39-S1, *Pseudarthrobacter* spp. PS3-L1 ve PH31-O2, *Rhodococcus* sp. G-MC3, *Salinibacterium* sp. G-O1, *Streptomyces* spp. G-G2, H27-C3, H27-D2, H39-C1 ve H39-S7 izolatlarının yeni tür olduğu kabul edilmiştir. Bunun yanı sıra *Rhodococcus* spp. H29-C3 ve H36-A4 kendi

arasında, *Streptomyces* spp. H27-G5 ve H27-H5 kendi arasında, H10-C2 ve PH10-H1 kendi arasında, *Streptomyces* spp. H27-S2, H34-AA3 ve H34-S5 kendi arasında, *Streptomyces* spp. H27-H1 ve H34-S4'ün ise kendi arasında aynı türe düştükleri ancak içerisinde bulundukları cinsin yeni bir türünü temsil ettikleri kabul edilmiştir.

Yeni tür olma ihtimali yüksek bazı türlerin 10 farklı besiyerinde kültürel ve morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca azot kaynakları, karbon azot kaynakları, degradasyon ajanları, tuz-sıcaklık-pH toleransını kapsayan 80 karakter bakımından fenotipik testlere maruz bırakılmış ve kemotaksonomik analiz kapsamında polar lipid, respiratuar izoprenoid kinon, diaminopimelik asit ve tüm hücre şeker analizleri yapılmıştır. Ayrıca genomu dizilenen tüm aktinobakteriyel izolatların genom anotasyonu, biyosentetik gen kümesi ve antimikrobiyal direnç analizinden oluşan biyoinformatik analizleri gerçekleştirilerek muhtemel biyoteknolojik potansiyelleri hakkında fikir sahibi olunmuştur. Bu bağlamda tüm izolatların başta ilaç endüstrisi olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılabilecek yeni biyoaktif doğal bileşiklere sahip olabilecekleri varsayılmaktadır. İzolatlara ait bu biyoaktif gen kümelerinin daha detaylı analizinin yapılması ve istenilen aktiviteye sahip olabilecek bileşiklerin belirlenerek biyoteknoloji kapsamında kullanımı için projelerin gerçekleştirilmesi önemlidir.

Genom analizinin sonucunda hangi cinse ait oldukları tam belirlenemeyen PH39-S1 ve H39-S4 izolatları için multilokus sekans analizleri (MLSA) gibi daha farklı çeşitlilik ve çözünürlükte genom analizlerinin gerçekleştirilmesi gereklidir. Çok sayıda yeni tür olma potansiyeline sahip izolatın elde edilmesinden dolayı bir kısmının fenotipik ve kemotaksonomik analizleri gerçekleştirilememiştir. Ancak en kısa sürede bu izolatların gerekli polifazik analizlerinin gerçekleştirilmesi ve yeni tür olduklarına dair desteklenmesi gereklidir.

Bu tez çalışması sonucunda Antarktika Horseshoe Adası'nın çok sayıda aktinobakteriye habitat olduğu bilgisine varılmıştır. Ancak Antarktika gibi ekstrem ve özellikle soğuk habitatlardan aktinobakteri izolasyonunun çok zor olduğu ve bu bağlamda yeni tekniklerin geliştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abraham, E. P. (1963). The Antibiotics. *Comprehensive Biochemistry*, 11(4), 181–224. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4831-9711-1.50022-3>
- Adékambi, T., Butler, R. W., Hanrahan, F., Delcher, A. L., Drancourt, M., & Shinnick, T. M. (2011). Core gene set as the basis of multilocus sequence analysis of the subclass Actinobacteridae. *PLoS ONE*, 6(3), 9–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014792>
- Aggarwal, N., Thind, S. K., & Sharma, S. (2016). Role of Secondary Metabolites of Actinomycetes in Crop Protection. *Plant Growth Promoting Actinobacteria*. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-0707-1>
- Agunbiade, M. O., Van Heerden, E., Pohl, C. H., & Ashafa, A. T. (2017). Flocculating performance of a bioflocculant produced by *Arthrobacter humicola* in sewage waste water treatment. *BMC Biotechnology*, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12896-017-0375-0>
- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R., Ramani, R., Srinivas, V., & Sastry, M. (2003). Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* species. *Nanotechnology*, 14(7), 824–828. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/14/7/323>
- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R., & Sastry, M. (2003). *Extracellular Biosynthesis of Monodisperse Gold Nanoparticles by a Novel Extremophilic Actinomycete, Thermomonospora sp. An important area of research in nanotechnology is the synthesis of nanoparticles of different chemical compositions, sizes, sha.* 15, 3550–3553.
- Alanjary, M., Kronmiller, B., Adamek, M., Blin, K., Weber, T., Huson, D., Philmus, B., & Ziemert, N. (2017). *The Antibiotic Resistant Target Seeker (ARTS), an exploration engine for antibiotic cluster prioritization and novel drug target discovery.* May. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx360>
- Amann, R., & Rossello, R. (2001). The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 25, 39–67.
- Amin, D. H., Abdallah, N. A., Abolmaaty, A., Tolba, S., & Wellington, E. M. H. (2020). Microbiological and molecular insights on rare Actinobacteria harboring bioactive prospective. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0266-8>
- Anandan, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P. (2016). An Introduction to Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*, September, 3–38. <http://www.intechopen.com/books/actinobacteria-basics-and-biotechnological-applications/an-introduction-to-actinobacteria>
- AR-GE Teşvikleri Genel Müdürlüğü. (2020). *Ulusal Kutup Bilim Programı 4. İzleme Ve Değerlendirme Raporu.*
- Arkin, A. P., Cottingham, R. W., Henry, C. S., Harris, N. L., Stevens, R. L., Maslov, S., Dehal, P., Ware, D., Perez, F., Canon, S., Sneddon, M. W., Henderson, M. L., Riehl, W. J., Murphy-Olson, D., Chan, S. Y., Kamimura, R. T., Kumari, S., Drake, M. M., Brettin, T. S., ... Yu, D. (2018). KBase: The United States department of energy systems biology knowledgebase. *Nature Biotechnology*,

36(7), 566–569. <https://doi.org/10.1038/nbt.4163>

- Asencio, G., Lavin, P., Alegría, K., Domínguez, M., Bello, H., González-Rocha, G., & González-Aravena, M. (2014). Antibacterial activity of the Antarctic bacterium *Janthinobacterium* sp. SMN 33.6 against 2 multi-resistant Gram-negative bacteria. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2013.12.001>
- Asimakoula, S., Marinakos, O., Tsagogiannis, E., & Koukkou, A. I. (2023). Phenol Degradation by *Pseudarthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3. *Microorganisms*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020524>
- Asolkar, R. N., Jensen, P. R., Kauffman, C. A., & Fenical, W. (2006). Daryamides A-C, weakly cytotoxic polyketides from a marine-derived actinomycete of the genus *Streptomyces* strain CNQ-085. *Journal of Natural Products*, 69(12), 1756–1759. <https://doi.org/10.1021/np0603828>
- Atalah, J., Blamey, L., Muñoz-Ibacache, S., Gutierrez, F., Urzua, M., Encinas, M. V., Páez, M., Sun, J., & Blamey, J. M. (2020). Isolation and characterization of violacein from an Antarctic *Iodobacter*: a non-pathogenic psychrotolerant microorganism. *Extremophiles: life under extreme conditions*, 24(1), 43–52. <https://doi.org/10.1007/S00792-019-01111-W>
- Athalye, M., Lacey, J., & Goodfellow, M. (1981). Selective Isolation and Enumeration of Actinomycetes using Rifampicin. *Journal of Applied Bacteriology*, 51(2), 289–297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1981.tb01244.x>
- ATS. (2023). *Antarctic Treaty*. https://www.ats.aq/index_e.html
- Auch, A. F., von Jan, M., Klenk, H. P., & Göker, M. (2010). Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. *Standards in Genomic Sciences*, 2(1), 117–134. <https://doi.org/10.4056/sigs.531120>
- Awakawa, T., Barra, L., & Abe, I. (2021). Biosynthesis of sulfonamide and sulfamate antibiotics in actinomycete. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 48(3–4), 1–8. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuab001>
- Aziz, R. K., Bartels, D., Best, A., DeJongh, M., Disz, T., Edwards, R. A., Formsma, K., Gerdes, S., Glass, E. M., Kubal, M., Meyer, F., Olsen, G. J., Olson, R., Osterman, A. L., Overbeek, R. A., McNeil, L. K., Paarmann, D., Paczian, T., Parrello, B., ... Zagnitko, O. (2008). The RAST Server: Rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics*, 9, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
- Bagley, M. C., Dale, J. W., Merritt, E. A., & Xiong, X. (2005). Thiopeptide antibiotics. *Chemical Reviews*, 105(2), 685–714. <https://doi.org/10.1021/cr0300441>
- Bajerski, F., Ganzert, L., Mangelsdorf, K., Lipski, A., & Wagner, D. (2011). *Cryobacterium arcticum* sp. nov., a psychrotolerant bacterium from an Arctic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(8), 1849–1853. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.027128-0>
- Ballas, S. K., Zeidan, A. M., Duong, V. H., DeVaux, M., & Heeney, M. M. (2018). The effect of iron chelation therapy on overall survival in sickle cell disease and

- β -thalassemia: A systematic review. *American Journal of Hematology*, 93(7), 943–952. <https://doi.org/10.1002/ajh.25103>
- Baricz, A., Teban, A., Chiriac, C. M., Szekeres, E., Farkas, A., Nica, M., Dascălu, A., Oprișan, C., Lavin, P., & Coman, C. (2018). Investigating the potential use of an Antarctic variant of *Janthinobacterium lividum* for tackling antimicrobial resistance in a One Health approach. *Scientific Reports*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33691-6>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(4), 1–43. <https://doi.org/10.1128/membr.00044-16>
- Barria, C., Malecki, M., & Arraiano, C. M. (2013). Bacterial adaptation to cold. *Microbiology (United Kingdom)*, 159(PART 12), 2437–2443. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052209-0>
- Başıbüyük, H. H., Bardakçı, F., Belshaw, R., & Quicke, D. L. J. (2016). Phylogenetic Systematics. *Mathematics and Archaeology, January 2016*, 225–239. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2573.4169>
- Başıbüyük, H. H., & Çıplak, B. (1997). Phylogenetic Systematic: A Short Introductory Review on its Terms, Principles and Techniques. *Turkish Journal of Zoology*, 21(3), 241–258. <https://doi.org/10.55730/1300-0179.2956>
- Bastmeijer, K., & Tin, T. (2016). Antarctica – A Wilderness Continent for Science: The ‘Public’s Dream’ as a Mission Impossible? *The Yearbook of Polar Law Online*, 6(1), 559–597. https://doi.org/10.1163/1876-8814_020
- Beemelmans, C., Ramadhar, T. R., Kim, K. H., Jonathan, L., Cao, S., Wyche, T. P., Hou, Y., Poulsen, M., Tim, S., Currie, C. R., & Clardy, J. (2017). Macrotermycins A-D, glycosylated macrolactams from a termite-associated *Amycolatopsis* sp. M39. *Org Lett.*, 19(5), 1000–1003. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b03831>.Macrotermycins
- Bell, K. S., Philp, J. C., Aw, D. W. J., & Christofi, N. (1998). A review: The genus *Rhodococcus*. *Journal of Applied Microbiology*, 85(2), 195–210. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00525.x>
- Benson, D. R., & Silvester, W. B. (1993). Biology of Frankia strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. *Microbiological Reviews*, 57(2), 293–319. <https://doi.org/10.1128/membr.57.2.293-319.1993>
- Berdy, J. (2005). Bioactive Microbial Metabolites. *Journal of Antibiotics. Antibiotics*, 58(1), 1–26. <https://0-www-nature-com.pugwash.lib.warwick.ac.uk/articles/ja20051.pdf>
- Bergeijk, D. A. Van, & Wezel, G. P. Van. (2020). Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 18, 546–558. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0379-y>
- Bernèche-D’Amours, A., Ghinet, M. G., Beaudin, J., Brzezinski, R., & Roy, S. (2011). Sequence analysis of *rpoB* and *rpoD* gene fragments reveals the phylogenetic diversity of actinobacteria of genus Frankia. *Canadian Journal of Microbiology*, 57(3), 244–249. <https://doi.org/10.1139/W10-106>

- Bian, J., Li, Y., Wang, J., Song, F. H., Liu, M., Dai, H. Q., Ren, B., Gao, H., Hu, X., Liu, Z. H., Li, W. J., & Zhang, L. X. (2009). *Amycolatopsis marina* sp. nov., an actinomycete isolated from an ocean sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(3), 477–481. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.000026-0>
- Bilgic, A. (2022). Turkey's Antarctic Quest: Historical Legacies, Geopolitical Ambitions. *RUSI Journal*, 166(6–7), 64–72. <https://doi.org/10.1080/03071847.2022.2028576>
- Bilstein, A., Werkhäuser, N., Rybachuk, A., & Mösges, R. (2021). The Effectiveness of the Bacteria Derived Extremolyte Ectoine for the Treatment of Allergic Rhinitis. *BioMed Research International*, 2021, 8–10. <https://doi.org/10.1155/2021/5562623>
- Bjerketorp, J., Röling, W. F. M., Feng, X. M., Garcia, A. H., Heipieper, H. J., & Håkansson, S. (2018). Formulation and stabilization of an *Arthrobacter* strain with good storage stability and 4-chlorophenol-degradation activity for bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(4), 2031–2040. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8706-6>
- Blin, K., Shaw, S., Augustijn, H. E., Reitz, Z. L., Biermann, F., Alanjary, M., Fetter, A., Terlouw, B. R., Metcalf, W. W., Helfrich, E. J. N., van Wezel, G. P., Medema, M. H., & Weber, T. (2023). antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. *Nucleic acids research*, 1–5. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad344>
- Blin, K., Shaw, S., Steinke, K., Villebro, R., Ziemert, N., Lee, Y., Medema, M. H., & Weber, T. (2019). *antiSMASH 5.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline*. 47(April), 81–87. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz310>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Borodina, E., Kelly, D. P., Schumann, P., Rainey, F. A., Ward-Rainey, N. L., & Wood, A. P. (2002). Enzymes of dimethylsulfone metabolism and the phylogenetic characterization of the facultative methylotrophs *Arthrobacter sulfonivorans* sp. nov., *Arthrobacter methylotrophus* sp. nov., and *Hyphomicrobium sulfonivorans* sp. nov. *Archives of Microbiology*, 177(2), 173–183. <https://doi.org/10.1007/s00203-001-0373-3>
- Bowlby, J. (2002). *A reservoir of 'historical' antibiotic resistance genes in remote pristine Antarctic soils*. 520.
- Bringmann, G., Lang, G., Maksimenka, K., Hamm, A., Gulder, T. A. M., Dieter, A., Bull, A. T., Stach, J. E. M., Kocher, N., Müller, W. E. G., & Fiedler, H. P. (2005). Gephyromycin, the first bridged angucyclinone, from *Streptomyces griseus* strain NTK 14. *Phytochemistry*, 66(11 SPEC. ISS.), 1366–1373. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.010>
- Brock, T. D. (1961). *Chloramphenicol*. 32–48.
- Brown, J. V., Wiles, R., & Prentice, G. A. (1979). The effect of a modified Tyndallization process upon the sporeforming bacteria of milk and cream. *International Journal of Dairy Technology*, 32(2), 109–112.

<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1979.tb01907.x>

- Bruno, S., Coppola, D., Di Prisco, G., Giordano, D., & Verde, C. (2019). Enzymes from marine polar regions and their biotechnological applications. *Marine Drugs*, 17(10), 1–36. <https://doi.org/10.3390/md17100544>
- Bruntner, C., Binder, T., Pathom-Aree, W., Goodfellow, M., Bull, A. T., Potterat, O., Puder, C., Hörer, S., Schmid, A., Bolek, W., Wagner, K., Mihm, G., & Fiedler, H. P. (2005). Frigocyclinone, a novel angucyclinone antibiotic produced by a *Streptomyces griseus* strain from Antarctica. *Journal of Antibiotics*, 58(5), 346–349. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.43>
- Buchholz-Cleven, B. E. E., Rattunde, B., & Straub, K. L. (1997). Screening for genetic diversity of isolates of anaerobic Fe(II)-oxidizing bacteria using DGGE and whole-cell hybridization. *Systematic and Applied Microbiology*, 20(2), 301–309. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(97\)80077-X](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(97)80077-X)
- Buckley, E., Lee, K. C., Higgins, C. M., & Seale, B. (2019). crossm Whole-Genome Sequences of One *Arthrobacter* Strain and Desert. *Microbiology Resource Announcements*, 8(August), 18–19.
- Buss, S. N., Starlin, R., & Iwen, P. C. (2014). Bacteremia caused by *microbacterium binotii* in a patient with sickle cell anemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(1), 379–381. <https://doi.org/10.1128/JCM.02443-13>
- Busscher, G. F., Rutjes, F. P. J. T., & van Delft, F. L. (2005). 2-Deoxystreptamine: Central scaffold of aminoglycoside antibiotics. *Chemical Reviews*, 105(3), 775–791. <https://doi.org/10.1021/cr0404085>
- Busse, H. J. (2016). Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *arthrobacter sensu lato*, proposal to reclassify selected species of the genus *Arthrobacter* in the novel genera *Glutamicibacter* gen. Nov., *Paeniglutamicibacter* gen. nov., *Pseudogluta*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(1), 9–37. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000702>
- Busse, H. J., Denner, E. B. M., & Lubitz, W. (1996). Classification and identification of bacteria: Current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. *Journal of Biotechnology*, 47(1), 3–38. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(96\)01379-X](https://doi.org/10.1016/0168-1656(96)01379-X)
- Busse, H., & Wieser, M. (2018a). *Paenarthrobacter*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1–9. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01436>
- Busse, H., & Wieser, M. (2018b). *Pseudarthrobacter*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1–13. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01438>
- Butler, M. S., Hansford, K. A., Blaskovich, M. A. T., Halai, R., & Cooper, M. A. (2014). Glycopeptide antibiotics: Back to the future. *Journal of Antibiotics*, 67(9), 631–644. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.111>
- Caicedo-Montoya, C., Manzo-Ruiz, M., & Ríos-Estapa, R. (2021). Pan-Genome of the Genus *Streptomyces* and Prioritization of Biosynthetic Gene Clusters With Potential to Produce Antibiotic Compounds. *Frontiers in Microbiology*, 12(September). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.677558>

- Callaghan, T., Furgal, C., Marchant, H., Prowse, T. D., Vilhjálmsson, H., & Walsh, J. E. (2007). Polar Regions (Arctic and Antarctic). İçinde *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability* (ss. 653–685).
- Cao, L., Zhang, J., Zhao, R., Deng, Y., Liu, J., Fu, W., Lei, Y., Zhang, T., Li, X., & Li, B. (2019). Genomic characterization, kinetics, and pathways of sulfamethazine biodegradation by *Paenarthrobacter* sp. A01. *Environment International*, 131(June), 104961. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104961>
- Cappelletti, M., Presentato, A., Piacenza, E., Firrincieli, A., Turner, R. J., & Zannoni, D. (2020). Biotechnology of *Rhodococcus* for the production of valuable compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(20), 8567–8594. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10861-z>
- Carlsohn, M. R., Groth, I., Tan, G. Y. A., Schütze, B., Saluz, H. P., Munder, T., Yang, J., Wink, J., & Goodfellow, M. (2007). *Amycolatopsis saalfeldensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a medieval alum slate mine. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(7), 1640–1646. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64903-0>
- Chattopadhyay, M., Reddy, G., & Shivaji, S. (2014). Psychrophilic Bacteria: Biodiversity, Molecular Basis of Cold Adaptation and Biotechnological Implications. *Current Biotechnology*, 3(1), 100–116. <https://doi.org/10.2174/22115501113026660039>
- Chen, H. H., Zhao, G. Z., Park, D. J., Zhang, Y. Q., Xu, L. H., Lee, J. C., Kim, C. J., & Li, W. J. (2009). *Micrococcus endophyticus* sp. nov., isolated from surface-sterilized *Aquilaria sinensis* roots. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(5), 1070–1075. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.006296-0>
- Chen, L., Li, P., Deng, Z., & Zhao, C. (2015). Ornithine transcarbamylase ArgK plays a dual role for the self-defense of phaseolotoxin producing *pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola*. *Scientific Reports*, 5(July), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep12892>
- Chen, M., Xiao, X., Wang, P., Zeng, X., & Wang, F. (2005). *Arthrobacter ardeleyensis* sp. nov., isolated from Antarctic lake sediment and deep-sea sediment. *Archives of Microbiology*, 183(4), 301–305. <https://doi.org/10.1007/s00203-005-0772-y>
- Chen, Y. G., Tang, S. K., Zhang, Y. Q., Li, Z. Y., Yi, L. B., Wang, Y. X., Li, W. J., & Cui, X. L. (2009). *Arthrobacter halodurans* sp. nov., a new halotolerant bacterium isolated from sea water. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 96(1), 63–70. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9336-5>
- Chen, Yong, Li, X. K., Si, J., Wu, G. J., Tian, L. De, & Xiang, S. R. (2016). Changes of the bacterial abundance and communities in shallow ice cores from Dundee and Muztagata glaciers, Western China. *Frontiers in Microbiology*, 7(NOV), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01716>
- Chen, Yunliang, Yang, Y., Ji, X., Zhao, R., Li, G., Gu, Y., Shi, A., Jiang, W., & Zhang, Q. (2020). The SCIFF-derived ranthipeptides participate in quorum sensing in solventogenic clostridia. *Biotechnology Journal*, 15(10). <https://doi.org/10.1002/bab.202000136>.This

- Cheng, C., & Hua, Z. C. (2020). Lasso Peptides: Heterologous Production and Potential Medical Application. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(September). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.571165>
- Chhetri, G., Kim, I., Kang, M., So, Y., Kim, J., & Seo, T. (2022). An Isolated *Arthrobacter* sp. Enhances Rice (*Oryza sativa* L.) Plant Growth. *Microorganisms*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061187>
- Chintalapati, S., Kiran, M. D., & Shivaji, S. (2004). *Role of membrane lipid fatty acids in cold adaptation*.
- Choo, S. W., Rishik, S., & Wee, W. Y. (2020). Comparative genome analyses of mycobacteroides immunogenum reveals two potential novel subspecies. *Microbial Genomics*, 6(12), 1–12. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000495>
- Chun, J., & Goodfellow, M. (1995). A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45(2), 240–245. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-2-240>
- Chun, Jongsik, Lee, J. H., Jung, Y., Kim, M., Kim, S., Kim, B. K., & Lim, Y. W. (2007). EzTaxon: A web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2259–2261. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.64915-0>
- Chun, Jongsik, Oren, A., Ventosa, A., Christensen, H., Arahal, D. R., da Costa, M. S., Rooney, A. P., Yi, H., Xu, X. W., De Meyer, S., & Trujillo, M. E. (2018). Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(1), 461–466. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002516>
- Çiner, A., Yildirim, C., Sarikaya, M. A., Seong, Y. B., & Yong Yu, B. (2019). Cosmogenic ¹⁰Be exposure dating of glacial erratics on Horseshoe Island in western Antarctic Peninsula confirms rapid deglaciation in the Early Holocene. *Antarctic Science*, 31(6), 319–331. <https://doi.org/10.1017/S0954102019000439>
- Collins, M. D., Goodfellow, M., & Minnikin, D. E. (1982). Polar lipid composition in the classification of *Arthrobacter* and *Microbacterium*. *FEMS Microbiology Letters*, 15(4), 299–302. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1982.tb00238.x>
- Collins, R. E., & Deming, J. W. (2013). An inter-order horizontal gene transfer event enables the catabolism of compatible solutes by *Colwellia psychrerythraea* 34H. *Extremophiles: life under extreme conditions*, 17(4), 601–610. <https://doi.org/10.1007/S00792-013-0543-7>
- Collins, T., Hoyoux, A., Dutron, A., Georis, J., Genot, B., Dauvrin, T., Arnaut, F., Gerday, C., & Feller, G. (2006). Use of glycoside hydrolase family 8 xylanases in baking. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 79–84. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2005.08.002>
- Comi, D., & Cantoni, C. (2002). Psychrotrophic Bacteria. *Elsevier*, 1, 111–116.
- Conn, H. J., & Conn, J. E. (1941). Value of Pigmentation in Classifying Actinomycetes: A Preliminary Note. *Journal of bacteriology*, 42(6), 791–799. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16560485>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC374793>
- Conn, H. J., & Dimmick, I. (1947). Soil Bacteria Similar in Morphology to

