



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

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

HACER DURSUN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

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

DÜZCE, 2018

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

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

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

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ
Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ
Düzce Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Gökem DÜLGER
Düzce Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Arzu YILDIRIM
Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 16/02/2018

BEYAN

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

16 Şubat 2018



TEŞEKKÜR

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

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

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

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

16 Şubat 2018

Hacer Dursun

İÇİNDEKİLER

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

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

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

ŞEKİL LİSTESİ

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

ÇİZELGE LİSTESİ

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

KISALTMALAR

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

SİMGELER

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

ÖZET

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

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

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

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

ABSTRACT

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

Hacer DURSUN

Düzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology

Master Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Serpil UGRAS

February 2018, 73 pages

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

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

1. GİRİŞ

1.1. GENEL BİLGİLER

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

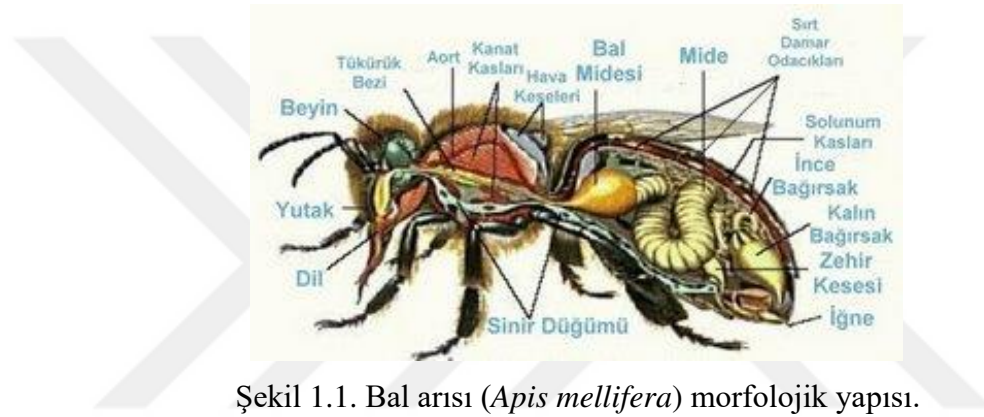
Dünya üzerinde insanoğlu tarafından besin olarak tüketilen bitkilerin çoğunun polinasyonu arılar tarafından gerçekleştirilmektedir [5]. Canlılığın devamı için büyük önem arz eden yüksek yapılı bitkilerin neslinin devamı için de polinasyona ihtiyaç vardır ve polinasyon olayında arılar kanıtsamaz bir öneme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

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

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

1.2. BAL ARISI

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



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

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

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

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

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

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

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

1.3. ARI ÜRÜNLERİ

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

1.3.1. Bal

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

1.3.2. Arı Sütü

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

1.3.3. Polen

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

1.3.4. Arı Ekmeği

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

1.3.5. Propolis

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

1.4. BAL ARILARININ ÖNEMİ

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

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

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

1.5. BAL ARISI HASTALIKLARI

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

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

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

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



Şekil 1.2. Ölü larvaların renk değişimi.

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

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

1.6. TÜRKİYEDE ARI VE ARICILIK

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

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

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

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

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

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

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

1.7. YIĞILCA BAL ARISI

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

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

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

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



Şekil 1.3. Yığılca bal arısı.

1.8. AMAÇ

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

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. ARI VE ARI ÜRÜNLERİNİN ELDE EDİLMESİ

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

2.2. BAKTERİ İZOLASYONU

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

2.2.1. Arı, Pupa ve Larva Örneklerinin Hazırlanması

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

2.2.2. Bal ve Bal Ekmeği Örneklerinin Hazırlanması

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

2.2.3. Polen Örneklerinin Hazırlanması

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

2.2.4. Arı Sütü Örneklerinin Hazırlanması

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

2.3. BAKTERİYAL SAF KÜLTÜRLERİN HAZIRLANMASI VE STOKLANMASI

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

2.4. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

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

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

2.5. BAKTERİYAL İZOLATLARIN FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

2.5.1. Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi

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

2.5.2. Optimum pH Özelliklerinin Belirlenmesi

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

2.5.3. NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi

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

2.6. BAKTERİYAL İZOLATLARIN BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

İzolatların Katalaz enzimi üretme yetenekleri katalaz testi ile belirlenmiştir. Öncelikle bakteriyal izolatların katı besiyerine nokta ekimleri yapılmıştır. Geliştirilen bakteriyal izolatların koloni yüzeyine, % 3'lük H₂O₂ ten 1 ml damlatılmıştır. Koloniler üzerinde

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

2.7. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

2.7.1. İzolatların Genomik DNA İzolasyonu

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

hacim % 96'lık etanol ilave edilmiş -20 °C'de 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 13.000×g'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve üst kısımdaki sıvı boşaltılmıştır. Kalan pelletin üzerine 500 µl % 70'lik etanol ilave edilerek tekrar 13.000×g'de 2 dakika santrifüj edilip üst kısımdaki sıvı dökülerek pellet açık havada kurutulmuştur. Elde edilen DNA pelleti, 100 µl ddH₂O'da çözülüp ve elde edilen örnekler, 0,5 µg/ml etidyum bromür ihtiva eden % 1'lik agaroz jelde 5 µl'si yürütülerek jelde görüntülenmiştir. Doğrulan DNA örnekleri sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.7.2. İzolatların 16S rDNA Gen Analizleri

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

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerler.

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

Çizelge 2.2. PCR içeriği.

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

Çizelge 2.3. PCR koşulları.

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

2.7.3. Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin Analizi

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

2.7.4. Filogenetik Ağaç Tasarımı

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

3. BULGULAR

3.1. ARI VE ARI ÜRÜNLERİNİN ELDE EDİLMESİ

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



Şekil 3.1. Arı ve örneklerin temini.

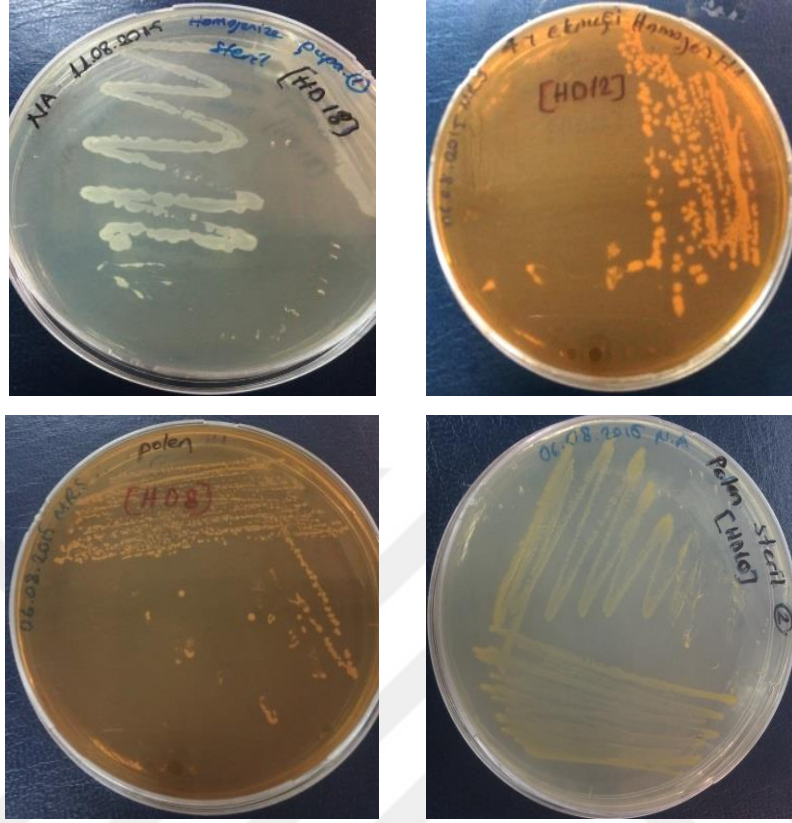
3.2. BAKTERİLERİN İZOLASYONU

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

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

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

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



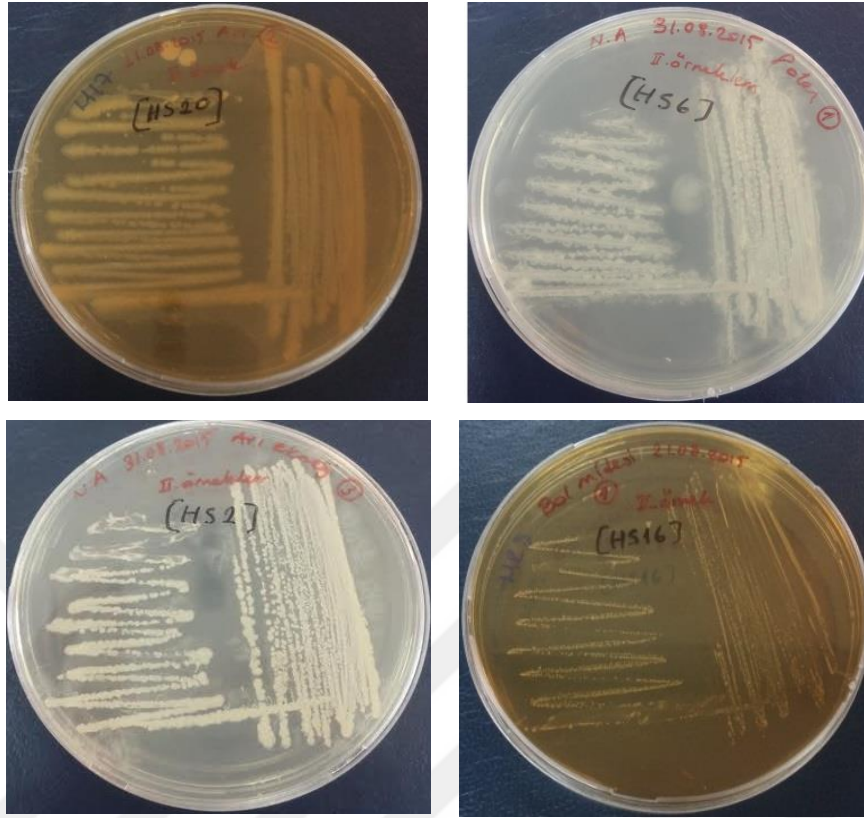
Şekil 3.2. Bazı bakteriyel izolatlar (1. Örneklem).

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

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

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

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



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

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

3.3. BAKTERİYAL SAF KÜLTÜRLERİN HAZIRLANMASI VE STOKLANMASI

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

3.4. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ BELİRLENMESİ

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

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

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

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

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

3.5. BAKTERİYAL İZOLATLARIN FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

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

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

3.5.1. Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi

Bu çalışma sonucunda, 21 bakteriyal izolatın tamamının 4 °C’de büyümediği gözlenmiştir. HS1, HS2, HS3, HS4, HS5, HS10, HS11, HS19, HS20, HD4, HD5, HD6, HD9, HD10, HD11, HD12, HD13 nolu izolatların optimum büyüme sıcaklıklarının 35 °C olduğu tespit edilmiştir. HS6, HD18, HD20 nolu bakterilerinin 40 °C’de büyüebilmesi daha yüksek sıcaklıklarında denenmesine sebep olmuş ve bu üç bakterinin 45 °C ve 50 °C sıcaklıklarına toleranslı oldukları tespit edilmiştir. Bakteriyal izolatların büyüme sıcaklıkları Çizelge 3.5’te gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Bakteriyel izolatların büyüme sıcaklıkları.

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

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

3.5.2. pH Özelliklerinin Belirlenmesi

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

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

Çizelge 3.6. Bakteriyel izolatların pH özellikleri.

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

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

3.5.3. NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi

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

Çizelge 3.7. Bakteriyeel izolatların NaCl özellikleri.

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

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

3.6. BAKTERİYAL İZOLATLARIN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

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

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

Çizelge 3.8. Bakteriyel izolatların bazı biyokimyasal özellikleri.

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

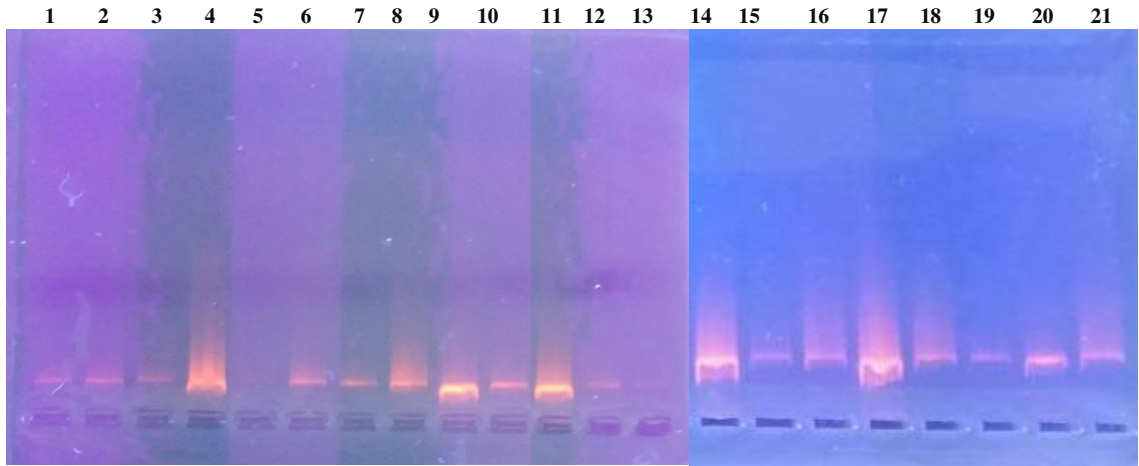
-; enzim üretme yeteneği yok, +; enzim üretme yeteneği var.

3.7. BAKTERİYAL İZOLATLARIN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

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

3.7.1. İzolatlardan Genomik DNA İzolasyonu

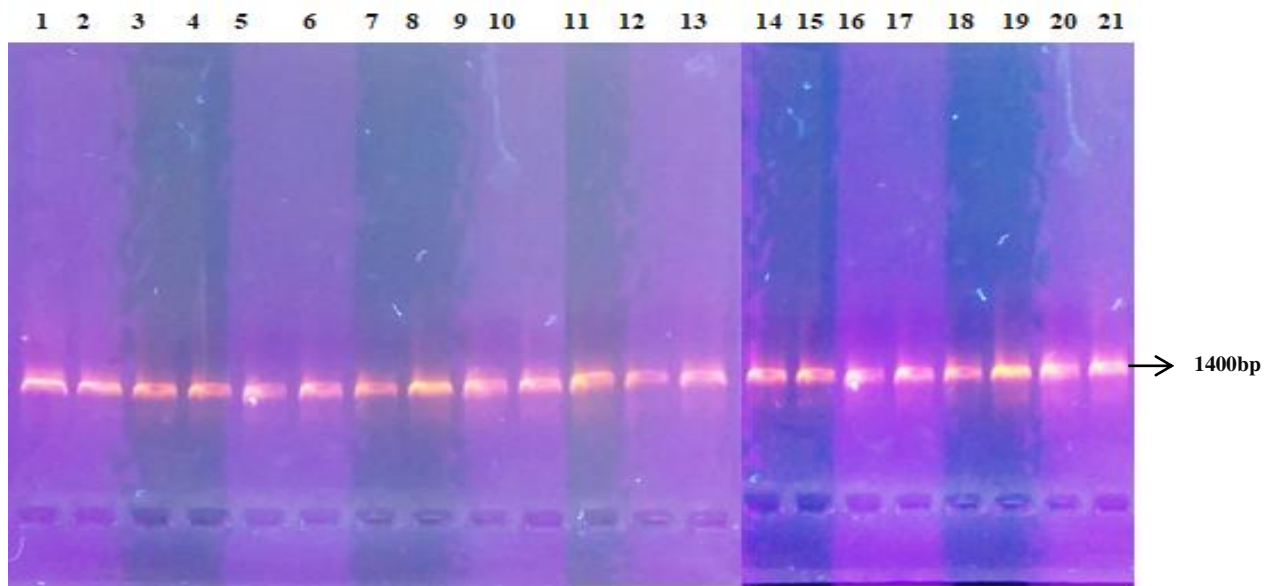
21 izolatın genomik DNA' sı izole edilmiş ve agaroz jel elektroforezinde yürütülerek hem varlığı hem de saflık oranı Şekil 3.4' te gösterilmiştir. İzolatların DNA profilleri sırasıyla; 1. HS1, 2. HS2, 3. HS3, 4. HS4, 5. HS5, 6. HS6, 7. HS10, 8. HS11, 9. HS20, 10. HS19, 11. HD4, 12. HD5, 13. HD6, 14.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



Şekil 3.4. İzolatların DNA profilleri.

3.7.2. İzolatların 16S rDNA Gen Analizler

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



Şekil 3.5. İzolatların 16S rDNA PCR profilleri.

3.7.3. Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin Analizi

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

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

Çizelge 3.9. İzolatların 16S rDNA gen dizilerinin karşılaştırılması.

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

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

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

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

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

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

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

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

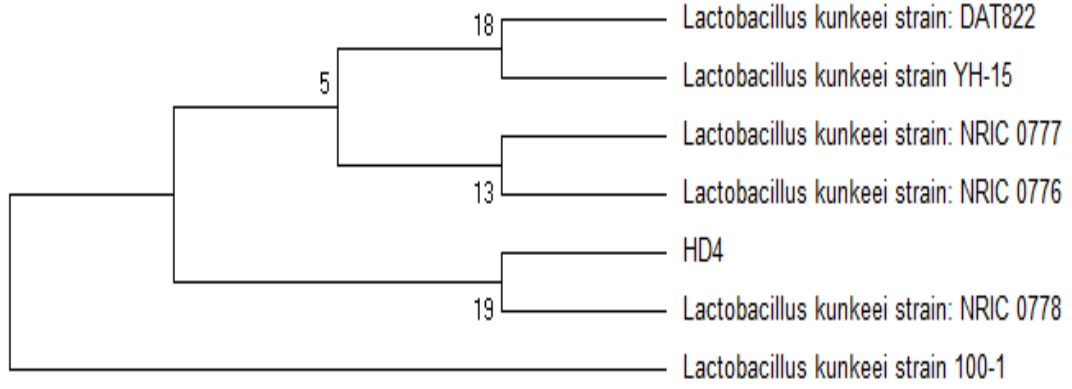
İzolat	Accession No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HD11	FJ357815.1 EF050808.1 EF050807.1 KT075192.1 KT075196.1 FJ756347.1 KJ888105.1 KT075173.1 KT075172.1 KC178592.1 FJ999950.1 KT375340.1 JX077098.1 KT075189.1	<i>Pantoea agglomerans</i> strain EL107 <i>Pantoea agglomerans</i>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

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

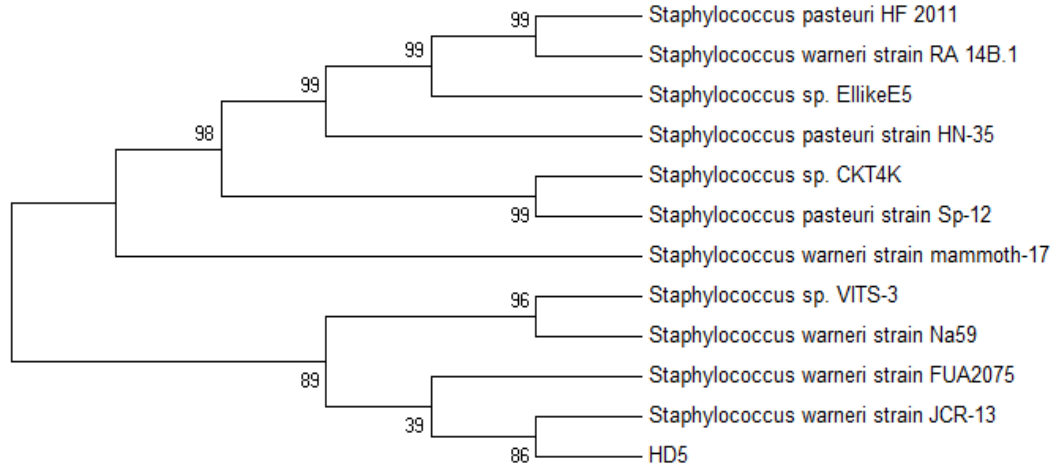
İzolat	Accession No	Yüksek Benzerlik Belirlenen Bakteri	Benzerlik Oranı (%)
HD20	HM130543.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain Sp-12	99
	KR822475.1	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain PF5-18	99
	KX826983.1	<i>Staphylococcus warneri</i> strain M2/351	99
	KR809415.1	<i>Staphylococcus warneri</i>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

3.7.4. Filogenetik Ağaç Oluşturulması

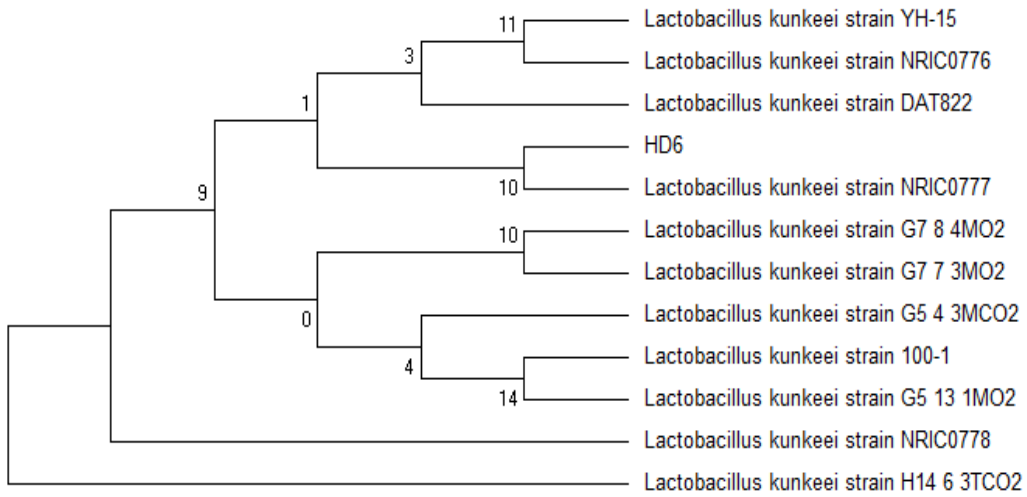
Elde edilen izolatların filogenetik analizleri yüksek benzerlik gösterdikleri referans türler ile kıyaslanması ile yapılmıştır. Bu analiz elde edilen izolatların tür boyutunda kimliklendirilmesinde kullanılmıştır. Elde edilen izolatların filogenetik ağaçları oluşturulmuştur. Oluşturulan filogenetik ağaçlar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



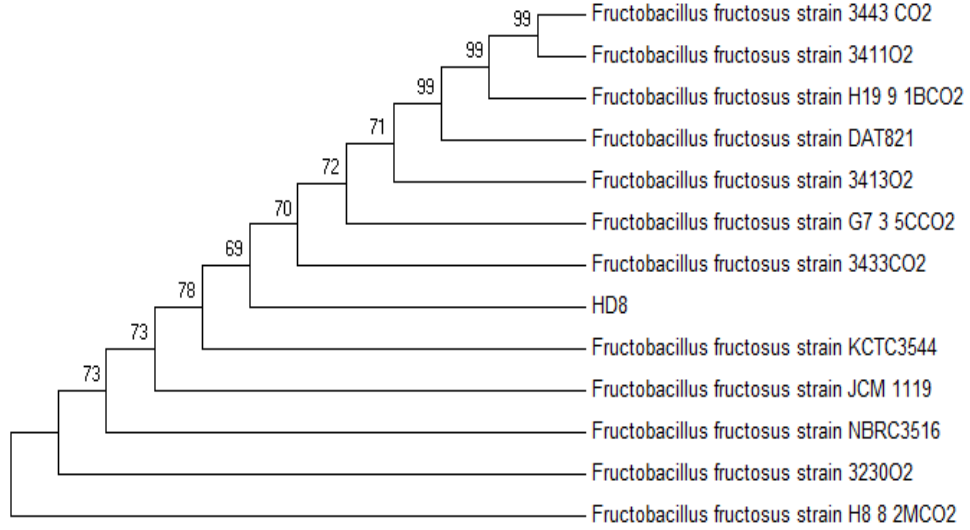
Şekil 3.6. HD4 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



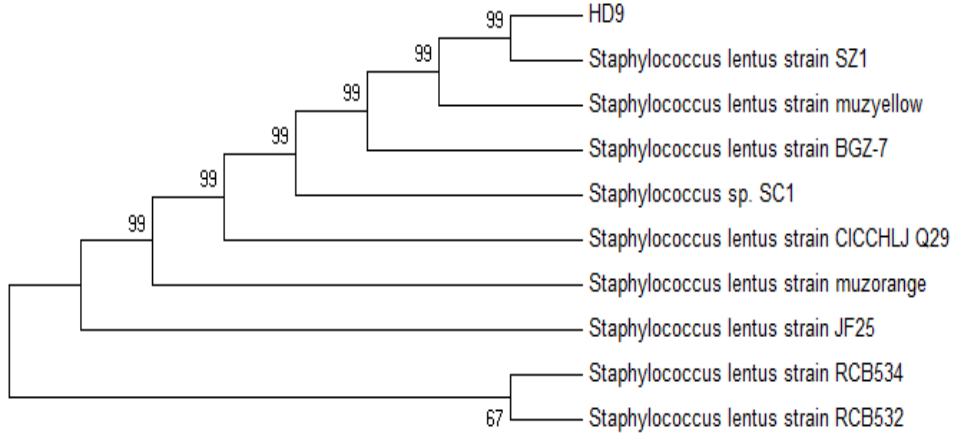
Şekil 3.7. HD5 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



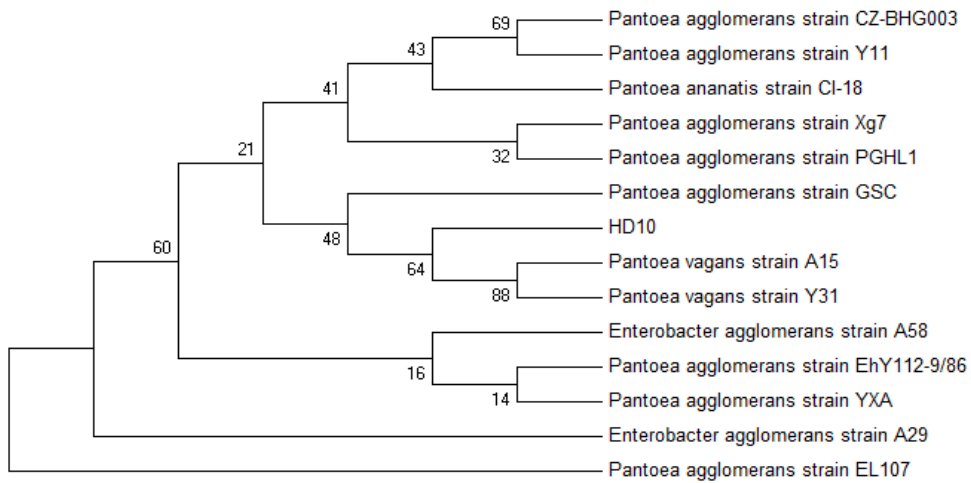
Şekil 3.8. HD6 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



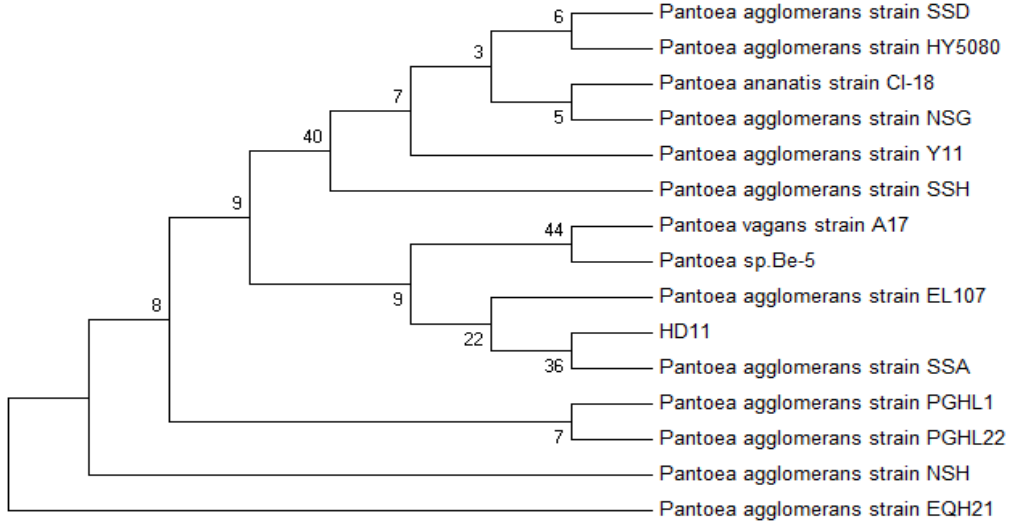
Şekil 3.9. HD8 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



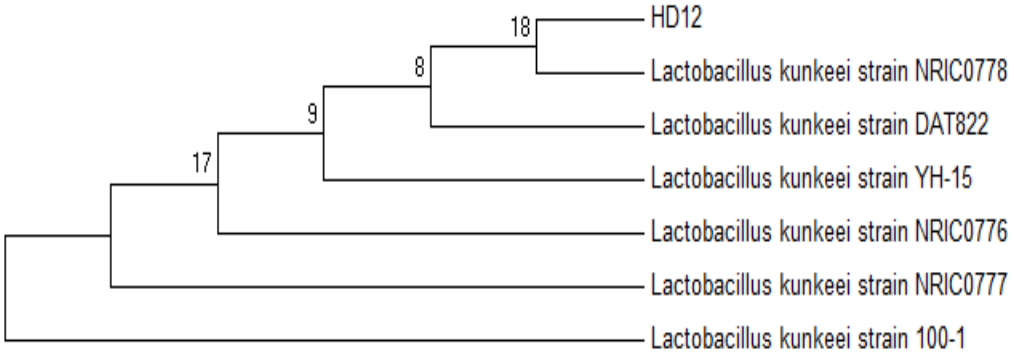
Şekil 3.10. HD9 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



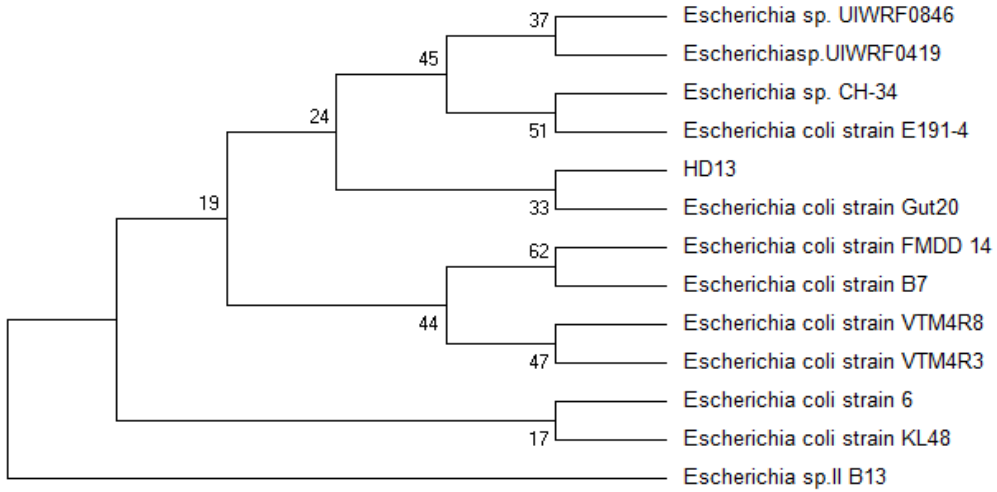
Şekil 3.11. HD10 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



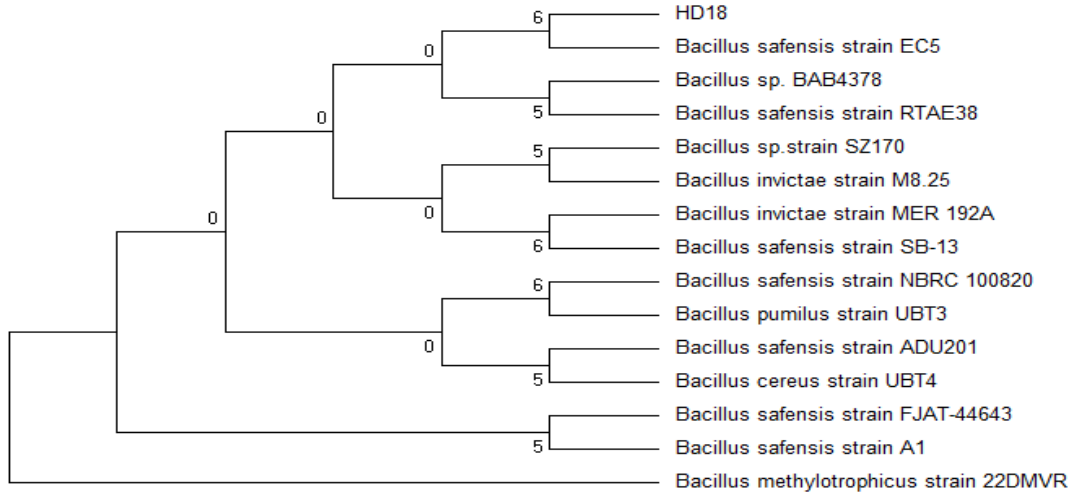
Şekil 3.12. HD11 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



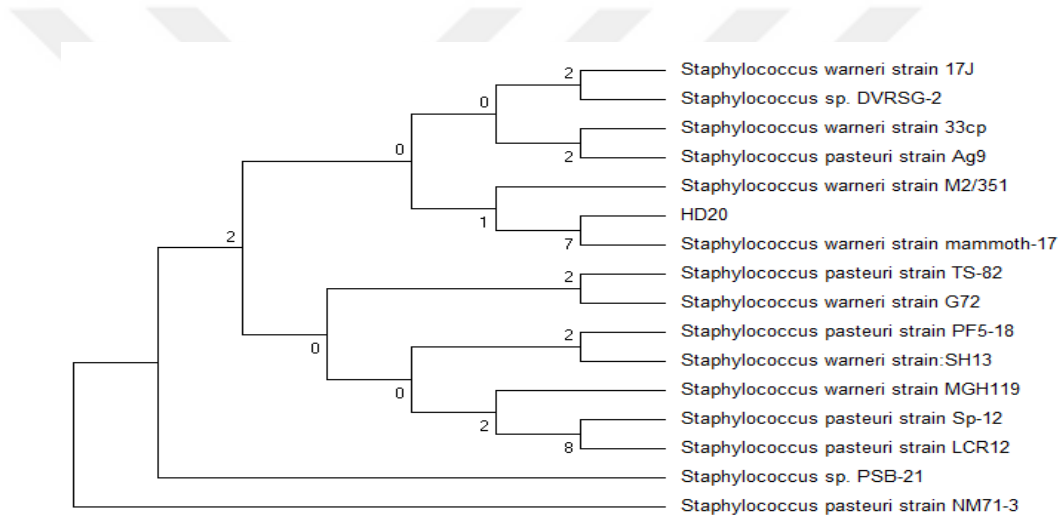
Şekil 3.13. HD12 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



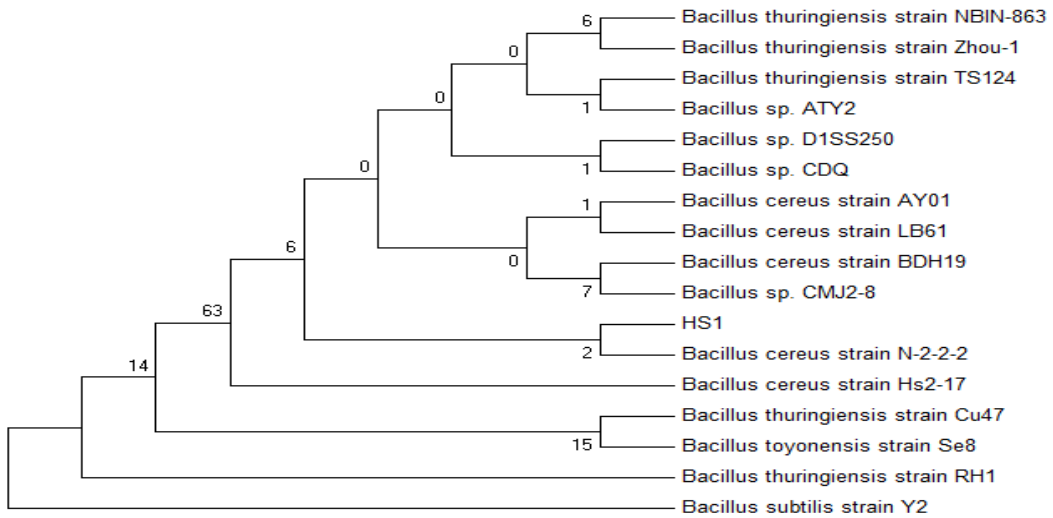
Şekil 3.14. HD13 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



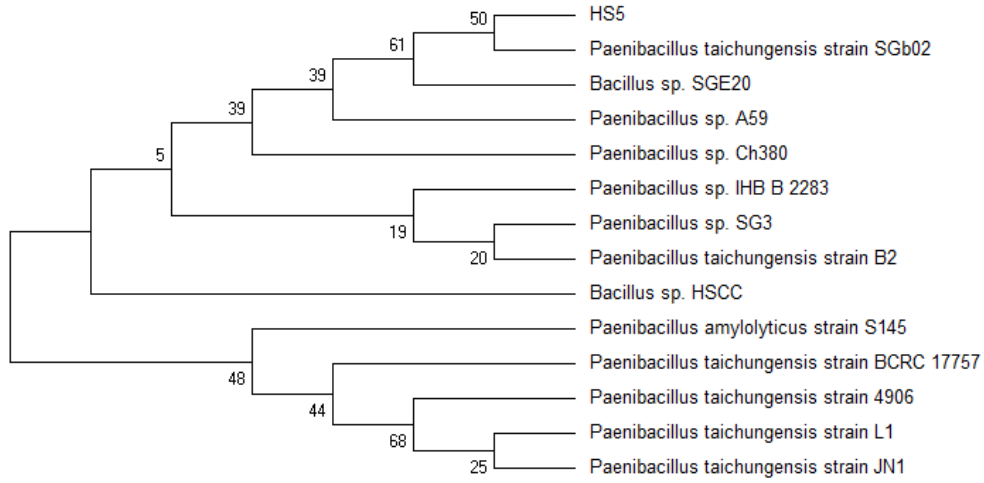
Şekil 3.15. HD18 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



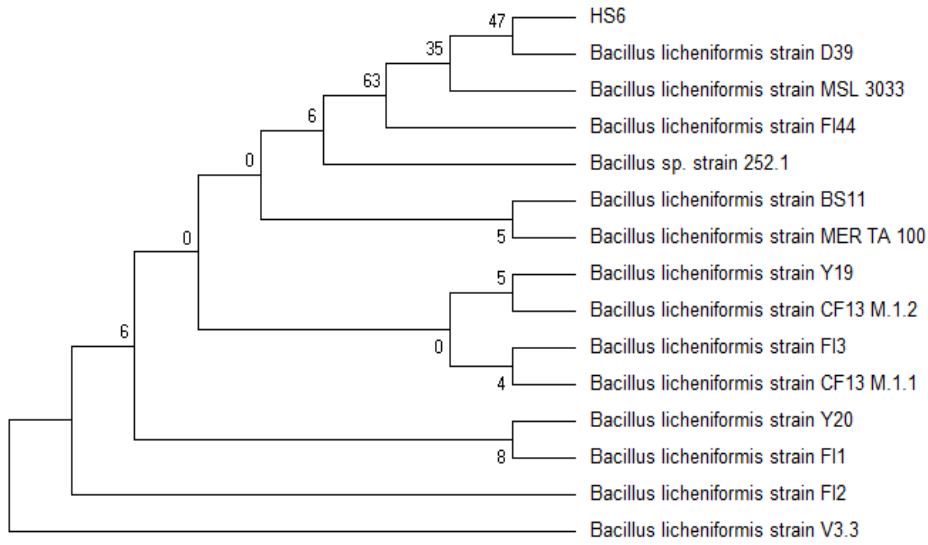
Şekil 3.16. HD20 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



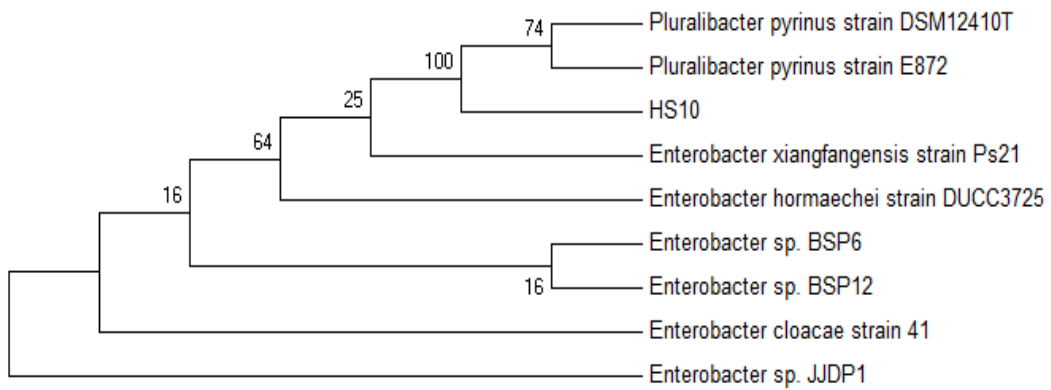
Şekil 3.17. HS1 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



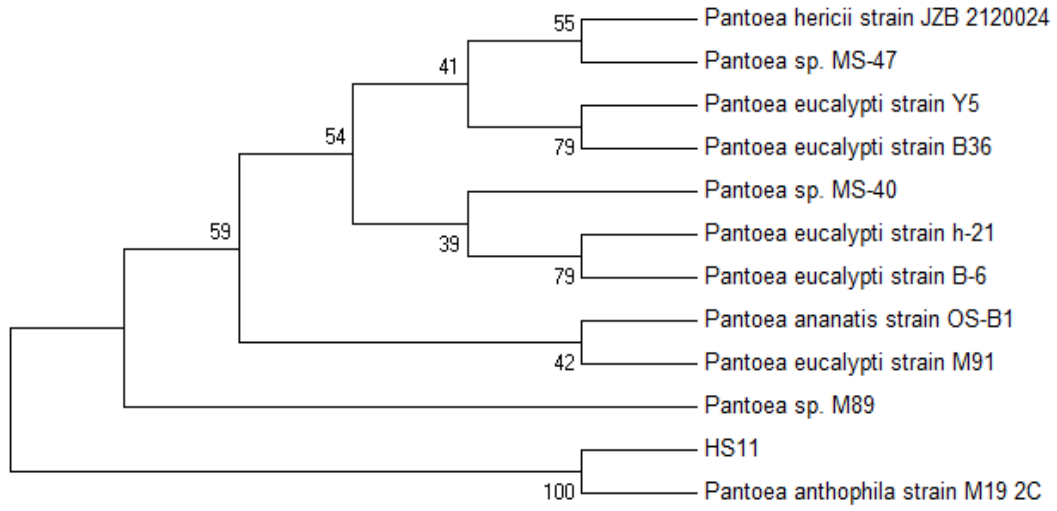
Şekil 3.21. HS5 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



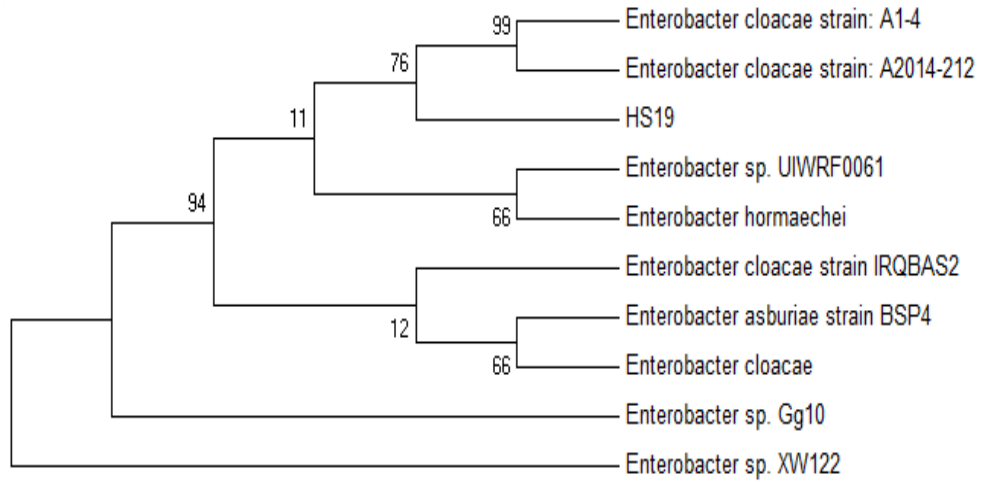
Şekil 3.22. HS6 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



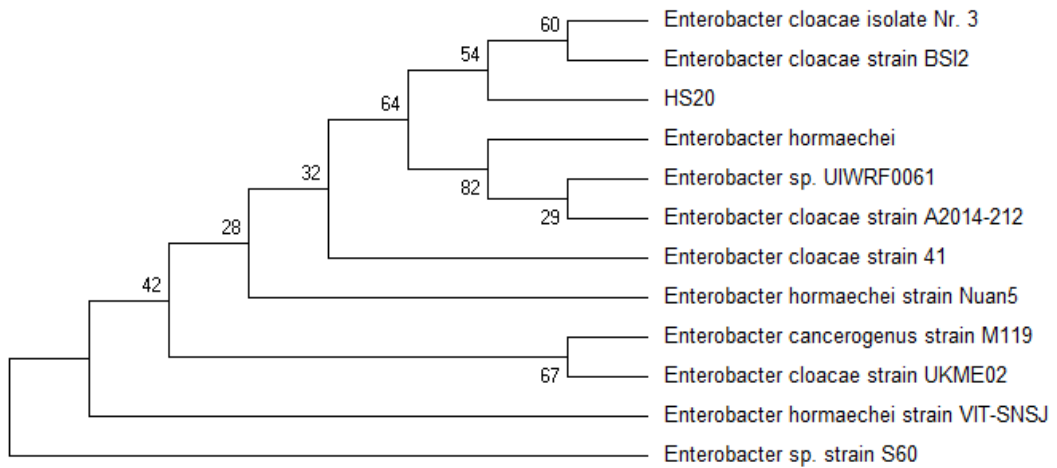
Şekil 3.23. HS10 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



Şekil 3.24. HS11 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



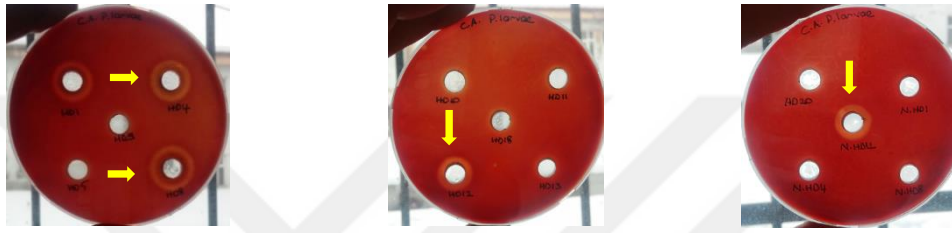
Şekil 3.25. HS19 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.



Şekil 3.26. HS20 kodlu izolata ait filogenetik ağaç.

3.8. ARILARDA HASTALIK ETMENİ PATOJENENE KARŞI İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

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



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

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

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

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

4. TARTIŞMA

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

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

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

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

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

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

6. KAYNAKLAR

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

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

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

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

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

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

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

7. EKLER

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

HS1 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

GGGGAGGAGGAGGGGCGGGGGCGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTAC
TAGCGATTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGAACGG
TTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGTCTTGACGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAG
CACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCGATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTC
CTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAA
GATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGA
CGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAGG
GTTTTAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCA
CATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGC
CGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAGGGCGGAAAC
CCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTG
TTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTGAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCG
CCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACACCGCTACACATGGAATTCCACTT
TCCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGG
GCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCG
GATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGC
TTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCACTTGTTCTTCCCT
AACAAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTC
AGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCC
GTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTTGCCT
TGGTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGACGCGGGTCCATCCATAAGTGA
CAGCCGAAGCCGCCTTTCAATTTTGAACCATGCGGTTCAAAATGTTATCCGGTATTA
GCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCCAGTCTTATGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCA
CCTCGTCCGCCGCTAACTTCATAAGAGCAAGCTCCTTAATCCCATTCGCTCGACTTG
CATGTATAGCACGCCCCGCCACGCGCACCCCCCCCC

HS2 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TGGCATGTAAAGCTGACGTATTCATCGCATGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGA
TTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTAT
GGGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTTGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTG
TGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGT
TTGTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAG
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAAC
CATGCACCACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCA
GAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCT
CCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACT
CCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTA
ACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCT
CCCCACGCTTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTG
GTGTTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTT
CTGCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCA
CATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACG
CTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGT
TAGGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTTCTTCCCTAACAACAGA
GCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGT
CCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGT
CCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCC
ATTACCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCGAAA
CCGTCTTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACATCCGGTATTAGCTCCGGTT
TCCCGGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGC
CGCTAACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTTCGCTCGACTTGCTAGTATAGCACGC
CCGCAGCTTAATTGTCCCCCCCAG

HS3 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

GGGGGAGGGGGAGCGGGGGGGCGGGAGTACTCTAGCATACTGCTGATCCGCGATT
ACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGAAC
GGTTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGTCTTGCAGCTCTTTGTACCGTCCATTGT
AGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCT
TCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTA
AGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTG
ACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAG
GGTTTTTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCTTATTAAACC
ACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGG
CCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAGGGCGGAAA
CCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTIONACAGGGTATCTAATCCT
GTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTGAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTC
GCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCACT
TTCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTG
GGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCC
GGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGTCCGTG
GCTTTCTGGTTTAGTACCGGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCACTTGTTCTTC
CCTTAACAACAGAAGGTTTTACGACCGGAAAGCCTTCATCACTCCAGCGGGCGTTG
CTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGT
CTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTACGCATC
GTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGACGCGGGTCCATCCAT
AAGTGACAGCCGAAGCCGCCTTTCAATTTTGAACCATGCAGTTCAAAATGTTATCC
GGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCAGTCTTATGGGCAGGTACCCACGTG
TACTCACCCGTCCGCCGCTAACTTCTTGAGAGCAAGCTCTCAATCCATTCGCTCGA
CTTGCTAGTATAGCATCGACGGCACGGTAAACGAG

HS4 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TGCATGTCAAATGATGTACTCTAGCATGCTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCA
GCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGAAGAACAGATTTATGGGAT
TGGCTAAACCTTGCGGTCTTGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTC
ACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGC
ACCACCTGTCACCTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGA
TGTCAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCG
CTTGTCGGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAG
GCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTT
AGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCAC
GCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTT
CTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCA
CTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCA
GACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGC
CACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGT
ACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTTCTTCCCTAACAAACAGAGCTTT
ACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATT
GCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCA
GTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCATTAC
CCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCGAAACCGTC
TTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTCCCG
GAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTA
ACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTTTCGCTCGACTTGCTATTATAGGCATGCCGGC
CGCTTAACGTCTCCG

HS5 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

ACAGGACCGGGGACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCAATTCC
GACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGACCGGCTTTTTAGGA
TTCGTTCCACCTCGCGGCTTCACAGCCCGTTGTACCGGCCATTGTAGTACGTGTGTA
GCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGT
CACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCATCCGAAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGT
TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCAT
GCACCACCTGTCTCCTCTGTCCCGAAGGAAAGATACATCTCTGTACCGATCAGAGG
GATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATACTCCAC
TGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCC
AGGCGGAGTGCTTAATGTGTAACTTCGGCACCAAGGGTATCGAAACCCCTAACAC
CTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCC
ACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGCCCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGT
TCCTCCACATATCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGC
ACTCAAGTCACCCAGTTTCCAGTGCGATCCGGGGTTGAGCCCCGGGATTAAACACC
AGACTTAAATGACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCGGGACAACGCTTG
CCCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGGGCTTCTTCTCAGG
TACCGTCACCTTGAGAGCAGTTACTCTCCCAAGCGTTCTTCCCTGGCAACAGAGCTT
TACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCATTGCTCCGTCAGGCTTTCGCCCAT
TGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCA
GTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTAC
CCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCAGGCCCCATCCCCAAGTGACAGATTGCTCCGTC
TTTCCAGTTCTCTTCAGGAGAAGAAAACAACCTATTCGGTATTAGCTACCGTTTCCGG
TAGTTGTCCCAAACCTTGAGGGCAGGTTGCCTACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTA
ACCATCAGAGAAGCAAGCTTCTCTTCAAGTCCGCTCGACTGCATGTATAGGCATGC
CGCCAGCTGCCCCA

HS6 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TCCCAGTCCGCACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAG
CTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGTGGGATT
GGCTTAGCCTCGCGGCTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCCCATTGTAGCACGTGTGTAGC
CCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCA
CCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGC
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCA
CCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGAT
GTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCG
TTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGG
CGGAGTGCTTAATGCGTTTGCTGCAGCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTAACACTTA
GCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCACG
CTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTC
TCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACT
CAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGA
CTTAAGAAACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCA
CCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTAC
CGTCAAGGTACCGCCCTATTCGAACGGTACTTGTTCTTCCCTAACAAACAGAGTTT
CGATCCGAAAACCTTCATCACTCAAGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTG
CGGAAGATCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAATCTGGGCCGTGTCTCAATCCCAGT
GTGGCCGATCACCTCTCAAGTGGGGTAACCACCGCCCCCTTGGTGAACCCTTACCT
CACCAACTAACTAAAGGGCCGCGGGTCCTCCTTCAAATGGGAACATAAAAACCCCT
TC

HS10 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

GCAAGTCGGGACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCGA
CTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTATGAGGTC
CGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAGC
CCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCAGTTTGTCA
CTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCTAACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAGCCATGC
AGCACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTGGA
TGTC AAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAAACCACATGCTCCACC
GCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAAACCTTGCGGGCCGTA CTCCCCA
GGCGGTCTACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAGCCTCCA
AGTAGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCAC
GCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTCGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTC
CTCCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACGAG
ACTCAAGCCTGCCAGTTTTCGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCCGGGGATTTACAT
CCGACTTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAACGCTTG
CACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGG
TAACGTCAATCGACGAGGTTATTAACCTCATCGCCTTCCTCCCCGCTGAAAGTACTT
TACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCA
TTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCC
AGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGCCGTT
ACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGGCCCGAAGG
TCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTCCAGTAGTTATC
CCCCTCCATCGGGCAGTTTCCCAGACATTACTACCCGTCCGCCACTCGTCAGCGAA
GCAGCAAGCTGCTTCCTGTTACCGTTCGACTGCATGTGTAGGCTGCCCCGCCAGCGTA
CTC

HS11 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

ACATGACGGGACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCGA
CTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTGTGAGGTC
CGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAGC
CCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATCA
CCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGCCATCACGCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTT
GCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAGCCATG
CAGCACCTGTCTCACAGTTCCCGAAGGCACCAATGCATCTCTGGAAAGTTCTCTGG
ATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAAACCACATGCTCCAC
CGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTCCCC
AGGCGGTTCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAACCTCC
AAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCA
CGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATT
CCTCCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAG
ACTCAAGCCTGCCAGTTTCAAATGCAGTTCCCAGGTAAAGCCCGGGGATTTACAT
CTGACTTAACAGACCGCGTGCGTGCGCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAACGCTTG
CACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGTTTTTCTGCGGG
TAACGTCAATCGGTAAGGTTATTAACCTCACCGCCTTCCTCCCCGCTGAAAGTACTT
TACAACCCGAAGGCTTTTTTTCATACACGCGGCATGGGTGCATCAGGCTTGCGCCCA
TTGTGCAATATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCC
AGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGATAGGGATTGTCGCATAGGTGGGCCATT
ACCCCGCCTACTAGCTAATCCCATCTGGGTTTCATCCGATAGTGAGAGGCCCCGAAGG
TCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCCACCGTTTCCAGTGGTTATC
CCCCTCTATCGGGCAGATCCCCAGACATTACTACCCGTCCGCCACTCGTCACCCAA
GAGCAAGCTCTCTGTGCTACCGTCCGACTGCATGTGTAGCTGCCGCCAGCTATTCC

HS19 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

CCATGTCCAGGGACGTATTCACCGTATACATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCC
GACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTTTATGAGG
TCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTA
GCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCAGTTTAT
CACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGGACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGT
TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAGCCAT
GCAGCACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTG
GATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAAACCACATGCTCCA
CCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGGCCGTACTCCC
CAGGCGGTGCACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTC
CAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCC
ACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTAT
TCCTCCAGATCTCTACGCATTTACACGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAA
GACTCTAGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACAT
CCAATTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAACGCTTG
CACCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGG
TAACGTCAATCGACAGGGTTATTAACCCTGTCGCCTTCCTCCCCGCTGAAAGTACTT
TACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCA
TTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCC
AGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGCCGTT
ACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGCCCCGAAGG
TCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTCCAGTAGTTATC
CCCCTCCATCAGGCAGTTTCCCAGACATTACTACCCGTCCGCCACTCGTCAGCGAA
GCAGCAAGCTGCTTCCTGTTACCGTTCGACTGCTATGTGTAGGCCTGCCGCCAGCTA
TTCCC

HS20 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

CAGGCCGCACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCGACTT
CATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTTTATGAGGTCCGC
TTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCT
ACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTGATCCCCACCTTCCTCCAGTTTATCACTG
GCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGGACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGCGC
TCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGC
ACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTGGATGTC
AAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTT
GTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCG
GTCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTC
GACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTT
TCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCC
AGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCT
AGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACATCCAAC
TTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCAATTAACGCTTGACCCC
TCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAATTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGGTAAC
GTCAATCGACAGGGTTATTAACCCTGTCGCCTTCCTCCCCGCTGAAAGTACTTTACA
ACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCATTGT
GCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTG
TGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGCCGTTACCC
CACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGCCCGAAGGTCCC
CCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTCCAGTAGTTATCCCCC
TCCATCAGGCAGTTTCCCAGACATTACTACCCGTCCGCCACTCGTCAGCGAAGCA
GCAAGCTGCTTCCTGTTACCGTTCGACTGCATGTGTAGGCTGCCGCCAGCTCATT

HD4 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

CCAGGTCGGGACGTATTCACCGTGGCATGCTGATCCACGATTACTAGTGATTCCAA
CTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATT
AGCTTGACCTCGCGGTTTCGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGC
CCAGCTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTTATCA
CCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAATAATAAGGGTTGC
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCA
CCACCTGTCATTCTGTCCCCGAAGGGAACGCCCAATCTCTTGGGTTGGCAGAAGAT
GTCAAGAGCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCATCGAATTAAACCACATGCTCCACCA
CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCAG
GCGGAATACTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCT
AGTATTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTACCCAT
GCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTAACAGACCAGAAAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTT
CTTCATAAATCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAGTTCCACTTTCCTCTTCTGTA
CTCAAGTTTTGTAGTTTCCACTGCACTTCCTCAGTTGAGCTGAGGGCTTTCACAGCA
GACTTACAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCTTGC
CACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAAAT
ACCGTCAAAGTGTTAACAGTTACTCTAACACTTGTTCTTCTTTAACAACAGAGTTTT
ACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTCCATT
GTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAA
TGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTGCGCTACGTATCATCGTCTTGGTGGGCTTTTATC
TCACCAACTAACTAATACGGCGCGGGTCCATCCCAAAGTGATAGCAGAGCCATCTT
TCAAGTTGGAACCATGCGGTTCCAATAATTATGCGGTATTAGCACTTGTTTCCAAA
TGTTATCCCCCGCTTCGGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCAGTTCGCCACTCG
CTCCGAATCCAAAAATCATTTATGCAAGCATAAAATCAATTTGGGAGAGCTCGTTC
GACTGCATGTATTAGCACGCCCGCCAGCCTCCCCCCC

HD5 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

GGCTGAGGCTGGAGGGGGGCTATAACATGCGCGTCGAGCGAACAGATAAGGAGCT
TGCTCCTTTGACGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTCACACGCGGATGACCTACCAATA
AGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACATATTGAACCGC
ATGGGTAATTAGTGAAAGGCGGCTTTGCTGTCACTTATAGATGGATCCGCGCCGTA
TTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAACGATACGTAGCCGACCTGAG
AGGTTGACCGACCCTACTGTAAGTGAACGACACGGTCCAGACTCCTACGAGAGGCAGC
AGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTA
ATGAAGGTCTTCGGATCGTAAACTCTGTTATCAGGGAAGAACAATGTGTAAAGTA
ACTGTGCACATCTTGACGGTACCTGATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGC
GCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGAGGGTC
ATTGGAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGC
GGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTC
TGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCTTGGGGATCAAACGGGATTAGATACCCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCAAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG
CTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACT
CAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAG
CATCCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACCGCTCTAGAGATAGAGTCT
TCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCAT
TAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAA
TACAAATGGGCAGCTAAACCGCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAAGTTGTTCTCAGT
TCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGA
TCAGCATCCTCTGGTGAGATGCTATCCCTTCATGCCCC

HD6 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TTGGCAAGACGGCACGTATTCACCGTGGCATGCTGATCCACGATTACTAGTGATTC
CAACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAG
ATTAGCTTGACCTCGCGGTTTCGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGT
AGCCCAGCTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTTA
TCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAATAATAAGGGT
TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCAT
GCACCACCTGTCATTCTGTCCCCGAAGGGAACGCCCAATCTCTTGGGTGGCAGAA
GATGTCAAGAGCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCATCGAATTAAACCACATGCTCCA
CCACTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTGACTCCC
CAGGCGGAATACTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACA
CCTAGTATTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTACC
CATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTAACAGACCAGAAAGCCGCCTTCGCCACTGGT
GTTCTTCCATATATCTACGCATTTACCCGCTACACATGGAGTTCCACTTTCCTCTTCT
GTACTCAAGTTTTGTAGTTTCCACTGCACTTCCTCAGTTGAGCTGAGGGCTTTCACA
GCAGACTTACAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCT
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTA
AATACCGTCAAAGTGTTAACAGTTACTCTAACACTTGTTCTTCTTTAACAACAGAGT
TTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCAAGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTCC
ATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCC
CAATGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTCGGCTACGTATCATCGTCTTGGTGGGCTTTT
ATCTCACCAACTAACTAATACGGCGCGGGTCCATCCCAAAGTGATAGCAGAGCCAT
CTTTCAAGTTGGAACCATGCGGTTCCAATAATTATGCGGTATTAGCACTTGTTTCC
AAATGTTATCCCCCGCTTCGGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCAGTTCGCCAC
TCGCTCCGAATCCAAAAATCATTTATGCAAGCATAAAATCAATTTGGGAGAGCTCG
TTCGACTGCATGTATAGCACGCCCCGCCAGCTCCCCCTCAA

HD8 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

CCAGGACCGGGACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG
ACTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGACGTACTTTAAGAGAT
TCGCTTACCTTCACAGGTTTGCTGCTCGTTGTATACGCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGACCTGACGTCGTCCCCGCCTTCCTCCGGTTTGTC
ACCGGCAGTCTGTCTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAACATAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGGCCATGC
ACCACCTGTCACTTTGCTTCCGAAGAAGACAGCACTATCTCTAGTACCTTCAAAGG
ATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACC
GCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCA
GGCGGGATACTTAATGCGTTTGCTTCGTCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTAACAAC
TAGTATCCATCGTTTACGGTGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTACCCA
CACTTTCGAGCCTCAACGTCAGTTGCAGTCCAGTAAGCCGCCTTCGCCACTGGTGT
CTTCCATATATCTACGCATTCCACCGCTACACATGGAGTTCCACTTACCTCTACTGC
ACTCAAGTTGCCCAGTTTCCAAAGCCATTCCACAGTTGAGCTGTGGGCTTTCCTTC
AGACTTAAGCAACCGTCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTCG
GGACATACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTATTTAGCCGTCCCTTTCTGGTATGG
TACCGTCACTGTCTAAGCATTTCTCTTAAACCCGTTCTTCCCATAACAACAGTGCTTT
ACGACCCGAAAGCCTTCATCACACACGCGGCGTTGCTCCATCAGGCTTGCGCCCAT
TGTGGAAGATTCCCTACTGCAGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCA
ATGTGGCCGGTCAGTCTCTCAACTTGGCTATGCATCATCGTCTTGGTGAGCCTTTAC
CTCACCAACTAACTAATGCACCGCGAATCCATCTTAAAGCGCTGCAAACGCAGCTT
TTAACCTTAGTGCATGTGCACTTGGGTTTTATCCGGTATTAGTCACTGTTTCCAATG
GTTATCCCAGACTTTGAGGTAGGTTATTCACGTGTTACTCACCCGTTCCGCACTTAC
TTGGAAAATGCAAGCACTTCCGCTGTTCGTACGACTGCATGTATTAGCACGCCGCC
CAGCTTCCCCC

HD9 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TGTGGCACGCACATGATCACTCTAGTTGCGTGTTGATCTACGATTACTAGCGATTCC
AGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAATAATTTTATGGGA
TTTGCTTGACCTCGCGGGTTCGCTGCCCTTTGTATTATCCATTGTAGCACGTGTGTA
GCCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGT
CACCGGCAGTCAACCTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTT
GCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATG
CACCACCTGTCACTTTGTCCCCGAAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGCGATCAAA
GGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCA
CCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTGACTCCC
CAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACA
CTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGATCCC
CACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGCCGCCTTCGCCACTGGT
GTTCTCCATATCTCTGCGCATTTACACGCTACACATGGAATTCACCTCTCTCTTCT
GCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACA
TCAGACTTAAGAAACCGCCTACGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGATAACGCT
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTA
GGTACCGTCAAGACTTGTTCAGTTACTAACAAATTTGTTCTTCCCTAACAACAGAGT
TTTACGATCCTAAGACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGGCTTTCGCCC
ATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTC
CAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGTATCGTTGCCTTGGTAAGCCGTT
ACCTTACCAACTAGCTAATACGGCGCGGGTCCATCTATAAGTGACAGCCGAAACCG
TCTTTCAACATTGAACCATGCGGTTCAATATATTATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCC
CGGAGTTATCCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGC
TAACATCAGAGAAGCAAGCTTCTCATCTGTTGCTCGACTTGCGAAGGATACTCGT
CGACGACGGAACG

HD10 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TATGTGGCATGTCGCTGATCTGCTCTAGTATGCTTCATGATCCACGATTACTAGCGA
TTCCGACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTGT
GAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTG
TGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGT
TTATCACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGACCGAATCGCTGGCAACAAAGGATAA
GGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAG
CCATGCAGCACCTGTCTCACCGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAATTC
GCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAAACCACATGC
TCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTAC
TCCCCAGGCGGTGCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAA
CCTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCT
CCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCG
GTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCT
ACAAGACTCAAGCCTGCCAGTTTCAAATGCAGTTCCCAGGTTAAGCCCCGGGGATTT
CACATCTGACTTAACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAAC
GCTTGCACCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCT
GCGGGTAACGTCAATCGACGGGGTTATTAACCCCATCGCTTTCCTCCCCGCTGAAA
GTACTTTACAACCCGAAGGCTTTTTTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGC
GCCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCA
GTTCCAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATTGTCGCCTAGGTGGG
CCATTACCCCGCCTACTAGCTAATCCCATCTGGGTTTCATCCGATAGTGAGAGGCCCCG
AAGGTCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCCACCGTTTCCAGTGG
TTATCCCCCTCTATCGGGCAGATCCCCAGACATTACTACCCGTCCCCCACTCGTCA
CCCAAGAGCAAGCTCTCTGTGCTACCGTCCGACTGCTATGGTAGGCCGACGCACGG
TATCG

HD11 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

CCATGTCCGCGGACGTATTCATAGTATGCTTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCCG
ACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCACTTTGTGAGGT
CCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATC
ACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGACCGAATCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTT
GCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAGCCATG
CAGCACCTGTCTCAGCGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCGCTGG
ATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAAACCACATGCTCCAC
CGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTCCCC
AGGCGGTTCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACTCCTCAAGGGAACAACCTCC
AAGTCGACATCGTTTACGGCGTGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCA
CGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGGCCGCTTTCGCCACCCGGT
ATTCTCCAGATCTACTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTC
TACAAGACTCAAGCCTCCCAGTTTCAAATGCAGTTCCCAGGTAAAGCCCCGGGGATT
TCACATCTGACTTAACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAA
CGCTTGCACCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTC
TGCGGGTAACGTCAATCGACAGGGTTATTAACCGCATCGCCTTCCTCCCCGCTGAA
AGTACTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTT
GCGCCCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCT
CAGTTCCAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTG
GGCCATTACCCCGCATACTAGCTAATCCCATCTGGGTTCATCCGATAGTGAGAGGC
CCGAAGGTCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCCACCGTTTCCAG
TGGTTATCCCCCTCTATCGGGCAGATCCCCAGACATTACTCCCCTATCCCCACTCG
TCACCCAAGACCAAGCTCTCTGTGCTACCGTCCGACTGCTATGTGTAGGCCGACCG
CCCGCGTATCCCC

HD12 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TGGGCATGACGGGACGTATTCACCGTATGCATGCTGATCCACGATTACTAGTGATT
CCAACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGA
GATTAGCTTGACCTCGCGGTTTCGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTG
TAGCCCAGCTCATAAGGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTT
ATCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCCAACTAAATGCTGGCAACTAATAATAAGGG
TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCA
TGCACCACCTGTCATTCTGTCCCCGAAGGGAACGCCCAATCTCTTGGGTTGGCAGA
AGATGTCAAGAGCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCATCGAATTAAACCACATGCTCC
ACCACTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCC
CCAGGCGGAATACTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAAC
ACCTAGTATTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTAC
CCATGCTTTCGAGCCTTAGCGTCAGTAACAGACCAGAAAAGCCGCCTTCGCCACTGG
TGTTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTTTCCTCTTC
TGTA CTCAAGTTTTGTAGTTTCCACTGCACTTCCTCAGTTGAGCTGAGGGCTTTCAC
AGCAGACTTACAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGC
TTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTT
AAATACCGTCAAAGTGTTAACAGTTACTCTAACACTTGTTCTTCTTTAACAACAGAG
TTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTC
CATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTC
CCAATGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTCGGCTACGTATCATCGTCTTGGTGGGCTTT
TATCTCACCAACTAACTAATAACGGCGCGGGTCCATCCCAAAGTGATAGCAGAGCCA
TCTTTCAAGTTGGAACCATGCGGTTCCA ACTAATTATGCGGTATTAGCACTTGTTTC
CAAATGTTATCCCCCGCTTCGGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCAGTTCGCCA
CTCGCTCCGAATCCAAAAATCATTTATGCAAGCATAAAATCAATTTGGGAGAGCTC
GTTTCGACTTGCTATGTATTAGCACGCCGCCAGCTTGCCCC

HD13 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TCAATAGCTCCGGCGGCCTACACTGACCCTATACTATAACCCACAGTAAGAGCTTG
CTTCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGG
AGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAG
GAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCCAGATGGGATTAACCTTGTA
GGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCA
GCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCT
TCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCT
CATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCG
GTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCTGATAC
TGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACGAAGACTGAC
GCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAA
CGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAG
AACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTTTAGAGATGAGAAGGTGCCTTCG
GGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGG
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGG
AACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGT
CATCATGGCCCTTACGGCCAGGTCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAG
AAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATTGG
AGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCAGTATCACAATGTA
TACGATGAATCCCGACCCCCGCCTGCCCA

HD18 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

TAAGGCGATGTAGCATGATCAGCTCTAGTATTCTGCTGATCCGCGATTACTAGCGAT
TCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTATG
GGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTTGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGT
GTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTT
TGTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGG
GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACC
ATGCACCACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCTAG
AGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCC
ACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCC
CCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAAC
ACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCC
CCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGT
GTTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCACCTCTCCTCTTCT
GCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACA
TCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCT
TGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTA
GGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTTCTTCCCTAACAACAGAG
CTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTC
CATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTC
CCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCAT
TACCCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCGAAACC
GTCTTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAAGTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTC
CCGGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTACCCGTCCGCCG
CTAACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTCCGCTCGATTTGCGAAGATACGCATGA
CGGCCGGAACGC

HD20 izolatına ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

CCAGGGACGGGTACGTATCTCACTAGTATACATGCTGATCTACGATTACTAGCGAT
TCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAACAACCTTTATG
GGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTAGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGT
GTAGCCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTT
TGTCACCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGG
GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACC
ATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCCGAAGGGGAAGACTCTATCTCTAGAGCGGTC
AAAGGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCT
CCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA
CCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTA
ACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGAT
CCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACT
GGTGTTCTCCATATCTCTGCGCATTTACACCGCTACACATGGAATTCACCTTCTCT
TCTGCACTCAAGTTTTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTC
ACATCAGACTTAAAAAACCGCCTACGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGATAAC
GCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGA
TCAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTTACTTACACATTTGTTCTTCCCTGATAACAG
AGTTTTACGATCCGAAGACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGGCTTTCG
CCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAG
TTCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGTATCGTTGCCTTGGTAAGCC
GTTACCTTACCAACTAGCTAATACGGCGCGGATCCATCTATAAGTGACAGCAAAGC
CGCCTTTCCTATTGAACCATGCGGTTCAATATGTTATCCGGTATTAGCTCCGGTTT
CCCGAAGTTATCCCAGTCTTATAGGTAGGTTATCCACGTGTTACTACCCGTCCGCC
GCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTTATCTGTTGCTCGACTGCAGTATAGGCATC
GCCGCCAGGTAACGC

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

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

ÖĞRENİM DURUMU

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