



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KÜÇÜKBAŞ HAYVAN DERİLERİNDEKİ HALOVERSATİL BAKTERİLERİN SAPTANMASI

SENANUR KÖSE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Pınar ÇAĞLAYAN

İSTANBUL, 2023



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KÜÇÜKBAŞ HAYVAN DERİLERİNDEKİ HALOVERSATİL BAKTERİLERİN SAPTANMASI

SENANUR KÖSE
(520121004)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı
Biyoloji Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Pınar ÇAĞLAYAN

İSTANBUL, 2023

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasında, deneylerin gerçekleşmesinden sonuçlanmasına kadar olan tüm süreçte her zaman yanımda olduğunu hissettiğim, bilgi ve tecrübelerini sevgi dolu üslubuyla öğreten, yardımını hiçbir zaman esirgemeyen, güler yüzü ve her zaman destekleyici sözleri ile yanımda olan çok Değerli Hocam Doç. Dr. Pınar ÇAĞLAYAN'a, Çalışmamı gerçekleştirmem için laboratuvarını bana açan ve yüksek lisans eğitim dönemimde engin bilgileri ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan Saygıdeğer Hocam

Prof. Dr. Meral BİRBİR'e

Tezimin gerçekleşmesi için gerekli imkânları ve maddi desteği sağlayan Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, Tez çalışmam için numunelerimi temin ettiğim Tuzla-İstanbul Deri Organize Bölgesi'ndeki firmalara ve çalışanlarına,

Hayatım boyunca her zaman her anımda sevgileri ve destekleriyle yanımda olan canım annem Hatice KÖSE ve canım babam Zeki KÖSE'ye canım kardeşim Fatma Nur KÖSE'ye

Sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Aralık, 2023

Senanur KÖSE

ÖZET

KÜÇÜKBAŞ HAYVAN DERİLERİNDEKİ HALOVERSATİL BAKTERİLERİN SAPTANMASI

Araştırmamızda Tuzla Organize Deri Sanayi Bölgesinden alınan 10 adet küçükbaş hayvan derisi örneği kullanılmıştır. Küçükbaş hayvan derilerinde daha önce yapılan çalışmalarda bakterilerin varlığı saptanmıştır fakat bu derilerde haloversatil bakterilerin varlığı araştırılmamıştır. Haloversatil özellik gösteren bakteriler küçükbaş hayvan derilerinden izole edilerek biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle 26 adet haloversatil bakteri izolatının *Solibacillus silvestris* (2 izolat), *Bacillus licheniformis* (2 izolat), *Staphylococcus warneri* (4 izolat), *Bacillus sonorensis* (1 izolat), *Kocuria rosea* (1 izolat), *Oceanobacillus polygoni* (1 izolat), *Bacillus pumilus* (2 izolat), *Virgibacillus proomii* (1 izolat), *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* (1 izolat), *Bhargavaea ginsengi* (1 izolat), *Bacillus amyloliquefaciens* (1 izolat), *Bacillus cereus* (1 izolat), *Bacillus paralicheniformis* (1 izolat), *Alkalihalobacillus clausii* (3 izolat), *Staphylococcus nepalensis* (1 izolat), *Micrococcus luteus* (1 izolat), *Ornithinibacillus scapharcae* (2 izolat) gibi 17 farklı türe ait olduğu bulunmuştur. Araştırmamızda, haloversatil bakteri izolatlarının metabolik aktivitelerini değerlendirmek için amino asit ve şeker kaynağı kullanımları incelenmiştir. Haloversatil bakterilerin ürettiği enzimlerin deriye verdiği zararı tespit etmek için elektron mikroskobu kullanılmıştır. Küçükbaş hayvan derilerindeki proteolitik ve lipolitik bakteriler derilerin kalitesini olumsuz olarak etkilemektedir ve deri endüstrisi için önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışmada; aktif içeriği potasyum dimetil-ditiyokarbamat (%50) olan antimikrobiyalın farklı konsantrasyonları (0.038, 0.07, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 4.9, 9.8, 19.5, 39, 78, 156, 312, 625, 1250, 2500 ve 5000 µg/mL) *Bacillus sonorensis* (İzolat S2b), *Bacillus pumilus* (İzolat S3b), *Virgibacillus proomii* (İzolat S3c), *Bacillus licheniformis* (İzolat S4d), *Bacillus cereus* (İzolat S5a), *Staphylococcus warneri* (İzolat S9a), *Alkalihalobacillus clausii* (İzolat S10b), *Bacillus pumilus* (İzolat S10c) türlerinin üzerine disk disüzyon metodu ile uygulanarak inhibisyon çapları ölçülmüştür.

ABSTRACT

DETECTION OF HALOVERSATILE BACTERIA SMALL RUMINANT HIDES

In our study, 10 samples of salted skins were obtained from the Tuzla Organized Leather Industry Zone. While previous studies have detected the presence of bacteria in skins, the existence of haloversatile bacteria has not been investigated in these hides. Bacteria exhibiting haloversatile characteristics were isolated from skins, and 26 isolates of haloversatile bacteria were determined using biochemical and molecular methods. These isolates belonged to 17 different species, including *Solibacillus silvestris* (2 isolates), *Bacillus licheniformis* (2 isolates), *Staphylococcus warneri* (4 isolates), *Bacillus sonorensis* (1 isolate), *Kocuria rosea* (1 isolate), *Oceanobacillus polygoni* (1 isolate), *Bacillus pumilus* (2 isolates), *Virgibacillus proomii* (1 isolate), *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* (1 isolate), *Bhargavaea ginsengi* (1 isolate), *Bacillus amyloliquefaciens* (1 isolate), *Bacillus cereus* (1 isolate), *Bacillus paralicheniformis* (1 isolate), *Alkalihalobacillus clausii* (3 isolates), *Staphylococcus nepalensis* (1 isolate), *Micrococcus luteus* (1 isolate), *Ornithinibacillus scapharcae* (2 isolates). In our research, the utilization of amino acid and sugar sources by haloversatile bacteria isolates was examined to assess their metabolic activities. Electron microscopy was employed to determine the damage caused by the enzymes produced by haloversatile bacteria to the hides. Proteolytic and lipolytic bacteria in skins negatively impact the quality of hides and result in significant economic losses for the leather industry. In this study, various concentrations of an antimicrobial with the active ingredient potassium dimethyl dithiocarbamate (50%) were applied using the disk diffusion method onto *Bacillus sonorensis* (Isolate S2b), *Bacillus pumilus* (Isolate S3b), *Virgibacillus proomii* (Isolate S3c), *Bacillus licheniformis* (Isolate S4d), *Bacillus cereus* (Isolate S5a), *Staphylococcus warneri* (Isolate S9a), *Alkalihalobacillus clausii* (Isolate S10b), *Bacillus pumilus* (Isolate S10c) species. Inhibition zones were measured at concentrations of 0.038, 0.07, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 4.9, 9.8, 19.5, 39, 78, 156, 312, 625, 1250, 2500, and 5000 µg/mL.

SEMBOLLER

% : Yüzde

°C : Santigrat derece

μL : Mikrolitre

μm : Mikrometre

g : Gram

kb : Kilobaz

kg : Kilogram

L : Litre

M : Molar

mA : Miliamper

mg : Miligram

mL : Mililitre

mm : Milimetre

mM : Milimolar

pH : Bir maddenin asit veya alkali değerini anlamak için kullanılan ölçü

V : Volt

KISALTMALAR

(w/v): Ağırlık/Hacim

A : Adenin

a/h : Kütle/hacimce yüzde

BaCl₂ : Baryum klorür

C : Sitozin

CaCl₂ : Kalsiyum klorür

dk : Dakika

DNA : Deoksiribonükleik asit

DNaz : Deoksiribonükleaz

dNTP : Deoksiribonükleotid trifosfat

EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit

G : Guanin

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

H₂SO₄ : Sülfirik asit

HCl : Hidroklorik asit

HgCl₂ : Gümüş klorür

KCl : Potasyum klorür

KOB : Koloni Oluşturma Birimi

M.Ö. : Milattan önce

M.S. : Milattan sonra

MgSO₄ : Magnezyum sülfat

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

Na₂HPO₄ : Disodyum fosfat

NaBr : Sodyum bromür

NaCl : Sodyum klorür

NaH₂PO₄ : Monosodyum fosfat

NaHCO₃ : Sodyum bikarbonat

NaOH : Sodyum hidroksit

PHA: Polyhidroksialkanoatlar

rpm : Dakikadaki dönüm hızı

rRNA : Ribozomal ribonükleik asit

T : Timin

TAE : Tris Asetat



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Derinin Tabakaları.....	4
Şekil 2.1. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen).	54
Şekil 2.2. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen).	54
Şekil 2.3. Santrifüj cihazı.	54
Şekil 2.4. QIAquick PCR Saflaştırma Kiti (Qiagen).....	57
Şekil 2.5. QIAquick PCR Saflaştırma Kiti (Qiagen).....	57
Şekil 2.6. Elektroforez tankı.....	57
Şekil 2.7. Elektroforez tankı.....	58
Şekil 2.8. Üreaz aktivitesi deneyi.....	59
Şekil 2.9. Katalaz aktivitesi deneyi.	61
Şekil 2.10. Aminoasit Deneyi Pozitif ve Negatif Test Örneği.	62
Şekil 2.11. Şeker Deneyi Pozitif ve Negatif Test Örneği	63
Şekil 2.12. Keçi Derisi (Kontrol).	65
Şekil 2.13. Keçi Derisi Karışık Kültür İlavesi.	65
Şekil 2.14. Keçi Derisi Karışık Kültür İlavesi Sonrası.	65
Şekil 3.1. Elektron mikroskobu (Thermo Scientific Quattro S, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul.).....	91
Şekil 3.2. Keçi derisi örneğinin SEM görüntüsü (Kontrol).....	92
Şekil 3.3. Haloversatil Bakteri Türlerinin Karışık Kültürü ile Muamele Edilmiş Keçi Derisi Örneğinin SEM Görüntüsü.	92
Şekil 3.4. <i>Solibacillus silvestris</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	93
Şekil 3.5. <i>Bacillus licheniformis</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	93
Şekil 3.6. <i>Bacillus pumilus</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	94
Şekil 3.7. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	94
Şekil 3.8. <i>Bacillus paralicheniformis</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	95
Şekil 3.9. <i>Bhargavaea ginsengi</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	95
Şekil 3.10. <i>Ornithinibacillus scapharcae</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	96
Şekil 3.11. <i>Alkalihalobaccillus clausii</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü...	96
Şekil 3.12. <i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	97

Şekil 3.13. <i>Staphylococcus warneri</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	97
Şekil 3.14. <i>Staphylococcus warneri</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	98
Şekil 3.15. <i>Staphylococcus nepalensis</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü. ...	98
Şekil 3.16. <i>Kocuria rosea</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	99
Şekil 3.17. <i>Kocuria rosea</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	99
Şekil 3.18. <i>Micrococcus luteus</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü	100
Şekil 3.19. <i>Micrococcus luteus</i> hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.	100



TABLÖLAR

Tablo 2.1. Antimikrobiyal Maddenin Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanması.....	66
Tablo 3.1. Küçükbaş Hayvan Derilerindeki Toplam Haloversatil Bakteri Sayısı, Toplam Proteolitik Haloversatil Bakteri ve Toplam Lipolitik Haloversatil Bakteri Sayıları (kob/g).	70
Tablo 3.2. Küçükbaş Hayvan Derilerindeki Haloversatil Bakteri Örneklerinin pH Değerleri	71
Tablo 3.3. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Gelişebildiği Tuz Toleransları.....	72
Tablo 3.4. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Gelişebildiği Optimum pH Değerleri.	74
Tablo 3.5. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Gelişebildiği Optimum Sıcaklık Değerleri.....	75
Tablo 3.6. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil Bakteri İzolatlarının Gram Boyama ve Morfolojileri.....	77
Tablo 3.7. Küçükbaş Hayvan Derilerinden Elde Edilen İzolatların 16S rRNA Dizileme Sonuçları.....	79
Tablo 3.8. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Enzimatik Özellikleri.....	81
Tablo 3.9. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil Bakteri İzolatlarının Şeker Kaynaklarını Kullanımı.....	82
Tablo 3.10. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil Bakteri İzolatlarının Amino Asit Kaynaklarını Kullanımı.	83
Tablo 3.11. Antibiyotiklere Karşı Haloversatil Test İzolatlarının İnhibisyon Zon Çapları (mm).	87
Tablo 3.12. Haloversatil Bakterilerin Aktif İçeriği Potasyum dimetilditiyokarbamat Olan Antimikrobiyalin Farklı Konsantrasyonlarının Disk Difüzyon Metodunun Uygulanarak Oluşan İnhibisyon Zonu Çapları (mm).....	89

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
SEMBOLLER.....	iv
KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER.....	vii
TABLOLAR.....	ix
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
1.1. Dericilik ve Deri Sektörü.....	1
1.2. Ham Deri	1
1.2.1. Küçükbaş hayvan derileri.....	2
1.2.1.1. Keçi ve oğlak derileri	2
1.2.1.2. Koyun ve kuzu derileri	3
1.2.2. Ham derinin yapısı ve özellikleri	3
1.2.2.1. Epidermis (Üst deri)	4
1.2.2.2. Kıllar.....	5
1.2.2.3. Bezler, kas, sinir ve yağ dokuları	5
1.2.2.4. Koryum (Dermis tabakası)	6
1.2.2.5. Hipodermis (Subkutis, subkutan tabaka).....	7
1.3. Derilerin İşlenti Basamakları.....	8
1.3.1. Islatma	8
1.3.2. Kıl giderme ve kireçlik.....	10
1.3.3. Kireç giderme	10
1.3.4. Sama	11
1.3.5. Yağ giderme	11
1.3.6. Piklaj (Salamura).....	12
1.3.7. Tabaklama	12
1.3.8. Nötralizasyon	12
1.3.9. Retenaj.....	13

1.3.10.	Yağlama.....	13
1.3.11.	Boyama.....	13
1.3.12.	Finisaj	14
1.4.	Halofil Bakteriler.....	14
1.4.1.	Halofillerin biyoteknolojik önemi.....	17
1.4.1.1.	Tuzlu atık suların arıtılması.....	18
1.4.1.2.	Enzim üretimi	18
1.4.2.	Haloversatil bakterilerle yapılan çalışmalar.....	20
1.5.	Araştırmamızda Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilerek Tanımlanan Haloversatil Bakteriler Hakkında Genel Bilgi.....	22
1.5.1.	<i>Bacillus</i> cinsi.....	22
1.5.1.1.	<i>Solibacillus silvestris</i>	23
1.5.1.2.	<i>Bacillus licheniformis</i>	23
1.5.1.3.	<i>Bacillus sonorensis</i>	24
1.5.1.4.	<i>Bacillus pumilus</i>	25
1.5.1.5.	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	25
1.5.1.6.	<i>Bacillus cereus</i>	26
1.5.1.7.	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	27
1.5.1.8.	<i>Virgibacillus proomii</i>	28
1.5.1.9.	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	28
1.5.1.10.	<i>Oceanobacillus polygoni</i>	29
1.5.1.11.	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	30
1.5.1.12.	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	30
1.5.2.	<i>Staphylococcus</i> cinsi	31
1.5.2.1.	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	31
1.5.2.2.	<i>Staphylococcus warneri</i>	32
1.5.2.3.	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	32
1.5.2.4.	<i>Kocuria rosea</i>	33
1.5.2.5.	<i>Micrococcus luteus</i>	34
BÖLÜM 2. MATERYAL ve YÖNTEM.....		35
2.1.	Materyal.....	35
2.1.1.	Kullanılan Besiyerleri	35

2.1.1.1. NaCl içermeyen halofil besiyeri (pH 7.0)	35
2.1.1.2. %1.17 NaCl içeren halofil besiyeri (0.2 M, pH 7.0)	35
2.1.1.3. %2 NaCl içeren halofil besiyeri (0.34 M, pH 7.0)	36
2.1.1.4. %3 NaCl içeren halofil besiyeri (0.51 M, pH 7.0)	36
2.1.1.5. %5 NaCl içeren halofil besiyeri (0.85 M, pH 7.0)	37
2.1.1.6. %8 NaCl içeren halofil besiyeri (1.36 M, pH 7.0)	37
2.1.1.7. %10 NaCl içeren halofil besiyeri (1.7 M, pH 7.0)	38
2.1.1.8. %12 NaCl içeren halofil besiyeri (2 M, pH 7.0)	38
2.1.1.9. %15 NaCl içeren halofil besiyeri (2.5 M, pH 7.0)	39
2.1.1.10. %17.5 NaCl içeren halofil besiyeri (3 M, pH 7.0)	39
2.1.1.11. %20 NaCl içeren halofil besiyeri (3.4 M, pH 7.0)	40
2.1.1.12. %25 NaCl içeren halofil besiyeri (4.2 M, pH 7.0)	40
2.1.1.13. %30 NaCl içeren halofil besiyeri (5.1 M, pH 7.0)	41
2.1.1.14. Nişasta besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	41
2.1.1.15. Pullulan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	41
2.1.1.16. Selüloz besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	42
2.1.1.17. Üre agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	42
2.1.1.18. Ksilan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	42
2.1.1.19. Jelatin agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	43
2.1.1.20. Kazein agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	43
2.1.1.21. DNaz besiyeri (%2 NaCl, pH 7.0)	43
2.1.1.22. Tween 80 agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	44
2.1.1.23. Mueller Hinton Agar besiyeri	44
2.1.2. Kullanılan Çözeltiler	45
2.1.2.1. Kongo kırmızısı	45
2.1.2.2. Frazier ayırıcı	45
2.1.2.3. Katalaz test ajanı	45
2.1.2.4. Oksidaz test ajanı	45
2.1.2.5. McDowell-Trump fiksatif	45
2.1.2.6. 0.2 M fosfat tamponu	45
2.1.2.7. 0.1 M fosfat tamponu	45
2.1.2.8. %35 etanol	46
2.1.2.9. %50 etanol	46
2.1.2.10. %75 etanol	46

2.1.2.11. %95 etanol.....	46
2.1.2.12. %2'lik osmiyum tetroksit.....	46
2.1.2.13. %4'lük glutraldehit çözeltisi.....	46
2.1.2.14. Gram'ın iyot çözeltisi.....	46
2.1.2.15. Kristal viyole çözeltisi.....	47
2.1.2.16. Safranin çözeltisi.....	47
2.1.2.17. 0.5 No'lu Mc Farland bulanıklık standardı	47
2.1.2.18. %1'lik Amino asit içeren solüsyonlar (L-sistein, glisin, L-treonin, L-prolin, L-histidin)	47
2.1.2.19. 1X Tris-asetat ve EDTA (Tris Asetat) çalışma tamponu	48
2.1.2.20. Jel-yükleme boyası.....	48
2.1.2.21. Ladder DNA.....	48
2.1.2.22. Agaroz jel	48
2.1.2.23. Nükleotid karışımı.....	49
2.1.2.24. Primerler.....	49
2.1.2.25. Stok antimikrobiyal madde solüsyonunun hazırlanması.....	49
2.1.3. Araçlar ve gereçler.....	49
2.2. Yöntem	50
2.2.1. Küçükbaş hayvan derilerinin tabakhanelerden toplanması	50
2.2.2. Haloversatil özellik gösteren bakterilerin toplam sayısının belirlenmesi ve izole edilmesi.....	50
2.3. Haloversatil Bakterilerin En Uygun Geliştikleri Tuz Konsantrasyonlarının, Sıcaklık ve pH Değerlerinin Belirlenmesi.....	51
2.3.1. Haloversatil bakterilerin tuz konsantrasyonlarının belirlenmesi	51
2.3.2. Haloversatil bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişimlerinin belirlenmesi	51
2.3.3. Haloversatil bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişimlerinin belirlenmesi ...	51
2.4. Haloversatil Bakterilerin Gram Boyamalarının Yapılması	52
2.5. Haloversatil Bakterilerin 16S rRNA Dizi Analizine Göre Tanımlanması	52
2.5.1. Küçükbaş hayvan derisi örneklerinden haloversatil özellikteki izolatların toplam DNA'larının izole edilmesi	52
2.5.1.1. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) DNA izolasyon kitinin protokolü	52

2.5.1.2. Haloversatil özellikteki izolatların 16S rRNA gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması	55
2.5.1.3. Haloversatil izolatlara ait olan PCR ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi ...	55
2.5.1.4. Haloversatil özellik gösteren izolatların tanımlanması.....	56
2.6. Haloversatil Bakterilerin Ürettikleri Önemli Enzimlerin İncelenmesi.....	58
2.6.1. Selüloz aktivitesi	58
2.6.2. Ksilanaz aktivitesi.....	59
2.6.3. Üreaz aktivitesi	59
2.6.4. Proteaz aktivitesi.....	59
2.6.5. Kazeinaz aktivitesi	60
2.6.6. DNaz aktivitesi	60
2.6.7. Oksidaz testi.....	60
2.6.8. Katalaz testi.....	60
2.6.9. Pullulanaz aktivitesi	61
2.6.10. Lipaz aktivitesi.....	61
2.6.11. Nişasta aktivitesi	61
2.7. Haloversatil Bakteriler Tarafından Farklı Amino Asitlerin ve Farklı Şeker Kaynaklarının Kullanılması.....	62
2.8. Haloversatil Bakteri İzolatlarının Farklı Antibiyotiklere Karşı İnhibisyon Zonlarının Belirlenmesi.....	63
2.9. Enzim Üreten Haloversatil Bakterilerin Keçi Derisinde Meydana Getirdiği Zararın Çevresel Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi	64
2.9.1. Ham deri örneğinin çevresel taramalı elektron mikroskopuna hazırlanması....	64
2.10. Deriye Zarar Veren Bakterilerin Antimikrobiyal Madde ile Kontrolü.....	66
2.11. Haloversatil Bakterileri Hücrelerinin Elektron Mikroskopunda Görüntülenmeye Hazırlanması	67
BÖLÜM 3: BULGULAR ve TARTIŞMA.....	69
3.1. Haloversatil Özellik Gösteren Bakterilerin Toplam Sayıları ve pH Değerleri.....	69
3.2. Haloversatil Bakterilerin En Uygun Geliştikleri Tuz Konsantrasyonlarının, Sıcaklık ve pH Değerleri.....	71
3.3. Haloversatil Bakterilerin Gram Boyaması	76

3.4. Haloversatil Bakterilerin 16S rRNA Dizi Analizi.....	78
3.5. Haloversatil Bakterilerin Ürettikleri Önemli Enzimlerin İncelenmesi.....	80
3.6. Haloversatil Bakterilerin Kullandığı Amino Asit ve Şeker Kaynakları	82
3.7. Bakterilerin Antibiyotik Dirençleri	84
3.8. Deriye Zarar Veren Bakterilerin Antimikrobiyal Madde ile Kontrolü.....	88
3.9. Enzim Üreten Haloversatil Bakterilerin Keçi Derisinde Meydana Getirdiği Zararın Çevresel Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi	90
BÖLÜM 4: SONUÇLAR	101
KAYNAKÇA.....	104
EKLER.....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1. Dericilik ve Deri Sektörü

Dericilik, yüzyıllardan beri insanların doğa koşullarına dayanabilmesi için, örtünme ve barınma ihtiyacının oluşması sonucu doğmuştur. İlk insanlar avlanan hayvanların derilerinden faydalanmak amacıyla hayvan derilerini işlemek için ilkel yöntemler keşfetmişlerdir, bunu yapabilmek için doğal her olanaktan yararlanmış, yüzdükleri hayvan derilerini suda yıkamış, ağaç dallarında ve sopalar arasına gererek kurutmuş, yaktıkları ateş dumanı ile tütsülemişlerdir ve toprak, tuz, şapı da ilkel tabaklama yöntemleri ile kullandıkları tahmin edilmektedir (Sakaoğlu ve Akbayer, 2002).

1.2. Ham Deri

Ham deri, deri sektörünün temel ham maddesini oluşturur. Kesilmiş veya farklı bir şekilde ölmüş olan hayvanın derisinin yüzülmesiyle elde edilen organik bir malzemedir. Deri endüstrisi hem et endüstrisinin yan ürünü olarak kullanılması hem de yarattığı istihdam sayesinde birçok ülke için önemli bir ekonomik sektördür. Deri üretmek için kullanılan ham derinin en önemli kaynağı büyükbaş ve küçükbaş hayvanların derisidir. Mamul deri üretiminde kullanılan ham deri; yapı, doku, kimyasal bileşim gibi özelliklere sahip kendine özgü özelliklere sahip olan doğal bir üründür (Harmancıoğlu ve Dikmelik, 1993). Deri, yetişkin ve büyük hayvanların vücudunu kaplayan, çok kalın, sert, dayanıklı ve çok esnek bir örtüdür. Ham deri, derinin kıl ve yünden arındırılmış hâlidir ve uygulanan teknik işlemler neticesinde, pek çok alanda kullanılabilir uygunlukta değerli bir ürün şekline gelmektedir (Özdemir, 2007). Deri, taş ve ağaçtan sonra insanın kullandığı en doğal malzemedir. Derinin tarihi, çok eski zamanlara dayanmaktadır. İlk zamanlarda, insanlar av hayvanlarının, derilerini ve etlerini kullanıyorlardı. Hayvan derileri giyim, çadır, kitap kapağı ve ayakkabı gibi ürünlerin yapımında çeşitli amaçlarla kullanılmaktaydı (...). İnsanlar yaşadıkları her yerde eşya yapımında deriyi kullanmışlardır. Bunun en önemli kanıtı ise mağara duvarlarına yapmış oldukları kabartmalar, resimler ve heykellerde görülmektedir. İnsanların deri işlemeyi öğrenmeleri neticesinde dericilik daha önemli hale gelmeye başlamıştır. Zamanın geçmesi ve teknolojinin gelişmesi sonucunda

dericilik, mobilya, ev eşyası, çadır, tekstil gibi birçok alanda kullanılan bir sanat dalı hâline gelmeye başlamıştır (Özdemir, 2007; Yelmen, 2005).

Hayvan derisinin özellikleri yaşadıkları bölgenin iklim şartlarına hayvanın yaşına, cinsine, ırkına göre değişiklik göstermektedir. Derisi kullanılan hayvanlar arasında; koyun, manda, sığır, deve, keçi gibi büyükbaş ve küçükbaş hayvanlar bulunur. İnek, manda, sığır, dana gibi büyükbaş hayvan derileri genellikle kösele elde etmek için kullanılırken; keçi, oğlak, kuzu, koyun gibi küçükbaş hayvan derileri ise yün ve ince deri elde etmek amacıyla kullanılmaktadır (Gökçesu, 2002).

1.2.1. Küçükbaş hayvan derileri

Kuzu, oğlak, ceylan, tiftik, keçi, koyun gibi küçükbaş hayvanlardan elde edilen deriler; maroken, vidala, astar sahtiyan, güderi, napa, süet ve meşin gibi çeşitli değerli derilerin ham maddesini oluşturur (Özdemir ve Kayabaşı, 2007). Koyun ve kuzu derilerinin ise az bir kısmı kürkçülükte kullanılmaktadır. Genç keçi ve oğlak derilerinin hem bağ dokusu hem de üst yüzeyinde bulunan karakteristik sırça yapısından dolayı kaliteli deri elde edilir. Koyun ve kuzuların yün yapısının ince ve kıvrımlı olması deri dokusunun gevşek olmasını sağlamaktadır. Kıl koyunlarının derileri yün koyunlarına kıyasla daha sıkı bir yapıdadır. Keçi ve oğlak derilerinin daha fazla yer aldığı ülkeler Hindistan ve Çin'dir. En çok koyun derisi ihraç eden ülkeler ise Türkiye, Avustralya ve Yeni Zelanda'dır. Bu ülkeleri Brezilya, Etiyopya, Kuzey Afrika ve Asya ülkeleri takip etmektedir (Papakçı ve Fırat, 2003).

1.2.1.1. Keçi ve oğlak derileri

Keçi derisinde bulunan kalın uzun kıllar ile ince ve yumuşak yapıdaki dip kılların birlikte bulunması sırça yapısında küçük ve büyük kıl deliklerinin bulunduğu bir görüntü oluşturur. Keçi derisindeki sırça diğerlerine oranla serttir. Keçi derilerinin mekanik işlemlere karşı dayanıklı olmasının sebebi, deri kalınlığının en az 1/3 ünü papiller tabakanın oluşturmasıdır. Bu tabakada deri lifleri sağlam ve sıkı bir doku oluşturmaktadır bunun sonucunda deri dayanıklı bir hâl alır ve "Sırça boşluğu" vermez. Keçinin ırkına bağlı olarak değişmekle birlikte yağ oranı %3-12 arasında değişiklik gösterir. Keçi derisi, koyun ve kuzu derisine kıyasla deri üretimi için daha uygundur. Hindistan ve Afrika keçi

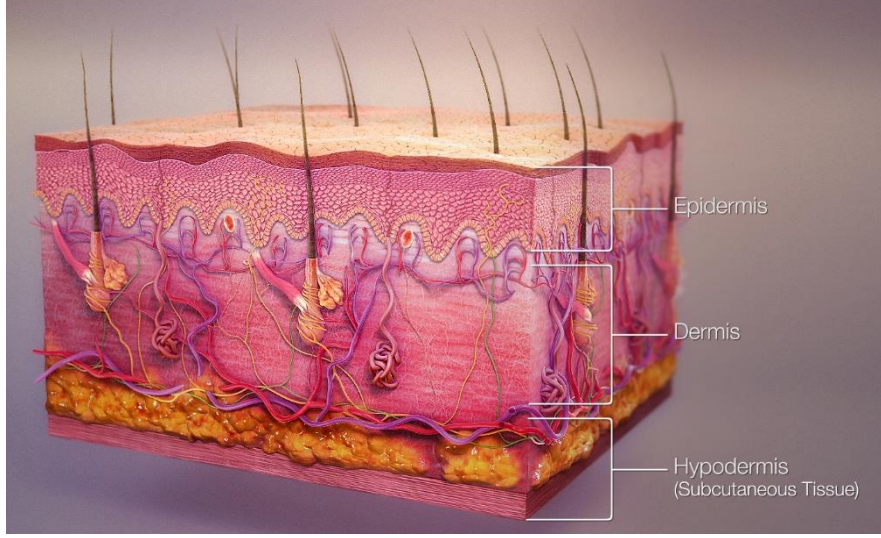
derileri kalite açısından değerlidir. Oğlak derisi eldiven, saraciye, yüzlük deri üretimi için kullanılmaktadır (Toptaş, 1993).

1.2.1.2. Koyun ve kuzu derileri

Dünya üzerinde farklı iklim koşullarında yaşayan birçok koyun ırkı bulunmaktadır. Yün verimi ve yün kalitesini arttırmak amacıyla yapılan melezlemeler sonucunda bu sayı daha da artmaktadır. Dünyadaki koyun varlığının %50'si kaba yünlü, %20'si 6 santimetreye kadar uzun yünlü, %20'si merinos, %10'u kısa yünlü ve diğer melezlerden oluşmaktadır. Merinos yününün ince, yumuşak, dayanıklı ve dalgalı olması onu tekstil üretimi için değerli kılmaktadır. Koyun derisinin yün kalitesinin artması deri kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır. Koyun derisinde papiller tabaka kalınlığı deri kalınlığının 2/3'ü kadardır. Yağ ve ter bezleri oldukça gelişmiştir. Derinin yapısı fazlaca gevşek ve süngerimsidir. Deri ağırlığının %30-50'si kadarı yağdan oluşmaktadır. Merinos ırkına özgü olarak yüksek yağ oranından dolayı deri yüzeyinde parmak kalınlığına kadar ulaşan katlanmalar (damar) vardır. Fazlaca sık olan yün dokusu sebebiyle aynı kıl kökünden birkaç kıl çıkmaktadır ve bu toplu iğne deliği boyutlarındaki kıl deliklerine 'Pinhol' denir. Bu özellikleri sebebiyle merinos ırkının derisi deri kalitesinin değeri düşüktür. Koyun derileri çok dayanıklılık gerektirmeyen giysilik üretiminde kullanılmaktadır. Koyun derilerinin yünleri kalın ve sert olduğu için deri kalitesi açısından daha kabul edilebilirdir. Kalitesi iyi olan deriler arasında Türkiye, İran, Kuzey Rusya, Irak, Bulgaristan, Yugoslavya, Romanya, Yunanistan, ve Kuzey Afrika Ülkeleri söylenebilir. Kuzu derisinin sırça yapısı düzgün, yağ oranı az, deri lifleri ise ince ve sıkı dokuludur. Kuzu derisinin genellikle kullanıldığı alan eldivenlik ve giysilik üretiminde kullanılır (Toptaş, 1993).

1.2.2. Ham derinin yapısı ve özellikleri

Ham deri fizyolojik fonksiyon ve kimyasal yapısı bakımından birbirinden farklı olan, epidermis (üst deri), dermis (deri tabakası, korium) ve hipodermis (alt deri) tabakalarından (Şekil 1.1.) oluşmaktadır (Junqueira ve Carneiro, 2009).



Şekil 1.1. Derinin Tabakaları. (https://en.wikipedia.org/Skin_condition)

1.2.2.1.Epidermis (Üst deri)

Epidermis tabakası bütün deri kalınlığının %1-2'sini meydana getirir ve dermis tabakasının üzerinde yer alır. Üst üste çok sayıda epitel hücrelerinin bir araya gelmesi sonucunda epidermis tabakası meydana gelir. Bu tabakalar dermis tabakasından uzaklaştıkça tırnaksı yapı hâlini alır böylece kimyasal ve enzimatik etkilere dayanıklı hâle gelmiş olur. Epidermiste kan damarı bulunmamaktadır. Epidermis tabakasındaki epitel hücreleri dermis tabakasından beslenmektedirler. Dermise en yakın katmandaki hücrelerin hücre çekirdekleri bulunmaktadır. Bu hücreler devamlı olarak üst tabakaya itilmektedirler ve hücre çekirdeklerini kaybederek boynuzsu hücreler hâlini alırlar (Toptaş, 1993). Epidermis silindirik çekirdekli hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler dermis tabakasının üst tarafında bulunan kan damarları ile beslenmektedirler. Bölünerek çoğalan bu hücreler devamlı olarak dışarı doğru itilerek üst tabakaları oluşturur. Epidermisin üst katları bu şekilde bazal tabakadan oluşur. Bazal tabaka hücrelerinin üst katlara itilmesi ile beslenme kaynağından uzaklaşması sonucunda canlılıklarını kaybederler. Bu hücreler, hücresel su kaybı nedeniyle kurur ve hücreler büzülerek homojen, şeffaf bir tabaka meydana getirirler. Öte yandan meydana gelen kimyasal değişikliklerle, kimyasal ve enzimatik açıdan kolay etkilenebilir olan prekeratin enzimatik etkilere karşı dirençli hâle gelir. En dışta bulunan epidermis pul (kepek) hâlinde kavlayarak mekanik etki sonucunda deriden uzaklaşır ve bunun yerini dış tarafa doğru

bazal tabakadan itilen diğer tabakalar alır. (Toptaş, 1993). Epidermis; *stratum korneum*, *stratum lusidum*, *stratum granülozum*, *stratum spinozum* ve *stratum germinativum* (*stratum bazal*) olarak adlandırılan beş katmandan oluşmaktadır (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002).

1.2.2.2.Kıllar

Kıllar da adeta tırnak gibi epitel dokusuna aittir, kesitine bakılırsa; kıl gövdesinin bir kısmı deri dışında bulunur, deri içinde kalan kısım kıl kökünde kılın dermis tabakasına açıklığı olan kıl soğanı görülmektedir. Kıl kökü epidermis kılıfı içerisinde yer alır, dermisle doğrudan temas içinde bulunmaz. Kıl, kıl soğanında bulunan açıklıktan dermis tabakasından beslenmektedir. Kılların deri dışındaki kısmı mekanik ve kimyasal etkilere karşı daha dirençlidir. Kılların korunduğu kireçlik aşamasında kılların gevşetilmesi amacıyla daha tam boynuzsu şekle geçmemiş olan kıl kökü kimyasal olarak etkilenmektedir. Böylelikle kılların köküyle beraber tamamıyla deriden uzaklaştırılması sağlanır. Kılın dış yüzeyi kutikulanın yapısı çıkıntılıdır ve kimyasal etkilere karşı dirençlidir. Keçe üretilmesinde kıl yüzeyinin çıkıntılı yapıda olmasından faydalanılmaktadır. Bu çıkıntılar kıl ve yünleri birbirine kilitleyerek keçe formunu oluşturur. Kılların kalınlık, uzunluk ve deride diziliş şekilleri hayvan ırkına göre değişiklik gösterir. Bu sebeple kıllar uzaklaştırıldıktan sonra hayvanın ırkına bağlı olarak deriye özgü bir sırça görünümü (deseni) oluşur (Toptaş, 1993).