- Mycobacterium and Corynebacterium. *Journal of Bacteriology*, 54, 291–303.
- Convey, P., Bindschadler, R., Di Prisco, G., Fahrbach, E., Gutt, J., Hodgson, D. A., Mayewski, P. A., Summerhayes, C. P., & Turner, J. (2009). Antarctic Climate Change and the Environment. *Antarctic Science*, 21(6), 541–563. <https://doi.org/10.1017/S0954102009990642>
- Cornelis, K., Ritsema, T., Nijse, J., Holsters, M., Goethals, K., & Jaziri, M. (2001). The plant pathogen *Rhodococcus fascians* colonizes the exterior and interior of the aerial parts of plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(5), 599–608. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.599>
- Corretto, E., Antonielli, L., Sessitsch, A., Höfer, C., Puschenreiter, M., Widhalm, S., Swarnalakshmi, K., & Brader, G. (2020). Comparative Genomics of Microbacterium Species to Reveal Diversity, Potential for Secondary Metabolites and Heavy Metal Resistance. *Frontiers in Microbiology*, 11(August), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01869>
- Cosentino, S., Voldby Larsen, M., Møller Aarestrup, F., & Lund, O. (2013). PathogenFinder - Distinguishing Friend from Foe Using Bacterial Whole Genome Sequence Data. *PLoS ONE*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077302>
- Crawford, D. L., Lynch, J. M., Whipps, J. M., & Ousley, M. A. (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11), 3899–3905. <https://doi.org/10.1128/aem.59.11.3899-3905.1993>
- Curtis, S. M., & Meyers, P. R. (2012). Multilocus sequence analysis of the actinobacterial genus *Kribbella*. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(7), 441–446. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2012.08.001>
- D’Amico, S., Collins, T., Marx, J. C., Feller, G., & Gerday, C. (2006). Psychrophilic microorganisms: challenges for life. *EMBO reports*, 7(4), 385–389. <https://doi.org/10.1038/SJ.EMBOR.7400662>
- Dancer, S. J. (2004). How antibiotics can make us sick: The less obvious adverse effects of antimicrobial chemotherapy. *Lancet Infectious Diseases*, 4(10), 611–619. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(04\)01145-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(04)01145-4)
- Danilovich, M. E., Sánchez, L. A., Acosta, F., & Delgado, O. D. (2018). Antarctic bioprospecting: in pursuit of microorganisms producing new antimicrobials and enzymes. *Polar Biology*, 41(7), 1417–1433. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2295-4>
- Dastager, S. G., Lee, J. C., Ju, Y. J., Park, D. J., & Kim, C. J. (2008). *Cryobacterium mesophilum* sp. nov., a novel mesophilic bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(5), 1241–1244. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65650-0>
- De Simeis, D., & Serra, S. (2021). Actinomycetes: A never-ending source of bioactive compounds—an overview on antibiotics production. *Antibiotics*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050483>
- De Vivo, B., Grasemann, B., & Stüwe, K. (2009). The Geology Of Antarctica. *Geology*, IV.
- DeJong, P. J. (1972). L-Asparaginase production by *Streptomyces griseus*. *Applied*

- microbiology*, 23(6), 1163–1164. <https://doi.org/10.1128/aem.23.6.1163-1164.1972>
- Del Prado-Audelo, M. L., Cortés, H., Caballero-Florán, I. H., González-Torres, M., Escutia-Guadarrama, L., Bernal-Chávez, S. A., Giraldo-Gomez, D. M., Magaña, J. J., & Leyva-Gómez, G. (2021). Therapeutic Applications of Terpenes on Inflammatory Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 12(August), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.704197>
- Delcros, J., Floc'h, M., Prigent, C., & Arlot-Bonnemains, Y. (2012). Proteasome Inhibitors as Therapeutic Agents: Current and Future Strategies. *Current Medicinal Chemistry*, 10(6), 479–503. <https://doi.org/10.2174/0929867033368231>
- Deppe, U., Richnow, H. H., Michaelis, W., & Antranikian, G. (2005). Degradation of crude oil by an arctic microbial consortium. *Extremophiles*, 9(6), 461–470. <https://doi.org/10.1007/s00792-005-0463-2>
- Devulder, G., de Montclos, M. P., & Flandrois, J. P. (2005). A multigene approach to phylogenetic analysis using the genus *Mycobacterium* as a model. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 293–302. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63222-0>
- Dhillon, G. S., Brar, S. K., Kaur, S., & Verma, M. (2012). Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: Current trends and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(1), 49–73. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.550568>
- Diekmann, H., & Krezdorn, E. (1975). Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. *Archives of Microbiology*, 106(3), 191–194. <https://doi.org/10.1007/bf00446522>
- Dieser, M., Greenwood, M., & Foreman, C. M. (2010). Carotenoid pigmentation in Antarctic heterotrophic bacteria as a strategy to withstand environmental stresses. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 42(4), 396–405. https://doi.org/10.1657/1938-4246-42.4.396/SUPPL_FILE/UAAR_A_11957489_SM0001.PDF
- Ding, L., Hirose, T., & Yokota, A. (2009). Four novel *Arthrobacter* species isolated from filtration substrate. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(4), 856–862. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65301-0>
- Doddamani, H. P., & Ninnekar, H. Z. (2001). Biodegradation of carbaryl by a *Micrococcus* species. *Current Microbiology*, 43(1), 69–73. <https://doi.org/10.1007/s002840010262>
- Doran, P. T., Priscu, J. C., Berry Lyons, W., Walsh, J. E., Fountain, A. G., McKnight, D. M., Moorhead, D. L., Virginia, R. A., Wall, D. H., Clow, G. D., Fritsen, C. H., McKay, C. P., & Parsons, A. N. (2002). Antarctic climate cooling and terrestrial ecosystem response. *Nature*, 415(6871), 517–520. <https://doi.org/10.1038/nature710>
- Dsouza, M., Taylor, M. W., Turner, S. J., & Aislabie, J. (2015). Genomic and phenotypic insights into the ecology of *Arthrobacter* from Antarctic soils. *BMC Genomics*, 16(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1220-2>
- Duarte, A. W. F., dos Santos, J. A., Vianna, M. V., Vieira, J. M. F., Mallagutti, V. H., Inforsato, F. J., Wentzel, L. C. P., Lario, L. D., Rodrigues, A., Pagnocca, F.

- C., Pessoa, A., & Durães Sette, L. (2018). Cold-adapted enzymes produced by fungi from terrestrial and marine Antarctic environments. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(4), 600–619. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1379468>
- Dutta, J., & Thakur, D. (2017). Evaluation of multifarious plant growth promoting traits, antagonistic potential and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with commercial tea plants grown in Darjeeling, India. *PLoS ONE*, 12(8), 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182302>
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K., & Stacebrandt, E. (2005). The Prokaryotes, Archaea and bacteria: Firmicutes, Actinomycetes. İçinde *J Med Bacteriol* (C. 3). Springer.
- Edwards, A., Cameron, K. A., Cook, J. M., Debbonaire, A. R., Furness, E., Hay, M. C., & Rassner, S. M. E. (2020). Microbial genomics amidst the arctic crisis. *Microbial Genomics*, 6(5), 1–20. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000375>
- ElObeid, A. S., Kamal-Eldin, A., Abdelhalim, M. A. K., & Haseeb, A. M. (2016). Pharmacological Properties of Melanin and its Function in Health. *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(1), 42–49. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Eschbach, M., Möbitz, H., Rompf, A., & Jahn, D. (2003). Members of the genus *Arthrobacter* grow anaerobically using nitrate ammonification and fermentative processes: Anaerobic adaptation of aerobic bacteria abundant in soil. *FEMS Microbiology Letters*, 223(2), 227–230. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00383-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00383-5)
- Fang, Z., Zhao, X., Wu, Q., Li, S., Liu, Q., Tan, L., & Weng, Q. (2022). *Arthrobacter cavernae* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from sediment of karst cave. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(6), 1–7. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005445>
- Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783–791.
- Feurer, C., Vallaes, T., Corrieu, G., & Irlinger, F. (2004). Does smearing inoculum reflect the bacterial composition of the smear at the end of the ripening of a French soft, red-smear cheese? *Journal of Dairy Science*, 87(10), 3189–3197. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73454-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73454-2)
- Flanagan, R. J., Belsey, S., & Launiainen, T. (2014). Forensic biochemistry. İçinde *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects: Third Edition* (Third Edit). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5140-1.00044-4>
- Funke, G., Pagano-Niederer, M., Sjöden, B., & Falsen, E. (1998). Characteristics of *Arthrobacter cummingsii*, the most frequently encountered *Arthrobacter* species in human clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(6), 1539–1543. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.6.1539-1543.1998>
- Gao, D., Jiang, N., Wing, R. A., Jiang, J., & Jackson, S. A. (2015). Transposons play an important role in the evolution and diversification of centromeres among closely related species. *Frontiers in Plant Science*, 6(APR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00216>
- Gariyban, L., & Avashia, N. (2013). Polymerase chain reaction. *Journal of*

- Investigative Dermatology*, 133(3), 1–4. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.1>
- Garrido-Sanz, D., Redondo-Nieto, M., Martín, M., & Rivilla, R. (2020). Comparative genomics of the rhodococcus genus shows wide distribution of biodegradation traits. *Microorganisms*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050774>
- Gaynor, M., & Mankin, A. S. (2012). Macrolide Antibiotics: Binding Site, Mechanism of Action, Resistance. *Frontiers in Medicinal Chemistry - (Volume 2)*, 21–35. <https://doi.org/10.2174/978160805205910502010021>
- Genilloud, O. (2018). Mining actinomycetes for novel antibiotics in the omics era: Are we ready to exploit this new paradigm? *Antibiotics*, 7(4). <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040085>
- Genus: *Amycolatopsis*. (y.y.). Tarihinde 30 Nisan 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/amycolatopsis>
- Genus: *Arthrobacter*. (y.y.). Tarihinde 30 Nisan 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/arthrobacter>
- Genus: *Cryobacterium*. (y.y.). Tarihinde 01 Mayıs 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/cryobacterium>
- Genus: *Lacisediminihabitans*. (y.y.). Tarihinde 30 Nisan 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/lacisediminihabitans>
- Genus: *Microbacterium*. (y.y.). Tarihinde 01 Mayıs 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/microbacterium>
- Genus: *Micrococcus*. (y.y.). Tarihinde 01 Mayıs 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/micrococcus>
- Genus: *Paenarthrobacter*. (y.y.). Tarihinde 01 Mayıs 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/paenarthrobacter>
- Genus: *Pseudarthrobacter*. (y.y.). Tarihinde 01 Mayıs 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/pseudarthrobacter>
- Genus: *Rhodococcus*. (y.y.). Tarihinde 01 Mayıs 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/rhodococcus>
- Genus: *Salinibacterium*. (y.y.). Tarihinde 30 Nisan 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/salinibacterium>
- Genus: *Streptomyces*. (y.y.). Tarihinde 01 Mayıs 2023, adresinden erişildi <https://lpsn.dsmz.de/genus/streptomyces>
- Georlette, D., Blaise, V., Dohmen, C., Bouillenne, F., Damien, B., Depiereux, E., Gerday, C., Uversky, V. N., & Feller, G. (2003). Cofactor Binding Modulates the Conformational Stabilities and Unfolding Patterns of NAD⁺-dependent DNA Ligases from *Escherichia coli* and *Thermus scotoductus*. *Journal of Biological Chemistry*, 278(50), 49945–49953. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307761200>
- Giguère, S., Cohen, N. D., Keith Chaffin, M., Hines, S. A., Hondalus, M. K., Prescott, J. F., & Slovis, N. M. (2011). *Rhodococcus equi*: Clinical Manifestations, Virulence, and Immunity. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(6), 1221–1230. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00804.x>

- Gilbert, J. A., Davies, P. L., & Laybourn-Parry, J. (2005). A hyperactive, Ca²⁺-dependent antifreeze protein in an Antarctic bacterium. *FEMS Microbiology Letters*, 245(1), 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.02.022>
- Giudice, L., Domenico, D., Biology, A., & Ecology, M. (2010). Psychrophiles - Cold-Adapted Hydrocarbon-Degrading Microorganisms. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4>
- Giugliano, R., Buonocore, C., Zannella, C., Chianese, A., Esposito, F. P., Tedesco, P., De Filippis, A., Galdiero, M., Franci, G., & de Pascale, D. (2021). Antiviral activity of the rhamnolipids mixture from the antarctic bacterium *Pseudomonas gessardii* M15 against herpes simplex viruses and coronaviruses. *Pharmaceutics*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122121>
- Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2014). *Arthrobacter*. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, 1, 69–76. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00009-4>
- Goerges, S., Mounier, J., Rea, M. C., Gelsomino, R., Heise, V., Beduhn, R., Cogan, T. M., Vancanneyt, M., & Scherer, S. (2008). Commercial ripening starter microorganisms inoculated into cheese milk do not successfully establish themselves in the resident microbial ripening consortia of a south german red smear cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 2210–2217. <https://doi.org/10.1128/AEM.01663-07>
- Gökdemir, F. Ş., & Aras, S. (2019). *Chemotaxonomy in bacterial systematics f. seyma gokdemir, s umer aras*. 28(1), 78–90.
- Gomes, E. C. Q., Godinho, V. M., Silva, D. A. S., de Paula, M. T. R., Vitoreli, G. A., Zani, C. L., Alves, T. M. A., Junior, P. A. S., Murta, S. M. F., Barbosa, E. C., Oliveira, J. G., Oliveira, F. S., Carvalho, C. R., Ferreira, M. C., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2018). Cultivable fungi present in Antarctic soils: taxonomy, phylogeny, diversity, and bioprospecting of antiparasitic and herbicidal metabolites. *Extremophiles*, 22(3), 381–393. <https://doi.org/10.1007/s00792-018-1003-1>
- Gomes, R. C., Semêdo, L. T. A. S., Soares, R. M. A., Alviano, C. S., Linhares, L. F., & Coelho, R. R. R. (2000). Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. *Letters in Applied Microbiology*, 30(2), 146–150. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00687.x>
- Gong, C., Lai, Q., Cai, H., Jiang, Y., Liao, H., Liu, Y., & Xue, D. (2020). *Cryobacterium soli* sp. Nov., isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 675–679. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003820>
- Goodfellow, M. (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. İçinde M. Goodfellow, P. Kampfer, H. J. Busse, M. E. Trujillo, K. Suzuki, W. Ludwig, & W. B. Whitman (Ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd baskı, C. 33, s. 2028). Springer.
- Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual review of microbiology*, 37(41), 189–216. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.37.100183.001201>

- Goodfellow, M, & Alderson, G. (1977). The actinomycete-genus *Rhodococcus*: a home for the 'rhodochrous' complex. *J Gen Microbiol*, 100, 99–122.
- Goodfellow, M, & Alderson, G. (1979). Validation of new names and combinations previously effectively published outside IJSB. *List No. 2. Int J Syst Bacteriol*, 29, 79–80.
- Goodfellow, Michael, Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Suzuki, K., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2. baskı). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68233-4>
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., & Prasanna, S. L. (2020). Chapter 5: Streptomyces. *Elsevier*, 55–71.
- Gordon, R. E., & Mihm, J. M. (1962). The type species of the genus *Nocardia*. *Journal of general microbiology*, 27(3318), 1–10. <https://doi.org/10.1099/00221287-27-1-1>
- Gordon, Ruth E, Barnett, D. a, Handerhan, J. E., & Pang, C. H. (1974). *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica*, and the *Nocardin* Strain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 24(1), 54–63. <http://ijs.sgmjournals.org/cgi/content/abstract/24/1/54>
- Goris, J., Konstantinidis, K. T., Klappenbach, J. A., Coenye, T., Vandamme, P., & Tiedje, J. M. (2007). DNA-DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(1), 81–91. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64483-0>
- Gran-Scheuch, A., Fuentes, E., Bravo, D. M., Jiménez, J. C., & Pérez-Donoso, J. M. (2017). Isolation and characterization of phenanthrene degrading bacteria from diesel fuel-contaminated Antarctic soils. *Frontiers in Microbiology*, 8(AUG), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01634>
- Green, T. G. A., Schroeter, B., & Sancho, L. G. (2007). Plant Life in Antarctica. *İçinde Functional Plant Ecology* (2nd baskı, ss. 389–434).
- Grein, A., & Meyers, P. (1958). Actinomycetes Isolated From Littoral Sediments and Materials Suspended in Sea Water. *Journal of Bacteriology*, 76(5), 457–463.
- Guan, Z., Tian, B., Perfumo, A., & Goldfine, H. (2013). The polar lipids of *Clostridium psychrophilum*, an anaerobic psychrophile. *Biochimica et biophysica acta*, 1831(6), 1108. <https://doi.org/10.1016/J.BBALIP.2013.02.004>
- Guo, Y. P., Zheng, W., Rong, X. Y., & Huang, Y. (2008). A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S rRNA gene clade: Use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(1), 149–159. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65224-0>
- Gürsoy, M. E. (2023). *Antarktika Horseshoe Adası'nın Mikrobiyal Biyoçeşitliliğinin Metagenomik Analizi*.
- Gürtler, V., & Seviour, R. J. (2010). *Systematics of Members of the Genus Rhodococcus (Zopf 1891) Emend Goodfellow et al. 1998. July*, 1–28. https://doi.org/10.1007/978-3-642-12937-7_1
- Halder, V., Oeljeklaus, J., Heilmann, G., Krahn, J. H., Liu, Y., Xiong, Y., Schlicht, M., Schillinger, J., Kracher, B., Ehrmann, M., Kombrink, E., Kaschani, F., &

- Kaiser, M. (2018). Identification of the Natural Product Rotihibin A as a TOR Kinase Signaling Inhibitor by Unbiased Transcriptional Profiling. *Chemistry - A European Journal*, 24(48), 12500–12504. <https://doi.org/10.1002/chem.201802647>
- Ham, S. H., Yoon, A. R., Oh, H. E., & Park, Y. G. (2022). Plant Growth-Promoting Microorganism *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502770 Enhances the Growth and Flavonoid Content of *Geum aleppicum*. *Microorganisms*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061241>
- Hamed, J., & Poorinmohammad, N. (2017). The Cellular Structure of Actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 1–395. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1>
- Hamed, J., Poorinmohammad, N., & Papiran, R. (2017). Growth and Life Cycle of Actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 1–395. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1>
- Han, S. K., Nedashkovskaya, O. I., Mikhailov, V. V., Kim, S. B., & Bae, K. S. (2003). *Salinibacterium amurskyense* gen. nov., sp. nov., a novel genus of the family Microbacteriaceae from the marine environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(6), 2061–2066. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02627-0>
- Hassan, A. A., El-Barawy, A. M., & Nahed, E. M. M. (2011). Evaluation of Biological Compounds of *Streptomyces* Species for Control of some Fungal Diseases. *Journal of American*, 7(4), 752–760.
- Hayakawa, M., & Nonomura, H. (1987). Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, 65(5), 501–509. [https://doi.org/10.1016/0385-6380\(87\)90108-7](https://doi.org/10.1016/0385-6380(87)90108-7)
- Hayakawa, M., & Nonomura, H. (1989). A new method for the intensive isolation of actinomycetes from soil. İçinde *Actinomycetologica* (C. 3, Sayı 2, ss. 95–104). https://doi.org/10.3209/saj.3_95
- Hazarika, S. N., & Thakur, D. (2020a). Actinobacteria. İçinde *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00021-6>
- Hazarika, S. N., & Thakur, D. (2020b). Actinobacteria. İçinde *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00021-6>
- Helmke, E., & Weyland, H. (1984). *Rhodococcus marinonascens* sp. nov. an Actinomycete from the Sea. *International journal of systematic bacteriology*, 34(69), 127–138.
- Heyrman, J., Verbeeren, J., Schumann, P., Swings, J., & De Vos, P. (2005). Six novel *Arthrobacter* species isolated from deteriorated mural paintings. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4), 1457–1464. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63358-0>
- Higgins, C. E., & Kastner, R. E. (1971). *Streptomyces clavuligerus* sp. nov., a - Lactam Antibiotic Producer. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 21(4), 326–331. <https://doi.org/10.1099/00207713-21-4-326>
- Hohmann, C., Schneider, K., Bruntner, C., Irran, E., Nicholson, G., Bull, A. T.,

- Jones, A. L., Brown, R., Stach, J. E. M., Goodfellow, M., Beil, W., Krämer, M., Imhoff, J. F., Süssmuth, R. D., & Fiedler, H. P. (2009). Caboxamycin, a new antibiotic of the benzoxazole family produced by the deep-sea strain *Streptomyces* sp. NTK 937. *Journal of Antibiotics*, 62(2), 99–104. <https://doi.org/10.1038/ja.2008.24>
- Horan, A. N. N. C., & Brodsky, B. C. (1986). *Micrononospora rosaria* sp. nov., nom., rev., the Rosaramicin Producer. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 478–480.
- Horinouchi, S., Ueda, K., Nakayama, J., & Ikeda, T. (2010). Cell-to-cell communications among microorganisms. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*, 4, 283–337. <https://doi.org/10.1016/b978-008045382-8.00098-8>
- Huang, Y., Paściak, M., Liu, Z., Xie, Q., & Gamian, A. (2004). *Amycolatopsis palatopharyngis* sp. nov., a potentially pathogenic actinomycete isolated from a human clinical source. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 359–363. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02685-0>
- Huang, Y., Zhao, N., He, L., Wang, L., Liu, Z., You, M., & Guan, F. (2005). *Arthrobacter scleromae* sp. nov. isolated from human clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(3), 1451–1455. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.3.1451-1455.2005>
- Hughes, C. C., Prieto-Davo, A., Jensen, P. R., & Fenical, W. (2008). ChemInform Abstract: The Marinopyrroles, Antibiotics of an Unprecedented Structure Class from a Marine *Streptomyces* sp. *ChemInform*, 39(30), 4–6. <https://doi.org/10.1002/chin.200830209>
- Huston, A. L., Methe, B., & Deming, J. W. (2004). Purification, Characterization, and Sequencing of an Extracellular Cold-Active Aminopeptidase Produced by Marine Psychrophile *Colwellia psychrerythraea* Strain 34H. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6), 3321. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.6.3321-3328.2004>
- Innes, C. M. J., & Allan, E. J. (2001). Induction, growth and antibiotic production of *Streptomyces viridifaciens* L-form bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 90(3), 301–308. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01243.x>
- Inokoshi, J., Matsuhama, M., Miyake, M., Ikeda, H., & Tomoda, H. (2012). Molecular cloning of the gene cluster for lariatins biosynthesis of *Rhodococcus jostii* K01-B0171. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(2), 451–460. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-3973-8>
- Irlinger, F. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: Coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.016>
- Irlinger, F., Bimet, F., Delettre, J., Lefèvre, M., & Grimont, P. A. D. (2005). *Arthrobacter bergerei* sp. nov. and *Arthrobacter arilaitensis* sp. nov., novel coryneform species isolated from the surfaces of cheeses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 457–462. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63125-0>
- Issifu, M., Songoro, E. K., Onguso, J., Ateka, E. M., & Ngumi, V. W. (2022).

