



**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YIĞILCA BAL ARISI VE ÜRÜNLERİNDEN BAKTERİ  
İZOLASYONU TANIMLANMASI VE KULLANIM ALANLARININ  
ARAŞTIRILMASI**

**HACER DURSUN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. SERPİL UĞRAŞ**

**DÜZCE, 2018**

**T.C.**  
**DÜZCE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YIĞILCA BAL ARISI VE ÜRÜNLERİNDEN BAKTERİ**  
**İZOLASYONU TANIMLANMASI VE KULLANIM ALANLARININ**  
**ARAŞTIRILMASI**

Hacer DURSUN tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Görkem DÜLGER

Düzce Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Arzu YILDIRIM

Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 16/02/2018

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

16 Şubat 2018

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı kadim dostum ve kıymetli hocam Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen çok değerli, her daim kendisini örnek aldığım saygıdeğer abim ve hocam Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ'a şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve çalışma arkadaşım Sultan ÜLGER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, 114Z723 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

**16 Şubat 2018**

**Hacer Dursun**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	IIX
KISALTMALAR.....	X
SİMGELER .....	XI
ÖZET .....	XII
ABSTRACT .....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.2. BAL ARISI.....	2
1.3. ARI ÜRÜNLERİ.....	3
1.3.1. Bal .....	3
1.3.2. Arı Sütü .....	4
1.3.3. Polen.....	4
1.3.4. Arı Ekmeği .....	4
1.3.5. Propolis .....	4
1.4. BAL ARILARININ ÖNEMİ.....	5
1.5. BAL ARISI HASTALIKLARI .....	5
1.6. TÜRKİYEDE ARI VE ARICILIK .....	7
1.7. YIĞILCA BAL ARISI.....	9
1.8. AMAÇ.....	10
2. MATERYAL VE YÖNTEM .....	11
2.1. ARI VE ARI ÜRÜNLERİNİN ELDE EDİLMESİ .....	11
2.2. BAKTERİ İZOLASYONU .....	11
2.2.1. Arı, Pupa ve Larva Örneklerinin Hazırlanması.....	11
2.2.2. Bal ve Bal Ekmeği Örneklerinin Hazırlanması .....	12
2.2.3. Polen Örneklerinin Hazırlanması .....	12
2.2.4. Arı Sütü Örneklerinin Hazırlanması.....	12

2.3. BAKTERİYAL SAF KÜLTÜRLERİN HAZIRLANMASI VE STOKLANMASI.....	12
2.4. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	12
2.5. BAKTERİYAL İZOLATLARIN FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	13
2.5.1. Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi.....	13
2.5.2. Optimum pH Özelliklerinin Belirlenmesi .....	13
2.5.3. NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi .....	13
2.6. BAKTERİYAL İZOLATLARIN BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	13
2.7. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	14
2.7.1. İzolatların Genomik DNA İzolasyonu .....	14
2.7.2. İzolatların 16S rDNA Gen Analizleri.....	15
2.7.3. Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin Analizi .....	16
2.7.4. Filogenetik Ağaç Tasarımı.....	16
3. BULGULAR .....	16
3.1. ARI VE ARI ÜRÜNLERİNİN ELDE EDİLMESİ.....	17
3.2. BAKTERİLERİN İZOLASYONU.....	17
3.3. BAKTERİYAL SAF KÜLTÜRLERİN HAZIRLANMASI VE STOKLANMASI.....	19
3.4. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	20
3.5. BAKTERİYAL İZOLATLARIN FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	20
3.5.1. Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi.....	21
3.5.2. pH Özelliklerinin Belirlenmesi .....	21
3.5.3. NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi .....	22
3.6. BAKTERİYAL İZOLATLARIN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	23
3.7. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.....	24

3.7.1. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu .....	24
3.7.2. İzolatların 16S rDNA Gen Analizler.....	25
3.7.3. Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin Analizi .....	26
3.7.4. Filogenetik Ağaç Oluşturulması.....	31
3.8. ARILARDA HASTALIK ETMENİ PATOJENENE KARŞI İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ.....	39
4. TARTIŞMA.....	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	45
6. KAYNAKLAR.....	46
7. EKLER .....	53
7.1. EK 1: İZOLATLARIN 16S RDNA KISMİ SEKANS DİZİLERİ.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	74

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Bal arısı ( <i>Apis mellifera</i> ) morfolojik yapısı.....	2
Şekil 1.2. Ölü larvaların renk değişimi.....	6
Şekil 1.3. Yığılca bal arısı.....	9
Şekil 3.1. Arı ve örneklerin temini.....	17
Şekil 3.2. Bazı bakteriyal izolatlar (1. Örneklem).....	18
Şekil 3.3. Bazı bakteriyal izolatlar (2. Örneklem).....	19
Şekil 3.4. İzolatların DNA profilleri.....	25
Şekil 3.5. İzolatların 16S rDNA PCR profilleri.....	25
Şekil 3.6. HD4 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	32
Şekil 3.7. HD5 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	32
Şekil 3.8. HD6 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	32
Şekil 3.9. HD8 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	33
Şekil 3.10. HD9 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	33
Şekil 3.11. HD10 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	33
Şekil 3.12. HD11 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	34
Şekil 3.13. HD12 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	34
Şekil 3.14. HD13 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	34
Şekil 3.15. HD18 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	35
Şekil 3.16. HD20 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	35
Şekil 3.17. HS1 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	35
Şekil 3.18. HS2 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	36
Şekil 3.19. HS3 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	36
Şekil 3.20. HS4 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	36
Şekil 3.21. HS5 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	37
Şekil 3.22. HS6 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	37
Şekil 3.23. HS10 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	37
Şekil 3.24. HS11 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	38
Şekil 3.25. HS19 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	38
Şekil 3.26. HS20 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.....	38
Şekil 3.27. Arılarda hastalık etmeni patojenlere karşı inhibisyon aktivite sonuçları. ....	39

## ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerler. ....	15
Çizelge 2.2. PCR içeriği. ....	15
Çizelge 2.3. PCR koşulları.....	16
Çizelge 3.1. Arı ve ürünlerinden elde edilen bakteriyel izolatlar (1. Örneklem).....	17
Çizelge 3.2. Arı ve arı ürünlerinden elde edilen bakteriyel izolatlar (2. Örneklem). ....	18
Çizelge 3.3. Bakteriyel izolatların morfolojik özellikleri (1. Örneklem). ....	20
Çizelge 3.4. Bakteriyel izolatların morfolojik özellikleri (2. Örneklem). ....	20
Çizelge 3.5. Bakteriyel izolatların büyüme sıcaklıkları.....	21
Çizelge 3.6. Bakteriyel izolatların pH özellikleri. ....	22
Çizelge 3.7. Bakteriyel izolatların NaCl özellikleri.....	23
Çizelge 3.8. Bakteriyel izolatların bazı biyokimyasal özellikleri. ....	24
Çizelge 3.9. İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.....	26
Çizelge 3.10. <i>Paenibacillus larvae</i> karşı inhibisyon aktivite sonuçları.....	39

## KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ATCC	American Type Culture Collection
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleotit Tri Phosphate
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik asit
KOH	Potasyum Hidroksit
MHA	Muller Hinton Agar
MHB	Muller Hinton Broth
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
NK	Negatif Kontrol
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribo Nükleik Asit
rDNA	Ribozomal Deoksiribo Nükleik Asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TRIS	Hidroksimetil Aminometan
UV	Ultraviyole

## SİMGELER

bp	Base Pair
cm	Santimetre
ddH <sub>2</sub> O	Double Distilled Water
mm	Milimetre
mM	Milimolar
M	Molarite
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
nm	Nanometre
ng	Nanogram
rpm	Revolution Per Minute
%	Yüzde
°C	Derece Celsius

## ÖZET

### YIĞILCA BAL ARISI VE ÜRÜNLERİNDEN BAKTERİ İZOLASYONU TANIMLANMASI VE KULLANIM ALANLARININ ARAŞTIRILMASI

Hacer DURSUN  
Düzce Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi  
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ  
Şubat 2018, 73 sayfa

Bal arıları, ekolojik dengenin korunması, kültür bitkilerinin tozlaşması ve birçok bitki türünün neslinin devamlılığı gibi önemli görevlere sahiptir. Bu görevler doğrultusunda dünyadaki hemen hemen bütün canlıların idamesi için hayati değer taşımaktadır. Ancak bu canlılar kovanlarda ciddi kayıplara ve arı popülasyonlarının azalmasına sebep olan, bakteri, fungus, virüs, parazit, protozoon gibi patojenlerin konukçusu durumundadır. Bu patojenlerin neden olduğu arı kayıplarının önlenmesi için yeni yaklaşımların ortaya çıkarılması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda, arıların sahip oldukları mikrobiyotanın hastalıklara karşı dirençlilikte olumlu etkileri gösterilmiştir. Bu bağlamda, arıların vücutlarında doğal olarak var olan mikrobiyota desteklenirse, arıların hastalıklara karşı daha dirençli olabileceği fikri ortaya çıkmaktadır. Bu fikirden yola çıkarak planlanan bu çalışmada, literatürde yeni bir ekotip olarak yerini alan Yığılca bal arısı ve ürünlerinin bakteriyal mikrobiyotası aydınlatılmış ve elde edilen bakteriyal izolatların arı larvalarında hastalık etmeni olan *Paenibacillus larvae* bakterisine karşı inhibisyon aktivitesi *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda sağlıklı arı ve ürünlerinden yirmi bir bakteriyal izolat elde edilmiştir. Bu bakteriyal izolatlar fizyolojik, morfolojik ve moleküler tanımlama teknikleriyle *Lactobacillus kunkeei* (HD4, HD6 ve HD12), *Staphylococcus warneri* (HD5 ve HD20), *Fructobacillus fructosus* (HD8), *Staphylococcus lentus* (HD9), *Pantoea vagans* (HD10), *Bacillus licheniformis* (HS6), *Pluralibacter pyrinus* (HS10), *Pantoea anthophila* (HS11), *Pantoea agglomerans* (HD11), *Bacillus cereus* (HS1 ve HS3), *Bacillus safensis* (HS2, HS4 ve HD18) ve *Paenibacillus taichungensis* (HS5), *Escherichia coli* (HD13) ve *Enterobacter cloacae* (HS19 ve HS20) olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma sonucunda *L. kunkeei* ve *F. fructosus* izolatlarının *Paenibacillus larvae* bakterisine karşı inhibisyon aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Arı ürünleri, Bakteri, Bal arısı, İzolasyon, *Paenibacillus larvae*.

## ABSTRACT

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA FROM YIĞILCA HONEY BEES AND PRODUCTS OF BEE AND INVESTIGATION OF THEIR USAGE FIELDS

Hacer DURSUN

Düzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology

Master Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Serpil UGRAS

February 2018, 73 pages

Honey bees have important tasks such as protecting the ecological balance, pollinating the cultivated plants and continuing the generation of many plant species. In line with these tasks, it is vital to maintain the lives of almost all living beings in the world. However, these creatures are hosts of pathogens such as bacteria, fungi, viruses, parasites and protozoa, which cause serious loss and bee populations in the hives. New approaches should be revealed to prevent the bee losses. In the studies conducted, the positive effects of the microbiota of the bees on their resistance to the diseases have been shown. In this context, the idea that bees may be more resistant to diseases can be found if the natural microbiota in the bees bodies is supported. In this study, derived from this idea, it has been clarified that it is the bacterial microbiota of Yiğilca Honey Bee and its products, taking place as a new ecotype in the literature and it has been evaluated that the inhibitory activity against bacterial isolates *Paenibacillus larvae* bacteria, causing a disease in bee larvae, is the 'in vitro'. Twenty one bacterial isolates of healthy bees and products were obtained as a result of these studies. With the physiological, morphological and molecular identification techniques, these bacterial isolates are defined as *Lactobacillus kunkeei* (HD4, HD6 ve HD12), *Staphylococcus warneri* (HD5 ve HD20), *Fructobacillus fructosus* (HD8), *Staphylococcus lentus* (HD9), *Pantoea vagans* (HD10), *Bacillus licheniformis* (HS6), *Pluralibacter pyrinus* (HS10), *Pantoea anthophila* (HS11), *Pantoea agglomerans* (HD11), *Bacillus cereus* (HS1 ve HS3), *Bacillus safensis* (HS2, HS4 ve HD18) ve *Paenibacillus taichungensis* (HS5), *Escherichia coli* (HD13) and *Enterobacter cloacae* (HS19 ve HS20). As a result of this study, it has been determined that *L. kunkeei* and *F. fructosus* isolates have inhibitory activity against *Paenibacillus larvae* bacteria.

**Keywords:** Bacteria, Bee products, Honey bee, Isolation, *Paenibacillus larvae*.

# 1. GİRİŞ

## 1.1. GENEL BİLGİLER

Doğada yaşayan canlılar arasında güçlü bağlar bulunmaktadır. Buna verilecek en güzel örnek arılar ile çiçekli bitkiler arasındaki mutualist ilişkidir. Çiçeklerin polinasyonu için arılara, arıların beslenmesi için de çiçeklere ihtiyaç vardır ve bu durum canlılığın devamı için elzemdir [1]. Arılar, canlıların yaşamlarının devamı için hayati öneme sahip olduklarından doğada ‘anahtar tür’ olarak nitelendirilmektedir [2]. Dünyada 25.000, ülkemizde ise 2.000 civarında tanımlanmış arı türü bulunmaktadır [3], [4].

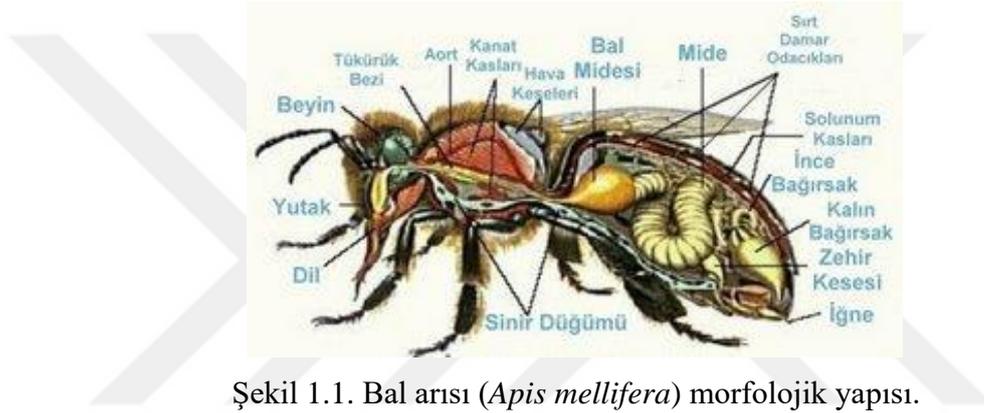
Dünya üzerinde insanoğlu tarafından besin olarak tüketilen bitkilerin çoğunun polinasyonu arılar tarafından gerçekleştirilmektedir [5]. Canlılığın devamı için büyük önem arz eden yüksek yapılı bitkilerin neslinin devamı için de polinasyona ihtiyaç vardır ve polinasyon olayında arılar kanıtsamaz bir öneme sahiptir [6].

Bal arıları (*Apis mellifera*) da diğer arı türleri gibi tarımsal ürünlerin tartışmasız en önemli tozlaştırıcıları olup polinasyonu gerçekleştiren en önemli polinatör böceklerdir [2], [7]. Yapılan çalışmalar neticesinde dünyada insan gıdasının % 90’ının 82 bitki türünden elde edildiğini ve bunlardan 63 (% 77) türün tozlaşmasında polinatör olarak arıların görev yaptığını kaydedilmiştir [2]. Dolayısıyla bitkilerdeki tozlaşma başarısız olursa, ekosistemler aşınır ve birçok önemli gıda maddesinin güvenilir kaynakları kaybedilir [8].

Üzülerek vurgulamak gerekir ki tarım için bu kadar önem arz eden bal arısı kolonileri, son on yılda, arı ürünlerinin üretimini de tehdit ederek düşüş göstermektedir [7]. Bunun yanı sıra polinatör canlıların tür çeşitliliği de dünya genelinde son 50 yılda düşüş göstermektedir [8]. Bu düşüşe, bal arılarında karşılaşılan birçok sağlık sorunu, kolonilerin besin ararken tarımsal böcek ilacı ve genetiği değiştirilmiş mahsullere maruz kalması ve zayıf arıcılık uygulamaları neden olmaktadır [7]. Bu bağlamda bal arısı kolonilerinin azalması ve yüksek ölüm oranları, küresel alanda büyük bir endişe yaratmaktadır [9]. Çeşitli faktörlerin etkisiyle meydana gelen bu kayıplar koloni sayısı bakımından dünyada ilk sıralarda yer alan ülkemiz için de endişe verici bir durumdur [10].

## 1.2. BAL ARISI

Arılar, hayvanlar âleminin eklembacaklılar şubesinin böcekler sınıfının zar kanatlılar takımı üyeleridir. Bal arısı genel yapısı bakımından diğer böceklere benzememekle birlikte vücudu yoğun ve yumuşak bir kıl örtüsüyle kaplıdır. Arı vücudu baş, göğüs ve karın olmak üzere üç kısımdan meydana gelir. Başta gözler, duyarlar ve beslenme organları bulunmaktadır. Baş vücudun ikinci kısmı olan göğüse ince oynak bir boyunla bağlıdır. Göğüs ve karın ise segment denilen halkalardan oluşmaktadır. Bal arısının morfolojik yapısı Şekil 1.1’de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Bal arısı (*Apis mellifera*) morfolojik yapısı.

Bal arıları taksonomik olarak incelendiğinde Hymenoptera takımının Apoidae üst familyası Apiformes grubunda yer alan nektar ve polen ile beslenen böcekler olarak karşımıza çıkmaktadır [5]. Bal arısı taksonomisi aşağıda verilmiştir.

Alem (Kingdom)	Hayvanlar (Animalia)
Şube (Phylum)	Eklembacaklılar (Arthropoda)
Alt Şube (Subphylum)	Antenliler (Antennata)
Sınıf (Class)	Böcekler (Insecta)
Takım (Order)	Zar Kanatlılar (Hymenoptera)
Familya (Family)	Arılar (Apidae)
Cins (Genus)	Bal Arıları (Apis)
Tür (Species)	Bal Arısı ( <i>Apis mellifera</i> )

Taksonomide türden sonra ırklar yer almaktadır. Özellikle Avrupa bal arısı olarak bilinen *Apis mellifera* türünün çok sayıda ırk ve biyotipi bulunmaktadır [3]. Örneğin; Avrupa bal arısının Anadolu’da en geniş bal arısı kitlesini oluşturan Anadolu ırkı '*Apis mellifera*

*anatolica*‘ olarak isimlendirilir [11], [12]. Her bal arısı ırkı farklı ekolojik bölgelerde yaşamakta olup verim olarak da farklı performans göstermektedir [11]. Türkiye’nin, dünyada belirlenmiş olan 26 bal arısı ırkından 5 tanesine ve bunların ekotipi olan Muğla, Yığılca, Gökçeada arıları gibi yerel bal arılarına ev sahipliği yaptığı yapılan bilimsel çalışmalar neticesinde ortaya çıkarılmıştır.

Türkiye’de, Anadolu arısı (*Apis mellifera anatolica*), Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*), İran arısı (*Apis mellifera meda*), Suriye arısı (*Apis mellifera syriaca*) ve Karniol arısı (*Apis mellifera carnica*) olmak üzere beş farklı çeşit bal arısı ırkı tanımlanmıştır [4], [11]. Farklı tür ve ırklara sahip olan bal arıları bitkilerin tozlaşmasına yardımcı olmanın yanı sıra ürettikleri doğal ürünlerle de insanoğluna faydalar sunmaktadır.

Tıp, eczacılık ve kozmetik gibi alanlarda dünyada yaygın olarak kullanılmakta olan bu ürünler halk arasında çeşitli hastalıklara karşı tedavi amacıyla da kullanılmaktadır [10], [13], [14].

### **1.3. ARI ÜRÜNLERİ**

Günümüzde beslenme bilincinin artması doğal yaşamın gelişmesi ile beraber doğal ürünlere olan talep artmıştır. Bu doğal ürünler arasında en yaygın olarak kullanılan gıdaların başında arı ürünleri gelmektedir. Arılardan iki farklı şekilde ürün elde edilmektedir. Bunlar; arının doğrudan vücudundan salgılanan, arı sütü, balmumu ve arı zehri ile bitkilerden toplayıp vücut salgılarını eklediği; bal, arı poleni, arı ekmeği ve propolis gibi ürünlerdir [15]. Ayrıca arı ürünleri alternatif ilaçlar olarak terapötik amaçlarla da kullanılmaktadır [16].

#### **1.3.1. Bal**

Bal, bitkilerin nektarları (bal özü), polenleri (çiçek tozu) ve diğer canlı kısımlarından salgılanan salgı maddelerinin bal arıları tarafından toplanıp petekte depolanarak olgunlaştırıldığı fermantasyon sonucu oluşan doğal bir gıda maddesidir [1], [17]. Balın beslenmedeki faydalarının yanı sıra, hastalıklardan koruyucu ve yaraları iyileştirici etkileri de olduğu çok eski yıllardan bu yana bilinmektedir [1], [17]-[19].

### **1.3.2. Arı Sütü**

İşçi arıların baş kısmında bulunan arı sütü bezlerinden salgılanan beyazımsı sarı renkte peltsemi asidik özelliğe sahip bir maddedir [1], [6], [17]. Arı sütü tüm arıların beslenmesinde kullanılır, erkek ve işçi arılar bu besinden üç gün, kraliçe arılar ise ömür boyu faydalanır. Arı sütünün yapısında proteinler, lipitler, vitaminler, enzimler, şekerler, amino asitler ve yağ asitleri gibi besin değeri yüksek maddeler bulunmaktadır [17].

### **1.3.3. Polen**

Polen çiçekli bitkilerin erkek organlarında oluşan ve bitkinin üremesi için gerekli olan çiçek tozlarıdır. Arı poleni ise, bal arıları tarafından toplanıp kurutulmuş polen aglomerasyonlarıdır. Bu polen aglomerasyonları genellikle sarı olup yeşil, mor, portakal rengi, kırmızı renkleri de mevcuttur. Polenler şekil ve büyüklük bakımından bulunduğu bitkiye göre farklılık göstermektedir [6]. Bileşiminde protein, karbonhidrat, lipit, enzim, vitamin, aminoasit gibi maddeler bulunmaktadır ve arıların beslenmesi için kullanılan tek protein kaynağıdır ayrıca değerli bir apiterapik üründür [1], [6], [20].

### **1.3.4. Arı Ekmeği**

İşçi arılar tarafından toplanan polen petek gözlerine depolanır ve bu sırada bir miktar tükürük salgısıyla nemlendirilir. Polene bal, nektar ve arının tükürük salgısının karışmasıyla oluşan arı ürününe arı ekmeği adını almaktadır [6].

### **1.3.5. Propolis**

Propolis, işçi arıların, bitkilerden topladıkları reçinemi maddeleri ve bitki salgılarını, başlarındaki salgı bezlerinden salgılanan enzimlerle değişikliğe uğratarak bir miktar bal mumu karıştırarak oluşturdukları reçinemi maddedir [15], [21]. Propolis, baldan sonra insanlardan tarafından en çok bilinen arı ürünüdür [17]. Arılar tarafından balmumu ile karıştırılarak kullanılan propolis, yuva iç duvarlarının pürüzsüz hale getirilmesi, yabancı canlıların yuvaya girişini engellemek ve kovadaki çatlakların kapatılması amacıyla kullanılmaktadır [17]. Propolis arılar tarafından kovanda kullanımı dışında ilaç, kozmetik ve gıda sanayide ayrıca apiterapide de kullanılan bir üründür [15].

#### **1.4. BAL ARILARININ ÖNEMİ**

Bal arıları yalnızca ürettikleri bal ve diğer ürünleri ile değil, doğada tozlaştırıcı olarak bitkisel üretim ve biyolojik çeşitliliğin korunmasında da büyük önem taşımaktadır [2], [22], [23]. Dünya çapında 215 milyar ABD doları seviyesinde ürünün eldesi Bal arısı (*Apis mellifera*) tarafından sağlanmaktadır [24], [25], [26]. Küresel anlamda, 1961'den bu yana kolonilerin sayısı % 45 artarken, tozlaşmaya bağımlı ekinlerin oranı % 300 artmıştır [24], [27].