1.2.2.3.Bezler, kas, sinir ve yağ dokuları

Bezler iç epitel dokuya aittir. Yağ bezlerinin ağız kısmı kıl kanalına açılmaktadır. Bir ya da birkaç kesecik formundaki yağ bezleri kılların gelişmesiyle beraber oluşur ve kıl kökünün yanında asılı şekilde bulunur. Yağ bezleri epitel tabaka tarafından oluşturulan büyük hücrelerden meydana gelir. Hücre çekirdeği gitgide kaybolur ve hücrenin içi vücut sıcaklığında krem formunda yağ tanecikleri ile dolar. Yağ bezleri, ince yünlü derilerde kalın yünlü ve kıllı derilere göre daha büyüktür. Yağ bezleri kireçlik ve sama aşamasında uzaklaştırılır ve yeri boşluk olarak kalır. Ter bezleri de iç epitel dokuya aittir ve genellikle kıl köküne yakın olan başka bir kanaldan çıkar. Ter bezleri vücut sıcaklığının sabit tutulmasında önemli bir rol almaktadır. Ter bezlerinin epidermise çok ince bir kanal aracılığıyla açıldığından dolayı sırça görünümü fazla etkilememektedir. Ter bezlerinden

terle beraber üre, tuz, yağ asitleri ve proteinlerin parçalanma ürünleri de deriden dışarıya atılır. Ter bezleri de yağ bezleri gibi kireçlik ve sama aşamasında uzaklaştırılır ve yeri boşluk olarak kalır (Toptaş, 1993). Derideki kıl kası, yağ ve ter bezleri çevresinde bulunan kaslardır. Kıl kası kılın hareketini sağlamakla birlikte yağ bezindeki yağın boşaltılmasını da sağlar. Kıllar elastin lifler aracılığıyla kıl kökü ve sırçaya tutturulmaktadır. Kıl kasları kireçlik ve sama aşamasından etkilenmez (Toptaş, 1993). Sinirler deri tabakasının en üst kısmında bulunmaktadır ve sinir hücreleri tarafından oluşmaktadır. Sinirler miktarca çok az ve çok ince bir yapıda dağıldıkları için deri üretimi açısından önemli değildir. Yağ dokusunu oluşturan hücreler çekirdeklidir. Bu doku, retiküler tabakada bağ dokusu arasında bulunmaktadır. Koyun ve keçilerde yağ dokusu yüksek oranlara çıkmaktadır (Toptaş, 1993).

1.2.2.4.Koryum (Dermis tabakası)

Dermis tabakası vücudu darbe, vurma, yaralanmaya karşı koruyan ve vücut ısını dengeleyen fizyolojik bir göreve sahiptir. Toplam deri kalınlığının yaklaşık olarak %85'ini oluşturur. Deri üretiminde farklı aşamalarda üst deri ve alt deri uzaklaştırılarak, mamul deri koryum tabakası tarafından oluşturur. Derinin başlıca kısmını oluşturan dermis tabakası, iplik demetlerinden oluşmuş zengin bir bağ doku olarak tanımlanır. Dermis tabakası epidermisin alt kısmında bulunmakta ve derinin form ve esnekliğini sağlayan tabakadır. Bu tabakanın çok yüksek oranda su tutabilme kapasitesi vardır. Kollajen ipliklerin varlığı elastiki ipliklere kıyasla daha fazladır. Bu tabaka işlenmiş derinin epidermis tabakasının uzaklaştırılması sonucu ortaya çıkan ve dericilikte sırça olarak adlandırılan, ayakkabı ve hazır giyim sanayisinde kullanılmakta olan derinin dışta görülen yüzüdür (Birbir, 1991).

Bağ dokuyu oluşturan hücreler yan yana dizilerek lifçik meydana getirirler. Epitel doku devamlı olarak yenilenmektedir fakat bağ doku oluştuktan sonra ömür boyu aynı kalır ve bu sırada oluşan yaralanma ve zedelenme izleri de üzerinde kalır. Deride bulunan farklı bağ dokulardan biri olan protein kolajen yapısındaki bağ doku koryum tabakasının ana bileşenini oluşturmaktadır. Bağ doku esneyen ve bükülen bir yapıdır. Bir yöne doğru birbirine paralel şekilde olan lif yapısı sayesinde bu yönde oldukça sağlam bir yapı oluşturmaktadır. Derideki diğer bir bağ doku da sarı renkte olan elastik bağ dokudur. Elastik bağ doku protein olan elastinden oluşur. Bu bağ doku kolajen yapıdaki gibi

lifçiklerden oluşmamıştır, homojen ince bir lif yapısında bulunur. Bu yapı çok esnek olmamakla beraber, kauçuk esnekliğindedir ve bu sebeple deriyi sertleştirmektedir. Elastin yapı kimyasal etkiler karşısında kolajene kıyasla daha dayanıklıdır ve çok fazla etkilenmez (Toptaş, 1993).

Koryum tabakası temel olarak kolajen lif dokusundan meydana gelmektedir. Deri üretimi için en önemli kısmı kolajen lif dokusu oluşturmaktadır, bunun dışında elastik bağ dokunun pratik olarak önemi bulunmamaktadır. Kolajen liflerinin meydana getirdiği dokuda, liflerin çapraz ve dikey bağlanmaları sonucunda oluşan üç boyutlu bir yapı görülmektedir. Serbest lif uçları bu bağlanmalarda görülmez. Bu yapısı sebebiyle deri yırtılmalara karşı dayanıklılık kazanır, ayrıca hava ve su buharını geçirir. Kolajen lif doku kompleks bir yapı sunar. Lifçikler (fibril) yaşlı hayvanlarda genç hayvanlara kıyasla daha kalındır ve sonsuz uzunlukta dallanmamış bir yapıda bulunur. Lifçiklerin birbirine paralel olacak şekilde bir araya gelmesi ile demetler oluştururlar ve bu demetlerin yan yana gelmesi sonucu lifler oluşturulur. Lifçik demetleri mikroskopta görünen en küçük yapıdır. Sığır derisinde bulunan bu demetleri 200 ile 1000 arasında lifçikten oluşmaktadır. Lifler 30 ile 300 arasında lif demetinden oluşmaktadır (Toptaş, 1993).

1.2.2.5.Hipodermis (Subkutis, subkutan tabaka)

Hipodermis tabakası, dermis ile kas tabakasının arasında bulunmaktadır. Hipodermis tabakası, kolajen lif yapısındadır. Hipodermiste; yağ, kas, kan damarları ve sinir dokusu bulunmaktadır. Bu sebeple epeyce gevşek bir yapıdadır. Hipodermis tabakası, sepileme açısından önemli değildir ve kireçlik aşamasında deri tabakasından ayrılarak uzaklaştırılır (Şenses, 1987). Hipodermiste bulunan yağ hücreleri, sayıları bulundukları bölgeye göre değişiklik gösterir ve yağ hücrelerinin boyutları da hayvanın beslenme şekline göre değişmektedir. Hipodermiste biriken yağ, derinin yüzülmesi anında dermis tabakasını bıçak darbelerine karşı korumaktadır (Birbir, 1991).

1.3. Derilerin İşlenti Basamakları

Deri işleme süreci birçok süreç ve işlemi kapsamaktadır ve deriler bu işleme sürecine başlamadan önce kesinlikle uygun biçimde korunmalıdır (Kanagaraj ve ark., 2005). Deri fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak oluşabilecek etkilerden kurtularak daha sağlam hâle gelmesi için sepilenmiş derilerin işleme süreci sepileme öncesi, sepileme, sepileme sonrası ve sonlandırma olmak üzere sınıflandırması yapılabilir (Kanth ve ark., 2008).

Deri üretme süreci birçok farklı aşamaları içermekte olup yaş işlemler kısmı üç adımda gerçekleşmektedir:

- a) Tabaklamadan önce yapılan işlemler: Deride istenmeyen maddelerin, kıl, yağ gibi deri protein fibrilleri ağının birbirlerinden ayrılarak uzaklaştırılmasıdır.
- b) Tabaklamada yapılan işlemleri: Sağlam yapıda bir deri elde etmek için tabaklama malzemeleri ile bu lif ağının tepkimeye girmesidir.
- c) Tabaklamanın ardından yapılan bitirme işlemleri: Şişkin, boyalı, yumuşak, yağlı tabaklanma işlemi olmuş lif tiplerini meydana getirmek ve lif kesitinin elverişli bir ürün üretebilmek için işlemin bitirilmesidir. Bu aşamayla derilere estetik bir değer kazandırılmış olur (Thorstensen, 1993; Shede ve ark., 2008).

1.3.1. Islatma

Tabaklama işleminden önce ham deriye sodyum klorür eklenerek korunması sağlanır ve ham deri mezbaha, kırsal alan gibi farklı alanlardan dericilik sanayisine aktarılır. Tabakhanelerde derilerin su ile yıkanması sonucunda tuz ve diğer maddelerden arındırılır. Yıkama işleminden sonra açığa çıkan su büyük miktarda atık su şeklinde dışarı atılır. Bu suda %2-4 sodyum klorür, iz miktarda kalsiyum klorür, kan, et ve deri gibi biyolojik parçacıklar ve diğer asılı parçacıklar bulunmaktadır ve bu atık suya ıslatma sıvısı denir (Kumar ve Mani, 2007).

Islatma işlemi sonucunda tuzlanmış olan derideki tuzun, kirlerin, pisliklerin, hayvan dışkısının, fazla miktardaki hayvansal yağın ve deri yapısındaki fibröz yapıda bulunan globüler proteinler arındırılmış olur (Rangarajan ve ark., 2003; Orlita, 2004).

Islatma işleminin amaçları:

- 1- ıslatma işleminde derideki organik ve inorganik yabancı maddeler ve kirler uzaklaştırılır. Bu maddeler deri üzerindeki kan, toz, çamur, idrar, gübre kalıntıları ve tuz gibi maddeler uzaklaştırılmış olur.
- 2- Derilerin dolap içindeki hareketleri esnasında fiziksel bir zarar görmeleri yumuşatma (ıslatma) işlemi ile önlenmiş olur. Ortamda yeterli miktarda su olmazsa deri liflerinde kırılmalar ve yüzeylerde istenilmeyen kırışıklıklar meydana gelir.
- 3- Sadece ıslatma ve yumuşatma işlemi ile deri içinde bulunan eriyebilir proteinlerin bir kısmı uzaklaştırılmış olur.
- 4- Bir sonraki basamak olan kıl giderme ve kireçlik işlemi için kullanılan kimyasal maddelerin lifli yapı içerisine girişi, su aracılığıyla yani yumuşatma işlemiyle sağlanan şişme etkisi ile olur. Yumuşatma işlemindeki bu ilk şişme oldukça önemlidir ve yeteri kadar şişme sağlanmazsa bir sonraki adımda yapılan kireçlik şişmesi ile düzeltilemez (Dikmelik, 1994).

Yumuşatma işlemi yapılış çeşitleri aşağıdaki gibidir:

1- Havuzda Yumuşatma

Havuzda yumuşatma işlemi günümüzdeki modern işletmelerde neredeyse hiç yapılmamaktadır. Fakat kösele işletmelerinde ve bazı küçükbaş hayvan derisi işleyen işletmelerde, hareketsiz ilk havuzda yapılmaktadır.

2- Pervaneli Teknede Yumuşatma

Günümüzde, genellikle küçükbaş hayvanlardan koyun ve keçilerin derileri ve bazı sanayilerde büyükbaş hayvan derilerinin ıslatma ve yumuşatılma işlemleri pervaneli teknelerde yapılır. Yumuşatma işleminde pervane kullanılmasının amacı, bu hayvanlarda olduğu gibi yünlü ve kılı uzun derilerde keçeleşmeleri önlemek amacıyla fazla suyun içerisinde yumuşak bir çalkalama hareketi yaparak döndürülerek yapılmaktadır (Dikmelik, 1994).

3- Dolapta Yumuşatma

Yumuşatma işlemi için dolap kullanılmasının faydası; derileri boşaltma ihtiyacı olmadan suyu boşaltabilmek, suyu dingildeki boşluk kısımdan buhar vererek ısıtabilmek ve diğer işlemlere de aynı dolap içerisinde devam edebiliyor olmasıdır. Zararı ise; fazla mekanik

etkileşim sonucunda deride boşluklar gevşeklik ve damarlılık oluşturmaktadır. Bu sebeple yumuşatma ve kireçlik aşamalarında eni çapından daha geniş dolaplar kullanılmaktadır (Dikmelik, 1994).

1.3.2. Kıl giderme ve kireçlik

Kıl giderme işlemi için kullanılan en eski yöntemlerden biri, taze derilerin bir veya iki gün ılık ve nemli bir ortamda bırakılmasıdır. Terletme olarak adlandırılan bu işlem sırasında bakteriler malpigi tabakasının hücrelerini parçalamaktadırlar ve bunun sonucunda da kıllar zayıflamaktadır. Sürecin kontrol edilmesinin zor olması ve kıymetli deri proteinlerinin fazla bozulma tehlikesi olduğundan dolayı bu işlemin yerini daha güvenli yöntemler almıştır. Kıl giderme işlemi kireç çözeltilerinin tekrar kullanılmaları ile daha etkili bir şekilde yapılmaktadır. Bu olay da kullanılan çözeltilerdeki amonyak, aminler ve diğer proteinlerin yıkım ürünlerinin yanı sıra bakteri ve enzimlerin pH 12 gibi yüksek değerli pH seviyelerinde aktif olma ihtimallerinin düşük olmasına rağmen bakteriler ve enzimler için de bu yöntem uygulanır. Sonrasında sodyum sülfür, sodyum sülfidrat ve diğer farklı aminler gibi çeşitli kimyasal maddeler kireçle beraber kullanılarak kılları gevşetmek veya giderilmesi için kıl giderme yöntemi kullanılmış ve kıl giderme işlemi için gereken 1 haftalık süre günlere indirilmiştir. Bunun yanı sıra kılları eritmek amacıyla sülfür kullanılarak yapılan yöntem de kıl eritme olarak bilinir (Cordon ve ark., 1958).

1.3.3. Kireç giderme

Kireçlik aşamasında şişmiş ve pH'ı 12.5 civarında olan derinin şişkinliğini gidermek amacıyla ilk olarak kirecinin giderilmesi sebebiyle pH'ının düşürülmesi gerekmektedir. Bu nedenle işleme öncelikle kireç giderme ile başlanır ve enzimler için uygun koşullar sağlandıktan sonra sama işlemine geçilmektedir. Kireç giderme ve sama farklı banyolarda yapılabilir ama bu iki işlem aynı banyoda birbirinin arkasından sırayla yapılabilir. Buna göre kireç giderme işlemi sama işlemi yapılmadan önce, sama işlemi de kireç giderme banyosu sırasında yapılmaktadır (Dikmelik, 1994).

Fiziksel Kireç Giderme (Yıkama)

Kıl giderme işleminden sonra derinin yüzeyinde epidermal kalıntılar vardır. Bu kalıntıların deriden temizlemek için derilere yıkama işlemi uygulanmaktadır. Yıkama sırasında kirliliklerin yanı sıra yüzeyinde var olan çözünmemiş kireç de bu şekilde deriden uzaklaştırılır. Böylece, cilt temizlenir ve bir sonraki kimyasal kireç gidermenin yükü hafifletilir (Dikmelik, 1994).

Kimyasal Kireç Giderme

Kireç gidermede, deri içerisinde erimez şekildeki ve deri lifleri arasında asılı haldeki kirecin çözülmesi; pH'ın sama aşaması için uygun hafif alkali seviyeye getirilmesi ve derinin şişkinliğinin indirilmesiyle olur. Bu işlem, önceden olduğu şekliyle akarsu yıkaması ile uzun bir sürede ve bazı kimyasallar aracılığıyla kontrollü ve hızlıca yapılabilmektedir. Uygulamada bu amaç için kimyasallarda zayıf asitler, amonyum ve magnezyum tuzları kullanılır. Çözünürlüğü %0.1 olduğundan dolayı deride erimemiş hâldeki kalsiyum hidroksit bu maddeler sayesinde çözünür forma dönüştürülmektedir ve sama aşamasının etkisi sonra yapılan yıkama deriden tamamen uzaklaştırılır (Dikmelik, 1994).

1.3.4. Sama

Sama işlemi deri endüstrisinin en kritik ve önemli işlemidir. Sama işleminde gerçekleşen kimyasal etkileşimlerin yerine enzimatik olaylar almaktadır. Önceki işlem aşamalarında derinin yüzeyinde bulunan epidermis ve yün; altta bulunan alt deri bağ dokusu uzaklaştırılmıştır, sırada ise derinin içerisinde kalan, deriye sert ve kırılğan yapı sağlayan globüler proteinlerin uzaklaştırılması kısmına gelmiştir (Dikmelik, 1994). Uygun koşullarda yapılan sama işlemi ile derinin boyanmasını, yumuşaklığını ve tutumunu olumlu açıdan etkilemektedir. Yumuşak ve anilin türündeki derilerin istenmesi sama işleminin önemini arttırmaktadır (Toptaş, 1993).

1.3.5. Yağ giderme

Ham derinin yapısında doğal yağlar bulunmaktadır ve deri üretim safhalarında işlemlerin olması gerektiği gibi uygulanmasını engellemektedirler. Kullanılan sepi maddeleri, boyalar, yağlamada kullanılan maddeler derinin yüzeyinde ve kesitinde

homojen bir şekilde dağılmaz. Bununla birlikte doğal yağlar bitmiş deride kokuşmaya sebep olur. Bu yüzden derideki doğal yağların uzaklaştırılması gerekmektedir (Toptaş, 1993).

1.3.6. Piklaj (Salamura)

Salamura ya da piklaj olarak adlandırılan işlem, derilerin tabaklama aşamasına hazır olması ve korunması için asit ve tuz ile işlenmesidir. Piklaj ile deri tabaklama için gereken pH derecesine getirilir ve kolajen lif demetlerinin saflaştırılması yapılarak tabaklama maddelerinin yapacağı etkiye hazırlanır. Uzun süre boyunca bozulmadan depolanabilir ve bu işlemde deri kendine has kâğıt beyazı bir renk alır. Salamura işleminin sonunda çoğunlukla pH 3.0-3.5 arasındadır (Dikmelik, 1994).

1.3.7. Tabaklama

Deri endüstrisinde en önemli işlemlerden birisi de tabaklamadır, bu işlemle ham deriler teknik süreçlerle mamul deriye dönüştürülür (Zengin ve Yılmaz, 2004). Özellikle de mineral tabaklama maddelerinden biri olan krom tuzları ile yapılan tabaklama en uygun tabaklama yöntemidir ve dünyada %90 dolaylarında kullanılmaktadır (Yakalı ve Dikmelik, 1994). Deri üretim basamaklarındaki en önemli adım tabaklama aşamasıdır çünkü bu aşamada derinin kullanılacağı yere göre karakteristik özellikler kazandırılır. Geleneksel ve modern deri üretim sektöründe, deriler genellikle üç farklı yöntem ile üretilmektedir. Bunlar bitkisel tabaklama, şap tabaklama ve krom (mineral) tabaklamadır (Waterer, 1972). Tabaklama maddeleri su olan bir ortamda mekanik etkileşimle deriye işlenmesi ile kolajendeki serbest ya da reaktif bağ kısımlarının fiziksel ve kimyasal tepkimelerle doğal kolajen yapısının sağlamlaştırılmasına ve kolayca bozulamayan bir şekle dönüştürülmesi durumuna tabaklama denir. Deri tabaklama işleminin bilinen diğer isimleri de debbağlamak, sepi ya da sepilemektir (Yakalı ve Dikmelik, 1994).

1.3.8. Nötralizasyon

Nötralizasyon ya da asitliğin giderilmesi aşaması, kromla tabaklama yönteminden sonra, sıkma; sınıflandırma, yarma ve tıraş yöntemleri tamamlandıktan sonra, yeniden parti oluşturularak dolap içine alınan derilerde yapılmaktadır. Nötralizasyon işlemi ile

kromlu deride bulunan sudaki eriyen tuzlar uzaklaştırılmakta ve serbest asitler nötralize edilmektedir. Yani nötralizasyon işlemiyle kromlu derinin katyonik veya (+) özelliğini değiştirmektedir. Bunun sonucunda; anyonik dolgu maddeleri, boya maddeleri ve yağlar, yalnızca yüzey kısmına değil derinin iç yüzeylerine kadar işlenerek daha güzel bir deri görüntüsü, sıkılık ve esneklik kazanır (Dikmelik, 1994).

1.3.9. Retenaj

Retenaj, yeniden ya da ikinci kez tabaklama anlamındadır. Kromlu deriye daha iyi özelliğin kazandırılması için yapılır. Kromlu deri çok iyi tabaklansa da istenilen özellikleri karşılamamaktadır. Bu sebeple kromlu derinin daha üstün özellikte olması için retenaj işlemi uygulanmaktadır. Retenaj işleminin sonucunda deri bir hayli dolgun; daha yumuşak, daha sıkı ve düzgün bir yapı, daha iyi zımparalanabilen bir deri, daha muntazam boyama, daha açık görünüm ve beyaz renkli olma, ılık, ter ve yıkamaya karşı dirençlilik, buruşukluk gibi özel deri görünümleri gibi özellikler kazandırılır (Dikmelik, 1994).

1.3.10. Yağlama

İşlem anında olsun ya da başka bir yağ alma işlemi ile olsun, deride bulunan doğal yağları azaltmak önceleri gerekliken ve bu doğrultuda çaba gösterilirken; nötralize edilen deri kurutularak, derinin istenilen tutum ve yumuşaklığa ulaşmadığı sert ve kırılgan olduğu görülmektedir. Bunun sebebi kurutma aşamasında deri lifleri de kurur ve böylece eğme ya da bükme anında liflerin birbirlerine çok fazla sürtünmesidir. Oysaki lifler arasında ince bir yağ filminin varlığı sürtünmeyi azaltır, derinin yumuşak ve esnek bir yapıda kalmasını sağlar. Bu yüzden deri işlemi yapılırken kesinlikle bir yağlama işlemi yapılmaktadır (Dikmelik, 1994).

1.3.11. Boyama

Deri endüstrisinde boyama işlemi, deriyi kullanan kişiler açısından daha çekici ve sanatsal forma getirmek için deri lifinin farklı boya maddeleriyle boyanarak renklendirilmesi işlemidir (Kanagaraj ve ark., 2015).

1.3.12. Finisaj

Sepilenmiş, yağlanmış, boyanmış, kurutulan deride kullanım özelliklerini daha iyi hâle getirmek için yapılan işlemlerin hepsine finisaj denilmektedir. Finisaj işlemiyle deri iyi bir görüntü kazanmaktadır ve dış etkenlere karşı daha dirençli hâle gelmektedir. Finisaj işlemi yapılan deri daha az ıslanmakta ve suyu geçirmektedir, daha az kirlenmekte ve daha kolay temizlenmektedir. Finisaj ile deri yüzeyine istenilen özellikler kazandırmalı, derinin doğal görüntüsünü olabildiğince korumalıdır (Toptaş, 1993).

1.4. Halofil Bakteriler

Halofil mikroorganizmaların bilinen ilk kaydı M.Ö. 2700'e kadar dayanmaktadır ve aşırı tuzlu ortamlarda bulunan kırmızı tuzlu su mikroplarının izolasyonunun yapılması sonucunda raporlanmıştır (Bass-Becking, 1931). İlk modern dönem raporu Pierce (1914), tarafından yapılmıştır ve Antik Mısır döneminde yaşayan bir halofilin izolasyonunu açıklamıştır. 1920'lerin sonundan 1940'ların başına kadar, halofil bakteriler, balıklar ve hayvan derileri gibi farklı kaynaklardan izole edilmiştir (Baumgartner, 1937). En önemlisi, Petter (1932) ve Hof (1935)'un yaptığı çalışmalar sonucunda tuza doymuş ortamlarda yaşayan mikroorganizmalara yeni ilgi uyandırmıştır. Ölü Deniz'in aşırı tuzlu sularının, 1936 yılına kadar steril olduğu ve bu sulara yaşamın olmadığı düşünülmekteydi ancak Benjamin Elazari tarafından yazılan ve "Ölü Deniz'deki Hayat" başlıklı ilginç bir makalenin Nature dergisinde yayınlanmasından sonra bu düşünce değişmiştir (Wilkansky, 1936). Petter ve Hof'un çalışmalarından ilham alan Elazari, Ölü Deniz'in sularından ve sahilinden aşırı halofil organizmalar olan *Halobacterium trapanicum* ve *Micrococcus morrhuae* ile orta derecede halofil organizmalar olan *Chromohalobacterium marismortui*, *Pseudomonas halestrogus* ve *Flavobacterium halmephium*'u izole etmiştir (Volcani, 1940; Volcani, 1944) ancak bu başlangıç araştırması takip edilmedi ve Elazari, yaklaşık 20 yıl boyunca halofil organizmaları çalıştıktan sonra araştırma odak noktasını değiştirdi. 1980'lerde Antonio Ventosa ve meslektaşları, araştırmaları Elazari'nin bıraktığı yerden devralarak Ölü Deniz'deki mikrobiyal yaşam üzerine kapsamlı çalışmalar başlattılar (Ventosa ve ark., 1999; Ventosa ve ark., 2015). Ayrıca Oren ve arkadaşları, aşırı tuzlu ortamlardaki mikroorganizmaların ekolojisi, fizyolojisi, biyokimyası ve

mikrobiyolojisi üzerine çalışmalar yapmışlardır (Oren, 1983; Oren ve Gurevich, 1995; Oren ve Litchfield, 1998; Oren, 2015). Hipersalin mikroorganizmalarına yeniden duyulan ilgi, en azından kısmen, genom dizileme alanındaki son gelişmelere bağlanabilir. İlk rapor edilen genom dizisi, halofil arke olan *Halobacterium* NRC-1 için yapılmıştır (Ng ve ark., 2000). 2013, 2014 ve 2015 yıllarında sekiz halofil türünün genomları dizilenmiştir (*Halomonas salina* CIFRI 1, *Halomonas hydrothermalis* MTCC 5445, *Erythrobacter vulgaris* O1, *Pontibacillus yanchengensis* Y32^T, *Halomonas zhanjiangensis* DSM 21076, *Gammaproteobacteria* MFB021, *Halomonas titanicae* BH1, *Bacillus* sp. SB49) (Behera ve ark., 2015; Shrivastav ve ark., 2015; Yaakop ve ark., 2015; Huang ve ark., 2015; Zhou ve ark., 2014; Joseph ve ark., 2014; Sánchez-Porro ve ark., 2013; Pal ve ark., 2013). Ayrıca, halofil organizmaların genom dizileri in silico olarak sistemli bir şekilde analiz edilebilmekte ve böylelikle biyolojilerinin anlaşılması kolaylaşmaktadır (Oren, 2014). Bu bağlamda, in silico son-genom analizi ve ardından genetik mühendislik, halofil organizmaların büyümelerini optimize etme ve endüstriyel ve çevresel biyoteknoloji uygulamaları için biyokimyasal yolların değiştirilmesini veya yeni yolların oluşturulmasını amaçlamıştır (Cai ve ark., 2011; Yue ve ark., 2014).

Halofiller (tuz seven), büyüme için tuz (NaCl) gerektiren mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır ve bunlar yaşamın üç domaininde (*Bacteria*, *Archaea* ve *Eukarya*) bulunabilir (Quillaguamán ve ark., 2010). Halofiller, dünya genelinde çeşitli coğrafi bölgelerde yaygın olarak bulunan tuzlu göller, tuz havuzları veya tuz bataklıkları gibi hipersalin ortamlarda bulunabilir (Setati, 2010). Ilımlı bir halofil, %3-15 (w/v) tuz konsantrasyonlarında büyür ve %0-25 (w/v) (Ventosa ve ark., 1998) konsantrasyonlarını tolere edebilir. Uyumlu çözücüler biyolojik yapılar için stabilizatör olarak işlev görebilir ve hücrelerin sadece tuzlara değil, aynı zamanda ısıya, kurumaya, soğuğa veya hatta donma koşullarına uyum sağlamalarına izin verir (Delgado-García ve ark., 2012). Birçok halofil bakteri, baskın uyumlu çözücüler olarak ektoin veya hidroksi ektoin biriktirir. Diğer hücresel uyumlu çözücüler arasında amino asitler, glisin betain ve küçük miktarlarda biriken diğer osmotik çözücüler bulunur (Louis ve Galinski, 1997; Ventosa ve ark., 1998; Vargas ve ark., 2008).

Halofiller, deniz tuzluluğundan (0.6 M) doymuş tuzluluğa (>5 M NaCl) kadar olan aralıkta gelişebilen ve arke, bakteri ve ökaryotları içeren organizmalardır (Dassarma,

2012). Birçok halofil mikroorganizma, yapay güneş tuz havuzlarından, sahil ve denizaltı havuzlarındaki doğal tuz sularına ve derin tuz madenlerine kadar değişen çevrelerden izole edilmiştir. En sık gözlenen halofillerden bazıları *Halobacterium* spp., *Salinibacter ruber* ve *Dunaliella salina* tuz üretimi için kullanılan tuz havuzlarında gelişenlerdir. Halofil mikroorganizmaların çevrelerine uyum sağlama süreci giderek ilgi çekici hâle gelmiş ve kültürleme, manipülasyon ve genetik mühendislik gibi uygulamalar için metodolojileri sürekli olarak ilerlemiştir. Halofillerin yüksek tuzluluğa uyum sağlama anlayışı, dış ortamın osmotik stresini dengelemek için farklı mekanizmaları içermektedir. Halofil arkeler (Haloarkea), başta ‘tuz-içine’ bir strateji kullanır, çevrelerindeki NaCl ile eşit miktarda KCl biriktirir ve incelendiği ortamlarda enzimleri 4-5 M tuzu tolere eder (Lanyi, 1974). Bunun aksine, çoğu halofil bakteri ve ökaryot, genellikle ‘tuz-dışı’ bir strateji kullanır, tuzları dışarıda bırakır ve uyumlu çözünenler biriktirir veya de novo (bakteriler için glicin betain ve diğer zwitteryonik bileşikler ve ökaryotlar için gliserol ve diğer pololler) sentezler (Roberts, 2005). Bazı halofil mikroorganizmalar arasında, uyum sağlama mekanizmalarının bir kombinasyonu işleyebilir. Yüksek tuzluluğa uyum sağlayan halofil enzimlerin adaptasyonu ile ilgilenen mikrobiyologlar, önemli sayıda protein yükü ve artmış hidrofobisite gibi iki temel özellik keşfettiler (Bayley, 1978). Halofiller, tuz göllerinden, denizlerden, tuzlu topraklardan ve tuzlu yiyeceklerden ve Ölü Deniz, soda gölleri ve tuz üretim havuzları gibi yüksek tuzlu ortamlardan izole edilebilirler. Halofiller içinde anaerobik kemoheterotroflar, fotoototroflar, fotoheterotroflar ve kemolitotroflar gibi birçok fizyolojik grup bulunur. Osmotik basınca uyum sağlamak için hücre yapılarına özgü özelliklere sahiptirler. Örneğin, bazı halofillerin hücre duvarları, düşük tuzlulukta halden daha yüksek tuz konsantrasyonunda daha fazla hidrofilik hâle gelir. Bu mekanizma, yüksek tuzluluk ortamlarında daha fazla su molekülü ile teması kolaylaştırır (Oren, 2002). Ayrıca, hücre zarı yüksek tuz koşullarında etkilenir. Fosfolipidlerin ve yağ asidi profili hem değişikliklere uğrar. Negatif yüklü fosfolipid içeriğinin tuzluluk artışı ile arttığı bilinmektedir (Russell, 1993). Halofillerin proteinleri yüksek tuz konsantrasyonlarında aktif kalmak için özgün özelliklere sahiptir. Tuzlu koşullarda yaşamak, protein bileşiminde asitli amino asitlerin sayısında artışa neden olur (Rao ve Argos, 1981; Benachenhau ve Baldacci, 1991).

1.4.1. Halofillerin biyoteknolojik önemi

Birçok halofilin biyolojik olarak parçalanabilen plastikler olan polihidroksialkanoatları (PHA) biriktirebildiği ortaya çıkarılmıştır (Quillaguamán ve ark., 2010). Halofil kaynaklı ektoin ve hidroksi-ektoinlerin, memeli hücreleri ve ciltler için koruyucu ajanlar olarak ticari kullanımları bulunmaktadır (Lippert ve Galinski, 1992; Pastor ve ark., 2010). Ayrıca, halofil mikroorganizmalar tarafından üretilen alkali enzimlere olan ilgi günden güne artmaktadır (Setati, 2010). İlaveten, birçok halofil mikroorganizma biyo-yüzey aktif madde (BS) ve biyo-emülsiyon (BE) üreticileridir (Satpute ve ark., 2010). Polyhidroksialkanoatlar (PHA), birçok mikroorganizma tarafından sentezlenen ve biyolojik olarak parçalanabilen biyoyuymululardır. PHA'lar biyoplastikler, biyoyakıtlar ve ince kimyasallar gibi çeşitli endüstriyel uygulamalara sahiptir. PHA'nın çeşitli malzeme özelliklerinde 150'den fazla farklı monomer çeşidi bulunmaktadır (Chen, 2009; Chen ve Patel, 2012). Poly-3-hydroxybutyrate (PHB)'nin halofil mikroorganizmalar tarafından birikimi ilk kez 1972 yılında gözlemlenmiş ve o süreden beri daha fazla halofilin PHA sentezlediği ortaya çıkarılmıştır. Örneğin, arke olan *Haloferax mediterranei*'nin %46 PHA üretebildiği bulunmuştur. Daha fazla araştırma, *H. mediterranei*'nin glukoz, ekstrüde nişasta veya hidrolize edilmiş peyniraltı suyu gibi karbonhidratlar kullanıldığında PHA'nın kopolimerini sentezleyebildiğini ortaya koymuştur. Birçok halofil suşun, karbon kaynağı olarak doymamış yağ asidi olmayan karbonhidratlardan PHA sentezledikleri bildirilmiştir. Ayrıca, PHA'daki 3-hidroksivalerat (3HV) için öncü olan dört yol, *H. mediterranei*'de tanımlanmıştır; bunlar arasında sitramalat/2-oksobütirat yolunun, aspartat/2-oksobütirat yolunun, metilmalonil-CoA yolunun ve 3-hidroksipropionat yolunun bulunduğu belirlenmiştir (Han ve ark., 2013). *Halomonas* türleri, antibakteriyel ve sitotoksik bileşikler olan aminofenoksazinonları üretmek için kullanılmıştır (Bitzer ve ark., 2006; Abdelkafi ve ark., 2006). Ayrıca, bir fruktoz homopolimeri olan levanın üretimi için de kullanılmışlardır (Küçükaşık ve ark., 2011). *H. elongata* tarafından ferulik asidin vanilik aside dönüşümü rapor edilmiştir. Ayrıca, karotenoid üretebilen *Halorubrum* türünden son derece halofil bir arke izole edilmiştir

(Naziri ve ark., 2014). *Halanaerobium saccharolyticum* tarafından ham gliserol ile hidrojen ve 1,3-propanediol üretimi için steril olmayan bir biyoproses çalışılmıştır (Kivisto ve ark., 2013). Halofil mikroalg *Dunaliella* türleri, endüstriyel ölçekte β -karoten ve gliserol üretimi için başarıyla kullanılmıştır (Ben-Amotz ve Avron, 1981; Ben-Amotz ve Avron, 1990; Ventosa ve Nieto, 1995; Raja ve ark., 2007). Ayrıca, *Halobacterium* spp. arke hücrelerinde bulunan ve ışıkla çalışan özgün bir proton pompası proteini olan bakteriorodopsin içeren mor membranlar ticari olarak üretilmiştir (Oesterhelt ve Stoeckenius, 1973; Ventosa ve Nieto, 1995; Oren, 2010).

1.4.1.1.Tuzlu atık suların arıtılması

Yağ çıkarma, dericilik veya deniz ürünleri işleme gibi çeşitli endüstriyel süreçler, arıtma sürecinin verimliliğini etkileyen büyük miktarda tuzlu atık birikimine yol açar. Dünya genelindeki sıvı atıkların %5'inin yüksek tuzlu olduğu hesaplanmıştır (Lefebvre ve Moletta, 2006). Geleneksel yöntemler, tuzun mikrobiyal topluluklar üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle Kimyasal Oksijen İhtiyacının (KOİ) giderilmesinde düşük verime sahiptir. Halofil mikroorganizmalar, atık suların yüksek tuzluluğuyla başa çıkmak için plazmolize maruz kalır. Tuzlu atık suların arıtılmasında halofil ve halotolerant mikroorganizmaların kullanılması, işlem verimliliğini artırabilir ve tuzlu atıklardan KOİ giderimi için dikkate değer bir çözüm olarak düşünülebilir. Deri işleme tuzlu atık suları, geleneksel yöntemlerle arıtılması zor olan büyük miktarda tuz içerir. Deri işleme tuzlu atık sularından izole edilen tuz tolere eden bakteriler, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus flexus*, *Exiguobacterium homiense* ve *Staphylococcus aureus* olarak karakterize edilmiş ve biyolojik arıtma sistemlerinde %80'e varan KOİ azalması gösterilmiştir (Sivaprakasam ve ark., 2008). Ayrıca, deri işleme tuzlu deşarjından izole edilen *P. aeruginosa*'dan tuz tolere eden bir proteaz da atık su arıtımı için kullanılmıştır. Proteaz aktivitesi tuz konsantrasyonlarında %4 ile %7 arasında gözlemlenmiştir (Sivaprakasam ve ark., 2011).

1.4.1.2.Enzim üretimi

Çeşitli endüstrilerde kullanılan birçok mikrobiyal enzim bulunmaktadır, ancak ekstrem sıcaklık veya tuz konsantrasyonlarında kararlılık ve karakterizasyon önemli bir sorundur. Halofil mikroorganizmaların bazı enzimleri, işlem sürecinin yüksek

iyonik ortamında kararlılıkları nedeniyle endüstri için istenen adaylar olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, halobakteri enzimlerinin çoğu yüksek sıcaklıklarda da nispeten kararlıdır. Bu nedenle, halobakteriler son yıllarda biyoteknolojinin çeşitli alanlarında kullanılabilecek halofil ekzoenzimlerin faydalı üretimi nedeniyle büyük ilgi çekmektedir. Örneğin, halofil hidrolitik enzimler deterjanlara karıştırılır veya tuzlu atık suların ve gıda endüstri atıklarının arıtılmasında etkili bir yaklaşım olarak kanıtlanmıştır. Çökmeyi önlemek için halofilik enzimler, yüzeylerinde çok sayıda negatif yüklü amino asit kazanmışlardır (Madern ve ark., 2000). Selülozlar, kâğıt, tarım, gıda ve çamaşır endüstrilerinde önemli endüstriyel enzimler olarak bilinirler. Halofil bir bakteri olan *Halomonas* sp. suşu PS47'nin, %6 NaCl tuzlulukta selüloz ürettiği bilinmektedir. En yüksek enzim üretim aktivitesi pH 7.1 ve 50°C'de gerçekleşmektedir (Shivanand ve ark., 2013). Ayrıca, *Vibrio* sp. G21'den tuz tolere eden bir endo- β -1,4-glukanaz olan Cel5A adlı yeni bir selüloz tanımlanmıştır. Bu bakteriden elde edilen enzim, glikozil hidrolazın bir katalitik bölgesine ve bir selüloz bağlama bölgesine sahiptir. *cel5A* geni, enzimin aşırı üretimi için *E. coli*'ye klonlanmıştır (Gao ve ark., 2010). Ayrıca, *Halomonas* sp. S66-4 suşundan yeni bir endoglukanaz tanımlanmıştır. Bu enzim *E. coli*'ye klonlanmış ve en yüksek aktivite (4.9 U/mg) pH 5 ve %6 NaCl'de elde edilen rekombinant enzimle elde edildiği bildirilmiştir (Huang ve ark., 2010). Lipazlar, ilaç, deterjan ve gıda endüstrilerinin çeşitli alanlarında birçok uygulamaya sahip en önemli enzimlerden biridir. Ilımlı halofil *Salinivibrio* sp. suşu SA-2'den ekstraselüler bir lipaz karakterize edilmiştir ve enzimin maksimum aktivitesinin pH 7.5 ve 50°C'de olduğu ve %17 NaCl varlığında aktif kaldığı raporlanmıştır (Amoozegar ve ark., 2008). Proteazların deterjanlarda, çamaşır ve gıda endüstrilerinde kullanımı, bu enzimlerin en yaygın uygulamalarıdır. Proteazlar, ilaç endüstrisi ve biyoremediasyon süreçlerinde oldukça ilgi çekmektedir. Deterjanlar ve gıda endüstrilerinde kullanılmaları nedeniyle ekstremofil proteazlar üzerinde kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. *Pseudomonas* sp. suşu A-14 tarafından üretilen bir ekstraselüler proteaz tanımlanmıştır ve en yüksek aktivitesinin %18 NaCl ve pH 8'de olduğu belirlenmiştir (Van Qua ve ark., 1981). Ayrıca, *Chromohalobacter* sp. suşu TVSP101 tarafından üretilen halotermofil bir proteaz, pH 8'de ve 4.5 M NaCl'de maksimum aktivite göstermekte olduğu raporlanmıştır (Vidyasagar ve ark., 2007). Öte yandan, *Salicola* sp. IC10, %15-20 (w/v) NaCl, pH 8.0 ve 40°C'de

optimum büyüme koşullarında lipaz ve proteaz aktiviteleri sergilemiştir. Bu proteaz, kazein, jelatin, sığır serum albümini ve yumurta albümini hidrolize ederken, enzimin en özgün substratı yumurta albümini olarak belirlenmiştir (De Lourdes Moreno ve ark., 2009). Ksilanazlar, hemiselülozun bir parçası olan ksilanın parçalanmasını sağlarlar ve doğal olarak en yaygın yenilenebilir ikinci kaynak olarak kabul edilen bir kaynak olan ksilanın giderilmesinde kullanılırlar. Ksilanazlar, kâğıt hamurundan kalıntı lignini uzaklaştırmak için kullanılır (Oksanen ve ark., 2000). Ksilanın tam parçalanması, endo-1,4- β -D-ksilanazlar, β -D-ksilozidazlar, α -L-arabinofuranozidazlar, α -D-glukuronidazlar ve asetilksilanesterazları içermektedir (Collins ve ark., 2005). Orta ile aşırı tuzlulukta (%1-30) ve nötrden alkaline pH (6.5-10.5) aralığında büyüyen aerobik ksilanolitik *Gracilibacillus* sp. TSCPVG tarafından üretilen β -ksilanaz ve β -ksilozidaz karakterize edildi. En yüksek büyüme ve enzim aktivitesinin %3.5 NaCl'de elde edildiği bildirilmiştir (Giridhar ve Chandra, 2010). Bu, aşırı halo-alkali-termo-stabil ksilanazın ilk raporu olmuştur (Giridhar ve Chandra, 2010).

1.4.2. Haloversatil bakterilerle yapılan çalışmalar

Çoğu deniz bakterisi, zayıf halofil olarak kategorize edilebilir (Kushner, 1978) ve okyanus sularından izole edilen bakterilerin %5'ten azı ılımlı veya halofil olmayan bakterilerdir (Ventosa ve ark., 1984). Kushner'un tanımına göre (1978), *Halomonas meridiana* sp. nov., NaCl konsantrasyonları %1-3 arasında olan ortamlarda en iyi büyüme gösteren bakteriler grubuna aittir ve zayıf halofil olarak kabul edilmektedir. Bu tanım, *H. meridiana* tarafından tolere edilen tuz konsantrasyonlarının geniş aralığını ifade etmemektedir. "Halotolerant" ve "aşırı halotolerant" terimleri, tuz tolere edebilen geniş bir aralığa sahip olan halofil mikroorganizmaları tanımlamak için kullanılmıştır (Vreeland ve ark., 1980; Franzmann ve ark., 1987; Hebert ve Vreeland, 1987). Hem "halotolerant" hem de "zayıf halofil" terimleri, yeni bir tür olan *Halomonas meridiana*'yı tanımlamak için kullanılabilirken, yeni bir terim olan "haloversatil" bu organizmanın tuzluluk-büyüme ilişkilerini daha net bir şekilde ifade etmektedir (James ve ark., 1990). Haloversatil bakterilerle ilgili çok fazla çalışma olmamasına rağmen, yapılan çalışmalar incelendiğinde bu bakterilerin tuzlu ortamlardan izole edildiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Ellis-Evans 1985 yılında Antarktika kıtasında soğukta yaşayabilen

(psikrofil) nadir mikroorganizmalar izole etmiştir. Bunların çoğunun 20 derecenin altında yaşayabildiği Ellis-Evans (1985) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacı bu mikroorganizmaların arasında *Methanococcoides burtonii*, *Halobacterium lacusprofundi*, *Carnobacterium alterfunditum*, *Carnobacterium funditum*, *Halomonas subglaciescola*, *Halomonas meridiana*, *Flectobacillus glomeratus*, *Flavobacterium gondwanense*, *Flavobacterium salegens* ve *Vesiculatum antarcticum* gibi bakterilerin olduğunu, bunların Antarktika denizden izole edildiğini ve bu bakterilerin haloversatil özellik gösterdiklerini açıklamıştır (Ellis-Evans, 1985). Vreeland ve Huval'ın 1991 yılında yaptıkları bir çalışmada tuz depolarında biriken tuzlu su örneklerinden çeşitli haloversatil bakterilerin izole edildiğini ve bu bakterilerin %0-17 (w/v) tuz konsantrasyonunda gelişebildiğini bildirilmişlerdir (Vreeland ve Huval, 1991). Aynı çalışmada, tuzlu su örneklerinden ılımlı halofil bakteriler (%2-20 NaCl) ve aşırı halofil arkeler de (%12-32 NaCl) izole edilmiştir (Vreeland ve Huval, 1991). Ashour ve arkadaşları, 2011 yılında Doğu Mısır'da Kızıldeniz kıyısında bir liman kenti olan Sagafa kıyılarından 40 adet bakteri izole ettiklerini, bu bakterilerden 25 tanesinin halotolerant, 14 tanesinin ılımlı halofil ve 1 tanesinin haloversatil olduğunu bildirmişlerdir (Ashour ve ark., 2011). Haloversatil izolatın %0-15 NaCl aralığında (optimum %3 NaCl), 30-50°C sıcaklık aralığında (optimum 40°C), pH 5.0-8.5 aralığında (optimum pH 6.0) gelişebildiği Ashour ve arkadaşları (2011) tarafından bildirilmiştir. Bu bakterilerin çoğunun *Bacillus* cinsine, bazılarının ise *Streptococcus* ve *Micrococcus* cinslerine ait oldukları bildirilmiştir (Ashour ve ark., 2011).

İzmir'de bulunan ve deniz suyuna dayalı büyük tuzlalardan biri olan Çamaltı Tuzlasından elde edilen tuz deri sanayinde kullanılmaktadır. Caglayan (2019), 20 tuz örneğinden *Bacillus subtilis* subsp. *stercoris*, *Kocuria sediminis*, *Paracoccus marcusii*, *Kocuria polaris*, *Micrococcus aloeverae*, *Bacillus haynesii*, *Microbacterium maritypicum*, *Brevibacterium frigoritolerans*, *Paracoccus hibiscisoli*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus safensis*, *Staphylococcus petrasii* subsp. *jettensis*, *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus*, *Staphylococcus lentus*, *Bacillus thioparans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter radioresistens*, *Exiguobacterium sibiricum*, *Gordonia alkanivorans*, *Microbacterium aurantiacum*, *Staphylococcus pasteurii*, *Bacillus paraflexus*, *Microbacterium saccharophilum*, *Kocuria rosea*, *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *saprophyticus*, *Micrococcus yunnanensis*, *Pseudomonas*

songnenensis, *Bacillus nealsonii*, *Staphylococcus equorum* subsp. *equorum*, *Agrococcus lahaulensis*, *Sanguibacter inulinus*, *Virgibacillus salarius*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus*, *Bacillus altitudinis*, *Exiguobacterium artemiae*, *Bacillus siamensis*, *Exiguobacterium indicum*, *Bacillus oryzaecorticis*, *Staphylococcus warneri* gibi 40 farklı haloversatil bakteri türü izole edilmiş ve tanımlamıştır (Caglayan, 2019). Bir diğer çalışmada araştırmacılar, ıslatma sıvılarından izole ettiği bakterilerin *Terribacillus halophilus* (HBİ-1 izolatu), *Brevibacterium luteolum* (HBİ-2 ve HBİ-4 izolatları), *Bacillus australimaris* (HBİ-3 izolatu), *Bacillus siamensis* (HBİ-5 izolatu), *Bacillus mojavenensis* (HBİ-6 izolatu) haloversatil türler olduğunu bildirmişlerdir (Ozbay ve Caglayan, 2022).

1.5. Araştırmamızda Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilerek Tanımlanan Haloversatil Bakteriler Hakkında Genel Bilgi

1.5.1. *Bacillus* cinsi

Bacillaceae ailesinin bir üyesi olan *Bacillus* cinsi, hücreleri çomak şeklinde, düz ya da düze çok yakın, endosporları olumsuz ortam şartları karşısında oldukça dayanıklı, Gram-pozitif, peritriköz kamçıları olan aerobik ya da fakültatif anaerob bir bakteri olarak tanımlanmaktadır. Koloni morfolojisi ve boyutları değişiklik göstermektedir. Bazı besiyerlerinde pigment oluşturabilmektedirler. Psikrofil, termofil, asidofil veya alkalifil gibi birçok farklı fizyolojik özellikler göstermektedirler. Bazı *Bacillus* suşları tuza toleranslıdır. Diğerlerinin ise tuz için özel ihtiyaçları bulunmaktadır. *Bacillus* cinsinin hücreleri tek olarak ya da uzun zincirler şeklinde görülebilir (Claus ve Berkeley, 1986). *Bacillus* cinsinin suşları proteolitik enzimler (proteinleri parçalayan enzimler) ve karbonhidraz enzimleri (karbonhidratları parçalayan enzimler) yönünden önemli bir kaynaktır (Claus ve Berkeley, 1986). Farklı türlerin asit, nötr ve alkali pH aralıklarında ferment etme yeteneği, cinsteki termofillerin varlığıyla birleştiğinde, istenen sıcaklık, pH aktivitesi ve stabilite özelliklerine sahip çeşitli yeni ticari enzim ürünlerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Schallmey ve ark., 2004). *Bacillus* cinsleri ılımlı halofillerdir ve tuzlu ya da aşırı tuzlu topraklar, göller ve denizlerden sık sık izole edilmişlerdir (Arahal ve Ventosa, 2002; Ventosa, 2006). Bu bakterilerin optimum gelişebildikleri ortam %3-15 NaCl içeren besiyeridir (Ventosa ve ark., 1998).

1.5.1.1. *Solibacillus silvestris*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Familya: *Caryophanaceae*

Cins: *Solibacillus*

Tür: *Solibacillus silvestris*

Solibacillus, topraktan izole edilen *Bacillus* benzeri bir organizma olarak tanımlanır. Bu bakteriler Gram-pozitif ve çubuk şeklinde hücrelere sahiptir. Yuvarlak endosporlar, şişmiş sporangialarda terminal olarak oluşur. Bu organizmalar katalaz pozitif, oksidaz, Voges-Proskauer, nitrat indirgeme ve indol oluşturma testlerinde negatiftir (Rheims ve ark., 1999; Krishnamurthi ve ark., 2009).

1.5.1.2. *Bacillus licheniformis*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Bacillus*

Tür: *Bacillus licheniformis*

Merkezi veya subterminal elipsoid endosporlar şişmiş sporangiumlarla birlikte görünür. Katalaz üretir ancak oksidaz üretmez. Nitrat indirgeme, arginin dihidrolaz, üreaz, eskülin hidrolizi, jelatin hidrolizi, kazein hidrolizi, nişasta hidrolizi ve β -galaktosidaz aktivitesi

için pozitif sonuçlar gösterir (Dunlap, 2015). Saito (1973), α -amilaz enzimini üretmekte olan, termofilik *Bacillus licheniformis*'i izole ettiğini bildirmiştir. *B. licheniformis*'in çok uzun zamandır çeşitli enzimlerin ve antibiyotiklerin üretiminde kullanıldığını araştırmacılar bildirmişlerdir (Rothstein ve ark., 1986; De Clerck ve ark., 2004). *B. licheniformis*'in ürettiği α -amilaz enzimi, nişasta polimerlerindeki α -1,4-O-glikozidik bağlarını hidroliz ederek katalizler ve nişastanın parçalanmasına neden olur (Saito, 1973). Alfa-amilaz enziminin en değerli özelliği metalloenzimlerdir ve bu sebeple enzimatik etkinliği ve stabilite için Ca^{+2} iyonuna gereksinim duyar (Kindle, 1983). Bu tür *Bacillus subtilis* ile filogenetik açıdan yakın ilişkilidir. Doğada ve toprakta sıklıkla karşımıza çıkan saprofitik bir bakteridir. Birçok hidrolitik enzimi üretebilme ve salgılayabilme yeteneğine sahip olan bu hücreler, farklı substratları parçalayabilir. Bu sebeple *Bacillus licheniformis* endüstriyel açıdan önemli hâle gelmektedir (Frankena ve ark., 1985; Schroeter ve ark., 2011).

1.5.1.3. *Bacillus sonorensis*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Bacillus*

Tür: *Bacillus sonorensis*

Bitkisel hücreler çubuk şeklindedir ve fotomikrograf ölçümleriyle belirlendiği üzere 1.0 μm genişliğinde ve 2-5 μm uzunluğundadır. Hücreler sıklıkla tek tek oluşur ancak iki ila dört hücreden oluşan birkaç zincir de görülür. Gram-pozitif, hareketli, katalaz pozitif, fakültatif anaerobiktir. Maksimum büyüme sıcaklığı yaklaşık 55°C, minimum ise yaklaşık 15°C'dir. Büyüme pH 5.7'de gerçekleşir. Büyüme %3 NaCl'de gerçekleşir ancak %5, %7 veya %10 NaCl'de gerçekleşmez (Palmisano ve ark., 2001).

1.5.1.4. *Bacillus pumilus*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Bacillus*

Tür: *Bacillus pumilus*

Bacillus pumilus bakterisi aerobiktir. Toprakta ve bazı bitkilerin köklerinde bulunmaktadır. Antifungal ve antibakteriyal etkinliğe sahip olduğu için bu özelliği sayesinde bitkilerle simbiyotik bir şekilde yaşar ve bitki gelişmesini destekleyici olarak rol oynar (Sari ve ark., 2007; Joo ve ark., 2004). *Bacillus pumilus*'tan elde edilen proteaz enzimi gıda, deterjan, kimya ve deri endüstrisinde kullanılır (Pan ve ark., 2004). *Bacillus pumilus*'un üretmiş olduğu hücre dışı enzim olan alkalın serin proteaz Çin'de deri sanayisinde kıl giderme aşamasında kullanılır (Pan ve ark., 2004). Bu bakteri düşük besin değerinde olan koşullarda, hidrojen peroksitte (H₂O₂), kimyasal dezenfeksiyonda ve diğer zor koşullarda endospor oluşturabildiğinden dolayı dirençlidir (Parvathi ve ark., 2009).

1.5.1.5. *Bacillus amyloliquefaciens*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Bacillus*

Tür: *Bacillus amyloliquefaciens*

Gram-pozitif çubuklar, hücreler genellikle zincirler oluşturur ve hareketlidir, peritrik flagella ile birliktedir, oval sporlar, şişmemiş sporangia'da merkezi veya parasantraldir. Gelişme için en uygun sıcaklık 30 ile 40°C'dir. 15°C'nin altında veya 50°C'nin üzerinde üreme meydana gelmez. *Bacillus amyloliquefaciens*, dünyadaki amilaz ve proteazın üretiminin çoğundan sorumludur (Priest ve ark., 1987). *Bacillus amyloliquefaciens*, dünya çapında α -amilaz ve proteazın büyük bir kısmından sorumludur. Daha öncesinde *Bacillus subtilis* ile yakın akrabalığı tespit edilmiş olup, organizma, "*B. subtilis* subsp. *amyloliquefaciens*" (Tsuru, 1962) alt tür statüsü verilmiştir veya *B. subtilis*'e ekstraselüler enzimlerin bol miktarda üretildiği bir varyant olarak dâhil edilmiştir (Gordon ve ark., 1973). Bu nedenle, "*Bacillus amyloliquefaciens*", *B. subtilis* ve *B. subtilis* grubunu oluşturan diğer iki tür olan *Bacillus licheniformis* ve *Bacillus pumilus* ile yakından ilişkilidir. Bu organizmalar birçok ortak özelliği paylaşmakta olup, aralarında ayrım yapılabilen çok az karakter bulunmaktadır (Gordon ve ark., 1973).

1.5.1.6. *Bacillus cereus*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Bacillus*

Tür: *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, spor oluşturan, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Hücreleri çubuk şeklinde olduğundan dolayı "*Bacillus*" (çubuk) adını taşır. "*Cereus*" (mum) adı, agar tabakalarında kolonilerinin mumumsu bir görüntü oluşturduğu için bu isim verilmiştir (Frankland ve Frankland 1887). *Bacillaceae* ailesinde bulunan *Bacillus cereus* çoğunlukla toprakta, hububatta, baharatlar, kuru gıdalar, et, süt ve yumurtada bulunur. *Bacillus cereus*, Gram-pozitif bir bakteridir (uzun süre boyunca beklemiş suşlarda değişiklik gösterebilmektedir), endospor oluştururlar. Bitkilerin üstünde de yaygınca bulunan *Bacillus cereus*, sentral ya da subterminal şekildedir, elipsoidal sporları vardır.

Peritrik flagellalar sebebiyle hareketli, aerobik ve aerob-fakültatif anaerob şartlarda üreyebilmektedir (Wijnands, 2006). 4 ile 55°C arasında geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilirler ve optimum üreme 30-40°C arasındadır (Roberts ve ark., 1996). Mikroskop ile incelendiğinde hücreler çomak şeklinde, çift çift veya zincir şeklinde, 1.2-10 µm uzunlukta, 0.5-2.5 µm genişlikte görülmektedir (Holt ve ark., 1994). *Bacillus cereus*, lesitinaz enzimi pozitif, ampisiline dirençli ve hemolitik etkinlik göstermektedir. Karbon kaynağı mannitol, arabinoz, ksiloz yerine glikozu kullanır. Bunun yanı sıra *Bacillus cereus* nişasta ve jelatini hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir ve nitrata da indirgeyebilir (Agata ve ark., 2002).

1.5.1.7. *Bacillus paralicheniformis*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Bacillus*

Tür: *Bacillus paralicheniformis*

Hücreler Gram-pozitif, fakültatif anaerobik, hareketli, endospor oluşturan çubuklardır. Merkezi veya subterminal elipsoidal endosporlar şişmiş sporangiumlarla birlikte gözlenir. Katalaz üretir ancak oksidaz üretmez. Nitrat azaltımı, arginin dihidrolaz, üreaz, eskülin hidrolizi, jelatin hidrolizi, kazein hidrolizi, nişasta hidrolizi ve β-galaktosidaz aktivitesi için pozitif sonuçlar vermektedir. Asit glikozdan üretilir. Sitrik asit kullanmaz. L-alanin, süksinik asit ve D-glukuronik asit kullanılması ve D-galaktoz, L-piroglütamik asit, D-galakturonik asit, musik asit veya D-sorbitol kullanılmaması temelinde en yakın akrabalarından ayırt edilebilir. Basitrasin, fengycin ve lantipeptid üretir. Likenisidin üretmez. Hücre duvarı peptidoglikanı mezo-diaminopimelik asit içerir (Dunlap, 2015).

1.5.1.8. *Virgibacillus proomii*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Virgibacillus*

Tür: *Virgibacillus proomii*

Hücreler hareketli, Gram-pozitif, genellikle uzun çubuklardır, bazen özellikle eski kültürlerde zincirler ve/veya filamentler oluştururlar. Şişmiş sporangia'da terminal, bazen subterminal pozisyonlarda bulunan küresel ila elipsoidal endosporlar taşırlar. Organizmalar fakültatif olarak anaerobik ve katalaz pozitifdir. Büyüme 15°C ile 50°C arasında, optimum sıcaklığın ise yaklaşık 37°C arasında gerçekleşebilir. Gazsız asit N-asetilglukozamin, arbutin, D-fruktoz, galaktoz, D-glikoz, inositol, maltoz, D-mannoz, riboz, salisin, D-tagatoz ve trehaloz gibi karbonhidratlardan üretilirken, amigdalin, selobiyoz ve glukonat (bu üçü genellikle negatif), glikojen, metil a-D-glukozit, ramnoz, nişasta ve sakaroz. karbonhidratlarından asit üretimi değişkendir. Adonitol, D- veya L-arabinoz, D- veya L-arabitol, dulsitol, eritritol, D- veya L-fukoz, P-gentiobiyoz, gliserol, inülin, laktoz, D-liksoz, mannitol, D-melibioz, D-melezitoz, metil a-D-mannosid, metilksilosid, D-rafinoz, sorbitol, L-sorboz, D-turanoz, ksilitol veya D- veya L-ksiloz gibi karbonhidratlardan asit üretilmez (Heyndrickx ve ark., 1998).

1.5.1.9. *Bhargavaea ginsengi*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Caryophanaceae*

Cins: *Bhargavaea*

Tür: *Bhargavaea ginsengi*

Bacillus beijingensis ve *Bacillus ginsengi*, Nisan 2009'da ginseng kök dokusundan izole edilen yeni türler olarak rapor edilmiştir (Qiu et al., 2009); kısa bir süre sonra, Ekim 2009'da *Bhargavaea* adlı yeni bir cins tanıtılmıştır (Manorama ve diğ., 2009). *Bhargavaea* cinsinin tanımı, Manorama ve diğerleri (2009) tarafından verilen tanımla aynıdır, ancak aşağıdaki değişikliklerle birlikte hücreler çubuktan kokoid çubuğa kadar değişen şekildedir. Bazı suşlar üreaz üretebilir. *Bhargavaea ginsengi* Gram-pozitif, hareketsiz, orta derecede tuz tolere edebilen ve spor oluşturmeyen organizmalardır. L-lizin, b-galaktozidaz, galaktozidaz, D-galaktoz, glikojen, D-mannoz, D-mannitol, D-glukoz, D-riboz negatiftir. Esteraz ve esteraz lipaz pozitifdir (Verma ve arkadaşları, 2012).

1.5.1.10. *Oceanobacillus polygona*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Oceanobacillus*

Tür: *Oceanobacillus polygona*

Oceanobacillus polygona hücreleri Gram-pozitif, peritriş kamçılı, düz çubuklardır ve şişmiş sporangia içinde merkezi bir konumda elipsoidal sporlar üretirler. Katalaz ve oksidaz pozitifdir. Gelişim sıcaklığı aralığı 5-48°C'dir ve optimum gelişme 35°C'de görülmektedir (pH 10). Büyüme için NaCl konsantrasyonu aralığı %3-12'dir ve optimum %3'tür (pH 10). Kazeini hidrolize eder ancak jelatin, nişasta, ksilan, selüloz veya Tween 20, Tween 40, Tween 60 ve Tween 80'i hidrolize etmemektedir. Gliserol, D-riboz, D-ksiloz, D-glikoz, D-fruktoz, D-mannoz, inositol, mannitolden asit üretilir (Hirota, 2013).

1.5.1.11. *Ornithinibacillus scapharcae*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Ornithinibacillus*

Tür: *Ornithinibacillus scapharcae*

Ornithinibacillus scapharcae hücreleri Gram-pozitif, aerobiktir, peritrik flagella ile hareketlidir ve çubuk şeklindedir. Suş hemolitik aktiviteye sahiptir ve endospor oluşturur. Sporlar küreseldir ve şişmiş sporangia'nın bir terminalinde veya her iki terminal pozisyonunda bulunurlar. Katalaz ve oksidaz pozitif. Büyüme çeşitli koşullar altında gerçekleşir: 10-37°C; %0-%5 NaCl ve pH 7-10. Optimum büyüme, %1 NaCl varlığında 30°C'de ve pH 8-9'da gerçekleşir (Shin ve ark., 2012).

1.5.1.12. *Alkalihalobacillus clausii*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Bacillales*

Aile: *Bacillaceae*

Cins: *Alkalihalobacillus*

Tür: *Alkalihalobacillus clausii*

Alkalihalobacillus, alkali ve tuzlu koşullarda yaşayan bir bakteri cinsidir. *Alkalihalobacillus clausii*, *Bacillus* taksonomisine temel katkılarda bulunan Alman bakteriyolog Dieter Claus'a ithafen Claus'un adından türetilerek '*clausii*' adını almıştır. *Alkalihalobacillus clausii* antimikrobiyal bileşikler üretimi nedeniyle probiyotik aktivite

sergilemektedir. Antimikrobiyal aktivite ve bağışıklık düzenleyici etkiler gibi birçok sağlık yararı rapor edilen potansiyel bir probiyotik suştur (Patel, ve Gupta, 2020).

1.5.2. *Staphylococcus* cinsi

Stafilokok cinsi ilk defa 1880 yılında İskoçyalı Cerrah Sir Alexander Ongston bir hastanın diz eklemesindeki apsede tanımlamıştır. Bundan sonra Ongston apsedен izole ettiği bakterileri sağlıklı kobaylar ve fareler üzerindeki deneyler sonucunda apseleri yeniden oluşturmuş ve bu bakteri etkeninin enfeksiyöz özellikte olduğunu kanıtlamıştır. Mikroskop ile yaptığı incelemelerde etken üzüm salkımı şekline benzediğinden dolayı Yunanca üzüm salkımı anlamına gelen **staphylo**, tane anlamına gelen **coccus** ile “*Staphylococcus*” olarak adlandırılmıştır (Adams ve Moss, 2008; Myles ve Datta, 2012; Henry, 2013).

1.5.2.1. *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Staphylococcaceae*

Cins: *Staphylococcus*

Tür: *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*

Staphylococcus hominis subsp. *hominis* koloniler ya pigmentlidir (krem-sarıdan sarı-turuncuya kadar) ya da pigmentsizdir (gri-beyaz). Optimum büyüme sıcaklığı 35°C’dir. Tüm suşlar, D-glikoz, P-D-fruktoz, maltoz, sukroz ve gliserolden aerobik olarak asit üretir. D-ksiloz, L-arabinoz, D-sorbitol, D-sellobiyoz, salisin ve D-rafinozdan asit üretilmez. Üreaz pozitifdir, arjinini ve glukozu kullandıkları bilinmektedir. DNA G+C içeriği %30-36 mol’dür. *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* genellikle insan derisinden ve bazen de klinik örneklerden izole edilmiştir (Kloos, 1998).

1.5.2.2. *Staphylococcus warneri*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Staphylococcaceae*

Cins: *Staphylococcus*

Tür: *Staphylococcus warneri*

Staphylococcus warneri kolonileri 0.5-1.2 µm çapında küresel şekildeki hücrelerin tek tek, çiftler halinde veya dördü bir araya gelmeleri ile oluşmuştur. Hücre duvarları gliserol, glukoz, teikoik asit, ve N-asetilglukozaminden oluşmaktadır. Koloniler düz, çoğunlukla ortası yüksek, opak renkte, yüzeyleri parlaktır. Tek tek oluşan koloniler selektif olmayan katı besiyerinde 3-6 mm çapında koloniler oluşturabilmektedirler. Koloniler yaşlandıkça yağlı ve yapışkanimsi bir yapıda olurlar. Birçok izolat 15-45°C sıcaklık aralığında gelişmesine rağmen, optimum olarak 30-40°C’de gelişme gösterir (Brenner, 2005). *S. warneri* balıklarda cilt altında yerleşmiş olan, nadiren insanlarda enfeksiyona sebep olan oportunist bir balık patojenidir (Gil ve ark, 2000).

1.5.2.3. *Staphylococcus nepalensis*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Bacillota*

Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Caryophanales*

Aile: *Staphylococcaceae*

Cins: *Staphylococcus*

Tür: *Staphylococcus nepalensis*

Staphylococcus nepalensis türü ilk kez Spergser ve arkadaşları tarafından (2003) Himalaya bölgesindeki (Nepal) keçilerin solunum yollarından alınmış örnekler ile izole edilmiştir (Spergser ve ark., 2003). *Staphylococcus nepalensis*, %10 tuz içeren kompleks agar besiyerinde beyaz renkte koloniler oluşturur, Gram pozitif, morfolojik yapısı kok şeklindedir. Optimum üreme %10 tuz içeren ortamlarda, 30-37°C de ve pH 7'de gerçekleşir. Endospor oluşturmazlar, hareketsiz, pozitif katalaz ve metil kırmızısı reaksiyonları gösteren, oksidaz negatif sonuç veren hücrelerdir. Bu türün hücreleri 1.1-1.6 µm çapında ve hareketsizlerdir. Katalaz pozitif mikroorganizmalardır. Genomik DNA'nın G+C oranının %33 mol. olduğu belirtilmiştir (Spergser ve ark., 2003; Kloos ve Schleifer, 1986).

1.5.2.4. *Kocuria rosea*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Actinomycetota*

Sınıf: *Actinomycetes*

Takım: *Micrococcales*

Aile: *Micrococcaceae*

Cins: *Kocuria*

Tür: *Kocuria rosea*

Hücreler küreseldir ve çiftler, tetradlar ve kümeler halinde oluşurlar. Koloniler dairesel, hafif dışbükey, pürüzsüz (bazen pürüzlü) ve pembe veya kırmızıdır. Suda çözünebilen eksopigment oluşmaz. Koloni morfolojisi ve rengi yaşla birlikte daha belirgin hale gelir; hücre morfolojisi kültür yaşına veya ortama bağlı değildir. %7.5 NaCl'e kadar NaCl konsantrasyonlarında gelişim göstermektedir. Oksidaz testi negatiftir (nadiren zayıf pozitif). Üreaz, lesitinaz, fosfataz, galaktosidaz negatiftir. Eskülin ve jelatinin hidrolizi negatiftir; Tween 80 ve nişastanın hidrolizi suşlar arasında değişir. Asetoin üretimi negatif veya zayıftır; indol ve hidrojen sülfür üretilmez. Mannoz, galaktoz, laktoz ve gliserolden asit oluşmaz; Glikozdan asit üretimi değişkendir. Optimum büyüme sıcaklığı 25 -37°C arasındadır. Tüm suşlar tetrasiklin, eritromisin, oleandomisin, novobiyosin, metisilin, kanamisin, polimiksin,

vankomisin, penisilin G, streptomisin, kloramfenikol ve neomisin'e duyarlıdır. Lizozime karşı hafif dirençli veya dirençlidir (Stackebrandt ve ark., 1995).

1.5.2.5. *Micrococcus luteus*

Domain: *Bacteria*

Şube: *Actinomycetota*

Sınıf: *Actinomycetes*

Takım: *Micrococcales*

Aile: *Micrococcaceae*

Cins: *Micrococcus*

Tür: *Micrococcus luteus*

Hücreler Gram-pozitif kok şeklindedir. Katalaz pozitifdir, aerobiktir. Büyüme 4 - 45°C'de ve pH 5-12'de ve %10 NaCl varlığında gerçekleşir. Jelatin ve nişasta hidrolize edilmez. Esteraz ve lipaz pozitifdir. D-glikoz, D-mannoz, üreaz, reaksiyonları değişkendir (Huang ve ark. 2019).

BÖLÜM 2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Besiyerleri

2.1.1.1. NaCl içermeyen halofil besiyeri (pH 7.0) (Ventosa ve ark., 1982)	
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
Distile su	1000 mL
FeCl	100 µL
Glukoz	1 g
KCl	2 g
Maya özütü	10 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
NaBr	0.23 g
Agar	20 g
Proteaz Pepton	5 g

2.1.1.2. %1.17 NaCl içeren halofil besiyeri (0.2 M, pH 7.0)	
NaCl	11.7 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.3. %2 NaCl içeren halofil besiyeri (0.34 M, pH 7.0)	
NaCl	20 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 Ml

2.1.1.4. %3 NaCl içeren halofil besiyeri (0.51 M, pH 7.0)	
NaCl	30 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.5. %5 NaCl içeren halofil besiyeri (0.85 M, pH 7.0)	
NaCl	50 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.6. %8 NaCl içeren halofil besiyeri (1.36 M, pH 7.0)	
Agar	20 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
Distile su	1000 mL
FeCl	100 µL
Glikoz	1 g
KCl	2 g
Maya özütü	10 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
NaBr	0.23 g
NaCl	80 g
Proteaz Pepton	5 g

2.1.1.7. %10 NaCl içeren halofil besiyeri (1.7 M, pH 7.0)	
Agar	20 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
Distile su	1000 mL
FeCl	100 µL
Glukoz	1 g
KCl	2 g
Maya özütü	10 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
NaBr	0.23 g
NaCl	100 g
Proteaz Pepton	5 g

2.1.1.8. %12 NaCl içeren halofil besiyeri (2 M, pH 7.0)	
Agar	20 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
Distile su	1000 mL
FeCl	100 µL
Glukoz	1 g
KCl	2 g
Maya özütü	10 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
NaBr	0.23 g
NaCl	120 g
Proteaz Pepton	5 g

2.1.1.9. %15 NaCl içeren halofil besiyeri (2.5 M, pH 7.0)	
Agar	20 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
Distile su	1000 mL
FeCl	100 µL
Glukoz	1 g
KCl	2 g
Maya özütü	10 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
NaBr	0.23 g
NaCl	150 g
Proteaz Pepton	5 g

2.1.1.10. %17.5 NaCl içeren halofil besiyeri (3 M, pH 7.0)	
NaCl	175 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.11. %20 NaCl içeren halofil besiyeri (3.4 M, pH 7.0)	
NaCl	200 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.12. %25 NaCl içeren halofil besiyeri (4.2 M, pH 7.0)	
NaCl	250 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.13. %30 NaCl içeren halofil besiyeri (5.1 M, pH 7.0)	
NaCl	300 g
KCl	2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.36 g
FeCl	100 µL
NaBr	0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaHCO ₃	0.06 g
Proteaz Pepton	5 g
Maya özütü	10 g
Glukoz	1 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.14. Nişasta besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
Nişasta	25 g
NaCl	11.7 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

Otoklavda 20 dakika 121°C’de steril edilmiştir (Caglayan, 2019).

2.1.1.15. Pullulan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
AZCL-pululano	10 g
NaCl	11.7 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

Otoklavda 10 dakika 121°C’de steril edilmiştir (Caglayan, 2019).

2.1.1.16. Selüloz besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
Karboksimetil selüloz	2 g
CaCl ₂ .6H ₂ O	0.2 g
KCl	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	20 g
Kazaminoasit	1 g
Maya özütü	1 g
NaCl	11.7 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.17. Üre agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
A Eriyiği	
Pepton	1 g
D-Glukoz	1 g
Mono potasyum fosfat (KH ₂ PO ₄)	2 g
Fenol kırmızısı (% 0.2)	6 mL
Agar	20 g
%1.17 NaCl içeren tuzlu su	866 mL
B Eriyiği	
Üre	20 g
%1.17 NaCl içeren tuzlu su	134 mL

2.1.1.18. Ksilan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
NaCl	11.7 g
AZCL-Xilano	10 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

121°C’de 10 dakika otoklavda steril edilmiştir (Caglayan, 2019).

2.1.1.19. Jelatin agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
Trypton	5 g
Maya Özütü	5 g
CaCl ₂ .6H ₂ O	0.2 g
Jelatin	20 g
KCl	2 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	20 g
NaCl	11.7 g
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

2.1.1.20. Kazein agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
A Eriyiği	
Trypton	20 g
Agar	20 g
%1.17 NaCl içeren tuzlu su	500 mL
B Eriyiği	
Skim milk	20 g
%1.17 NaCl içeren tuzlu su	500 mL

Bu ayrı iki erlen 10 dakika 121°C’de steril edilmiştir. Otoklav işlemi uygulanmıştır ve sonrasında karıştırılarak steril petri kapları içerisine dökülmüştür (Caglayan, 2019).

2.1.1.21. DNaz besiyeri (%2 NaCl, pH 7.0)	
DNaz agar	42 g
NaCl	20 g
Distile su	1000 mL

Otoklavda 20 dakika 121°C’de steril edilmiştir (Caglayan, 2019).

2.1.1.22. Tween 80 agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	
TS10	1000 mL
Maya ekstraktı	5 g
pH	7.0
Agar	20 g
Distile su	1000 mL

Otoklavda 121°C’ de 20 dakika sterilizasyonu yapıldıktan sonra besiyerine 10 g Tween 80 ilave edilmiştir.

2.1.1.23. Mueller Hinton Agar besiyeri	
Et özütü	2.0 g
Kazein (hidrolizat)	17.5 g
Nişasta	1.5 g
Agar	17.0 g
Distile su	1000 mL

121°C’ de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Barnett ve Venghaus, 1989; Birbir ve ark., 2002).

2.1.2. Kullanılan Çözeltiler

2.1.2.1. Kongo kırmızısı	
Kongo kırmızısı	0.1 g
Distile su	1000 mL

2.1.2.2.Frazier ayıracı	
HgCl ₂	12.4 g
HCl	16 mL
Distile su	80 mL

2.1.2.3.Katalaz test ajanı	
Hidrojen peroksit	3 mL
Distile su	100 mL

2.1.2.4.Oksidaz test ajanı	
Dimetil-p-fenilendiamin hidroklorid	1 g
Distile su	100 mL

2.1.2.5.McDowell-Trump fiksatif	
0.2 M fosfat tamponu	50 mL
%37 formaldehit	11 mL
%25'lik gluteraldehit	4 mL

2.1.2.6.0.2 M fosfat tamponu	
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	3.56 g
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	3.12 g
Distile su	100 mL

2.1.2.7.0.1 M fosfat tamponu	
0.2 M fosfat tamponu	500 mL
Distile su	500 mL

2.1.2.8. %35 etanol	
Etanol	35 mL
Distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.	

2.1.2.9. %50 etanol	
Etanol	50 mL
Distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.	

2.1.2.10. %75 etanol	
Etanol	75 mL
Distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.	

2.1.2.11. %95 etanol	
Etanol	95 mL
Distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.	

2.1.2.12. %2'lik osmiyum tetroksit	
Osmiyum tetroksit ampülü	1 g
Distile su	50 mL

2.1.2.13. %4'lük glutraldehit çözeltisi	
0.2 M fosfat tamponu	50 mL
%25'lik glutraldehit	16 mL

2.1.2.14. Gram'ın iyot çözeltisi	
Potasyum iyodür	2 g
İyot kristalleri	1 g
Steril distile su	300 mL

2.1.2.15. Kristal viyole çözeltisi	
Çözelti A	
Kristal viyole (%85)	2 g
Etil alkol (%95)	20 mL
Çözelti B	
Amonyum okzalat	0.8 g
Steril distile su	80 mL

2.1.2.16. Safranin çözeltisi (Norrell ve Messley, 1997)	
Safranin	2.5 g
% 95’lik Etil alkol	100 mL
Steril distile su	100 mL

2.1.2.17. 0.5 No’lu Mc Farland bulanıklık standardı	
0.18 M H ₂ SO ₄	9.95 mL
0.048 M BaCl ₂	0.05 mL

Baryum klorür çözeltisi ve sülfürik asit çözeltisi oldukça iyi şekilde karıştırılmıştır (Çetin, 1980).

2.1.2.18. %1’lik Amino asit içeren solüsyonlar (L-sistein, glisin, L-treonin, L-prolin, L-histidin)

%1’lik L-sistein solüsyonu	
L-sistein	10 g
Steril distile su	100 mL

%1’lik glisin solüsyonu	
Glisin	10 g
Steril distile su	100 mL

%1'lik L-treonin solüsyonu	
L-treonin	10 g
Steril distile su	100 mL

%1'lik L-prolin solüsyonu	
L-prolin	10 g
Steril distile su	100 mL

%1'lik L-histidin solüsyonu	
L-histidin	10 g
Steril distile su	100 mL

2.1.2.19. 1X Tris-asetat ve EDTA (Tris Asetat) çalışma tamponu

100 mL aldığımız 10X Tris Asetat (TAE) stok tamponu distile su ile 1000 mL'ye tamamlanacak ve 1X TAE çalışma tamponu hazırlanmıştır.

2.1.2.20. Jel-yükleme boyası

GelPilot 1 kb ladder (100) jel yükleme boyası jeldeki kuyucuklara yükleme öncesinde ekstre edilmiş DNA veya PCR ürünü ile karıştırılmıştır.

2.1.2.21. Ladder DNA	
1 kb DNA ladder	10 µL
Jel-yükleme boyası	90 µL

Yukarıda belirtilen malzemeler eppendorf tüpünün içerisine konularak +4°C'de saklanmıştır.

2.1.2.22. Agaroz jel	
Agaroz SeaKem LE	0.4 g
1X TAE çalışma tamponu	40 mL

Yukarıda belirtilen malzemeler erlen içerisinde konularak mikrodalga fırında 560°C’de 1 dakika bırakılmıştır. Mikrodalga fırından alındıktan 5 dakika sonra jel tepsinine dökülmüştür.

2.1.2.23. Nükleotid karışımı	
dNTP karışımı	125 µL
Steril ddH ₂ O	875 µL

Yukarıda belirtilen malzemeler eppendorf tüpü içerisinde 1 ml konularak -20°C’de saklanmıştır.

2.1.2.24.Primerler	
Primer	12 µL
Steril ddH ₂ O	88 µL

Yukarıda belirtilen malzemeler eppendorf tüpü içerisinde 1 ml konularak -20°C’de saklanmıştır.

2.1.2.25.Stok antimikrobiyal madde solüsyonunun hazırlanması	
Potasyum dimetil-ditiyokarbamat (50%)	2 g (2000.000 µg)
Steril distile su	10 mL

2 g antimikrobiyal madde tartılarak 10 mL distile su ile karıştırılarak stok solüsyon (200.000 µg/mL) hazırlanmıştır.

2.1.3.Araçlar ve gereçler

Fen Edebiyat Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarında mevcut bulunan Pasteur Fırını (Kermanlar), Distile Su Cihazı (GFL), pH Metre (WTW), Buzdolabı (Arçelik), Elektroforez tankı, Terazi (Sartorius Analytic), Güç kaynağı, Etüv (Nüve EN500), Görüntüleme sistemi, Otoklav (Web MLW), Biyogüvenlik Kabini, Vortex Tüp Karıştırıcısı (Nüve), Mikroskop (Olympus), Santrifüj (Sigma), Çalkalamalı Etüv (Edmund Bühler), Santrifüj aleti, Mikrodalga fırın (Arçelik), PCR aleti, Çeker Ocak kullanılmıştır.

2.2.Yöntem

2.2.1. Küçükbaş hayvan derilerinin tabakhanelerden toplanması

Bu projede incelenen küçükbaş hayvan derisi numuneleri Tuzla Deri Organize Sanayi bölgesindeki tabakhanelerden temin edilmiştir.

2.2.2. Haloversatil özellik gösteren bakterilerin toplam sayısının belirlenmesi ve izole edilmesi

Küçükbaş hayvan derilerinde var olan toplam haloversatil bakteri sayısı, toplam proteaz ve toplam lipaz üreten haloversatil bakteri sayılarını belirlemek için her bir deri numunesinden 20'şer gram alınarak her birine 180 mL %1.17 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su içerisine eklenmiştir ve çalkalayıcı etüv aracılığıyla 37°C'de 200 rpm'de 4 saat çalkalanmıştır. Hazırladığımız numunelerden 1 mL alınarak 9 mL %1.17 NaCl içeren steril tuzlu su içerisine eklenerek karıştırılmıştır (10^1). Seyreltme işlemi 10^{-6} 'ya kadar yapılmıştır. Toplam haloversatil, toplam proteaz ve toplam lipaz enzimi üreten haloversatil bakteri sayılarını saptamak için 100 µL direkt ve seyreltilmiş bakteri dilüsyonlarından (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6}) alarak yayma plak yöntemi ile %15, %20 ve %25'lik NaCl içeren agarlı besiyerlerine ayrı ayrı ekim işlemi yapılmıştır. Ekim işlemi yaptığımız petri kapları 35°C'de 7 gün inkübe edilmiştir ve inkübasyon süresi sonucunda besiyerlerinde üremiş olan koloniler sayılmıştır. Elde ettiğimiz koloni sayıları ve seyreltme katsayısını çarparak ham deri numunelerinin 1 gramında mevcut olan toplam haloversatil, toplam proteaz ve toplam lipaz üreten haloversatil bakteri sayıları hesaplanmıştır. Besiyerlerine örneklerin ekimi üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır (Gonzales ve ark., 1978; Montalvo-Rodriguez ve ark., 1998; Harley ve Prescott, 2002). Farklı pigmentasyona sahip izolatlar seçilerek %1.17 NaCl içeren halofil besiyerine saf kültürleri elde edilene kadar çizgi ekimi yapılmıştır (Caglayan, 2019).

2.3.Haloversatil Bakterilerin En Uygun Geliştikleri Tuz Konsantrasyonlarının, Sıcaklık ve pH Değerlerinin Belirlenmesi

2.3.1.Haloversatil bakterilerin tuz konsantrasyonlarının belirlenmesi

Tuz içermeyen ve farklı tuz (%1.17, %2, %3, %5, %8, %10, %12, %15, %17.5, %20, %25, %30 NaCl) seviyelerine sahip halofil besiyerleri otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edilmiştir. Daha sonra ise petri kutularına dökülmüştür. Küçükbaş hayvan derilerinde izole edilen haloversatil bakteriler hazırlanan halofil besiyerlerine çizgi ekim yöntemiyle ekilmiştir. Ekim yapılan petriler 35°C’de bir gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bu süreçte izolatların petrideki gelişimleri ve gelişim gösterdikleri optimum tuz yüzdeleri araştırılmıştır (Caglayan, 2019).

2.3.2.Haloversatil bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişimlerinin belirlenmesi

Ayrıca haloversatil özellik gösteren izolatlar %1.17 NaCl ile hazırlanarak (pH 7.0) halofil besiyerine ekimi yapılmış ve farklı sıcaklık derecelerine göre (4°C, 10°C, 20°C, 25°C, 35°C, 37°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C) ayarlanmış etüvlerde 1 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre boyunca izolatların gelişimi sürekli olarak incelenmiştir. Bunu sonucunda haloversatil bakterilerin gelişim gösterdiği optimum sıcaklık değerleri tespit edilmiştir.

2.3.3.Haloversatil bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişimlerinin belirlenmesi

1N HCl ve 1N NaOH kullanılarak hazırlanan halofil besiyerlerinin pH değerleri 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0 olarak ayarlanmıştır. Bu farklı pH seviyelerindeki besiyerleri otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edilerek petri kutularına eklenmiştir. Haloversatil bakterilerin farklı pH seviyelerinde olan halofil besiyerlerine ekimi yapılmıştır. Ekim işlemi yapılan petri kutuları 35°C’de 1 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda ise izolatların gelişim gösterdiği optimum pH değerleri tespit edilmiştir (Caglayan, 2019).

2.4.Haloversatil Bakterilerin Gram Boyamalarının Yapılması

24 saatlik haloversatil izolatları günlük saf bakteri kolonilerinin kültürlerinden steril öze kullanılarak alınarak %1.17 NaCl içeren steril tuzlu su içerisinde sulandırılmıştır. Temiz bir lam üzerine ince bir katman halinde yayılarak havada kurumaya bırakılmıştır. Kurumuş olan lam üç kez ateşten geçirilerek bakterilerin lama fikse edilmesi sağlanmıştır (Dussault, 1955). Bir sonraki adım da lamın üzerine kristal viyole (%1.17 NaCl) dökülerek 1 dakika bekletildikten sonra kristal viyolenin uzaklaştırılması için tuzlu su solüsyonu ile tüm yüzey 5 saniye yıkanmıştır. Sonra ise preparatın üstüne Gram'ın iyot çözeltisi (%1.17 NaCl) dökülerek 1 dakika bekletildikten sonra tekrar tuzlu su solüsyonları ile yıkanmıştır. Preparata %95'lik alkol damlatılarak 20 saniye beklenmiş sonra tuzlu su (%1.17 NaCl) solüsyonu ile yıkanmıştır. Karşıt boya olarak safranin lamın üstüne (%1.17 NaCl) dökülerek 1 dakika beklenmiş ve tuzlu su solüsyonu ile yıkanarak havada kurumaya bırakılmıştır (Dussault, 1955; Birbir, 1991). Boyama işleminden sonra hazırlanan preparat immersiyon yağı ile mikroskopta 10x100 objektifle incelenmiştir. İncelemenin sonucunda pembe bakteriler Gram-negatif, mor bakteriler Gram-pozitif olarak açıklanmıştır (Harley ve Prescott, 2002).

2.5.Haloversatil Bakterilerin 16S rRNA Dizi Analizine Göre Tanımlanması

2.5.1.Küçükbaş hayvan derisi örneklerinden haloversatil özellikteki izolatların toplam DNA'larının izole edilmesi

Küçükbaş hayvan derisi örneklerinden izole edilecek olan haloversatil bakterilerin DNA izolasyon işlemi, QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) DNA izolasyon kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook, 2010).

2.5.1.1.QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) DNA izolasyon kitinin protokolü:

1. 5 mL sıvı Haloversatil besiyerinde 100 rpm çalkalayıcı etüvde üreyen 1 günlük haloversatil bakteri izolat kültüründen 1.5 mL alınarak mikrosantrifüj tüpü içerisine konulmuştur ve 7500 rpm 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi bittikten sonra üstteki süpernatant atılarak sıvı haloversatil bakteri kültürlerinden 1.5 mL eklenmiştir ve santrifüj işlemi üç defa aynı şekilde tekrarlanmıştır.

2. Mikrosantrifüj tüplerinin dibindeki pelletin üstüne 180 µL enzim solüsyonu (20 mg/mL lizozim; 20 mM Tris-HCl, pH 8.0; 2 mM EDTA; %1.2 Triton) eklenmiştir. Pelletin homojen bakteri süspansiyonu haline getirilmesi mikropipet ile yapılmıştır.
3. 37°C'deki etüvde homojen bakteri süspansiyonu 30 dakika bekletilmiştir.
4. Sonrasında 20 µL proteinaz K ve 200 µL ilave tampon eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır.
5. 56°C'deki etüvde bu bakteri süspansiyonu 30 dakika bekletildikten sonra, sıcak su banyosunda 95°C'de 15 dakika bekletilmiştir.
6. Sonrasında ise bu bakteri süspansiyonu 2 dakika 7500 rpm'de santrifüj edilmiştir.
7. Bu süspansiyona 200 µL %96'lık etanol eklenerek 15 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra süspansiyon 3 dakika 7500 rpm'de santrifüjlenmiştir. Bu işlemde sonra bu bakteri süspansiyonundan 750 µL alınarak, QIAamp Mini spin kolon tüpüne konulmuş ve 8000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir.
8. Santrifüjleme işlemi bittikten sonra, santrifüj tüpünün üst kısmındaki filtreli kısmı alınarak steril toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Filtreli mini spin kolon tüpünün içerisine 500 µL Yıkama Tamponu-1 eklenmiştir ve 8000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Bir kez daha filtreli spin kolon tüpü, ayrı steril toplama tüp içerisine konularak 500 µL Yıkama Tamponu-2 eklenmiş ve 14000 rpm'de 3 dk santrifüjlenmiştir.
9. Filtreli QIAamp Mini spin kolon tüpü steril 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüpünün üstüne yerleştirilmiştir ve DNA'yı kolondan temin etmek için 200 µL Elüsyon Tamponu eklenerek 8000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Bunun sonucunda filtredeki DNA'nın mikrosantrifüj tüpü içerisinde toplanmıştır.
10. İzole edilen DNA'lar jelde yürütüldükten sonra, -20°C'de saklanmıştır (Sambrook ve Russell, 2001).



Şekil 2.1. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen).



Şekil 2.2. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen).



Şekil 2.3. Santrifüj cihazı.

2.5.1.2.Haloversatil özellikteki izolatların 16S rRNA gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması

Tüplerin içerisine 5 mL 10X PCR Tamponu (100 mM Tris-HCl, pH 8.3; 500 mM steril KCl), 2.5 µL MgCl₂ (25 mM), 8 µL dNTPs (PCR nükleotid karışımı 10 mM lik), 1 µL izole edilmiş genomik DNA, 0.5 µL Taq DNA polimeraz, 28 µL ddH₂O, 2.5 µL ileri primeri, 2.5 µL geri primeri ilave edilmiştir (Saiki ve ark.,1985; Saiki ve ark., 1988; Mullis ve Faloona, 1987). İleri primer 16F27 (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') ve geri primer 16R1492 (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') kullanılmıştır. İlk denatürasyon 95°C'de 5 dk, 25 döngü 94°C'de 1 dk (denatürasyon için), 50°C'de 1 dk (hibridizasyon için) ve 72°C'de 2 dk (polimerizasyon için) şeklinde uygulanmıştır (Sambrook ve Russell, 2001). Bacteria için ileri primer olarak 16F27 (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') ve geri primer olarak 16R1488 (5'-CGGTTACCTTGTTAGGACTTCACC-3') kullanılmıştır (Mellado ve ark., 1995). Reaksiyon sıcaklıkları ve süreleri ise şöyledir: İlk denatürasyon işleminde 95°C'de 5 dk süre ile gerçekleştirildikten sonra, 25 döngü 94°C'de 1 dk (denatürasyon için), 50°C'de 1 dk (hibridizasyon için) ve 72°C'de 2 dk (polimerizasyon için) şeklinde gerçekleştirilmiştir (Sambrook ve Russell, 2001).

2.5.1.3.Haloversatil izolatlara ait olan PCR ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi

Öncelikle jel tepsisi elektroforez tankının içerisine yerleştirilmiştir. Elektroforez tankının bir ucu siyah renkte “-” kutup, diğer ucu kırmızı renkteki “+” kutuptur. Jel tepsisine tarak yerleştirilerek kuyucuk oluşturulmuştur. DNA'nın hareketi, “-” elektrottan “+” elektrota doğru olduğundan dolayı kuyucukların “-” kutba yani siyah uca yakın olmasına dikkat edilmiştir. Erlenmayerin içerisine 40 mL 1X TAE çalışma tamponu ve 0.4 g agaroz konulmuş ve karıştırılmıştır. Oluşan karışım 560°C mikrodalga fırında 1 dakika bırakılarak agaroz çözündürülmüştür. 1-2 dakika sonra, jel bulunan erlenmayere 2.5 µL etidyum bromür (0.5 µg/mL) eklenmiştir. Pipetin ucunda etidyum bromür boyasının kalmamasına dikkat edilmiş ve pipetin ucu ile jel birkaç kez çekilip bırakılmıştır. Jel ve etidyum bromür boyasının tam olarak karışması için elle çalkalanmıştır. Sonrasında jel, tepsinin içerisine dökülmüştür. 10 dakika sonra jel tam olarak donduktan sonra tarak çıkarılmıştır. Jel elektroforezinin yapılacağı gün taze 1X TAE çalışma tamponu hazırlanmıştır. Donmuş agaroz jel üzerine 1X TAE çalışma tamponu yani elektroforez

tamponu 1 cm örtecek kadar elektroforez tankının içerisine konulmuştur. İlk kuyucuğa 10 µL ladder DNA, ladder-DNA'daki 1500 bp uzunluğundaki bant ile izole edeceğimiz DNA'ların jel elektroforezinin karşılaştırılması için yerleştirilmiştir. Bu işlemten sonra, parafilm üstüne numune sayısı kadar 5 µL jel-yükleme boyasından konulmuştur. Daha sonra, her bir DNA ekstresinden 5 µL alınarak parafilm üstüne 5 µL jel yükleme boyası ile mikropipet ile karıştırılmıştır. Haloversatil bakterilere ait DNA ekstratları ayrı ayrı jelde bulunan kuyucuklara yerleştirilmiştir. Sonrasında tankın kapağı kapatılarak, “-” uca ve “+” uca ait olan kablolar hem tanka hem de güç kaynağına takılarak 30 dakika süresince 80 V, 100 mA elektrik akımı ile DNA jelde yürütülmüştür. 30 dakika sonucunda, güç kaynağı kapatılarak, jel tankdan alınmış ve görüntüleme sistemi altında görüntülenmiştir. DNA bantlarının görüntüsü bilgisayara kaydedilerek yazıcı ile çıktısı alınmıştır.

2.5.1.4. Haloversatil özellik gösteren izolatların tanımlanması

16S rRNA ürünleri QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) kiti ile saflaştırılıp dizilemeye gönderilmiştir.

QIAquick PCR Purification Kit'inin protokolü:

1. 45 µL PCR ürünün üzerine 225 µL Bağlayıcı Tampon (1/5 oranında) eklenmiştir. QIAquick kolon tüplerinin içerisine PCR ürünü ve Bağlayıcı Tampon karışımı mikropipet yardımıyla konulmuştur. QIAquick kolon tüpü, mor renkli filtre içeren kısım ile bunun içerisine konulduğu ve atık sıvının toplandığı dış kısımdaki tüpten oluşmaktadır.
2. QIAquick kolon tüpü 13.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Toplama tüpündeki atık sıvı atılarak iki tüp yeniden iç içe konulmuştur.
3. PCR ürünüde var olan istenmeyen maddelerin yıkanması için QIAquick kolon tüpüne 750 µL Yıkama Tamponu eklenerek ve 13.000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir.
4. QIAquick kolon tüpünün filtreli kısmı, steril 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne konmuştur. Alttaki mikrosantrifüj tüpünün içerisine DNA'yı alabilmek için 50 µL Elüsyon Tamponu (10 mM TrisCl, pH 8.5) eklenmiş ve 13.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir (QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook, 2010).

Saflaştırılan PCR ürünleri 16S rRNA geninin baz dizisi analizlerinin yapılması amacıyla diziye gönderilmiştir.

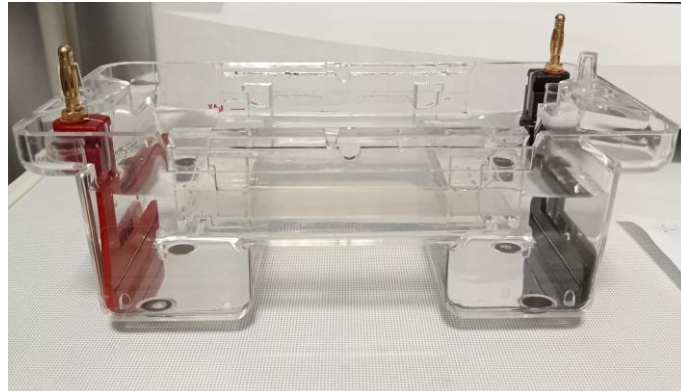
Her bir izolata ait olan ileri ve geri primer dizileme sonuçları Dosya ChromasPro Programı ile incelenmiştir. Elde edilen 16S rRNA dizileri ChromasPro Programı, BLAST ve EZTAXON arama programlarıyla benzerlik oranları tespit edilmiştir.



Şekil 2.4. QIAquick PCR Saflaştırma Kiti (Qiagen)



Şekil 2.5. QIAquick PCR Saflaştırma Kiti (Qiagen).



Şekil 2.6. Elektroforez tankı.



Şekil 2.7. Elektroforez tankı.

2.6.Haloversatil Bakterilerin Ürettikleri Önemli Enzimlerin İncelenmesi

Nişasta, jelatin, Tween80, selüloz, üre, kazein, ksilan, pullulan, DNaz içeren besiyerleri ayrı ayrı otoklavlanan besiyerleri steril petrilere steril kabinde dökülmüştür. Yalnızca üre agar tüplerde yatık agar şeklinde hazırlanmıştır. Hazırlandıktan sonra 121°C de 20 dakika süre boyunca otoklavda steril edilmiştir.

2.6.1.Selülaz aktivitesi

%10 NaCl içeren agarlı Selülozlu besiyeri içerisine karboksimetil selüloz eklenerek hazırlanmıştır. Karboksimetil selüloz çözdürüldükten sonra besiyerinde pH 7.0'ye ayarlanmıştır. Otoklav içinde 121°C'de 15 dakika steril edilen besiyeri steril olan petri kutularına dökülmüştür. Selüloz besiyerine bakteriler iç içe dairesel halkalar biçiminde ekilmiştir. Etüvde ekim yapılan petri kutuları 35°C'de 1 gün bekletilmiştir. İnkübasyon süresi bitince selüloz besiyerinde üremiş olan bakteri kolonileri %0.1'lik Kongo Kırmızısı çözeltisi ile 30 dakika boyanmış ve sonrasında 1 M NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Bakteri kolonilerinin çevresinde şeffaf bölge oluşması durumunda pozitif selülaz aktivitesi olduğu değerlendirilmiştir (Limauro ve ark., 2001).

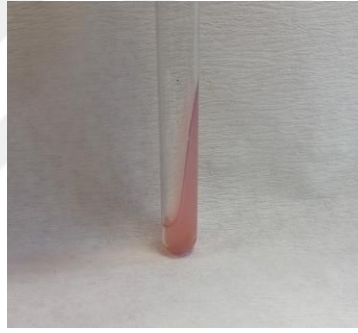
2.6.2.Ksilanaz aktivitesi

Besiyerinde gelişmiş olan izolatlardan steril öze ile alınmış ve steril Ksilan besiyerine plağa çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır ve etüvde petriler 35°C’de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işleminden sonra kolonilerin çevresinde gözlenen şeffaf bölgeler pozitif ksilanaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Sánchez-Porro, 2005).

2.6.3.Üreaz aktivitesi

Yatık agar olarak hazırlanmış ve indikatör olarak fenol kırmızısı içeren steril Üre Agar besiyeri içeren tüplere izolatlar steril öze ile ekilmiştir ve 35°C’de 24 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonucunda besiyerinde gözlemlenen pembe renk (Şekil 2.8.) üreaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Sánchez-Porro, 2005).



Şekil 2.8. Üreaz aktivitesi deneyi.

2.6.4.Proteaz aktivitesi

Besiyerinde gelişme gösteren izolatlardan steril öze ile alınarak steril Jelatin Agar besiyeri üstüne plağa çizim methodu ile ekim yapılmış ve etüvde petriler 35°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra petrinin üstünü örtecek miktarda Frazier ayırıcı dökülmüştür. Frazier ayırıcı döküldükten sonra kolonilerin çevresinde gözlenen şeffaf bölgeler pozitif proteaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Sánchez-Porro, 2005).

2.6.5.Kazeinaz aktivitesi

Besiyerinde gelişme gösteren izolatlardan steril öze ile alınarak steril Kazein besiyerine plağa çizim methodu ile ekim yapılmış ve etüvde petriler 35°C' de 1 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra besiyerinde gelişen kolonilerin çevresinde şeffaf bir bölge oluşması kazeinaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.6.6.DNaz aktivitesi

Besiyerinde gelişme gösteren izolatlardan steril bir öze ile alınarak steril DNaz besiyerine plağa çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır ve etüvde petriler 35°C' de 1 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi sonrasında besiyerinde gelişen kolonilerin üstünü kaplayacak kadar 1 N HCl damlatılmıştır. Bu test ile izolatların besiyerinde var olan DNA'yı parçalayıp parçalayamadıkları test edilmiştir. Koloninin çevresinde şeffaf bir bölge oluşması DNaz pozitif aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004; Harley ve Prescott, 2002).

2.6.7.Oksidaz testi

Besiyerinde gelişme gösteren bakteri kolonilerinden steril öze ile alınmış ve Para-aminodimetilanilin monohidroklorid ayırıcı döktüğümüz filtre kağıdı üzerine sürülmüştür. 5-10 saniye içerisinde mavi-mor renk oluşması pozitif sonuç verdiği değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Gonzalez ve ark., 1978; Quesada ve ark., 1982).

2.6.8.Katalaz testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerin üzerine 1-2 damla kadar %3 hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılmıştır. Besiyerinde bulunan koloni yüzeyinde gaz kabarcıklarının (Şekil 2.9.) oluşması pozitif katalaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).



Şekil 2.9. Katalaz aktivitesi deneyi.

2.6.9.Pullulanaz aktivitesi

Besiyerinde gelişme gösteren izolatlardan steril bir öze ile alınmış steril Pullulan besiyerine plağa çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır ve petriler 35°C’de 1 gün etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kolonilerin çevresinde görülen şeffaf bölgeler pozitif pullulanaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Sánchez-Porro, 2005).

2.6.10.Lipaz aktivitesi

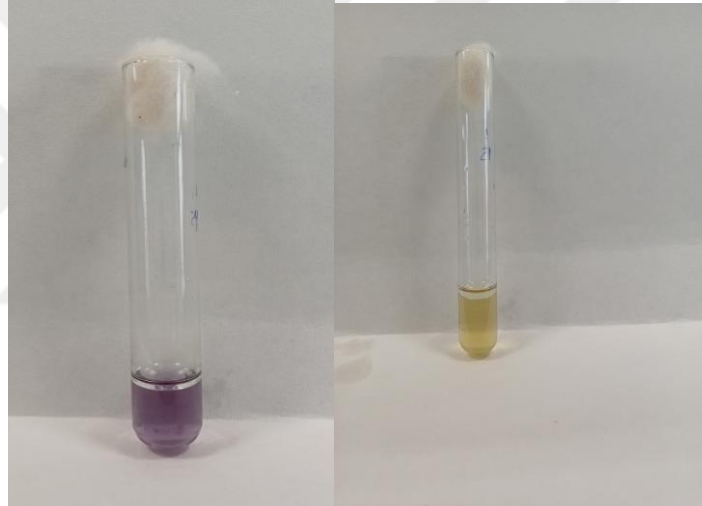
Besiyerinde gelişme gösteren izolatlardan steril öze ile alınarak steril Tween 80 Agar besiyeri üzerine plağa çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır ve petriler 35°C’de 1 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında besiyerinde gelişme gösteren kolonilerin çevresinde opak bölgelerin görülmesi pozitif lipaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.6.11.Nişasta aktivitesi

Haloversatil izolatlar steril özelerle alınarak plağa çizim yöntemi ile nişasta besiyerine ekilmiştir ve petriler 35°C’de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında nişasta besiyeri üzerinde gelişen kolonilerin üstüne besiyerinin tamamını kaplayacak şekilde Gram’ın iyot çözeltisi eklenmiştir. Kolonilerin çevresinde şeffaf bölgelerin gözlemlenmesi nişasta hidrolizinin pozitif olduğu şeklinde değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

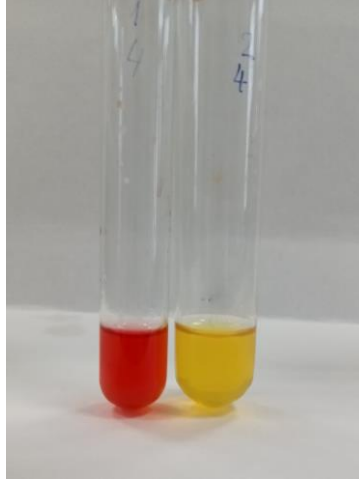
2.7.Haloversatil Bakteriler Tarafından Farklı Amino Asitlerin ve Farklı Şeker Kaynaklarının Kullanılması

Mikroorganizmaların metabolik özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak endüstriyel işlemlerde onlarla mücadele etmek için çok önemlidir. Bu çalışmada, haloversatil bakteri izolatlarının metabolik aktivitelerini değerlendirmek için 5 amino asit ve 5 şeker kullanılmıştır. Amino asit kaynaklarının kullanımı %1 glisin, L-histidin, L-sistein, L-prolin, L-treonin kullanılarak incelenmiştir. Amino asitler için ortam %1.17 NaCl çözeltisi içinde %0.05 dekstroz, %0.5 sığır özü, %0.0005 piridoksal, %0.001 bromokresol moru, %0.5 pepton, %0.0005 kresol kırmızısı içermektedir. Bakteri inokulasyonundan sonra test tüpleri 35°C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Test tüplerinde mor renk oluşması (Şekil 2.10.) pozitif test sonucu olarak kabul edilmiştir (Çağlayan, 2019).



Şekil 2.10. Aminoasit Deneyi Pozitif ve Negatif Test Örneği.

Haloversatil izolatların farklı şeker kaynaklarının kullanımı %1 laktoz, D- galaktoz, maltoz, D-ksiloz, D-glukoz kullanılarak ayrı ayrı incelenmiştir. Şeker ortamı ise %0.001 fenol kırmızısı ve %0.5 maya özütü içermektedir. Kırmızı renkten sarı renge dönmesi (Şekil 2.11.) pozitif test sonucu olarak kabul edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Çağlayan ve ark., 2018).



Şekil 2. 11. Şeker Deneyi Pozitif ve Negatif Test Örneği

2.8.Haloversatil Bakteri İzolatlarının Farklı Antibiyotiklere Karşı İnhibisyon Zonlarının Belirlenmesi

Halofil besiyerinde üremiş olan saf kültür halindeki haloversatil bakterilerden her bir izolat steril bir öze ile alınmış ve sıvı besiyerine ekilmiştir sonra 35°C’de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. Haloversatil bakteri kültürlerinin yoğunluğu 1 mL’de 1×10^8 kob şeklinde (0.5 McFarland standardı) ayarlanmıştır. Bu süspansiyonlardan 0.1 mL alınarak steril Mueller Hinton Agar besiyerinin üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Haloversatil bakteri izolatlarının çeşitli antibiyotiklere karşı oluşturdukları inhibisyon zonlarını incelemek için Kirby-Bauer disk difüzyon methodu kullanılmıştır. Amoksisilin/klavulanik asit (AMC30, 20/10 µg, 30 µg), siprofloksasin (CIP5, 5 µg), gentamisin (CN10, 10 µg), meropenem (MEM10, 10 µg) antibiyotik diskleri steril bir pensle alınarak Mueller Hinton Agar besiyerinin üzerine konulmuştur. Sonrasında bu petri kutuları 35°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonucunda disklerin çevresindeki inhibisyon zonları (mm) ölçülmüştür (Weber ve ark., 1988; CLSI, 2010).

2.9.Enzim Üreten Haloversatil Bakterilerin Keçi Derisinde Meydana Getirdiği Zararın Çevresel Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi

40 günlük depolama süresi sonucunda ham deriler elektron mikroskobu ile incelenmiş ve enzim üreten haloversatil özellikteki izolatların deriye verebileceği zararlar elektron mikroskopunda görüntülenmiştir.

Kontrol: 59.5 g ham deri örneği + 200 mL tuzlu su

Deney: 59.5 g ham deri örneği + 180 mL tuzlu su + 20 mL enzim üreten haloversatil özellikteki izolatların karışık kültürü (10^7 kob/mL)

McFarland 0.5 bulanıklık tüpüne göre (10^8 32 kob/mL) ayarlanmış ve 1/10 oranında sulandırılmıştır (10^7 kob/mL).

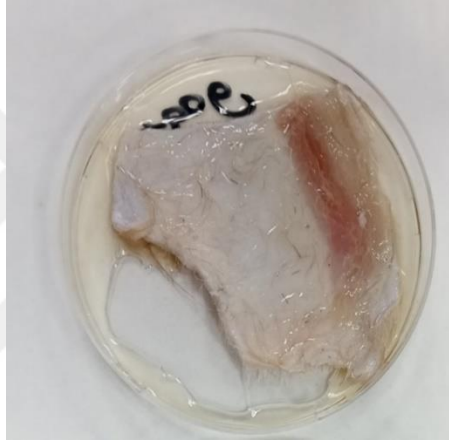
2.9.1.Ham deri örneğinin çevresel taramalı elektron mikroskopuna hazırlanması

Ham deri numuneleri jiletle 5mmx5mm olacak biçimde kesilmiştir. Üstünde bulunan kıllar ve pislikler deriden uzaklaştırılmıştır. pH 7.2'ı olan 0.1 M fosfat tamponu ile hazırlanmış olan %4'lik gluteraldehit çözeltisi (0.1 M fosfat tamponu ile hazırlanmış, Ph 7.2) 30 dk boyunca uygulanmıştır. Fosfat tamponuyla hazırlanan (%0.1M) %1'lik osmiyum tetroksit çözeltisi, örneklerin üzerine 24°C'de bir saat boyunca işlem görmüştür. Ardından, deri örnekleri iki kez steril damıtılmış su, %35, %50, %75, %95 ve mutlak etanol ile yıkanmıştır.

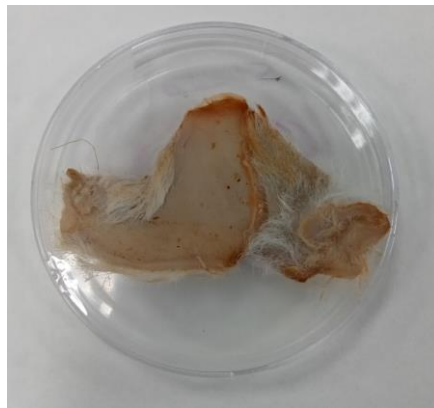
Deri örnekleri sırasıyla, hava kuruma işlemi için etanol-heksametildisilazan (HMDS) karışım çözeltisi [1:1 (v/v)] (1x30 dakika), etanol-HMDS [1:2 (v/v)] (1x30 dakika) ve HMDS (2x30 dakika) ile işleme tabi tutulmuştur. Hava kuruma işleminden sonra, keçi derisi örnekleri, HMDS'nin uzaklaştırılması için 14 saat boyunca bir desikatör içine konulmuştur. Kurumuş olan numuneler Thermo Fisher Scientific-Quattro SEM tarafından Bogazici Üniversitesi, İstanbul, Türkiye'de incelenmiştir. Örnekler elektron mikroskopunun plakasının üstüne çift taraflı yapışkan bant ile yerleştirilmiş ve elektron mikroskopunda incelenmiştir (Murtey ve Ramasamy, 2016).



Şekil 2.12. Keçi Derisi (Kontrol).



Şekil 2.13. Keçi Derisi Karışık Kültür İlavesi.



Şekil 2.14. Keçi Derisi Karışık Kültür İlavesi Sonrası.

2.10.Deriye Zarar Veren Bakterilerin Antimikrobiyal Madde ile Kontrolü

Aktif içeriği potasyum dimetil-ditiyokarbamet olan (%50 w/v) antimikrobiyal maddenin farklı konsantrasyonları haloversatil bakterilere uygulanmıştır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Antimikrobiyal Maddenin Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanması.