Potential of *Pseudarthrobacter chlorophenolicus* BF2P4-5 as a Biofertilizer for the Growth Promotion of Tomato Plants. *Bacteria*, 1(4), 191–206. <https://doi.org/10.3390/bacteria1040015>

İTÜ. (2017). *KUTUP (ARKTİK VE ANTARKTİK) BİLİM PROGRAMI ÇALIŞTAYI*.

Jacob, N., Asha Poorna, C., & Prema, P. (2008). Purification and partial characterization of polygalacturonase from *Streptomyces lydicus*. *Bioresource Technology*, 99(14), 6697–6701. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.002>

Jensen, P. R., Mincer, T. J., Williams, P. G., & Fenical, W. (2005). Marine actinomycete diversity and natural product discovery. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 87(1), 43–48. <https://doi.org/10.1007/s10482-004-6540-1>

Jensen, S. E., & Paradkar, A. S. (1999). Biosynthesis and molecular genetics of clavulanic acid. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 75(1–2), 125–133. <https://doi.org/10.1023/A:1001755724055>

Jiang, C., & Xu, L. (1993). Actinomycete diversity in unusual habitats. *Actinomycetes*, 4(2), 47–57.

Jiang, J., He, X., & Cane, D. E. (2007). Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nat Chem Biol.*, 3(11), 711–715. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.29>

Jog, R., Nareshkumar, G., & Rajkumar, S. (2012). Plant growth promoting potential and soil enzyme production of the most abundant *Streptomyces* spp. from wheat rhizosphere. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1154–1164. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05417.x>

Jones, A. L., Brown, J. M., Mishra, V., Perry, J. D., Steigerwalt, A. G., & Goodfellow, M. (2004). *Rhodococcus gordoniae* sp. nov., an actinomycete isolated from clinical material and phenol-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 407–411. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02756-0>

Jones, D., & Keddle, R. M. (2006). The Genus *Arthrobacter*. İçinde *Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), The Prokaryotes* (ss. 945–960). Springer.

Jones, K. L. (1949). Fresh Isolates Of Actinomycetes In Which The Presence Of Sporogenous Aerial Mycelia Is A Fluctuating Characteristic. *Journal of Bacteriology*, 57(2), 141. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000702>

Junge, K., Eicken, H., & Deming, J. W. (2003). Motility of *Colwellia psychrerythraea* Strain 34H at Subzero Temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 4282. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.4282-4284.2003>

Junge, K., & Staley, J. T. (2011). Diversity of Psychrophilic Bacteria from Sea Ice - and Glacial Ice Communities. *Extremophiles Handbook, March 2018*. <https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1>

Kalaba, M. H., Moghannem, S. A., El-Hawary, A. S., Radwan, A. A., Sharaf, M. H., & Shaban, A. S. (2021). Green synthesized zno nanoparticles mediated by *streptomyces plicatus*: Characterizations, antimicrobial and nematicidal

- activities and cytogenetic effects. *Plants*, 10(9).
<https://doi.org/10.3390/plants10091760>
- Kallimanis, A., Kavakiotis, K., Perisynakis, A., Spröer, C., Pukall, R., Drainas, C., & Koukkou, A. I. (2009). *Arthrobacter phenanthrenivorans* sp. nov., to accommodate the phenanthrene-degrading bacterium *Arthrobacter* sp. strain Sphe3. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(2), 275–279. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000984-0>
- Kalyon, B., Helaly, S. E., Scholz, R., Nachtigall, J., Vater, J., Borriss, R., & Süßmuth, R. D. (2011). Plantazolicin A and B: Structure elucidation of ribosomally synthesized thiazole/oxazole peptides from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Organic Letters*, 13(12), 2996–2999. <https://doi.org/10.1021/ol200809m>
- Kämpfer, P., Busse, H. J., Schumann, P., Criscuolo, A., Clermont, D., Irgang, R., Poblete-Morales, M., Glaeser, S. P., & Avendaño-Herrera, R. (2020). *Arthrobacter ulcerisalmonis* sp. Nov., isolated from an ulcer of a farmed atlantic salmon (*Salmo salar*), and emended description of the genus *Arthrobacter* sensu lato. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(3), 1963–1968. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004002>
- Kanetsuna, F., Imaeda, T., & Cunto, G. (1969). On the linkage between mycolic acid and arabinogalactan in phenol-treated mycobacterial cell walls. *BBA - Biomembranes*, 173(2), 341–344. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(69\)90117-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(69)90117-5)
- Kang, Q., Shen, Y., & Bai, L. (2012). Biosynthesis of 3,5-AHBA-derived natural products. *Natural Product Reports*, 29(2), 243–263. <https://doi.org/10.1039/c2np00019a>
- Kanoh, K., Matsuo, Y., Adachi, K., Imagawa, H., Nishizawa, M., & Shizuri, Y. (2005). Mechercharmucins A and B, cytotoxic substances from marine-derived *Thermoactinomyces* sp. YM3-251. *Journal of Antibiotics*, 58(4), 289–292. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.36>
- Karthik, L., Kumar, G., Kirthi, A. V., Rahuman, A. A., & Bhaskara Rao, K. V. (2014). *Streptomyces* sp. LK3 mediated synthesis of silver nanoparticles and its biomedical application. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(2), 261–267. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-0994-3>
- Kerry, E. (1990). Effects of temperature on growth rates of fungi from subantarctic Macquarie Island and Casey, Antarctica. *Polar Biology*, 10(4), 293–299. <https://doi.org/10.1007/BF00238428>
- Khalil, Z. G., Salim, A. A., Vuong, D., Crombie, A., Lacey, E., Blumenthal, A., & Capon, R. J. (2017). Amycolatopsins A-C: Antimycobacterial glycosylated polyketide macrolides from the Australian soil *Amycolatopsis* sp. MST-108494. *Journal of Antibiotics*, 70(12), 1097–1103. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.119>
- Khasheii, B., Mahmoodi, P., & Mohammadzadeh, A. (2021). Siderophores: Importance in bacterial pathogenesis and applications in medicine and industry. *Microbiological Research*, 250(May), 126790. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126790>
- Kim, O. S., Cho, Y. J., Lee, K., Yoon, S. H., Kim, M., Na, H., Park, S. C., Jeon, Y.

- S., Lee, J. H., Yi, H., Won, S., & Chun, J. (2012). Introducing EzTaxon-e: A prokaryotic 16s rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(PART 3), 716–721. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.038075-0>
- Kim, Y. H., Park, B. S., Bhatia, S. K., Seo, H. M., Jeon, J. M., Kim, H. J., Yi, D. H., Lee, J. H., Choi, K. Y., Park, H. Y., Kim, Y. G., & Yang, Y. H. (2014). Production of rapamycin in *Streptomyces Hygroscopicus* from glycerol-based media optimized by systemic methodology. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(10), 1319–1326. <https://doi.org/10.4014/jmb.1403.03024>
- Kirby, B. M., Everest, G. J., & Meyers, P. R. (2010). Phylogenetic analysis of the genus *Kribbella* based on the *gyrB* gene: Proposal of a *gyrB*-sequence threshold for species delineation in the genus *Kribbella*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 97(2), 131–142. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9393-9>
- Kisil, O. V., Efimenko, T. A., & Efremenkova, O. V. (2021). Looking back to Amycolatopsis: History of the antibiotic discovery and future prospects. *Antibiotics*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10101254>
- Kitagawa, W., Mitsuhashi, S., Hata, M., & Tamura, T. (2018). Identification of a novel bacteriocin-like protein and structural gene from *Rhodococcus erythropolis* JCM 2895, using suppression-subtractive hybridization. *Journal of Antibiotics*, 71(10), 872–879. <https://doi.org/10.1038/s41429-018-0078-3>
- Klieneberger-Nobel, E. (1947). The life cycle of sporing *Actinomyces* as revealed by a study of their structure and septation. *Journal of General Microbiology*, 1(1), 22–32. <https://doi.org/10.1099/00221287-1-1-22>
- Kodani, S., Bicz, J., Song, L., Deeth, R. J., Ohnishi-Kameyama, M., Yoshida, M., Ochi, K., & Challis, G. L. (2013). Structure and biosynthesis of scabichelin, a novel tris-hydroxamate siderophore produced by the plant pathogen *Streptomyces scabies* 87.22. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 11(28), 4686–4694. <https://doi.org/10.1039/c3ob40536b>
- Kong, J., Yi, L., Xiong, Y., Huang, Y., Yang, D., Yan, X., Shen, B., Duan, Y., & Zhu, X. (2018). The discovery and development of microbial bleomycin analogues. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(16), 6791–6798. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9129-8>
- Korn-Wendisch, F., & Kutzner, H. J. (1992). The family Streptomycetaceae. The Prokaryotes. *İçinde handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications* (ss. 921–995). Springer Science+Business Media LLC.
- Krieg, N. R., & Padgett, P. J. (2011). Phenotypic and Physiological Characterization Methods. *İçinde Methods in Microbiology* (C. 38). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387730-7.00003-6>
- Krishnan, R., Menon, R. R., Tanaka, N., Busse, H. J., Krishnamurthi, S., & Rameshkumar, N. (2016). *Arthrobacter pokkali* sp nov, a novel plant associated actinobacterium with plant beneficial properties, isolated from saline tolerant pokkali rice, Kerala, India. *PLoS ONE*, 11(3), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150322>

- Kroppenstedt, R., & Goodfellow, M. (2006). The family Thermomonosporaceae: Actinocorallia, Actinomadura, Spirillispora and Thermomonospora. İçinde M. Dworkin, S. Falkow, K. Schleife, & E. Stackebrandt (Ed.), *The Prokaryotes* (ss. 682–724). Springer.
- Kügler, J. H., Le Roes-Hill, M., Sylđatk, C., & Hausmann, R. (2015). Surfactants tailored by the class Actinobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 6(MAR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00212>
- Kumar, A., Gupta, R., Shrivastava, B., Khasa, Y. P., & Kuhad, R. C. (2012). Xylanase production from an alkalophilic actinomycete isolate Streptomyces sp. RCK-2010, its characterization and application in saccharification of second generation biomass. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 74(3–4), 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.10.001>
- Kumar, P. P., Raj, J. P. P., Christudas, I. V. S. N., Jansi, R. S., Murugan, N., Agastian, P., Arunachalam, C., & Alharbi, S. A. (2015). Screening of Actinomycetes for Enzyme and Antimicrobial Activities from the Soil Sediments of Northern Tamil Nadu, South India. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 5(1), 58–70. <https://doi.org/10.1080/22311866.2015.1009385>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kundu, D., Hazra, C., Chatterjee, A., Chaudhari, A., & Mishra, S. (2014). Extracellular biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using Rhodococcus pyridinivorans NT2: Multifunctional textile finishing, biosafety evaluation and in vitro drug delivery in colon carcinoma. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 140, 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.08.001>
- Kunimoto, S., Lu, J., Esumi, H., Yamazaki, Y., Kinoshita, N., Honma, Y., Hamada, M., Ohsono, M., Ishizuka, M., & Takeuchi, T. (2003). Kigamicins, novel antitumor antibiotics. I. Taxonomy, isolation, physico-chemical properties and biological activities. *Journal of Antibiotics*, 56(12), 1004–1011. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.56.1004>
- Kurane, R., Hatamochi, K., Kakuno, T., Kiyohara, M., Hirano, M., & Taniguchi, Y. (1994). Production of a Bioflocculant by Rhodococcus erythropolis S-1 Grown on Alcohols. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 58(2), 428–429. <https://doi.org/10.1271/bbb.58.428>
- Kurtböke, D. . (2017). Ecology and Habitat Distribution of Actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 1–395. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1>
- Küster, E. (1959). Outline Of a Comparative Study pf Criteria Used In Characterization Of The Actinomycetes. *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature And Taxonomy*, 9(2), 97–104.
- Küster, E., & Williams, S. T. (1964). Selection of Media for Isolation of Streptomyces. *Nature*, 202(4935), 928–929.

- Kutzner, H. J. (1976). Methoden zur Untersuchung von Streptomyceten und einigen anderen Actinomyceten. *Darmstadt: Teilsammlung Darmstadt am Institut für Mikrobiologie der Technischen Hochschule.*
- Kwon, H. C., Kauffman, C. A., Jensen, P. R., & Fenical, W. (2006). Marinomycins A-D, antitumor-antibiotics of a new structure class from a marine actinomycete of the recently discovered genus “Marinispora”. *Journal of the American Chemical Society*, 128(5), 1622–1632. <https://doi.org/10.1021/ja0558948>
- Labeda, D. P., Donahue, J. M., Williams, N. M., Sells, S. F., & Henton, M. M. (2003). Amycolatopsis kentuckyensis sp. nov., Amycolatopsis lexingtonensis sp. nov. and Amycolatopsis pretoriensis sp. nov., isolated from equine placentas. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1601–1605. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02691-0>
- Labeda, David P. (2011). Multilocus sequence analysis of phytopathogenic species of the genus streptomyces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(10), 2525–2531. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.028514-0>
- Ladinsky, H., Consolo, S., Zatta, A., & Vezzani, A. (1983). Mode of action of gamma-butyrolactone on the central cholinergic system. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 322(1), 42–48. <https://doi.org/10.1007/BF00649351>
- Lagedroste, M., Reiners, J., Knospe, C. V., Smits, S. H. J., & Schmitt, L. (2020). A Structural View on the Maturation of Lanthipeptides. *Frontiers in Microbiology*, 11(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01183>
- Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA Sequencing. İçinde E. Stackebrandt & M. Goodfellow (Ed.), *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematic* (ss. 115–175). John Wiley and Sons.
- Latha, S., & Dhanasekaran, D. (2013). Antibacterial and extracellular enzyme activities of gut actinobacteria isolated from Gallus gallus domesticus and Capra hircus. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(11), 379–385.
- Lazzarini, A., Cavaletti, L., Toppo, G., & Marinelli, F. (2000). Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 78(3–4), 399–405. <https://doi.org/10.1023/A:1010287600557>
- Leblond-Bourget, N., Philippe, H., Mangin, I., & Decaris, B. (1996). 16S rRNA and 16S to 23S internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter- and intraspecific Bifidobacterium phylogeny. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(1), 102–111. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-1-102>
- Lechevalier, M. P., Horan, A. C., & Lechevalier, H. (1971). Lipid composition in the classification of nocardiae and mycobacteria. *Journal of Bacteriology*, 105(1), 313–318. <https://doi.org/10.1128/jb.105.1.313-318.1971>
- Lechevalier, M P, Prauser, H., Labeda, D. P., & Ruan, A. N. D. J. (1986). Two New Genera of Nocardioform Actinomycetes: Amycolata gen. nov. and Amycolatopsis gen. nov. 44, 29–37.
- Lechevalier, Mary P., De Bievre, C., & Lechevalier, H. (1977). Chemotaxonomy of aerobic Actinomycetes: Phospholipid composition. *Biochemical Systematics*

- and Ecology*, 5(4), 249–260. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(77\)90021-7](https://doi.org/10.1016/0305-1978(77)90021-7)
- Lechevalier, Mary P., & Lechevalier, H. (1970). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 20, 435–443.
- Lee, J. W., Han, M. S., Choi, S., Yi, J., Lee, T. W., & Lee, S. Y. (2011). Organic Acids: Succinic and Malic Acids. *Comprehensive Biotechnology, Second Edition*, 3, 149–161. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00183-5>
- Lee, L. H., Cheah, Y. K., Sidik, S. M., Mutalib, N. S. A., Tang, Y. L., Lin, H. P., & Hong, K. (2012). Molecular characterization of Antarctic actinobacteria and screening for antimicrobial metabolite production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(5), 2125–2137. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1018-1>
- Lee, N., Hwang, S., Kim, J., Cho, S., Palsson, B., & Cho, B. K. (2020). Mini review: Genome mining approaches for the identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in *Streptomyces*. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 1548–1556. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.06.024>
- Lee, S. D. (2009). *Amycolatopsis ultiminotia* sp. nov., isolated from rhizosphere soil, and emended description of the genus *Amycolatopsis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(6), 1401–1404. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.006577-0>
- Lefort, V., Desper, R., & Gascuel, O. (2015). FastME 2.0: A comprehensive, accurate, and fast distance-based phylogeny inference program. *Molecular Biology and Evolution*, 32(10), 2798–2800. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv150>
- Leimer, N., Wu, X., Imai, Y., Morrisette, M., Pitt, N., Favre-Godal, Q., Iinishi, A., Jain, S., Caboni, M., Leus, I. V., Bonifay, V., Niles, S., Bargabos, R., Ghiglieri, M., Corsetti, R., Krumpoch, M., Fox, G., Son, S., Klepacki, D., ... Lewis, K. (2021). A selective antibiotic for Lyme disease. *Cell*, 184(21), 5405–5418.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.09.011>
- Leiva, S., Alvarado, P., Huang, Y., Wang, J., & Garrido, I. (2015). Diversity of pigmented Gram-positive bacteria associated with marine macroalgae from Antarctica. *FEMS Microbiology Letters*, 362(24), fnv206. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv206>
- Levchenko, L. A., Sadkov, A. P., Lariontseva, N. V., Koldasheva, E. M., Shilova, A. K., & Shilov, A. E. (2002). Gold helps bacteria to oxidize methane. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 88(3–4), 251–253. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(01\)00385-3](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(01)00385-3)
- Levchenko, L. A., Sadkov, A. P., Marakushev, S. A., & Lariontseva, N. V. (1997). Participation of biological membranes in colloidal gold transformation by *Micrococcus luteus* cells. *Membr Cell Biol*, 11(1), 131–135.
- Li, B., Furihata, K., Ding, L. X., & Yokota, A. (2007). *Rhodococcus kyotonensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(9), 1956–1959. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64770-0>

- Li, Jie, Zhao, G. Z., Chen, H. H., Qin, S., Xu, L. H., Jiang, C. L., & Li, W. J. (2008). *Rhodococcus cercidiphylli* sp. nov., a new endophytic actinobacterium isolated from a *Cercidiphyllum japonicum* leaf. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(2), 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.03.004>
- Li, Junqin, Lu, S., Jin, D., Yang, J., Lai, X. H., Zhang, G., Tian, Z., Zhu, W., Pu, J., Wu, X., Huang, Y., Wang, S., & Xu, J. (2019). *Salinibacterium hongtaonis* sp. Nov., isolated from faeces of tibetan antelope (*pantholops hodgsonii*) on the qinghai–tibet plateau. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(4), 1093–1098. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003277>
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016a). Cultural, Physiological, and Biochemical Identification of Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. <https://doi.org/10.5772/61462>
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016b). Morphological Identification of Actinobacteria. İçinde D. Dhanasekaran & Y. Jiang (Ed.), *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. <https://doi.org/10.5772/61461>
- Li, R., Wang, M., Ren, Z., Ji, Y., Yin, M., Zhou, H., & Tang, S. K. (2021). *Amycolatopsis aidingensis* sp. nov., a Halotolerant Actinobacterium, Produces New Secondary Metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 12(December), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.743116>
- Li, S. J., Hua, Z. S., Huang, L. N., Li, J., Shi, S. H., Chen, L. X., Kuang, J. L., Liu, J., Hu, M., & Shu, W. S. (2014). Microbial communities evolve faster in extreme environments. *Scientific Reports* 2014 4:1, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep06205>
- Li, Y., Kawamura, Y., Fujiwara, N., Naka, T., Lui, H., Huang, X., Kobayashi, K., & Ezaki, T. (2004). *Rothia aerea* sp. nov., *Rhodococcus baikonurensis* sp. nov. and *Arthrobacter russicus* sp. nov., isolated from air in the Russian space laboratory Mir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(3), 827–835. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02828-0>
- Liang, Y., Jiang, P., Yao, B., Jiao, Y., & Li, J. (2021). *Lacisediminihabitans changchengi* sp. nov., an actinobacterium isolated from Antarctic swamplands mud. *Archives of Microbiology*, 203(9), 5519–5524. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02531-z>
- Lievin, V., Peiffer, I., Hudault, S., Rochat, F., Brassart, D., Neeser, J. R., & Servin, A. L. (2000). *Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut*, 47(5), 646–652. <https://doi.org/10.1136/gut.47.5.646>
- Lim, J., Thomas, T., & Cavicchioli, R. (2000). Low temperature regulated DEAD-box RNA helicase from the Antarctic archaeon, *Methanococcoides burtonii*. *Journal of molecular biology*, 297(3), 553–567. <https://doi.org/10.1006/JMBI.2000.3585>
- Lingappa, Y., & Lockwood, J. L. (1962). Chitin media for selective isolation and culture of actinomycetes. İçinde *Phytopathology* (C. 52, Sayı 4, ss. 317–323).
- Lipski, A. (2022). *Arthrobacter* spp. in milk and milk products. İçinde *Encyclopedia of Dairy Sciences* (3. baskı). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.01029-5>

- Liras, P. (1999). Biosynthesis and molecular genetics of cephamycins. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 75(1–2), 109–124. <https://doi.org/10.1023/A:1001804925843>
- Liu, H., Xu, Y., Ma, Y., & Zhou, P. (2000). Characterization of *Micrococcus antarcticus* sp. nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(2), 715–719. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-2-715>
- Liu, Q., Liu, H. C., Zhang, J., Zhou, Y. G., & Xin, Y. H. (2013). *Cryobacterium levicorallinum* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from glacier ice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART8), 2819–2822. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.046896-0>
- Liu, Q., Liu, H., Wen, Y., Zhou, Y., & Xin, Y. (2012). *Cryobacterium flavum* sp. nov. and *Cryobacterium luteum* sp. nov., isolated from glacier ice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(6), 1296–1299. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.033738-0>
- Liu, Q., Xin, Y. H., Chen, X. L., Liu, H. C., Zhou, Y. G., & Chen, W. X. (2018). *Arthrobacter ruber* sp. nov., isolated from glacier ice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(5), 1616–1621. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002719>
- Liu, Q., Yang, L. L., & Xin, Y. H. (2023). Diversity of the genus *Cryobacterium* and proposal of 19 novel species isolated from glaciers. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1115168>
- Liu, X. Y., Wang, B. J., Jiang, C. Y., & Liu, S. J. (2007). *Micrococcus flavus* sp. nov., isolated from activated sludge in a bioreactor. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(1), 66–69. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.64489-0>
- Liu, Y., Shen, L., Zeng, Y., Xing, T., Xu, B., & Wang, N. (2020). Genomic Insights of *Cryobacterium* Isolated From Ice Core Reveal Genome Dynamics for Adaptation in Glacier. *Frontiers in Microbiology*, 11(July), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01530>
- Lo Giudice, A., Casella, P., Caruso, C., Mangano, S., Bruni, V., de Domenico, M., & Michaud, L. (2010). Occurrence and characterization of psychrotolerant hydrocarbon-oxidizing bacteria from surface seawater along the Victoria Land coast (Antarctica). *Polar Biology*, 33(7), 929–943. <https://doi.org/10.1007/s00300-010-0770-7>
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Kämpfer, P., & Whitman, W. B. (2012). Road map of the phylum Actinobacteria. *İninde Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-68233-4_1
- Ludwig, W., & Klenk, H.-P. (2001). Overview: A Phylogenetic Backbone and Taxonomic Framework for Procaryotic Systematics. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*, 49–65. https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6_8
- Luedemann, G. M. (1971). *Micromonospora purpureochromogenes* (Waksman and Curtis 1916) comb. nov. (subjective synonym: *Micromonospora fusca* Jensen 1932. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 21, 240–247.