Bal arılarının performansları değerlendirildiğinde özellikle Amerika'da bal arısı kolonilerinin tarımın vazgeçilmez bir parçası olduğu ve itina ile yönetildiği görülmektedir [24], [28], [29]. Ancak yine de arı kolonilerindeki azalmanın üstesinden gelinememektedir. Bal arısı kolonilerindeki azalma ve kayıpların uzun vadede küresel tozlaştırıcı popülasyonların kaderi konusunda büyük endişeye sebep olacağı öngörülmektedir. Yapılan çalışmalarda ABD'de 61 yılda bal arısı kolonilerinde % 59 oranında gerileme gözlemlendiği tespit edilmiştir [30]. Tarımsal üretimde tozlaşma yoluyla küresel ekonomiye yılda 200 milyar dolarlık katkıda bulunan bu canlıların koloni sayısı maalesef gün geçtikçe azalmaya devam etmektedir [7].

Bal arısı popülasyonları, hastalıklar, parazitler, böcek öldürücüler, çevre ve sosyo-ekonomik etmenler gibi birçok faktörden etkilenir. Bu faktörler tek başlarına etkili olabildiği gibi birlikte de etkili olabilmektedirler [31]. Bal arıları özellikle bakteri, fungus, protozoa, virüs ve parazitik akarlar gibi patojenlerin konukçusu durumundadır [22]. Bu patojenler kovanlarda ciddi kayıplara sebep olarak arı popülasyonlarının azalmasına ve koloni sönmesine neden olmaktadır [32].

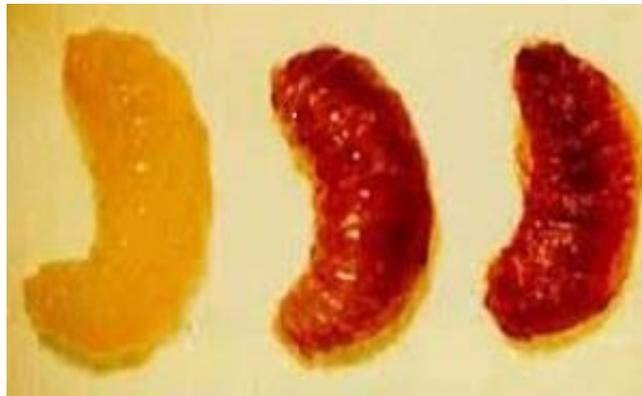
#### **1.5. BAL ARISI HASTALIKLARI**

Bütün canlılar gibi bal arıları da hastalık ve zararlıların etkisi altında yaşamlarını devam ettirmektedirler. Arı hastalıkları ve zararlıları nedeniyle meydana gelen koloni sönmeleri ve verim düşüklüğü, bu konu ile ilgili sorunlara çözüm üretilmesini zorunlu hale getirmiştir [33]. Bal arıları üzerine yapılan bilimsel çalışmalar son on yılda giderek artmış ve arı kolonilerinin kitlesel kayıplarına sebep olan ölümlerin nedenleri ile ilgili araştırmalar bilim çevreleriyle paylaşılmıştır [1].

Açlık, yağmalama, belirsiz kış kayıpları, diğer hastalıklar, bilinmeyen nedenlerin de görülme sıklığı az da olsa arılarda kayıplara neden olduğu tespit edilmiştir [1].

Ancak önemle vurgulamak gerekir ki dünyada ve ülkemizde arıcılık sektöründe verimin düşmesi, arı kolonilerinin sönmesindeki en büyük problemin arı hastalıkları olduğu aşikârdır. Arılarda hastalığa yol açan patojenler hastalığı oluşturan etmene göre bakteri, fungus, virüs, parazit, ya da protozoon kökenli olabilmektedir. Ayrıca bu patojenler hastalığın oluştuğu konak canlıının ergin veya yavru olmasına bağlı olarak farklı özellikte hastalıklara sebebiyet vermektedirler. Bu hastalıklar içerisinde *Paenibacillus larvae* bakteri türünün neden olduğu Amerikan Yavru Çürüklüğü hastalığı, *Melissococcus plutonius* bakterisinin neden olduğu Avrupa Yavru Çürüklüğü hastalığı ve *Ascospaera apis* fungusunun neden olduğu Kireç hastalığı yavru arılarda görülen yaygın ve tehlikeli hastalıklardır. Ergin arılarda ise en yaygın ve tehlikeli olan hastalık *Nosema apis* olarak tanımlanan bir protozoonun neden olduğu Nosemosis hastalığıdır. Bu patojenler arasında en tehlikeli ve yaygın olan hastalık ise *Varroa destructor* (arı akarı) adı verilen dış parazitinin neden olduğu Varroosis hastalığıdır [11], [34].

Amerikan Yavru Çürüklüğü hastalığı bal arısı larvalarında görülen bir yavru hastalığıdır. Hastalığın etmeni *P. larvae* adı verilen gram pozitif sporlu bir bakteridir. Besinlerle beraber larvalara bulaşan bakteri sporları larvaların ölüp kokuşmasına yol açar. Ölü larvaların renk değişimi Şekil 1.2’de gösterilmektedir. Bu patojen sadece arı larvalarında hastalığa neden olur ergin arılarda ise hastalık yapmaz. Ülkemizde ihbarı zorunlu olan bu hastalıkla mücadelenin en etkili ve kesin yöntemi, hastalıklı kolonilerin tümüyle yakılarak yok edilmesidir [34].



Şekil 1.2. Ölü larvaların renk değişimi.

Günümüzde arıcılar hastalık etmeni patojenlerin kontrolünde antibiyotik ve pestisit gibi kimyasalları kullanmaktadır. Bu kimyasalların kullanımı; dirençli patojenlerin gelişerek daha dayanıklı patojenlerin yayılması arı kovanlarının normal mikrobiyotasında dengesizlikler ortaya çıkararak, arı ömürlerinin kısalması arıların bağışıklık sisteminin baskılanması, yüksek oranda koloni kayıpları ve arı ürünlerinin kontaminasyonu (kimyasal kalıntı) gibi korkutucu sonuçları da beraberinde getirmektedir [35]-[39]. Özellikle arı ürünlerinde kullanılan kimyasal kalıntılar sebebi ile insan tüketimi için arı ürünlerinin kalitesi düşmekte ve arı ürünleri sağlıksız tehlikeli bir gıda maddesine dönüşmektedir [37]. Bu gibi olumsuz durumların sonucu olarak arı hastalık ve zararlılarına karşı kullanılan kimyasalların kullanımına sınırlama getirilmiştir [40]. Bilinçsizce yapılan kimyasal ilaçlama yoğun pestisit kullanımı bal arısı kolonilerinin zayıflaması, koloni kayıplarının olması, arı ürünlerinde kontaminasyon ve kimyasal kalıntı olması gibi birçok nedenle çoğu ülkede bu kimyasalların kullanımı yasaklanmıştır. 2006'dan önce antibiyotik kullanılarak hastalıklı kovanlar tedavi edilebilirken, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığının 5179 sayılı 'Gıdaların üretimi, tüketimi ve denetlenmesine dair kanun hükmünde kararnamenin değiştirilerek kabulü hakkında kanun' ve Koruma Kontrol Genel Müdürlüğünün 2005/74 sayılı genelgesine göre 2006'dan itibaren antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır. Avrupa Birliği, bazı antivarroa ilaçları hariç arı hastalıkları tedavisinde hiç bir ilacın kullanımına izin vermemektedir [41]. Hastalık ortaya çıktığında birtakım önlemler (öncelikle hastalıklı peteklerin imha edilmesi, kovanın değiştirilmesi, hasta olmayan güçlü kolonilerden ballı ve yavrulu çerçeve takviye edilmesi, şuruplama yapılması vb. ) alınmalıdır [34].

Aynı zamanda, arılar üzerindeki stres azaltmak için; çiçek bakımından zengin yaşam alanlarını tarım arazilerine dahil etmek, daha sürdürülebilir tarım yöntemlerini benimsemek suretiyle böcek ilacı kullanımını azaltmak ve arı hareketleri üzerinde etkili karantina önlemlerini uygulamak tüm pratik önlemlerdir [8].

## **1.6. TÜRKİYEDE ARI VE ARICILIK**

Ülkemiz, özel coğrafi konumu, farklı iklim özellikleri, dağları, vadileri ve ovaları ile birçok bitki türünün gelişimine fırsat veren zengin biyoçeşitliliğe sahip olup buna paralel olarak arı faunası bakımından dünyanın en zengin yöreleri arasında yer almaktadır [3], [42].

Bünyesinde birçok arı ırk ve ekotipini barındıran ve arı gen çeşitliliğiyle önemli bir konumda olan ülkemiz, dünyadaki 12 gen merkezinden birisidir [43]. Hem biyoçeşitliliğin hem de koloni sayısının fazla olması ülkemizde arıcılığın önemli bir sektör haline gelmesini sağlamıştır [3], [42].

Ülkemiz yerli arı ırklarına sahip olması nedeniyle arıcılık faaliyetleri açısından bütün dünyada önemli bir konuma sahiptir [44]. Yerli ırklar verim açısından maksimum performans gösteren arı ekotipleri olup buna paralel olarak tozlaşma ile bitkisel ürünlerde de yüksek verimi sağlamaları beklenen bir durumdur [45].

Gelişmiş ülkelerde arıcılık; tozlaşmayı sağlamak, arı ürünleri ve arı üretimi gibi çeşitli üretimleri kapsayan oldukça geniş bir tarım kolu olarak ifade edilmekte iken ülkemizde arıcılık denildiğinde ilk olarak bal üretimi akla gelmektedir [21]. Türkiye’de arıcılık her ne kadar bal üretimini akıllara getirirse de koloni sayısına oranla bal veriminin düşük seviyelerde olduğu gözlenmektedir.

FAO (Food and Agriculture Organisation) 2011 verilerine göre; ülkelere göre bal üretimi dikkate alınarak yapılan verimlilik sonuçları neticesinde, kovan başına düşen bal üretimi Kanada’da; 617.264 kovandan 35,520 ton bal, Çin’de; 8.850.000 kovandan 446,089 ton bal üretilirken, Türkiye’de; 6.011.330 kovandan 94,245 ton bal üretimi gerçekleştirilmektedir. Türkiye bal üretim miktarı bakımından Dünya’da 2. sırada olmasına rağmen kovan başına düşen 15,67 kg bal ile bal üretimi bakımından maalesef dünya ortalamasının altındadır [46].

TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) 2016 verilerine göre ülkemizde 6.6 milyon arı kolonisi bulunmaktadır ve tüm dünya da olduğu gibi ülkemizde de arı koloni sayısı hızlı bir şekilde düşüş göstermektedir [2], [51].

Arılar bakteri, fungus, virüs, parazit, protozoon gibi patojenlere maruz kalmakta olup aynı zamanda bu patojenlerin konukçusu durumundadır [22], [47]-[50], [52]. Patojenler kovanlarda ciddi kayıplara sebep olmakla birlikte arı popülasyonlarının azalmasına ve hatta kolonilerin sönmeye kadar giden sonuçlar doğurmaktadır [32]. Bu durum özellikle iklim ve coğrafi konumu itibari ile arıcılık için oldukça elverişli olan ülkemiz içinde tehdit oluşturmaktadır.

## 1.7. YIĞILCA BAL ARISI

Düzce ili Yiğilca ilçesi deniz seviyesinden 350 m yüksekte olup, yüzölçümü 640 km'dir. Coğrafi olarak bakıldığında engebeli, eğimli, kayalık ve ormanlık arazi yapısına sahip olduğu için tarım arazisi dar ve verimsizdir. İlçenin iklimi ılıman bir iklimdir. Nüfusu 2016 yılına göre 15.141 kişi olup yapılan nüfus sayımlarına bakıldığında göç veren bir ilçe olduğu görülmektedir. Bitki örtüsü bakımından oldukça zengindir. Floranın zengin olması ve doğal yapının bozulmaması bölgede yaşayan arı popülasyonları için önemli bir durumdur.

Yiğilca'nın il merkezine çok uzak olması, yollarının bozuk ve ulaşımın zor olması gibi faktörler hem doğal bitki örtüsünün tahrip olmasını engellemiş hem de ilçeye dışardan göçer arıcı girişi olmasının önüne geçmiştir. Yapılan çalışmalarda bu bölgede bulunan arıların, arıcılar açısından önemli bir genotip olduğu ve korunması gerektiği vurgulanmıştır [53].

Bal arıları genetik, morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin farklı olmasından dolayı çok sayıda alttür ve ekotip içermektedir. Özellikle Anadolu arısı (*Apis mellifera anatolica*) çok sayıda yerel bal arısı popülasyonuna sahiptir. Muğla arısı, Giresun arısı ve Yiğilca arısı, Anadolu arısının (*Apis mellifera anatolica*) yerel bal arısı popülasyonlarıdır [54].

Yiğilca bal arıları Batı Karadeniz'in diğer popülasyonlarından morfometrik veriler ve genetik analizler sonucu tam olarak ayrılmış olup literatürde yeni bir ekotip olarak yerini almıştır [53], [54]. Yiğilca bal arısı Şekil 1.3'te gösterilmiştir. Ayrıca Yiğilca bal arısının Anadolu ve Kafkas arısından bal verimi performansı olarak da daha üstün bir performansa sahip olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır [55].



Şekil 1.3. Yiğilca bal arısı.

## 1.8. AMAÇ

Arılar dünyadaki hemen hemen bütün canlıların devamlılığı için hayati öneme sahiptir. Yaşam için büyük önem arz eden bu canlılar ne yazık ki bakteri, fungus, protozoa, virüs ve parazitik akarlar gibi patojenlerin konukçusu durumundadır. Hastalık yapıcı olan bu canlılar kovanlarda ciddi koloni kayıplarına sebep olmakta bu durum arı kolonilerinin azalmasına ve hatta koloni sönmesine kadar giden sonuçlar doğurmaktadır. Bal arılarının ekonomik ve ekolojik önemi göz önüne alındığında, arı hastalıklarının kontrolü için etkin, sürdürülebilir ve çevre dostu stratejiler geliştirilmesi gerekmektedir. Günümüzde arı hastalıklarının kontrolü için patojenleri öldüren ürünler (antibiyotik, pestisit) kullanılmaktadır. Oysa son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar bu ürünlerin sık kullanılmasının dirençli patojen gelişimine destek verdiğini ve dirençli patojenlerin artık neredeyse kontrol altına alınmadığını sıklıkla açıklamakta ve kullanılan stratejilerin oldukça yanlış olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, arıların sahip oldukları mikrobiyotanın arı hastalıklarına karşı dirençlilikte olumlu etkileri gösterilmiştir. Bu bağlamda, arıların vücutlarında doğal olarak var olan mikrobiyota desteklenirse, arıların hastalıklara karşı daha dirençli olabileceği fikri ortaya çıkmaktadır. Bu fikirden yola çıkarak planlanan bu çalışmada, literatürde yeni bir ekotip olarak yerini alan Yığılca bal arısı ve ürünlerinin bakteriyal mikrobiyotasının aydınlatılması ve elde edilen bakteriyal izolatların arı larvalarında hastalık etmeni olan *Paenibacillus larvae* bakterisine karşı inhibisyon aktivitesinin in vitro olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

## **2. MATERYAL VE YÖNTEM**

### **2.1. ARI VE ARI ÜRÜNLERİNİN ELDE EDİLMESİ**

Çalışmada kullanılan arı ve arı ürünlerin tamamı rutin üretimin yapıldığı DAGEM (Düzce Üniversitesi, Arıcılık Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi, Yığılca, DÜZCE)'den yaz döneminin başında ve sonunda olmak üzere iki farklı dönemde kontrollü bir şekilde temin edilmiştir. Sırasıyla; arı, pupa ve larva örnekleri; % 0,1 pepton-NaCl çözeltisi içerikli 20 mL'lik steril tüpler içerisine alınarak, polen örnekleri; polen tuzakları ve doğrudan arılardan elde edilen polen örnekleri steril tüpler içerisine alınarak, bal ve bal ekmeği örnekleri; steril bistüri yardımıyla direkt petekten kesilmiş ve sonra petriker içerisine alınarak, arı sütü; kraliçe arı üretimi için ayrılan kovanlardan ve diğer kovanlardaki petek gözlerinden elde edilmiş ve steril petriker içerisine alınarak, düşük sıcaklıkta (yaklaşık 5 °C) laboratuvara getirilmiştir.

### **2.2. BAKTERİ İZOLASYONU**

Laboratuvara getirilen örnekler, bakteriyal izolasyon için steril ortam ve malzemeler yardımıyla hazırlanmıştır.

#### **2.2.1. Arı, Pupa ve Larva Örneklerinin Hazırlanması**

Uygun şekilde laboratuvara getirilen örneklerin yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra steril kabin içerisinde arı için; bal midesi ve bağırsak kısımları çıkarılmış ve bu kısımlar ile ayrıca arının tamamı, pupa ve larvanın tamamı olmak üzere % 0,1 pepton-NaCl çözeltisi içerisine alınarak burada homojenize edilmiştir. Bu çalışmalarda tek arıdan ve tek larvadan yararlanıldığı gibi ayrı ayrı 5-10 adet arı ve 5-10 adet larva birlikte homojenize edilerek yararlanılmıştır. Bu homojenizatlardan alınan örnekler MRS agar (De Man, Rogosa and Sharpe Agar), M17 agar ve NA (Nutrient agar) üzerine yayılarak 30-37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir [56].

### **2.2.2. Bal ve Bal Ekmeği Örneklerinin Hazırlanması**

10 g bal ve bal ekmeği steril ayrı ayrı ortamda tartılmış ve 90 mL pepton çözeltilisi (% 0,1) içerisinde homojenize edilmiştir ve buradan alınan örnekler MRS agar, M17 ve NA üzerine yayılarak 30-37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir [57].

### **2.2.3. Polen Örneklerinin Hazırlanması**

Uygun şekilde laboratuvara getirilen örnekler, MRS, M17 ve NB (Nutrient broth) içerisine eklenmiş ve 30-37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Ardından pepton çözeltilisi ile seri dilüsyonu yapılarak MRS, M17 ve NA üzerine yayılarak 30-37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir [58].

### **2.2.4. Arı Sütü Örneklerinin Hazırlanması**

Bu çalışmada arı sütü örnekleri petek gözünden alındıktan sonra direkt MRS, M17 ve NA gibi farklı besiyerleri üzerine yayılarak 30-37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir [59].

## **2.3. BAKTERİYAL SAF KÜLTÜRLERİN HAZIRLANMASI VE STOKLANMASI**

Arı ve ürünlerinden elde edilen örnekler, farklı besiyerleri (MRS, M17 ve Nutrient agar) üzerine yayılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından besiyerleri üzerinde büyüyen ve farklı oldukları tespit edilen bakteriyal koloniler dikkatlice seçilerek alınmıştır. Elde edilen bakteriyal kolonilerin alındıkları besiyerleri dikkate alınarak çizgi ekimleri yapılmış ve saf kültürleri elde edilmiştir. Saf izolatların oluşturduğu koloniler isimlendirilerek sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere % 20'lik steril gliserol içerikli besiyerinde -20 °C'de stoklanmıştır.

## **2.4. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Bakterilerin koloni özellikleri saf kültür elde edildikten sonra incelenerek morfolojik özellikleri de kayıt altına alınmıştır. Saf kültürler elde edildikten sonra izolatların gram özellikleri % 3'lük KOH (Potasyum hidroksit) kullanılarak gerçekleştirilen bir teknikte tespit edilmiştir [60]. Taze olarak hazırlanmış olan KOH steril lam üzerine damlatılmış ve bakterinin saf kültürü burada süspanse edilmiş 5-60 saniye beklendikten sonra

süspansiyon öze ile lamdan yukarı doğru kaldırıldığında iplik şeklinde uzama görüldüğünde bakterinin Gram (-) olduğuna, herhangi bir uzama görülmediğinde ise bakterinin Gram (+) olduğuna karar verilerek gram özellikleri tespit edilmiştir.

## **2.5. BAKTERİYAL İZOLATLARIN FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

### **2.5.1. Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi**

İzolatların optimum büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla izolatlar farklı sıvı besiyerleri (MRS ya da Nutrient Broth) içerisine ekim yapılmış 4 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C gibi farklı sıcaklıklar değerlerinde ve gereken izolatlarda ise 45 °C ve 50 °C'ye ayarlı su banyolarında 16-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında örneklerin yoğunluğu 600 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede (MAPADA, UV-1800PC) ölçüm yapılarak tespit edilmiştir.

### **2.5.2. Optimum pH Özelliklerinin Belirlenmesi**

İzolatların büyüebildiği pH aralıklarının belirlenmesi için izolatlar pH 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 ve 11.0 gibi farklı pH değerlerine sahip sıvı besiyerine izolatlar inoküle edilerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında örneklerin yoğunluğu 600 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede ölçüm yapılarak tespit edilmiştir.

### **2.5.3. NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi**

İzolatların NaCl ihtiyaçlarının belirlenmesi amacıyla, % 2, % 4, % 7, % 10 ve % 12 gibi farklı oranlarda NaCl eklenmiş sıvı besiyerleri hazırlanmıştır. İzolatlar sıvı besiyerlerine inoküle edilerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında örneklerin yoğunluğu 600 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede ölçüm yapılarak tespit edilmiştir. Bu sayede izolatların hangi oranda tuzu tolere edebildiklerine karar verilmiştir.

## **2.6. BAKTERİYAL İZOLATLARIN BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

İzolatların Katalaz enzimi üretme yetenekleri katalaz testi ile belirlenmiştir. Öncelikle bakteriyal izolatların katı besiyerine nokta ekimleri yapılmıştır. Geliştirilen bakteriyal izolatların koloni yüzeyine, % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ten 1 ml damlatılmıştır. Koloniler üzerinde

hızla başlayan ve kısa sürede kaybolmayan hava kabarcıklarının oluşması pozitif test sonucunu göstermiştir [61]. İzolatların Triptofanaz enzimi üretme yetenekleri indol testi ile belirlenmiştir. İncelenecek bakteri kolonisinden (bakteriyal izolat) özeyle alınan bakteri izolatu temiz bir tüp içinde bulunan triptone sıvı besiyerine (triptofandan zengin besiyeri) ekim yapılmış ve etüvde 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonrasında üzerine, 500 µl KOVAK ayırıcı ilave edilmiştir. 1-2 dakika beklendikten sonra besiyerinin üst kısmında, parlak kırmızı bir halka oluşması, pozitif test sonucunu göstermiştir [61]. İzolatların Amilaz enzimi üretme yetenekleri Nişasta hidrolizasyon testi ile belirlenmiştir. İncelenecek bakteriyal izolatların steril kürdan yardımıyla nişastalı agar besiyerine nokta ekim yapılmış ve etüvde 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda agarların üzeri lugol solusyonu ile kaplanmış ve 5 dakika bekletildikten sonra lügolün fazlası dökülerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Koloni etrafında renksiz bir halka oluşması (alfa-amilase enziminin nişastayı hidrolizasyonu sonu) pozitif test sonucunu göstermiştir [61].