İlk konsantrasyon (µg/mL)	Stok (mL)	Distile su (mL)	19 ml distile suyun ilavesinden önceki konsantrasyon (µg/mL)	19 ml distile suyun ilavesinden sonra son konsantrasyon x 0.5 (µg/mL)
200.000	2	0	200.000	5000
200.000	2	2	100.000	2500
200.000	1	3	50.000	1250
50.000	2	2	25.000	625
50.000	1	3	12.500	312
50.000	1	7	6250	156
6250	2	2	3125	78
6250	1	3	1562.5	39
6250	1	7	781.25	19.5
781.25	2	2	390.63	9.8
781.25	1	3	195.31	4.9
781.25	1	7	97.66	2.4
97.66	2	2	48.83	1.2
97.66	1	3	24.41	0.6
97.66	1	7	12.21	0.3
12.21	2	2	6.10	0.15
12.21	1	3	3.05	0.07
12.21	1	7	1.53	0.038

Araştırmamızda potasyum dimetil-ditiyokarbamet içeren antimikrobiyal maddenin 0.038, 0.07, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 4.9, 9.8, 19.5, 39, 78, 156, 312, 625, 1250, 2500 ve 5000 µg/mL’lik konsantrasyonları hazırlanarak disk difüzyon metoduyla uygulanmıştır (Tablo 2.1.). Araştırmamızda *Bacillus sonorensis* (izolat S2b), *Bacillus pumilus* (izolat S3b), *Virgibacillus proomii* (izolat S3c), *Bacillus licheniformis* (izolat S4d), *Bacillus cereus* (izolat S5a), *Staphylococcus warneri* (izolat S9a), *Alkalihalobacillus clausii* (izolat S10b), *Bacillus pumilus* (izolat S10c) türleri kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalardan *Bacillus sonorensis* (izolat S2b), *Bacillus pumilus* (izolat S3b), *Virgibacillus proomii* (izolat S3c), *Bacillus licheniformis* (izolat S4d), *Bacillus cereus* (izolat S5a), *Staphylococcus warneri* (izolat S9a), *Alkalihalobacillus clausii* (izolat

S10b), *Bacillus pumilus* (izolat S10c) türleri proteolitik ve lipolitik aktivite göstermektedir.

Steril koşullarda bu bakteriler halofil besiyerine ekilmiştir. 35°C’de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra izolatların her biri, ayrı bir halofil agar besiyerine çizgi ekim yöntemiyle ekilmiş ve 35°C’de 24 saat etüvde inkübasyona bırakıldıktan sonra saf koloniler elde edilmiştir. Bu saf kolonilerden steril öze ile alınarak %1.17 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonları içerisine ekilmiştir. Bu izolatlar fizyolojik tuzlu su içerisinde McFarland 0.5 bulanıklığına göre ayarlanmıştır (10⁸ kob/mL). Tüm tüplerin içerisine bakteri süspansiyonlarından 0.5’er mL eklenerek, etüvde 35°C’de 1 gün üremeye bırakılmıştır. Tüplerde üremenin olup olmadığını anlamak için bulanıklığa bakılmıştır. Antimikrobiyal diskler, antimikrobiyale ve mikroorganizmaların üremesine olumsuz etkisi olmayan Whatman No:1 süzgeç kâğıdı kullanılarak hazırlanmıştır. Kâğıt delme zımbası yardımıyla 6 mm çapında diskler kesilmiştir (Bilgehan, 2004). Steril petri kutularına Mueller Hinton Agar (MHA) dökülmüştür. McFarland 0.5’e göre ayarlanmış izolatlar MHA üzerine ayrı ayrı eküvyon çubuğuyla yayma plak yöntemi ile ekilmiştir. Potasyum Dimetil-ditiyokarbamet’in 18 farklı konsantrasyonu (0.038, 0.07, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 4.9, 9.8, 19.5, 39, 78, 156, 312, 625, 1250, 2500, ve 5000 µg/mL) disklerle 10 µL emdirilmiştir. Kuruyan diskler ekimi yapılan izolatların üzerine steril pens ile bırakılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları etüvde 35°C’de 1 gün bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra disklerin çevresinde oluşan inhibisyon bölgelerinin çapları ölçülmüştür.

2.11.Haloversatil Bakterileri Hücrelerinin Elektron Mikroskobunda Görüntülenmeye Hazırlanması

Bu adım, tamamen diğer araştırmacılar tarafından bahsedilen prosedürden farklı olarak gerçekleştirilmiştir (Ammar, 2017; Glauert, 1975; Glauert, 1975). Bakteri hücreleri, 10000 rpm’de 5 dakika süresince santrifüjlenmiştir. Sonrasında, supernatant dağıtıldıktan sonra 0.2 M Na-fosfat tampon tuzlu (PBS) ile pelletler yıkanmıştır. 20.44 g Na₂HPO₄, 6.72 g NaH₂PO₄, 500 mL dH₂O ile hazırlanmıştır. Bakteri hücreleri, %0.25 glutaraldehit ile 25°C’de 30 dakika süresince sabitlenmiş, sonrasında 35°C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bakteri hücreleri, Na-PBS (pH 7.2) ile üç kez yıkanmış ve pelleti toplamak için santrifüjlenmiştir. Daha sonra, pellet, etanol serilerinden geçirilmiş ve oda

sıcaklığında mutlak etanolde inkübe edilmiştir. Daha sonra, 10 µL'lik pellet steril lamel üzerine yayılmış ve Marmara Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü (İstanbul, Türkiye) tarafından sputtering kaplama makinesi kullanılarak altın ile kaplanmıştır. Örnekler, Thermo Fisher Scientific-Quattro SEM tarafından Bogazici Üniversitesi, İstanbul, Türkiye'de incelenmiştir.



BÖLÜM 3: BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1.Haloversatil Özellik Gösteren Bakterilerin Toplam Sayıları ve pH Değerleri

Çalışmamızda incelediğimiz 10 adet tuzlanmış küçükbaş hayvan derisi örneklerinin tamamında haloversatil bakteri sayıları (7×10^4 - 2.7×10^5 kob/g) olduğu saptanmıştır (Tablo 3.1.). Tuzlanmış küçükbaş derisi örneklerindeki toplam haloversatil bakteri sayısının 4 örnekte 10^4 kob/g (%40), 6 örnekte 10^5 kob/g (%60), olduğu belirlenmiştir. Küçükbaş hayvan derilerinde toplam proteolitik haloversatil bakteri sayısı alınan deri örneklerinin tamamı (10^4 kob/g) ve 1×10^4 - 8×10^4 olarak saptanmıştır. İncelediğimiz deri örneklerinin %90'ında toplam lipolitik haloversatil bakteri sayısı 10^4 kob/g ve %10'u 10^5 kob/g saptanmıştır ve 1×10^4 - 1.3×10^5 aralığındadır. Yaptığımız bu çalışmada, farklı deri örnekleri üzerinde bulunan haloversatil bakteri sayıları belirlenmiştir. Bu veriler, küçükbaş hayvan derilerinde bulunan haloversatil bakteri türlerinin dağılımını ve miktarlarını anlamamız konusunda yardımcı olmaktadır. Ozbay ve Caglayan (2022) tarafından yapılan bir çalışmada, deri işletmelerinden toplanan ısılatma sıvılarındaki haloversatil bakterilerin toplam sayılarının Oligotrofik Agar Ortamı'nda 3.8×10^4 ile 1.1×10^6 CFU/mL aralığında ve Halofilik Agar Ortamı'nda 6.7×10^4 ile 1.6×10^6 CFU/mL aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, örneklerdeki toplam proteolitik haloversatil bakteri sayılarının Jelatin Agar Ortamı'nda 1.2×10^4 ile 5.8×10^5 CFU/mL aralığında olduğunu bildirmişlerdir (Ozbay ve Caglayan, 2022) Ayrıca, toplam lipolitik haloversatil bakteri sayılarının Tween 80 Agar Ortamı'nda 2.3×10^4 ile 4.6×10^5 CFU/mL aralığında ve Rhodamine B-Zeytinyağı Agar Ortamı'nda 6.0×10^3 ile 1.5×10^5 CFU/mL aralığında olduğu belirlemişlerdir (Ozbay ve Caglayan, 2022). Haloversatil bakterilerle ilgili yapılan bir diğer çalışmada, tuz örneklerindeki haloversatil bakterilerin toplam sayıları Halofilik Agar Ortamı'nda 6×10^3 CFU/g ile 1.3×10^5 CFU/g arasında bulmuşlardır. Proteolitik haloversatil bakteri toplam sayıları ile lipolitik haloversatil bakteri toplam sayıları sırasıyla Jelatin Agar Ortamı'nda 1×10^3 - 7×10^3 CFU/g ve Tween80 Agar Ortamı'nda 1.4×10^3 - 3.1×10^4 CFU/g olarak bulmuşlardır (Abdulahsein, ve arkadaşları, 2023).

Tablo 3.1. Küçükbaş Hayvan Derilerindeki Toplam Haloversatil Bakteri Sayısı, Toplam Proteolitik Haloversatil Bakteri ve Toplam Lipolitik Haloversatil Bakteri Sayıları (kob/g).

	Deri Örneği	Toplam Haloversatil Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Proteolitik Haloversatil Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Lipolitik Haloversatil Bakteri Sayısı (kob/g)
1	TKDÖ1	1.3×10^5	1×10^4	1×10^4
2	TKDÖ2	8×10^4	3×10^4	2×10^4
3	TKDÖ3	1.5×10^5	5×10^4	1.3×10^5
4	TKDÖ4	1.6×10^5	4×10^4	6×10^4
5	TKDÖ5	8×10^4	2×10^4	1×10^4
6	TKDÖ6	1×10^5	8×10^4	8×10^4
7	TKDÖ7	2.7×10^5	5×10^4	2×10^4
8	TKDÖ8	9×10^4	1×10^4	6×10^4
9	TKDÖ9	1.5×10^5	3×10^4	4×10^4
10	TKDÖ10	7×10^4	1×10^4	3×10^4

TKDÖ: Tuzlanmış Küçükbaş Hayvan Derisi Örneği

Çalışmamızda incelediğimiz 10 adet tuzlanmış küçükbaş hayvan derisi örneklerinin pH değerleri 6.50-6.88 arasında bulunmuştur (Tablo 3.2.).

Taze deriler mikroorganizmaların gelişim göstermesi için uygun pH ve yüksek nem ve besin içeriğine sahip olduğu bilinmektedir. Böyle bir durumda da mikroorganizmalar hızla gelişmektedirler (Polkade, 2007). Elde ettiğimiz pH verileri, her bir deri parçasının çevresel koşullarının pH seviyelerini göstermektedir. pH değerleri, bu haloversatil bakterilerin yaşam ve metabolizma koşulları hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda incelediğimiz deri örnekleri haloversatil bakterilerin gelişim göstermesi için uygundur.

Tablo 3.2. Küçükbaş Hayvan Derilerindeki Haloversatil Bakteri Örneklerinin pH Değerleri

Numara	Deri Örneği	pH Değeri
1	TKDÖ1	6.79
2	TKDÖ2	6.64
3	TKDÖ3	6.76
4	TKDÖ4	6.68
5	TKDÖ5	6.68
6	TKDÖ6	6.86
7	TKDÖ7	6.88
8	TKDÖ8	6.75
9	TKDÖ9	6.61
10	TKDÖ10	6.50

TKDÖ: Tuzlanmış Küçükbaş Hayvan Derisi Örneği

3.2. Haloversatil Bakterilerin En Uygun Geliştikleri Tuz Konsantrasyonlarının, Sıcaklık ve pH Değerleri

Küçükbaş hayvan derilerinden izole edilerek tanımlanan haloversatil izolatların gelişebildikleri tuz tolerans değerleri belirlenmiştir (Tablo 3.3.). Tüm izolatlar 0-17.5% NaCl aralığında büyüebilmiştir, optimum büyüme değeri %1.17 NaCl olarak belirlendi. Bu nedenle, tüm izolatlar haloversatil olarak kabul edildi (Kushner, 1978; Grant ve ark., 1998).

Tablo 3.3. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Gelişebildiği Tuz Toleransları.

	İzolat Kodu	Filogenetik olarak benzediği tür	%0	%1.7	%2	%3	%5	%8	%10	%12	%15	%17.5	%20	%25	%30
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
5	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
6	S3a	<i>Oceanobacillus polygoni</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Küçükbaş hayvan derilerinden izole edilerek tanımlanan haloversatil izolatların gelişebildikleri pH değerleri belirlenmiştir (Tablo 3.4.). 5-12 aralığında S1b, S2b, S3a, S3b, S6a, S8c, S10b izolatları; 6-11 aralığında S2c, S3c, S8a, S8b, S10a izolatları; pH 5-11 aralığında S1a, S2a, S4b, S4c, S4d, S5a, S5b, S6b, S6c, S7a, S7b, S9a, S10c izolatları büyüme gösterdi. Ayrıca, *Bacillus paralicheniformis* izolatı S5b, pH 8’de optimal olarak büyüdü. 4 pH’ de hiçbir izolat büyüme göstermedi.

Daha önce Çamaltı Tuzlası’ndan alınan tuz örneklerinden izole edilen *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *saprophyticus*, *Bacillus simplex*, *Bacillus pumilus*, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, *Staphylococcus petrasii* subsp. *jettensis*, *Vibrio neocaledonicus*, *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis*, *Bacillus haynesii*, *Kocuria sediminis*, *Pseudomonas psychrotolerans*, *Rhodococcus enclensis*, *Marinomonas communis*, *Vibrio olivae*, *Bacillus subtilis* subsp. *stercoris* türleri, 0-3 M NaCl (en uygun büyüme için 0.2 M NaCl), pH 5-12 ve 10-55°C koşullarında çoğalabilmiştir (Çaglayan, 2022). Araştırmacı tuz örneklerinden izole ettiği 35 haloversatil bakteriyi moleküler olarak tanımlamıştır ve *Staphylococcus epidermidis*’i (6 izolat) en sık rastlanan tür olduğunu bildirmiştir. *Staphylococcus warneri*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Staphylococcus caprae* türleri ise iki izolat olarak tanımlanmıştır. *Staphylococcus pasteurii*, *Peribacillus frigiditolerans*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Lysinibacillus telephonicus*, *Kocuria rosea*, *Paenibacillus illinoisensis*, *Kocuria Polar*, *Bhargavaea ginseng*, *Bacillus haynesii*, *Bacillus sonorensis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pascalis*, *Staphylococcus hominis*, *Micrococcus yunnanensis*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Pseudomonas iranica*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus capitis* subsp. *urealyticus*, *Corynebacterium minutissimum*, *Bacillus paralicheniformis*, *Staphylococcus taiwanensis* türlerinden sadece bir izolat tanımlanmıştır. Tüm izolatlar 0-17% NaCl, pH 5-11 ve 19-55°C’de çoğalmış ve tüm izolatlar en uygun büyüme değerini %1.17 NaCl olarak bildirmiştir (Abdülhusein, ve arkadaşları, 2023).

Tablo 3.4. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Gelişebildiği Optimum pH Değerleri.

	İzolat Kodu	Filogenetik olarak benzediği tür	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
5	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-
6	S3a	<i>Oceanobacillus polygoni</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-

Küçükbaş hayvan derilerinden izole edilerek tanımlanan haloversatil izolatların gelişebildikleri sıcaklık değerleri belirlenmiştir (Tablo 3.5.). İzolatların büyüme sıcaklık değerleri birbirinden biraz farklılık göstermiştir. S1b, S2b, S3a, S3b, S4c, S4d, S5a, S5b, S10c izolatları 15-55°C aralığında; 20-50°C aralığında S1a, S2a, S3c, S7a, S7b, S9a, S10a izolatları; 20-45°C aralığında ise S2c, S4a, S4b, S6a, S6b, S6c, S8a, S8b, S8c, S10b büyüme gösterdi.

Tablo 3.5. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Gelişebildiği Optimum Sıcaklık Değerleri.

	İzolat Kodu	Filogenetik olarak benzediği tür	4 °C	10 °C	20 °C	25 °C	35 °C	37 °C	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C	60 °C
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
5	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
6	S3a	<i>Oceanobacillus polygoni</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-

3.3.Haloversatil Bakterilerin Gram Boyaması

Toplamda 26 izolat elde edilmiş ve en fazla izolat (4 adet) 4 numaralı deri örneğinden elde edilmiştir. En az izolat (1 adet) ise 9 numaralı deri örneğinden elde edilmiştir. 2 numaralı deri örneğinden 3 adet izolat, 3 numaralı deri örneğinden 3 adet izolat, 5 numaralı deri örneğinden 2 adet izolat, 6 numaralı deri örneğinden 3 adet izolat, 7 numaralı deri örneğinden 2 adet izolat, 8 numaralı deri örneğinden 3 adet izolat, 10 numaralı deri örneğinden 3 adet izolat elde edilmiştir. Yapmış olduğumuz Gram boyama analizi sonucunda haloversatil bakteri izolatlarımızın %100'ünün Gram-pozitif (+) olduğu sonucuna varılmıştır (Tablo 3.6.). Bakterilerin morfolojileri incelendiğinde ise çubuk ve yuvarlak formda oldukları görülmüştür. Örneğin, izolatlar S1a, S1b, S2b, S3a, S3b, S3c, S4b, S4c, S4d, S5a, S5b, S6a, S6b, S8b, S8c, S10a, S10b ve S10c Gram pozitif çubuk bakterilerdir. İzolatlar S2a, S2c, S4a, S7a, S7b, S8a, S6c ve S9a ise Gram pozitif yuvarlak morfolojiye sahiptir. Bu veriler, izolatların temel morfolojik özelliklerini ve Gram reaksiyonlarını göstermektedir. Yuvarlak formda olan bakterilerin oranı %31, çubuk formda olanlar ise %69'dur.

Tablo 3.6. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil Bakteri İzolatlarının Gram Boyama ve Morfolojileri.

	İzolat Kodu	İzolatın Adı	Gram Reaksiyonu	Morfoloji
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	+	Çubuk
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	Çubuk
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	Yuvarlak
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	+	Çubuk
5	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	+	Yuvarlak
6	S3a	<i>Oceanobacillus polygona</i>	+	Çubuk
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	+	Çubuk
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	+	Çubuk
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	+	Yuvarlak
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	+	Çubuk
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	+	Çubuk
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	Çubuk
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	+	Çubuk
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	+	Çubuk
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	Çubuk
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	+	Çubuk
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	+	Yuvarlak
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	Yuvarlak
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	Yuvarlak
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	+	Yuvarlak
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	Çubuk
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	Çubuk
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	Yuvarlak
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	Çubuk
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	Çubuk
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	+	Çubuk

3.4.Haloversatil Bakterilerin 16S rRNA Dizi Analizi

Araştırmamızda toplamda 26 farklı izolat tanımlanmıştır (Tablo 3.7.). Bu izolatlar 16S rRNA analizine göre teşhis edilmiştir. Genetik benzerlik oranları ve erişim numaraları, bu organizmaların tanımlanmasına ve sınıflandırılmasına yardımcı olmaktadır ve bu sonuçlar, deri endüstrisi ve mikrobiyoloji alanında yapılan birçok çalışma için kaynak olmaktadır. Küçükbaş hayvan derilerinden izole edilen 26 haloversatil bakterilerin 4 tanesi *Staphylococcus warneri*, 3 adet *Alkalihalobacillus clausii*, 2 adet *Solibacillus silvestris*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Ornithinibacillus scapharcae*, 1 adet *Kocuria rosea*, *Oceanobacillus polygona*, *Virgibacillus proomii*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*, *Bhargavaea ginsengi*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus paralicheniformis*, *Staphylococcus nepalensis*, *Micrococcus luteus* olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlar, çalışmanın bir parçası olarak incelenen mikroorganizmaların türlerini ve genetik özelliklerini belirlenmesinde yardımcı olmuştur. Bu bilgiler başta deri endüstrisi olmak üzere çeşitli endüstri kollarında ve mikrobiyolojik araştırmalarda kaynak olarak önemli bir yere sahiptir. Araştırmamızda 10 farklı cinsten bakteri teşhis edilmiştir. Bu cinslerden en çok *Staphylococcus* cinsi (6 izolat) ve *Bacillus* cinsi (6 izolat) teşhis edilen cinslerden olmuştur. *Solibacillus* cinsinden (2 izolat), *Ornithinibacillus* cinsinden (2 izolat), *Alkalihalobacillus* cinsinden (3 izolat), *Bhargavaea* cinsinden (1 izolat), *Kocuria* cinsinden (1 izolat), *Oceanobacillus* cinsinden (1 izolat), *Virgibacillus* cinsinden (1 izolat), *Micrococcus* cinsinden (1 izolat) teşhis edilmiştir.

Tablo 3.7. Küçükbaş Hayvan Derilerinden Elde Edilen İzolatların 16S rRNA Dizileme Sonuçları.

	İzolat Kodu	Filogenetik olarak benzediği tür	Uzunluk (bp)	Query length	Benzerlik(%)	Erişim Numarası
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	1371	999	99.40	OR835202
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	1451	1177	99.24	OR835208
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	1495	929	100	OR835209
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	1451	993	99.50	OR835214
5	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	1457	1103	99.37	OR835215
6	S3a	<i>Oceanobacillus polygona</i>	1518	1136	99.65	OR835216
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	1263	1133	99.74	OR835217
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	1405	999	99.80	OR835218
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	1463	1119	99.55	OR835220
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	1506	1144	99.56	OR835221
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1498	1094	99.45	OR835222
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	1145	1055	99.81	OR835223
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	1297	1019	99.90	OR835224
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	1178	1095	99.73	OR835227
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	1407	1014	99.70	OR835225
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	1371	857	99.77	OR835229
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	1340	1080	99.91	OR835230
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	1276	799	99.62	OR835231
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	1495	992	99.70	OR835234
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	1455	1127	99.47	OR835233
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	1434	1080	99.63	OR835238
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	1370	1068	99.81	OR835237
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	1495	1014	99.61	OR835239
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	1434	1127	99.03	OR835240
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	1407	986	99.70	OR835241
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	1094	878	99.32	OR835242

3.5.Haloversatil Bakterilerin Ürettikleri Önemli Enzimlerin İncelenmesi

Küçükbaş hayvan derilerinden izole ettiğimiz haloversatil bakterilerin enzim aktivitelerini incelediğimizde %88 oranında proteaz pozitif, %69 oranında lipaz pozitif, %8 oranında ksilnaz pozitif, kazeinaz %27 oranında pozitif, nişasta %23 pozitif, %8 DNaz pozitif, %31 selülaaz pozitif, %54 üreaz pozitif, %100 katalaz pozitif, %54 oksidaz pozitif, %100 pullulanaz negatif aktivite göstermiştir (Tablo 3.8.).

Ozbay ve Çağlayan (2022) tarafından bildirilen haloversatil izolatlar, proteaz %83, lipaz %83, kazeinaz %67, amilaz %50, selülaaz %17 üretebiliyordu. Ancak, bu izolatlar ksilnaz, DNaz, pullulanaz ve üreaz üretmiyordu. Çağlayan (2019), haloversatil izolatların yarısından fazlasının katalaz, oksidaz, proteaz, lesitinaz gibi farklı enzimleri üretebildiğini, ancak izolatların yarısından azının selülaaz, lipaz, deoksiribonükleaz, pullulanaz, amilaz, üreaz ve kazeinaz üretebildiğini bildirmiştir (Çağlayan, 2019). Özbay ve Çağlayan (2022) ise haloversatil izolatların sırasıyla %83, %83, %67, %50, %17'sinin lipaz, proteaz, kazeinaz, amilaz, selülaaz üretebildiğini, ancak hiçbir izolatın ksilnaz, DNaz, pullulanaz ve üreaz üretmediğini bulmuştur. Yapılan bir çalışmada haloversatil bakterilerin ürettikleri enzimlerin sonuçlar %40'ı esteraz, %66'sı üreaz, %77'si proteaz, %6'sı kazeinaz, %17'si lipaz, %6'sı ksilnaz, %17'si selülaaz, %20'si amilaz, %20'si DNaz ve %43'ü oksidaz üretebildiğini %100'ünün katalaz ürettiği ve hiçbirinin pullulanaz üretemediğini bildirmiştir (Abdulahsein, ve arkadaşları, 2023).

Tablo 3.8. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil İzolatların Enzimatik Özellikleri.

	İzolat Kodu	Haloversatil Türler	Proteaz	Lipaz	Ksilanaz	Pullulanaz	Kazeinaz	Nişasta	Dnaz	Selüloz	Üreaz	Katalaz	Oksidaz
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+
5	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
6	S3a	<i>Oceanobacillus polygoni</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
Pozitif izolatların sayısı			23	18	2	0	7	6	2	8	14	26	14
Pozitif izolatların yüzdesi (%)			88	69	8	0	27	23	8	31	54	100	54

3.6.Haloversatil Bakterilerin Kullandığı Amino Asit ve Şeker Kaynakları

Küçükbaş hayvan derilerindeki haloversatil izolatların karbon kaynaklarına göre reaksiyonlarını incelenmiştir. İzolatların her birinin, laktoz, D-galaktoz, D-ksiloz, D-glukoz ve maltoz şekerlerine verdiği tepkiler incelenmiştir (Tablo 3.9.). Bakteri izolatlarının laktoz %42 pozitif sonuç vermiştir. D-galaktoz için izolatların %46 pozitif sonuç vermiştir. D-ksiloz için %58 pozitif vermiştir. D-glukoz için %81'si pozitif sonuç vermiştir. Maltoz içinse %73 pozitif sonuç göstermiştir. Bu sonuçlar, mikroorganizmaların farklı şekerleri nasıl metabolize ettiklerini anlamak için bize bilgi vermektedir.

Tablo 3.9. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil Bakteri İzolatlarının Şeker Kaynaklarını Kullanımı.

	İzolat Kodu	İzolatın Adı	Laktoz	D- galaktoz	D-ksiloz	D- glukoz	Maltoz
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	-	-	-	-
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	-	+	+	+
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	-	+	+
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	-	+	+	+	+
5	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	-	-	+	+	-
6	S3a	<i>Oceanobacillus polygona</i>	-	-	-	-	+
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	-
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	-	+	-	+	+
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	+	+	-	+	+
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	-	-	+	+	+
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	+	+	+	+	+
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	-	+	+	+
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	+	+
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	+	-	+	+	+
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	+	+	+
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	-	-	-	-
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	+	+	+	+	+
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	-	+	+
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	-	+	+
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	+	+
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	-	+	+	-	-
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	+	+	+
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	-	-	-	+	+
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	-	+	+	-	-
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	+	+	+
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	+	-
Pozitif izolatların sayısı			11	12	15	21	19
Pozitif izolatların yüzdesi (%)			42	46	58	81	73

Bu tablo, izole ettiğimiz haloversatil bakterilerin belirli amino asitlere olan reaksiyonlarını göstermektedir. İzolatların her birinin, L-sistein, L-proline, L-treonin, L-histidin ve glisin amino asitlerini kullanıp kullanmadıkları bu çalışmada araştırılmıştır (Tablo 3.10.). İzole ettiğimiz haloversatil bakterilerin %80'i L- sistein pozitif reaksiyon vermiştir. Bakterilerin %80' i L- proline pozitif reaksiyon vermiştir. %80 L- treonin pozitif reaksiyon göstermiştir. Bakterilerin %31'i L- histidin pozitif reaksiyon gösterir. Son olarak glisine karşı haloversatil bakteri izolatlarının %88'i pozitif reaksiyon gösterir. Bu sonuçlar, haloversatil bakteri izolatlarının amino asit kullanım yeteneklerini ve metabolik özelliklerini yansıtmaktadır.

Tablo 3.10. Küçükbaş Hayvan Derilerinden İzole Edilen Haloversatil Bakteri İzolatlarının Amino Asit Kaynaklarını Kullanımı.

	İzolat Kodu	İzolatın Adı	L- sistein	L- proline	L- treonin	L- histidin	Glisin
1	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	+	+	-	+
2	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	-	-	+	-	+
3	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+
4	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	+	-	-	-	-
4	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	+	+	+	+	+
5	S3a	<i>Oceanobacillus polygoni</i>	+	+	-	-	+
7	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	-	+
8	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	+	+	+	+	+
9	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	+	+	+	-	+
10	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	+	+	+	+	+
11	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	+	+	+	-	-
12	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	-	-	+	-	+
13	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	-	+	+
14	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	+	-	+	-	-
15	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	-	-	+
16	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	-	+	+	-	+
17	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	-	-	+	-	+
18	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+
19	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+
20	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	+	-	+
21	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	+	+	-	+
22	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	-	-	+
23	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	+	+	+
24	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	+	+	+	-	+
25	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	+	+	-	-	+
26	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	-	+
Pozitif izolatların sayısı			21	21	20	8	23
Pozitif izolatların yüzdesi (%)			80	80	80	31	88

3.7.Bakterilerin Antibiyotik Dirençleri

Çalışmamızda izole ettiğimiz haloversatil bakterilerin amoksisilin/klavulanik asit (AMC30, 20/10 µg, 30 µg), siprofloksasin (CIP5, 5 µg), gentamisin (CN10, 10 µg), meropenem (MEM10, 10 µg) antibiyotiklerine karşı oluşturdukları inhibisyon zonları incelenmiştir (Tablo 3.11).

Solibacillus silvestris (S1a) izolatının amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)' e karşı 22 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 35 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 25 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Solibacillus silvestris* (S6b) izolatının amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 35 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 35 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 25 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır.

Bacillus licheniformis (S1b) izolatının amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 10 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 11 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 23 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Bacillus licheniformis* (S4d) izolatının amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 9 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 40 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 22 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 10 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Staphylococcus warneri* (S2a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 25 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 26 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 18 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 10 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Staphylococcus warneri* (S7a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 20 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 25 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 24 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 16 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Staphylococcus warneri* (S7b) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 8 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 25 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 18 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg), antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Staphylococcus warneri* (S9a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)' e karşı 33 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 40 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Gentamisin (10 µg) ve meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Bacillus sonorensis* (S2b)

amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 23 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 38 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 20 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 7 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Kocuria rosea* (S2c) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg), siprofloksasin (5 µg), gentamisin (10 µg), meropenem (10 µg) antibiyotiklerine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Oceanobacillus polygona* (S3a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 31 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 32 mm, gentamicin (10 µg)'e karşı 31 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 21 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Bacillus pumilus* (S3b) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 15 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 11 mm, gentamicin (10 µg)'e karşı 7 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Bacillus pumilus* (S10c) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 11 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 14 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 9 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Virgibacillus proomii* (S3c) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 10 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 28 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 25 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* (S4a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 13 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 5 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 20 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 16 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Bhargavaea ginsengi* (S4b) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 32 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 30 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 27 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 9 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Bacillus amyloliquefaciens* (S4c) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 23 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 34 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 26 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 18 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Bacillus cereus* (S5a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 6 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 26 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 18 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 15 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Bacillus paralicheniformis* (S5b) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 8 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 32 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Gentamisin (10 µg) ve meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu

oluşturmamıştır. *Alkalihalobacillus clausii* (S6a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 18 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 34 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 30 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Alkalihalobacillus clausii* (S8c) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 17 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 31 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 29 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Alkalihalobacillus clausii* (S10b) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 9 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 21 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 23 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Staphylococcus nepalensis* (S6c) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 18 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 13 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Meropenem (10 µg), siprofloksasin (5 µg) antibiyotiğine karşı hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Ornithinibacillus scapharcae* (S8b) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 28 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 32 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 21 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 8 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Ornithinibacillus scapharcae* (S10a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 26 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 8 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 9 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 10 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *Micrococcus luteus* (S8a) amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı 28 mm, siprofloksasin (5 µg)'e karşı 21 mm, gentamisin (10 µg)'e karşı 21 mm, meropenem (10 µg)'e karşı 9 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.11.).

Tablo 3.11. Antibiyotiklere karşı haloversatil test izolatlarının inhibisyon zon çapları (mm).

	İzolat Kodu	İzolatın Adı	AMC	CIP	CN	MEM
1.	S1a	<i>Solibacillus silvestris</i>	22	35	25	-
2.	S6b	<i>Solibacillus silvestris</i>	35	35	25	-
3.	S1b	<i>Bacillus licheniformis</i>	10	11	23	-
4.	S4d	<i>Bacillus licheniformis</i>	9	40	22	10
5.	S2a	<i>Staphylococcus warneri</i>	25	26	18	10
6.	S7a	<i>Staphylococcus warneri</i>	20	25	24	16
7.	S7b	<i>Staphylococcus warneri</i>	8	25	18	10
8.	S9a	<i>Staphylococcus warneri</i>	33	40	-	-
9.	S2b	<i>Bacillus sonorensis</i>	23	38	20	7
10.	S2c	<i>Kocuria rosea</i>	-	-	-	-
11.	S3a	<i>Oceanobacillus polygoni</i>	31	32	31	21
12.	S3b	<i>Bacillus pumilus</i>	15	11	7	-
13.	S10c	<i>Bacillus pumilus</i>	11	14	9	-
14.	S3c	<i>Virgibacillus proomii</i>	10	28	25	-
15.	S4a	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	13	5	20	16
16.	S4b	<i>Bhargavaea ginsengi</i>	32	30	27	9
17.	S4c	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	23	34	26	18
18.	S5a	<i>Bacillus cereus</i>	6	26	18	15
19.	S5b	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	32	-	-
20.	S6a	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	18	34	30	-
21.	S8c	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	17	31	29	-
22.	S10b	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	9	21	23	-
23.	S6c	<i>Staphylococcus nepalensis</i>	18	-	13	-
24.	S8b	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	28	32	21	8
25.	S10a	<i>Ornithinibacillus scapharcae</i>	26	8	9	10
26.	S8a	<i>Micrococcus luteus</i>	28	21	21	9

AMC30: Amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg), **CIP5:** Siprofloksasin (5 µg), **CN10:** Gentamisin (10 µg), **MEM10:** Meropenem (10 µg).

3.8.Deriye Zarar Veren Bakterilerin Antimikrobiyal Madde ile Kontrolü

Araştırmamızda potasyum dimetil-ditiyokarbamat içeren antimikrobiyal maddenin 0.038, 0.07, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 4.9, 9.8, 19.5, 39, 78, 156, 312, 625, 1250, 2500 ve 5000 µg/mL'lik konsantrasyonları disk difüzyon metoduyla sekiz farklı haloversatil izolata uygulandığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 13).

Bacillus sonorensis (İzolat S2b) 0.6-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 8-45 mm'lik zon çapı oluşturmuştur (Tablo 3.12.). *Bacillus pumilus* (İzolat S3b) 2.4-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 8-45 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. *Virgibacillus proomii* (İzolat S3c) 0.6-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 9-40 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. *Bacillus licheniformis* (İzolat S4d) 0.6-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 7-42 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. *Bacillus cereus* (İzolat S5a) 0.6-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 9-45 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. *Staphylococcus warneri* (İzolat S9a) 19.5-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 8-45 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. *Alkalihalobacillus clausii* (İzolat S10b) 39-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 8-40 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. *Bacillus pumilus* (İzolat S10c) 9.8-5000 µg/mL konsantrasyonlarında 10-48 mm'lik zon çapı oluşturmuştur.

Tablo 3.12. Haloversatil Bakterilerin Aktif İçeriği Potasyum dimetilditiyokarbamat Olan Antimikrobiyalin Farklı Konsantrasyonlarının Disk Difüzyon Metodunun Uygulanarak Oluşan İnhibisyon Zonu Çapları (mm).

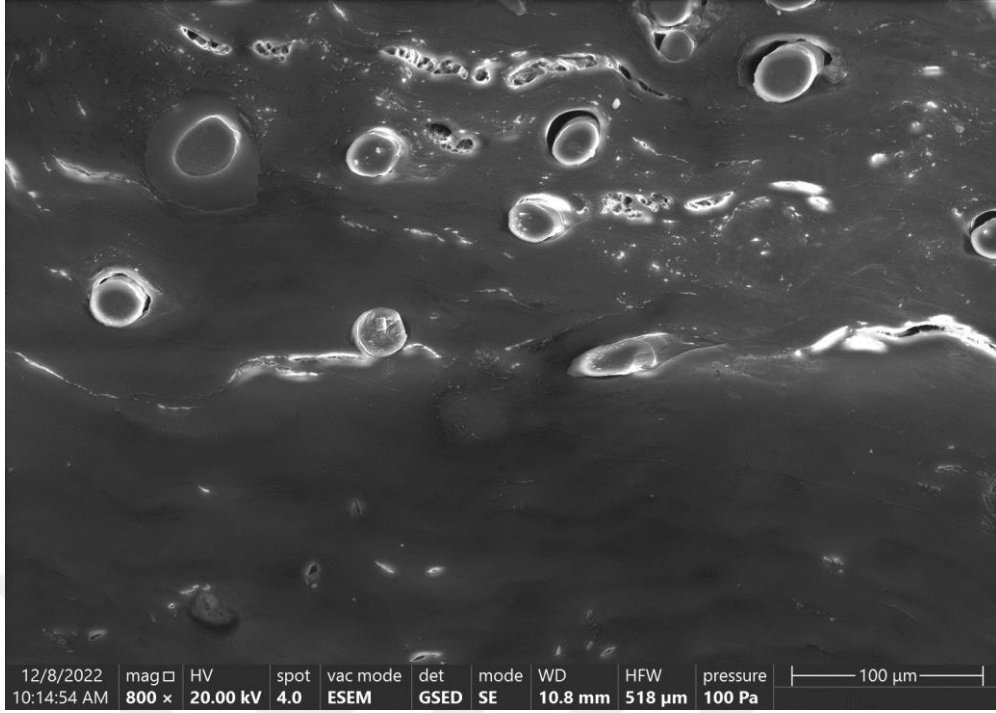
	Diskteki son konsantrasyon (µg/mL)	<i>Bacillus sonorensis</i> (İzolat S2b)	<i>Bacillus pumilus</i> (İzolat S3b)	<i>Virgibacillus proomii</i> (İzolat S3c)	<i>Bacillus licheniformis</i> (İzolat S4d)	<i>Bacillus cereus</i> (İzolat S5a)	<i>Staphylococcus warneri</i> (İzolat S9a)	<i>Alkalihalobacillus clausii</i> (İzolat S10b)	<i>Bacillus pumilus</i> (İzolat S10c)
		Zon Çapı (mm)							
1	5000	45	45	40	42	45	45	40	48
2	2500	35	40	35	40	40	40	40	40
3	1250	34	35	33	32	32	38	35	35
4	625	33	30	28	27	30	30	35	30
5	312	30	27	27	27	29	23	25	30
6	156	29	26	23	24	27	22	20	25
7	78	22	23	22	22	23	18	14	20
8	39	21	19	18	19	18	10	8	15
9	19.5	16	18	17	12	15	8	-	12
10	9.8	13	12	14	12	9	-	-	10
11	4.9	12	10	12	12	12	-	-	-
12	2.4	11	8	10	9	11	-	-	-
13	1.2	9	-	10	9	10	-	-	-
14	0.6	8	-	9	7	9	-	-	-
15	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-
16	0.15	-	-	-	-	-	-	-	-
17	0.07	-	-	-	-	-	-	-	-
18	0.038	-	-	-	-	-	-	-	-

3.9.Enzim Üreten Haloversatil Bakterilerin Keçi Derisinde Meydana Getirdiği Zararın Çevresel Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi

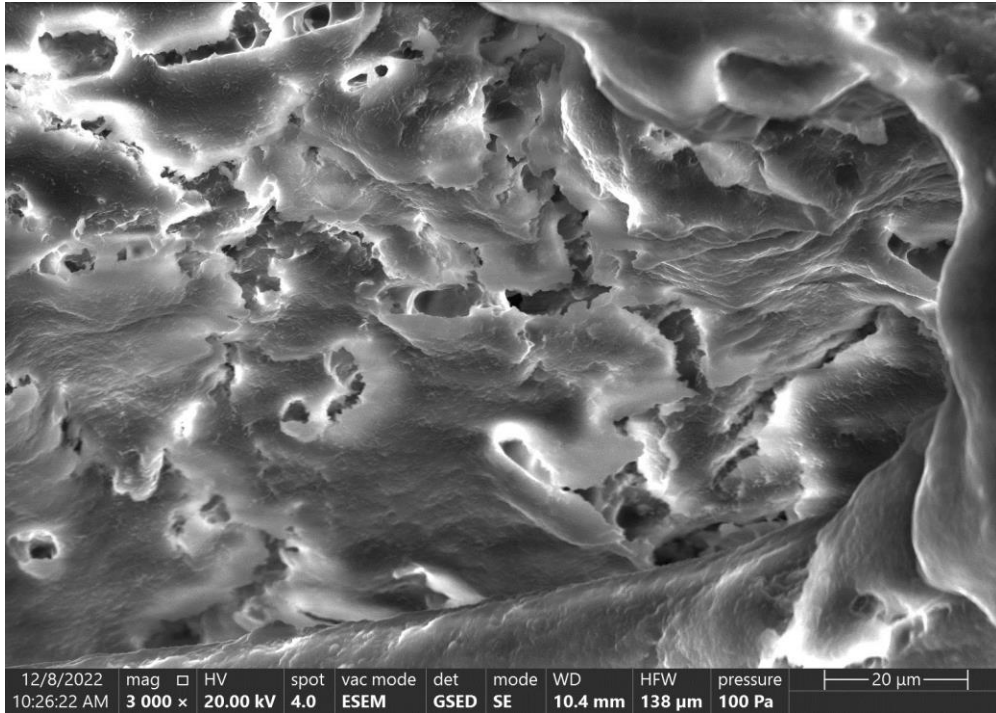
Haloversatil bakteri türlerinin karışık kültürü ile muamele edilen deri örneğini 40 gün bekletildikten sonra incelenmiştir ve derinin yapısında yumuşama ve yapışkan bir görüntü, kıllarda kopmalar ve kokuşma olduğu tespit edilmiştir. Haloversatil bakteri türlerinin aktivitelerinin deri yapısını olumsuz etkileyerek kaliteli deri elde edilmesini de engellediği sonucuna varılmıştır. Haloversatil bakterilerin kullandıkları çeşitli enerji ve karbon kaynakları ve ürettikleri lipaz ve proteaz enzimleri deri yapısı üzerinde nasıl bir etkisi olduğu (Şekil 3.1.) elektron mikroskopunda (Thermo Scientific Quattro S, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul) incelenmiştir. Keçi derisi örneğini kullandığımız kontrol grubunda (Şekil 3.2.), keçi derisinin yapısı normal görünmektedir ve deri yapısında ya da kıl yapısında önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Derinin yapısında bir bozukluk yoktur, kıllar kıl kökünde sabit bir şekilde gözükmektedir bu da bize kıllarda bir dökülme olmadığını göstermektedir. Keçi derisine karışık haloversatil bakteri kültürünü ekledikten sonra deri yapısını taramalı elektron mikroskobu görüntüsünde ise keçi derisinin yapısının bozulduğu artık kıl kökünün ve kılların görüntülenemediği kılların döküldüğü, deri liflerinde kopmalara neden olarak zarar verdiği görüntülenmiştir (Şekil 3.3.). Haloversatil izolatların karışık kültürünün deri kolajen liflerini ve tüyleri yok ettiğini görülmektedir (Şekil 3.3.). Bu sonuçlar, haloversatil bakterilerin küçükbaş hayvan derisinde gelişerek deri üzerinde olumsuz etkilere sebep olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 3.1. Elektron mikroskobu (Thermo Scientific Quattro S, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul.)

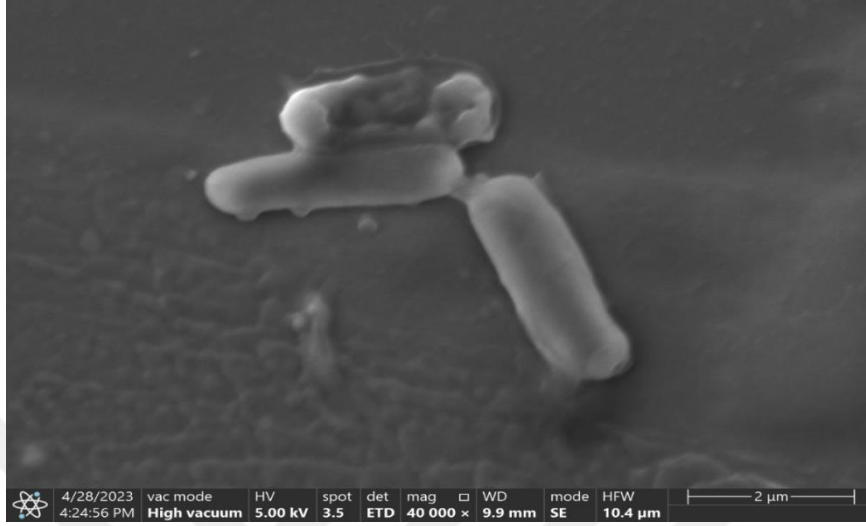


Şekil 3.2. Keçi derisi örneğinin SEM görüntüsü (Kontrol).

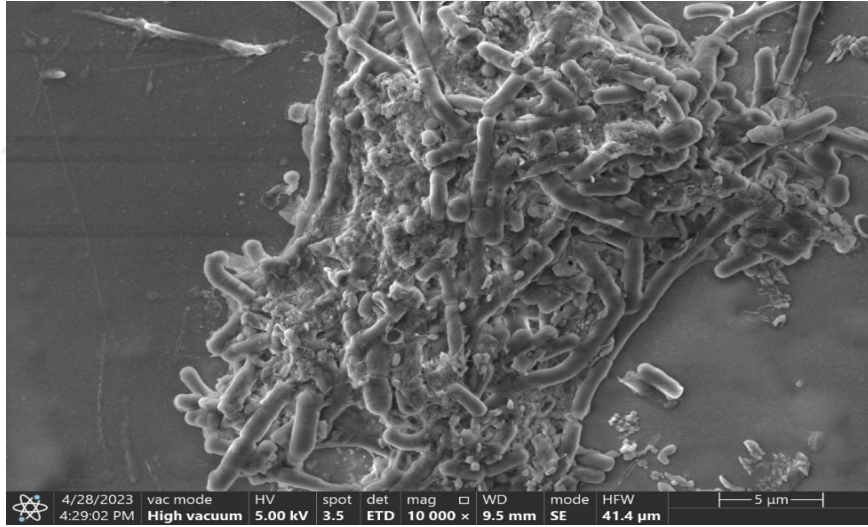


Şekil 3.3. Haloversatil bakteri türlerinin karışık kültürü ile muamele edilmiş keçi derisi örneğinin SEM görüntüsü.

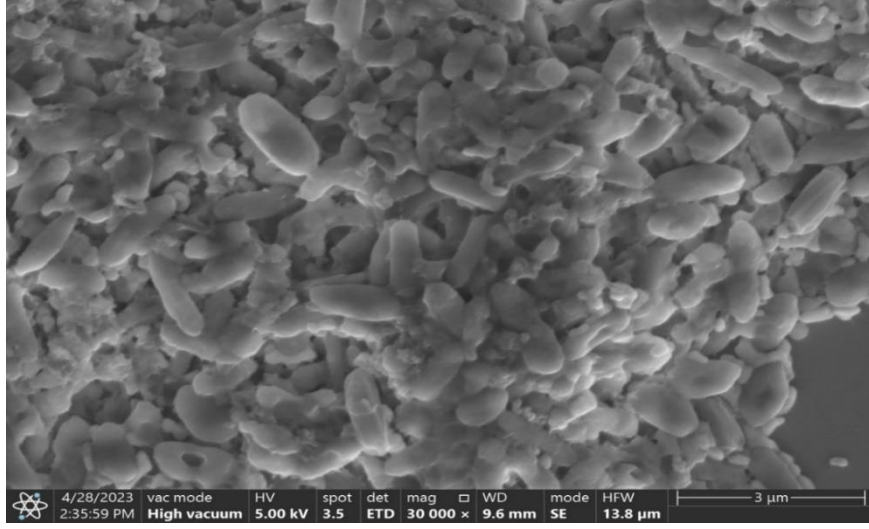
İzolatlara ait hücrelerin elektron mikroskopundaki görüntüleri Şekiller 3.4-3.19 arasında verilmiştir.



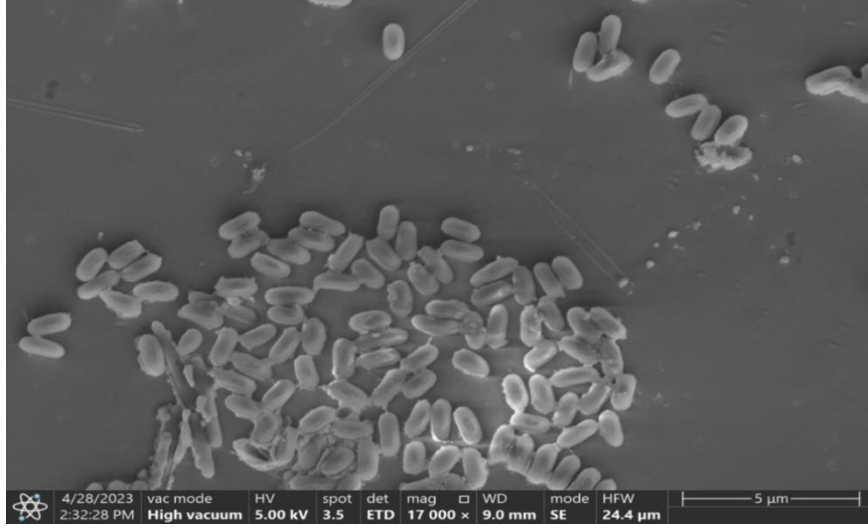
Şekil 3.4. *Solibacillus silvestris* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



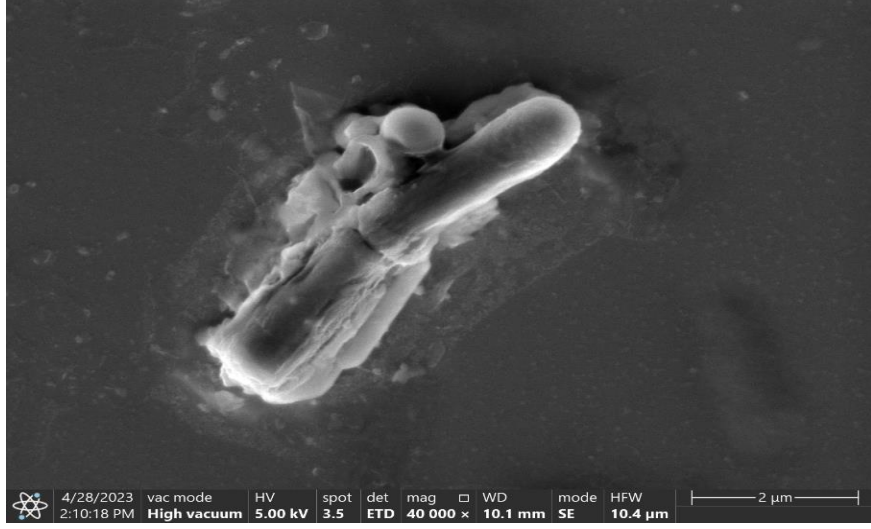
Şekil 3.5. *Bacillus licheniformis* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



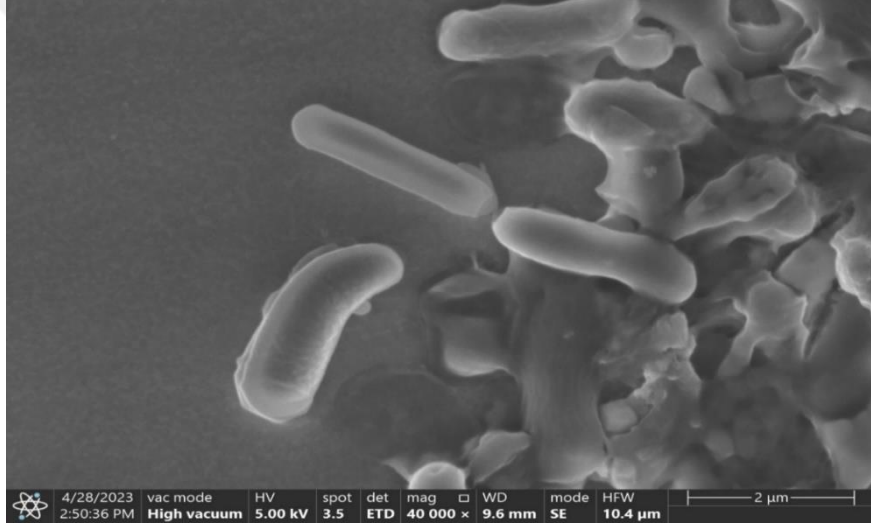
Şekil 3.6. *Bacillus pumilus* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



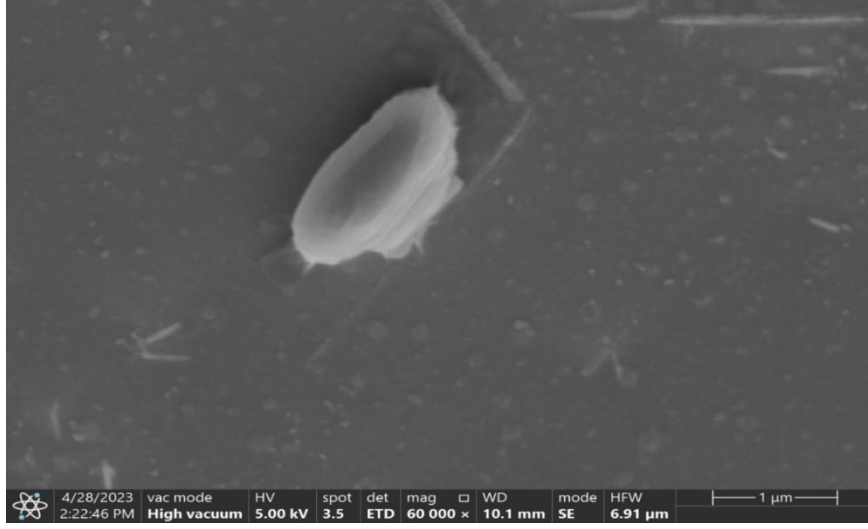
Şekil 3.7. *Bacillus amyloliquefaciens* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



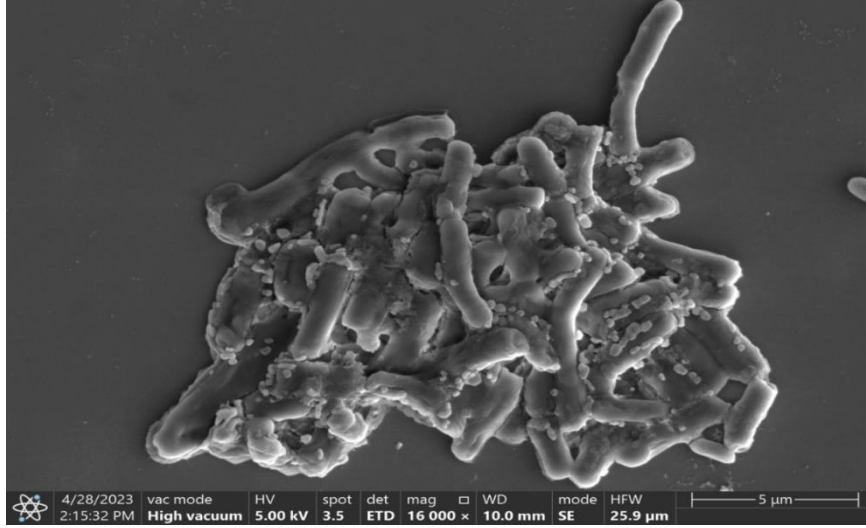
Şekil 3.8. *Bacillus paralicheniformis* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



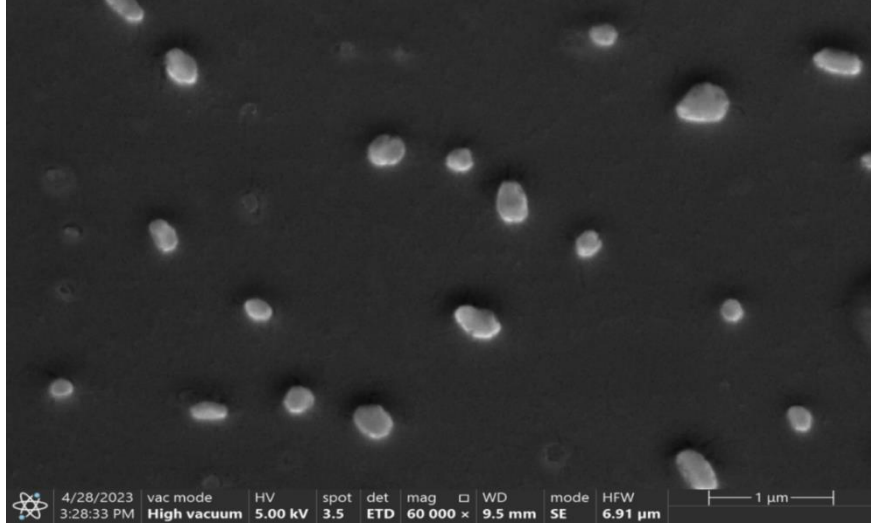
Şekil 3.9. *Bhargavaea ginsengi* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



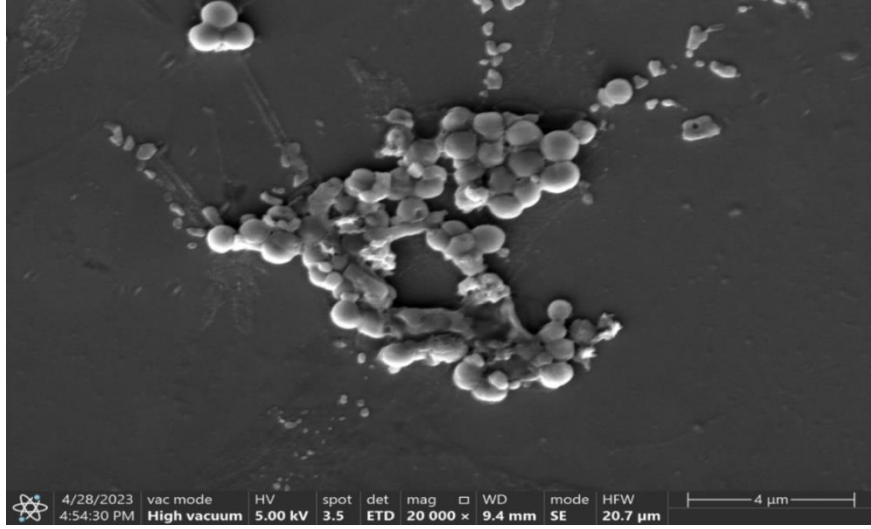
Şekil 3.10. *Ornithinibacillus scapharcae* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



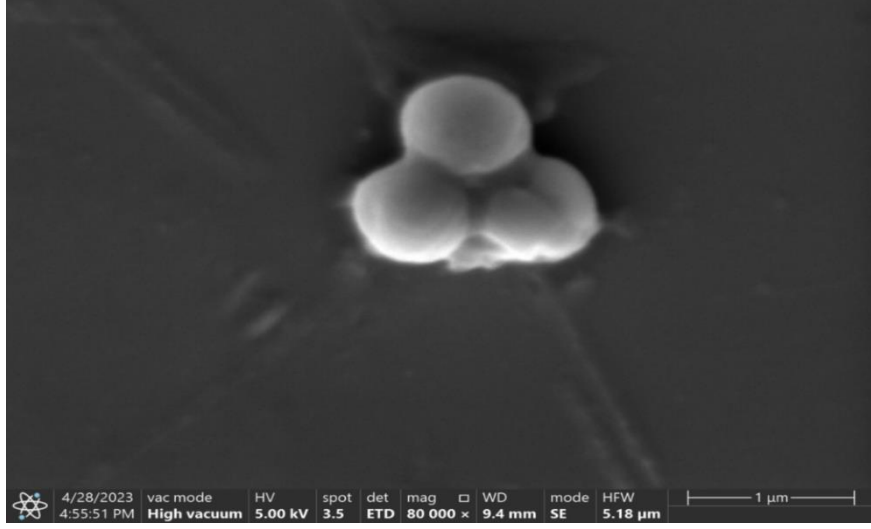
Şekil 3.11. *Alkalihalobaccillus clausii* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



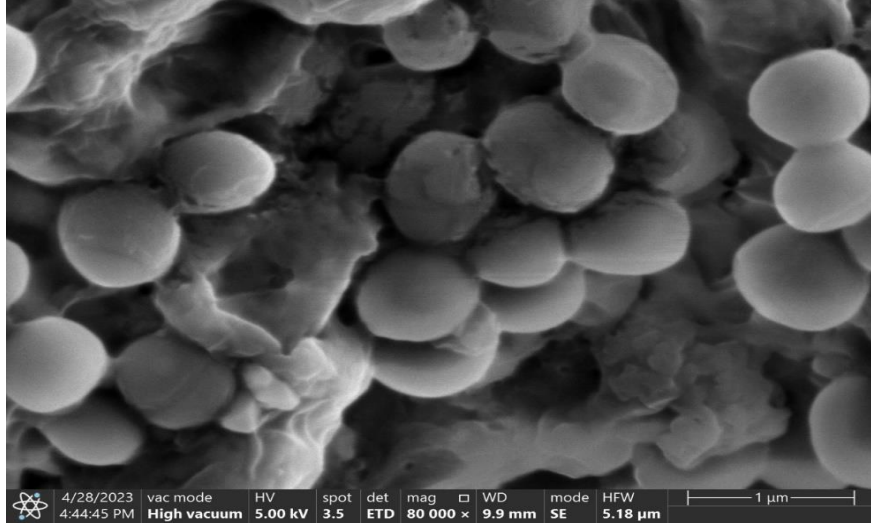
Şekil 3.12. *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



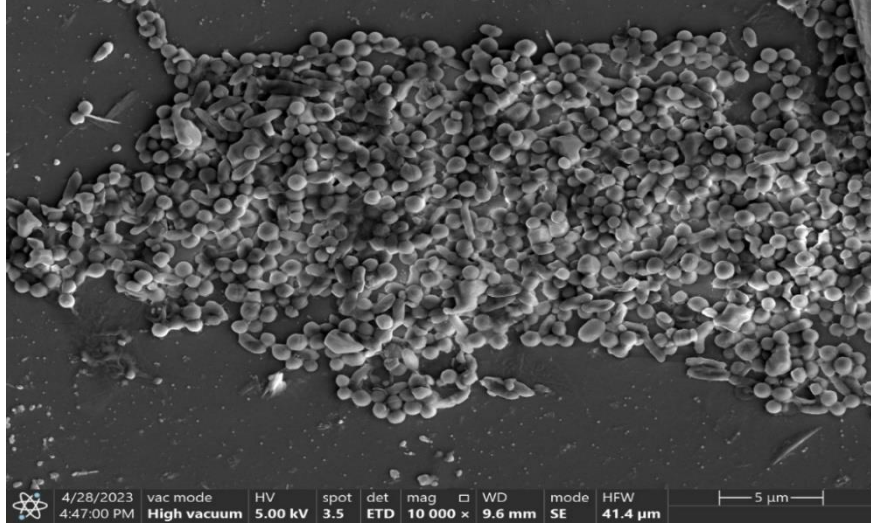
Şekil 3.13. *Staphylococcus warneri* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü



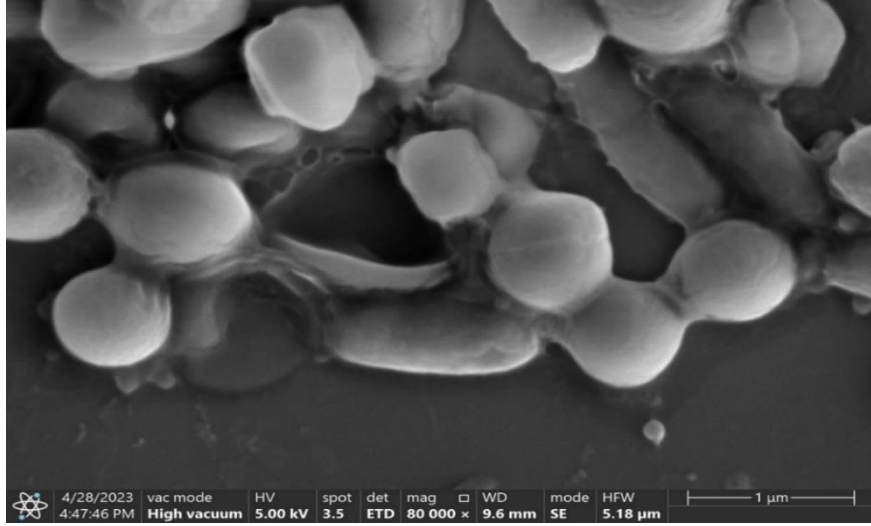
Şekil 3.14. *Staphylococcus warneri* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



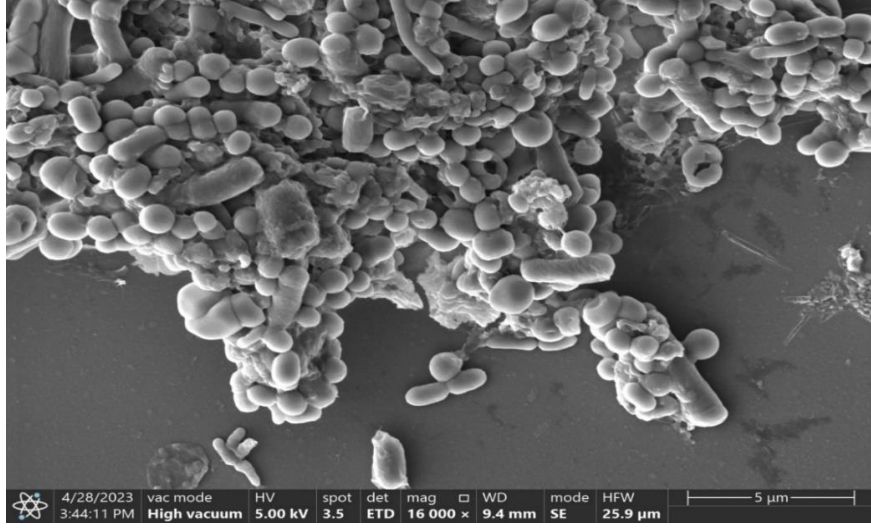
Şekil 3.15. *Staphylococcus nepalensis* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



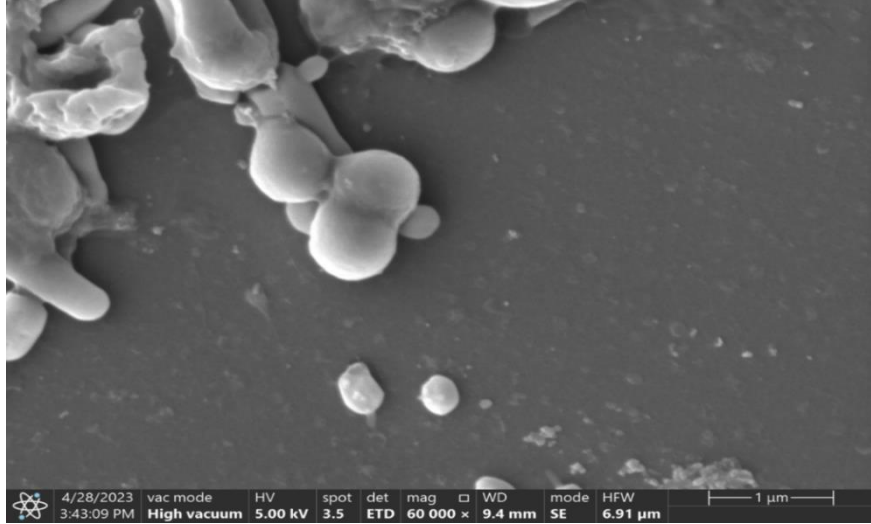
Şekil 3.16. *Kocuria rosea* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



Şekil 3.17. *Kocuria rosea* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.



Şekil 3.18. *Micrococcus luteus* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü



Şekil 3.19. *Micrococcus luteus* hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü.

BÖLÜM 4: SONUÇLAR

Tuzlanmış küçükbaş hayvan derisi örneklerindeki toplam haloversatil bakteri sayıları (7×10^4 - 2.7×10^5 kob/g) aralığında, 4 örnekte 10^4 kob/g (%40), 6 örnekte 10^5 kob/g (%60) olduğu belirlenmiştir. Derilerdeki toplam proteolitik haloversatil bakteri sayısı alınan deri örneklerinin tamamında 1×10^4 - 8×10^4 kob/g olarak saptanmıştır. İncelediğimiz deri örneklerinin %90'ında toplam lipolitik haloversatil bakteri sayısı 10^4 kob/g ve %10'u 10^5 kob/g saptanmıştır ve 1×10^4 - 1.3×10^5 aralığındadır. Bu araştırmada küçükbaş hayvan derilerinden izole ettiğimiz haloversatil bakterileri tanımlamak amacıyla geleneksel tanımlama yöntemleri ve 16S rRNA analizi yapılarak bakteriler teşhis edilmiştir. Deriden izole ettiğimiz haloversatil bakterilerin Gram boyama methoduna göre kullandığı şeker ve amino asit kaynakları gibi biyokimyasal testleri, bu bakterilerin ürettikleri enzimler yönünden araştırmalar yapılarak haloversatil bakterilere ilişkin bilgiler elde edilmiştir. Araştırmamızda 10 farklı cinsten bakteri teşhis edilmiştir. Bu cinslerden en çok *Staphylococcus* cinsi (6 izolat) ve *Bacillus* cinsi (6 izolat) teşhis edilen cinslerden olmuştur. *Solibacillus* cinsinden (2 izolat), *Ornithinibacillus* cinsinden (2 izolat), *Alkalihalobacillus* cinsinden (3 izolat), *Bhargavaea* cinsinden (1 izolat), *Kocuria* cinsinden (1 izolat), *Oceanobacillus* cinsinden (1 izolat), *Virgibacillus* cinsinden (1 izolat), *Micrococcus* cinsinden (1 izolat) teşhis edilmiştir. 16S rRNA dizileme sonuçlarına göre izole edilen 26 adet haloversatil bakteri izolatının *Solibacillus silvestris* (2 izolat), *Bacillus licheniformis* (2 izolat), *Staphylococcus warneri* (4 izolat), *Bacillus sonorensis* (1 izolat), *Kocuria rosea* (1 izolat), *Oceanobacillus polygoni* (1 izolat), *Bacillus pumilus* (2 izolat), *Virgibacillus proomii* (1 izolat), *Staphylococcus hominis subsp. hominis* (1 izolat), *Bhargavaea ginsengi* (1 izolat), *Bacillus amyloliquefaciens* (1 izolat), *Bacillus cereus* (1 izolat), *Bacillus paralicheniformis* (1 izolat), *Alkalihalobacillus clausii* (3 izolat), *Staphylococcus nepalensis* (1 izolat), *Micrococcus luteus* (1 izolat) ve *Ornithinibacillus scapharcae* (2 izolat) gibi 17 farklı türe ait olduğu bulunmuştur. Küçükbaş hayvan derilerinden izole ettiğimiz haloversatil bakterilerin enzim aktivitelerini incelediğimizde %88 oranında proteaz pozitif, %69 oranında lipaz pozitif, %8 oranında ksilinaz pozitif, kazeinaz %27 oranında pozitif, nişasta %23 pozitif, %8 DNaz pozitif, %31 selüloz pozitif, %54 üreaz pozitif, %100 katalaz pozitif, %54 oksidaz pozitif, %100 pullulanaz negatif aktivite göstermiştir.

Haloversatil bakterilerin 23 tanesi proteaz 18 tanesi lipaz pozitif sonuç vermiştir. Bu durum deri endüstrisi açısından zararlı olmaktadır çünkü bu enzimler deriye zarar vererek deri kalitesini düşürmektedir. Bu veri bizlere deri üretim süreçlerinde önlem alma imkânı sunmaktadır. Bu enzimlerin deri endüstrisine sağladığı avantajlardan biri ise enzimlerin çeşitli deri işleme basamaklarında derinin yapısı dışında bulunan proteinlerin ve yağların giderilerek temizlenmesinde bazı proteazlar deriden kılların uzaklaştırılmasında ve derinin yumuşatılmasında gibi basamaklarda kullanılmasıdır. Ayrıca ürettikleri diğer enzimler ile kâğıt endüstrisi, meyve suları, gıda, biyoyakıt endüstrisi, ilaç sektörü, kontakt lens temizleyicilere kadar pek çok endüstriyel alanda kullanılabilme şansı sunmaktadırlar. Bakteri izolatlarının %42'si laktoz pozitif sonuç vermiştir. D-galaktoz için izolatların %46'sı pozitif sonuç vermiştir. D-ksiloz için %58'i pozitif sonuç vermiştir. D-glukoz için %81'i pozitif sonuç vermiştir. Maltoz içinse %73'ü pozitif sonuç göstermiştir. İzole ettiğimiz haloversatil bakterilerin %80'i L-sistein pozitif reaksiyon göstermiştir. Bakterilerin %80'i L-proline pozitif reaksiyon göstermiştir. %80'i L-treonin pozitif reaksiyon göstermiştir. Bakterilerin %31'i L-histidin pozitif reaksiyon göstermiştir. Son olarak glisine karşı haloversatil bakteri izolatlarının %88'i pozitif reaksiyon göstermiştir. Bu çalışmada kullanılan haloversatil bakteri izolatlarının antibiyotiklerin bazılarında hiç etkilenmedikleri ve inhibisyon zonu oluşturmadıkları saptanmıştır. *Kocuria rosea* amoksisilin/klavulanik asit (AMC30, 20/10 µg, 30 µg), siprofloksasin (CIP5, 5 µg), gentamisin (CN10, 10 µg), meropenem (MEM10, 10 µg) antibiyotikleri karşısında hiç inhibisyon zonu oluşturmamıştır. *Solibacillus silvestris* (S1a), *Solibacillus silvestris* (S6b), *Bacillus licheniformis* (S1b), *Bacillus licheniformis* (S4d), *Staphylococcus warneri* (S2a), *Staphylococcus warneri* (S7a), *Staphylococcus warneri* (S7b), *Staphylococcus warneri* (S9a), *Bacillus sonorensis* (S2b), *Oceanobacillus polygoni* (S3a), *Bacillus pumilus* (S3b), *Bacillus pumilus* (S10c), *Virgibacillus proomii* (S3c), *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* (S4a), *Bhargavaea ginsengi* (S4b), *Bacillus amyloliquefaciens* (S4c), *Bacillus cereus* (S5a), *Bacillus paralicheniformis* (S5b), *Alkalihalobacillus clausii* (S6a), *Alkalihalobacillus clausii* (S8c), *Alkalihalobacillus clausii* (S10b), *Staphylococcus nepalensis* (S6c), *Ornithinibacillus scapharcae* (S8b), *Ornithinibacillus scapharcae* (S10a), *Micrococcus luteus* (S8a) türlerinin %96.15'i amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, 30 µg)'e karşı, %92.30'u siprofloksasin (5 µg)'e karşı, %88.46'sı gentamisin (10 µg)'e, %46.15'i meropenem (10

µg)'e karşı farklı büyüklüklerde inhibisyon zonları oluşturdıkları tespit edilmiştir. İzole ettiğimiz haloversatil bakteriler arasında uygulanan antibiyotiklere karşı en büyük çapta inhibisyon zonu oluşturan *Bacillus licheniformis* (S4d) ve *Staphylococcus warneri* (S9a) olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus licheniformis* (S4d) ve *Staphylococcus warneri* (S9a) izolatları siprofloksasin (CIP5, 5 µg)'e karşı 40 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuşlardır. Amoksisilin/klavulanik asit (AMC30, 20/10 µg, 30 µg)'e karşı en büyük çapta inhibisyon zonu oluşturan izolat *Solibacillus silvestris* (S6b) olmuştur ve 35 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur. Gentamisin (CN10, 10 µg)'e karşı en büyük çapta inhibisyon zonu oluşturan izolat *Oceanobacillus polygoni* (S3a) olmuştur ve 31 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur. Meropenem (MEM10, 10 µg)'e karşı en büyük çapta inhibisyon zonu oluşturan izolat *Oceanobacillus polygoni* (S3a) olmuştur ve 21 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Araştırmamızda haloversatil bakterilerin deriye verdiği zararı incelemek için elektron mikroskobu kullanılmıştır. Keçi derisine eklediğimiz karışık kültür halindeki haloversatil bakterilerin derinin yapısında yumuşama, kokuşma ve kıllarda kopmalara sebep olduğu gözlemlenmiştir. Çevresel taramalı elektron mikroskobu görüntülerinde keçi derisinde kıl kökünün hasar gördüğü kılların koptuğu, derinin lifsi yapısının parçalandığı da açıkça görüntülenmiştir. Bu bakterilerin deriyi olumsuz etkileyerek zarar verdiği sonucuna varılmıştır. Küçükbaş hayvan derilerindeki proteolitik ve lipolitik bakteriler derilerin kalitesine zarar vermesini engelleyerek kaliteli deri ortaya çıkarmak amaçlanmış ve bu amaç doğrultusunda antimikrobiyal madde olarak Potasyum dimetil-ditiyokarbamet kullanılarak antibakteriyel etkisi araştırılmış ve deney sonucunda potasyum dimetil-ditiyokarbamet *Bacillus sonorensis* (İzolat S2b), *Bacillus pumilus* (İzolat S3b), *Virgibacillus proomii* (İzolat S3c), *Bacillus licheniformis* (İzolat S4d), *Bacillus cereus* (İzolat S5a), *Staphylococcus warneri* (İzolat S9a), *Alkalihalobacillus clausii* (İzolat S10b), *Bacillus pumilus* (İzolat S10c) türleri etkili olduğu görülmüştür. Bu araştırma deri endüstrisi başta olmak üzere birçok farklı alanda bakteriler ve onların ürettikleri enzimlerin kullanılması açısından büyük avantaj sağlama potansiyelinin olduğu saptanmıştır. Haloversatil bakterilerle ilgili yapılan az sayıdaki çalışmaya bir yenisini daha ekleyerek bu bakterilerle ilgili daha çok bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır.

KAYNAKÇA

1. Abdelkafi, S., Sayadi, S., Ali Gam, Z. B., Casalot, L., Labat, M. (2006). Bioconversion of Ferulic Acid to Vanillic Acid by *Halomonas elongata* Isolated from Table Olive Fermentation. *FEMS Microbiology Letters*, 262(1), 115-120.
2. Adams, M. R., Moss, M. O. (2008). Food Microbiology. 3rd Edition, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 252-256.
3. Agata, N., Ohta, M., Yokoyama, K. (2002). Production of *Bacillus cereus* Emetic Toxin (Cereulide) in Various Foods. *International Journal of Food Microbiology*, 73 (1), 23-27.
4. Ammar, O. F. (2017). Preparation of Bacteria for Scanning Electron Microscope and Common Reagents Preparation Protocols. DOI:10.13140/RG.2.2.16802.84160.
5. Amoozegar, M. A., Salehghamari, E., Khajeh, K., Kabiri, M., Naddaf, S. (2008). Production of an Extracellular Thermohalophilic Lipase from a Moderately Halophilic Bacterium, *Salinivibrio* sp. strain SA-2. *Journal of Basic Microbiology*, 48(3), 160-167.
6. Arahal, D. R., Ventosa, A. (2002). “Moderately Halophilic and Halotolerant Species of *Bacillus* and Related Genera”, Applications and Systematics of *Bacillus* and Relatives, Berkeley, R. C. W., Heyndrickx, M., Logan, N., DeVos, P. Editors, Oxford: Blackwell, 83-99.
7. Ashour, S. M., Mostafa, S. A., Ahmed, S. A. (2011). Halophilic and Halotolerant Bacteria in Mangrove Ecosystem South Safaga on the Red Sea, Egypt. *African Journal of Biological Sciences*, 7, 61-68.
8. Barnett, M. E., Venghaus, J. D. (1989). Microbiology Laboratory Exercises, Wm.C. Brown Publishers Dubuque, Iowa, 292.
9. Bass-Becking, L. G. M. (1931). Historical Notes on Salt and Salt-Manufacture. *The Scientific Monthly*, 32(5), 434-446.
10. Baumgartner, J. G. (1937). The Salt Limits and Thermal Stability of a New Species of Anaerobic Halophile. *Journal of Food Science*, 2(4), 321-329.
11. Bayley, S. T., Morton, R. A., Lanyi, J. K. (1978). Recent Developments in the Molecular Biology of Extremely Halophilic Bacteria. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 6(2), 151-206.

12. Bediz-Ölçer, A., Gönül, N. (2002). “Perkütan Absorpsiyon ve Perkütan Absorpsiyonu Etkileyen Faktörler”, Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 31(1), 33-49,
13. Behera, B. K., Das, P., Maharana, J., Paria, P., Mandal, S. N., Meena, D. K., Sharma, A. P., Jayarajan, R., Dixit, V., Verma, A., Vellarikkal, S. K., Scaria, V., Sivasubbu, S., Rao, A. R., Mohapatra, T. (2015). Draft Genome Sequence of the Extremely Halophilic Bacterium *Halomonas salina* strain CIFRI1, Isolated from the East Coast of India. *Genome Announcements*, 3(1), e01321-14.
14. Benachenhon, N., Baldacci, G. (1991). The Gene for a Halophilic Glutamate Dehydrogenase Sequence, Transcription Analysis and Phylogenetic Implications. *Molecular and General Genetics MGG*, 230, 345-352.
15. Ben-Amotz, A., Avron, M. (1981). Glycerol and β -carotene Metabolism in the Halotolerant Alga *Dunaliella*: a Model System for Biosolar Energy Conversion. *Trends in Biochemical Sciences*, 6, 297-299.
16. Ben-Amotz, A., Avron, M. (1990). The Biotechnology of Cultivating the Halotolerant Alga *Dunaliella*. *Trends in Biotechnology*, 8, 121-126.
17. Bharadwaj SV, V., Shrivastav, A., Dubey, S., Ghosh, T., Paliwal, C., Maurya, R., Mishra, S. (2015). Draft Genome Sequence of *Halomonas hydrothermalis* MTCC 5445, Isolated from the West Coast of India. *Genome Announcements*, 3(1), e01419-14.
18. Bilgehan, H. (2004). Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 4. Baskı, 35-434.
19. Birbir, M. (1991). Deri Endüstrisinde Kullanılan İşlenmiş ve İşlenmemiş Sığır Derilerinde Derinin Kalitesine Etki Eden Mikroorganizmaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 1- 24.
20. Birbir, M.; Kalli, N.; Johansson, C. (2002). Examination of Salt Quality of Şereflikoçhisar Lake Used in the Turkish Leather Industry, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 86, 112-117.
21. Bitzer, J., Große, T., Wang, L., Lang, S., Beil, W., Zeeck, A. (2006). New Aminophenoxazinones from a Marine *Halomonas* sp.: Fermentation, Structure Elucidation, and Biological Activity. *The Journal of Antibiotics*, 59(2), 86-92.

22. Brenner, D.J. (2005). "Family I. *Enterobacteriaceae*", Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2, Krieg, N.R.; Holt J.G. Editors.; Williams &Wilkins, Baltimore, MD, 587-850.
23. Caglayan, P. (2019). Enzymatic Reactions and Phylogenetic Analysis of Haloversatile Bacteria Isolated from Camaltı Saltern Salt Samples Used in Leather Industry. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 115,450-461.
24. Caglayan, P. Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A., Birbir, Y. (2018). Investigation of Moderately Halophilic Bacteria Causing Deterioration of the Salted Sheep and Goat Skins and Their Extermination via Electric Current Applications. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 113(02), 41-52.
25. Caglayan, P. (2022). Characterization and Control of Antibiotic-Resistant Camaltı Saltern's Isolates with Bacteriocins. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 117(8), 315-329.
26. Çağlayan, P., Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A. (2017). Screening of Industrially Important Enzymes Produced by Moderately Halophilic Bacteria Isolated from Salted Sheep Skins of Diverse Origin. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 112.
27. Cai, L., Tan, D., Aibaidula, G., Dong, X. R., Chen, J. C., Tian, W. D., Chen, G. Q. (2011). Comparative Genomics Study of Polyhydroxyalkanoates (PHA) and Ectoine Relevant Genes from *Halomonas* sp. TD01 Revealed Extensive Horizontal Gene Transfer Events and Co-evolutionary Relationships. *Microbial Cell Factories*, 10(1), 1-15.
28. Chen, G. Q. (2009). A Microbial Polyhydroxyalkanoates (PHA) Based Bio-and Materials Industry. *Chemical Society Reviews*, 38(8), 2434-2446.
29. Chen, G. Q., Patel, M. K. (2012). Plastics Derived from Biological Sources: Present and Future: a Technical and Environmental Review. *Chemical Reviews*, 112(4), 2082-2099.
30. Claus, D. and Berkeley, R.C.W. (1986). "Genus *Bacillus*", Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2, Sneath, P.H.A., Mair, N. S., Sharpe M. E., Holt J.G., Editors.; Williams Wilkins, Baltimore, MD, 13, 1108-1139

31. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2010). Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline-Second Edition, CLSI document M45-A2, Wayne, P.A.
32. Cohn, F. (1872). Studies on Bacteria. Contributions to Plant Biology. 1 booklet 2.
33. Collins, T., Gerday, C., Feller, G. (2005). Xylanases, Xylanase Families and Extremophilic Xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(1), 3-23.
34. Cordon, T. C., Jones, H. W., Clarke, I. D., Naghski, J. (1958). Microbial and Other Enzymes as Depilatory Agents. *Applied Microbiology*, 6(5), 293-297.
35. Çağlayan, P. (2019). Deri Endüstrisinde Kullanılan Çamaltı Tuzlu Tuz Örneklerinden İzole Edilen Haloversatil Bakterilerin Enzimatik Reaksiyonları ve Filogenetik Analizi. *Amerikan Deri Kimyagerleri Derneği Dergisi*, 114 (12).
36. Çetin, E.T. (1980). “Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon İşlemleri ve Hastanede Uygulanışları”, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Matbaası, İstanbul, Türkiye, 21-92.
37. DasSarma S, DasSarma P. (2012). *Halophiles*. Encyclopedia of Life Sciences. London: Wiley.
38. De Clerck, E., De Vos, P. (2004). Genotypic Diversity Among *Bacillus licheniformis* Strains from Various Sources. *FEMS Microbiology Letters*, 231(1), 91-98.
39. de Lourdes Moreno, M., García, M. T., Ventosa, A., Mellado, E. (2009). Characterization of *Salicola* sp. IC10, a Lipase and Protease Producing Extreme Halophile. *FEMS Microbiology Ecology*, 68(1), 59-71.
40. Delgado-García, M., Valdivia-Urdiales, B., Aguilar-González, C. N., Contreras-Esquível, J. C., Rodríguez-Herrera, R. (2012). Halophilic Hydrolases as a New Tool for the Biotechnological Industries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(13), 2575-2580.
41. Dikmelik, Y. (1994). *Deri Teknolojisi*. Yalçın Dikmelik.
42. Dunlap, C. A., Kwon, S. W., Rooney, A. P., Kim, S. J. (2015). *Bacillus paralicheniformis* sp. nov., Isolated from Fermented Soybean Paste. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(Pt_10), 3487-3492.
43. Dussault, H. P. (1955). An Improved Technique for Staining Red Halophilic Bacteria. *Journal of Bacteriology*, 70(4), 484.
44. Ellis-Evans, J. C. (1985). Microbial Ecology in Antarctica. *Biologist*, 32, 171-176.

45. Forsythe, S.J. (2000). Basic aspects İçinde Forsythe, S (ed.). The Microbiology of Safe Food. MA: USA; Blackwell Science. 10-52.
46. Frankena, J., van Verseveld, H. W., Stouthamer, A. H. (1985). A Continuous Culture Study of the Bioenergetic Aspects of Growth and Production of Exocellular Protease in *Bacillus licheniformis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 22, 169-176.
47. Frankland, G. C., Frankland, P. F. (1887). XI. Studies on Some New Microorganisms Obtained from Air. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. (B.)*, (178), 257-287.
48. Franzmann, P. D., Burton, H. R., McMeekin, T. A. (1987). *Halomonas subglaciescola*, a New Species of Halotolerant Bacteria Isolated from Antarctica. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(1), 27-34.
49. Fukumoto, J. (1943). Studies on the Production of Bacterial Amylase. I. Isolation of Bacteria Secreting Potent Amylases and Their Distribution. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 19, 487-503.
50. Fukumoto, J. (1943). Studies on the Production of Bacterial Amylase. II. Bacterial and Physiological Nature. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 19, 634-640.
51. Gao, Z., Ruan, L., Chen, X., Zhang, Y., Xu, X. (2010). A Novel Salt-Tolerant Endo- β -1, 4-glucanase Cel5A in *Vibrio* sp. G21 Isolated from Mangrove Soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 1373-1382.
52. Gil, P., Vivas, J., Gallardo, C. S., Rodriguez, L. A. (2000). First Isolation of *Staphylococcus warneri*, from Diseased Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Northwest Spain. *Journal of Fish Diseases*, 23(4), 295-298.
53. Giridhar, P. V., Chandra, T. S. (2010). Production of Novel Halo-Alkali-Thermo-Stable Xylanase by a Newly Isolated Moderately Halophilic and Alkali-Tolerant *Gracilibacillus* sp. TSCPVG. *Process Biochemistry*, 45(10), 1730-1737.
54. Glauert, A.M. (1975). Fixation, Dehydration and Embedding of Biological Specimens. North-Holland Publishing Company, 3rd Edition, Amsterdam, The Netherlands. 73-110p.
55. Glauert, A.M. (1975). Fixation, Dehydration and Embedding of Biological Specimens. North-Holland Publishing Company, 3rd Edition, Amsterdam, The Netherlands. 111-122p.

56. Gonzalez, C., Gutierrez, C., Ramirez, C. (1978). *Halobacterium vallismortis* sp. nov. An Amylolytic and Carbohydrate-Metabolizing, Extremely Halophilic Bacterium. *Canadian Journal of Microbiology*, 24(6), 710-715.
57. Gordon, R. E., W. C. Haynes, and C. Hor-Nay Pang. (1973). The Genus *Bacillus*. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.
58. Gökçesu, Z. (2002). *Deri Teknikler*. İstanbul: YA-PA Yayınları.
59. Grant, W.D., Gemmell, R.T., Mcgenity, T.J. (1998). *Extremophiles: Microbiol Life in Extreme Environment*. New York: Wiley-Liss Inc.
60. Abdulhusein, H.S., Caglayan, P., Bırbır, M., Bırbır, Y., (2023). Negative Effects of Haloversatile Bacteria in Salt on Skins and Their Control with Direct Electric Current in the Leather Industry, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, ISSN 0144-0322, Vol. 107, Num. 6, pages 201-214
61. Han, J., Hou, J., Zhang, F., Ai, G., Li, M., Cai, S., Liu, H., Wang, L., Wang, Z., Zhang, S., Cai, L., Zhao, D., Zhou, J. Xiang, H. (2013). Multiple Propionyl Coenzyme A-Supplying Pathways for Production of the Bioplastic Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in *Haloferax mediterranei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(9), 2922-2931.
62. Harley, J.P., Prescott, L.M., (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology*, 5th Ed. The McGraw-Hill Companies, New York, NY.
63. Harmancıoğlu, M., Dikmelik, Y. (1993). *Ham Deri, Yapısı Bileşimi Özellikleri*. Sepici Şirketler Topluluğu Kültür Hizmeti, İzmir: Özen Ofset.
64. Hebert, A. M., Vreeland, R. H. (1987). Phenotypic Comparison of Halotolerant Bacteria: *Halomonas halodurans* sp. nov., nom. rev., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(4), 347-350.
65. Henry R. (2013). *Staphylococcus*. *Emerging Infectious Disease*, 19(9), 1553.
66. Heyndrickx, M., Lebbe, L., Kersters, K., De Vos, P., Forsyth, G., Logan, N. A. (1998). *Virgibacillus*: a New Genus to Accommodate *Bacillus pantothenicus* (Proom and Knight 1950). Emended Description of *Virgibacillus pantothenicus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(1), 99-106.
67. Hirota, K., Hanaoka, Y., Nodasaka, Y., Yumoto, I. (2013). *Oceanobacillus polygoni* sp. nov., a Facultatively Alkaliphile Isolated from Indigo Fermentation

- Fluid. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(Pt_9), 3307-3312.
68. Hof, T. (1935). Investigations Concerning Bacterial Life in Strong Brines. *Recueil des Travaux Botaniques Néerlandais*, 32(1), 92-173.
 69. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th. Baltimor: William & Wilkins.
 70. https://en.wikipedia.org/wiki/Skin_condition#/media/File:3D_medical_animation_skin_layers.jpg
 71. Huang, C. H., Wang, C. L., Liou, J. S., Lee, A. Y., Blom, J., Huang, L., Watanabe, K. (2019). Reclassification of *Micrococcus aloeverae* and *Micrococcus yunnanensis* as Later Heterotypic Synonyms of *Micrococcus luteus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(11), 3512-3518.
 72. Huang, J., Wang, G. (2015). High Quality Draft Genome Sequence of the Moderately Halophilic Bacterium *Pontibacillus yanchengensis* Y32T and Comparison Among *Pontibacillus* Genomes. *Standards in Genomic Sciences*, 10(1), 1-9.
 73. Huang, X., Shao, Z., Hong, Y., Lin, L., Li, C., Huang, F., Wang, H., Liu, Z. (2010). Cel8H, a Novel Endoglucanase from the Halophilic Bacterium *Halomonas* sp. S66-4: Molecular Cloning, Heterogonous Expression, and Biochemical Characterization. *The Journal of Microbiology*, 48, 318-324.
 74. James, S. R., Dobson, S. J., Franzmann, P. D., McMeekin, T. A. (1990). *Halomonas meridiana*, a New Species of Extremely Halotolerant Bacteria Isolated from Antarctic Saline Lakes. *Systematic and Applied Microbiology*, 13(3), 270-278.
 75. Joo, G. J., Kim, Y. M., Lee, I. J., Song, K. S., Rhee, I. K. (2004). Growth Promotion of Red Pepper Plug Seedlings and the Production of Gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. *Biotechnology Letters*, 26, 487-491.
 76. Joseph, T. C., Baby, A., Reghunathan, D., Varghese, A. M., Murugadas, V., Lalitha, K. V. (2014). Draft Genome Sequence of the Halophilic and Highly Halotolerant *Gammaproteobacteria* strain MFB021. *Genome Announcements*, 2(6), 10-1128.
 77. Junqueira, L. C. U., Carneiro, J., Aytekin, Y., Solakoğlu, S. (2009). *Temel Histoloji: text & atlas*. Nobel Tıp Kitabevleri.
 78. Kanagaraj, J., Senthilvelan, T., Panda, R. C., Kavitha, S. (2015). Eco-Friendly Waste Management Strategies for Greener Environment Towards Sustainable Development

- in Leather Industry: a Comprehensive Review. *Journal of Cleaner Production*, 89, 1-17.
79. Kanagaraj, J., Sundar, V. J., Muralidharan, C., Sadulla, S. (2005). Alternatives to Sodium Chloride in Prevention of Skin Protein Degradation a Case Study. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 825-831.
 80. Kanth, S. V., Venba, R., Madhan, B., Chandrababu, N. K., Sadulla, S. (2008). Studies on the Influence of Bacterial Collagenase in Leather Dyeing. *Dyes and Pigments*, 76(2), 338-347.
 81. Kindle, K. L. (1983). Characteristics and Production of Thermostable α -Amylase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 8, 153-170.
 82. Kivistö, A., Santala, V., Karp, M. (2013). Non-Sterile Process for Biohydrogen and 1, 3-propanediol Production from Raw Glycerol. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(27), 11749-11755.
 83. Kloos, W. E., George, C. G., Olgiate, J. S., Van Pelt, L., McKinnon, M. L., Zimmer, B. L., Muller, E., Weinstein, M.P., Mirrett, S. (1998). *Staphylococcus hominis* subsp. *novobioceticus* subsp. nov., a Novel Trehalose-and N-acetyl-D-glucosamine-Negative, Novobiocin-and Multiple-Antibiotic-Resistant Subspecies Isolated from Human Blood Cultures. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(3), 799-812.
 84. Kloos, W.E., Schleifer, K.H., (1986). Genus IV *Staphylococcus* Rosenbach 1884, 18AL (Nom. Cons. Opin. 17 Jud. Comm. 1958,153). In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, pp. 1013-1035.
 85. Krishnamurthi, S., Chakrabarti, T., Stackebrandt, E. (2009). Re-examination of the Taxonomic Position of *Bacillus silvestris* Rheims et al. 1999 and Proposal to Transfer it to *Solibacillus* gen. nov. as *Solibacillus silvestris* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(5), 1054-1058.
 86. Kumar, S. S., Mani, A. (2007). Measurement of Physical and Transport Properties of Tannery Effluent (Soak Liquor). *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 34(3), 339-346.
 87. Kushner, D. J. (1978). Life in High Salt and Solute Concentrations: Halophilic Bacteria. *Microbial Life in Extreme Environments*, 317-368.

88. Kushner, D.J. (1978). Life in High Salt and Solute Concentrations: Halophilic Bacteria. In: Kushner, D.J., Editor. *Microbial Life in Extreme Environments*, London, Academic Press, pp.317-368,.
89. Küçükaşık, F., Kazak, H., Güney, D., Finore, I., Poli, A., Yenigün, O., Nicolaus, B., Öner, E. T. (2011). Molasses as Fermentation Substrate for Levan Production by *Halomonas* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89, 1729-1740.
90. Lanyi, J. K. (1974). Salt Dependent Properties of Proteins from Extremely Halophilic Bacteria. *Bacteriological Reviews*, 38(3), 272-290.
91. Lefebvre, O., Moletta, R. (2006). Treatment of Orogenic Pollution in Industrial Saline Wastewater: a Literature Review. *Water Research*, 40(20), 3671-3682.
92. Limauro, D., Cannio, R., Fiorentino, G., Rossi, M., Bartolucci, S. (2001). Identification and Molecular Characterization of an Endoglucanase Gene, *celS*, from the Extremely Thermophilic Archaeon *Sulfolobus solfataricus*. *Extremophiles*, 5, 213-219.
93. Lippert, K., Galinski, E. A. (1992). Enzyme Stabilization by Ectoine-type Compatible Solutes: Protection Against Heating, Freezing and Drying. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37, 61-65.
94. Logan, N. A., and R. C. W. Berkeley. (1981). Classification and Identification of Members of the Genus *Bacillus* Using API tests, p. 105-140. In R. C. W. Berkeley and M. Goodfellow (ed.), *The Aerobic Endospore-Forming Bacteria: Classification and Identification*. Academic Press, Inc. (London), Ltd., London.
95. Louis, P., Galinski, E. A. (1997). Characterization of Genes for the Biosynthesis of the Compatible Solute Ectoine from *Marinococcus halophilus* and Osmoregulated Expression in *Escherichia coli*. *Microbiology*, 143(4), 1141-1149.
96. Madern, D., Ebel, C., Zaccai, G. (2000). Halophilic Adaptation of Enzymes. *Extremophiles*, 4, 91-98.
97. Manorama, R., Pindi, P. K., Reddy, G. S. N. Shivaji, S. (2009). *Bhargavaea cecembensis* gen. nov., sp. nov., Isolated from the Chagos– Laccadive Ridge System in the Indian Ocean. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 59, 2618–2623.
98. Martin, S., Márquez, M. C., Sánchez-Porro, C., Mellado, E., Arahál, D. R., Ventosa, A. (2003). *Marinobacter lipolyticus* sp. nov., a Novel Moderate Halophile with

- Lipolytic Activity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1383-1387.
99. Mellado, E., Nieto, J.J., Ventosa, A. (1995). "Phylogenetic Interferences and Taxonomic Consequences of 16S Ribosomal DNA Sequence Comparison of *Chromohalobacter marismortui*, *Volcaniella eurihalina* and *Deleya halophila* and Reclassification of *V. Eurihalina* as *Halomonas eurihalina* comb. nov.", *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45, 712-716,.
 100. Montalva-Rodriguez, R.; Vreeland, R.H.; Oren, A.; Kessel, A.; Betancourt, C.; Garriga, J.L. (1998). "*Halogeometricum borinquense* gen. nov., sp. Nov., a Novel Halophilic Archaeon from Puerto Rico", *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48, 1305-1312.
 101. Mullis, K.B. and Faloona, F.A. 1987. Specific Synthesis of DNA in Vitro Via a Polymerase-catalysed Chain Reaction, *Methods in Enzymology*, 155, 335-350.
 102. Murtey, M. D., Ramasamy, P. (2016) Sample Preparations for Scanning Electron Microscopy–Life Sciences. *Modern Electron Microscopy in Physical and Life Sciences*, 161-185.
 103. Myles, I. A., Datta, S. K. (2012). *Staphylococcus aureus*: an Introduction. In *Seminars in Immunopathology* (Vol. 34, pp. 181-184). Springer-Verlag.
 104. Naziri, D., Hamidi, M., Hassanzadeh, S., Tarhriz, V., Zanjani, B. M., Nazemyieh, H., Hejazi, M.A., Hejazi, M. S. (2014). Analysis of Carotenoid Production by *Halorubrum* sp. TBZ126; an Extremely Halophilic Archeon from Urmia Lake. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(1), 61.
 105. Ng, W. V., Kennedy, S. P., Mahairas, G. G., Berquist, B., Pan, M., Shukla, H. D., Lasky, L.S., Baliga, N.S., Thorsson, V., Sbrogna, J., Swartzell, S., Weir, D., Hall, J., Dahl, T.A., Welti, R., Goo, Y.A., Leithauser, B., Keller, K., Cruz, R., Danson, M.J., Hough, D.W., Maddocks, D.G., Jablonski, P.E., Krebs, M.P., Angevine, C.M., Dale, H., Isenbarger, T.A., Peck, R.F., Pohlschroder, M., Spudich, J.L., Jung, K.W., Alam, M., Freitas, T., Hou, S., Daniels, C.J., Dennis, P.P., Omer, A.D., Ebhardt, H., Lowe, T.M., Liang, P., Riley, M., Hood, L., DasSarma, S. (2000). Genome Sequence of *Halobacterium* Species NRC-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(22), 12176-12181.

106. Norrell, S.A., Messley, K.E., (1997). "Microbiology Laboratory Manual Principles and Applications", Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
107. Oesterhelt, D., Stoeckenius, W. (1973). Functions of a New Photoreceptor Membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(10), 2853-2857.
108. Oksanen, T., Pere, J., Paavilainen, L., Buchert, J., Viikari, L. (2000). Treatment of Recycled Kraft Pulps with *Trichoderma reesei* Hemicellulases and Cellulases. *Journal of Biotechnology*, 78(1), 39-48.
109. Oren, A. (1983). Population Dynamics of Halobacteria in the Dead Sea Water Column 1. *Limnology and Oceanography*, 28(6), 1094-1103.
110. Oren, A. (2002). Diversity of Halophilic Microorganisms: Environments, Phylogeny, Physiology, and Applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28, 56-63.
111. Oren, A. (2010). Industrial and Environmental Applications of Halophilic Microorganisms. *Environmental Technology*, 31(8-9), 825-834.
112. Oren, A. (2014). Taxonomy of Halophilic Archaea: Current Status and Future Challenges. *Extremophiles*, 18(5), 825-834.
113. Oren, A. (2015). Halophilic Microbial Communities and Their Environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 119-124.
114. Oren, A., Gurevich, P. (1995). Dynamics of a Bloom of Halophilic Archaea in the Dead Sea. *Hydrobiologia*, 315, 149-158.
115. Oren, A., Litchfield, C. D. (1998). Early Salt Production at the Dead Sea and the Mediterranean Coast of the Holy Land. *Journal of Salt History*, 6, 7-18.
116. Orlita, A. (2004). Microbial Biodeterioration of Leather and its Control: a Review. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 53(3), 157-163.
117. Ozbay, O., Caglayan, P.; (2022). Identification of Gram-positive Haloversatile Bacteria in Soak Liquor Samples and Observation of Their Damage to Sheep Skin by Scanning Electron Microscopy. *Journal of the American Leather Chemists Association* 106(6), 255-263.
118. Özdemir, M. (2007) Türk Kültüründe Dericilik Sanatı. Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi, 20, 66-82.
119. Özdemir, M., Kayabaşı, N. (2007). Geçmişten günümüze dericilik.

120. Pal, K. K., Dey, R., Thomas, M., Sherathia, D., Dalsania, T., Patel, I., Savsani, K., Ghorai, S., Vanpariya, S., Sukhadiya, B., Mandaliya, M., Rupapara, R., Rawal, P. (2013). Draft Genome Sequence of the Extremely Halophilic *Bacillus* sp. strain SB49, Isolated from a Salt Crystallizer Pond of the Little Rann of Kutch, India. *Genome Announcements*, 1(5), 10-1128.
121. Palmisano, M. M., Nakamura, L. K., Duncan, K. E., Istock, C. A., Cohan, F. M. (2001). *Bacillus sonorensis* sp. nov., a Close Relative of *Bacillus licheniformis*, Isolated from Soil in the Sonoran Desert, Arizona. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(5), 1671-1679.
122. Pan, J., Huang, Q., Zhang, Y. (2004). Gene Cloning and Expression of an Alkaline Serine Protease with Dehairing Function from *Bacillus pumilus*. *Current Microbiology*, 49, 165-169.
123. Papakçı, S., Fırat, A. (2003). Kivırcık ve Dağlıç Irkı Kuzu Derilerindeki Kollagen Miktarının Tayini ve Bunun Mamul Deri Üzerine Etkisi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29(2), 195-202.
124. Parvathi, A., Krishna, K., Jose, J., Joseph, N., Nair, S. (2009). Biochemical and Molecular Characterization of *Bacillus pumilus* Isolated from Coastal Environment in Cochin, India. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 269-275.
125. Pastor, J. M., Salvador, M., Argandoña, M., Bernal, V., Reina-Bueno, M., Csonka, L. N., Iborra, J.L., Vargas, C., Nieto, J.J., Cánovas, M. (2010). Ectoines in Cell Stress Protection: Uses and Biotechnological Production. *Biotechnology Advances*, 28(6), 782-801.
126. Patel, S., Gupta, R. S. (2020). A Phylogenomic and Comparative Genomic Framework for Resolving the Polyphyly of the Genus *Bacillus*: Proposal for Six New Genera of *Bacillus* Species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 406-438.
127. Petter, H. F. M. (1932). Over Roode en Andere Bacterien van Gezouten Visch.
128. Pierce GJ (1914) The Behavior of Certain Microorganisms in Brine. *Carnegie Institution of Washington Publication*, 193:49–69.

129. Polkade, A.V., (2007). “Molecular and Phylogenetic Studies on Microbial Diversity of Raw Buffalo Hide to be Used in Leather Manufacturing”, Doktora Tezi, University of Pune, Faculty of Science, India, Pune, 104.
130. Priest G. F., Goodfello M., Shute A. L. and Berkely W. C. R., (1987). “*Bacillus amyloliquefaciens* sp. nov., nom. rev,” *International Journal of Systematic Bacteriology*, Vol. 37, No. 1, pp. 69-71.
131. Qiu, F., Zhang, X., Liu, L., Sun, L., Schumann, P., Song, W. (2009). *Bacillus beijingensis* sp. nov. and *Bacillus ginsengi* sp. nov., Isolated from Ginseng Root. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(4), 729-734.
132. Quesada, E., Bejar, V., Valderrama, M. J., Ventosa, A., Ramos-Cormenzana, A. (1985). Isolation and Characterization of Moderately Halophilic Nonmotile Rods from Different Saline Habitats. *Microbiologia*, 1(1-2), 89-96.
133. Quillaguamán, J., Guzmán, H., Van-Thuoc, D., Hatti-Kaul, R. (2010). Synthesis and Production of Polyhydroxyalkanoates by Halophiles: Current Potential and Future Prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1687-1696.
134. Raja, R., Hemaiswarya, S., Rengasamy, R. (2007). Exploitation of *Dunaliella* for β -Carotene Production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74, 517-523.
135. Rangarajan, R., Didato, D. T., Bryant, S. D. (2003). Measurement of Bacterial Populations in Typical Tannery Soak Solutions by Traditional and New Approaches. *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 98(12), 477-486.
136. Rao, J. M., Argos, P. (1981). Structural Stability of Halophilic Proteins. *Biochemistry*, 20(23), 6536-6543.
137. Rheims, H., Frühling, A., Schumann, P., Rohde, M., Stackebrandt, E. (1999). *Bacillus silvestris* sp. nov., a New Member of the Genus *Bacillus* that Contains Lysine in its Cell Wall. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(2), 795-802.
138. Roberts, M. F. (2005). Organic Compatible Solutes of Halotolerant and Halophilic Microorganisms. *Saline Systems*, 1, 1-30.
139. Roberts, T. A., Tompkin, R. B., Baird-Parker, A. C. (1996). Microorganisms in Foods 5: Microbiological Specifications of Food Pathogens. Chapman and Hall.

140. Rosenbach, A.U.F. (1884). Microorganisms in Wound Infectious Diseases in Humans. JF Bergman, 187-196.
141. Rothstein, D. M., Devlin, P. E., Cate, R. L. (1986). Expression of Alpha-Amylase in *Bacillus licheniformis*. *Journal of Bacteriology*, 168(2), 839-842.
142. Russell NJ (1993) Lipids of Halophilic and Halotolerant Microorganisms. In: Russell HV, Hochstein LI (eds) *The Biology of Halophilic Bacteria*, vol 1. CRC Press, Boca Raton, pp 163–210.
143. Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K.B., Erlich, H. A. (1988). Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science*, 239(4839), 487-491.
144. Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A., Arnheim, N. (1985). Enzymatic Amplification of β -globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sick Cell Anemia. *Science*, 230(4732), 1350-1354.
145. Saito, N. (1973). A Thermophilic Extracellular α -amylase from *Bacillus licheniformis*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 155(2), 290-298.
146. Sakaoğlu, N., Akbayan, N. (2002). *Derinin Anadolu'da Bin Yıllık Öyküsü*. İstanbul Orijin Deri Creative Yayıncılık ve Tanıtım Limited Şti..
147. Sambrook, J., Russell, D.W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor, Laboratory Press.
148. Sánchez-Porro Álvarez, C. (2005). Biochemical and Molecular Characterization of the CP1 Haloprotease Produced by “*Pseudoalteromonas ruthenica*” PhD. Thesis, İspanya, 102-144.
149. Sánchez-Porro, C., de la Haba, R. R., Cruz-Hernández, N., González, J. M., Reyes-Guirao, C., Navarro-Sampedro, L., Carballo, M., Ventosa, A. (2013). Draft Genome of the Marine *Gammaproteobacterium Halomonas titanicae*. *Genome Announcements*, 1(2), 10-1128.
150. Sarı, Ö. (2005b). Uygulamalı Dericilik. Yayımlanmamış Ders Notları.
151. Sari, E., Etebarian, H. R., Aminian, H. (2007). The Effects of *Bacillus pumilus*, Isolated from Wheat Rhizosphere, on Resistance in Wheat Seedling Roots Against the Take-All Fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Journal of Phytopathology*, 155(11-12), 720-727.

152. Satpute, S. K., Banat, I. M., Dhakephalkar, P. K., Banpurkar, A. G., Chopade, B. A. (2010). Biosurfactants, Bioemulsifiers and Exopolysaccharides from Marine Microorganisms. *Biotechnology Advances*, 28(4), 436-450.
153. Schallmey, M., Singh, A., Ward, O. P. (2004). Developments in the Use of *Bacillus* Species for Industrial Production. *Canadian Journal of Microbiology*, 50(1), 1-17.
154. Schroeter, R., Voigt, B., Jürgen, B., Methling, K., Pöther, D. C., Schäfer, H., Albrecht, D., Mostertz, J., Mäder, U., Evers, S., Maurer, K.H., Lalk, M., Mascher, T., Hecker, M., Schweder, T. (2011). The Peroxide Stress Response of *Bacillus licheniformis*. *Proteomics*, 11(14), 2851-2866.
155. Setati, M. E. (2010). Diversity and Industrial Potential of Hydrolaseproducing Halophilic/Halotolerant Eubacteria. *African Journal of Biotechnology*, 9(11), 1555-1560.
156. Shede, P. N., Kanekar, P. P., Polkade, A. V., Dhakephalkar, P. K., Sarnaik, S. S. (2008). Bacterial Succession on Raw Buffalo Hide and Their Degradative Activities During Ambient Storage. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 62(1), 65-74.
157. Shin, N. R., Whon, T. W., Kim, M. S., Roh, S. W., Jung, M. J., Kim, Y. O., Bae, J. W. (2012). *Ornithinibacillus scapharcae* sp. nov., Isolated from a Dead Ark Clam. *Antonie van Leeuwenhoek*, 101, 147-154.
158. Shivanand, P., Mugeraya, G., Kumar, A. (2013). Utilization of Renewable Agricultural Residues for the Production of Extracellular Halostable Cellulase from Newly Isolated *Halomonas* sp. Strain PS47. *Annals of Microbiology*, 63(4), 1257-1263.
159. Shute, L. A., Gutteridge, C. S., Norris, J. R., Berkeley, R. C. W. (1984). Curie-Point Pyrolysis Mass Spectrometry Applied to Characterization and Identification of Selected *Bacillus* Species. *Microbiology*, 130(2), 343-355.
160. Sivaprakasam, S., Dhandapani, B., Mahadevan, S. (2011). Optimization Studies on Production of a Salt-Tolerant Protease from *Pseudomonas aeruginosa* Strain BC1 and its Application on Tannery Saline Wastewater Treatment. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1506-1515.
161. Sivaprakasam, S., Mahadevan, S., Sekar, S., Rajakumar, S. (2008). Biological Treatment of Tannery Wastewater by Using Salt-Tolerant Bacterial Strains. *Microbial Cell Factories*, 7(1), 1-7.

162. Spargser, J., Wieser, M., Taubel, M., Rossello-Mora, R. A., Rosengarten, R., Busse, H. J. (2003). *Staphylococcus nepalensis* sp. nov., Isolated from Goats of the Himalayan Region. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(6), 2007-2011.
163. Stackebrandt, E., Koch, C., Gvozdiak, O., Schumann, P. (1995). Taxonomic Dissection of the Genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(4), 682-692.
164. Sumpavapol, P., Tongyonk, L., Tanasupawat, S., Chokesajjawatee, N., Luxananil, P., Visessanguan, W. (2010). *Bacillus siamensis* sp. nov., Isolated from Salted Crab (pookhem) in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(10), 2364-2370.
165. Şenses, İ. Ü. (1987). Kürk Teknolojisi. Ders Notları, Pendik Dericilik Araştırma Enstitüsü.
166. Thorstensen, T. C. (1993). Practical Leather Technology 4th edition. RE Krieger Pub. Co., Florida, 202-221.
167. Toptaş, A. (1993). Deri Teknolojisi, Sade Ofset Matbaacılık, Merter-İstanbul.
168. Tsuru, D. (1962). Inhibitory Effect of Glycine on the Production of Amylase and Proteinase by *Bacillus subtilis*. I. Effect of Glycine and Glycine Derivatives on the Enzyme Production by Washed Cells. *Agricultural and Biological Chemistry*, 26:288-294.
169. Van Qua, D., Simidu, U., Taga, N. (1981). Purification and Some Properties of Halophilic Protease Produced by a Moderately Halophilic Marine *Pseudomonas* sp. *Canadian Journal of Microbiology*, 27(5), 505-510
170. Vargas, C., Argandoña, M., Reina-Bueno, M., Rodríguez-Moya, J., Fernández-Aunión, C., Nieto, J. J. (2008). Unravelling the Adaptation Responses to Osmotic and Temperature Stress in *Chromohalobacter salexigens*, a Bacterium with Broad Salinity Tolerance. *Saline Systems*, 4(1), 1-9.
171. Ventosa, A. (2006). “Unusual Microorganisms from Unusual Habitats: Hypersaline Environments”, Prokaryotic Diversity-Mechanisms and *Bacillus persepolensis* sp. nov. Significance (Society for General Microbiology Symposium no. 66), Editörler

- Logan, N.A., Lappin-Scott, H.M., Oyston, P.C.F., Cambridge: Cambridge University Press, 223-253.
172. Ventosa, A., Arahal, D. R., Volcani, B. E. (1999). Studies on the Microbiota of the Dead Sea 50 Years Later. *Microbiology and Biogeochemistry of Hypersaline Environments*, 139-147.
 173. Ventosa, A., de la Haba, R. R., Sanchez-Porro, C., Papke, R. T. (2015). Microbial Diversity of Hypersaline Environments: a Metagenomic Approach. *Current Opinion in Microbiology*, 25, 80-87.
 174. Ventosa, A., Márquez, M. C., Garabito, M. J., Arahal, D. R. (1998). Moderately Halophilic Gram-positive Bacterial Diversity in Hypersaline Environments. *Extremophiles*, 2, 297-304.
 175. Ventosa, A., Nieto, J. J. (1995). Biotechnological Applications and Potentialities of Halophilic Microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 85-94.
 176. Ventosa, A., Nieto, J. J., Oren, A. (1998). Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(2), 504-544.
 177. Ventosa, A., Quesada, E., Rodriguez-Valera, F., Ruiz-Berraquero, F., Ramos-Cormenzana, A. (1982). Numerical Taxonomy of Moderately Halophilic Gram-negative Rods. *Microbiology*, 128(9), 1959-1968.
 178. Ventosa, A., Rodriguez-Valera, F., Poindexter, J. S., Reznikoff, W. S. (1984). Selection for Moderately Halophilic Bacteria by Gradual Salinity Increases. *Canadian Journal of Microbiology*, 30(10), 1279-1282.
 179. Verma, P., Pandey, P. K., Gupta, A. K., Seong, C. N., Park, S. C., Choe, H. N., Baik, K.S., Patole, M.S., Shouche, Y. S. (2012). Reclassification of *Bacillus beijingsis* Qiu et al. 2009 and *Bacillus ginsengi* Qiu et al. 2009 as *Bhargavaea beijingsis* comb. nov. and *Bhargavaea ginsengi* comb. nov. and Emended Description of the Genus *Bhargavaea*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(Pt_10), 2495-2504.
 180. Vidyasagar, M., Prakash, S., Jayalakshmi, S. K., Sreeramulu, K. (2007). Optimization of Culture Conditions for the Production of Halothermophilic Protease from Halophilic Bacterium *Chromohalobacter* sp. TVSP101. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 655-662.

181. Volcani BE (1940) Studies on the Microflora of the Dead Sea. PhD thesis, The Hebrew University of Jerusalem, Israel Volcani BE (1944) The Microorganisms of the Dead Sea. Papers Collected to Commemorate the 70th Anniversary of Dr Chaim Weizmann, pp 71–85.
182. Vreeland, R. H., Huval, J. H. (1991). Phenotypic Characterization of Halophilic Bacteria from Ground Water Sources in the United States. *General and Applied Aspects of Halophilic Microorganisms*, 53-60.
183. Vreeland, R. H., Litchfield, C. D., Martin, E. L., Elliot, E. (1980). *Halomonas elongata*, a New Genus and Species of Extremely Salt-Tolerant Bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(2), 485-495.
184. Wang, J., Shao, Z., Hong, Y., Li, C., Fu, X., Liu, Z. (2010). A Novel β -mannanase from *Pantoea agglomerans* A021: Gene Cloning, Expression, Purification and Characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1777-1784.
185. Waterer, J. W. (1972). A Guide to the Conservation and Restoration of Objects Made Wholly or in Part of Leather (pp. 80-80).
186. Weber, D.J., Saviteer, S.M., Rutala, W.A., Thomann, C.A. (1988) In Vitro Susceptibility of *Bacillus* spp. to Selected Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(5), 642-645.
187. Wejse, P. L., Ingvorsen, K., Mortensen, K. K. (2003). Purification and Characterisation of Two Extremely Halotolerant Xylanases from a Novel Halophilic Bacterium. *Extremophiles*, 7, 423-431.
188. Wijnands, L. M., Dufrenne, J. B., Rombouts, F. M., Veld, P. I. T., Van Leusden, F. M. (2006). Prevalence of Potentially Pathogenic *Bacillus cereus* in Food Commodities in The Netherlands. *Journal of Food Protection*, 69(11), 2587-2594.
189. Wilkansky, B. (1936). Life in the Dead Sea. *Nature*, 138(3489), 467-467.
190. Yaakop, A. S., Chan, C. S., Kahar, U. M., E, R., Chan, K. G., Goh, K. M. (2015). Draft Genome Sequence of *Erythrobacter vulgaris* Strain O1, a Glycosyl Hydrolase-Producing Bacterium. *Genome Announcements*, 3(3), 10-1128.
191. Yakalı, T., ve Dikmelik, Y. (1994). Deri Teknolojisinde Yaş İşlemler. Özen Ofset, İzmir.
192. Yelmen, H. (2005) Türk Dericiliği 2400 Yaşında. İstanbul, Kesişim Yayıncılık, 260-302.

193. Yılmaz, P. (2010). Tuzlanmış Derilerden Ilımlı ve Aşırı Halofil Bakterilerin İzolasyonu ve Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
194. Yue, H., Ling, C., Yang, T., Chen, X., Chen, Y., Deng, H., Wu Q., Chen J., Chen, G. Q. (2014). A Seawater-Based Open and Continuous Process for Polyhydroxyalkanoates Production by Recombinant *Halomonas campaniensis* LS21 Grown in Mixed Substrates. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), 1-12.
195. Zengin, G., Yılmaz, B. (2004). Klinoptilolit Zeolitinin Deri Sanayinde Kullanılabilme Olanakları ile Koyun Derilerinin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerine Olan Etkilerinin Araştırılması. I. Ulusal Deri Sempozyumu, İzmir, Türkiye, 173-178.
196. Zhou, Y., Li, R., Gao, X. Y., Lapidus, A., Han, J., Haynes, M., Lobos, E., Huntemann, M., Pati, A., Ivanova, N.N., Rohde, M., Mavromatis, K., Tindall, B.J., Markowitz, V., Woyke, T., Klenk, H.P., Kyrpides, N.C., Li, W. J. (2014). High Quality Draft Genome Sequence of the Slightly Halophilic Bacterium *Halomonas zhanjiangensis* Type Strain JSM 078169T (DSM 21076T) from a Sea Urchin in Southern China. *Standards in Genomic Sciences*, 9, 1020-1030.

EKLER

Ek 1. S1a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1371

Erişim Numarası: OR835202

Filogenetik olarak benzediği tür: *Solibacillus silvestris*

>S1a

GTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCT
GATCCGCGATTACTAGCGATTCCGGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTA
CAATCCGAACTGAGAACGATTTTATCGGATTAGCTCCCCCTCGCGGGTTG
GCAACCGTTTGTATCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAG
GGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATCACCGGC
AGTCTCCTTAGAGTGCCCAACTGAATGATGGCAACTAAGAATAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAA
CCATGCACCACCTGTCACCGTTGCCCCCGAAGGGGAAACTATGTCTCCAT
AGTGGTCACCGGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGA
ATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGA
GTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGC
TGCAGCACTGAGGGGCGGAAACCCCCCAACACTTAGCACTCATCGTTTAC
GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCG
CCTCAGTGTCAGTTACAGACCAGACAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTT
CCAAATCTCTACGCATTTACCGCTACACTTGGAATTCCACTATCCTCTT
CTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGG
GCTTTCACATCAGACTTAAGGAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATA
ATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA
GTTAGCCGTGGCTTTCTAACAAGGTACCGTCAAGGTAGCGCCGTTACTAC
CCTACTTGTTCTTCCTTGACACAGAGTTTTACGAACCGAAATCCTTCTTC

Ek 2. S1b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1451

Erişim Numarası: OR835208

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus licheniformis*

>S1b

CTCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGT
ACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAG
CGATTCCGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACCTGAGAAC
AGATTTGTGGGATTGGCTTAGCCTCGCGGCTTCGCTGCCCTTTGTTCTGC
CCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGAC
GTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCC
CAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTT
AACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCA
CTCTGCCCCCGAAGGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGATGTCA
AGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCAC
CGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGT
ACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTTGCTGCAGCACTAAAGGGCGGA
AACCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTA
TCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGA
CCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTC
ACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAG
TTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAA
GAAACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCC
ACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGG
TTAGGTACCGTCAAGGTACCGCCCTATTCGAACGGTACTTGTTCTTCCCT
AACAAACAGAGTTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGC
TCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTA
GGAATCTGGGCCGGGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCAATCCCCTCTCAGGTC
GGCTACCCACCGTCCCCTTGGTGAACC

Ek 3. S2a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1495

Erişim Numarası: OR835209

Filogenetik olarak benzediği tür: *Staphylococcus warneri*

>S2a

ACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTC
GAGTTGCAGACTACAATCCGAAGTGAACAACCTTTATGGGATTTGCTTG
ACCTCGCGGTTTAGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCG
GTTTGTACCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTA
AGCTTAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACAC
GAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCCCGAAGGGGAA
GACTCTATCTCTAGAGCGGTCAAAGGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTT
CGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCG
TCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTTCGTAATCCCCAGGCGGAGTGC
TTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGC
ACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGATCC
CCACGCTTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCGC
CACTGGTGTTCTCCATATCTCTGCGCATTTACCGCTACACATGGAATT
CCACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTTCCAGTTTCCAATGACCCTCCAC
GGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTACGCGCGC
TTTACGCCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGG
CTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGATCAGGTACCGTCAAGATG
TGCACAGTTACTTACACATTTGTTCTTCC

Ek 4. S2b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1451

Erişim Numarası: OR835214

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus sonorensis*

>S2b

ACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTC
GAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAGCAGATTTGTGGGATTGGCTTA
GCCTCGCGGCTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCG
GTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTA
AGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACAC
GAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCCCCCGAAGGGGAAG
CCCTATCTCTAGGGGTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCG
CGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTC
AATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTT
AATGCGTTTGCTGCAGCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTAACACTTAGCAC
TCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCC
ACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCA
CTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCC
ACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGG
TTGAGCCGGGGGCTTTACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCGCGCTT
TACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCT
GCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTACC
GCCCTGTTTCGAACGGTACTTGTTCTTCCTAACAACAAAATTTTACGATCC
GAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAAACCTTTC

Ek 5. S2c İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1457

Erişim Numarası: OR835215

Filogenetik olarak benzediği tür: *Kocuria rosea*

>S2c

TTAGGCCACCGGCTTCGGGTGTTACCAACTTTCGTGACTTGACGGGCGGT
GTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCAGCGTTGCTGATCTGCGATT
ACTAGCGACTCCGACTTCATGAGGTCGAGTTGCAGACCTCAATCCGAAC
GAGACCGGCTTTTTGGGATTAGCTCCACCTCACAGTATCGCAACCCTTTG
TACCGGCCATTGTAGCATGCGTGAAGCCCAAGACATAAGGGGGCATGATGA
TTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGAGTTGACCCCGGCAGTCTCCTATG
AGTCCCCACCATCACGTGCTGGCAACATAGAACGAGGGTTGCGCTCGTTG
CGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACC
ACCTGTCCACCAGCCCCGAAGGGAAACCCCATCTCTGGGGCGGTCCGGTG
AATGTCAAGCCTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCGCAT
GCTCCGCCGCTTGTGCGGGCCCCCGGTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTT
GCGGCCGTACTCCCCAGGCGGGGCACTTAATGCGTTAGCTACGGCGCGGA
AAACGTGGAATGTCCCCCACACCTAGTGCCCAACGTTTACGGCATGGACT
ACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCATGCTTTCGCTCCTCAGCGTC
AGTAACAGCCCAGAGACCTGCCTTCGCCATCGGTGTTCCCTCCTGATATCT
GCGCATTTACCGCTACACCAGGAATTCCAGTCTCCCCTACTGCACTCTA
GTCTGCCCCGTACCCACTGCAGACCCGGGGTTGAGCCCCGGGCTTTCACAG
CAGACGCGACAAACCGCCTACGAGCTCTTTACGCCCAATAATTCCGGACA
ACGCTTGCGCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCCGG
CGCTTCTTCTGCAGGTACCGTCACTCTCGCTTCTTCCCTACTGAAAGAGG
TTTACAACCCGAAAGGCCGTCATCCCTCAGGCGGCGTCGCTGCATCAGGC
TTCCGCCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAAGAATCTGGG
CCG

Ek 6. S3a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1518

Erişim Numarası: OR835216

Filogenetik olarak benzediği tür: *Oceanobacillus polygona*

>S3a

CCTCACC GACTTCGGGTGTTACCAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTG
TACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTA
GCGATTCCGGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGA
ATGGTTTTATGGGATTGGCTTGACCTCGCGGGTTCGCTTCCCTTTGTTCC
ATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGGCATGATGATTTG
ACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTG
CCCAACTAAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGAC
TTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGT
CACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCTCTATCTCTAGAGTTGTCAGAGGATGT
CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCC
ACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCC
GTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAGGGGGCG
GAAACCCCTAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGG
TATCTAATCCTGTTGCTACCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACA
GACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCCTCCACATCTCTACGCATT
TCACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGTACTCAAGTCCTCC
AGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTAAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTT
AAAAGACCGCCTGCGAGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTG
CCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCT
GGTTAGGTACCGTCAAGGTTGGGTCAGTTACTACCCAACCTGTTCTTCCC
TAACAACAGAGTTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCAGGCGGGCGTTG
CTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCG
TAGGAATCTGGGCCGGGTCTCAGTCCCAGTGTGGCC

Ek 7. S3b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1263

Erişim Numarası: OR835217

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus pumilus*

>S3b

GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCAT
GCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGAC
TGCGATCCGAACCTGAGAACAGATTTATGGGATTGGCTAAACCTTGCGGTC
TCGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATA
AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCG
GCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGT
TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGAC
AACCATGCACCACCTGTCACCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTA
GGGTTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGA
ATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGA
GTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGC
TGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC
GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCT
CCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCT
CCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTT
CTGCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGG
GCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATA
ATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA
GTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTC
TCGCACTTGTTCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCA
TCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAAATCC
CTACTGCTGCCTCCCGTAGGAATCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGG
CCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACCCATCGTC

Ek 8. S3c İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1405

Erişim Numarası: OR835218

Filogenetik olarak benzediği tür: *Virgibacillus proomii*

>S3c

GTGACGGGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCT
GATCCGCGATTACTAGCGATTCCGGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTG
CAATCCGAAGTGAAGAATGGTTTTGTGGGATTTGCTTGGCCTCACGGCTTC
GCTGCCCTTTGTTCCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAG
GGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGC
AGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAA
CCATGCACCACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAACCTCCCTATCTCTAGG
GCCGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAAT
TAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCTTTTGAGT
TTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTG
CAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACCTAGCACTCATCGTTTACGG
CGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTACCCACGCTTTCGCACC
TCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCCTCC
ACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCT
GTACTCAAGTCCTCCAGTTTCCAATGGCCCTCCACGGTTAAGCCGTGGGC
TTTCACATCAGACTTAAAAGACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAAT
TCCGGACAACGCTTGCCCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGT
TAGCCGGGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAAC
GGCACTTGTTCTTCCTAACAAACAGAGTTTTACGATCCGAAAACCTTCTTC

Ek 9. S4a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1463

Erişim Numarası: OR835220

Filogenetik olarak benzediği tür: *Staphylococcus hominis* subsp.

>S4a

ACTCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGT
GTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACT
AGCGATTCCGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGA
ACAACTTTATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATT
GTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTG
ACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCAACTTAGAGTG
CCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGAC
TTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGT
CACTTTGTCCCCCGAAGGGGAACTTCTATCTCTAGAAGGGTCAAAGGAT
GTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCT
CCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGG
TCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGG
CGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAG
GGTATCTAATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTA
CAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTGCGCA
TTTCACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTT
CCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGAC
TTAAAAAACCGCCTACGCGCGCTTACGCCCAATAATTCCGGATAACGCT
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTT
CTGATTAGGTACCGTCAAGACGTGCACAGTTACTTACACGTTTGTTCCTC
CCTAATAACAGAGTTTTACGATCCGAAGACCTTCATCACTCAGGCGGCGT
TGCTCCGTCAGGCTTTCGCCCATTGCGGAAGATTCCTACTGCTGCCTCCC
GTAGGAATCTGGACCGGGT

Ek 10. S4b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1506

Erişim Numarası: OR835221

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bhargavaea ginsengi*

>S4b

TTACCCACCGACTTCGGGTGTTGCAAACCTCTCGTGGTGTGACGGGCGGT
GTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTA
CTAGCGATTCCGGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTG
GGAACGGTTTTCTGGGATTGGCTCCCCCTCGCGGGTTCGCAGCCCTCTGT
ACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGAT
TTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGA
GTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGG
GACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACC
TGTCACCTCTGTCCCCCGAAGGGGAAGGCCCTGTCTCCAGGGTGGTCAGAG
GATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACAT
GCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTG
CGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAG
GGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTAC
CAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAG
TTACAGACCAGAAAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTAC
GCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCGCTTTCCTCTTCTGCACTCAAGT
CCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCA
GACTTAAAGGACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATCCGGACAAC
GCTGGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTATTTAGCCGTGGC
TTTCTGGTAAGGTACCGTCAGGGCACCGGCAGTTAACCGATGCTTGTTCT
TCCCTTACAACAGAGCTTTACGACCCGAAGGCCTTCTTCGCTCACGCGGC
GTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCT
CCCGTAGGAATCTGGGCCGTGTCTCAATCCCAGTGTGGCCAATC

Ek 11. S4c İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1498

Erişim Numarası: OR835222

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus amyloliquefaciens*

>S4c

ACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGT
GTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACA
GCGATTCCGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAA
CAGATTTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTG
TCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGA
CGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGC
CCAACCTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACT
TAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTC
ACTCTGCCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTC
AAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCA
CCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCG
TACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGG
AAACCCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGT
ATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAG
ACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTT
CACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCA
GTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTA
AGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATCCGGACAACGCTTGC
CACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTG
GTTAGGTACCGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCCC
TAACAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCAGGCGGGCGTTG
CTCCGTCGAACTTTCGTCCATTGCGGAAAAATCCCTACTGCTGC

Ek 12. S4d İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1145

Erişim Numarası: OR835223

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus licheniformis*

>S4d

TCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTA
CAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGC
GATTCCGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACA
GATTTGTGGGATTGGCTTAGCCTCGCGGCTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCC
CATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACG
TCATCCCCACCTTCCTCCGTTTGTACACGGCAGTCACCTTAGAGTGCCC
AACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTA
ACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCAC
TCTGCCCCCGAAGGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGATGTCAA
GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACC
GCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTA
CTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTTGCTGCAGCACTAAAGGGCGGAG
ACCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTAT
CTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGAC
CAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCCTCCACATCTCTACGCATTTCA
CCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGT
TTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAG
AAACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTGGCCA
CCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGT
TAGGTACCGTCAAGGTACCGCCCTATTCGAACGGTACTTGTTCTTCCCTA
ACAACAGAGTTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCAGGCGGCGTTGCT
CCGTC

Ek 13. S5a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1297

Erişim Numarası: OR835224

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus cereus*

>S5a

GACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGA
TCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACA
ATCCGAACTGAGAACGGTTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGTCTTGC
AGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGG
GCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAG
TCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCG
CTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACC
ATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAGGGT
TTTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
AACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTT
CAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCA
GCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCG
TGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTC
AGTGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCCTCCAT
ATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGC
ACTCAAGTCTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTT
TCACATCAGACTTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTC
CGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTA
GCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAG
CACTTGTTCTTCCTAACAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCATCAC
TCAGCGGCGTTGCTCCGTC

Ek 14. S5b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1178

Erişim Numarası: OR835227

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus paralicheniformis*

>S5b

CCTCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTG
TACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTA
GCGATTCCGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAA
CAGATTTGTGGGATTGGCTTAGCCTCGCGGCTTCGCTGCCCTTTGTTCTG
CCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGA
CGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGC
CCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACT
TAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTC
ACTCTGCCCCCGAAGGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTGAGAGGATGTC
AAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCA
CCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCG
TACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTTGCTGCAGCACTAAAGGGCGG
AAACCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGT
ATCTAATCCTGTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAG
ACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTT
CACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCA
GTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTA
AGAAACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGC
CACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTG
GTTAGGTACCGTCAAGGTACCGCCCTATTTCGAACGGTACTTGTTCTTCCT
AACAAACAGAGTTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCAGGCGGCGTTGC
TCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGAAGATTCCTACTGCTGCCTCC

Ek 15. S6a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1407

Erişim Numarası: OR835225

Filogenetik olarak benzediği tür: *Alkalihalobacillus clausii*

>S6a

GGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGA
T TACTAGCAATTCCGGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAA
CTGAGAATGGCTTTATGGGATTGGCTTCACCTCGCGGCTTCGCTGCCCTT
TGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGAT
GATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGTTTGTACCGGCAGTCACCTT
AGAGTGCCCAACTCAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTG
CGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACC
ACCTGTCACTTTGCCCCGAAGGGGAAGCCCAATCTCTTGGGTGGTCAAA
GGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACA
TGCTCCACTGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTT
GCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGTGTAACTTCGGCACTAC
GGGCATCGAAACCCCTAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTA
CCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCA
GTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTCCTCCACATCTCTA
CGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAG
CTCCCCAGTTTCCAATGGCCGCTCGGGGTTGAGCCCCGAGATTTACATC
AGACTTAAGAAGCCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAA
CGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAATTAGCCGTGG
CTTTCTGGTGAGGTACCGTCAAGGTACCGCCCTATTCGAACGGTACCGCT
TCTTCCCTCACAACAAAGCTTTACGACCCGAAGGCCTTCCTCACTCACGC
GGCGTTGCTCGTCA

Ek 16. S6b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1371

Erişim Numarası: OR835229

Filogenetik olarak benzediği tür: *Solibacillus silvestris*

>S6b

GTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCT
GATCCGCGATTACTAGCGATTCCGGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTA
CAATCCGAACCTGAGAACGGTTTTATCGGATTAGCTCCCCCTCGCGGGTTG
GCAACCGTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAG
GGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATCACCGGC
AGTCTCCTTAGAGTGCCCAACTGAATGATGGCAACTAAGAATAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAA
CCATGCACCACCTGTCACCGTTGCCCCCGAAGGGGAAACTATGTCTCCAT
AGTGGTCACCGGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGA
ATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGA
GTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGC
TGCAGCACTGAGGGGCGGAAACCCCCCAACACTTAGCACTCATCGTTTAC
GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCG
CCTCAGTGTCAGTTACAGACCAGACAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTT
CCAAATCTCTACGCATTTACCGCTACACTTGGAATTCCACTATCCTCTT
CTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGG
GCTTTCACATCAGACTTAAGGAACACCTGCGCGCGCTTTACCCCCAATAA
TTCCGGA

Ek 17. S6c İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1340

Erişim Numarası: OR835230

Filogenetik olarak benzediği tür: *Staphylococcus nepalensis*

>S6c

CTCCACCGGCTTCGGGTGTTACAGACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTG
TACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTA
GCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGA
ACAACTTTATGGGATTTGCATGACCTCGCGGTTTAGCTGCCCTTTGTATT
GTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCATAAGGGGGCATGATGATTTG
ACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACACCGGCAGTCAACTTAGAGTG
CCCAACTTAATGCTGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGAC
TTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGT
CACTTTGTCCCCCGAAGGGGAAGACTCTATCTCTAGAGTTGTCAAAGGAT
GTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCT
CCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGG
TCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGG
CGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAG
GGTATCTAATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTA
CAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTGCGCA
TTTCACCGCTACACATGGAATTCACCTTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTC
CCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGAC
TTAAGAAACCGCCTACGCGCGCTTACGCCCAATAATTCCGGATAACGCT
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTT
CTGATTAGGTACCGTCAAGACGTGCACAGTTACTTACACATTTGTTCTTC
CCTAATAACAGAGTTTTACGATCCGAAGACCTTCATCACTCAGGCGGCGT
TGCTCCGTCAGGCTTTCGCCCATTGCGGAA

Ek 18. S7a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1276

Erişim Numarası: OR835231

Filogenetik olarak benzediği tür: *Staphylococcus warneri*

>S7a

AACTGAGAACAACCTTTATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTAGCTGCCC
TTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCATAAGGGGGCATG
ATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAGTCAAC
TTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGT
TGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCA
CCACCTGTCACTTTGTCCCCCGAAGGGGAAGACTCTATCTCTAGAGCGGT
CAAAGGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAAC
CACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAA
CCTTGCGGTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCA
CTAAGGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGG
ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCACATCAGC
GTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATC
TCTGCGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACT
CAAGTTTTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCA
CATCAGACTTAAAAAACCGCCTACGCCCCGCTTTACTCCCAATAATTCCGG
ATAACGCTTGCCACCTACGTTTTACCGCGGCTGCTGGCACGTAATTACC

Ek 19. S7b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1495

Erişim Numarası: OR835234

Filogenetik olarak benzediği tür: *Staphylococcus warneri*

>S7b

GTGACGGGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCT
GATCTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTA
CAATCCGAAGTGAACAACCTTTATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTA
GCTGCCCTTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCATAAG
GGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACACCGGC
AGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAA
CCATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCCCGAAGGGGAAGACTCTATCTCTA
GAGCGGTCAAAGGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGA
ATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGA
GTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGC
TGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC
GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCA
CATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCT
CCATATCTCTGCGCATTTCACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTT
CTGCACTCAAGTTTTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGG
GCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTACGCGCGCTTTACGCCCAATA
ATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA
ATTAGCCGTGGCTTTCTGATCAGGTACCGTCAAAATGTGCACAGTTACTT
ACACATTTGTTCTTCCCTGATAACAGAGTTTTACAATCCGAA

Ek 20. S8a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1455

Erişim Numarası: OR835233

Filogenetik olarak benzediği tür: *Micrococcus luteus*

>S8a

AGGCCACCGGCTTCGGGTGTTACCAACTTTCGTGACTTGACGGGCGGTGT
GTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCAGCGTTGCTGATCTGCGATTAC
TAGCGACTCCGACTTCATGGGGTCGAGTTGCAGACCCCAATCCGAACTGA
GACCGGCTTTTTGGGATTAGCTCCACCTCACAGTATCGCAACCCATTGTA
CCGGCCATTGTAGCATGCGTGAAGCCCAAGACATAAGGGGCATGATGATT
TGACGTCGTCCTCACCTTCCTCCGAGTTGACCCCGGCAGTCTCCCATGAG
TCCCCACCATTAACGTGCTGGCAACATGGAACGAGGGTTGCGCTCGTTGCG
GGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTGAACCCGCCCCAAAGGGGAAACCGTATCTCTACGGCGATCGAGAAC
ATGTCAAGCCTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCGCATG
CTCCGCCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGC
GGCCGTACTCCCCAGGCGGGGCACTTAATGCGTTAGCTGCGGCGCGGAAA
CCGTGGAATGGTCCCCACACCTAGTGCCCAACGTTTACGGCATGGACTAC
CAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCATGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAG
TTACAGCCCAGAGACCTGCCTTCGCCATCGGTGTTTCCTCCTGATATCTGC
GCATTCCACCGCTACACCAGGAATTCCAGTCTCCCCTACTGCACTCTAGT
CTGCCCCGTACCCACCGCAGAATCCGGGGTTAAGCCCCGGACTTTCACGAC
AGACGCGACAAACCGCCTACGAGCTCTTTACGCCCAATAATTCCGGATAA
CGCTCGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGTG
CTTCTTCTGCAGGTACCGTCACTTTCGCTTCTTCCCTACTGAAAGAGGTT
TACAACCCGAAGGCCGTCATCCCTCAAGCGGCGTCGCTGCATCAGGCTTG
CGCCCATGTGCATATTCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAATCTGGGCCGT
GTCTCATTCCCAGTGTGGCCGGTCACC

Ek 21. S8b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1434

Erişim Numarası: OR835238

Filogenetik olarak benzediği tür: *Ornithinibacillus scapharcae*

>S8b

ACCTCACCGACTTCGGGTGTTACCAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGT
GTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACT
AGCGATTCCGGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAG
AATGGTTTTATGGGATTTGCTCGACCTCGCGGTTTTGCTGCCCTTTGTAC
CATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTT
GACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTCCTTAGAGT
GCCCAACTAAATGCTGGCAACTAAGAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGA
CTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTG
TCACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTGGTCAGAGGATG
TCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTC
CACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGC
CGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAGGGGC
GGAAACCCCCTAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGG
GTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTAC
AGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCAT
TTCACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTCCTC
CAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTAAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACT
TAAAGGACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCAATAATTCCGGACAACGCTG
GCCCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGGGCTTTC
TGGTTAGGTACCGTCAAGGTACAATCAGTTACTATTGTACTTGTTCTTCC
TAACAACAGAGTTTTACAATCCGAAAACCTTCATCATTCAAGCGGCGTTG
CTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGA

Ek 22. S8c İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1370

Erişim Numarası: OR835237

Filogenetik olarak benzediği tür: *Alkalihalobacillus clausii*

>S8c

CCTCACC GACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTG
TACAAGACCCGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTA
GCAATTCCGGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGA
ATGGCTTTATGGGATTGGCTTCACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTACC
ATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCGATGATGATTTG
ACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACACCGGCAGTCACCTTAGAGTG
CCCAACTCAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGAC
TTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGT
CACTTTGCCCCCGAAGGGGAAGCCCAATCTCTTGGGTGGTCAAAGGATGT
CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCC
ACTGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCC
GTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGTGTAACTTCGGCACTACGGGCAT
CGAAACCCCTAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGG
TATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACA
GACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATT
TCACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGCTCCCC
AGTTTCCAATGGCCGCTCGGGGTTGAGCCCCGAGATTTACATCAGACTT
AAGAAGCCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTG
CCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCT
GGTGAGGTACCGTCAAGGTACCGCCCTATTTCGAACGGTACCGCTTCTTCC
CTCACAACAGAGCTTTACGACCCGAAGGCCTTCCTCACTCACGCGGCGTT
GCTCCGTCGAACTTTCGT

Ek 23. S9a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1495

Erişim Numarası: OR835239

Filogenetik olarak benzediği tür: *Staphylococcus warneri*

>S9a

TACTCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTG
TGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCACGCTGATCTACGATTAC
TAGCGATTCCCGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGA
GAACAACCTTTATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTAGCTGCCCTTTGTA
TTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCATAAGGGGCATGATGATT
TGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCAACTTAGAG
TGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGG
ACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCT
GTCACCTTTGTCCCCCGAAGGGGAAGACTCTATCTCTAGAGCGGTCAAAGG
ATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATG
CTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGC
GGTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGG
GGCGGAAACCCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACC
AGGGTATCTAATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGT
TACAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTGCG
CATTTACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTT
TTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAA
ACTTAAAAAACCGCCTACGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGATAACG
CTGGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCT
TTCTGATCAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTTACTTACACATTTGTTCT
TCCCTGATAACAGA

Ek 24. S10a İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1434

Erişim Numarası: OR835240

Filogenetik olarak benzediği tür: *Ornithinibacillus scapharcae*

>S10a

ACCTCACCGACTTCGGGTGTTACCAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGT
GTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACT
AGCGATTCCGGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACCTGAG
AATGGTTTTATGGGATTTGCTCGACCTCGCGGTTTTGCTGCCCTTTGTAC
CATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTT
GACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTCCTTAGAGT
GCCCAACTAAATGCTGGCAACTAAGAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGA
CTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTG
TCACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTGGTCAGAGGATG
TCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTC
CACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGC
CGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAGGGGC
GGAAACCCCCTAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGG
GTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTAC
AGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCAT
TTCACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTCCTC
CAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTAAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACT
TAAAGGACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTG
GCCCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTTGCCGGGGCTTTC
TGGTTAGGTACCGTCAAGGTACAATCAGTTACAATGGTACTTGTTCTTCC
CTAACAACAGAGTTTTACAATCCGAAACCTTCATCACTCAGGCGGGCGTTG
CTCCGTGCAACTTTCGTCAATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGT
AGGAATCTGGGCCGTGTCTCAATCCCA

Ek 25. S10b İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1407

Erişim Numarası: OR835241

Filogenetik olarak benzediği tür: *Alkalihalobacillus clausii*

>S10b

ACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCAATTCCGGCTTCATGCAGGC
GAGTTGCAGCCTGCAATCCGAAGTGAAGAATGGCTTTATGGGATTGGCTTC
ACCTCGCGGCTTCGCTGCCCTTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCG
GTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTCAATGCTGGCAACTA
AGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACAC
GAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTTGCCCCCGAAGGGGAAG
CCCAATCTCTTGGGTGGTCAAAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCG
CGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACTGCTTGTGCGGGTCCCCGTC
AATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTT
AATGTGTAACTTCGGCACTACGGGCATCGAAACCCCTAACACCTAGCAC
TCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCC
ACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCA
CTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCC
ACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGCTCCCCAGTTTCCAATGGCCGCTCGGGG
TTGAGCCCCGAGATTTACATCAGACTTAAGAAGCCGCCTGCGCGCGCTT
TACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCT
GCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTGAGGTACCGTCAAGGTACC
GCCCTATTCGAACGGTACCGCTTCTTCCTCACAACAAAGCTTTACAACCC
GAAGGCCTTCCTCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCA

Ek 26. S10c İzolatının 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz sayısı: 1094

Erişim Numarası: OR835242

Filogenetik olarak benzediği tür: *Bacillus pumilus*

>S10c

ATTTATGGGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTCGCAGCCCTTTGTTCTGTCC
ATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGT
CATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCA
ACTAAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA
CCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACT
CTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTGAGAGGATGTCAAG
ACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCG
CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTAC
TCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAA
CCCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATC
TAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACC
AGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTAC
CGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCCAGTT
TCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGA
AACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCAC
CTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTT
AGGTACCGTCAGGGGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTTCTTCCCTAAAA
ACGAAGCTTTACAATCCGAAAACCTTCTT

ÖZGEÇMİŞ

SENANUR KÖSE

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite/Lise	Mezuniyet Yılı
Lise	Sayısal	Ümraniye Anadolu İmam Hatip Lisesi	2015
Lisans	Biyoloji	Kocaeli Üniversitesi	2019
Yüksek Lisans	Biyoloji	Marmara Üniversitesi	Devam Ediyor

İş Deneyimi

İş Yeri	Bölüm	Görev	Yılı
Atabay Kimya San. ve Tic. A.Ş.	Mikrobiyoloji Laboratuvarı	Mikrobiyoloji Analisti	2023- Devam Ediyor