- Lurthy, T., Cantat, C., Jeudy, C., Declerck, P., Gallardo, K., Barraud, C., Leroy, F., Ourry, A., Lemanceau, P., Salon, C., & Mazurier, S. (2020). Impact of Bacterial Siderophores on Iron Status and Ionome in Pea. *Frontiers in Plant Science*, 11(June), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00730>
- Mackintosh, N. A. (1960). The Pattern of Distribution of the Antarctic Fauna. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 152(949), 624–631. <https://doi.org/10.1098/rspb.1960.0069>
- Mages, I. S., Frodl, R., Bernard, K. A., & Funke, G. (2008). Identities of *Arthrobacter* spp. and *Arthrobacter*-like bacteria encountered in human clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(9), 2980–2986. <https://doi.org/10.1128/JCM.00658-08>
- Maiden, M. C. J. (2006). Multilocus sequence typing of bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 60, 561–588. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.59.030804.121325>
- Malard, L. A., & Pearce, D. A. (2018). Microbial diversity and biogeography in Arctic soils. *Environmental Microbiology Reports*, 10(6), 611–625. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12680>
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Senthilkumar, K., Sivakumar, K., & Kim, S. K. (2013). Biosynthesis, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using a novel *Nocardiopsis* sp. MBRC-1. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/287638>
- Maresca, J. A., Romberger, S. P., & Bryant, D. A. (2008). Isorenieratene biosynthesis in green sulfur bacteria requires the cooperative actions of two carotenoid cyclases. *Journal of Bacteriology*, 190(19), 6384–6391. <https://doi.org/10.1128/JB.00758-08>
- Margesin, R., Neuner, G., & Storey, K. B. (2007). Cold-loving microbes, plants, and animals - Fundamental and applied aspects. *Naturwissenschaften*, 94(2), 77–99. <https://doi.org/10.1007/s00114-006-0162-6>
- Marqués, A. M., Pinazo, A., Farfan, M., Aranda, F. J., Teruel, J. A., Ortiz, A., Manresa, A., & Espuny, M. J. (2009). The physicochemical properties and chemical composition of trehalose lipids produced by *Rhodococcus erythropolis* 51T7. *Chemistry and Physics of Lipids*, 158(2), 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2009.01.001>
- Martínez, F. L., Rajal, V. B., & Irazusta, V. P. (2021). Genomic characterization and proteomic analysis of the halotolerant *Micrococcus luteus* SA211 in response to the presence of lithium. *Science of the Total Environment*, 785, 147290. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147290>
- Marx, J. C., Collins, T., D’Amico, S., Feller, G., & Gerday, C. (2007). Cold-adapted enzymes from marine Antarctic microorganisms. *Marine Biotechnology*, 9(3), 293–304. <https://doi.org/10.1007/s10126-006-6103-8>
- Matsuyama, H., Yumoto, I., Kudo, T., & Shida, O. (2003). *Rhodococcus tukisamuensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1333–1337. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02523-0>
- McCann, C. M., Christgen, B., Roberts, J. A., Su, J. Q., Arnold, K. E., Gray, N. D.,

- Zhu, Y. G., & Graham, D. W. (2019). Understanding drivers of antibiotic resistance genes in High Arctic soil ecosystems. *Environment International*, 125(November 2018), 497–504. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.034>
- Meier-Kolthoff, J. P., Auch, A. F., Klenk, H. P., & Göker, M. (2013). Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics*, 14. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-60>
- Meier-Kolthoff, J. P., & Göker, M. (2019). TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10210-3>
- Meier-Kolthoff, J. P., Hahnke, R. L., Petersen, J., Scheuner, C., Michael, V., Fiebig, A., Rohde, C., Rohde, M., Fartmann, B., Goodwin, L. A., Chertkov, O., Reddy, T., Pati, A., Ivanova, N. N., Markowitz, V., Kyrpides, N. C., Woyke, T., Göker, M., & Klenk, H.-P. (2014). Complete genome sequence of DSM 30083T, the proposal for delineating subspecies in microbial taxonomy. *Standards in Genomic Sciences*, 1–19.
- Melinda, Y. N., Widada, J., Wahyuningsih, T. D., Febriansah, R., Damayanti, E., & Mustofa, M. (2021). Metabologenomics approach to the discovery of novel compounds from *Streptomyces* sp. GMR22 as anti-SARS-CoV-2 drugs. *Heliyon*, 7(11), e08308. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08308>
- Merlot, A. M., Kalinowski, D. S., & Richardson, D. R. (2013). Novel chelators for cancer treatment: Where are we now? *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(8), 973–1006. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4540>
- Michaud, L., Lo Giudice, A., Saitta, M., De Domenico, M., & Bruni, V. (2004). The biodegradation efficiency on diesel oil by two psychrotrophic Antarctic marine bacteria during a two-month-long experiment. *Marine Pollution Bulletin*, 49(5–6), 405–409. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.026>
- Mihășan, M., Babii, C., Aslebagh, R., Channaveerappa, D., Dupree, E., & Darie, C. C. (2018). Proteomics based analysis of the nicotine catabolism in *Paenarthrobacter nicotinovorans* pAO1. *Scientific Reports*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34687-y>
- Mihășan, M., Babii, C., Aslebagh, R., Channaveerappa, D., & Dupree, E. J. (2019). *Exploration of Nicotine Metabolism in Paenarthrobacter nicotinovorans* pAO1 by *Microbial Proteomics*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-15950-4>
- Mihășan, M., Boiană, R. Ș., Guzun, D., Babii, C., Aslebagh, R., Channaveerappa, D., Dupree, E., Darie, C. C., & Mihășan, M. (2021). Time-Dependent Analysis of *Paenarthrobacter nicotinovorans* pAO1 Nicotine-Related Proteome. *ACS Omega*, 6(22), 14242–14251. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c01020>
- Miles, Z. D., Diethelm, S., Pepper, H. P., Huang, D. M., George, J. H., & Moore, B. S. (2017). A unifying paradigm for naphthoquinone-based meroterpenoid (bio)synthesis. *Nat Chem.*, 9(12), 1235–1242. <https://doi.org/10.1038/nchem.2829>
- Minnikin, D., O'Donnell, A., Goodfellow, M., Alderson, G., Athalye, M., Schaal, K., & Parlett, J. (1984). An integrated procedure for the extraction of bacterial isoprenoid quinones and polar lipids. *J Microbiol Methods*, 2, 233–241.

- Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Senapati, A., Radha, T. K., Mahakur, B., Uniyal, N., Myo, E. M., Boutaj, H., Sierra, B. E. G., Panneerselvam, P., Ganeshamurthy, A. N., Elković, S. A., Vasić, T., Rani, A., Dutta, S., & Mohapatra, P. K. D. (2022). Actinobacteria-enhanced plant growth, nutrient acquisition, and crop protection: Advances in soil, plant, and microbial multifactorial interactions. *Pedosphere*, 32(1), 149–170. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60042-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60042-5)
- Mohammadipanah, F., & Dehghani, M. (2017). Classification and Taxonomy of Actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 1–395. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1>
- Mojib, N., Philpott, R., Huang, J. P., Niederweis, M., & Bej, A. K. (2010). Antimycobacterial activity in vitro of pigments isolated from Antarctic bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 98(4), 531–540. <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9470-0>
- Mounier, J., Coton, M., Irlinger, F., Landaud, S., & Bonnarne, P. (2017). Smear-Ripened Cheeses. *Çinde Cheese* (Fourth Edi). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4/00038-7>
- Mukhtar, S., Zaheer, A., Aiysha, D., Abdulla Malik, K., & Mehnaz, S. (2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 10(12). <https://doi.org/10.4172/jpb.1000456>
- Mungan, M. D., Alanjary, M., Blin, K., Weber, T., Medema, M. H., & Ziemert, N. (2020). ARTS 2.0: Feature updates and expansion of the Antibiotic Resistant Target Seeker for comparative genome mining. *Nucleic Acids Research*, 48(W1), W546–W552. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAA374>
- Murray, R. G. E., Brenner, D. J., Colwell, R. R., De Vos, P., Goodfellow, M., Grimont, P. A. D., Pfennig, N., Stackebrandt, E., & Zavarzin, G. A. (1990). Report of the ad hoc committee on approaches to taxonomy within the Proteobacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40(2), 213–215. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-2-213>
- Narayana, K. J. P., Kumar, K. G., & Vijayalakshmi, M. (2008). L-asparaginase production by *Streptomyces albidoflavus*. *Indian Journal of Microbiology*, 48(3), 331–336. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0018-1>
- Nash, P., & Krent, M. M. (1991). Culture Media. In: Balows, A., Hauster Jr., W.J. and Herman, K.L., Eds. *Çinde Manual of Clinical Microbiology* (5. baskı). American Society of Microbiology.
- Navarro-muñoz, J. C., Selem-mojica, N., Mallowney, M. W., Kautsar, S. A., Tryon, J. H., Parkinson, E. I., Santos, E. L. C. D. L., Yeong, M., Cruz-morales, P., Abubucker, S., Roeters, A., Lokhorst, W., Fernandez-guerra, A., Teresa, L., Cappelini, D., Goering, A. W., Thomson, R. J., Metcalf, W. W., Kelleher, N. L., ... Medema, M. H. (2020). A computational framework to explore large-scale biosynthetic diversity. *Nature Chemical Biology*, 16, 60–68. <https://doi.org/10.1038/s41589-019-0400-9>
- Nie, E., He, P., Zhang, H., Hao, L., Shao, L., & Lü, F. (2021). How does temperature regulate anaerobic digestion? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 150(July), 111453. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111453>

- Nonomura, H., & Ohara, Y. (1969). Distribution of actinobacteria in soil. VII. A Culture method effective for both preferential isolation and enumeration of Microbispora and Streptosporangium strains in soil. Part 2. Classification of the isolates. *Journal of Fermentation Technology*, 47, 701–709.
- O'Hara, K. A., Wu, X., Patel, D., Liang, H., Yalowich, J. C., Chen, N., Goodfellow, V., Adedayo, O., Dmitrienko, G. I., & Hasinoff, B. B. (2007). Mechanism of the cytotoxicity of the diazoparaquinone antitumor antibiotic kinamycin F. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(8), 1132–1144. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.07.005>
- Ofaim, S., Zarecki, R., Porob, S., Gat, D., Lahav, T., Kashi, Y., Aly, R., Eizenberg, H., Ronen, Z., & Freilich, S. (2020). Genome-scale reconstruction of Paenarthrobacter aurescens TC1 metabolic model towards the study of atrazine bioremediation. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69509-7>
- Okami, Y., Suzuki, M., & Umezawa, H. (1963). Taxonomical Studies on a Streptomyces Strain Producing Labilomycin. *The Journal of antibiotics*, 16(July), 152–154.
- Oliveira, C. A., Alves, V. M. C., Marriel, I. E., Gomes, E. A., Scotti, M. R., Carneiro, N. P., Guimarães, C. T., Schaffert, R. E., & Sá, N. M. H. (2009). Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(9), 1782–1787. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.012>
- Oren, A., & Garrity, G. M. (2021). Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(10). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005056>
- Ortiz, M., Leung, P. M., Shelley, G., Jirapanjawan, T., Nauer, P. A., Van Goethem, M. W., Bay, S. K., Islam, Z. F., Jordaan, K., Vikram, S., Chown, S. L., Hogg, I. D., Makhalanyane, T. P., Grinter, R., Cowan, D. A., & Greening, C. (2021). Multiple energy sources and metabolic strategies sustain microbial diversity in Antarctic desert soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(45). <https://doi.org/10.1073/pnas.2025322118>
- Ottesen, E. A., & Campbell, W. (1994). Ivermectin in human medicine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 34(2), 195–203. <https://doi.org/10.1093/jac/34.2.195>
- Ouweland, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2002). Probiotics: An overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 82(1–4), 279–289. <https://doi.org/10.1023/A:1020620607611>
- Oza, G., Pandey, S., Gupta, A., Kesarkar, R., & Sharon, M. (2012). Biosynthetic Reduction of Gold Ions to Gold Nanoparticles by Nocardia farcinica. *J. Microbiol. Biotech.*, 2(4), 511–515.
- Özcan, K., Uzel, A., & Bedir, E. (2015). Anti-Microbial Activity of Chloramphenicol from Streptomyces sp.10CM9. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 195, 1736–1739. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.06.292>

- Ozturk, R. C., Feyzioglu, A. M., & Altinok, I. (2022). Prokaryotic community and diversity in coastal surface waters along the Western Antarctic Peninsula. *Polar Science*, 31(January 2021), 100764. <https://doi.org/10.1016/j.polar.2021.100764>
- Palaniappan, N., Ayers, S., Gupta, S., Habib, E. S., & Reynolds, K. A. (2006). Production of Hygromycin A Analogs in *Streptomyces hygrosopicus* NRRL 2388 through Identification and Manipulation of the Biosynthetic Gene Cluster. *Chemistry and Biology*, 13(7), 753–764. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.05.013>
- Papaleo, M. C., Fondi, M., Maida, I., Perrin, E., Lo Giudice, A., Michaud, L., Mangano, S., Bartolucci, G., Romoli, R., & Fani, R. (2012). Sponge-associated microbial Antarctic communities exhibiting antimicrobial activity against *Burkholderia cepacia* complex bacteria. *Biotechnology Advances*, 30(1), 272–293. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.06.011>
- Papaleo, M. C., Romoli, R., Bartolucci, G., Maida, I., Perrin, E., Fondi, M., Orlandini, V., Mengoni, A., Emiliani, G., Tutino, M. L., Parrilli, E., de Pascale, D., Michaud, L., Lo Giudice, A., & Fani, R. (2013). Bioactive volatile organic compounds from Antarctic (sponges) bacteria. *New Biotechnology*, 30(6), 824–838. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.03.011>
- Park, S. R., Park, J. W., Ban, Y. H., Sohng, J. K., & Yoon, Y. J. (2013). 2-Deoxystreptamine-containing aminoglycoside antibiotics: Recent advances in the characterization and manipulation of their biosynthetic pathways. *Natural Product Reports*, 30(1), 11–20. <https://doi.org/10.1039/c2np20092a>
- Park, T. J., Lee, S. Y., Lee, S. J., Park, J. P., Yang, K. S., Lee, K. B., Ko, S., Park, J. B., Kim, T., Kim, S. K., Shin, Y. B., Chung, B. H., Ku, S. J., Kim, D. H., & Choi, I. S. (2006). Protein nanopatterns and biosensors using gold binding polypeptide as a fusion partner. *Analytical Chemistry*, 78(20), 7197–7205. <https://doi.org/10.1021/ac060976f>
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Gupta, V. K., Yadav, M. K., Saikia, R., & Singh, B. P. (2015). In vitro and in vivo plant growth promoting activities and DNA fingerprinting of antagonistic endophytic actinomycetes associates with medicinal plants. *PLoS ONE*, 10(9), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139468>
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Singh, G., Singh, P., Kumar, B., Gupta, V. K., Sharma, R. K., Saikia, R., Donovan, A. O., & Singh, B. P. (2017). Insights into the functionality of endophytic actinobacteria with a focus on their biosynthetic potential and secondary metabolites production. *Scientific Reports*, 7(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12235-4>
- Patel, C., Vaishnav, A., Edwards, B. F. P., & Evans, D. R. (2020). Characterization and assembly of the *Pseudomonas aeruginosa* aspartate transcarbamoylase-pseudo dihydroorotase complex. *PLoS ONE*, 15(3), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229494>
- Pearce, D. A., Bridge, P. D., Hughes, K. A., Sattler, B., Psenner, R., & Russell, N. J. (2009). Microorganisms in the atmosphere over Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology*, 69(2), 143–157. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00706.x>
- Petković, H., Cullum, J., Hranueli, D., Hunter, I. S., Perić-Concha, N., Pigac, J.,

- Thamchaipenet, A., Vujaklija, D., & Long, P. F. (2006). Genetics of *Streptomyces rimosus*, the Oxytetracycline Producer. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(3), 704–728. <https://doi.org/10.1128/mmmbr.00004-06>
- Pirog, T. P., Korzh, Y. V., Shevchuk, T. A., & Tarasenko, D. A. (2008). Peculiarities of C2 metabolism and intensification of the synthesis of surface-active substances in *Rhodococcus erythropolis* EK-1 grown in ethanol. *Microbiology*, 77(6), 665–673. <https://doi.org/10.1134/S0026261708060039>
- Poehlsgaard, J., & Douthwaite, S. (2003). Macrolide antibiotic interaction and resistance on the bacterial ribosome. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 4(2), 140–148.
- Porter, J. N., Wilhelm, J. J., & Tresner, H. D. (1960). Method for the preferential isolation of Actinomycetes from soils. *Applied microbiology*, 8(1955), 174–178. <https://doi.org/10.1128/aem.8.3.174-178.1960>
- Powell, S. M., Snape, I., Bowman, J. P., Thompson, B. A. W., Stark, J. S., McCammon, S. A., & Riddle, M. J. (2005). A comparison of the short term effects of diesel fuel and lubricant oils on Antarctic benthic microbial communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 322(1), 53–65. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.02.005>
- Prescott, J. F. (1991). *Rhodococcus equi*: An animal and human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 4(1), 20–34. <https://doi.org/10.1128/CMR.4.1.20>
- Pridham, T. G., & Gottlieb, D. (1948). The Utilization of Carbon Compounds by Some Actinomycetales as an Aid for Species Determination. *Journal of bacteriology*, 56(1), 107–114. <https://doi.org/10.1128/jb.56.1.107-114.1948>
- Pridham, T. G., & Lyons, A. J. (1961). *Streptomyces albus* (Rossi-Doria) Waksman et Henrici: taxonomic study of strains labeled *Streptomyces albus*. *Journal of bacteriology*, 81, 431–441. <https://doi.org/10.1128/jb.81.3.431-441.1961>
- Priya, B. S. (2012). Efficient utilization of xylanase and lipase producing thermophilic marine actinomycetes (*Streptomyces albus* and *Streptomyces hygroscopicus*) in the production of ecofriendly alternative energy from waste. *African Journal of Biotechnology*, 11(78), 14320–14325. <https://doi.org/10.5897/ajb12.835>
- Prudhomme, J., McDaniel, E., Ponts, N., Bertani, S., Fenical, W., Jensen, P., & Le Roch, K. (2008). Marine actinomycetes: A new source of compounds against the human malaria parasite. *PLoS ONE*, 3(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002335>
- Pulschen, A. A., Bendia, A. G., Fricker, A. D., Pellizari, V. H., Galante, D., & Rodrigues, F. (2017). Isolation of uncultured bacteria from antarctica using long incubation periods and low nutritional media. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUL), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01346>
- Qi, M., Ma, X., Liang, B., Zhang, L., Kong, D., Li, Z., & Wang, A. (2022). Complete genome sequences of the antibiotic sulfamethoxazole-mineralizing bacteria *Paenarthrobacter* sp. P27 and *Norcardiodes* sp. N27. *Environmental Research*, 204(PB), 112013. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112013>
- Qi, Y., Ding, E., & Blodgett, J. A. V. (2018). Native and Engineered Clifednamide

- Biosynthesis in Multiple *Streptomyces* spp. *ACS Synthetic Biology*, 7(2), 357–362. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00349>
- Qin, S., Li, W. J., Dastager, S. G., & Hozzein, W. N. (2016). Editorial: Actinobacteria in special and extreme habitats: Diversity, function roles, and environmental adaptations. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1–2. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01415>
- Rahlwes, K. C., Sparks, I. L., & Morita, Y. S. (2019). Cell Walls and Membranes of Actinobacteria. İçinde *Subcellular Biochemistry* (C. 92). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18768-2_13
- Rampelotto, P. H. (2016). *Biotechnology of Extremophiles Advances and Challenges* (P. H. Rampelotto (Ed.)). Springer International Publishing.
- Reasoner, D. J., & Geldreich, E. E. (1985). A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(1), 1–7. <https://doi.org/10.1128/aem.49.1.1-7.1985>
- Reddy, G. S. N., Pradhan, S., Manorama, R., & Shivaji, S. (2010). *Cryobacterium roopkundense* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from glacial soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(4), 866–870. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.011775-0>
- Reed, J. F., & Cummings, R. W. (1945). Soil reaction-glass electrode and colorimetric methods for determining pH values of soils. *Soil Science*, 59(1), 97–105.
- Rehacek, Z. (1959). Isolation of actinomycetes and determination of the number of their spores in soil. *Microbiology USSR (English Transl.)*, 28(2), 220–225.
- Richter, M., & Rosselló-Móra, R. (2009). Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(45), 19126–19131. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906412106>
- Rieser, G., Scherer, S., & Wenning, M. (2013). *Micrococcus cohnii* sp. nov., isolated from the air in a medical practice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(1), 80–85. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.036434-0>
- Riva, V., Mapelli, F., Dragonetti, G., Elfahl, M., Vergani, L., Crepaldi, P., La Maddalena, N., & Borin, S. (2021). Bacterial Inoculants Mitigating Water Scarcity in Tomato: The Importance of Long-Term in vivo Experiments. *Frontiers in Microbiology*, 12(June). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.675552>
- Rizzo, C., & Giudice, A. Lo. (2020). The variety and inscrutability of polar environments as a resource of biotechnologically relevant molecules. *Microorganisms*, 8(9), 1–37. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091422>
- Rizzo, C., Malavenda, R., Gerçe, B., Papale, M., Sylđatk, C., Hausmann, R., Bruni, V., Michaud, L., Giudice, A. Lo, & Amalfitano, S. (2019). Effects of a simulated acute oil spillage on bacterial communities from arctic and antarctic marine sediments. *Microorganisms*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120632>
- Robinson, C. H. (2001). Cold adaptation in Arctic and Antarctic fungi. *New*

- Phytologist*, 151(2), 341–353. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00177.x>
- Robson, N. D., Cox, A. R. J., McGowan, S. J., & Bycroft, B. W. (1997). *Bacterial N-acetyl-homoserine-lactone-dependent signalling and its potential biotechnological applications*. 1995, 212–213.
- Rojas, J. L., Martín, J., Tormo, J. R., Vicente, F., Brunati, M., Ciciliato, I., Losi, D., Van Trappen, S., Mergaert, J., Swings, J., Marinelli, F., & Genilloud, O. (2009). Bacterial diversity from benthic mats of Antarctic lakes as a source of new bioactive metabolites. *Marine Genomics*, 2(1), 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2009.03.005>
- Rosas-Díaz, J., Escobar-Zepeda, A., Adaya, L., Rojas-Vargas, J., Cuervo-Amaya, D. H., Sánchez-Reyes, A., & Pardo-López, L. (2021). Paenarthrobacter sp. GOM3 Is a Novel Marine Species With Monoaromatic Degradation Relevance. *Frontiers in Microbiology*, 12(August), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.713702>
- Rosas-Magallanes, V., Deschavanne, P., Quintana-Murci, L., Brosch, R., Gicquel, B., & Neyrolles, O. (2006). Horizontal transfer of a virulence operon to the ancestor of Mycobacterium tuberculosis. *Molecular Biology and Evolution*, 23(6), 1129–1135. <https://doi.org/10.1093/molbev/msj120>
- Roy, P., & Kumar, A. (2020). Arthrobacter. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi*, 3–11. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00001-0>
- Russell, A. H., Vior, N. M., Hems, E. S., Lacret, R., & Truman, A. W. (2021). Discovery and characterisation of an amidine-containing ribosomally-synthesised peptide that is widely distributed in nature. *Chemical Science*, 12(35), 11769–11778. <https://doi.org/10.1039/d1sc01456k>
- Sacristán-Soriano, O., Angulo-Preckler, C., Vázquez, J., & Avila, C. (2017). Potential chemical defenses of Antarctic benthic organisms against marine bacteria. *Polar Research*, 36(1). <https://doi.org/10.1080/17518369.2017.1390385>
- Sadati, R., Barghi, A., & Jafarpour, M. (2013). Isolation and identification of novel lipase-producing microbacterium spp. From coastal soils of the Caspian Sea (North of Iran). *World Applied Sciences Journal*, 23(1), 65–69. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.23.01.73223>
- Sadhasivam, S., Shanmugam, P., Veerapandian, M., Subbiah, R., & Yun, K. (2012). Biogenic synthesis of multidimensional gold nanoparticles assisted by Streptomyces hygroscopicus and its electrochemical and antibacterial properties. *BioMetals*, 25(2), 351–360. <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9506-6>
- Saha, S., Dhanasekaran, D., Shanmugapriya, S., & Latha, S. (2013). Nocardiopsis sp. SD5: A potent feather degrading rare actinobacterium isolated from feather waste in Tamil Nadu, India. *Journal of Basic Microbiology*, 53(7), 608–616. <https://doi.org/10.1002/jobm.201200105>
- Saini, A., Aggarwal, N. K., & Yadav, A. (2016). Cellulolytic Potential of Actinomycetes Isolated from Different Habitats. *Bioengineering and*