## **2.7. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

### **2.7.1. İzolatların Genomik DNA İzolasyonu**

Pitcher ve arkadaşları (1989) tarafından açıklanan yöntemine göre yapılmıştır. Çalışmada kullanılan izolatlar MRS broth ve NB besiyerinde 30 °C'de bir gece inkübe edilerek üretilmiştir. Elde edilen sıvı kültür iki kez oda sıcaklığında 13000×g'de 3-4 dakika santrifüj edilerek çöktürülmüştür. Süpernatant kısmı dökülerek pellet kısımları saklanmıştır. Pelletin üzerine, 500 µl TE tamponu (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8.0) ilave edilerek pellet çözülmüştür. Daha sonra her bir tüpe 10 µg lizozim ilave edilerek vortekslenmiş ve 37 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Hücrelerdeki proteinlerin parçalanması için, 50 µl % 10'luk SDS eklenerek 37 °C'de 30 dakika bekletilmiş ve bu süre sonunda, tüpe 3 M'lık 0,1 hacim sodyum asetat (pH 5.2) eklenmiştir. Ardından 65 °C'de 10-30 dk alt üst edilerek hücrelerin parçalanması sağlanmıştır. Üzerine 250 µl fenol ve 250 µl kloroform: izoamil alkol (24:1) ilave edilmiş, tekrar alt-üst edilerek karıştırılmış ve 5 dakika 13.000×g'de santrifüj edilmiştir. Tüpün üst kısmındaki sıvı alınıp temiz tüpe bırakılıp, pellet kısmı ise atılmıştır. Bu tüpe tekrar 500 µl kloroform eklenmiş ve alt-üst edilerek 13.000×g'de tekrar 5 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra, üzerlerindeki sıvı kısım alınıp bu sıvı kısma 0,1 hacim 3 M sodyum asetat ve 2

hacim % 96'lık etanol ilave edilmiş -20 °C'de 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 13.000×g'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve üst kısımdaki sıvı boşaltılmıştır. Kalan pelletin üzerine 500 µl % 70'lik etanol ilave edilerek tekrar 13.000×g'de 2 dakika santrifüj edilip üst kısımdaki sıvı dökülerek pellet açık havada kurutulmuştur. Elde edilen DNA pelleti, 100 µl ddH<sub>2</sub>O'da çözülüp ve elde edilen örnekler, 0,5 µg/ml etidyum bromür ihtiva eden % 1'lik agaroz jelde 5 µl'si yürütülerek jelde görüntülenmiştir. Doğrulan DNA örnekleri sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 2.7.2. İzolatların 16S rDNA Gen Analizleri

Bakteriyal izolatların 16S rDNA gen analizlerinin yapılabilmesi için öncelikle aşağıdaki primerler ve yine aşağıda belirtilen PCR şartları kullanılmak suretiyle toplam 50 µl hacimde thermal cycler block (Thermo, 5020) kullanılarak, PCR reaksiyonu yapılmıştır. Çalışmada kullanılan, primerler Çizelge 2.1'de, PCR içeriği Çizelge 2.2'de, PCR koşulları ise Çizelge 2.3'te gösterilmiştir. PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen örnekler, 0,5 µg/ml etidyum bromür ihtiva eden % 1'lik agaroz jelde yürütülerek, jel görüntülenmiştir. PCR örnekleri +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerler.

Adı	Uzunluğu (bp)	GC İçeriği (%)	Tm (°C)	Dizi
16s rDNA Forward	24	38	47	5'-ATT CTA GAG TTT GAT CAT GGC TCA-3'
16s rDNA Reverse	27	59	59	5'-ATG GTA CCG TGT GAC GGG CGG TGT GTA-3'

Çizelge 2.2. PCR içeriği.

İçerik	Miktar / Son konsatrasyon
Tamponu 10x	5 µl / 1X
MgCl <sub>2</sub>	3 µl / 1 Mm
Forward primer	1,5 µl / 100 Mm
Dntp	1 µl / 100 Mm
Revers primeri	1,5 µl / 100 Mm
Taq DNA polimeraz	0,5 µl / 5 U / Ml
DNA	1 µl / 200 ng
dH <sub>2</sub> O	36,5 µl
Toplam	50 µl

Çizelge 2.3. PCR koşulları.

Segment	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
1	1	95 °C	2 dakika
2	36	94 °C	1 dakika
		50 °C	1 dakika
		72 °C	2 dakika
		72 °C	5 dakika
3	1	72 °C	5 dakika

### 2.7.3. Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin Analizi

21 bakteriyal izolatın DNA'sı 20 µl'lik hacim içinde 200 mg/µl konsantrasyonda hazırlanmıştır. 16S rDNA bölgelerinin tanımlanması için örnekler yurtdışına (Macrogen, Hollanda) gönderilmiştir. Sekans sonucunda elde edilen 16S rRNA geninin baz dizilimi FinchTv programı ile düzenli forma getirildikten sonra gen bankasında bulunan diğer 16S rDNA genleri ile NCBI (National Center for Biotechnology Information) web adresindeki BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) programı kullanılarak karşılaştırması yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

### 2.7.4. Filogenetik Ağaç Tasarımı

Filogenetik analizde arı ve ürünlerinden elde edilen 21 izolatın 16S rDNA gen dizisi ve yakından ilişkili oldukları türler kullanılmıştır. Filogenetik analiz Komşu Birleştirme Yöntemi (Neighbor Joining) ve Maksimum Parsimoni (Maximum Parsimony) yöntemi ile MEGA 5.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir [62].

### 3. BULGULAR

#### 3.1. ARI VE ARI ÜRÜNLERİNİN ELDE EDİLMESİ

Çalışmada kullanılan arı ve arı ürünlerin tamamı rutin üretimin yapıldığı DAGEM'den iki farklı dönemde kontrollü bir şekilde, temin edilmiş olup Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Arı ve örneklerin temini.

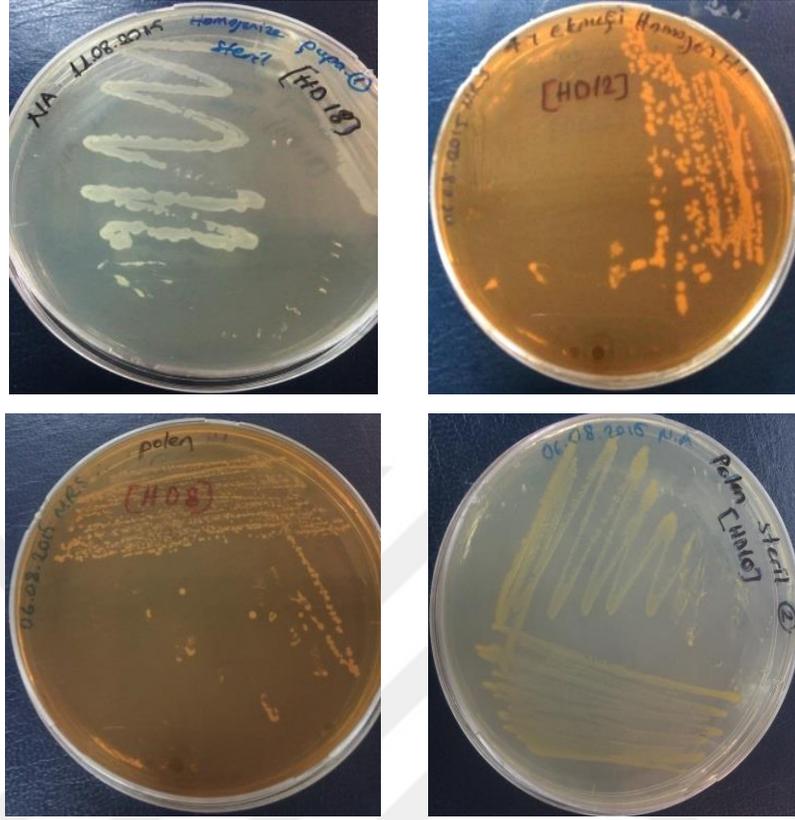
#### 3.2. BAKTERİLERİN İZOLASYONU

Arı ve arı ürünlerinden elde edilen bakteriyal izolatlardan, koloni morfolojileri ve mikroskopik görünümleri dikkate alınarak saf kültürleri elde edilmiştir. Birinci örneklem sonrasında 11 farklı ikinci örneklem sonrasında ise 10 farklı bakteri izole edilerek toplamda 21 bakteriyal izolatın saf kültürleri yapılmış olup birinci örnekleme ait bakteriyal izolatlar Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Arı ve ürünlerinden elde edilen bakteriyel izolatlar (1. Örneklem).

No	İzolat	Kaynak	Besiyeri	Büyüme Sıcaklığı
1.	HD4	Bal	MRS A	30°C - 35°C
2.	HD5	Bal	NA	30°C - 35°C
3.	HD6	Polen	MRS A	30°C - 35°C
4.	HD8	Polen	MRS A	30°C - 35°C
5.	HD9	Polen	NA	30°C - 35°C
6.	HD10	Polen	NA	30°C - 35°C
7.	HD11	Arı ekmeği	NA	30°C - 35°C
8.	HD12	Arı ekmeği	MRS A	30°C - 35°C
9.	HD13	Arı bağırsak	MRS A	30°C - 35°C
10.	HD18	Pupa	NA	30°C - 35°C
11.	HD20	Bal	NA	30°C - 35°C

Çalışmanın sonucunda elde edilen birinci örnekleme ait bakteriyel izolatlar Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



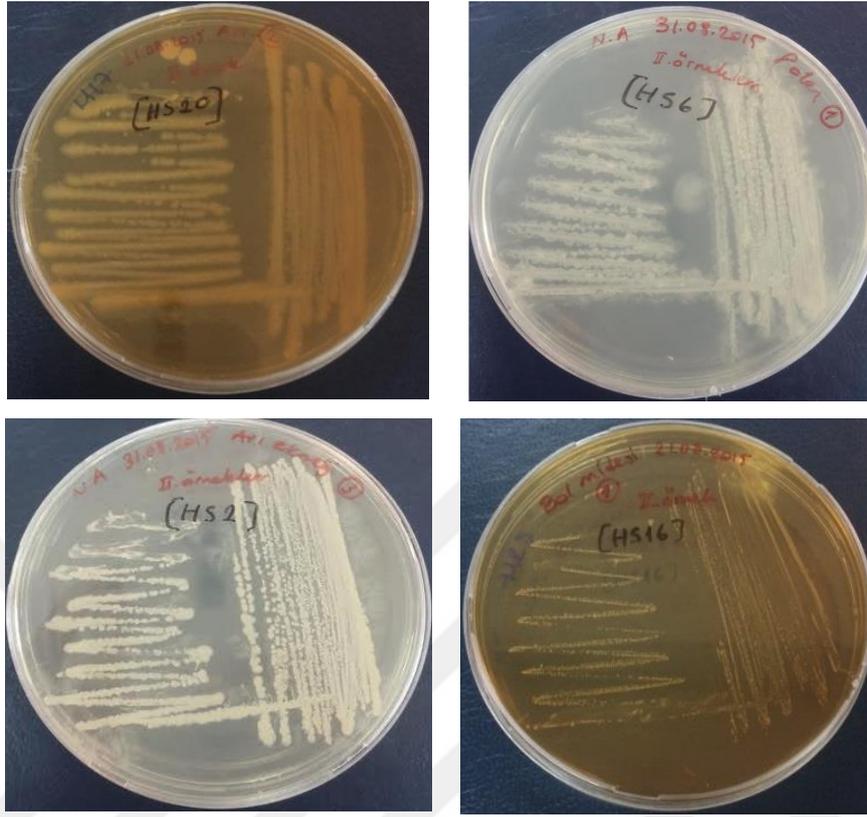
Şekil 3.2. Bazı bakteriyel izolatlar (1. Örneklem).

Çalışmanın sonucunda elde edilen ikinci örnekleme ait bakteriyel izolatlar ise Çizelge 3.2 gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Arı ve arı ürünlerinden elde edilen bakteriyel izolatlar (2. Örneklem).

No	İzolat	Kaynak	Besiyeri	Büyüme Sıcaklığı
1.	HS1	Arı ekmeği	NA	30°C - 35°C
2.	HS2	Arı ekmeği	NA	30°C - 35°C
3.	HS3	Arı ekmeği	NA	30°C - 35°C
4.	HS4	Arı ekmeği	NA	30°C - 35°C
5.	HS5	Arı ekmeği	M17	30°C - 35°C
6.	HS6	Polen	NA	30°C - 35°C
7.	HS10	Polen	M17	30°C - 35°C
8.	HS11	Polen	M17	30°C - 35°C
9.	HS19	Arı	M17	30°C - 35°C
10.	HS20	Arı	M17	30°C - 35°C

Çalışmanın sonucunda elde edilen ikinci örnekleme ait bakteriyal izolatlar Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Bazı bakteriyal izolatlar (2. Örnekleme).

Yapılan çalışmalar sonucunda; baldan; üç bakteri izolasyonu, polenden; yedi bakteri izolasyonu, arı ekmeğinden; yedi bakteri izolasyonu, arıdan; üç bakteri izolasyonu ve pupadan; bir bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Arı sütünden iki örnekleme de hiçbir bakteri izolasyonu gerçekleştirilmemiştir.

### 3.3. BAKTERİYAL SAF KÜLTÜRLERİN HAZIRLANMASI VE STOKLANMASI

Arı ve ürünlerinden elde edilen saf bakteriyal izolatlar (21 tane) HD serisi ve HS serisi olmak üzere isimlendirilerek sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere % 20'lik steril gliserol içerikli besiyerinde -20 °C'de stoklanmıştır.

### 3.4. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ BELİRLENMESİ

İlk olarak izole edilen 21 bakteri morfolojik özellikleri, gram özellikleri ve biyokimyasal özellikleri değerlendirilmek koşuluyla tanımlanmaya başlanmıştır. Bu çalışma sonucunda, yedi izolatın Gram (-), ondört izolatın Gram (+) özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bakteriye izolatların koloni özellikleri Çizelge 3.3 ve 3.4'te tanımlanmıştır.

Çizelge 3.3. Bakteriye izolatların morfolojik özellikleri (1. Örneklem).

İzolat	Gram Özellikleri	Koloni morfolojisi
HD4	G (+)	Krem, düzgün halkasal koloni
HD5	G (+)	Açık sarı, düzgün halkasal koloni
HD6	G (+)	Krem, düzgün halkasal koloni
HD8	G (+)	Koyu krem, düzgün halkasal koloni
HD9	G (+)	Koyu krem, düzgün halkasal koloni
HD10	G (-)	Şeffaf sarı, düzgün halkasal koloni
HD11	G (-)	Şeffaf sarı, düzgün halkasal koloni
HD12	G (+)	Krem, düzgün halkasal koloni
HD13	G (-)	Şeffaf krem, düzgün halkasal koloni
HD18	G (+)	Krem, düzgün halkasal koloni
HD20	G (+)	Şeffaf sarı, düzgün halkasal koloni

Çizelge 3.4. Bakteriye izolatların morfolojik özellikleri (2. Örneklem).

İzolat	Gram özellikleri	Koloni morfolojisi
HS1	G (+)	Krem, pürüklü yüzey, düzgün halkasal koloni
HS2	G (+)	Krem, düzgün halkasal koloni
HS3	G (+)	Şeffaf krem, düzgün halkasal koloni
HS4	G (+)	Koyu krem, düzgün halkasal koloni
HS5	G (+)	Açık sarı, düzgün halkasal koloni
HS6	G (+)	Krem, filamentli koloni
HS10	G (-)	Açık sarı, düzgün halkasal koloni
HS11	G (-)	Açık sarı, dağınık koloni
HS19	G (-)	Şeffaf krem, düzgün halkasal koloni
HS20	G (-)	Şeffaf krem, düzgün halkasal koloni

### 3.5. BAKTERİYAL İZOLATLARIN FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada bakteriye izolatların en iyi gelişim gösterdiği sıcaklık, pH ve tuz aralığı belirlenmiştir. Bu sayede elde edilen bakteriye izolatların en iyi gelişim gösterdiği en doğru ortamda büyütülmesi sağlanmıştır. Aynı zamanda bu çalışmadan elde edilen

sonuçlar bakteri tanımlama çalışmalarında da diğer özellikleri ile birlikte değerlendirilmiş ve bakteriyal kimliklendirilmede yardımcı veriler olmuştur.

### 3.5.1. Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi

Bu alışma sonucunda, 21 bakteriyal izolatın tamamının 4 C’de büyümediği gözlenmiştir. HS1, HS2, HS3, HS4, HS5, HS10, HS11, HS19, HS20, HD4, HD5, HD6, HD9, HD10, HD11, HD12, HD13 nolu izolatların optimum büyüme sıcaklıklarının 35 C olduğu tespit edilmiştir. HS6, HD18, HD20 nolu bakterilerinin 40 C’de byebilmesi daha yksek sıcaklıklarında denenmesine sebep olmuş ve bu  bakterinin 45 C ve 50 C sıcaklıklarına toleranslı oldukları tespit edilmiştir. Bakteriyal izolatların bym sıcaklıkları izelge 3.5’te gsterilmiştir.

izelge 3.5. Bakteriyel izolatların byme sıcaklıkları.

İzolat	Sıcaklık (C)				
	4	25	30	35	40
HS1	-	++	++	++++	++
HS2	-	+	++	++++	+++
HS3	-	++	++	++++	++
HS4	-	+	++	++++	+++
HS5	-	++	++	++++	-
HS6	-	++	+++	++++	++++
HS10	-	++	+++	++++	+
HS11	-	++	+++	++++	+
HS19	-	+	++	++++	+++
HS20	-	++	++	++++	+++
HD4	-	+	++	++++	+++
HD5	-	+	+++	++++	++
HD6	-	+	++	++++	+++
HD8	-	+	++	++	-
HD9	-	+	++	++++	+++
HD10	-	+	++	++++	-
HD11	-	+	+	++++	-
HD12	-	+	++	++++	++
HD13	-	+	++	++++	+++
HD18	-	+	++	+++	++++
HD20	-	+	++	+++	++++

-; büyüme yok, +; büyüme, ++; az büyüme, +++; iyi büyüme, ++++; çok iyi büyüme

### 3.5.2. pH zelliklerinin Belirlenmesi

Bu alışma sonucunda, 21 bakteriyal izolatın tamamının pH 3.0’de büyümediği gözlenmiştir. HS4, HS10, HS19, HS20, HD18, HD10, HD11, HD5 nolu izolatlar için pH 5.0’ın gelişimleri için en uygun pH olduğu tespit edilmiştir. HD20, HD13, HD12, HD8, HD6, HD4, HS6, HS3, HS1 nolu izolatlar için pH 7.0’ın gelişimleri için en uygun pH

olduğu tespit edilmiştir. HS5, HD9 ve HS11 nolu izolatlar için ise pH 9.0'ın gelişimleri için en uygun pH olduğu tespit edilmiştir. HS20, HD4, HD6, HD8, HD9 ve HD12 pH 11.0'e dayanıklılık gösterdiği Çizelge 3.6'da tespit edilmiştir.

Çizelge 3.6. Bakteriyel izolatların pH özellikleri.

İzolat	pH				
	3	5	7	9	11
HS1	-	+	+++	+	-
HS2	-	++	++	++	-
HS3	-	+	+++	++	-
HS4	-	+++	++	++	-
HS5	-	-	++	+++	-
HS6	-	++	+++	+	-
HS10	-	+++	++	+	-
HS11	-	+	++	+++	-
HS19	-	+++	++	+	-
HS20	-	+++	++	++	+
HD4	-	+	+++	++	+
HD5	-	+++	++	+	-
HD6	-	+	+++	++	+
HD8	-	+	+++	++	+
HD9	-	-	++	+++	+
HD10	-	+++	++	++	-
HD11	-	+++	++	++	-
HD12	-	+	+++	++	+
HD13	-	++	+++	++	-
HD18	-	+++	++	+	-
HD20	-	++	+++	++	-

-; büyüme yok, +; büyüme, ++; az büyüme, +++; iyi büyüme

### 3.5.3. NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu çalışma sonucunda HS2, HD20, HD9, HD5 nolu izolatların % 2-12 arasındaki tüm tuz konsantrasyonlarına karşı dayanıklı oldukları belirlenmiştir. HS6 nolu izolatın % 7-10 arasındaki tuz konsantrasyonunda en iyi şekilde büyüdüğü tespit edildi. HD4, HD6, HD8 ve HD12 nolu izolatların % 2'lik tuza dayanıklı ancak daha fazla tuz konsantrasyonlarına dayanıklı olmadıkları belirlenmiştir. HS3 nolu izolatın % 2-4, HS4 nolu izolatın % 2-10, HS5 nolu izolatın % 2-4, HS1, HS10, HS11, HS19, HS20, HD10, HD11, HD13 ve HD18 nolu izolatların % 2-7 aralıklarındaki tuza dayanıklı oldukları Çizelge 3.7'de tespit edilmiştir.

Çizelge 3.7. Bakteriyeel izolatların NaCl özellikleri.

İzolot	NaCl Konsantrasyon (%)				
	2	4	7	10	12
HS1	++++	+++	+	-	-
HS2	++++	+++	++	++	+
HS3	+++	++	-	-	-
HS4	+	++	+++	++	-
HS5	++	+	-	-	-
HS6	+	++	+++	+++	+
HS10	+	++	+	-	-
HS11	++	+	+	-	-
HS19	+++	++	+	-	-
HS20	+++	++	++	+	-
HD4	+	-	-	-	-
HD5	+++++	++++	+++	++	+
HD6	+	-	-	-	-
HD8	++	+	-	-	-
HD9	++	++	++	++	++
HD10	+++	+++	+++	-	-
HD11	+++	+++	+++	-	-
HD12	++	+	-	-	-
HD13	+++++	++++	+++	-	-
HD18	+++	+++	+++	-	-
HD20	+++++	++++	+++	++	+

-; büyüme yok, +; büyüme, ++; az büyüme, +++; iyi büyüme, ++++; çok iyi büyüme

### 3.6. BAKTERİYAL İZOLATLARIN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışma sonucunda bakteriyeel izolatların bazı temel biyokimyasal özellikleri aydınlatılmıştır. Bu biyokimyasal özellikler içerisinde triptofanaz, amilaz ve katalaz enzim üretme yetenekleri tespit edilmiştir.

Elde edilen veriler 21 bakteriyeel izolatın kimliklendirilme çalışmalarında kullanılmıştır. HD13 nolu izolat dışında diğer bakteriyeel izolatların triptofanaz enzimi üretme yeteneğine sahip olmadığı tespit edilmiştir. HD4, HD6, HD8 ve HD12 nolu izolatların katalaz enzimi üretme yeteneğine sahip olmadığı, diğerlerinin ise üretebildikleri tespit edilmiştir. HS2, HS4, HS19, HD18, HD20, HD4, HD6, HD8 ve HD12 nolu izolatların amilaz enzimi üretme yeteneklerinin olmadığı ancak diğer izolatların üretebildikleri Çizelge 3.8’de tespit edilmiştir.

Çizelge 3.8. Bakteriyel izolatların bazı biyokimyasal özellikleri.

İzolat	Triptofanaz	Amilaz	Katalaz
HS1	-	+	+
HS2	-	-	+
HS3	-	+	+
HS4	-	-	+
HS5	-	+	+
HS6	-	+	+
HS10	-	+	+
HS11	-	+	+
HS20	-	+	+
HS19	-	-	+
HD4	-	-	-
HD5	-	+	+
HD6	-	-	-
HD8	-	-	-
HD9	-	+	+
HD10	-	+	+
HD11	-	+	+
HD12	-	-	-
HD13	+	+	+
HD18	-	-	+
HD20	-	-	+

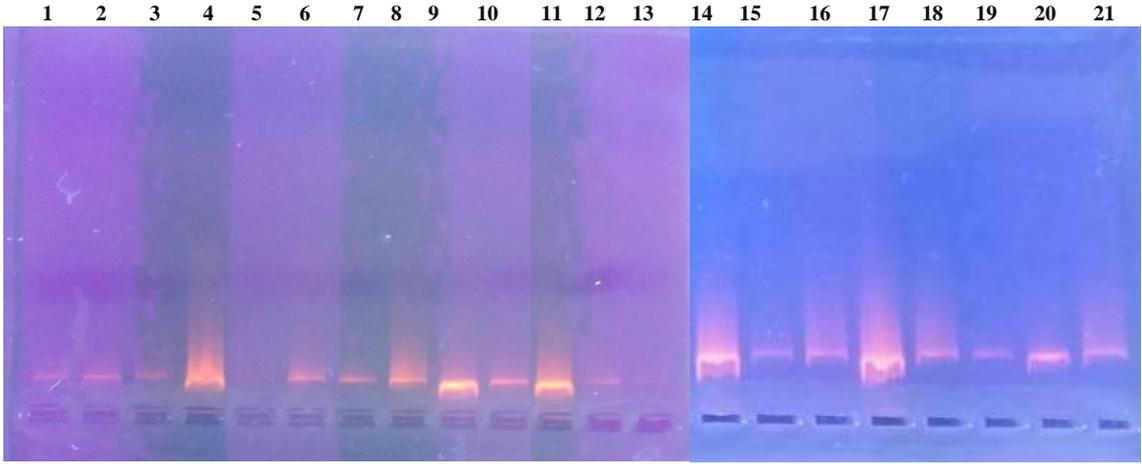
-; enzim üretme yeteneği yok, +; enzim üretme yeteneği var.

### 3.7. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada bakteriyel izolatların tanımlanmasında kullanılacak 16s rDNA gen sekans analizi yapılmıştır. Bu analizin yapılabilmesi için öncelikle izolatların genomik DNA'ları izole edilmiştir. İzolatların genomik DNA'ları izole edildikten sonra PCR işlemi için korunan 16S rRNA'yı kodlayan DNA fragmenti PCR ile çoğaltılmış ve elde edilen dizinin sırası sekans analizi ile belirlenmiştir.

#### 3.7.1. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu

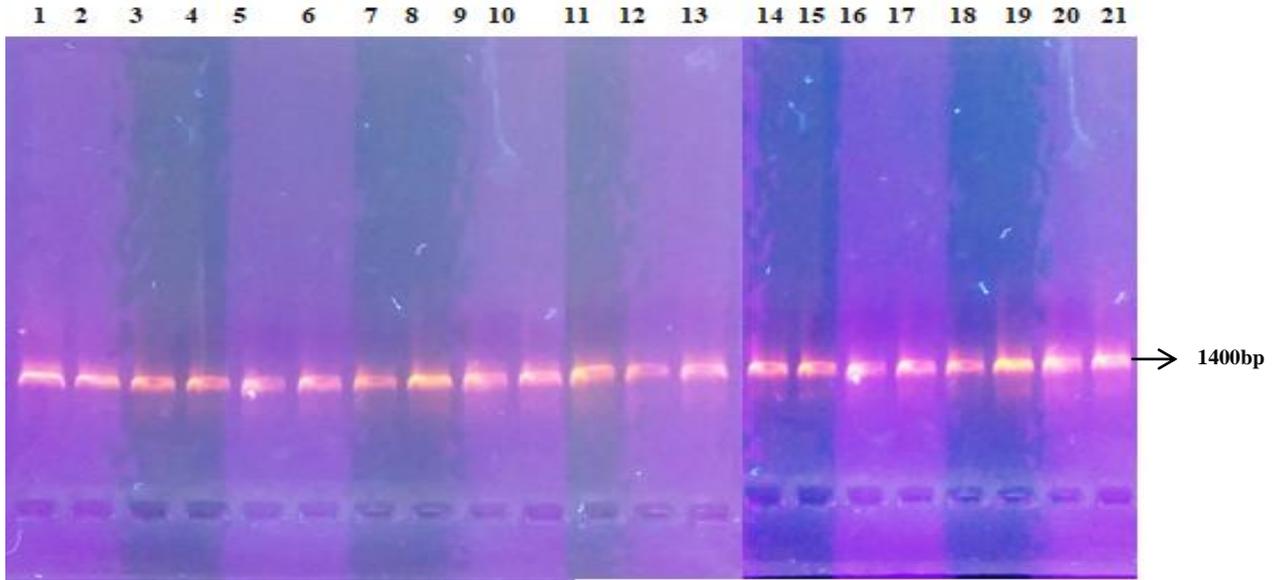
21 izolatın genomik DNA' sını izole edilmiş ve agaroz jel elektroforezinde yürütülerek hem varlığı hem de saflık oranını Şekil 3.4' te gösterilmiştir. İzolatların DNA profilleri sırasıyla; 1. HS1, 2. HS2, 3. HS3, 4. HS4, 5. HS5, 6. HS6, 7. HS10, 8. HS11, 9. HS20, 10. HS19, 11. HD4, 12. HD5, 13. HD6, 14. HD8, 15. HD9, 16. HD10, 17. HD11, 18. HD12, 19.HD13, 20.HD18, 21. HD20 şeklinde numaralandırılmıştır.



Şekil 3.4. İzolatların DNA profilleri.

### 3.7.2. İzolatların 16S rDNA Gen Analizler

21 izolatın elde edilen genomik DNA'sı kullanılarak PCR yapılmıştır. Yaklaşık 1400 bp'lik bir fragment çoğaltılmış ve yine sonuçlar agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. Bu sayede hem fragmentin varlığı hem de fragment büyüklüğü tespit edilmiş olup Şekil 3.5'te gösterilmiştir. İzolatların rDNA PCR profilleri sırasıyla; 1. HS1, 2. HS2, 3. HS3, 4. HS4, 5. HS5, 6. HS6, 7. HS10, 8. HS11, 9. HS20, 10. HS19, 11. HD4, 12. HD5, 13. HD6, 14. HD8, 15. HD9, 16. HD10, 17. HD11, 18. HD12, 19. HD13, 20. HD18, 21. HD20 şeklinde numaralanmıştır.



Şekil 3.5. İzolatların 16S rDNA PCR profilleri.

### 3.7.3. Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin Analizi

PCR çalışması neticesinde elde edilen 1400 bp fragmentin dizileme analizi sonrasında elde edilen DNA dizilerinin üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde, toplamda 21 izolatin moleküler tanımlaması yapılmıştır. Buna göre *Bacillus* cinsine ait altı izolat (HS1, HS2, HS3, HS4, HS6 ve HD18), *Lactobacillus* cinsine ait üç izolat (HD4, HD6 ve HD12), *Pantoea* cinsine ait üç izolat (HD10, HD11 ve HS11) ve *Staphylococcus* cinsine ait üç izolat (HD5, HD9 ve HD20), *Enterobacter* cinsine ait iki izolat (HS19 ve HS20), *Fructobacillus* cinsine ait bir izolat (HD8), *Pluralibacter* cinsine ait bir izolat (HS10), *Paenibacillus* cinsine ait bir izolat (HS5), ve *Escherichia* cinsine ait bir izolat (HD13) tanımlanmış olup Çizelge 3.9’da gösterilmiştir

Yapılan değerlendirmeler sonucunda HS6, HD5 ve HD11 nolu izolatların % 98 oranında yukarıda belirtilen cinslere benzediği, HD9 nolu izolatin % 100 oranında yukarıda belirtilen cinse ait olduğu ve diğer tüm izolatların % 99 oranında belirtilen cinslere ait oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 3.9. İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.

İzolat	Accession No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HS1	KJ948667.1	<i>Bacillus cereus</i> strain AY01	99
	KU601308.1	<i>bacillus cereus</i> strain N-2-2-2	99
	KF935650.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain NBIN-863	99
	FJ210466.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain Zhou-1	99
	KT183546.1	<i>Bacillus</i> sp. D1SS250	99
	KF933614.1	<i>Bacillus cereus</i> strain BDH19	99
	HQ639025.1	<i>Bacillus</i> sp. CDQ	99
	JF899264.1	<i>Bacillus cereus</i> strain Hs2-17	99
	KX098463.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain Cu47	99
	KC345027.1	<i>Bacillus cereus</i> strain LB61	99
	KC119110.1	<i>Bacillus</i> sp. CMJ2-8	99
	HQ219921.1	<i>Bacillus</i> sp. ATY2	99
	KT851525.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain TS124	99
	KX959981.1	<i>Bacillus toyonensis</i> strain Se8	99
	KU901700.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain RH1	99
	KX953869.1	<i>Bacillus subtilis</i> strain Y2	99
	HS2	JQ780092.1	<i>Bacillus pumilus</i> strain MVIT06
JF411308.1		<i>Bacillus safensis</i> strain KM8	99
EU311209.1		<i>Bacillus pumilus</i> strain zyj1-3	99
KU986705.1		<i>Bacillus</i> sp. strain SZ170	99
JF746161.1		<i>Bacillus pumilus</i> strain SY28	99
HM027879.1		<i>Bacillus pumilus</i> strain MW-1	99
JN210909.1		<i>Bacillus pumilus</i> strain WS31	99
FJ763643.1		<i>Bacillus pumilus</i> strain X8	99
KR999923.1		<i>Bacillus safensis</i> strain C7DMVR	99
KR140173.1		<i>Bacillus safensis</i> strain 15DMVR	99
JX849017.1		<i>Bacillus</i> sp. L70	99
JX566586.1		<i>Bacillus</i> sp. 3021	99
JF798363.1		<i>Bacillus safensis</i> strain L10-1	99
AB301018.1		<i>Bacillus pumilus</i> strain: GH18	99

Çizelge 3.9. (devam). İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.

İzolat	Accession No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HS3	KM114617.1 KJ009486.1 KR063204.1 KM114620.1 JF738148.1 KU877653.1 KX035026.1 KU179332.1 KJ586282.1 KJ756330.1	<i>Bacillus</i> sp. ZJHF03 <i>Bacillus anthracis</i> strain 2-Sj-2-2-26-M <i>Bacillus</i> sp. BS24 <i>Bacillus</i> sp. ZJHG05 <i>Bacillus</i> sp. PSM 9 <i>Bacillus cereus</i> strain WJB94 <i>Bacillus toyonensis</i> strain CSR_25 <i>Bacillus cereus</i> strain L17 <i>Bacillus cereus</i> strain X9 <i>Bacillus cereus</i> strain SWFU02	99 99 99 99 99 99 99 99 99 99
HS4	JX566586.1 JX566563.1 FJ641028.1 FJ641024.1 AB301018.1 DQ275671.1 KT211482.1 KR780437.1 KJ944095.1 KJ210640.1 KF463141.1 JX847124.1 JF411308.1 FN397514.1 KX809651.1 KX131148.1	<i>Bacillus</i> sp. 3021 <i>Bacillus</i> sp. 2086 <i>Bacillus pumilus</i> strain IMAUB1015 <i>Bacillus pumilus</i> strain IMAUB1010 <i>Bacillus pumilus</i> strain GH18 <i>Bacillus pumilus</i> strain HBP8 <i>Bacillus safensis</i> strain RAS2-10 <i>Bacillus pumilus</i> strain CR33 <i>Bacillus</i> sp. M406 <i>Bacillus safensis</i> strain WM-261 <i>Bacillus pumilus</i> strain T831-1 <i>Bacillus pumilus</i> strain LZBP-18 <i>Bacillus safensis</i> strain KM8 <i>Bacillus pumilus</i> partial 2-11AIA <i>Bacillus safensis</i> strain ADU20 <i>Bacillus pumilus</i> strain bcpca-qj-3	99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99
HS5	HM233974.1 KT461879.1 JX402418.10 HQ224613.1 HM566718.1 JX010966.1 NR044428.1 KT933220.1 LN889997.1 KF150330.1 AB289610.1 AB045103.1 AY509234.1	<i>Paenibacillus</i> sp. IHB B 2283 <i>Paenibacillus</i> sp. A59 <i>Paenibacillus</i> sp. SG3 <i>Paenibacillus taichungensis</i> strain SGB02 <i>Bacillus</i> sp. SGE20 <i>Paenibacillus taichungensis</i> strain B2 <i>Paenibacillus taichungensis</i> strain BCRC 17757 <i>Paenibacillus taichungensis</i> strain 4906 <i>Paenibacillus taichungensis</i> strain L1 <i>Paenibacillus taichungensis</i> strain JN1 <i>Paenibacillus</i> sp. Ch380 <i>Bacillus</i> sp. HSCC <i>Paenibacillus amylolyticus</i> strain S145	99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99
HS6	KC441774.1 KX447652.1 KX454024.1 KU601289.1 KM598338.1 KM598337.1 KM598336.1 KT318790.1 KT720275.1 KT719874.1 KT719817.1 KT719816.1 KT719507.1	<i>Bacillus licheniformis</i> strain D39 <i>Bacillus licheniformis</i> strain BS11 <i>Bacillus</i> sp. strain 252.1 <i>Bacillus licheniformis</i> strain Y19 <i>Bacillus licheniformis</i> strain FI3 <i>Bacillus licheniformis</i> strain FI2 <i>Bacillus licheniformis</i> strain FI1 <i>Bacillus licheniformis</i> strain FI44 <i>Bacillus licheniformis</i> strain V3.3 <i>Bacillus licheniformis</i> strain MSL_3033 <i>Bacillus licheniformis</i> strain CF13_M.1.2 <i>Bacillus licheniformis</i> strain CF13_M.1.1 <i>Bacillus licheniformis</i> strain MER_TA_100	98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98

Çizelge 3.9. (devam). İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.

İzolat	Accession No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HS10	LN875036.1 EF059884.1 AY395008.1 KR905684.1 KP318472.1 KX156583.1 KF360068.1 KF360063.1 JQ726698.1	<i>Pluralibacter pyrinus</i> strain DSM12410T <i>Pluralibacter pyrinus</i> strain E872 <i>Enterobacter</i> sp. NAB3a <i>Enterobacter xiangfangensis</i> strain Ps21 <i>Enterobacter hormaechei</i> strain DUCC3725 <i>Enterobacter cloacae</i> strain 41 <i>Enterobacter</i> sp. BSP6 <i>Enterobacter</i> sp. BSP12 <i>Enterobacter</i> sp. JJDP1	99 99 99 99 99 99 99 99 99
HS11	JQ038223.1 KC139438.1 KC139445.1 KU189725.1 JQ038224.1 JQ446440.1 FN178362.1 KJ410180.1 HM008959.1 HM008958.1 JN644500.1	<i>Pantoea</i> sp. MS-40 <i>Pantoea eucalypti</i> strain h-21 <i>Pantoea eucalypti</i> strain B-6 <i>Pantoea hericii</i> strain JZB 2120024 <i>Pantoea</i> sp. MS-47 <i>Pantoea eucalypti</i> strain Y5 <i>Pantoea ananatis</i> strain OS-B1 <i>Pantoea eucalypti</i> strain B36 <i>Pantoea eucalypti</i> strain M91 <i>Pantoea</i> sp. M89 <i>Pantoea anthophila</i> strain M19_2C	99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99
HS19	EU545406.1 AB244288.1 HG003647.1 KR189822.1 KF360066.1 KF015738.1 Y17665.1 LC089714.1 JN020643.1	<i>Enterobacter</i> sp. XW122 <i>Enterobacter cloacae</i> strain A1-4 <i>Enterobacter cloacae</i> strain IRQBAS2 <i>Enterobacter</i> sp. UIWRF0061 <i>Enterobacter asburiae</i> strain BSP4 <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> strain A2014-212 <i>Enterobacter</i> sp. Gg10	99 99 99 99 99 99 99 99 99
HS20	KR189822.1 KF015738.1 Y17665.1 LC089714.1 KJ437476.1 AB898032.1 HE662664.1 HQ407292.1 KX266260.1 KX156583.1 KM885186.1	<i>Enterobacter</i> sp. UIWRF0061 <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Enterobacter cloacae</i> isolate Nr. 3 <i>Enterobacter cloacae</i> strain A2014-212 <i>Enterobacter hormaechei</i> strain VIT-SNSJ <i>Enterobacter hormaechei</i> strain: Nuan_5 <i>Enterobacter</i> sp. strain S60 <i>Enterobacter cancerogenus</i> strain M119 <i>Enterobacter cloacae</i> strain UKME02 <i>Enterobacter cloacae</i> strain 41 <i>Enterobacter cloacae</i> strain BS12	99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99
HD4	AB777210.1 AB559822.1 AB559821.1 NR026404.1 AB559820.1 JQ009336.1	<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain DAT822 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC 0778 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC 0777 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain YH-15 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC 0776 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain 100-1	99 99 99 99 99 99

Çizelge 3.9. (devam). İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.

İzolat	Accession No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HD5	KU051664.1	<i>Staphylococcus</i> sp. CKT4K	98
	HM130543.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain Sp-12	98
	EU807751.1	<i>Staphylococcus</i> sp. VITS-3	98
	KT003275.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain HN-35	98
	KF048937.1	<i>Staphylococcus</i> sp. Ellike E5	98
	FR839669.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> isolate HF2011	98
	HQ831388.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain Na59	98
	KU714597.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain JCR-13	98
	KT719948.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain RA_14B.1	98
	HQ694734.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain FUA2075	98
	LN998066.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain mammoth-17	98
	HD6	AB777210.1	<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain DAT822
JQ009336.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain 100-1	99
AB559822.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC0778	99
AB559821.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC0777	99
NR026404.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain YH-15	99
AB559820.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC0776	99
KF600369.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain G7_8_4MO2	99
KF600355.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain G7_7_3MO2	99
KF600249.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain G5_4_3MCO2	99
KF600200.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain G5_13_1MO2	99
KF599355.1		<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain H14_6_3TCO2	99
HD8		LC062898.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain JCM 1119
	NR113579.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain NBRC3516	99
	AB777209.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain DAT821	99
	NR025154.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain KCTC3544	99
	KF598870.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain 3230O2	99
	KF600319.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain G7_3_5CCO2	99
	KF599436.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain H19_9_1BCO2	99
	KF600560.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain 3433CO2	99
	KF599252.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain H8_8_2MCO2	99
	KF600544.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain 3411O2	99
	KF600546.1	<i>Fructobacillus fructosus</i> strain 3413O2	99
	HD9	KT947109.1	<i>Staphylococcus lentus</i> strain SZ1
KM010146.1		<i>Staphylococcus lentus</i> strain muzyellow	100
KM378611.1		<i>Staphylococcus lentus</i> strain BGZ-7	100
KC951997.1		<i>Staphylococcus</i> sp. SC1	100
EF528296.1		<i>Staphylococcus lentus</i> strain CICCHLJ Q29	100
KM010139.1		<i>Staphylococcus lentus</i> strain muzorange	100
KC172001.1		<i>Staphylococcus lentus</i> strain JF25	100
KT260746.1		<i>Staphylococcus lentus</i> strain RCB534	99
KT260744.1		<i>Staphylococcus lentus</i> strain RCB532	99
HD10		KT765839.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain CZ-BHG003
	JX077098.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain +Y11	99
	FJ756356.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain EhY112-9/86	99
	FJ357815.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain EL107	99
	EF050808.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain PGHL1	99
	KT075213.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain YXA	99
	KC178592.1	<i>Pantoea ananatis</i> strain Cl-18	99
	JX113240.1	<i>Pantoea vagans</i> strain Y31	99
	AF130928.2	<i>Enterobacter agglomerans</i> strain A58	99
	AF130907.1	<i>Enterobacter agglomerans</i> strain A29	99
	KF740576.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain Xg7	99
	KT075163.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain GSC	99
	KM235113.1	<i>Pantoea vagans</i> strain A15	99

Çizelge 3.9. (devam). İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.

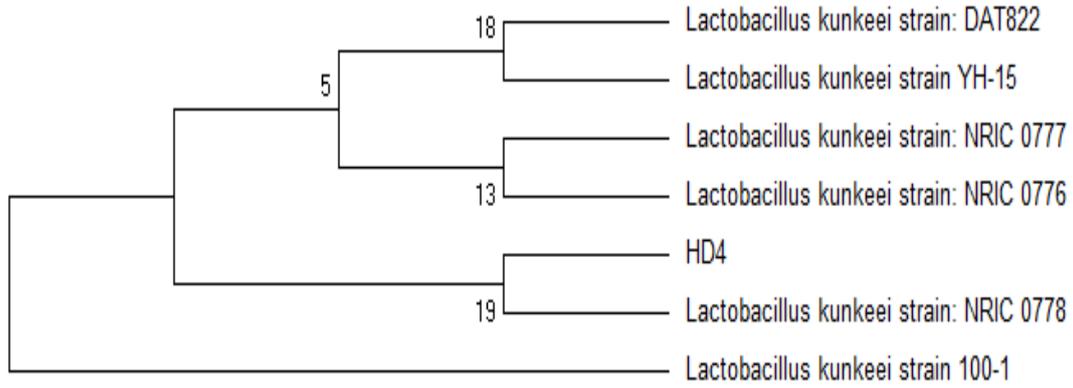
İzolat	Accesion No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HD11	FJ357815.1 EF050808.1 EF050807.1 KT075192.1 KT075196.1 FJ756347.1 KJ888105.1 KT075173.1 KT075172.1 KC178592.1 FJ999950.1 KT375340.1 JX077098.1 KT075189.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain EL107 <i>Pantoea agglomerans</i> strain PGHL1 <i>Pantoea agglomerans</i> strain PGHL22 <i>Pantoea agglomerans</i> strain SSD <i>Pantoea agglomerans</i> strain SSH <i>Pantoea agglomerans</i> strain HY5080 <i>Pantoea</i> sp. Be-5 <i>Pantoea agglomerans</i> strain NSH <i>Pantoea agglomerans</i> strain NSG <i>Pantoea ananatis</i> strain CI-18 <i>Pantoea agglomerans</i> strain EQH21 <i>Pantoea vagans</i> strain A17 <i>Pantoea agglomerans</i> strain Y11 <i>Pantoea agglomerans</i> strain SSA	98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98 98
HD12	AB777210.1 AB559822.1 AB559821.1 NR026404.1 AB559820.1 JQ009336.1	<i>Lactobacillus kunkeei</i> strain DAT822 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC 0778 <i>Lactobacillus kunkeei</i> NRIC 0777 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain YH-15 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain NRIC 0776 <i>Lactobacillus kunkeei</i> strain 100-1	99 99 99 99 99 99
HD13	KJ585689.1 KU323663.1 KR189930.1 KU156697.1 JQ907530.1 KU870315.1 KJ585684.1 KR148984.1 KR189636.1 KJ477005.1 KF768069.1 HM028651.1	<i>Escherichia coli</i> strain VTM4R8 <i>Escherichia coli</i> strain FMDD14 <i>Escherichia</i> sp. UIWRF0846 <i>Escherichia coli</i> strain Gut20 <i>Escherichia coli</i> strain6 <i>Escherichia coli</i> strainB7 <i>Escherichia coli</i> strainVTM4R3 <i>Escherichia</i> sp. CH-34 <i>Escherichia</i> sp. UIWRF0419 <i>Escherichia coli</i> strainE191-4 <i>Escherichia coli</i> strainKL48 <i>Escherichia</i> sp. IL_B13	99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99
HD18	KY174336.1 KU955620.1 KU986705.1 KX809651.1 KX108830.1 KX530779.1 KX242455.1 KR780583.1 LN896324.1 KT720205.1 KT719773.1 KT008286.1 KR709243.1 KR140184.1	<i>Bacillus safensis</i> strain NBRC 100820 <i>Bacillus safensis</i> strain FJAT-44643 <i>Bacillus</i> sp. strain SZ170 <i>Bacillus safensis</i> strain ADU201 <i>Bacillus</i> sp. BAB 4378 <i>Bacillus safensis</i> strain RTAE38 <i>Bacillus safensis</i> strain EC5 <i>Bacillus pumilus</i> strain UBT3 <i>Bacillus safensis</i> strain A1 <i>Bacillus invictae</i> strain M8.25 <i>Bacillus invictae</i> strain MER_192A <i>Bacillus safensis</i> strain SB-13 <i>Bacillus cereus</i> strain UBT4 <i>Bacillus methylotrophicus</i> strain 22DMVR	99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99 99

Çizelge 3.9. (devam). İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.

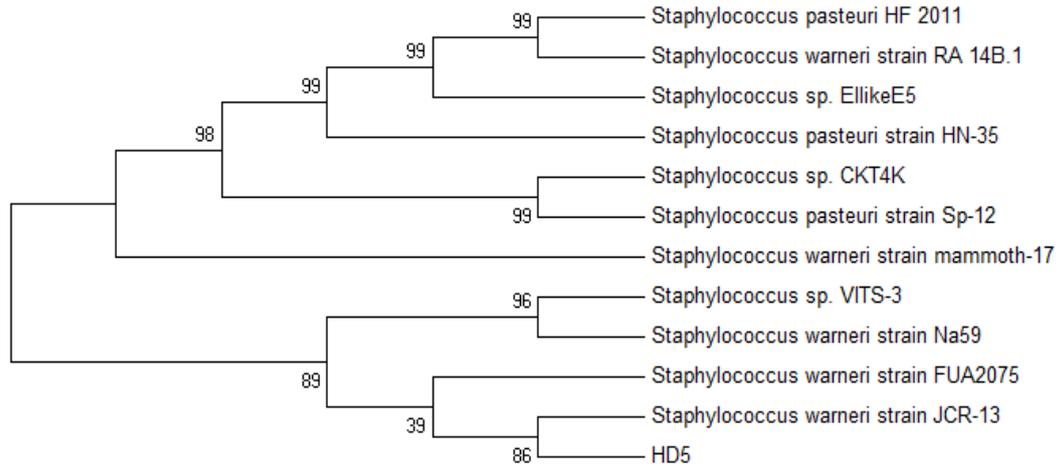
İzolat	Accession No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HD20	HM130543.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain Sp-12	99
	KR822475.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain PF5-18	99
	KX826983.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain M2/351	99
	KR809415.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain 17J	99
	KU921087.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain 33cp	99
	LN998066.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain mammoth-17	99
	KP171185.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain TS-82	99
	LC035464.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain SH13	99
	KM660697.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain MGH119	99
	KF779128.1	<i>Staphylococcus</i> sp. DVRSG-2	99
	KF761522.1	<i>Staphylococcus</i> sp. PSB-21	99
	JN257087.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain Ag9	99
	HQ407248.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain G72	99
	HQ259721.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain LCR12	99
	HM218325.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain NM71-3	99

#### 3.7.4. Filogenetik Ağaç Oluşturulması

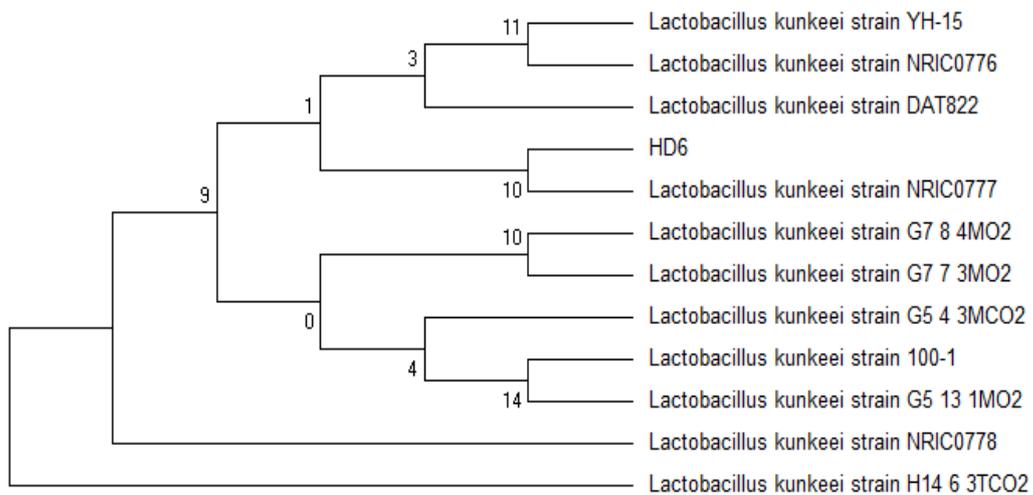
Elde edilen izolatların filogenetik analizleri yüksek benzerlik gösterdikleri referans türler ile kıyaslanması ile yapılmıştır. Bu analiz elde edilen izolatların tür boyutunda kimliklendirilmesinde kullanılmıştır. Elde edilen izolatların filogenetik ağaçları oluşturulmuştur. Oluşturulan filogenetik ağaçlar Şekil 3.6 ile 3.26 arasında gösterilmiştir. Filogenetik analizler sonucunda; baldan izole edilen izolatların *Lactobacillus kunkeei* (HD4) ve *Staphylococcus warneri* (HD5 ve HD20), polenden izole edilen izolatların *Lactobacillus kunkeei* (HD6), *Fructobacillus fructosus* (HD8), *Staphylococcus lentus* (HD9), *Pantoea vagans* (HD10), *Bacillus licheniformis* (HS6), *Pluralibacter pyrinus* (HS10) ve *Pantoea anthophila* (HS11), arı ekmeğinden izole edilen izolatların *Pantoea agglomerans* (HD11), *Lactobacillus kunkeei* (HD12), *Bacillus cereus* (HS1 ve HS3), *Bacillus safensis* (HS2 ve HS4) ve *Paenibacillus taichungensis* (HS5), arıdan izole edilen izolatların *Bacillus safensis* (HD18), *Escherichia coli* (HD13) ve *Enterobacter cloacae* (HS19 ve HS20) oldukları tespit edilmiştir.



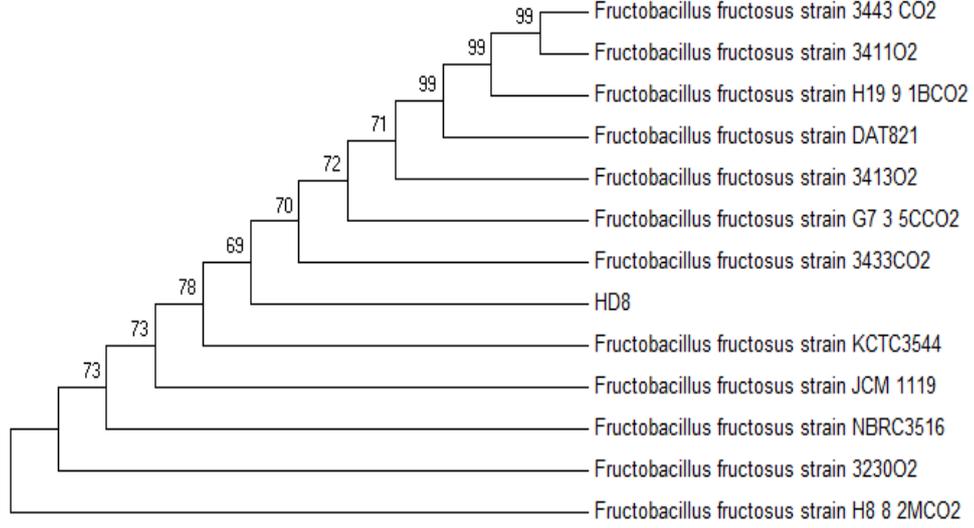
Şekil 3.6. HD4 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



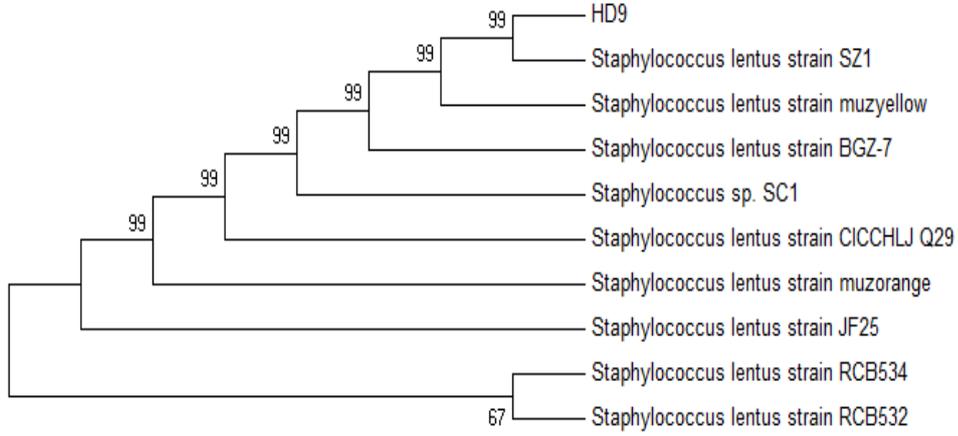
Şekil 3.7. HD5 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



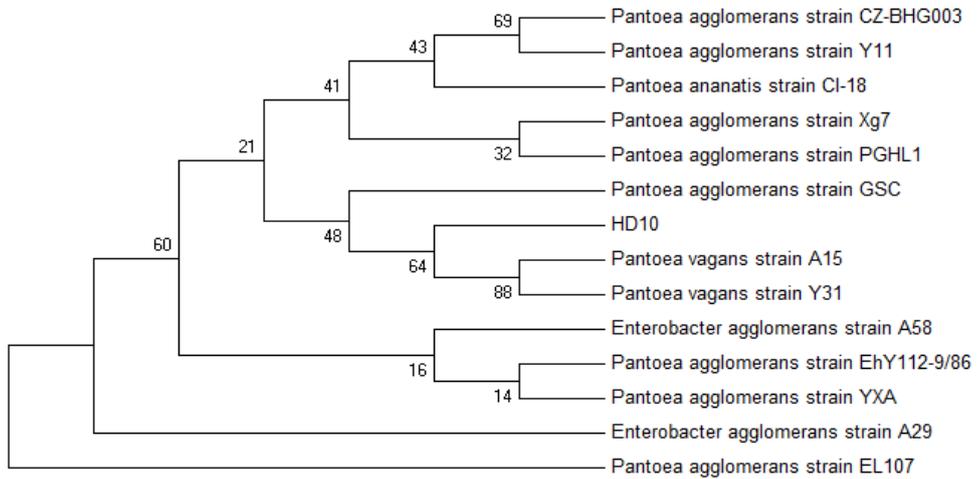
Şekil 3.8. HD6 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



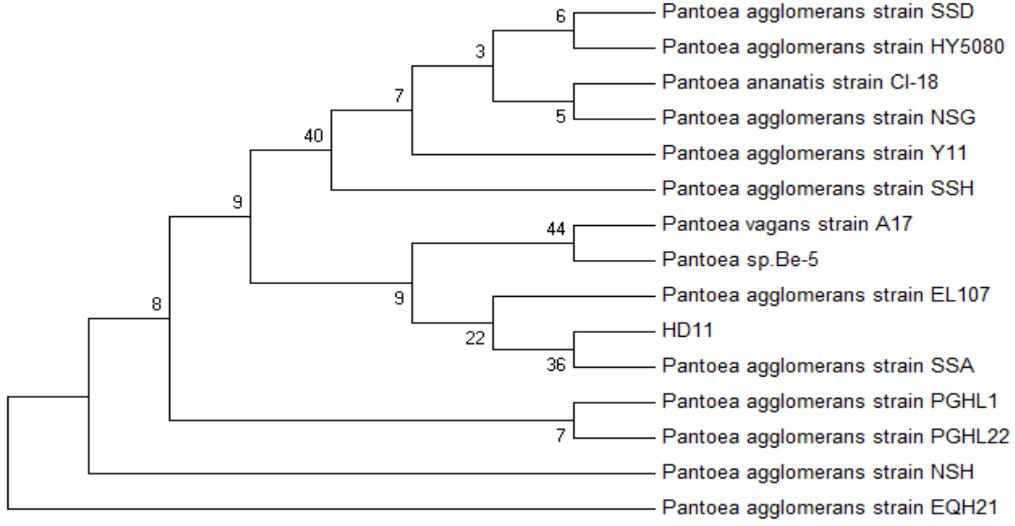
Şekil 3.9. HD8 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



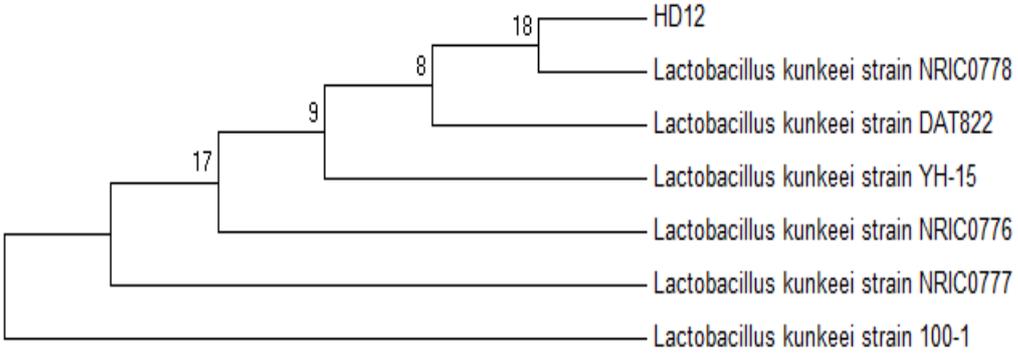
Şekil 3.10. HD9 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



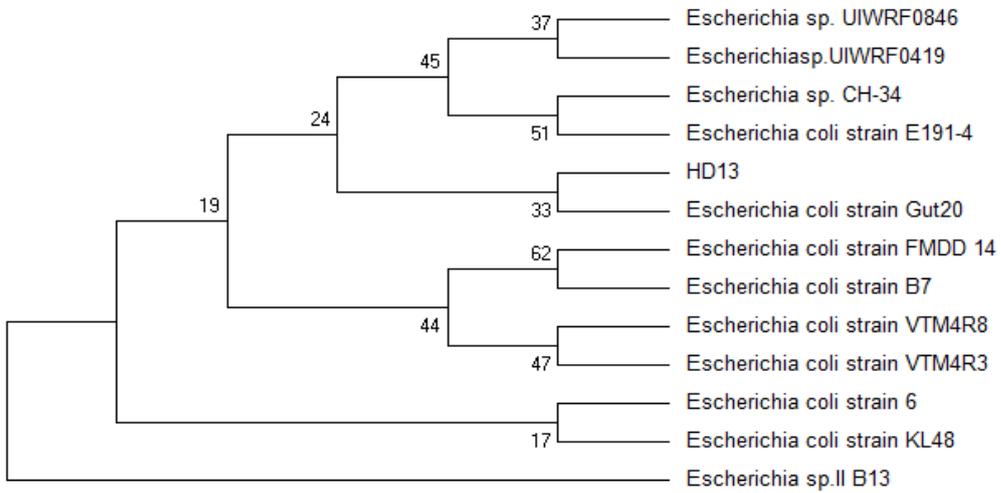
Şekil 3.11. HD10 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



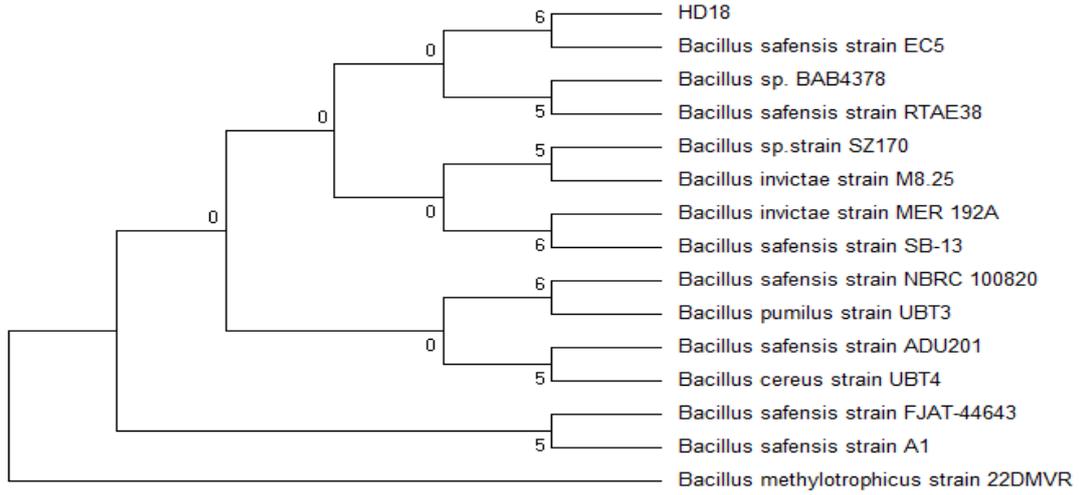
Şekil 3.12. HD11 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



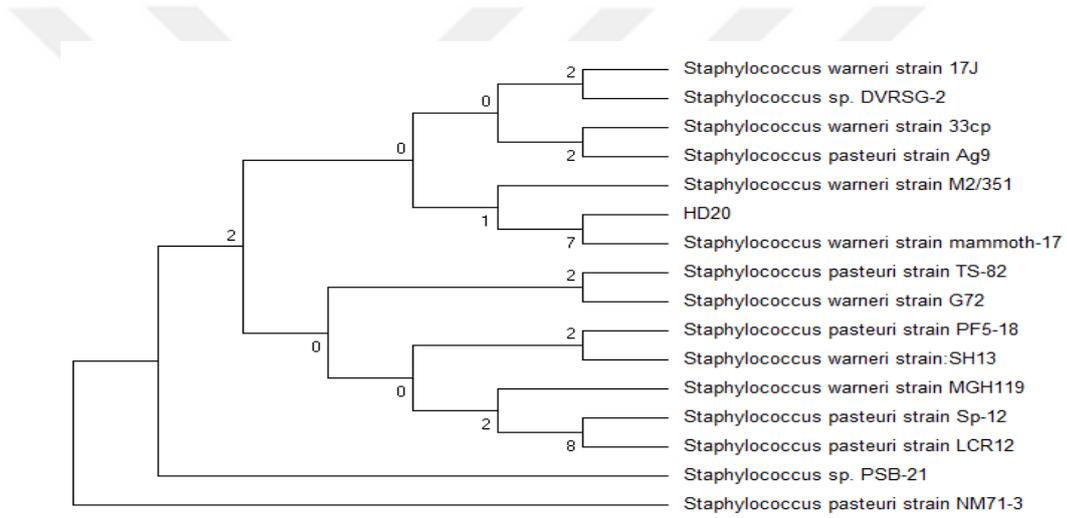
Şekil 3.13. HD12 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



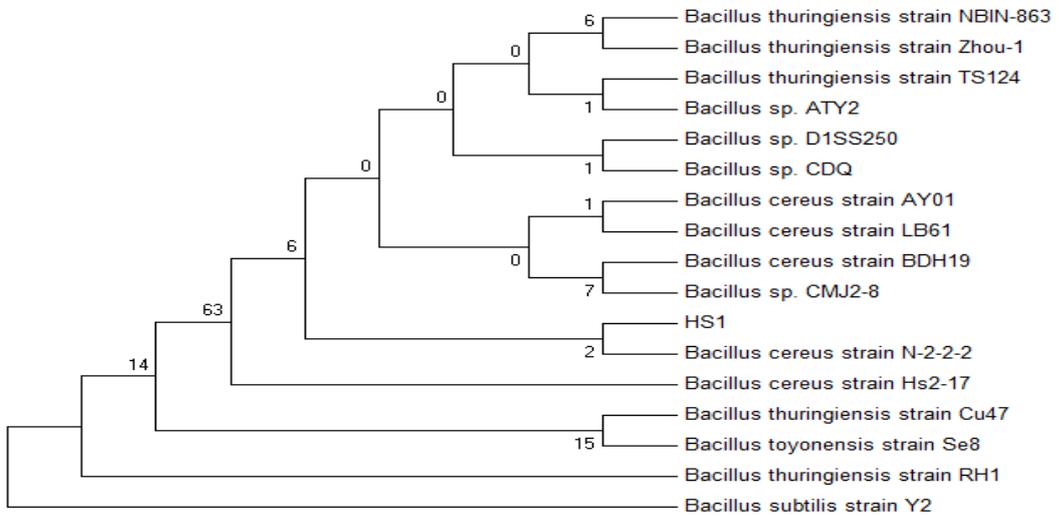
Şekil 3.14. HD13 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



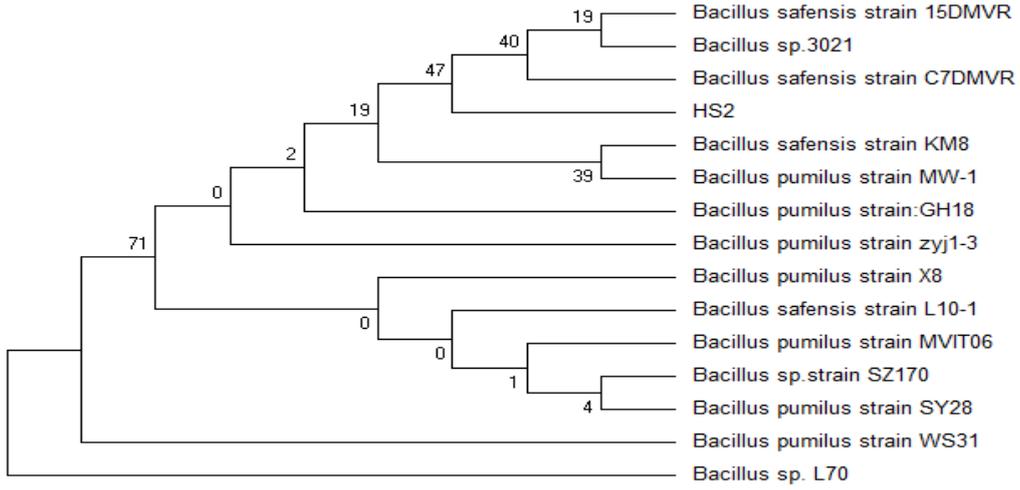
Şekil 3.15. HD18 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



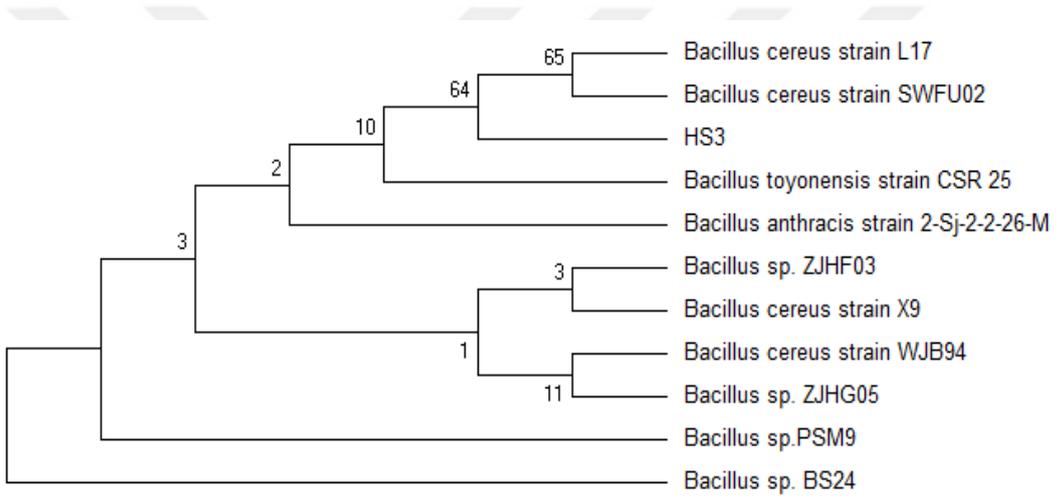
Şekil 3.16. HD20 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



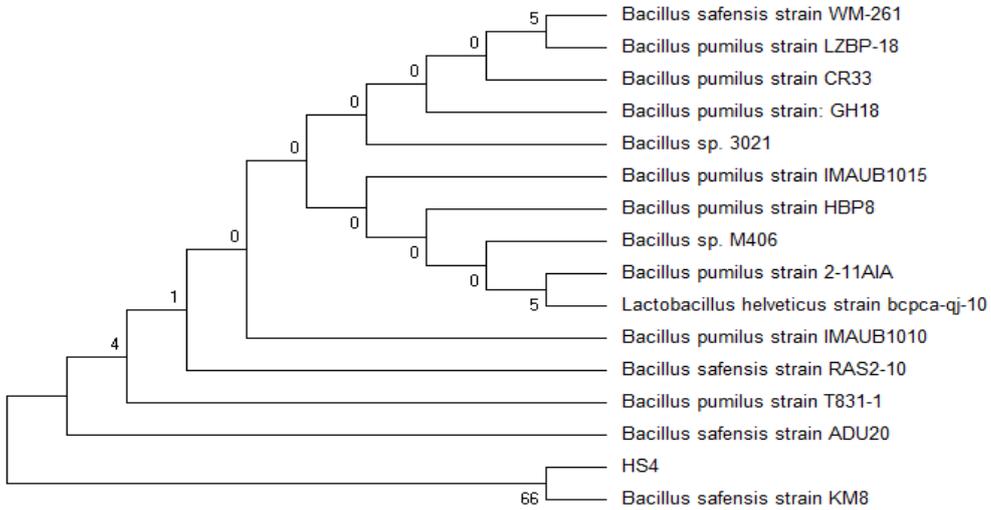
Şekil 3.17. HS1 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



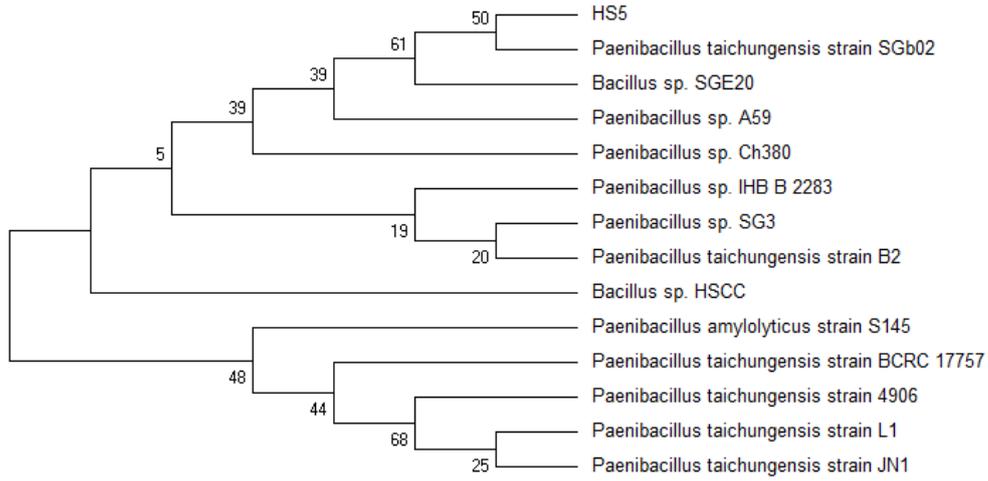
Şekil 3.18. HS2 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



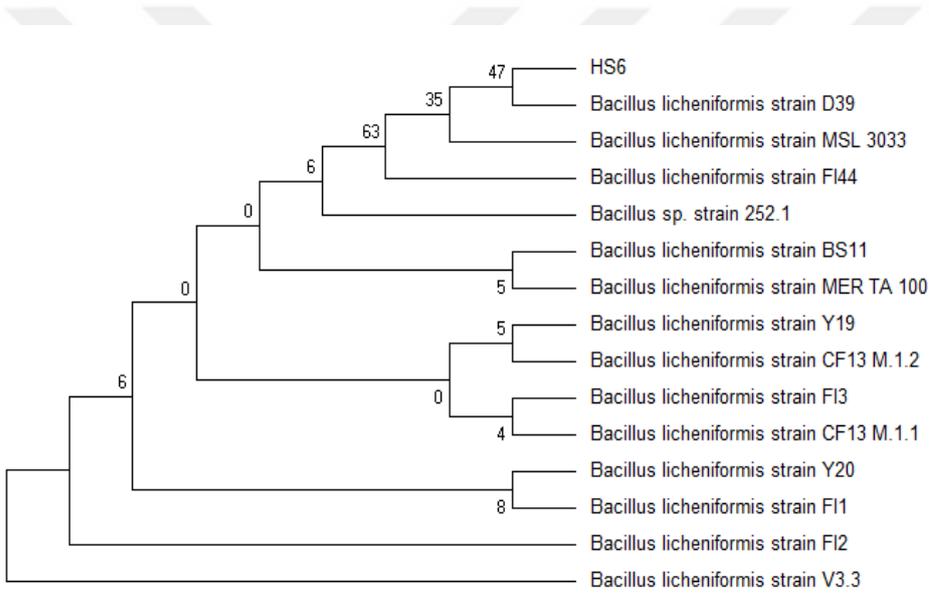
Şekil 3.19. HS3 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



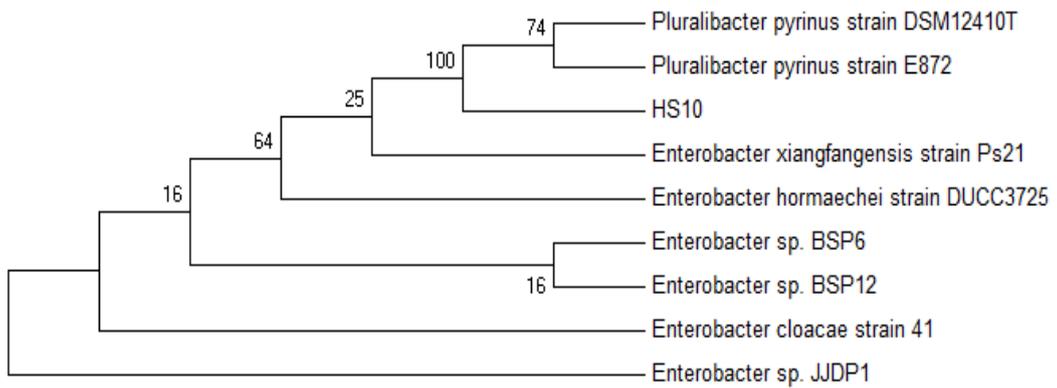
Şekil 3.20. HS4 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



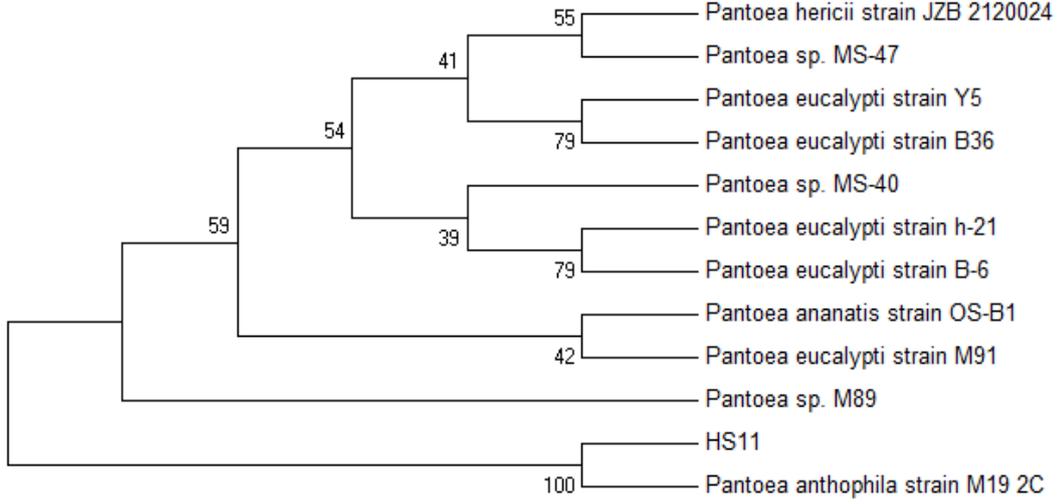
Şekil 3.21. HS5 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



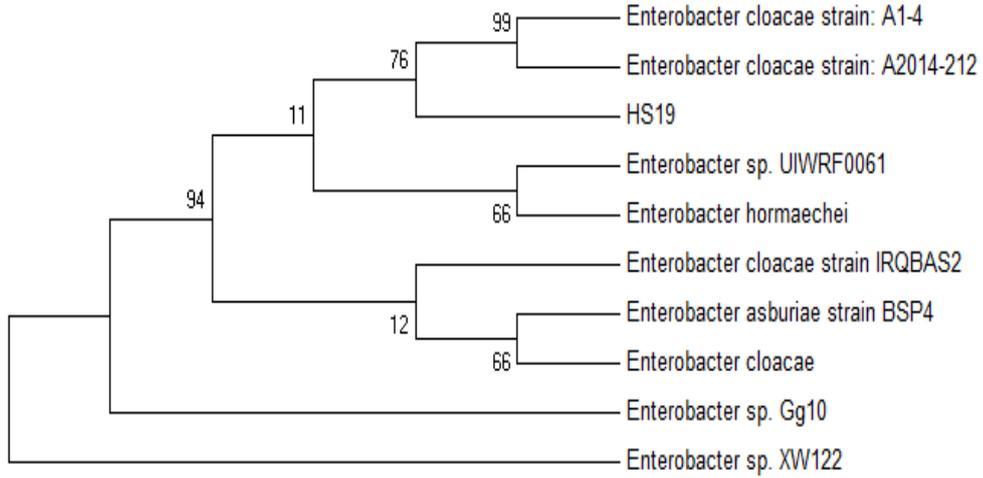
Şekil 3.22. HS6 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



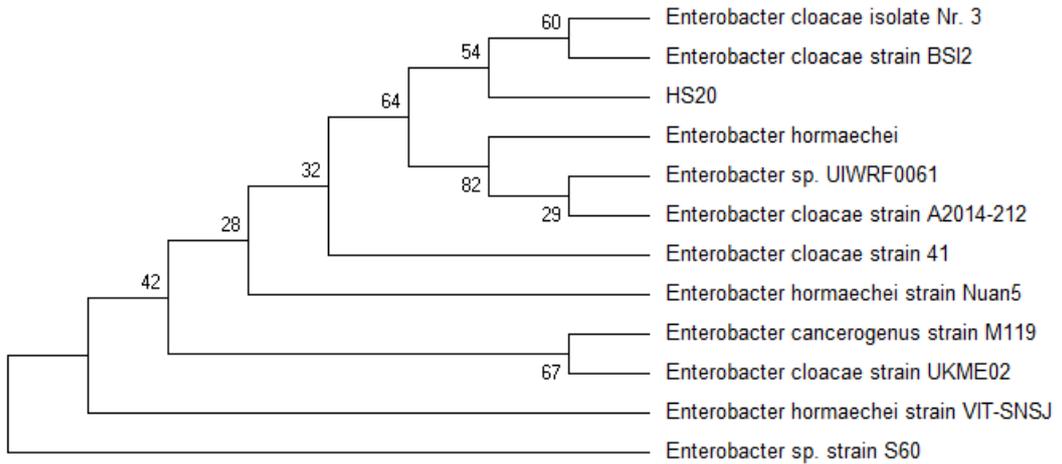
Şekil 3.23. HS10 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



Şekil 3.24. HS11 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



Şekil 3.25. HS19 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



Şekil 3.26. HS20 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.

### 3.8. ARILARDA HASTALIK ETMENİ PATOJENENE KARŞI İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

HD4, HD6 ve HD8 nolu izolatlardan *Paenibacillus larvae* patojenine karşı ürettikleri organik asitler sebebi ile inhibisyon aktivitesine sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca HD12 nolu izolattan kültür süpernatantının nötralizasyonu sonrasında da inhibisyon aktivitesini kaybetmediği belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 3.27’de ve Çizelge 3.10’da gösterilmiştir.



Şekil 3.27. Arılarda hastalık etmeni patojenlere karşı inhibisyon aktivite sonuçları.

Çizelge 3.10. *Paenibacillus larvae* karşı inhibisyon aktivite sonuçları.

İzolant	İnhibisyon Zonu
HS1	-
HS2	-
HS3	-
HS4	-
HS5	-
HS6	-
HS10	-
HS11	-
HS19	-
HS20	-
HD4	18mm
HD5	-
HD6	15mm
HD8	19mm
HD9	-
HD10	-
HD11	-
HD12	20mm
HD13	-
HD18	-
HD20	-
N.HD4	-
N.HD6	-
N.HD8	-
N.HD12	20mm

(-) ; aktivite yok, N; nötralizasyon süpernatantı göstermektedir.

## 4. TARTIŞMA

Arılar, dünyadaki hemen hemen bütün canlıların devamlılığında hayati önem taşıdıkları için doğada anahtar türler olarak nitelendirilmektedir [2]. Ancak, tüm dünyada ticari bal arısı stoklarının büyük oranda kitlesel ölümlerine yol açan koloni çöküşü (Colony Collapse Disorder, CCD) uluslararası endişeye sebep olmaktadır [63]. Bu kitlesel ölümlerin sebebi net olarak anlaşılamamış olmasına rağmen, birçok patojenin bu ölümlere sebep olduğu bilinmektedir [32].

Bu sebeple, arı hastalıkları son yıllarda gittikçe artan bir öneme sahip olmaya başlamıştır. Arı hastalıklarının kimyasal ilaçlarla tedavi edilmesi arıcılığın en büyük sorunları arasında değerlendirilmektedir. Kimyasal tedavi çalışmaları sonrası hem istenilen sonuç elde edilememekte hem de balda kimyasal kalıntı problemi oluşmaktadır [64].

Bal arılarının ekonomik ve ekolojik önemi göz önüne alındığında, arı hastalıklarının kontrolü için etkin, sürdürülebilir ve çevre dostu stratejiler geliştirilmesi elzem bir şekilde gereklidir. Uygun stratejiler, arıcılık sektöründe arı hastalıklarının kontrol altına alınmasını ayrıca antibiyotik, pestisit gibi maddelerin kullanımının da azaltılmasını sağlayacaktır. Bu sayede, balın ve kovan ürünlerinin kontaminasyon riski önlenecek ve her şeyden öte arıların refahı sağlanacak bağlantılı olarak gelecek için önemli bir adım olacaktır [22].

Yapılan çalışmalarda, arıların vücutlarında sahip oldukları mikrobiyotanın hastalıklara karşı dirençlilikte olumlu etkileri gösterilmiştir [65]. Arıların vücutlarında doğal olarak var olan mikrobiyota desteklenirse, antibiyotik kullanmaksızın arıların hastalıklara karşı daha dirençli olabileceği bu sayede tüm dünyada büyük bir sorun teşkil eden koloni çöküşüne karşı alternatif bir çözüm bulabilmek amacıyla planlanan bu çalışmada; öncelikle sağlıklı arı ve bu arılardan elde edilen arı ürünlerinin mikrobiyotasının belirlenmesi, elde edilen bakterilerin hastalık etmeni patojenlere karşı inhibisyon aktivitesinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Hedefler doğrultusunda, yapılan çalışmalar neticesinde; toplamda 21 bakteriyal izolatın moleküler tanımlaması yapılmıştır. Buna göre baldan izole edilen izolatların *Lactobacillus kunkeei* (HD4), ve *Staphylococcus warneri* (HD5 ve HD20), polenden izole

edilen izolatların *Lactobacillus kunkeei* (HD6), *Fructobacillus fructosus* (HD8), *Staphylococcus lentus* (HD9), *Pantoea vagans* (HD10), *Bacillus licheniformis* (HS6), *Pluralibacter pyrinus* (HS10) ve *Pantoea anthophila* (HS11), arı ekmeğinden izole edilen izolatların *Pantoea agglomerans* (HD11), *Lactobacillus kunkeei* (HD12) *Bacillus cereus* (HS1 ve HS3), *Bacillus safensis* (HS2 ve HS4) ve *Paenibacillus taichungensis* (HS5), ve arıdan izole edilen izolatların *Bacillus safensis* (HD18), *Escherichia coli* (HD13) ve *Enterobacter cloacae* (HS19 ve HS20) oldukları tespit edilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde *Lactobacillus kunkeei* türünün bal arısının bakteriyel mikrobiyotasında baskın olduğu, arı, arı ekmeği, polen gibi tüm alanlardan izole edildiği görülmüştür. *Lactobacillus* cinsinin arı ve arı ürünlerinde yaygın olarak bulunduğu yapılan birçok çalışma ile bildirilmiştir. Balda % 90,9, arı poleninde % 74,6, arı ekmeğinde % 83,9, arı sütü % 93,3 ve tüm bağırsak % 34,6 oranında bulunduğu tespit edilmiştir [66]. *L. kunkeei*, tüm bal ürünlerinde baskın (>% 98) tür olarak bildirilmektedir yalnızca bağırsaktan çok düşük miktarda izole edilmekte olduğu bildirilmiştir [66]. Yapılan çalışmalarda *L. kunkeei* bal midesi, arı poleni ve arı ekmeğinde bulunduğu tespit edilmiştir [67]-[69]. Tüm veriler bizim çalışmamızla birebir benzerdir. Bu çalışmada arı sütünden hiçbir şekilde bakteri izolasyonu yapılamamıştır. Bundan önceki çalışmalarda arı sütünde royalisin gibi antimikrobiyal proteinlerin varlığı Laktik Asit Bakterileri (LAB) açısından ölümcül olduğu tespit edilmiştir [70], [71]. Bu bağlamda yapılan birçok çalışmada arı sütünden bakteri izolasyonu 2015 yılına kadar hiçbir şekilde gerçekleşmemiştir. Ancak ilginç bir şekilde arı sütünden *L. kunkeei* izole edildiğine dair ilk rapor Asama ve arkadaşları tarafından literatüre girmiştir [66].

*Lactobacillus* cinsi, laktik asit bakterileri içerisinde en önemli cinslerden birisidir ve 174' ün üzerinde tür içermektedir [72]. Farklı habitatlarda geniş bir dağılım gösteren *Lactobacillus* cinsleri bitkilerde ya da arı gibi diğer birçok hayvanın gastrointestinal sisteminde yer almaktadır [73]-[75]. *A. mellifera*, *A. dorsata* ve *Bombus* arısı gibi arı türlerinin bal midesinde en baskın bulunan LAB türlerinin *Lactobacillus* cinsine ait olduğu bildirilmektedir [67], [76]-[78].

Yapılan bir çalışmada, balarısı *Apis mellifera*'nın bal midesinden *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *L. mellifer* sp. nov., *L. mellis* sp. nov., *L. melliventris* sp. nov., *L. kimbladii* sp. nov., *L. helsingborgensis* sp. nov. ve *L. kullabergensis* sp. nov., izole edilmiştir [79]. Yine farklı çalışmalarda, *L. kunkeei* türünün bal, arı ekmeği, şarap, çiçekler gibi früktoz zengin ortamlarda bulunabildiği gösterilmiştir [80], [81].

Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda, yaz aylarında *L. kunkeii*'nin bal arısı bağırsaklarından izole edildiği raporlanmaktadır [82], [83]. *L. kunkeii* son yıllarda önem kazanmış özellikle arılarda varlığı son yıllarda tespit edilmiştir. Önceleri şarap üretiminde ve depolanmasında istenmeyen patojenlerin inhibisyonunda değerlendirilirken, son yıllarda arılarda baskın oluşu özellikle koloni çöküşüne engel olabilecek ve böylece arı ve kovan sağlığını da sağlayabilecek türde bir bakteri olarak değerlendirilmesi çalışmamızın sonucunu güçlendirmektedir [84].

Bu çalışmada Türkiye'de ilk kez Yığılca bal arısı ve ürünlerinden *L. kunkeii* izole edilmiştir. Özellikle izole edilen *L. kunkeii* türlerinin (HD4, HD6 ve HD12) 48 saatlik kültür süpernatantlarının arıcılık sektöründe arılarda başlıca bakteriyal hastalık etmeni *P. larvae* bakterisine karşı yüksek inhibisyon aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kültür süpernatantlarının nötralize edilmesi ile sadece *L. kunkeii* strain HD12'nin inhibisyon aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiş olup diğerlerinin inhibisyon aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Özellikle *L. kunkeii* HD12 straini nötralize edildiğinde de patojenlere karşı inhibisyon aktivite göstermiş olması diğerlerinden daha farklı bir alt tür olduğunu göstermekle birlikte bakteri süpernatantının da patojenlere karşı kullanımını ortaya çıkarmıştır. 2010 yılında Forsgren ve diğ., raporladığı bir çalışmada arı midelerinden izole edilen 20 laktik asit bakterisinin patojen *P. larvae* bakterisine karşı *in vitro* ve bioassay çalışmaları ile *in vivo* şekilde uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda bu laktik asit bakterilerinin birer birer uygulanmasının patojenin gelişimini baskıladığı ancak karışımları şeklinde uygulandığında patojenin büyümesinin tamamen durduğu ortaya çıkarılmıştır. Ve makalede özellikle arıcılık sektöründe sıklıkla rastlanan mücadelesi olmayan bu patojen ile mücadelede bu laktik asit bakterilerin kullanılabilmesi ancak daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu raporlanmıştır [51]. Yapılan çalışma literatürdeki bu eksiklikleri giderme anlamında da büyük önem taşımaktadır.

Çalışma kapsamında izole edilen *Fructobacillus fructosus* (HD8) dört türü bulunan *Fructobacillus* cinsinin bir üyesidir [85]. Fruktofilik laktik asit (FLAB) bakterileri olarak tanımlanmaktadır [90]. Fruktozdan zengin bir ortam olması sebebi ile bal arılarının ekolojik nişinde *Fructobacillus fructosus* ve *Lactobacillus kunkeii* bu çalışmada da olduğu gibi sıklıkla kolonize halde bulunmaktadır [80], [86], [87].

Arı sağlığını korumak için en iyi kommensallerin belirlenmesi amacıyla tasarlanan çalışmada kommensal organizma olarak *Fructobacillus fructosus* ve *Lactobacillus kunkeii* tercih edilmiştir [87], [88]. Genetik manipulasyonlara uyum sağlamaları, bu

ekolojik ortamda yaygın olarak bulunmaları, bu seçimde etkili olmuştur [87]. İlginç bir şekilde kıtalar arası ve farklı balarısı türlerinde homojen bir bakteriyal kolonizasyon tespit edildiği bildirilmiştir [87], [89]. *Apis cerana japonica* arı türünden, *Bacillus*, *Staphylococcus*, ve *Pantoea* cinslerine ait bakteriler izole edilmiştir [90]. Özellikle bugüne kadar yapılan çalışmalar arı mikrobiyotasının rasgele değil bireyler arasında bulaşma yoluyla geçtiği tespit edilmiş ve buna bağlı olarak bu simbiyotik ilişkilerin arı sağlığından sorumlu olduğu bildirilmiştir [87].

Yapılan çalışmada LAB'dan sonra ikinci sırada ise *Bacillus* cinsine ait bakterilerin baskın olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, *Bacillus licheniformis* (HS6), *Bacillus safensis* (HS2 ve HS4) ve *Bacillus cereus* (HS1 ve HS3) olmak üzere farklı *Bacillus* türleri elde edilmiştir. Önceki çalışmalarda arılardan (özellikle işçi arıların) *Bacillus* cinsine ait birçok bakteri türünün izole edildiği ve özellikle arı ekmeğinde % 17 oranında *Bacillus* türlerinin bulunduğu bilinmektedir [91]. *Nosema* sp. ve *Varroa* sp. gibi arı kayıplarına yol açan parazitlerin kontrolünde kullanılabileceği çalışma sonucunda ortaya çıkarılmıştır [92].

Bu bağlamda, bu ve benzeri çalışmalar incelendiğinde, özellikle çalışmada izole etmeyi başardığımız *Bacillus licheniformis* (HS6) ve *Bacillus safensis* (HS2 ve HS4) gibi doğaya zararsız *Bacillus* türlerinin farklı arı hastalıklarına etkilerinin araştırılması muhakkak gerekmektedir.

*Pantoea agglomerans* ve *Pantoea vagans*, bitkiler ile ve birbirleri ile yakından ilişkili türlerdir. Genellikle benzer ortamlardan izole edilmektedir [93]. *P. agglomerans*, bitki yüzeylerinden, hayvanlardan, insanlardan izole edilmektedir [94], [95]. Özellikle meyve ağaçlarında hastalık etmeni *Erwinia amylovora* patojenine karşı biyokontrol ajan olarak kullanılmaktadır [95], [96]. Bu önemli bakterinin arı ve çevresinde yoğun bir şekilde bulunduğu yapılan izolasyon çalışmaları ile tespit edilmiştir [95]. Yapılan çalışmalarda özellikle ekonomik önemi büyük bitkilerin korunmasında arıların vektör gibi kullanılması ve bu biyokontrol ajanı bakterilerin arılar yardımıyla bitkilere ulaştırılma denemeleri yapılmaktadır [97]. *Pantoea anthophila* (HS11) için arılarla ilişkili bir çalışma raporlanmamıştır.

*Staphylococcus* türleri yine arı ve ürünlerinden izole edilen bakteriler yer almaktadır [98], [99]. Daha önceki yapılan bir çalışmada *Staphylococcus warneri* petekten izole edilmiştir [100].

*Escherichia coli* (HD13), *Enterobacter cloacae* (HS19 ve HS20) ve *Pluralibacter pyrinus* (HS10) gibi *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteriyal türlerin arılarda varlığı önceki çalışmalarda da tespit edilmiştir [101], [102]. Ürettiği kitinolitik enzimler ile dikkatleri çeken *Paenibacillus taichungensis* (HS5), bal arılarında daha önce varlığı gösterilmemiştir [103].

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Düzce ili Yığılca ilçesinde bulunan ve yerel bir ekotip olan Yığılca balarısı ve ürünlerinin mikrobiyotası incelenmiştir.

Bu çalışma sonucunda üç izolat *Lactobacillus kunkeei* bir izolat *Fructobacillus fructosus* olarak tanımlanmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda laktik asit bakterilerinin yanı sıra, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus safensis*, *Pantoea anthophila*, *Staphylococcus warneri* gibi birçok bakteriyal izolat elde edilmiş olup en önemlisi Yığılca balarısı ve ürünlerinin mikrobiyotası aydınlatılmıştır.

Bu çalışmada izole edilen bakterilerin arılarda hastalık etmeni bakteriyal patojene karşı inhibisyon aktivitesi tespit edilmiştir.

Aynı zamanda bu çalışma kapsamında elde edilen moleküler tanımlamaları gerçekleştirilmiş bakteriyal izolatların herbiri birbirinden değerli özellikler taşımaktadır. Farklı bilim insanları ile diyoğa geçilerek bu izolatların sağlık (*Lactobacillus kunkeei*), endüstri (*Paenibacillus taichungensis*), tarım (*Pantoea agglomerans*) gibi farklı alanlarda kullanım potansiyellerinin değerlendirilmesi, sonraki çalışmalara öncülük etmesi en önemli beklentidir.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] Ş. Ö. Uygur, "Organik arıcılık," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 5, ss. 103–106, 2005.
- [2] H. Özbek, "Arılar ve doğa," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 2, s. 3, ss. 22-25, 2002.
- [3] H. Özbek, "Türkiye’de arılar ve tozlaşma sorunu," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 3, s. 3 ss. 41-44, 2003.
- [4] M. Kekeçoğlu, E. K. Gürcan ve M. İ. Soysal, "Türkiye arı yetiştiriciliğinin bal üretimi bakımından durumu," *Tekirdağ Ziraat Fakültesi*, c. 4, s. 2, ss. 227-236, 2007.
- [5] A. Aytekin, "Arılar ve yaban arıları," *Astım Allerji İmmünoloji Dergisi*, c. 4, s. 1, ss. 5-9, 2006.
- [6] A. Klein, B. Vaissiere, J. Cane, et al., "Importance of pollinators in changing landscapes for world crops," *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 274, no. 1608, pp. 303-313, 2007.
- [7] J. Rangel, D. R. Tarpy, "In-Hive Miticides and their Effect on Queen Supersedure and Colony Growth in the Honey Bee (*Apis mellifera*)," *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, vol. 6, no. 3, 2016.
- [8] D. Goulson, E. Nicholls, C. Botías and E. L. Rotheray, "Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers," *Science (New York, N.Y.)*, vol. 347, no. 6229, pp. 1255-1257, 2015.
- [9] N. Seitz, K. S. Traynor, N. Steinhauer, K. Rennich, M.E. Wilson et al., "A national survey of managed honey bee 2014–2015 annual colony losses in the USA," *Journal of Apicultural Research*, vol. 54, no. 4, pp. 292-304, 2015.
- [10] M. Kekeçoğlu, P. Göç Rasgele, "Düzce ili yığılca ilçesindeki arıcılık faaliyetleri üzerine bir çalışma," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 13, s. 1, ss. 23-32, 2013.
- [11] D. Oskay, "Bal arısı ırklarının çeşitliliğinin korunması, kolonilerin yönetimi ve genetik yapılarının istenilen yönde geliştirilmesi üzerine model oluşturulması," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 8, s. 2, ss. 63-72, 2008.
- [12] H. Gençer, M. Karacaoğlu, "Kafkas ırkı ve Kafkas Irkı ile Anadolu Arısı-Ege Ekotipinin Karşılıklı Melezlerinin Ege Bölgesi Koşullarında Yavru Yetiştirme Etkinlikleri ve Bal Verimleri," *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, c. 13, s. 1, ss. 61-65, 2003.
- [13] E. Ulusoy, "Bal ve apiterapi," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 12, s. 3, ss. 89-97, 2012.
- [14] O. Öztürk, M. Y. Selçuk, "Birinci basamakta apiterapi," *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*, c. 10, s. 3 ss. 3-5, 2016.
- [15] A. Atik, T. Gümü, "Propolisin gıda endüstrisinde kullanım olanakları," *Akademik Gıda*, c. 15, s. 1, ss. 60-65, 2017.

- [16] B. Denisow, M. Denisow- Pietrzyk, "Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 96, no. 13, pp. 4303-4309, 2016.
- [17] C. Mutlu, M. Erba, "Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Bazı Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri," *Akademik Gıda*, c. 15, s. 1, ss. 75-83, 2017.
- [18] A. Oryan, E. Alemzadeh, and A. Moshiri, "Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis," *Journal of Tissue Viability*, vol. 25, no. 2, pp. 98-118, 2016.
- [19] L. Vandamme, A. Heyneman, H. Hoeksema, et al., "Honey in modern wound care: A systematic review," *Burns*, vol. 39, no. 8, pp. 1514-1524, 2013.
- [20] K. Komosinska-Vassev, P. Olczyk, J. Kafmierczak, et al., "Bee pollen: chemical composition and therapeutic application," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2015, pp. 1-6, 2015.
- [21] N. Doğan, İ. Hayoğlu, "Propolis ve kullanım alanları," *Harran Journal of Agricultural and Food Science*, c. 16, s. 3, ss. 39-48, 2012.
- [22] A. Arbia, B. Babbay, "Management strategies of honey bee disease," *Journal of Entomology*, vol. 8, no. 1, pp. 1-15, 2011.
- [23] E. Crane, P. Walker, "Pollination directory for world crops," *International Bee Research Association*, pp. 183, 1984.
- [24] C. G. Elsik, K. C. Worley, A. K. Bennett, et al. "Finding the missing honey bee genes: lessons learned from a genome upgrade," *BMC Genomics*, vol. 15, no. 1, pp. 15-86, 2014.
- [25] D. vanEngelsdorp, J. Hayes, R. Underwood et al., "A Survey of Honey Bee Colony Losses in the United States., Fall 2007 to Spring 2008," *PLOS One*, vol. 3, issue 12, pp. 8-13, 2008.
- [26] N. Gallai, J. M. Salles, J. Settele, et al., "Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline," *Ecological Economics*, vol. 68, no. 1, pp. 810-821, 2009.
- [27] M. A. Aizen and L. D. Harder, "The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination," *Current Biology*, vol. 19, no. 11, pp. 915-915, 2009.
- [28] D. A. Sumner and H. Boriss, "Bee-economics and the leap in pollination fees," *Agricultural and Resource Economics Update*, vol. 9, no. April, pp. 9-11, 2006.
- [29] D. van Engelsdorp, J. Hayes, R. Underwood, et al., "A survey of honey bee colony losses in the U.S., fall 2007 to spring 2008," *PLOS One*, vol. 3, no. 12, pp. 8-13, 2008.
- [30] V. Bretagnolle and S. Gaba, "Weeds for bees? A review," *Agronomy for Sustainable Development*, vol. 35, no. 3, pp. 891-909, 2015.
- [31] D. VanEngelsdorp, M. D. Meixner, "A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them," *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 103, no. January, pp. 80-95, 2010.
- [32] R. S. Cornman, D. R. Tarpy, Y. Chen, et al., "Pathogen webs in collapsing honey bee colonies," *PLOS One*, vol. 7, no. 8, 2012.

- [33] R. İ. Tunca, T. Çivrin, "Kırşehir ilinde bal arısı yetiştiricilik aktiviteleri üzerine anket çalışması," *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, c. 2, s. 2, ss. 98-108, 2012.
- [34] Ş. Ömür Girgin, A. O. Girişgin, "Bal arısı hastalık ve zararlıları," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 8, s. 4, ss. 130-142, 2008.
- [35] D. vanEngelsdorp, D. Cox-Foster, C. Mullin, et. al, "Colony collapse disorder: A descriptive study," *PLoS ONE*, vol. 4, no. 8, 2009.
- [36] T. Miyagi, C. Y. S. Peng, R. Y. Chuang, et al., "Verification of oxytetracycline-resistant American foulbrood pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States," *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 75, no. 1, pp. 95-96, 2000.
- [37] M. P. Chauzat, J. P. Faucon, A. C. Martel, et al., "A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France," *Journal of Economic Entomology*, vol. 99, no. 2, pp. 253-262, 2006.
- [38] R. Charbonneau, P. Gosselin and C. Thibault, "Irradiation and American foulbrood," *American Bee Journal*, vol. 132, issue 4, pp. 249-251, 1992.
- [39] F. M. Lauro, M. Favaretto, L. Covolo, et. al., "Rapid detection of *Paenibacillus larvae* from honey and hive samples with a novel nested PCR protocol," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 81, issue 3, pp. 195-201, 2003.
- [40] G. R. Williams, A. Troxler, G. Retschnig et al. "Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee queens," *Scientific Reports*, vol. 5, 2015.
- [41] A. E. Sunay, "Balda antibiyotik kalıntısı sorunu," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c.4, s. November, 2006.
- [42] İ. Şeker, A. Köseman, S. Karlıdağ, S. Aygen, "Arıcılık faaliyetleri II: Malatya ilinde arıcılık faaliyetlerinin yetiştirici tercihleri, üretim nitelikleri ve arı hastalıkları kapsamında değerlendirilmesi," *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, c. 14, s. 2, 2017.
- [43] R. Sıralı, "Anadolu arısı (*Apis mellifera anatoliaca*)'nın bazı önemli özellikleri," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 17, s. 2, ss. 82-92, 2017.
- [44] D. Oskay, "Bal arısı ırklarının çeşitliliğinin korunması, kolonilerin yönetimi ve genetik yapılarının istenen yönde geliştirilmesi üzerine model oluşturulması," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 8, s. 2, ss. 63-72, 2008.
- [45] A. Kence, "Türkiye bal arılarında genetik çeşitliliğin korunması," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 6, s. 6, ss. 25-32, 2006.
- [46] Ordu Ticaret Borsası. (2013, Eylül). [Online]. Erişim: <http://www.ordutb.org.tr>
- [47] I. Floris, C. Carta, M. D. C. Moretti, "Activites in vitro de plusieurs huiles essentielles sur *Bacillus larvae* white et essai au rucher," *Apidologie*, vol. 27, no. 2, pp. 111-119, 1996.
- [48] X. Qin, J. D. Evans, K. A. Aronstein, et. al., "Genome sequences of the honey bee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*," *Insect Molecular Biology*, vol. 15, no. 5, pp. 715-718, 2006.
- [49] E. Genersch, E. Forsgren, J. Pentikainen, et. al., "Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 56, no. 3, pp. 501-511, 2006.

- [50] K. A. Aronstein and K. D. Murray, "Chalkbrood disease in honey bees," *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 103, no. January, pp. 20-29, 2010.
- [51] A. Semerci, "Türkiye arıcılığının genel durumu ve geleceğe yönelik beklentiler," *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, c. 22, s. 2, ss. 107-118, 2017.
- [52] E. Forsgren, T. C. Olofsson, A. Vasquez, et al., "Novel lactic acid bacteria inhibiting *Paenibacillus larvae* in honey bee larvae," *Apidologie*, vol. 41, pp. 99-108, 2010.
- [53] M. Kekeçoğlu, "Batı Karadeniz bal arısı biyoçeşitliliği ve Düzce ilinin Yığılca ilçesinde yeni bir bal arısı ekotipi," *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, c. 2, s. 1, ss. 73-78, 2009.
- [54] A. Gösterit, M. Kekeçoğlu, Y. Çıkkılı, "Yığılca yerel bal arısının bazı performans özellikleri bakımından Kafkas ve Anadolu bal arısı ırkı melezleri ile karşılaştırılması," *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, c. 7, s. 1, ss. 107-114, 2012.
- [55] M. Kekeçoğlu, P. Göç Rasgele, "Düzce ili Yığılca ilçesindeki arıcılık faaliyetleri üzerine bir çalışma," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c. 3, s. 1, ss. 23-32, 2013.
- [56] R. R. Facklam, M. Gloria, S. Calvalho, et al., "History, taxonomy, biochemical characteristics, and antibiotic susceptibility testing, of enterococci," *ASM Press*, pp. 1-54, 2002.
- [57] M. M. Aween, Z. Hassan, B. J. Muhiadin, et al., "Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from honey marketed in malaysia against selected multiple antibiotic resistant (MAR) gram-positive bacteria," *Journal of Food Science*, vol. 77, no. 7, pp. M364- M371, 2012.
- [58] H. Belhadj, D. Harzallah, D. Bouamra, S. Khenouf, S. Dahamna, M. Ghabbane, "Phenotypic and genotypic characterization of some lactic acid bacteria isolated from bee pollen: A preliminary study," *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, vol. 33, no. 1, pp. 11-23, 2014.
- [59] M. C. García, M. S. Finola, and J. M. Marioli, "Antibacterial activity of royal jelly against bacteria capable of infecting cutaneous wounds," *Journal of Api Product and Api Medical Science*, vol. 2, no. 3, pp. 93 - 99, 2010.
- [60] K. Arthi, B. Appalaraju, S. Parvathi, "Vancomycin sensitivity and KOH string test as an alternative to gram staining of bacteria," *Indian J Med Microbiol*, vol. 21, no. 2, pp. 121-123, 2003.
- [61] A. Temiz, *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. 3. Baskı, Ankara, Türkiye, Hatipoğlu Yayınevi, 2000.
- [62] K. Tamura, M. Nei, and S. Kumar, "Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 101, no. 30, pp. 11030-11035, 2004.
- [63] D. L. Cox-Foster, S. Conlan, E. C. Holmes, et al., "A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder," *Science*, vol. 318, no. 5848, pp. 283-287, 2007.
- [64] M. Doğaroğlu and T. Samancı, "Balda yörelere göre kalıntı hile ve orijin tespit Projesi," *Teknoloji ve Yenilik Destek Programları Başkanlığı (TEYDEB) Arıcılık Raporu*, Ankara, Türkiye, 2006.

- [65] M. Gilliam, "Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees," *FEMS Microbiology Letters*, vol. 155, pp. 1-10, 1997.
- [66] T. Asama, T. H. Arima, T. Gomi, et al., "*Lactobacillus kunkeei* YB38 from honeybee products enhances IgA production in healthy adults," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 119, no. 3, pp. 818-826, 2015.
- [67] T.C. Olofsson and A. Vasquez, "Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*," *Current Microbiol.*, vol. 57, no. 4, pp. 356–363, 2008.
- [68] A. Vasquez and T. Olofsson, "The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread," *Journal of Apiculture Research*, vol. 48, no. 3, pp. 189–195, 2009.
- [69] K. E. Anderson, T. H. Sheehan, B. M. Mott, et al., "Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*)," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 12, 2013.
- [70] S. Fujiwara, J. Imai, M. Fujiwara, et al., "A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 265, no.19, pp. 11333–11337, 1990.
- [71] T. Takenaka and T. Echigo, "Chemical composition of royal jelly," *Bull Fac Agriculture*, vol. 20, pp. 71–78, 1980.
- [72] Anonim. (2008, November) "*Bacterial nomenclature up to date*," [Online]. Available: <http://www.dsmz.de/bacterial-diversity/prokaryotic-nomenclature>.
- [73] G. Tannock, "A special fondness for Lactobacilli," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70, no. 6, pp. 3189-3194, 2004.
- [74] J. Schrezenmeir and M. Vrese, "Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition," *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 73, no. 2, pp. 361-364, 2001.
- [75] T. Fujisawa and T. Mitsuoka, "Homofermentative *Lactobacillus* species predominantly isolated from canine feces," *The Journal of Veterinary Medical Science*, vol. 58, no. 6, pp. 591-593, 1996.
- [76] A. Vásquez, T. Olofsson, D. Sammataro, et al., "A scientific note on the lactic acid bacterial flora in honeybees in the USA-A comparison with bees from Sweden," *Apidologie*, vol. 40, no. 1, pp. 26-28, 2009.
- [77] N. Tajabai, M. Mardan, M. Y. Abdul Manap et al., "Detection and identification of Lactobacillus bacteria found in the honey stomach of the giant honeybee *Apis dorsata*," *Apodologie*, vol. 42, 2011.
- [78] N. Tajabadi, M. Makhdzir, S. Nazamid, et al., "Identification of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus fermentum* from honey stomach of honeybee," *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 44, no. 3, pp. 717-722, 2013.
- [79] T. C. Olofsson, M. Alsterfjord, B. Nilson, et al., "*Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifer* sp. nov., *Lactobacillus mellis* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov., and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated

- from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 64, no. 9, pp. 3109–3119, 2014.
- [80] A. Vásquez, E. Forsgren, I. Fries, et al., "Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees," *PLoS ONE*, vol. 7, no. 3, 2012.
- [81] A. Endo, "Fructophilic lactic acid bacteria inhabit fructose-rich niches in nature," *Microbial Ecology in Health and Disease*, vol. 23, no. December, 2012.
- [82] V. Corby-Harris, P. Maes and K. E. Anderson, "The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers," *PLoS ONE*, vol. 9, no. 4, 2014.
- [83] Q. S. McFrederick, W. T. Wcislo, M. C. Hout and U. G. Mueller, "Host species and developmental stage, but not host social structure, affects bacterial community structure in socially polymorphic bees," *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 88, no. 2, pp. 398-406, 2014.
- [84] F. L Bisson, G. Walker, V. Ramakrishnan, et al., "The Two Faces of *Lactobacillus kunkeei*: Wine spoilage agent and bee probiotic," *Catalyst: Discovery into Practice*, vol. 1, no.1, pp. 1-11, 2016.
- [85] A. Endo and S. Okada, "Reclassification of the genus leuconostoc and proposals of *Fructobacillus fructosus* gen. nov., comb. nov., *Fructobacillus durionis* comb. nov., *Fructobacillus ficulneus* comb. nov. and *Fructobacillus pseudoficulneus* comb. nov.," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 58, no. 9, pp. 2195–2205, 2008.
- [86] A. Endo, Y. Futagawa-Endo and L. M. T. Dicks, "Isolation and characterization of fructophilic lactic acid bacteria from fructose-rich niches," *Systematic Applied Microbiology*, vol. 32, pp. 593-600, 2009.
- [87] M. Maddaloni, C. Hoffman and D.W. Pascual, "Paratransgenesis feasibility in the honeybee (*Apis mellifera*) using *Fructobacillus fructosus* commensal," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 117, no. 6, pp. 1572-1584, 2014.
- [88] A. Rangberg, G. Mathiesen, G. V. Amdam, et al., "The paratransgenic potential of *Lactobacillus kunkeei* in the honey bee *Apis mellifera*," *Benef Microbes*, vol. 6, no. 4, pp. 513-23, 2015.
- [89] V. G. Martinson, J. Moy, and N. A. Moran, "Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honey bee worker," *Appl Environ Microbiol*, vol. 78, no.8, pp. 2830–2840, 2012.
- [90] M. Wu, Y. Sugimura, K. Iwata, et al., "Inhibitory effect of gut bacteria from the Japanese honey bee, *Apis cerana japonica*, against *Melissococcus plutonius*, the causal agent of European foulbrood disease," *Journal of Insect Science*, vol. 14, no. 129, pp. 1-13, 2014.
- [91] M. Gilliam, "Microbiology of pollen and bee bread: The genus bacillus," *Apidologie*, vol. 10, no. 3, pp. 269-274, 1979.
- [92] D. C. Sabate, M. S. Cruz, M. R. Benitez-Ahrendts, et al., "Beneficial effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* mori2, a honey-associated strain, on honeybee colony performance," *Probiotics and Antimicro*, vol. 4, no. 1, pp. 39-46, 2012.

- [93] M. Palmer, P. Maayer, M. Poulsen, et al., "Draft genome sequences of *Pantoea agglomerans* and *Pantoea vagans* isolates associated with termites Standards in Genomic Sciences," *Standards in Genomic Sciences*, vol. 11, no. 1, 2016.
- [94] F. Gavini, J. Mergaert, A. Beji, et al., "Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov.," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 39, pp. 337–345, 1989.
- [95] I. Lončarić, H. Heigl, E. Licek, et al., "Typing of *Pantoea agglomerans* isolated from colonies of honey bees (*Apis mellifera*) and culturability of selected strains from honey," *Apidologie*, vol. 40, no. 1, pp. 40–54, 2009.
- [96] S. A. Wright, C. H. Zumoff, L. Schneider, et al., "*Pantoea agglomerans* strain EH318 produces two antibiotics that inhibit *Erwinia amylovora* in vitro," *American Society for Microbiology*, vol. 67, no. 1, pp. 284-292, 2001.
- [97] K. B. Johnson, V. O. Stockwell, R. J. McLaughlin, et al., "Effect of bacterial antagonists on establishment of honey bee-dispersed *Erwinia amylovora* in pear blossoms and on fire blight control," *Phytopathology*, vol. 83, pp. 995-1002, 1993.
- [98] S. Vojvodić, S. M. Rehan, K. E. Anderson, "Microbial gut diversity of Africanized and European honey bee larval instars," vol. 8, no. 8, 2013.
- [99] M. Wu, Y. Sugimuraa, N. Takayaa, et al., "Characterization of bifidobacteria in the digestive tract of the Japanese honeybee," *Apis cerana japonica*," *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 112, no. 1, pp. 88-93, 2013.
- [100] C. Özakin, L. Aydın, İ. Çakmak and E. Gülegen, "Hazır ve eski peteklerin bakteriyolojik ve mikolojik yönden incelenmesi," *Uludağ Arı Dergisi*, s. February, ss. 2001-2004, 2003.
- [101] M. Gilliam and D. K. Valentine, "Enterobacteriaceae isolated from foraging worker honey bees, *Apis mellifera*," *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 23, no. 1, pp. 38–41, 1974.
- [102] V. Corby-Harris, P. Maes and K. E. Anderson, "The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers," *PLoS One*, vol. 9, no. 4, 2014.
- [103] H. B. Chen, P. M. Koa, H. C. Huang, et al., "Effects of using various bioreactors on chitinolytic enzymes production by *Paenibacillus taichungensis*," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 49, no. 3, pp. 337–342, 2010.

## 7. EKLER

### 7.1. EK 1: İZOLATLARIN 16S rDNA KISMİ SEKANS DİZİLERİ

#### HS1 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

GGGAGGAGGAGGGGCGGGGGCGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTAC  
TAGCGATTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGAACGG  
TTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGTCTTGCAGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAG  
CACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTC  
CTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAA  
GATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGA  
CGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAGG  
GTTTTAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCA  
CATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGC  
CGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAGGGCGGAAAC  
CCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTG  
TTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTGAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCG  
CCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCACCTT  
TCCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGG  
GCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTACGCCCAATAATTCCG  
GATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGC  
TTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCACTTGTCTTCCCT  
AACAAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTC  
AGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCC  
GTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTTGCCT  
TGGTGAGCCGTTACCTACCAACTAGCTAATGCGACGCGGGTCCATCCATAAGTGA  
CAGCCGAAGCCGCCTTTCAATTTGAAACCATGCGGTTCAAATGTTATCCGGTATTA  
GCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCCAGTCTTATGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCA  
CCTCGTCCGCCGCTAACTTCATAAGAGCAAGCTCCTTAATCCATTCGCTCGACTTG  
CATGTATAGCACGCCCGCCACGCGCACCCCCCCC

**HS2 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TGGCATGTAAAGCTGACGTATTCATCGCATGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGA  
TTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTAT  
GGGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTTGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTG  
TGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGT  
TTGTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAG  
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAAC  
CATGCACCACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCA  
GAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA AACACATGCT  
CCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACT  
CCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTA  
ACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCT  
CCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTG  
GTGTTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTT  
CTGCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCA  
CATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCAATAATTCCGGACAACG  
CTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGT  
TAGGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTTCTTCCCTAACAAACAGA  
GCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGT  
CCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGT  
CCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCC  
ATTACCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCGAAA  
CCGTCTTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTT  
TCCCGGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGC  
CGCTAACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTTTCGCTCGACTTGCTAGTATAGCACGC  
CCGCAGCTTAATTGTCCCCCCCAG

### **HS3 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

GGGGGAGGGGAGCGGGGGGGCGGGAGTACTCTAGCATACTGCTGATCCGCGATT  
ACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGAAC  
GGTTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGTCTTGCAGCTCTTTGTACCGTCCATTGT  
AGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCT  
TCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTA  
AGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTG  
ACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAG  
GGTTTTTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCTTATTAACC  
ACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGG  
CCGTA CTCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAGGGCGGAAA  
CCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCT  
GTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTACAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTC  
GCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCACT  
TTCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTG  
GGTTTTACATCAGACTTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTACGCCAATAATTCC  
GGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGTCCGTG  
GCTTTCTGGTTTAGTACCGGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCACTTGTCTTC  
CCTTAACAACAGAAGGTTTTACGACCGGAAAGCCTTCATCACTCCAGCGGGCGTTG  
CTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGT  
CTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATACCCTCTCAGGTCCGGCTACGCATC  
GTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGACGCGGGTCCATCCAT  
AAGTGACAGCCGAAGCCGCCTTTCAATTTGAAACCATGCAGTTCAAAATGTTATCC  
GGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCAGTCTTATGGGCAGGTTACCCACGTG  
TACTCACCCGTCCGCCGCTAACTTCTTGAGAGCAAGCTCTCAATCCATTCGCTCGA  
CTTGCTAGTATAGCATCGACGGCACGGTAAACGAG

#### **HS4 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TGCATGTCAAATGATGTACTCTAGCATGCTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCA  
GCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTATGGGAT  
TGGCTAAACCTTGCGGTCTTGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAG  
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTC  
ACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTG  
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGC  
ACCACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGA  
TGTC AAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCG  
CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGC GACCGTACTCCCCAG  
GCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTT  
AGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCAC  
GCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTT  
CTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCA  
CTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCA  
GACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCAATAATTCCGGACAACGCTTGC  
CACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGT  
ACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTTCTTCCCTAACAAACAGAGCTTT  
ACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATT  
GCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCA  
GTGTGGCCGATACCCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCATTAC  
CCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCGAAACCGTC  
TTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTCCCG  
GAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTA  
ACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTTTCGCTCGACTTGCTATTATAGGCATGCCGGC  
CGCTTAACGTCTCCG

### **HS5 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

ACAGGACCGGGGACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCAATTCC  
GACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGACCGGCTTTTTAGGA  
TTCGTTCCACCTCGCGGCTTCACAGCCCGTTGTACCGGCCATTGTAGTACGTGTGTA  
GCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGT  
CACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCATCCGAAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGT  
TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCAT  
GCACCACCTGTCTCCTCTGTCCCGAAGGAAAGATACATCTCTGTACCGATCAGAGG  
GATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA AACACATACTCCAC  
TGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCC  
AGGCGGAGTGCTTAATGTGTTAACTTCGGCACCAAGGGTATCGAAACCCCTAACAC  
CTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCC  
ACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGCCCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGT  
TCCTCCACATATCTACGCATTTACCCGCTACACGTGGAATTCACCTCTCCTCTTCTGC  
ACTCAAGTCACCCAGTTTCCAGTGCGATCCGGGGTTGAGCCCCGGGATTAACACC  
AGACTTAAATGACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCAATAATTCGGACAACGCTTG  
CCCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGGGCTTTCTTCTCAGG  
TACCGTCACCTTGAGAGCAGTTACTCTCCAAGCGTTCTTCCCTGGCAACAGAGCTT  
TACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCATTGCTCCGTCAGGCTTTCGCCAT  
TGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCA  
GTGTGGCCGATACCCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTAC  
CCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCAGGCCCATCCCCAAGTGACAGATTGCTCCGTC  
TTTCCAGTTCTCTTCAGGAGAAGAAAACA ACTATTCGGTATTAGCTACCGTTTCCGG  
TAGTTGTCCAAACTTGAGGGCAGGTTGCCTACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTA  
ACCATCAGAGAAGCAAGCTTCTCTTCAAGTCCGCTCGACTGCATGTATAGGCATGC  
CGCCAGCTGCCCA

**HS6 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TCCCAGTCCGCACGTATTACCCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAG  
CTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGTGGGATT  
GGCTTAGCCTCGCGGCTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCCATTGTAGCACGTGTGTAGC  
CCAGGTCATAAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCA  
CCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGC  
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCA  
CCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGAT  
GTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGC  
TTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGG  
CGGAGTGCTTAATGCGTTTGCTGCAGCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTAACACTTA  
GCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCACG  
CTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTC  
TCCACATCTCTACGCATTTACCCGCTACACGTGGAATTCACCTCTCCTCTTCTGCACT  
CAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGA  
CTTAAGAAACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCAATAATTCGGACAACGCTTGCCA  
CCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTAC  
CGTCAAGGTACCGCCCTATTCGAACGGTACTTGTTCTTCCTAACAAACAGAGTTTTA  
CGATCCGAAAACCTTCATCACTCAAGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTG  
CGGAAGATCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAATCTGGGCCGTGTCTCAATCCCAGT  
GTGGCCGATCACCTCTCAAGTGGGGTAACCACCGCCCCCTTGGTGAACCCTTACCT  
CACCAACTAACTAAAGGGCCGCGGGTCCTCCTTCAAATGGGAACTAAAAACCCCCT  
TC

**HS10 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

GCAAGTCGGGACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCGA  
CTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTATGAGGTC  
CGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAGC  
CCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCAGTTTGTCA  
CTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCTAACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTG  
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATGC  
AGCACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTGGA  
TGTC AAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTA AACACATGCTCCACC  
GCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTA CTCCCCA  
GGCGGTCTACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAGCCTCCA  
AGTAGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCAC  
GCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTCGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTC  
CTCCAGATCTCTACGCATTTACACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACGAG  
ACTCAAGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACAT  
CCGACTTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTG  
CACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGG  
TAACGTCAATCGACGAGGTTATTAACCTCATCGCCTTCCTCCCCGCTGAAAGTACTT  
TACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCA  
TTGTGCAATATTC CCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCC  
AGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGCCGTT  
ACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGCCCGAAGG  
TCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTCCAGTAGTTATC  
CCCCTCCATCGGGCAGTTTCCAGACATTACTACCCGTCCGCCACTCGTCAGCGAA  
GCAGCAAGCTGCTTCCTGTTACCGTTCGACTGCATGTGTAGGCTGCCCGCCAGCGTA  
CTC

**HS11 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

ACATGACGGGACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCGA  
CTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTGTGAGGTC  
CGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAGC  
CCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTATCA  
CCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGCCATCACGCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTT  
GCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATG  
CAGCACCTGTCTCACAGTTCCCGAAGGCACCAATGCATCTCTGGAAAGTTCTCTGG  
ATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGCTCCAC  
CGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTION  
AGGCGGTGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAACCTCC  
AAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCCCCA  
CGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATT  
CCTCCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAG  
ACTCAAGCCTGCCAGTTTCAAATGCAGTTCCCAGGTTAAGCCCCGGGGATTTACAT  
CTGACTTAACAGACCGCGTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTG  
CACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGTTTTTTCTGCGGG  
TAACGTCAATCGGTAAGGTTATTAACCTCACCGCCTTCTCCCCGCTGAAAGTACTT  
TACAACCCGAAGGCTTTTTTTCATACACGCGGCATGGGTGCATCAGGCTTGCGCCCA  
TTGTGCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCC  
AGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGATAGGGATTGTCGCATAGGTGGGCCATT  
ACCCCGCCTACTAGCTAATCCCATCTGGGTTTCATCCGATAGTGAGAGGCCCGAAGG  
TCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCCACCGTTTCCAGTGGTTATC  
CCCCTCTATCGGGCAGATCCCCAGACATTACTACCCGTCGCCACTCGTCACCCAA  
GAGCAAGCTCTCTGTGCTACCGTCCGACTGCATGTGTAGCTGCCGCCAGCTATTCC

**HS19 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

CCATGTCCAGGGACGTATTCACCGTATACATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCC  
GACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTTTATGAGG  
TCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTA  
GCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCAGTTTAT  
CACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGGACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGT  
TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAGCCAT  
GCAGCACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTG  
GATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGCTCCA  
CCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTCCC  
CAGGCGGTGCACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTC  
CAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCC  
ACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTAT  
TCCTCCAGATCTCTACGCATTTACACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAA  
GACTCTAGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACAT  
CCAATTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTG  
CACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGG  
TAACGTCAATCGACAGGGTTATTAACCCTGTCGCCTTCCTCCCCGCTGAAAGTACTT  
TACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCA  
TTGTGCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCC  
AGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGCCGTT  
ACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGCCCGAAGG  
TCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTCCAGTAGTTATC  
CCCCTCCATCAGGCAGTTTCCAGACATTACTACCCGTCCGCCACTCGTCAGCGAA  
GCAGCAAGCTGCTTCCTGTTACCGTTCGACTGCTATGTGTAGGCCTGCCGCCAGCTA  
TTCCC

**HS20 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

CAGGCCGCACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCGACTT  
CATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTTTATGAGGTCCGC  
TTGCTCTCGCGAGGTGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCT  
ACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTGATCCCCACCTTCCTCCAGTTTATCACTG  
GCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGGACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGCGC  
TCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGC  
ACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTGGATGTC  
AAGAGTAGGTAAGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTT  
GTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTIONCCCCAGGCG  
GTCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTC  
GACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTT  
TCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCC  
AGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCT  
AGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCCGGGGATTTACATCCAAC  
TTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCAATTAACGCTTGCACCC  
TCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAATTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGGTAAC  
GTCAATCGACAGGGTTATTAACCCTGTCGCCTTCCTCCCCGCTGAAAGTACTTTACA  
ACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCATTGT  
GCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTG  
TGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGCCGTTACCC  
CACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGCCCGAAGGTCCC  
CCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTCCAGTAGTTATCCCC  
TCCATCAGGCAGTTTCCAGACATTACTIONACCGTCCGCCACTCGTCAGCGAAGCA  
GCAAGCTGCTTCCTGTTACCGTTCGACTGCATGTGTAGGCTGCCGCCAGCTCATT

**HD4 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

CCAGGTCGGGACGTATTCACCGTGGCATGCTGATCCACGATTACTAGTGATTCCAA  
CTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATT  
AGCTTGACCTCGCGGTTTCGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGC  
CCAGCTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTTATCA  
CCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAATAATAAGGGTTGC  
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCA  
CCACCTGTCATTCTGTCCCCGAAGGGAACGCCCAATCTCTTGGGTTGGCAGAAGAT  
GTCAAGAGCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCATCGAATTAACCACATGCTCCACCA  
CTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCAG  
GCGGAATACTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCT  
AGTATTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTACCCAT  
GCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTAACAGACCAGAAAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTT  
CTTCATAAATCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAGTTCCACTTTCCTCTTCTGTA  
CTCAAGTTTTGTAGTTTCCACTGCACTTCCCTCAGTTGAGCTGAGGGCTTTCACAGCA  
GACTTACAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGC  
CACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCCTGGTTAAAT  
ACCGTCAAAGTGTTAACAGTTACTCTAACACTTGTTCCTTCTTTAACAACAGAGTTTT  
ACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTCCATT  
GTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAA  
TGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTGCGCTACGTATCATCGTCTTGGTGGGCTTTTATC  
TCACCAACTAACTAATACGGCGCGGGTCCATCCCAAAGTGATAGCAGAGCCATCTT  
TCAAGTTGGAACCATGCGGTTCCAATAATTATGCGGTATTAGCACTTGTTTCCAAA  
TGTTATCCCCCGCTTCGGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCAGTTCGCCACTCG  
CTCCGAATCCAAAAATCATTTATGCAAGCATAAAATCAATTTGGGAGAGCTCGTTC  
GACTGCATGTATTAGCACGCCCGCCAGCCTCCCCCCC

### **HD5 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

GGCTGAGGCTGGAGGGGGCTATAACATGCGCGTCGAGCGAACAGATAAGGAGCT  
TGCTCCTTTGACGTTAGCGGGCGGACGGGTGAGTCACACGCGGATGACCTACCAATA  
AGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACATATTGAACCGC  
ATGGGTAATTAGTGAAAGGCGGCTTTGCTGTCACTTATAGATGGATCCGCGCCGTA  
TTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAACGATACGTAGCCGACCTGAG  
AGGTTGACCGACCCTACTGTAAGTACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGAGAGGCAGC  
AGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTA  
ATGAAGGTCTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTATCAGGGAAGAACAATGTGTAAGTA  
ACTGTGCACATCTTGACGGTACCTGATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC  
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGC  
GCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTC  
ATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCATGTGTAGC  
GGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTC  
TGTAAGTACTGACGCTGATGTGCGAAAGCTTGGGGATCAAACGGGATTAGATACCCTGG  
TAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCAAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG  
CTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACT  
CAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAG  
CATCCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACCGCTCTAGAGATAGAGTCT  
TCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT  
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCAT  
TAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATG  
ACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAA  
TACAAATGGGCAGCTAAACCGCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAAGTTGTTCTCAGT  
TCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGA  
TCAGCATCCTCTGGTGAGATGCTATCCCTTCATGCCCC

**HD6 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TTGGCAAGACGGCACGTATTCACCGTGGCATGCTGATCCACGATTACTAGTGATTC  
CAACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAG  
ATTAGCTTGACCTCGCGGTTTCGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGT  
AGCCCAGCTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTTA  
TCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAATAATAAGGGT  
TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCAT  
GCACCACCTGTCATTCTGTCCCCGAAGGGAACGCCCAATCTCTTGGGTGGCAGAA  
GATGTCAAGAGCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCATCGAATTAACCACATGCTCCA  
CCACTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGC GGTCGTACTCCC  
CAGGCGGAATACTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACA  
CCTAGTATTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTACC  
CATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTAACAGACCAGAAAGCCGCCTTCGCCACTGGT  
GTTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTTTCCTCTTCT  
GTACTCAAGTTTTGTAGTTTCCACTGCACTTCCTCAGTTGAGCTGAGGGCTTTCACA  
GCAGACTTACAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCT  
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTA  
AATACCGTCAAAGTGTTAACAGTACTCTAACACTTGTTCTTCTTTAACAACAGAGT  
TTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCAAGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTCC  
ATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCC  
CAATGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTGCGCTACGTATCATCGTCTTGGTGGGCTTTT  
ATCTCACCAACTAACTAATACGGCGCGGGTCCATCCCAAAGTGATAGCAGAGCCAT  
CTTCAAGTTGGAACCATGCGGTTCCA ACTAATTATGCGGTATTAGCACTTGT TCC  
AAATGTTATCCCCGCTTCGGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCAGTTCGCCAC  
TCGCTCCGAATCCAAAAATCATTTATGCAAGCATAAAATCAATTTGGGAGAGCTCG  
TTCGACTGCATGTATAGCACGCCCCGCCAGCTCCCCCTCAA

**HD8 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

CCAGGACCGGGACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG  
ACTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGACGTACTTTAAGAGAT  
TCGCTTACCTTCACAGGTTTGCTGCTCGTTGTATACGCCATTGTAGCACGTGTGTAG  
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGACCTGACGTCGTCCCCGCCTTCCTCCGGTTTGTG  
ACCGGCAGTCTGTCTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAACATAAGGGTTG  
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGGCCATGC  
ACCACCTGTCACTTTGCTTCCGAAGAAGACAGCACTATCTCTAGTACCTTCAAAGG  
ATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACC  
GCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTIONCCCA  
GGCGGGATACTTAATGCGTTTGCTTCGTCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTAACAAAC  
TAGTATCCATCGTTTACGGTGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTACCCA  
CACTTTCGAGCCTCAACGTCAGTTGCAGTCCAGTAAGCCGCCTTCGCCACTGGTGT  
CTTCCATATATCTACGCATTCCACCGCTACACATGGAGTTCCACTTACCTCTACTGC  
ACTCAAGTTGCCAGTTTCCAAAGCCATTCCACAGTTGAGCTGTGGGCTTTCACTTC  
AGACTTAAGCAACCGTCTGCGCTCGCTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTCG  
GGACATACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTATTTAGCCGTCCCTTTCTGGTATGG  
TACCGTCACTGTCTAAGCATTTCTCTTAAACCCGTTCTTCCCATAACAACAGTGCTTT  
ACGACCCGAAAGCCTTCATCACACACGCGGCGTTGCTCCATCAGGCTTGCGCCCAT  
TGTGGAAGATTCCCTACTGCAGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCA  
ATGTGGCCGGTCAGTCTCTCAACTTGGCTATGCATCATCGTCTTGGTGAGCCTTTAC  
CTCACCAACTAACTAATGCACCGCGAATCCATCTTAAAGCGCTGCAAACGCAGCTT  
TTAACCTTAGTGCATGTGCACTTGGGTTTTATCCGGTATTAGTCACTGTTTCCAATG  
GTTATCCCAGACTTTGAGGTAGGTTATTCACGTGTTACTCACCCGTTCCGCACTTAC  
TTGGAAAATGCAAGCACTTCCGCTGTTTCGTACGACTGCATGTATTAGCACGCCGCC  
CAGCTTCCCCC

**HD9 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TGTGGCACGCACATGATCACTCTAGTTGCGTGTTGATCTACGATTACTAGCGATTCC  
AGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAATAATTTTATGGGA  
TTTGCTTGACCTCGCGGGTTCGCTGCCCTTGTATTATCCATTGTAGCACGTGTGTA  
GCCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGT  
CACCGGCAGTCAACCTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTT  
GCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATG  
CACCACCTGTCACCTTGTCCCCGAAGGGGAAAACCTCTATCTCTAGAGCGATCAAA  
GGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCA  
CCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTTCGTACTION  
CAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACA  
CTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGATCCC  
CACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGCCGCCTTCGCCACTGGT  
GTTCTCCATATCTCTGCGCATTTACCCGCTACACATGGAATTCACCTCTCTCTCT  
GCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACA  
TCAGACTTAAGAAACCGCCTACGCGCGCTTTACGCCAATAATTCCGGATAACGCT  
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTA  
GGTACCGTCAAGACTTGTTCAAGTTACTAACAATTTGTTCTTCCCTAACAACAGAGT  
TTTACGATCCTAAGACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGGCTTTCGCCC  
ATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTC  
CAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTACGTATCGTTGCCTTGGTAAGCCGTT  
ACCTTACCAACTAGCTAATACGGCGCGGGTCCATCTATAAGTGACAGCCGAAACCG  
TCTTTCAACATTGAACCATGCGGTTCAATATATTATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCC  
CGGAGTTATCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCGCCCGC  
TAACATCAGAGAAGCAAGCTTCTCATCTGTTTCGCTCGACTTGCGAAGGATACTCGT  
CGACGACGGAACG

**HD10 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TATGTGGCATGTCGCTGATCTGCTCTAGTATGCTTCATGATCCACGATTACTAGCGA  
TTCCGACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTGT  
GAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTG  
TGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGT  
TTATCACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGACCGAATCGCTGGCAACAAAGGATAA  
GGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAG  
CCATGCAGCACCTGTCTCACCGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAATTC  
GCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGC  
TCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTAC  
TCCCCAGGCGGTGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAA  
CCTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGT  
CCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCG  
GTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCT  
ACAAGACTCAAGCCTGCCAGTTTCAAATGCAGTTCCAGGTTAAGCCCCGGGGATTT  
CACATCTGACTTAACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAAC  
GCTTGCACCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCT  
GCGGGTAACGTCAATCGACGGGGTTATTAACCCCATCGCTTTCCTCCCCGCTGAAA  
GTACTTTACAACCCGAAGGCTTTTTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGC  
GCCATTGTGCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCA  
GTTCCAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATTGTCGCCTAGGTGGG  
CCATTACCCCGCCTACTAGCTAATCCCATCTGGGTTTCATCCGATAGTGAGAGGCCCG  
AAGGTCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCCACCGTTTCCAGTGG  
TTATCCCCCTCTATCGGGCAGATCCCCAGACATTACTACCCGTCCCCACTCGTCA  
CCCAAGAGCAAGCTCTCTGTGCTACCGTCCGACTGCTATGGTAGGCCGACGCACGG  
TATCG

**HD11 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

CCATGTCCGCGGACGTATTCATAGTATGCTTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCG  
ACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTGTGAGGT  
CCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAG  
CCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATC  
ACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGACCGAATCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTT  
GCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATG  
CAGCACCTGTCTCAGCGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCGCTGG  
ATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACACATGCTCCAC  
CGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTION  
AGGCGGTGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAACCTCC  
AAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCA  
CGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTTCGCCACCCGGT  
ATTCTCCAGATCTACTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTC  
TACAAGACTCAAGCCTCCCAGTTTCAAATGCAGTTCCCAGGTTAAGCCCCGGGGATT  
TCACATCTGACTTAACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAA  
CGCTTGCACCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTC  
TGCGGGTAACGTCAATCGACAGGGTTATTAACCGCATCGCCTTCCTCCCCGCTGAA  
AGTACTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTT  
GCGCCCATTGTGCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCT  
CAGTTCCAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTG  
GGCATTACCCCGCATACTAGCTAATCCCATCTGGGTTCATCCGATAGTGAGAGGC  
CCGAAGGTCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCCACCGTTTCCAG  
TGGTTATCCCCCTCTATCGGGCAGATCCCCAGACATTACTCCCCTATCCCCACTCG  
TCACCCAAGACCAAGCTCTCTGTGCTACCGTCCGACTGCTATGTGTAGGCCGACCG  
CCCGCGTATCCCC

**HD12 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TGGGCATGACGGGACGTATTCACCGTATGCATGCTGATCCACGATTACTAGTGATT  
CCAACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGA  
GATTAGCTTGACCTCGCGGTTTCGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTG  
TAGCCCAGCTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTT  
ATCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAATAATAAGGG  
TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCA  
TGCACCACCTGTCATTCTGTCCCCGAAGGGAACGCCAATCTCTTGGGTTGGCAGA  
AGATGTCAAGAGCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCATCGAATTAACCACATGCTCC  
ACCACTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCC TTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA CTCC  
CCAGGCGGAATACTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAAC  
ACCTAGTATTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTAC  
CCATGCTTTCGAGCCTTAGCGTCAGTAACAGACCAGAAAAGCCGCCTTCGCCACTGG  
TGTTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTTTCCTCTTC  
TGTA CTCAAGTTTTGTAGTTTCCACTGCACTTCCTCAGTTGAGCTGAGGGCTTTCAC  
AGCAGACTTACAAAACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCAATAAATCCGGACAACGC  
TTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCCTGGTT  
AAATACCGTCAAAGTGTTAACAGTTACTCTAACACTTGTTCTTCTTTAACAACAGAG  
TTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTC  
CATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTC  
CCAATGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTCGGCTACGTATCATCGTCTTGGTGGGCTTT  
TATCTCACCAACTAACTAATAACGGCGCGGGTCCATCCCAAAGTGATAGCAGAGCCA  
TCTTTCAAGTTGGAACCATGCGGTTCCA ACTAATTATGCGGTATTAGCACTTGTTTC  
CAAATGTTATCCCCGCTTCGGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCAGTTCGCCA  
CTCGCTCCGAATCCAAAAATCATTTATGCAAGCATAAAAATCAATTTGGGAGAGCTC  
GTTTCGACTTGCTATGTATTAGCACGCCGCCAGCTTGCCCC

**HD13 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TCAATAGCTCCGGCGGCCTACACTGACCCTATACTATAACCCACAGTAAGAGCTTG  
CTTCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGG  
AGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAG  
GAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCCAGATGGGATTAACCTTGTA  
GGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCA  
GCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA  
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCT  
TCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCT  
CATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA  
ATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCG  
GTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATAC  
TGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGC  
GTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACGAAGACTGAC  
GCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG  
CCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAA  
CGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT  
GACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAG  
AACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTTTAGAGATGAGAAGGTGCCTTCG  
GGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGG  
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGG  
AACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGT  
CATCATGGCCCTTACGGCCAGGTCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAG  
AAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAAGTCCGGATTGG  
AGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCAGTATCACAATGTA  
TACGATGAATCCCGACCCCCGCCTGCCCA

**HD18 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

TAAGGCGATGTAGCATGATCAGCTCTAGTATTCTGCTGATCCGCGATTACTAGCGAT  
TCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTATG  
GGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTTGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGT  
GTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTT  
TGTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGG  
GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACC  
ATGCACCACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTGAG  
AGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCC  
ACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCC  
CCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAAC  
ACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCC  
CCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGT  
GTTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCTCTCTCTCTCT  
GCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACA  
TCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCAATAATTCCGGACAACGCT  
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTA  
GGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTCTTCCCTAACAACAGAG  
CTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTC  
CATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTC  
CCAGTGTGGCCGATACCCCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCAT  
TACCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCGAAACC  
GTCTTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTC  
CCGGAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTACCCGTCCGCCG  
CTAACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTCCGCTCGATTTGCGAAGATACGCATGA  
CGGCCGGAACGC

**HD20 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi**

CCAGGGACGGGTACGTATCTCACTAGTATACATGCTGATCTACGATTACTAGCGAT  
TCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAACAACCTTTATG  
GGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTAGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGT  
GTAGCCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTT  
TGTCACCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGG  
GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACC  
ATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCCGAAGGGGAAGACTCTATCTCTAGAGCGGTC  
AAAGGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCT  
CCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA  
CCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTA  
ACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTT  
GATCCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCG  
CCACTGGTGTTCTCCATATCTCTGCGCATTTACACCGCTACACATGGAATTC  
CACTTTCTCTTCTGCACTCAAGTTTTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTG  
AGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTACGCGCGCTTTACG  
CCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGC  
ACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGATCAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTT  
ACTTACACATTTGTTCTTCCCTGATAACAGAGTTTTACGATCCGAAGACCT  
TCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGGCTTTCCGCCATTGCGGAAGAT  
TCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGT  
GGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGTATCGTTGCCTTGGTAAGCGTTAC  
CTTACCAACTAGCTAATACGGCGCGGATCCATCTATAAGTGACAGCAAAGC  
CGCCTTTCCTATTGAACCATGCGGTTCAATATGTTATCCGGTATTAGCTCC  
GGTTTCCGAAGTTATCCAGTCTTATAGGTAGGTTATCCACGTGTTACTCAC  
CCGTCGGCGCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTTATCTGTTGCTCGACTGC  
AGTATAGGCATCGCCAGGTAACGC

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Hacer DURSUN  
Doğum Tarihi ve Yeri : 16.08.1981 – Bulanık  
Yabancı Dili : İngilizce  
E-posta : hacerdrsn@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans (Tezli)	Mikrobiyoloji	Düzce Üniversitesi	2018
Y. Lisans (Tezsiz)	Biyoloji Öğretmenliği	Dicle Üniversitesi	2009
Lisans	Biyoloji	Balıkesir Üniversitesi	2004
Lise	Matematik – Fen	Torbalı Lisesi	1998