- Bioscience*, 4(5), 88–94. <https://doi.org/10.13189/bb.2016.040503>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Salzberg, S. L. (2019). *Next-generation genome annotation : we still struggle to get it right*. 19–21.
- Santacruz-Calvo, L., González-López, J., & Manzanera, M. (2013). *Arthrobacter siccitolerans* sp. nov., a highly desiccation-tolerant, xeroprotectant-producing strain isolated from dry soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART 11), 4174–4180. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.052902-0>
- Sarıçam, S., & Müştak, H. K. (2015). Filogenetik Ağaçlandırma Metotları. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 26(2), 58–64.
- Saudagar, P. S., Survase, S. A., & Singhal, R. S. (2008). Clavulanic acid: A review. *Biotechnology Advances*, 26(4), 335–351. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.03.002>
- Schatz, A., Bugie, E., & Waksman, S. A. (2005). Streptomycin, a Substance Exhibiting Antibiotic Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Clinical orthopaedics and related research*, 437, 3–6. <https://doi.org/10.1097/01.blo.0000175887.98112.fe>
- Schleifer, K. H. (2009). Classification of Bacteria and Archaea: Past, present and future. *Systematic and Applied Microbiology*, 32(8), 533–542. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2009.09.002>
- Scholz, R., Molohon, K. J., Nachtigall, J., Vater, J., Markley, A. L., Süßmuth, R. D., Mitchell, D. A., & Borriss, R. (2011). Plantazolicin, a novel microcin B17/streptolysin S-like natural product from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Journal of Bacteriology*, 193(1), 215–224. <https://doi.org/10.1128/JB.00784-10>
- Schrempf, H. (2001). Recognition and degradation of chitin by streptomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 79(3–4), 285–289. <https://doi.org/10.1023/A:1012058205158>
- Schuerger, A. C., & Nicholson, W. L. (2016). Twenty species of hypobarophilic bacteria recovered from diverse soils exhibit growth under simulated martian conditions at 0.7 kPa. *Astrobiology*, 16(12), 964–976. <https://doi.org/10.1089/ast.2016.1587>
- Sehgal, S. N. (2003). Sirolimus: Its discovery, biological properties, and mechanism of action. *Transplantation Proceedings*, 35(3 SUPPL.), S7–S14. [https://doi.org/10.1016/S0041-1345\(03\)00211-2](https://doi.org/10.1016/S0041-1345(03)00211-2)
- Seipke, R. F., Kaltenpoth, M., & Hutchings, M. I. (2012). *Streptomyces* as symbionts: An emerging and widespread theme? *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 862–876. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00313.x>
- Selbesoğlu, M. O., Bakirman, T., Vassilev, O., & Ozsoy, B. (2023). Mapping of Glaciers on Horseshoe Island, Antarctic Peninsula, with Deep Learning Based on High-Resolution Orthophoto. *Drones*, 7(2). <https://doi.org/10.3390/drones7020072>

- Senechkin, I. V., Speksnijder, A. G. C. L., Semenov, A. M., van Bruggen, A. H. C., & van Overbeek, L. S. (2010). Isolation and Partial Characterization of Bacterial Strains on Low Organic Carbon Medium from Soils Fertilized with Different Organic Amendments. *Microbial Ecology*, 60(4), 829–839. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9670-1>
- Shanmugasundaram, T., Radhakrishnan, M., Gopikrishnan, V., Pazhanimurugan, R., & Balagurunathan, R. (2013). A study of the bactericidal, anti-biofouling, cytotoxic and antioxidant properties of actinobacterially synthesised silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 680–687. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.06.045>
- Sharma, M., Mathesh, K., Dandapat, P., Mariappan, A. K., Kumar, R., Kumari, S., Kapur, V., Maan, S., Jindal, N., Bansal, N., Kadiwar, R., Kumar, A., Gupta, N., Pawde, A. M., & Sharma, A. K. (2023). Emergence of Mycobacterium orygis-Associated Tuberculosis in Wild Ruminants, India. *Emerging Infectious Diseases*, 29(3), 661–663. <https://doi.org/10.3201/eid2903.221228>
- Sharma, Poonam, Diene, S. M., Thibeaut, S., Bittar, F., Roux, V., Gomez, C., Reynaud-Gaubert, M., & Rolain, J. M. (2013). Phenotypic and genotypic properties of Microbacterium yannicii, a recently described multidrug resistant bacterium isolated from a lung transplanted patient with cystic fibrosis in France. *BMC Microbiology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-97>
- Sharma, Priyanka, Dutta, J., & Thakur, D. (2018). Future Prospects of Actinobacteria in Health and Industry. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Actinobacteria: Diversity and Biotechnological Applications*, February, 305–324. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63994-3.00021-7>
- Shehata, H. (2010). Drugs and Drug Therapy. İçinde *Basic Science in Obstetrics and Gynaecology* (Fourth Edi, ss. 259–277). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-10281-3.00016-6>
- Sherpa, M. T., Bag, N., Das, S., Haokip, P., & Sharma, L. (2021). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from organically grown high yielding pole type native pea (Pisum sativum L.) variety Dentami of Sikkim, India. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100068. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100068>
- Shi, S., Qu, Y., Ma, F., & Zhou, J. (2014). Bioremediation of coking wastewater containing carbazole, dibenzofuran and dibenzothiophene by immobilized naphthalene-cultivated Arthrobacter sp. W1 in magnetic gellan gum. *Bioresource Technology*, 166, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.036>
- Shin, S. C., Kim, S. J., Ahn, D. H., Lee, J. K., Lee, H., Lee, J., Hong, S. G., Lee, Y. M., & Park, H. (2012). Genome sequence of a Salinibacterium sp. Isolated from antarctic soil. *Journal of Bacteriology*, 194(9), 2404–2404. <https://doi.org/10.1128/JB.00235-12>
- Shin, Y., Lee, B. H., Lee, K. E., & Park, W. (2020). Pseudarthrobacter psychrotolerans sp. Nov., a cold-adapted bacterium isolated from antarctic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(12), 6106–6114. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004505>

- Shirling, E. T., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 16, 313–340.
- Shishlyannikova, T. A., Kuzmin, A. V., Fedorova, G. A., Shishlyannikov, S. M., Lipko, I. A., Sukhanova, E. V., & Belkova, N. L. (2017). Ionofore antibiotic polynactin produced by *Streptomyces* sp. 156A isolated from Lake Baikal. *Natural Product Research*, 31(6), 639–644. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1217203>
- Shivaji, S., Rao, N. S., Saisree, L., Sheth, V., Reddy, G. S. N., & Bhargava, P. M. (1988). Isolation and identification of *Micrococcus roseus* and *Planococcus* sp. from schirmacher oasis, antarctica. *Journal of Biosciences*, 13(4), 409–414. <https://doi.org/10.1007/BF02703452>
- Shivannavar, C. T., Katoch, V. M., Sharma, V. D., Patil, M. A., Katoch, K., Bharadwaj, V. P., Sharma, R. K., Bhatia, A. S., & Agrawal, B. M. (1996). Determination of mycobacterial phylogeny on the basis of immunological relatedness of superoxide dismutases. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(4), 1164–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-4-1164>
- Shrivastava, S., D'Souza, S. F., & Desai, P. D. (2008). Production of indole-3-acetic acid by immobilized actinomycete (*Kitasatospora* sp.) for soil applications. *Current Science*, 94, 1595–1604.
- Siddiqui, K. S., Williams, T. J., Wilkins, D., Yau, S., Allen, M. A., Brown, M. V., Lauro, F. M., & Cavicchioli, R. (2013). *Psychrophiles*. 41, 87–115. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-EARTH-040610-133514>
- Siegmund, K., Maheshwary, S., Narayanan, S., Connors, W., Riedrich, M., Printz, M., & Richert, C. (2005). Molecular details of quinolone-DNA interactions: Solution structure of an unusually stable DNA duplex with covalently linked nalidixic acid residues and non-covalent complexes derived from it. *Nucleic Acids Research*, 33(15), 4838–4848. <https://doi.org/10.1093/nar/gki795>
- Silva, N. De, Jackson, J., & Steer, C. (2009). Infections, resistance patterns and antibiotic use in patients at a regional cancer centre. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2103–2111. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0113-4>
- Silva, L. J., Crevelin, E. J., Souza, D. T., Lacerda-Júnior, G. V., de Oliveira, V. M., Ruiz, A. L. T. G., Rosa, L. H., Moraes, L. A. B., & Melo, I. S. (2020). Actinobacteria from Antarctica as a source for anticancer discovery. *Scientific Reports*, 10(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69786-2>
- Silva, T. R. e., Silva, L. C. F., de Queiroz, A. C., Alexandre Moreira, M. S., de Carvalho Fraga, C. A., de Menezes, G. C. A., Rosa, L. H., Bicas, J., de Oliveira, V. M., & Duarte, A. W. F. (2021). Pigments from Antarctic bacteria and their biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(6), 809–826. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1888068>
- Sims, G. K., Sommers, L. E., & Konopka, A. (1986). Degradation of pyridine by *Micrococcus luteus* isolated from soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 51(5), 963–968. <https://doi.org/10.1128/aem.51.5.963-968.1986>
- Singh, P., Hanada, Y., Singh, S. M., & Tsuda, S. (2014). Antifreeze protein activity

- in Arctic cryoconite bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 351(1), 14–22. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12345>
- Singh, P., Singh, S. M., & Dhakephalkar, P. (2014). Diversity, cold active enzymes and adaptation strategies of bacteria inhabiting glacier cryoconite holes of High Arctic. *Extremophiles*, 18(2), 229–242. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0609-6>
- Singh, T. A., Passari, A. K., Jajoo, A., Bhasin, S., & Martin, J. F. (2021). *Tapping Into Actinobacterial Genomes for Natural Product Discovery*. 12(June), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655620>
- Skinninger, M. A., Merwin, N. J., Johnston, C. W., & Magarvey, A. (2017). *PRISM 3 : expanded prediction of natural product chemical structures from microbial genomes*. 45(April), 49–54. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx320>
- Song, Z., Xu, T., Wang, J., Hou, Y., Liu, C., Liu, S., & Wu, S. (2021). Secondary metabolites of the genus *Amycolatopsis*: Structures, bioactivities and biosynthesis. *İçinde Molecules* (C. 26, Sayı 7). <https://doi.org/10.3390/molecules26071884>
- Speck, M. L. (1943). A Study of the Genus *Microbacterium*. *Journal of Dairy Science*, 26(6), 533–543. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(43\)92750-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(43)92750-X)
- Srividhya, K. V., Alaguraj, V., Poornima, G., Kumar, D., Singh, G. P., Raghavenderan, L., Mohan Katta, A. V. S. K., Mehta, P., & Krishnaswamy, S. (2007). Identification of prophages in bacterial genomes by dinucleotide relative abundance difference. *PLoS ONE*, 2(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001193>
- Stach, J. E. M., & Bull, A. T. (2005). Estimating and comparing the diversity of marine actinobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 87(1), 3–9. <https://doi.org/10.1007/s10482-004-6524-1>
- Stackebrandt, Erko, Frederiksen, W., Garrity, G. M., Grimont, P. A. D., Kämpfer, P., Maiden, M. C. J., Nesme, X., Rosselló-Mora, R., Swings, J., Trüper, H. G., Vauterin, L., Ward, A. C., & Whitman, W. B. (2002). Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3), 1043–1047. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02360-0>
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), 345–351. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)
- Staneck, J. L., & Roberts, G. D. (1974). Simplified Approach to Identification of Aerobic Actinomycetes by Thin-Layer Chromatography. *Applied Microbiology*, 28(2), 226–231. <https://doi.org/10.1128/am.28.2.226-231.1974>
- Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Van Sinderen, D. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.008>
- Starcevic, A., Zucko, J., Simunkovic, J., Long, P. F., Cullum, J., & Hranueli, D. (2008). *ClustScan : an integrated program package for the semi-automatic annotation of modular biosynthetic gene clusters and in silico prediction of*

- novel chemical structures. 36(21), 6882–6892.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkn685>
- Stewart, E. J. (2012). Growing unculturable bacteria. *Journal of Bacteriology*, 194(16), 4151–4160. <https://doi.org/10.1128/JB.00345-12>
- Strom, S. L. (2008). Microbial Ecology of Ocean Biogeochemistry: A Community Perspective. *Science*, 320(5879), 1043–1045.
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1153527>
- Sutcliffe, I. C., Trujillo, M. E., & Goodfellow, M. (2012). A call to arms for systematists: Revitalising the purpose and practises underpinning the description of novel microbial taxa. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 101(1), 13–20.
<https://doi.org/10.1007/s10482-011-9664-0>
- Suzuki, K., Sasaki, J., Uramot, M., & Nakase, T. (1997). *Cryobacterium psychrophilum* gen. nov., sp. nov., nom. rev., comb. nov., an Obligately Psychrophilic Actinomycete To Accommodate “*Curtobacterium psychrophilum*” Inoue and Komagata 1976. *International Journal*, 0(26), 474–478.
- Suzuki, Y., Kubota, H., Madarame, H., Takase, F., Takahashi, K., Sasaki, Y., Kakuda, T., & Takai, S. (2021). Pathogenicity and genomic features of vapN-harboring *Rhodococcus equi* isolated from human patients. *International Journal of Medical Microbiology*, 311(6), 151519.
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2021.151519>
- Sziderics, A. H., Rasche, F., Trognitz, F., Sessitsch, A., & Wilhelm, E. (2007). Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaptation in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Canadian Journal of Microbiology*, 53(11), 1195–1202.
<https://doi.org/10.1139/W07-082>
- Takahashi, Y, Kuwana, T., Iwai, Y., & Omura, S. (1984). Some characteristics of aerial and submerged spores of *Kitasatosporia setalba*. *J Gen Appl Microbiol*, 30(3), 223–229.
- Takahashi, Yoko, & Nakashima, T. (2018). Actinomycetes, an Inexhaustible Source of Naturally Occurring Antibiotics. *Antibiotics*, 7(2), 45.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics7020045>
- Tan, G.Y.A, & Goodfellow, M. (2015). Amycolatopsis. İçinde *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (ss. 1–40). John Wiley & Sons, Ltd.
- Tan, Geok Yuan Annie, Ward, A. C., & Goodfellow, M. (2006). Exploration of Amycolatopsis diversity in soil using genus-specific primers and novel selective media. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(7), 557–569.
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2006.01.007>
- Tan, L. T. H., Chan, K. G., Lee, L. H., & Goh, B. H. (2016). *Streptomyces* bacteria as potential probiotics in aquaculture. *Frontiers in Microbiology*, 7(FEB), 1–8.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00079>
- Tang, S. K., Wang, Y., Guan, T. W., Lee, J. C., Kim, C. J., & Li, W. J. (2010). *Amycolatopsis halophila* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a salt lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(5), 1073–1078. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.012427-0>

- Tedesco, P., Maida, I., Esposito, F. P., Tortorella, E., Subko, K., Ezeofor, C. C., Zhang, Y., Tabudravu, J., Jaspars, M., Fani, R., & De Pascale, D. (2016). Antimicrobial activity of monoramnholipids produced by bacterial strains isolated from the Ross Sea (Antarctica). *Marine Drugs*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/md14050083>
- Teufel, R., Kaysser, L., Villaume, M. T., Diethelm, S., Carbullido, M. K., Baran, P. S., & Moore, B. S. (2014). One-Pot Enzymatic Synthesis of Merochlorin A and B. *Angewandte Chemie - International Edition*, 53(41), 11019–11022. <https://doi.org/10.1002/anie.201405694>
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Thorell, K., Meier-Kolthoff, J. P., Sjöling, Å., & Martín-Rodríguez, A. J. (2019). Whole-genome sequencing redefines Shewanella taxonomy. *Frontiers in Microbiology*, 10(AUG), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01861>
- Tindall, B. J., Rosselló-Móra, R., Busse, H. J., Ludwig, W., & Kämpfer, P. (2010). Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(1), 249–266. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.016949-0>
- Torres-Rodriguez, J. A., Reyes-Pérez, J. J., Quiñones-Aguilar, E. E., & Hernandez-Montiel, L. G. (2022). Actinomycete Potential as Biocontrol Agent of Phytopathogenic Fungi: Mechanisms, Source, and Applications. *Plants*, 11(23). <https://doi.org/10.3390/plants11233201>
- Trathan, P. N., & Agnew, D. (2010). Climate change and the Antarctic marine ecosystem: An essay on management implications. *Antarctic Science*, 22(4), 387–398. <https://doi.org/10.1017/S0954102010000222>
- Tripathi, V. C., Satish, S., Horam, S., Raj, S., Lal, A., Arockiaraj, J., Pasupuleti, M., & Dikshit, D. K. (2018). Natural products from polar organisms: Structural diversity, bioactivities and potential pharmaceutical applications. *Polar Science*, 18(January), 147–166. <https://doi.org/10.1016/j.polar.2018.04.006>
- Tshishonga, K., & Serepa-Dlamini, M. H. (2020). Draft Genome Sequence of Pseudarthrobacter phenanthrenivorans Strain MHSD1, a Bacterial Endophyte Isolated From the Medicinal Plant Pellaea calomelanos. *Evolutionary Bioinformatics*, 16, 1–5. <https://doi.org/10.1177/1176934320913257>
- Vakulenko, S. B., & Mobashery, S. (2003). Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 430–450. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.430-450.2003>
- Van Bambeke, F. (2006). Glycopeptides and glycopeptides in clinical development: A comparative review of their antibacterial spectrum, pharmacokinetics and clinical efficacy. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 7(8), 740–749.
- Van Bergeijk, D. A., Terlouw, B. R., Medema, M. H., & Van Wezel, G. P. (2020). Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 18, 546–558.

<https://doi.org/10.1038/s41579-020-0379-y>

- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., Vos, P. De, Kersters, K., & Swings, J. (1996). Polyphasic Taxonomy, a Consensus Approach to Bacterial Systematics. *American Society for Microbiology*, 407–438. <https://doi.org/10.1128/mr.60.2.407-438.1996>
- Vartoukian, S. R., Palmer, R. M., & Wade, W. G. (2010). Strategies for culture of “unculturable” bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 309(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02000.x>
- Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3), 495–548. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00005-07>
- Verde, C., Giordano, D., Bellas, C. M., di Prisco, G., & Anesio, A. M. (2016). Polar Marine Microorganisms and Climate Change. İçinde *Advances in Microbial Physiology* (C. 69, Sayı August). <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2016.07.002>
- Vergeynst, L., Wegeberg, S., Aamand, J., Lassen, P., Gosewinkel, U., Fritt-Rasmussen, J., Gustavson, K., & Mosbech, A. (2018). Biodegradation of marine oil spills in the Arctic with a Greenland perspective. *Science of the Total Environment*, 626, 1243–1258. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.173>
- Vigil-Stenman, T., Ininbergs, K., Bergman, B., & Ekman, M. (2017). High abundance and expression of transposases in bacteria from the Baltic Sea. *ISME Journal*, 11(11), 2611–2623. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.114>
- Waksman, S. . (1961). The Actinomycetes. İçinde *Classification, Identification, and Description of Genera and Species* (C. 2). The Williams & Wilkins Co.
- Wang, J., Li, W., Wang, H., & Lu, C. (2018). Pentaketide Ansamycin Microansamycins A-I from *Micromonospora* sp. Reveal Diverse Post-PKS Modifications. *Organic Letters*, 20(4), 1058–1061. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b04018>
- Wang, L., Zhang, C., Zhang, J., Rao, Z., Xu, X., Mao, Z., & Chen, X. (2021). Epsilon-poly-L-lysine: Recent Advances in Biomanufacturing and Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(September), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.748976>
- Wang, W., Qiu, Z., Tan, H., & Cao, L. (2014). Siderophore production by actinobacteria. *BioMetals*, 27(4), 623–631. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9739-2>
- Wang, Y. X., Wang, H. Bin, Zhang, Y. Q., Xu, L. H., Jiang, C. L., & Li, W. J. (2008). *Rhodococcus kunmingensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from a rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(6), 1467–1471. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65673-0>
- Wang, Ying, Cao, P., Sun, P., Zhao, J., Sun, X., Zhang, J., Li, C., Xiang, W., & Wang, X. (2019). *Cryobacterium tepidophilum* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of lettuce (var. *ramosa* Hort.). *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 112(11), 1611–1621. <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01287-3>
- Wang, Yongxia, & Jiang, Y. (2016). Chemotaxonomy of Actinobacteria.

Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Table 1.
<https://doi.org/10.5772/61482>

- Ward, A. C., & Allenby, N. E. (2018). Genome mining for the search and discovery of bioactive compounds: The *Streptomyces* paradigm. *FEMS Microbiology Letters*, 365(24). <https://doi.org/10.1093/femsle/fny240>
- Watt, L.-M. van der. (2023). Antarctica. İçinde *Encyclopedia Britannica*.
- Wauchope, H. S., Shaw, J. D., & Terauds, A. (2019). A snapshot of biodiversity protection in Antarctica. *Nature Communications*, 10(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08915-6>
- Weber, T., Rausch, C., Lopez, P., Hoof, I., Gaykova, V., Huson, D. H., & Wohlleben, W. (2009). *CLUSEAN: A computer-based framework for the automated analysis of bacterial secondary metabolite biosynthetic gene clusters*. 140, 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.01.007>
- Weyland, H. (1969). *Actinomycetes in North Sea and Atlantic Ocean Sediments Partial Inhibition by Mepacrine of the Development of Sulphonamide Resistance in Plasmodium berghei*. 223, 858.
- Whiteley, A. T., Garelis, N. E., Peterson, B. N., Choi, P. H., Tong, L., Woodward, J. J., & Portnoy, D. A. (2017). c-di-AMP modulates *Listeria monocytogenes* central metabolism to regulate growth, antibiotic resistance, and osmoregulation. *Molecular Microbiology*, 104(2), 212–233. <https://doi.org/10.1111/mmi.13622>
- Wieser, M., Denner, E. B. M., Kämpfer, P., Schumann, P., Tindall, B., Steiner, U., Vybiral, D., Lubitz, W., Maszenan, A. M., Patel, B. K. C., Seviour, R. J., Radax, C., & Busse, H. J. (2002). Emended descriptions of the genus *Micrococcus*, *Micrococcus luteus* (Cohn 1872) and *Micrococcus lylae* (Kloos et al. 1974). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2), 629–637. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-629>
- Wiley, E. O., & Lieberman, B. S. (2001). *Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics* (ss. 125–129).
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M., Sneath, P. H., & Sackin, M. J. (1983). Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Journal of General Microbiology*, 129(6), 1743–1813. <https://doi.org/10.1099/00221287-129-6-1743>
- Wilson, M. C., Gulder, T. A. M., Mahmud, T., & Moore, B. S. (2010). Shared biosynthesis of the saliniketals and rifamycins in *Salinispora arenicola* is controlled by the sare1259 encoded cytochrome P450. *J Am Chem Soc.*, 132(36), 12757–12765. <https://doi.org/10.1021/ja105891a>
- Wong, R. R., Lim, Z. S., Shaharuddin, N. A., Zulkharnain, A., Gomez-Fuentes, C., & Ahmad, S. A. (2021). Diesel in antarctica and a bibliometric study on its indigenous microorganisms as remediation agent. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041512>
- Wu, S. J., Fotso, S., Li, F., Qin, S., Kelter, G., & Fiebig, H. H. (2006). *N-Carboxamido-staurosporine and Selina-4(14),7(11)-diene8,9-diol, New Metabolites from a Marine Streptomyces sp.* 59(6), 331–337.

- Wu, S., Li, X., Fan, H., Dong, Y., Wang, Y., Bai, Z., & Zhuang, X. (2023). Engineering artificial microbial consortia based on division of labor promoted simultaneous removal of Cr(VI)-atrazine combined pollution. *Journal of Hazardous Materials*, 443.
- Xu, L. H., Li, W. J., Liu, Z. H., & Jiang, C. L. (2007). *Actinomycete Systematics-Principle, Methods and Practice* (1st baskı). Science Press.
- Yan, R., Liu, D., Fu, Y., Zhang, Y., Ju, H., Zhao, J., Wang, X., Zhang, J., & Xiang, W. (2019). *Arthrobacter celericrescens* sp. Nov., isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(10), 3093–3099. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003597>
- Yang, A., Si, L., Shi, Z., Tian, L., Liu, D., Zhou, D., Proksch, P., & Lin, W. (2013). Nitrosporeusines A and B, unprecedented thioester-bearing alkaloids from the arctic streptomyces nitrosporeus. *Organic Letters*, 15(20), 5366–5369. <https://doi.org/10.1021/ol4026809>
- Yang, C. H., & Liu, W. H. (2004). Purification and properties of a maltotriose-producing α -amylase from *Thermobifida fusca*. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(2–3), 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.05.004>
- Yassin, A. F. (2005). *Rhodococcus triatoma* sp. nov., isolated from a blood-sucking bug. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4), 1575–1579. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.63571-0>
- Yergeau, E., Michel, C., Tremblay, J., Niemi, A., King, T. L., Wyglinski, J., Lee, K., & Greer, C. W. (2017). Metagenomic survey of the taxonomic and functional microbial communities of seawater and sea ice from the Canadian Arctic. *Scientific Reports*, 7(November 2016), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep42242>
- Yingqing, M., Varoglu, M., & Sherman, D. H. (1999). Molecular characterization and analysis of the biosynthetic gene cluster for the antitumor antibiotic mitomycin C from *Streptomyces lavendulae* NRRL 2564. *Chemistry and Biology*, 6(4), 251–263. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(99\)80040-4](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(99)80040-4)
- Yirmibeşoğlu, S., Oktar, Ö., & Özsoy, B. (2022). Review of Scientific Research Conducted in Horseshoe Island Where Potential Place for Turkish Antarctic Base. *International Journal of Environment and Geoinformatics*, 9(4), 11–23. <https://doi.org/10.30897/ijegeo.1018913>
- Yıldırım, C. (2019). Geomorphology of Horseshoe Island, Marguerite Bay, Antarctica. *Journal of Maps*, 16(2), 56–67. <https://doi.org/10.1080/17445647.2019.1692700>
- Yoon, J. H., Cho, Y. G., Kang, S. S., Kim, S. B., Lee, S. T., & Park, Y. H. (2000). *Rhodococcus koreensis* sp. nov., a 2,4-dinitrophenol-degrading bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(3), 1193–1201. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-3-1193>
- Yoon, S. H., Ha, S. min, Lim, J., Kwon, S., & Chun, J. (2017). A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 110(10), 1281–1286. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0844-4>
- You, J. L., Cao, L. X., Liu, G. F., Zhou, S. N., Tan, H. M., & Lin, Y. C. (2005). Isolation and characterization of actinomycetes antagonistic to pathogenic

- Vibrio* spp. from nearshore marine sediments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(5), 679–682. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-3851-3>
- Yu, L., Wang, Y., Shan, X., Ma, F., & Guo, H. (2022). Harnessing *Paenarthrobacter ureafaciens* YL1 and *Pseudomonas koreensis* YL2 Interactions to Improve Degradation of Sulfamethoxazole. *Microorganisms*, 10(3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030648>
- Zabolotneva, A. A., Shatova, O. P., Sadova, A. A., Shestopalov, A. V., & Roumiantsev, S. A. (2022). An Overview of Alkylresorcinols Biological Properties and Effects. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2022(Figure 1). <https://doi.org/10.1155/2022/4667607>
- Zakalyukina, Y. V., Osterman, I. A., Wolf, J., Neumann-Schaal, M., Nouioui, I., & Biryukov, M. V. (2022). *Amycolatopsis camponoti* sp. nov., new tetracenomycin-producing actinomycete isolated from carpenter ant *Camponotus vagus*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 115(4), 533–544. <https://doi.org/10.1007/s10482-022-01716-w>
- Zakharova, O. S., Zenova, G. M., & Zvyagintsev, D. G. (2003). Some approaches to the selective isolation of actinomycetes of the genus *Actinomadura* from soil. *Microbiology*, 72(1), 110–113. <https://doi.org/10.1023/A:1022294526830>
- Zampolli, J., Orro, A., Vezzini, D., & Di Gennaro, P. (2022). Genome-Based Exploration of *Rhodococcus* Species for Plastic-Degrading Genetic Determinants Using Bioinformatic Analysis. *Microorganisms*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091846>
- Zhang, D. C., Liu, H. C., Xin, Y. H., Yu, Y., Zhou, P. J., & Zhou, Y. G. (2008). *Salinibacterium xinjiangense* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from the China No. 1 glacier. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(12), 2739–2742. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65802-0>
- Zhang, J. Y., Liu, X. Y., & Liu, S. J. (2010). *Agrococcus terreus* sp. nov. and *Micrococcus terreus* sp. nov., isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(8), 1897–1903. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.013235-0>
- Zhang, J., Zhang, Y., Xiao, C., Liu, Z., & Goodfellow, M. (2002). *Rhodococcus maanshanensis* sp. nov., a novel actinomycete from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2121–2126. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02253-0>
- Zhang, M., Ren, Y., Jiang, W., Wu, C., Zhou, Y., Wang, H., Ke, Z., Gao, Q., Liu, X., Qiu, J., & Hong, Q. (2021). Comparative genomic analysis of iprodione-degrading *Paenarthrobacter* strains reveals the iprodione catabolic molecular mechanism in *Paenarthrobacter* sp. strain YJN-5. *Environmental Microbiology*, 23(2), 1079–1095. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15308>
- Zhang, W., Cao, S., Ding, W., Wang, M., Fan, S., Yang, B., McMinn, A., Wang, M., Xie, B. Bin, Qin, Q. L., Chen, X. L., He, J., & Zhang, Y. Z. (2020). Structure and function of the Arctic and Antarctic marine microbiota as revealed by metagenomics. *Microbiome*, 8(1), 1–12.
- Zhang, Y., Jiang, Y., Zhan, Y., Wang, H., Qin, T., & Lu, Z. (2022). First case report

of human infection with *Micrococcus yunnanensis* identified by 16S rRNA gene sequencing: A case report. *Medicine (United States)*, 101(48), E32108. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000032108>

- Zhang, Y. Q., Li, W. J., Kroppenstedt, R. M., Kim, C. J., Chen, G. Z., Park, D. J., Xu, L. H., & Jiang, C. L. (2005). *Rhodococcus yunnanensis* sp. nov., a mesophilic actinobacterium isolated from forest oil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(3), 1133–1137. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.63390-0>
- Zhao, G. Z., Li, J., Qin, S., Zhang, Y. Q., Zhu, W. Y., Jiang, C. L., Xu, L. H., & Li, W. J. (2009). *Micrococcus yunnanensis* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from surface-sterilized *Polyspora axillaris* roots. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(10), 2383–2387. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.010256-0>
- Zhao, Y., Li, X., Li, Y., Bao, H., Nan, J., & Xu, G. (2023). Rapid biodegradation of atrazine by a novel *Paenarthrobacter ureafaciens* ZY and its effects on soil native microbial community dynamic. *Frontiers in Microbiology*, 13(January), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1103168>
- Zhu, M., Zhu, Q., Yang, Z., & Liang, Z. (2021). Clinical characteristics of patients with *Micrococcus luteus* bloodstream infection in a chinese tertiary-care hospital. *Polish Journal of Microbiology*, 70(3), 321–326. <https://doi.org/10.33073/PJM-2021-030>
- Zhuo, Y., Jin, C. Z., Jin, F. J., Li, T., Kang, D. H., Oh, H. M., Lee, H. G., & Jin, L. (2020). *Lacisediminihabitans profunda* gen. nov., sp. nov., a member of the family Microbacteriaceae isolated from freshwater sediment. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 113(3), 365–375. <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01347-8>
- Zin, N. M., Sarmin, N. I. M., Ghadin, N., Basri, D. F., Sidik, N. M., Hess, W. M., & Strobel, G. A. (2007). Bioactive endophytic streptomycetes from the Malay Peninsula. *FEMS Microbiology Letters*, 274(1), 83–88. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00819.x>
- Zucconi, L., Canini, F., Temporiti, M. E., & Tosi, S. (2020). Extracellular enzymes and bioactive compounds from antarctic terrestrial fungi for bioprospecting. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18), 1–31. <https://doi.org/10.3390/ijerph17186459>

EKLER

EK 1: SEÇİCİ İZOLASYON VE SUBKÜLTÜR BESİYERLERİNİN İÇERİKLERİ VE SOLÜSYONLAR

❖ Arjinin - Vitamin Agar (Nonomura & Ohara, 1969)

Gliserol	0.8 mL
Glikoz	1.0 g
K ₂ HPO ₄	0,3 gr
L-arjinin	1 g
NaOH	0.3 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
Trace Element Solüsyonu	
Vitaminler	
pH: -	

Besiyeri içerikleri 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı ayarlanmadan, 11 ile 12 arasında ölçülmüştür. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce Trace Element Solüsyonu, Vitaminler ve varsa kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Gauze's No. 1 Agar (Zakharova vd., 2003)

Nişasta	20.0 g
KNO ₃	1.0 g
NaCl	0.5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	10.0 mg
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.4	

İlk önce nişasta 700 mL dH₂O içeren bir beherde sıcaklık kullanılarak çözündürülmüştür. Kalan besiyeri içerikleri, 100 mL dH₂O içeren bir beherde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından çözünmüş nişasta, kalan besiyeri içeriklerinin olduğu behere dökülmüştür ve hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.4'e

ayarlanmıştır. Ardından 500 mL’lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL’lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C’de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Hümik Asit- Vitamin Agar (Hayakawa & Nonomura, 1987)

Hümik asit	1.0 g
CaCO ₃	0.02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
KCl	1.7 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05 g
Na ₂ HPO ₄	0.5 g
Bioline Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
Vitaminler	
pH: 7.2 ± 0.2	

İlk önce hümik asit 20 mL’lik 0,2 N NaOH içerisinde 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcı sayesinde çözündürülmüştür. 20 mL’lik 0,2 N NaOH hazırlamak için, 1M’lık NaOH’tan 4 mL alınarak, 16 mL ddH₂O içerisinde çözündürülmüştür. Hümik asidin karışımı sırasında, agar haricinde kalan besiyeri içerikleri 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözündürülmüştür. 30 dakikanın sonunda hümik asit karışımı, 300 mL’lik karışıma eklenerek karıştırılmıştır. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Karışımın pH’ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2-7.4’e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL’lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL’lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C’de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce Vitaminler ve varsa kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Oligotropik Agar (Senechkin vd., 2010)’den modifiye

MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
KNO ₃	0.5 g
KH ₂ PO ₄ .3H ₂ O	1.3 g
NH ₄ NO ₃	0.06 g
Glukoz	25.0 mg
Kaziton	2.0 mg
Bioline Agar	18.0 g
Distilled water	1000 mL

pH: 7.5

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.5'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ R2A Besiyeri (Reasoner & Geldreich, 1985)

Difco™ R2A	18.2 g
Biolife Agar	9.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2 ± 0.2	

Difco™ R2A Agar hazır besiyeri kullanılarak, protokole uygun olarak 18.2 g/L olacak şekilde 1000 mL'lik besiyeri hazırlanmıştır. Bunun için 18.2 g Difco™ R2A Agar hazır besiyeri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Hazır besiyerinin sağlayacağı pH, o besiyerine ait standart pH'ı sağlamaktadır. Ancak kontrol amaçlı olarak karışımın pH'ı ölçülerek pH'ın 7.2 ± 0.2 olduğundan emin olunmuştur. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Starch - Casein Agar (Küster & Williams, 1964)

Nişasta	10.0 g
Kazein	0.3 g
KNO ₃	2.0 g
NaCl	2.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05 g
CaCO ₃	0.02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2 ± 0.2	

İlk önce nişasta 700 mL dH₂O içeren bir beherde sıcaklık kullanılarak çözüldürülmüştür. Kalan besiyeri içerikleri, 100 mL dH₂O içeren bir beherde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından çözünmüş nişasta, kalan

besiyeri içeriklerinin olduğu behere dökülmüştür ve hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2 ± 0.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Glucose Yeast Extract Agar (Athalye vd., 1981)

Glukoz	20.0 g
Yeast extract	10.0 g
CaCO ₃	20.0 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.0	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.0'a ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ SM3 Agar (Geok Yuan Annie Tan vd., 2006)

Glukoz	10.0 g
Pepton	5.0 g
Trypton	3.0 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Luedemann's Agar (Luedemann, 1971)

Yeast extract	5.0 g
Malt extract broth	15.0 g
Nişasta	10.0 g
Glukoz	10.0 g
CaCO ₃	2.0 g
NaCl	5.0 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 8.6	

İlk önce nişasta 700 mL dH₂O içeren bir beherde sıcaklık kullanılarak özündürölmüştür. Kalan besiyeri içerikleri, 100 mL dH₂O içeren bir beherde manyetik karıştırıcı sayesinde özdürölmüştür. Ardından özünmüş nişasta, kalan besiyeri içeriklerinin olduğu behere dökölmüştür ve hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 8.6'ya ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürölerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökölmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Aktinomiset İzolasyon Agar (Kumar vd., 2012)

Sodyum kazeinat	2.0 g
L-asparajin	0.1 g
Sodium propiyonat	4.0 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g
FeSO ₄	0.001 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 8.0	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde özdürölmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 8.0'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürölerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu

sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Marine Agar

Marine Broth (Difco™)	37,4 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.6 ± 0.2	

Difco™ Marine Broth hazır besiyeri kullanılarak, protokole uygun olarak 37,4 g/L olacak şekilde 1000 mL'lik besiyeri hazırlanmıştır. Bunun için 37,4 g Difco™ Marine Broth hazır besiyeri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Hazır besiyerinin sağlayacağı pH, o besiyerine ait standart pH'ı sağlamaktadır. Ancak kontrol amaçlı olarak karışımın pH'ı ölçülerek pH'ın 7.6 ± 0.2 olduğundan emin olunmuştur. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Starch Casein Agar (Küster & Williams, 1964)'den modifiye

Nişasta	10.0 g
Kazein	3 g
KNO ₃	2.0 g
NaCl	2.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05 g
CaCO ₃	0.02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2 ± 0.2	

İlk önce nişasta 700 mL dH₂O içeren bir beherde sıcaklık kullanılarak çözüldürülmüştür. Kalan besiyeri içerikleri, 100 mL dH₂O içeren bir beherde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından çözünmüş nişasta, kalan besiyeri içeriklerinin olduğu behere dökülmüştür ve hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2 ± 0.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika

otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ YPD Agar (DSMZ Besiyeri No. 393)

Yeast extract	10 g
Pepton	20 g
Glukoz	20 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 6.5	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 6.5'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Czapek-Dox Agar (Weyland, 1969)

Sükroz	30 g
NaNO ₃	3 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce (varsa) kullanılan antibiyotikler, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Rubrobacter Carboxydovorans Besiyeri (DSMZ Besiyeri No. 1606)'den modifiye

Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O	4.50g
KH ₂ PO ₄	1.50 g

MnSO ₄ x H ₂ O	0.01 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0.20 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.01 g
Demir (III) amonyum sülfat	5.00 mg
Sodyum sitrat	5.00 mg
Yeast extract	1.00 g
Trypton	1.00 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
Trace Element Solüsyonu	
pH: 8.0	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 8.0'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce Trace Element Solüsyonu, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Trypticase Soy Broth Agar With 2% MgSO₄ and 3% NaCl (DMSZ Besiyeri No. 1350)

Tryptic Soy Broth	30 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	20 g
NaCl	30 g
Biolife Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.0	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.0'a ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce herhangi bir solüsyon veya antibiyotik ekleme işlemi gerçekleştirilmemiştir.

❖ GPHF Besiyeri (DSMZ Besiyeri No. 553)'den modifiye

Glukoz	10 g
Polypeptone (Bacto)	5 g
Yeast extract	5 g
Meat extract	5 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.74 g
Biolife Agar	18.0 g

Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce herhangi bir solüsyon veya antibiyotik ekleme işlemi gerçekleştirilmemiştir.

❖ N-Z-Amine Besiyeri (DSMZ Besiyeri No. 554)

Glukoz	10 g
Yeast extract	5 g
N-Z-Amine	5 g
CaCO ₃	1 g
Nişasta	20 g
Bioline Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

İlk önce nişasta 700 mL dH₂O içeren bir beherde sıcaklık kullanılarak çözdürülmüştür. Kalan besiyeri içerikleri, 100 mL dH₂O içeren bir beherde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından çözünmüş nişasta, kalan besiyeri içeriklerinin olduğu behere dökülmüştür ve hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce herhangi bir solüsyon veya antibiyotik ekleme işlemi gerçekleştirilmemiştir.

❖ GYM Streptomyces Besiyeri (DSMZ Besiyeri No. 65)

Glukoz	4 g
Yeast extract	4 g
Malt extract	10 g
CaCO ₃	2 g
Bioline Agar	18.0 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın

pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce herhangi bir solüsyon veya antibiyotik ekleme işlemi gerçekleştirilmemiştir.

❖ Trace Element Solüsyonu

FeSO ₄ .7H ₂ O	50 mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	50 mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	50 mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	50 mg
Distile su	50 mL
pH: 6.8	

Trace element solüsyonunda, belirtilen metal bileşikleri 50 mL distile suda çözülüp ve pH'ı 1 M NaOH ve 1 M HCl ile 6.8'e ayarlanmıştır. Sterilizasyon 121°C'de 25 dakika otoklavlanma ile gerçekleştirilmiştir.

❖ Vitaminler

p-aminobenzoik asit	1.0 mg
Biyotin (B ₇)	1.0 mg
İnositol	1.0 mg
Nikotinamid (B ₃)	1.0 mg
Pantotenik asit (B ₅)	1.0 mg
Piridoksin (B ₆)	1.0 mg
Riboflavin Na-kolin (B ₂)	1.0 mg
Tiamin (B ₁)	1.0 mg
Siyanokobalamin (B ₁₂)	0,05 mg
Folik asit	0.05 mg
Nistatin	50 µg/mL
Rifampisin	5.0 µg/mL

Vitamin solüsyonu, vitaminlerin 100 mL distile suda çözülmesi ve pH'ın 1 M HCl ile 3.0 ± 0.2'ye ayarlanmasıyla hazırlanmıştır. Sterilizasyon, 0.22 µm filtre kullanılarak filtrasyon ile gerçekleştirilmiştir.

EK 2: FENOTİPİK VE KEMOTAKSONOMİK ÇALIŞMALARDA KULLANILAN BESİYERLERİNİN İÇERİKLERİ VE SOLÜSYONLAR

❖ Azot Kaynağı Bazal Besiyeri (Williams vd., 1983)

Glikoz	10 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.5 g
NaCl	0.5 g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.01 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar	10 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.4	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.4'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce 20 mL'lik azot kaynakları, besiyerlerine ilave edilmiştir.

❖ Karbon Kaynağı Bazal Besiyeri (ISP9) (Shirling & Gottlieb, 1966)

(NH ₄) ₂ SO ₄	2.64 g
KH ₂ PO ₄	2.38 g
K ₂ HPO ₄	5.65 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	1 g
Agar	18 g
Distile su	1000 mL
Trace Salts Solüsyonu	
pH: 6.8-7.0	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 6.8-7.0'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce 20 mL'lik karbon kaynakları ile Trace Salts Solüsyonu, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerlerine ilave edilmiştir.

❖ Degredasyon Bazal Besiyeri (Bennett's Agar) (Jones, 1949)

Yeast extract	1 g
Lab-Lemco	0.8 g
Casitone	2 g
Gliserol	10 mL
Agar	12 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2-7.3	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2-7.3'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce 20 mL'lik degradasyon testi kaynakları, besiyerlerine ilave edilmiştir.

❖ Pepton Agar; Tween-20 ve Tween-80 Degradasyon Bazal Besiyeri (Nash & Krent, 1991)

Pepton	10 g
Yeast extract	5 g
NaCl	5 g
Glikoz	1 g
Agar	15 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.5	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.5'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce 20 mL'lik Tween-20 ve Tween-80, besiyerlerine ilave edilmiştir.

❖ Sıcaklık, Tuz ve pH Testi Bazal Besiyeri (GYM:DSMZ Besiyeri No. 65)

Yeast extract	4 g
Malt extract	10 g
Glikoz	4 g
CaCO ₃	2 g
Agar	20 g
Distile su	1 L
pH: 7.2	

Tuz ve sıcaklık testi için hazırlanan besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. pH testi için ise, besiyeri içerikleri aynı şekilde çözdürüldükten sonra, besiyerinin pH'ları 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ve 12 olacak şekilde 1 M NaOH ve 1 M HCl ile ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce, pH ve sıcaklık testi için hazırlanan besiyerleri haricinde, 20 mL tuz testi kaynakları besiyerlerine ilave edilmiştir. pH ve sıcaklık testi için ise petrilere dökülmeden önce herhangi bir solüsyon ekleme işlemi gerçekleştirilmemiştir.

❖ Allantoin Hidrolizi (Ruth E Gordon vd., 1974)

Allantoin	3,3 g
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	9,5 g
KH ₂ PO ₄	10 g
Yeast extract	1 g
Fenol red	12 mg
Agar	18 g
ddH ₂ O	1000 mL
pH: 6.7	

Fenol red haricindeki besiyeri içerikleri, 1000 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından fenol red ve agar karışıma eklenmiştir. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 6.7'ye ayarlanmıştır. Ardından 5 ml'lik tüplere 2'şer ml besiyeri konulup, 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Otoklav sonrası tüpler 45° açı ile yatırılarak donması sağlanmıştır.

❖ Arbutin Hidrolizi (Kutzner, 1976)

Yeast extract	3 g
NH ₄ -Fe ₃	0,5 g
Arbutin	5 g
Agar	18 g
ddH ₂ O	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 1000 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 5 ml'lik tüplere 2'şer ml besiyeri konulup, 121°C'de 25

dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Otoklav sonrası tüpler 45° açı ile yatırılarak donması sağlanmıştır.

❖ Üre Hidrolizi (Korn-Wendisch & Kutzner, 1992)

Glikoz	1 g
Pepton	1 g
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	1.98 g
KH ₂ PO ₄	1,51 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
NaCl	5 g
Fenol red	12mg
Agar	18 g
Üre	2 g
ddH ₂ O	1000 mL
pH: 6.8	

Fenol red haricindeki besiyeri içerikleri, 1000 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından fenol red ve agar karışıma eklenmiştir. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 6.8'e ayarlanmıştır. Ardından 5 ml'lik tüplere 2'şer ml besiyeri konulup, 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Otoklav sonrası tüpler 45° açı ile yatırılarak donması sağlanmıştır.

❖ Nitrat Redüksiyonu (Gordon & Mihm, 1962)

Pepton	5 g
Lab-Lemco	2,4 g
KNO ₃	1 g
ddH ₂ O	1000 mL
pH: 7.4	

Besiyeri içerikleri, 1000 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 5 ml'lik tüplere 2'şer ml sıvı besiyeri konulup, 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Nitrat Redüksiyon Ayıraçları

Ayıraç A:

Asetik asit (5N)	100 mL
Sülfanilik asit	0.8 g

Ayıraç B:

Asetik asit (5N)	100 mL
α-Naftilamin	0.8 g

❖ Askülin Hidrolizi (Kutzner, 1976)

Yeast extract	3 g
NH ₄ -Fe ₃	0,5 g
Aesculin	5 g
Agar	18 g
ddH ₂ O	1000 mL
pH 7.2	

Besiyeri içerikleri, 1000 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 5 ml'lik tüplere 2'şer ml besiyeri konulup, 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Otoklav sonrası tüpler 45° açı ile yatırılarak donması sağlanmıştır.

❖ H₂S Üretimi (ISP 6) (Küster & Williams, 1964)

Pepton-Iron Agar	36 g
Yeast extract	1 g
ddH ₂ O	1000 mL
pH: 7.2	

Pepton-Iron Agar, 1000 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 5 ml'lik tüplere 2'şer ml besiyeri konulup, 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Otoklav sonrası tüpler 45° açı ile yatırılarak donması sağlanmıştır.

❖ Glikoz Yeast-Malt Extract Agar (ISP 2) (Shirling & Gottlieb, 1966)

Yeast extract	4 g
Malt extract	10 g
Glikoz	4 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.3	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.3'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Oatmeal Agar (ISP3) (Shirling & Gottlieb, 1966)

Oatmeal	20 g
Agar	18 g
Distile su	1000 mL
Trace Salt Solüsyonu	
pH: 7.2	

İlk önce yulaf (oatmeal), 800 mL dH₂O içerisinde yarım saat kaynatılarak çözdürülüp, süzgeç ile süzölmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ İnorganik Tuz-Nişasta Agar (ISP 4) (Shirling & Gottlieb, 1966)

Soluble starch	10 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	1 g
NaCl	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
CaCO ₃	3 g
Agar	15 g
Distile su	1000 mL
Trace Salts Solüsyonu	
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürölmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürölerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökölmeden önce 20 mL'lik karbon kaynakları ile Trace Salts Solüsyonu, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Gliserol-Asparajin Agar (ISP 5) (Pridham & Lyons, 1961)

L-asparajin	1 g
Gliserol	10 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL
Trace Salts Solüsyonu	
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözündürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce 20 mL'lik karbon kaynakları ile Trace Salts Solüsyonu, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Pepton-Yeast Extract Iron Agar (ISP 6) (Shirling & Gottlieb, 1966)

Pepton-Iron Agar	36 g
Yeast extract	1 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Pepton-Iron Agar ve yeast extract, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözündürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Tyrosine Agar (ISP 7) (Shirling & Gottlieb, 1966)

Gliserol	15 g
L-tyrosine	0,5 g
L-asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g
NaCl	0,5 g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,01 g
Agar	15 g
Distile su	1000 mL
Trace Salts Solüsyonu	
pH: 7,2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözündürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri petrilere dökülmeden önce 20 mL'lik karbon kaynakları ile

Trace Salts Solüsyonu, şişe başına (400 mL başına) 1 mL eklenecek şekilde besiyerine ilave edilmiştir.

❖ Nutrient Agar (DSMZ Besiyeri No.1)

Nutrient Broth (Biolife)	48 g
Agar	18 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.0	

Nutrient broth, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.0'ye ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Czapek - Dox Agar (DSMZ Besiyeri No.130)

Sükroz	30 g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,01 g
KCl	0,5 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g
NaNO ₃	3 g
Agar	18 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2-7.3	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2-7.3'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Triptik Soy Agar (TSA) (DSMZ Besiyeri No. 535)

Tryptic Soy Broth (Biolife)	30 g
Agar	18 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.3	

Tryptic soy broth, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülmüştür. Ardından hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.3'e ayarlanmıştır. Ardından 500 mL'lik otoklav şişelerine agar ve 400 mL'lik besiyerleri bölüştürülerek, sallama yoluyla

karıştırılmıştır. Sonrasında 121°C’de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ ISP2 Broth

Glukoz	4 g
Yeast extract	4 g
Malt extract	10 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülüp, hacim dH₂O ile 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Karışımın pH’ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2’ye ayarlanmıştır. Ardından besiyerleri 1000 mL’lik erlenlere 200 mL; 500 mL’lik erlenlere 100 mL eklenecek şekilde dökülmüştür. Sonrasında 121°C’de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ N-Z-Amine Broth

Glukoz	4 g
Yeast extract	4 g
N-Z-Amine	10 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülüp, hacim dH₂O ile 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Karışımın pH’ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2’ye ayarlanmıştır. Ardından besiyerleri 500 mL’lik erlenlere 200 mL; 250 mL’lik erlenlere 100 mL eklenecek şekilde dökülmüştür. Sonrasında 121°C’de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ R2A Broth

Yeast extract	0.5 g
Poliipepton	0.5 g
Casamino acids	0.5 g
Glukoz	0.5 g
Nişasta (soluble)	0.5 g
Na-prüvat:	0.3 g
K ₂ HPO ₄ :	0.3 g
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0.05 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.2	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülüp, hacim dH₂O ile 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Karışımın pH’ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.2’ye ayarlanmıştır. Ardından besiyerleri 1000 mL’lik

erlenlere 200 mL; 500 mL'lik erlenlere 100 mL eklenecek şekilde dökülmüştür. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Tryptic Soy Broth (TSB)

Tryptic Soy Broth (Biolife)	30 g
Distile su	1000 mL
pH: 7.3	

Besiyeri içerikleri, 800 mL dH₂O içerisinde manyetik karıştırıcı sayesinde çözdürülüp, hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'ı, 1 M NaOH ve 1 M HCl eklenerek 7.3'e ayarlanmıştır. Ardından besiyerleri 50 veya 100 mL'lik erlenlere 30 mL; 500 mL'lik erlenlere 100 mL; 1000 mL'lik erlenlere 200 mL eklenecek şekilde dökülmüştür. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Trace Salts Solüsyonu

Trace salts solüsyonunda, metal bileşikleri 100 mL distile suda çözdürülmüştür. Ardından sterilizasyonu 121°C'de 25 dakika otoklavlanma ile gerçekleştirilmiştir.

EK 3: TEZ ÇALIŞMASINDA KULLANILAN DİĞER SOLÜSYONLAR VE HAZIRLANIŞI

❖ Gliserol Stok Çözeltisi

Gliserol stok çözeltisi hazırlamak için, alınacak stok sayısına bağlı olarak son hacmin %30'u gliserol ve %70'i distile su olacak şekilde (%30 v/v), gliserol distile suda karıştırılarak gliserol stok çözeltisi hazırlanmıştır. Ardından stok çözeltisi, 1.5 mL'lik vidalı kapaklı stok tüplerine 1 mL; 2 mL'lik vidalı kapaklı stok tüplerine ise 1.3 mL eklenecek şekilde koyulmuştur. Sonrasında 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

❖ Cycloheximide Stok Çözeltisi (50 µg/mL)

İlk başta iki otoklav şişesinin 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. 2 g cycloheximide ölçülüp, 100 mL su içerisinde çözülmüştür. Ardından aseptik koşullarda steril şırınga yardımıyla, cycloheximide çözeltisi çekilip 0.2'lik membran filtreden geçirilerek steril otoklav şişesine aktarılmıştır. Ardından +4°C'de saklanmaya bırakılmıştır.

❖ Nystatin Stok Çözeltisi (25 µg/mL)

İlk başta iki otoklav şişesinin 121°C'de 25 dakika otoklavlanarak sterilizasyonu sağlanmıştır. 1 g nystatin ölçülüp, 100 mL su içerisinde çözülmüştür. Ardından aseptik koşullarda steril şırınga yardımıyla, nystatin çözeltisi çekilip 0.2'lik membran filtreden geçirilerek steril otoklav şişesine aktarılmıştır. Ardından +4°C'de saklanmaya bırakılmıştır.

❖ Lizozim Sindirim Tamponu

Lizozim stok çözeltisi hazırlanırken, örnek başına 200 µL Lizozim Sindirim Tamponu hazırlanacağı varsayılarak, pipetin pipetaj ayarından kaynaklanan farkları önlemek için bu hacim örnek sayısının iki fazlasına çarpılmıştır. Elde edilen hacime bağlı olarak şu orantı yapılmıştır:

1 mL'de	20 mg lizozim çözüldürülürse
(Elde edilen hacim)'de	x mg lizozim çözdürülür.

Bulunan lizozim miktarı, elde edilen hacim kadar TE Buffer veya Tris-HCl Buffer içerisinde çözdürülmüştür. Bu işlemde ilk önce elde edilen hacim kadar TE Buffer, steril kabin içerisinde steril bir otoklav şişesi içerisine eklenmiştir. Ardından

hassas terazi ile ölçülen lizozim, steril kabin içerisinde TE Buffer veya Tris-HCl Buffer içerisine eklenir ve karıştırılmadan 5-10 dakika çözünmeye bırakılır. Bu işlemde otoklav şişesinin, buz veya buz kaseti üzerinde durmasına özen gösterilmiştir. Bunun nedeni oda sıcaklığı gibi sıcaklıklarda lizozimin etkinliğinin bozulmasıdır. Çözünmeye bırakılan lizozim solüsyonunda lizozim hafif partikül şeklinde kalmışsa, çok hafifçe sallanarak karıştırılmıştır. Lizozim çözündükten sonra Lizozim Sindirim Tamponu hazır hale gelmiştir.

❖ Tris-EDTA Tamponu (TE Buffer pH 8)

800 mL'lik distile su içerisine 0,5 M EDTA (pH:8 0)'dan 2 mL ve 1 M Tris-HCl (pH:8 0)'den 10 mL eklenir ve hacim 1000 mL'ye tamamlanarak, pH: 8.0'e ayarlanmıştır. Ardından 121°C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilip ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

❖ Tris-HCl Tamponu (10 mM Tris-HCl pH 8.5)

800 mL'lik distile su içerisine 0,483 g Trizma™ Hydrochloride eklenir ve hacim 1000 mL'ye tamamlanarak, pH: 8.5'e ayarlanmıştır. Ardından 121°C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilir ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

❖ 10X ve 1X Tris-Borat-EDTA Tamponu (10X ve 1X TBE Buffer pH 8)

500 mL'lik distile su içerisine 108 g Trizma baz, 55 g borik asit, 7,44 g EDTA ve 1 g NaOH eklenir ve hacim 1000 mL'ye tamamlanarak, pH: 8.0'e ayarlanmıştır. Ardından 121°C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilir ve oda sıcaklığında saklanmıştır. Jel yapımında ve elektroforez tankını doldurmak için kullanılmadan önce 100 mL 10X TBE Buffer içerisine, 900 mL distile dH₂O eklenir ve 1X TBE Buffer hazırlanmış olur.

EK 4: GENOM ANALİZİNDE TABLOLAR

Ek Tablo 4.1. Tez izolatları ve 16S rRNA dizilerine göre en yakın tip türleri

İzolat No	En yakın tip türü	Benzerlik oranı (%)
BYS-R4	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	99.17
G-G2	<i>Streptomyces scopuliridis</i> NRRL B-24574	98.96
G-MC3	<i>Rhodococcus fascians</i> LMG 3623	98.74
G-O1	<i>Salinibacterium xinjiangense</i> 0543	99.36
H10-C2	<i>Streptomyces fildesensis</i> GW25-5	98.96
H14-L1	<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> GP3	97.18
H14-R3	<i>Hymenobacter arcticus</i> R2-4	97.91
H20-H5	<i>Amycolatopsis saalfeldensis</i> HKI0457	98.12
H27-A1	<i>Pilimelia columellifera</i> subsp. <i>pallida</i> MB-SK 8	98.47
H27-AA3	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	99.65
H27-C3	<i>Pilimelia columellifera</i> subsp. <i>pallida</i> MB-SK 8	98.47
H27-D2	<i>Streptomyces griseocarneus</i> JCM 4580	98.09
H27-D3	<i>Sphingomonas psychrolutea</i> MDB1-A	99.57
H27-G14	<i>Variovorax boronicumulans</i> BAM-48	99.52
H27-G5	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	99.4
H27-G8	<i>Lacisediminihabitans profunda</i> CHu50b-6-2	98.54
H27-H1	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.65
H27-H5	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	99.65
H27-O3	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	99.65
H27-O6	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	99.65
H27-R4	<i>Massilia frigida</i> CCM 8695	100
H27-S2	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
H27-Y1	<i>Streptomyces xanthophaeus</i> NRRL B-5414	99.65
H29-C3	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	99.17
H29-R2	<i>Algoriphagus ratkowskyi</i> DSM 22686	99.51
H34-A6	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
H34-AA3	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
H34-AA4	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
H34-C8	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
H34-R8	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	100
H34-S1	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.65
H34-S3	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
H34-S4	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.65
H34-S5	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.77
H35-AA1	<i>Arthrobacter alpinus</i> DSM 22274	98.7
H35-D1	<i>Arthrobacter cryoconiti</i> Cr6-08	98.83
H35-G1	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	99.17

Ek Tablo 4.1. Tez izolatları ve 16S rRNA dizilerine göre en yakın tip türleri (devam)

İzolat No	En yakın tip türü	Benzerlik oranı (%)
H35-MC1	<i>Arthrobacter alpinus</i> DSM 22274	98.69
H36-A4	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	99.17
H37-C3	<i>Microbacterium arborescens</i> DSM 20754	98.47
H39-C1	<i>Streptomyces fildesensis</i> GW25-5	99.72
H39-S4	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665	99.58
H39-S7	<i>Streptomyces fildesensis</i> GW25-5	99.38
PG-G2	<i>Arthrobacter cryoconiti</i> Cr6-08	98.82
PH10-H1	<i>Streptomyces fildesensis</i> GW25-5	97.15
PH29-G1	<i>Cryobacterium luteum</i> CGMCC 1.11210	99.73
PH31-A8	<i>Cryobacterium flavum</i> CGMCC 1.11215	100
PH31-AA13	<i>Cryobacterium breve</i> TMT4-23	99.4
PH31-AA6	<i>Cryobacterium psychrotolerans</i> CGMCC 1.5382	99.17
PH31-AA7	<i>Cryobacterium psychrotolerans</i> CGMCC 1.5382	99.17
PH31-L1	<i>Cryobacterium flavum</i> CGMCC 1.11215	99.79
PH31-O1	<i>Cryobacterium luteum</i> CGMCC 1.11210	99.73
PH31-O2	<i>Pseudarthrobacter psychrotolerans</i> YJ56	99.35
PH31-S4	<i>Flavobacterium urumqiense</i> CGMCC 1.9230	99,21
PH34-G13	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.65
PH34-H18	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
PH34-H2	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
PH34-H3	<i>Streptomyces cirratus</i> NRRL B-3250	99.59
PH34-H4	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.65
PH34-H5	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.65
PH34-R10	<i>Rhodococcus yunnanensis</i> NBRC 103083	99.17
PH34-R7	<i>Streptomyces avidinii</i> NBRC 13429	99.86
PH39-S1	<i>Paenarthrobacter nicotinovorans</i> DSM 420	97.57
PH39-Y2	<i>Streptomyces fildesensis</i> GW25-5	99.72
PS3-L1	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i> DSM 20119	99.37
S3-L1	<i>Planococcus kocurii</i> ATCC 43650	98.81
S5-D1	<i>Deinococcus marmoris</i> DSM 12784	99,65
H27-C9	-	-

Ek Tablo 4.2. Tez izolatlarının 16S rRNA ve tüm genom dizilerine ait GenBank numaraları

İzolat ID	16S rRNA GenBank No.	Tüm Genom GenBank No.
1. BYS-R4	OP341470	-
2. G-G2	OP810923	GCA_030063135
3. G-MC3	OQ472616	GCA_030063335
4. G-O1	OQ472617	GCA_030063305
5. H10-C2	OQ472618	GCA_030063325
6. H14-L1	OP093986	GCA_026627425
7. H14-R3	OP341471	GCA_030063445
8. H20-H5	OP341472	-
9. H27-A1	OP810924	-
10. H27-AA3	OP341473	-
11. H27-C3	OP810925	GCA_030063415
12. H27-D2	OP341474	-
13. H27-D3	OP341475	-
14. H27-G14	OP810926	-
15. H27-G5	OP186123	GCA_026627485
16. H27-G8	OP093987	-
17. H27-H1	OP093988	GCA_026627445
18. H27-H5	OP093989	GCA_026627505
19. H27-O3	OP093990	-
20. H27-O6	OP341476	-
21. H27-R4	OP093991	GCA_026627205
22. H27-S2	OP093992	GCA_026627255
23. H27-Y1	OP341477	-
24. H29-C3	OQ472619	GCA_030063405
25. H29-R2	OQ472620	-
26. H34-A6	OP341478	-
27. H34-AA3	OP093993	GCA_026627185
28. H34-AA4	OP093994	-
29. H34-C8	OP093995	-
30. H34-R8	OP341479	-
31. H34-S1	OP093996	-
32. H34-S3	OP093997	-
33. H34-S4	OP093998	GCA_026627245
34. H34-S5	OP093999	GCA_027157945
35. H35-AA1	OP341480	-
36. H35-D1	OP341481	GCA_030063185
37. H35-G1	OP341482	-
38. H35-MC1	OP810927	GCA_030063205
39. H36-A4	OP094000	GCA_027158005
40. H37-C3	OP094001	GCA_027157935
41. H39-C1	OP094002	GCA_027158125
42. H39-S4	OP094003	GCA_027158145
43. H39-S7	OP094004	GCA_027158205

Ek Tablo 4.2. Tez izolatlarının 16S rRNA ve tüm genom dizilerine ait GenBank numaraları (devam)

İzolat ID	16S rRNA GenBank No.	Tüm Genom GenBank No.
44. PG-G2	OQ472621	-
45. PH10-H1	OP341483	GCA_030063355
46. PH29-G1	OQ472622	GCA_030063365
47. PH31-A8	OQ472623	-
48. PH31-AA13	OQ472626	-
49. PH31-AA6	OQ472624	GCA_030063195
50. PH31-AA7	OQ472625	-
51. PH31-L1	OP341484	GCA_030063145
52. PH31-O1	OP810928	GCA_030063455
53. PH31-O2	OQ472627	GCA_030063265
54. PH31-S4	OQ472628	-
55. PH34-G13	OP810929	-
56. PH34-H18	OP810933	-
57. PH34-H2	OP341485	-
58. PH34-H3	OP810930	-
59. PH34-H4	OP810931	-
60. PH34-H5	OP810932	-
61. PH34-R10	OP810934	-
62. PH34-R7	OP341486	-
63. PH39-S1	OQ472629	GCA_030063245
64. PH39-Y2	OP810935	-
65. PS3-L1	OQ472630	GCA_030063285
66. S3-L1	OP810936	GCA_030063085
67. S5-D1	OQ472631	-
68. H27-C9	-	-

Ek Tablo 4.3. Tüm genomu dizilenen izolatların genom özellikleri

İzolat no	Genom boyutu (Mb)	G+C (%)	Kontig sayısı	N ₅₀	L ₅₀	Kodlayan dizi sayısı	RNA sayısı
G-G2	8.1	71.9	141	129914	21	7271	77
G-MC3	5.5	62.6	102	195707	10	5386	52
G-O1	3.1	64.4	6	1072763	2	3109	50
H10-C2	8.6	70.1	192	117472	20	8143	73
H14-L1	3.9	63.1	72	175551	8	3834	50
H14-R3	5.2	61.4	90	180853	10	4267	48
H20-H5	10.0	68.9	307	64644	44	9386	61
H27-C3	8.0	69.9	128	165176	17	7472	75
H27-D2	7.4	71.0	243	58394	39	6743	75
H27-G5	8.9	71.4	448	58566	45	9102	81
H27-H1	8.9	71.1	176	139997	20	8985	83
H27-H5	9.1	71.5	380	77653	42	9342	87
H27-R4	7.4	63.6	62	386589	6	6854	92
H27-S2	8.5	72.3	89	220250	13	8322	77
H29-C3	5.3	62.2	73	609477	4	5168	50
H34-AA3	9.1	71.9	160	116243	26	9187	87
H34-S4	8.0	71.2	186	79368	28	7834	74
H34-S5	8.9	72.0	303	54499	46	9059	87
H35-D1	4.4	62.3	86	151598	7	4249	55
H35-MC1	3.7	57.3	21	506775	3	3384	54
H36-A4	4.6	62.1	29	588850	3	4495	51
H37-C3	3.3	69.6	11	713115	2	3313	53
H39-C1	10.3	70.3	306	68923	47	10156	78
H39-S4	2.5	73.0	35	190579	5	2378	51
H39-S7	9.5	70.7	146	114846	25	8446	101
PH10-H1	8.5	70.1	237	81534	32	8216	72
PH29-G1	3.8	64.5	31	306319	5	3572	51
PH31-AA6	3.6	67.3	63	116065	9	3475	58
PH31-L1	3.6	65.0	33	464715	3	3546	50
PH31-O1	3.6	64.5	17	421034	3	3483	51
PH31-O2	3.8	65.7	29	311402	4	3659	54
PH39-S1	4.6	64.0	135	123393	14	4666	50
PS3-L1	3.5	61.1	18	733966	3	3384	53
S3-L1	3.6	40.5	54	138105	7	2193	65
H27-C9 (fungus)	-	-	-	-	-	-	-
H27-G8 (kontamine)	-	-	-	-	-	-	-

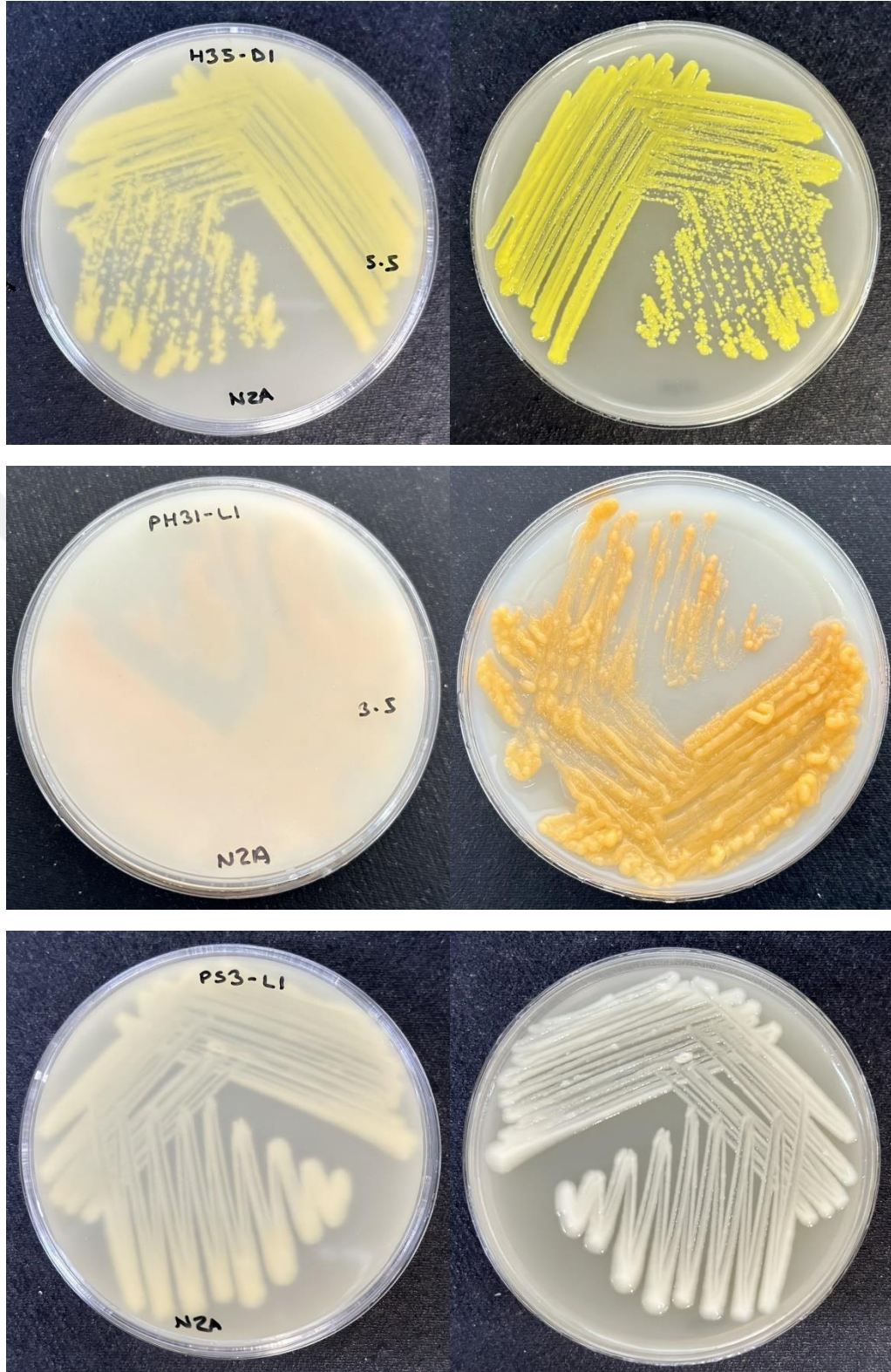
EK 5: TEZ ÇALIŞMASI İLE ALAKALI BAZI GÖRÜNTÜLER



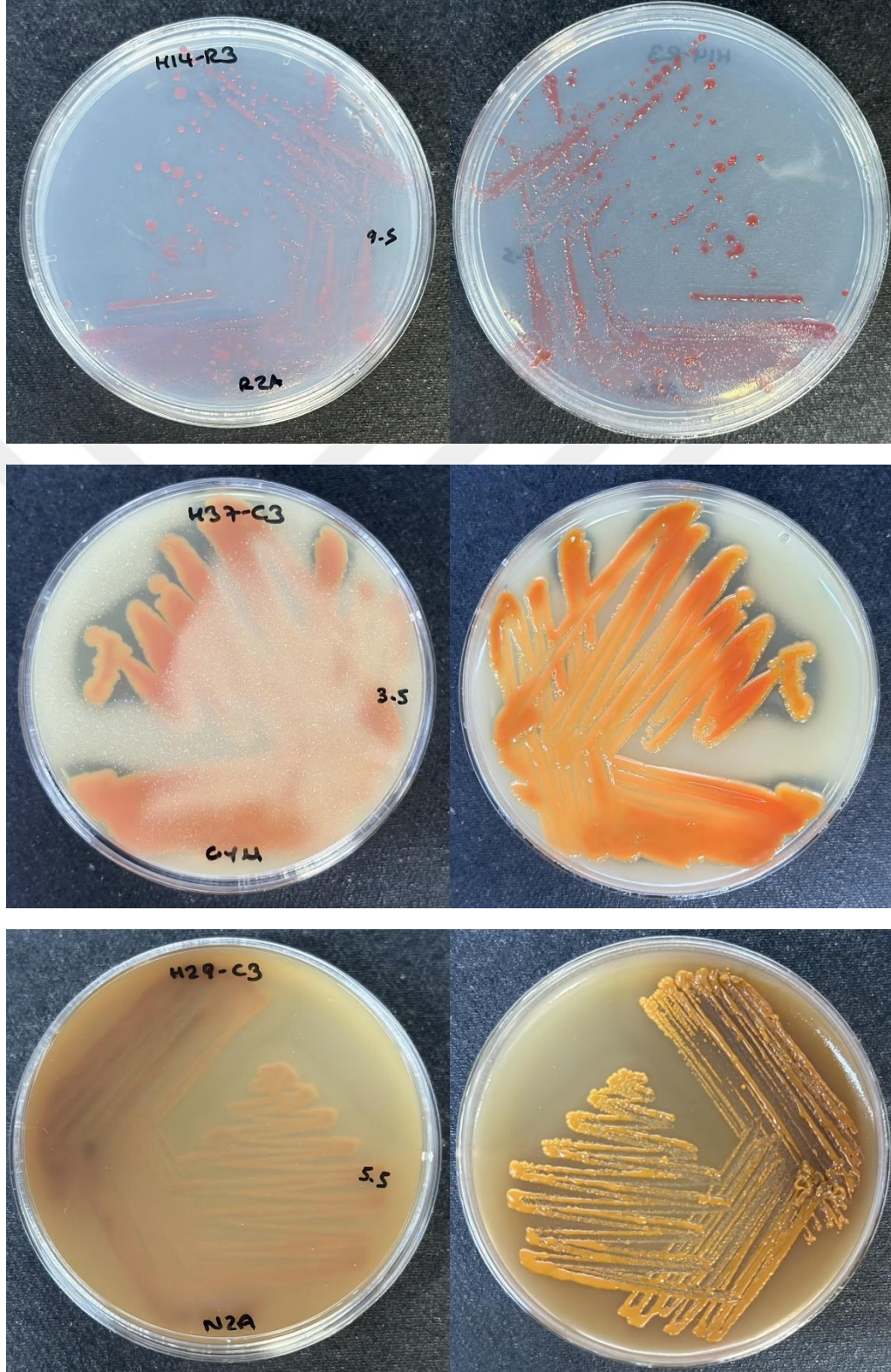
Şekil: Antarktika Horseshoe Adası alan çalışmalarıyla ilgili bazı görüntüler



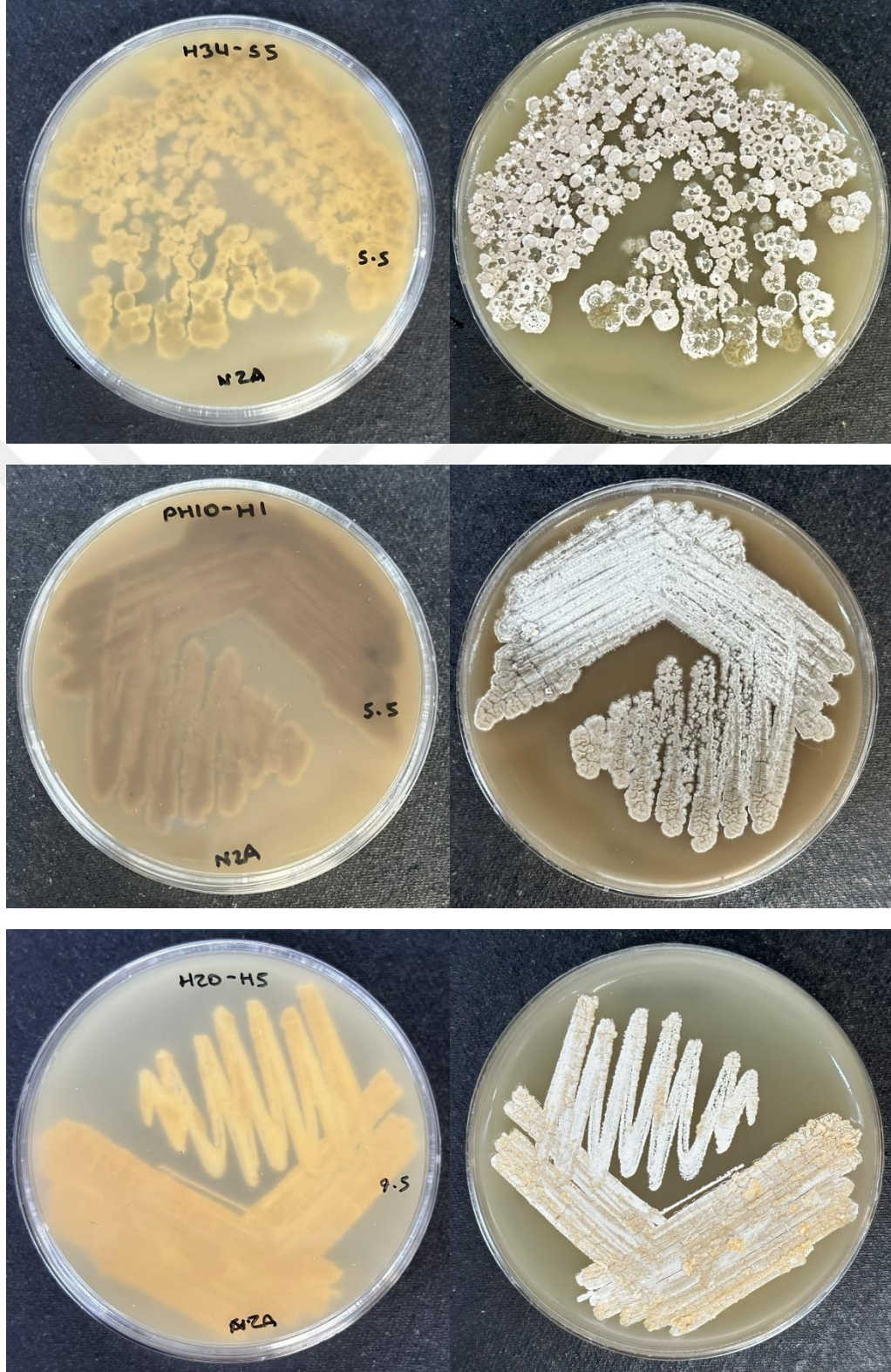
Şekil: Antarktika Horseshoe Adası alan çalışmalarıyla ilgili bazı görüntüler



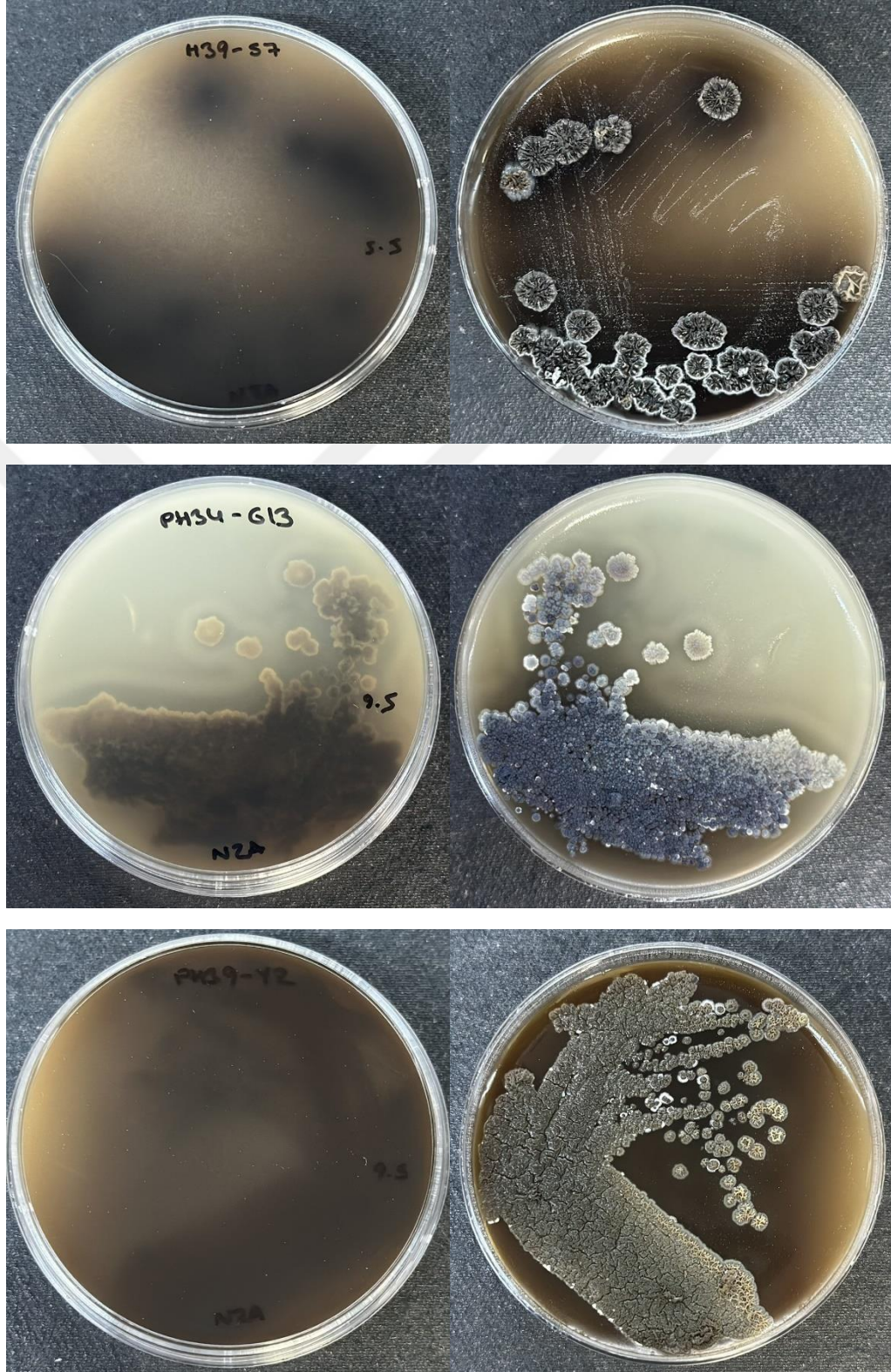
Şekil: Safılaştırılan bazı izolatların petri görüntüleri



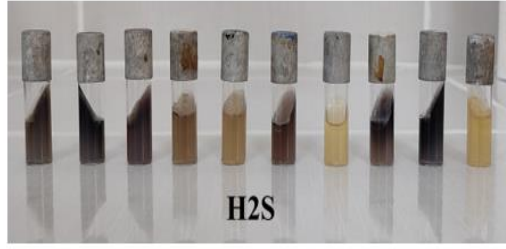
Şekil: Saflaştırılan bazı izolatların petri görüntüleri



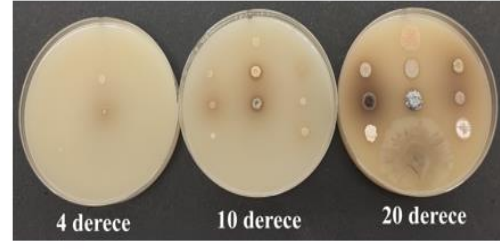
Şekil: Saflaştırılan bazı izolatların petri görüntüleri



Şekil: Safılaştırılan bazı izolatların petri görüntüleri



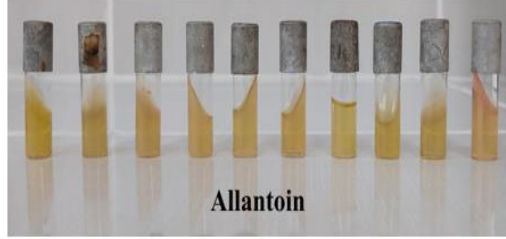
H₂S



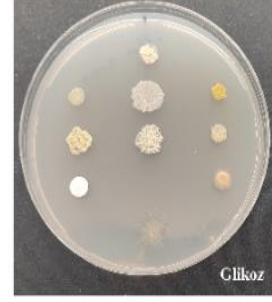
4 derece

10 derece

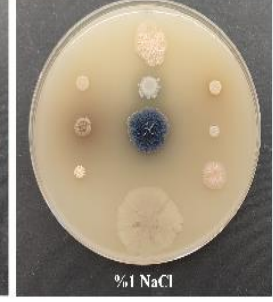
20 derece



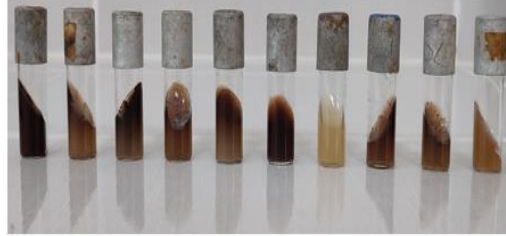
Allantoin



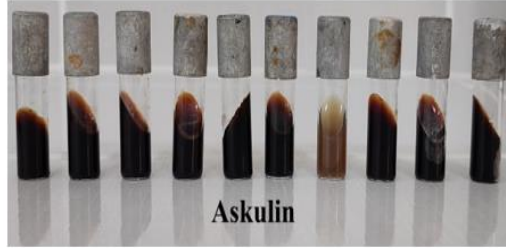
Glukoz



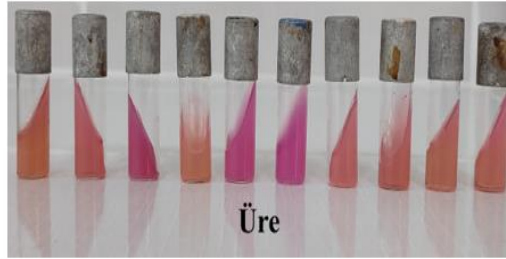
%1 NaCl



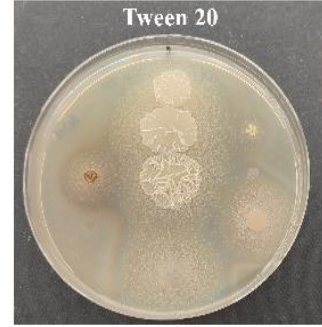
Askulin



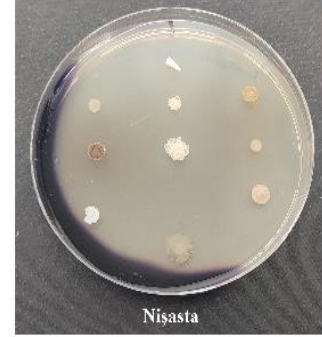
Üre



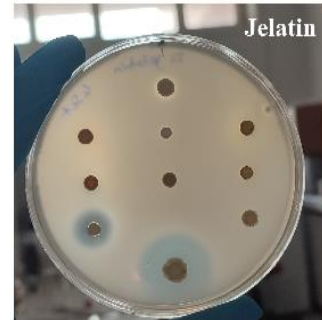
Nitrat



Tween 20

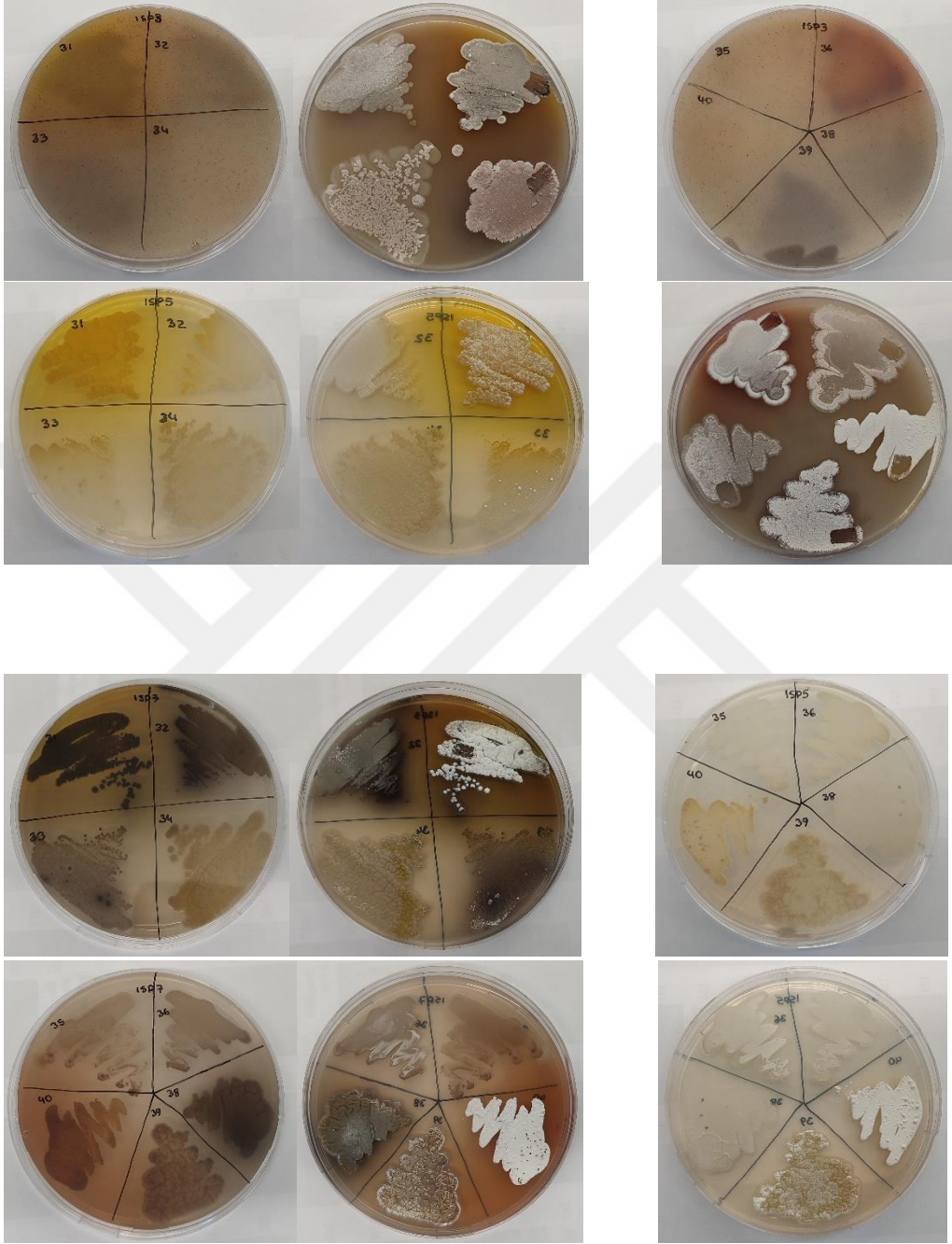


Nişasta



Jelatin

Şekil: Fenotipik çalışmalarla ilgili bazı görüntüler



Şekil: Fenotipik çalışmalarla ilgili bazı görüntüler

ÖZ GEÇMİŞ

Sibel Melisa ŞAHİN, Kadir Has Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünden 24.06.2021 tarihinde mezun oldu. 2021 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi.

(YDS: 93,75)

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-2349-669X

Yayınlar:

1. ŞAHİN, S. M., AY, H., SATICIOĞLU, İ. B., DUMAN, M. “Antarktika Horseshoe Adası’ndan İzole Edilen *Amycolatopsis* sp. H20-H5’in Biyoteknolojik Potansiyelinin Genomik Analizi” 8. Uluslararası Ankara Bilimsel Araştırmalar Kongresi, 2023, Ankara, Türkiye, sözlü sunum.
2. ŞAHİN, S. M., AY, H., SATICIOĞLU, İ. B., DUMAN, M. “Antarktika Horseshoe Adası’ndan İzole Edilen *Massilia antarctica* H27-R4’ün Biyoteknolojik Potansiyelinin Genomik Analizi” 6. Ulusal Kutup Bilimleri Çalıştayı, 2022, Trabzon, Türkiye, sözlü sunum.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. TÜBİTAK 1001 Proje Bursu
2. 2210-A Genel Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu