

TEMMUZ 2019

Yüksek Lisans Tezi Biyoloji

BEKİR SİDDİK KURT

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GAZİANTEP İLİNİN ŞEHİTKÂMİL İLÇESİ
KÖYLERİNDEKİ GELENEKSEL YOĞURTLARDA MAYA
İZOLASYONU VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEKİR SİDDİK KURT

TEMMUZ 2019

**GAZİANTEP İLİNİN ŞEHİTKÂMİL İLÇESİ
KÖYLERİNDEKİ GELENEKSEL YOĞURTLARDA MAYA
İZOLASYONU VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman
Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ**

Bekir Sıddık KURT

Temmuz 2019



©2019 [Bekir Sıddık KURT]

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezin Adı : Gaziantep İlinin Şehitkâmil İlçesi Köylerindeki Geleneksel
Yoğurtlarda Maya İzolasyonu ve Moleküler
Karakterizasyonu

Öğrencinin Adı Soyadı : Bekir Sıddık KURT

Tez Savunma Tarihi : 15.07.2019

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Ahmet Necmeddin YAZICI
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof.Dr. FİLİZ ÖZBAŞ GERÇEKER
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

İmzası

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

.....

Prof. Dr Ekrem KİREÇCİ

.....

Doç.Dr. Işık Didem KARAGÖZ

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Bekir Sıddık KURT

ABSTRACT

YEAST ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF TRADITIONAL YOGHURT IN ŞEHİTKÂMİL DISTRICT VILLAGES OF GAZİANTEP PROVINCE

KURT, Bekir Sıddık

M.Sc. in Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

July 2019

70 pages

Yoghurt was first made by the Turks in Asia in the 8th century and was called "yogurut". There has been information in some works such as "Kutadgu Bilig" and "Divan Lugat-ı Türk" about the processing old yoghurt 1000 years ago in Turkish countries. For thousands of years traditional yoghurt production has been done using yogurts based on yogurts. As a result of the developments in science and technology, production has begun to be produced industrially with standardization. It has been suggested that the total size of the yogurt market together with 3 million tons home production per year. It is thought that the consumption of yogurt per capita in our country has been about 40 kg per year. In this study 36 samples of yoghurt were collected from 12 villages of Şehitkamil district and samples were distributed to MRS and M17 Agar media. After that, each sample was incubated for 72 hours at 37 - 42 ° C for the development of microorganisms. Fresh pure cultures were obtained. Appropriate DNA was isolated from pure cultures. The new generation sequence was characterized by 16s rRNA and 18s rRNA sequence analysis method. of 28 isolates 12 different yeast *Kluyveromyces marxianus / lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, 16 different strains of bacteria. *It is known that Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus hominis species are pathogenic bacteria of normal human flora element Acinetobacter variabilis Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, and Lactobacillus delbrueckii subsp. Significant results have been obtained in terms of determining the ability of bulgaricus species to make yogurt.*

Key Words: Yoghurt, MRS, M17, 16S rRNA, DNA

ÖZET

GAZİANTEP İLİNİN ŞEHİTKÂMİL İLÇESİ KÖYLERİNDEKİ GELENEKSEL YOĞURTLARDA MAYA İZOLASYONU VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

KURT,Bekir Sıddık

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Temmuz 2019

70 Sayfa

Yoğurt ilk defa 8. yüzyılda Asya’da Türkler tarafından yapılmış ve “yoğurut” olarak adlandırılmıştır. Türk ülkelerinde yoğurdun 1000 yıl önce işlendiğine dair “Kutadgu Bilig” ve “Divanı Lügat-ı Türk” gibi bazı eserlerde bilgiler vardır. Binlerce yıldır görgüye dayanılarak, bir önceki günün yoğurdu kullanılarak, geleneksel yoğurt üretimi yapılmıştır. Bilim ve teknolojiadaki gelişmelerin sonucunda, üretimde standardizasyonun sağlanması ile birlikte endüstriyel olarak üretilmeye başlanmıştır. Ev üretimi ile birlikte yoğurt pazarının toplam büyüklüğünün yıllık 3 milyon ton olduğu öne sürülmektedir. Buradan hareketle ülkemizde kişi başına yoğurt tüketiminin yılda ortalama 40 kg dolayında olduğu düşünülmektedir. Şehitkamil ilçesinin 12 köyünden 36 yoğurt örneği toplanmıştır örnekler dilüe edilerek, MRS ve M17 Agar besiyerlerine her örnekten ekim yapılmıştır Ardından mikroorganizmaların gelişimi için 37 °C’ ve 42 °C’ de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Taze saf kültürler elde edilmiştir. Saf kültürlerden uygun DNA izolasyon yapılmıştır. Yeni jenerasyon sekans ile 16s rRNA ve 18s rRNA dizilim analizi yöntemi ile karakterizasyonları yapılmıştır. 28 izolattan 12 farklı maya *Kluyveromyces marxianus/lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, 16 farklı bakteri türü *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter variabilis*, *Staphylococcus hominis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, olduğu tanımlanmıştır. *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus hominis* türlerinin normal insan flora elemanı *Acinetobacter variabilis*’in ise patojen bakteriler olduğu bilinmektedir Starter kültür olarak kullanılan *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* türlerinin yoğurt yapma yeteneklerinin saptanması açısından önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yoğurt, MRS, M17, 16S rRNA,DNA



“Çok kıymetli aileme”

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, aynı zamanda kişilik olarak ta bana çok şey katan Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, Sayın İbrahim Halil KILIÇ'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında benim engin bilgilerini paylaşmaktan çekinmeyen ve hep destek olan değerli hocam Doç. Dr Işık Didem KARAGÖZ' e teşekkürlerimi sunarım.

Örneklerin toplanmasında, preparasyonunda ve teşhislerinde desteklerini benden esirgemeyen değerli abim Öğr. Gör. İzzettin Güler ve değerli arkadaşlarım Sami Serhat TONUS'a ve MESUT ÇAY çok teşekkür ederim.

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimine (FEF. YLT.17.10 no'lu proje) teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince beni hep destekleyen ve güvenen çok sevdiğim sevgili eşim Burcu KURT ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ABSTRACT.....	v
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
SEMBOLLER LİSTESİ	xv
KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Yoğurt.....	1
1.2.Yoğurt Tarihi.....	3
1.2.1. Dünyada Yoğurt	3
1.2.2. Türkiye’de Yoğurt.....	4
1.3. Yoğurdun Oluşumu.....	6
1.3.1. Mayalar.....	13
1.3.2. YoğurttaMayalar.....	17
1.4. Mayaların Moleküler Yöntemlerle Tanınması.....	21
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	23
3. MATERYAL VE METOD.....	27
3.1. Yoğurt Örneklerinin Toplanması.....	27
3.2. Mikrobiyolojik Analizler:.....	27

3.2.1. MRS Agar.....	27
3.2.2. %10'luk Laktoz Çözeltisi Hazırlanması.....	28
3.2.3. M17 Agar.....	29
3.2.4. %2'lik Hidrojen Peroksit(H ₂ O ₂) Çözeltisi Hazırlanması.....	29
3.2.5. Gram Boyama Çözeltisi.....	30
3.2.6. Maya ve Lab İzolasyonu.....	30
3.2.7. Gram Boyama.....	31
3.2.8. Katalaz Testi.....	31
3.2.9. Gliserol.....	31
3.2.10. İzolatların Saklanması.....	31
3.3. LAB 16S rRNA Yöntemi İle Moleküler Tanımlanması.....	32
3.4. MALDI-TOF MS Yöntemi.....	34
4. BULGULAR.....	36
4.1. Dilüsyon ve Ekimler.....	36
4.2. Gram Boyama.....	36
4.3. Katalaz Testi.....	36
4.4. MALDI-TOF MS Yöntemi.....	37
4.5. LAB 16S rRNA Gen Bölgesi Dizi Analizi Yöntemi İle Tanımlanması.....	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	58
6. KAYNAKLAR.....	59
EKLER.....	64

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1 MRS Agar Bileşimi.....	28
Tablo 2.2 M17 Agar Bileşimi.....	29
Tablo 3.1 Katalaz Test Sonuçları.....	37
Tablo 3.2 MALDI-TOF MS Sonuçları.....	38
Tablo 3.3 16S rRNA Gen Bölgesi Moleküler Tanımlama Sonuçları.....	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1	Türkiye’de süt ürünlerinin 2011-2016 yılları arasındaki yoğurt üretim..5
Şekil 1.2	Türk Gıda Kodeksi’nde Yoğurt Sınıfları ve Yağ Oranları6
Şekil 1.3	Yoğurt Üretiminde Kullanılan Bakterilerin Bazı Özellikleri9
Şekil 1.4	Homofermantatif Laktik Asit bakterilerinin Laktoz Metabolizması için Emden-Meyerhoff-Parnas Reaksiyon Zincir Yolu10
Şekil 1.5	Streptococcus thermophilus’da Asetaldehit Üretimi.....12
Şekil 3.1	Yoğurt örneklerinin toplandığı köylerin haritası.....27
Şekil 3.2	İzolatların Moleküler Tanımlanmasında İzlenen Aşamalar32
Şekil 4.1	Katalaz Testi Yapılışı36
Şekil 4.2	Streptococcus thermophilus MALDI-TOF kütle spektrometresi40
Şekil 4.3	Lactobacillus delbrueckii MALDI-TOF kütle spektrometresi40
Şekil 4.4	1M (akM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği42
Şekil 4.5	2M (açM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği43
Şekil 4.6	3M (köM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği44
Şekil 4.7	4M (yğM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği44
Şekil 4.8	5M (byM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği45
Şekil 4.9	6M (acM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği46

Şekil 4.10	7M (yaM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği	46
Şekil 4.11	8M (baM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği	47
Şekil 4.12	9M (övM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği	47
Şekil 4.13	10M (ylM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği	48
Şekil 4.14	11M (beM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	48
Şekil 4.15	12M (güM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği	49
Şekil 4.16	1K (akK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği	49
Şekil 4.17	3K (köK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	50
Şekil 4.18	4K (yğK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	50
Şekil 4.19	6K (acK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	51
Şekil 4.20	7K (yaK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	51
Şekil 4.21	8K (baK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	52
Şekil 4.22	10K (ylK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	52
Şekil 4.23	11K (beK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	53
Şekil 4.24	12K (güK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	53
Şekil 4.25	1B (akB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	54
Şekil 4.26	3B (akB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	54
Şekil 4.27	6B (acB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	55
Şekil 4.28	7B (yaB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	55
Şekil 4.29	9B (övB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....	56

Şekil 4.30 10B (ylB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği.....56

Şekil 4.31 12B (güB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği57



SEMBOLLER LİSTESİ

H₂O₂	Hidrojen Peroksit
NaCl	Sodyum Klorür
m/z	Kütle / Yük
mL	Mililitre
kob/ml	Koloni Oluşturan Birim/ Mililitre
µl:	Mikrolitre
g:	Gram
L:	Litre

KISALTMALAR LİSTESİ

LAB	Laktik Asit Bakterileri
MRS	De-man, Rogosa And Sharpe
MALDI-TOF	Matriks Assisted Lazer Desorption Ionization Time of Flight
UHT	Ultra High Temperature
YSB	Yağsız Süt Besiyeri
rRNA	Ribozomal Ribo Nükleik Asit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1Yoğurt

Türklerin bir buluşu olan yoğurt, Anadolu topraklarına Orta Asya'dan Türkler ile gelmiştir ve daha sonra Rumeli'ye ve Avrupa ülkelerine yayılmıştır. Türklerin yaşadığı yerler dışında önce Türk egemenliği ve Türk kültürü etkisi altında kalan ülkelerde bilinen yoğurt, daha sonra zamanla diğer ülkelere de yayılmıştır. Bu da yine Türkler tarafından gerçekleştirilmiştir. Yoğurt diğer ülkelerde genellikle son yüzyıl içinde tanınmış ve tüketimi hızla artış göstermiştir. (Yaygın, 1999).

Yoğurt ilk defa 8. yüzyılda Asya'da Türkler tarafından yapılmış ve “yogurut” olarak adlandırılmıştır. Türk ülkelerinde yoğurdun 1000 yıl önce işlendiğine dair “Kutadgu Bilig” ve “Divanı Lügat-ı Türk” gibi bazı eserlerde bilgiler vardır (Tamime and Robinson 1988).

Binlerce yıldır görgüye dayanılarak, bir önceki günün yoğurdu kullanılarak, geleneksel yoğurt üretimi yapılmıştır (Yöney 1979 - Ünsal 2007). Bilim ve teknolojiye gelişmelerin sonucunda, üretimde standardizasyonun sağlanması ile birlikte endüstriyel olarak üretilmeye başlanmıştır. Yoğurt, süte benzer kimyasal bileşenler içermekle birlikte, üretim sırasında süte uygulanan işlemlerden ve yoğurt bakterilerinin gerçekleştirdiği laktik asit fermantasyonu sonucu meydana gelen değişimlerden kaynaklanan farklılıklar göstermektedir (Çağlar ve Çakmakçı 1995).

Yoğurdun pH seviyesinin düşük, mayaların ise organik asitleri kullanabilme, laktozu fermente edebilme yetenekleri yanında yüksek proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip olmaları, yoğurdu maya gelişimi için selektif bir ortam haline getirdiği belirtilmektedir (Alvarez-Martin vd 2007, Lourens-Hatting 2002) .

Mayaların aşırı miktarda gaz oluşturarak yoğurt kaplarında şişmeye, yoğurtta ise lezzet kaybına ve tekstür kalitesinde azalmaya neden olmaları, yoğurt üretiminde istenmeyen bir durumdur (Mayoral vd 2005, Viljoen, 2003).

Buna karşın, yoğurdun doğal florasından izole edilen bir takım maya türlerinin probiyotik özelliğe sahip olduğu, bazı patojenlerin gelişmesini engellediği ve yoğurt bakterileri ile pozitif etkileşim içerisinde oldukların belirlenmiştir. Bu maya türleri kullanılarak klasik yoğurt dışında bioyoğurt üretimi yapılmaktadır (Özer 2006 , Alvarez-Martin vd 2007, Cosentino vd 2001).

Türkiye’de, geleneksel usullerle üretilen yoğurtların genellikle yüksek düzeyde maya-küf sayısına sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Tayar vd 1993, Ocak 1996). Buna karşın, bu mikroorganizmaları tanımlamaya yönelik çalışmalar ise sınırlıdır (Özden 2008).

Geleneksel yoğurtlardaki maya içeriğinin tanımlanması, bu yoğurtların kalitesinin ve raf ömrünün artırılması için yapılacak çalışmalara kaynaklık edeceği gibi probiyotik özellik taşıyabilecek bioyoğurtlar üretilmesi için bir temel basamağı oluşturmaktadır. Bu çalışmada,Gaziantep ili Şehitkâmil ilçesinin köylerinde geleneksel olarak üretilen yoğurtlarda bulunabilecek maya türlerini izolasyonu ve moleküler karakterizasyon amaçlamaktadır.

1.2. Yoğurdun Tarihi

Yoğurdun bir Türk buluşu olduğu ve binlerce yıldır Türk kültüründen etkilenmiş bölgelerde üretildiği arkeolog ve tarihçilerin bulguları ışığında ispat edilmiştir. M.S. 8. yüzyılda Türk topluluklarında yoğurt ifadesinin kullanıldığı, M.S. 11. Yüzyılda yazılan “Divan-ı Lügat-ı Türk” ve “Kutatgu Bilig” adlı eserlerde ise yoğurt kelimesinin bugünkü manada kullanıldığı, Oğuzlar, Selçuklular ve Osmanlılar’ın hüküm sürdükleri bölgelere kültürleri ile birlikte yoğurdu da taşımış oldukları bildirilmektedir (Özden 2008).

16. yüzyılda Kanuni Sultan Süleyman tarafından Fransa Kralı I. Fransuva’nın mide bağırsak hastalığının tedavisi için gönderilen Osmanlı hekimi aracılığıyla Avrupa’ya ulaşmış ve yayılmıştır (Özden 2008, Tamime 1980). Avrupa’dan sonra Amerika kıtasına yayılması birkaç yüzyıl sonrasına rastlamaktadır. Yoğurdun dünyanın her tarafında tanınan bir ürün olmasında, Metchnikoff’un yoğurt tüketen insanların yaşam sürelerinin daha uzun olacağı yönünde ileri sürdüğü hipotezin etkili olduğu bildirilmiştir (Tamime and Robinson 1999).

II. Dünya savaşından sonra yoğurdun endüstriyel üretimine yönelik Danone adında ilk yoğurt fabrikası kurulmuş, kitlelerin ihtiyacını karşılamak amacıyla seri yoğurt üretilmeye başlanmıştır (Kurt. 1995,Yöney 1979).

21. 20. yüzyılın ortasından itibaren ise üretilen meyveli yoğurtlar ve yoğurt dondurması gibi ürünler yardımıyla, yoğurt başta Avrupa ve Kuzey Amerika olmak üzere bütün dünyada yaygınlık kazanmıştır (Tamime 1980, Özer 2006, Özden 2008).

1.2.1. Dünyada Yoğurt

Dünyada yoğurdun, 400’den fazla çeşidi ve türevi bulunmaktadır. Yoğurt ve benzeri süt ürünleri, Türkistan’da busa, Balkanlarda yaourt, Lübnan’da leben, Hindistan’da dahi, Mısır’da zabady, İtalya’da cieddu, Rusya’da donskaya, diğer ülkelerde yogurt veya yoghurt sözcükleri ile ifade edilmektedir. Dünyada yoğurt tüketiminin giderek artan bir eğilim gösterdiği belirtilmektedir (Özer 2006). Son verilere göre yıllık tüketimin, Avrupa’da 14,02, Asya’da 9,02, Amerika’da 4,48 ve Güney Afrika’da 0,29 milyon ton olduğu bildirilmektedir (Anonim. 2010) .

1.2.2. Türkiye’de Yoğurt

Türkiye’de ev şartlarında yoğurt üretimi yaygın bir şekilde yapıldığından istatistiksel olarak gerçek anlamda yoğurt tüketimi verilerine ulaşmak mümkün olmamaktadır. Geleneksel yoğurt üretimini yoğurda işlenecek sütün orijinal hacminin yaklaşık 1/3’ünü kaybedinceye kadar kaynatılması, vücut sıcaklığına kadar soğutulması, bir önceki günden kalan yoğurttan veya bu yoğurdun sulandırılması ile mayalanma işleminin yapılması ve soğutma işlemlerinin yapılması ile yoğurt oluşumunun sağlandığı belirtilmektedir (Yöney 1979, Özer 2006).

Türkiye’de bölgeye göre değişen ve çoğu kez yoğurdun raf ömrünü uzatmaya yönelik işlemler sonucu torba yoğurdu, kış yoğurdu, pesküten, kışk ve kurut gibi birçok yoğurt çeşidi üretilmektedir (Ünsal 2007). Yoğurt, asidik özelliğinden kaynaklanan uzun bir raf ömrüne sahip ise de, uygun olmayan şartlarda depolanması halinde kısa sürede doğal niteliğini kaybedebildiği için dayanımının artırılması amacıyla değişik teknikler geliştirilmiştir (Özer 2006).

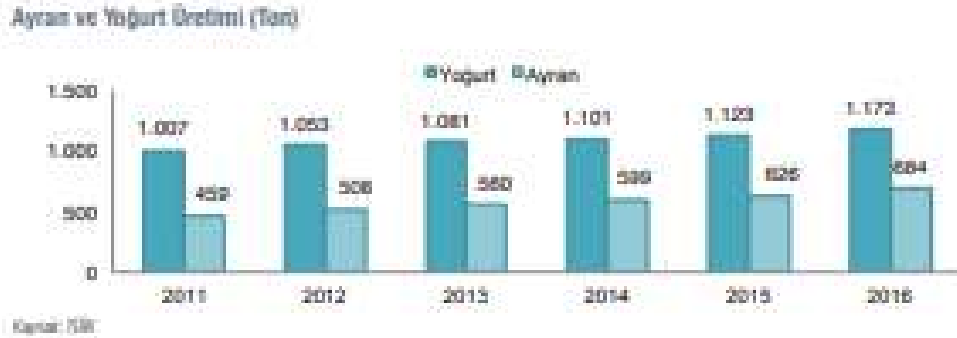
Bu teknikler içerisinde bilinen en eski yöntem süzme işlemi ile koyulaştırmadır. Bu işlem ile üretilen, yoğurda göre daha asidik, kuru madde oranı yüksek ve bir yoğunlaştırılmış yoğurt çeşidi olan süzme veya torba yoğurtlar, ilk kez göçebe Türk kavimleri tarafından üretildiği bildirilmektedir. Türkiye’nin bütün bölgelerinde yoğurdun raf ömrünü uzatmak amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Uysal 1993 - Tekinşen ve Bayar 2008). Torba içerisinde süzülen yoğurtlara %1-3,50 oranında tuz ilave edilerek üretilen, bir başka yoğunlaştırılmış yoğurt çeşidi olan kış yoğurdu, Van, Hatay, Sivas illeri ile Akdeniz Bölgesinin bazı illerinde üretilmektedir (Gönç ve Oktar 1973 - Kaptan 1986).

Yoğurdun yayıklandıktan sonra geriye kalan ayran kısmını bir miktar buğday tanesi ile ısıttıktan sonra, oluşan pıhtıyı bez torbada süzüp üzerine don yağı ilave edilmesiyle elde edilen bir diğer konsantre yoğurt çeşidi olan pesküten, genellikle İç Anadolu Bölgesinde üretilmektedir (Kurt and Çağlar 1988).

Yoğurdun yulaf veya kırık buğday ile karıştırılıp kaynatılması ve parçalar halinde güneşte kurutulması ile elde edilen, kurutulmuş bir başka yoğurt çeşidi kishk'dir (Tofeili vd 1999, Tamime vd 2000).

Türkiye'nin Denizli yöresinde ve Karadeniz Bölgesinde “keş” adıyla anılan yağı alınmış yoğurdun torbada süzülmesi ile elde edilen pıhtıya, bir miktar tuz katıp yoğurduktan sonra 20-60 gram ağırlığında parçacıklara ayırmayı müteakip 1-2 hafta güneşte kurutmakla elde edilen farklı bir diğer yoğurt çeşidi kuruttur (Tarakçı vd 2001, Patır vd 2002).

Türkiye’de geleneksel yoğurt üretiminin yanında yoğurt starter kültürlerin kullanıldığı modern üretim tesislerinde endüstriyel ölçekte yoğurt üretimi giderek artmaktadır (Tamime vd 1999). Türkiye’de son yıllarda üretilen tahmini yoğurt miktarı, 1 milyon tondan fazladır.



Şekil 1.1 Türkiye’de süt ürünlerinin 2011-2016 yılları arasındaki yoğurt üretimi (1000t)

Endüstriyel üretime geçişle birlikte, yoğurdun tanımı yapılmış ve yoğurda bir standardizasyon getirilmiştir. Türk Gıda Kodeksi’nde yoğurt, sütün *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin laktik asit fermentasyonu sonucu meydana gelen koagüle bir süt ürünü olarak, Türk Standartlar Enstitüsü’nün (TSE) 1330 sayılı Yoğurt Standardı’nda ise “Çiğ süt veya pastörize süt standartlarına uygun, tercihen homojenize edilmiş sütlerin *S.thermophilus* ve *L.bulgaricus*’un etkisiyle laktik asit fermentasyonu sonucu elde edilen ve yoğurt kültürlerini canlı olarak içeren fermente bir süt ürünüdür” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonim. 2005, 2006).

Türk Gıda Kodeksi, Fermente Sütler Tebliği'nde tüm yoğurt sınıfları için protein oranı, en az %3 olacak şekilde verilmektedir. Yüzde süt yağı oranı, tam yağlı yoğurtta %3,80 veya daha fazla, yarım yağlı yoğurtta %1,50 veya daha fazla, yağsız yoğurtta %0,50 veya daha az olarak, yağlı yoğurtta ise tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız yoğurt sınıfları dışında kalan süt yağına sahip olacak şekilde düzenlenmiştir (Şekil 2). Titre edilebilir asitlik oranı yüzde laktik asit cinsinden tüm yoğurt sınıfları için en az %0,60 ve en çok %1,50 olacak şekilde belirlenmiştir. Yoğurdun starter kültür bakteri sayısı her iki yoğurt bakteri sayısı toplamı en az 107 kob/g olacak şekilde düzenlenmiştir. Yoğurtta bulunmasına müsaade edilen en yüksek koliform grubu bakteri sayısı 9 EMS/g, en yüksek maya/küf sayısı ise 1×10^2 kob/g olarak belirlenmiştir (Anonim. 2009)

Yoğurt Sınıfı	Yağ oranı (%)
Tam yağlı	Süt yağı $\geq 3,80$
Yağlı	Tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız yoğurt sınıfları dışında kalan süt yağı
Yarım yağlı	$2 > \text{Süt Yağı} \geq 1,50$
Yağsız	Süt yağı $\leq 0,50$

Şekil 1.2. Türk Gıda Kodeksi'nde yoğurt sınıfları ve yağ oranları(Tekinşen2005).

Yoğurt Standardı'nda, tüm yoğurt sınıfları için yüzde protein oranı Gıda Kodeksi, Fermente Sütler Tebliği'nde düzenlendiği şekliyle verilmektedir. Yüzde yağ oranı ise tam yağlı yoğurtta en az %3,80, yağlı yoğurtta en az %3, yarım yağlı yoğurtta en az %1,50, az yağlı yoğurtta en çok %1,50 ve yağsız yoğurtta en çok %0,15 olmalıdır. Yüzde yağsız kuru madde oranının en az %12, titre edilebilir asitlik oranının ise yüzde laktik asit cinsinden en az %0,60 ve en çok %1,60 olması istenmektedir. Yoğurtta bulunmasına izin verilen en yüksek koliform grubu bakteri sayısı Gıda Kodeksi, Fermente Sütler Tebliği'nde düzenlendiği şekliyle verilirken, en yüksek maya/küf sayısı 1×10^1 kob/g olarak standardize edilmiştir (Anonim. 2006).

1.3 Yoğurdun Oluşumu

Yoğurda işlenecek süte uygulanan ısıl işlemin, sütün Eh (redoks potansiyeli) ve pH değerlerinde, oksijen miktarında, inhibitör bileşiklerin (lakteninler, laktoperoksidaz tiyosiyanat sistemi, aglütinler, lizozim) aktivitelerinde azalma oluşturduğu, yoğurt kültür bakterilerinin üremeleri için ortamı elverişli hale getirdiği, sütte bulunabilenecek patojenlerin vejetatif şekilleri ile bakteriyofajları etkisizleştirdiği bildirilmektedir (Tekinşen 2005). Isıl işlemin aynı zamanda yoğurdun tekstürel açıdan uygun özelliklere sahip olmasına yardımcı olduğu belirtilmektedir. Sütün 70°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıtılması sonucunda, serum proteinlerinde yapısal değişimlerin meydana geldiği uzun yıllardır bilinmektedir. Serum proteinleri, kazeinlerde olduğu gibi kovalent bağlar ile stabilize edilen primer yapının yanı sıra kazeinlerde bulunmayan sekonder ve tersiyer yapıları da sahip olduğundan globuler proteinler olarak adlandırılmaktadır. Başta β -laktoglobulin (beta-laktoglobulin) olmak üzere ısıya duyarlı tüm serum proteinlerinin (proteoz pepton hariç) sekonder ve tersiyer yapılarını stabilize eden interaksiyon kuvvetleri ısı etkisi ile kırılmakta, dolayısıyla globuler yapı doğal niteliğini kaybetmektedir. Bu olaya serum proteinlerinin ısı denatürasyonu adı verilmektedir. Isı denatürasyonunun yeterli düzeyde sağlanamaması durumunda, proteinler arası interaksiyonlar tamamlanamadığından yoğurt matriksinin tam oluşmadığı, elde edilen pıhtının zayıf karakterde olduğu ve serum ayrılması olasılığının arttığı bildirilmektedir (Tekinşen 2005).

Bu gerekçe ile yoğurt üretiminde kullanılan sütler, klasik pastörizasyon sıcaklıklarından daha yukarı sıcaklık ve sürelerde (80°C'de 30 dk; 85°C'de 20 dk veya 90°C'de 5 dk) ısıl işleme tabi tutulmaktadır^{6,46}. Böylece, bakteriyolojik kalitesi iyi ve tüketim güvenirliliği en üst seviyede yoğurt elde edildiği belirtilmektedir. Sütün yoğurda dönüşümü *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* bakterilerinin oluşturdukları biyokimyasal prosesler yoluyla gerçekleşmektedir (Tekinşen 2005).

S.thermophilus; Gram-pozitif, hareketsiz, anaerobik, homofermantatif ve katalaz negatif bir bakteridir. Gelişimi için süt iyi bir ortamdır. 60oC'de 30 dakika süren ısıl işlemde canlı kalabilir. Isıya toleranslığı *L.bulgaricus*'dan daha fazladır. 10oC'de gelişemez. Optimum gelişme sıcaklığı 37oC olmasına rağmen, 43oC'deki yoğurdun

inkübasyon sıcaklığında *L.bulgaricus* ile birlikteliğinde çok iyi geliştiği, glukozu, früktozu, mannozu, sakkarozu ve laktozu, bazı suşlarının ise galaktozu fermente edebildiği belirtilmiştir (Okur ÖD. 2005). %0,7-0,8 oranında ağırlıklı olarak L(+) laktik asit, asetaldehit, diasetil üretebildiği, proteolitik kapasitesi zayıf olduğu için yoğurdun fermantasyonu esnasında gelişimi için azot kaynağı olarak sütte bulunan serbest amino asitleri ve B vitaminini kullandığı belirtilmektedir (Tekinşen 2005, Özer 2006).

L.bulgaricus Gram-pozitif, hareketsiz, katalaz negatif bir mikroorganizmadır. Anaerobik/aerotolerant homofermentatif olan organizmanın D (-) laktik asit ve az miktarda hidrojen peroksit üretebildiği bildirilmiştir. Optimum gelişme sıcaklığı 45oC olmakla beraber, yoğurt üretiminde inkübasyon sıcaklığı *S.thermophilus*'un gelişim sıcaklığına ayarlandığı için 42-43oC'de geliştiği, laktozu, glukozu, früktozu kullanabildiği, bazı suşlarının ise galaktozu kullanarak %1,8 gibi çok yüksek seviyelerde D (-) laktik asit ürettiği belirtilmektedir. Ayrıca, düşük pH seviyelerini *S.thermophilus*'dan çok daha iyi tolere edebildiği ve hücre zarına bağlı proteinazları ile kazeini özellikle β -kazeini peptitlere hidrolize edebildiği fakat üretilen peptitlerin serbest amino asitlere dönüşümde *S.thermophilus*'un sahip olduğu peptidaz aktivitesine bağımlı olduğu belirtilmektedir. Şekil 3'te yoğurt starter bakterilerinin bazı özellikleri verilmiştir. Yoğurdun oluşumunda en önemli işlem basamaklarından biri inkübasyon işlemidir. Yoğurdun kendine özgü lezzeti ve tekstürel özelliklerinin bu işlemin başarısı ile doğrudan ilişkili olduğu belirtilmektedir. Sıcaklığı 40-45°C olan süte, *S.thermophilus* ve *L.bulgaricus*'un tek suşlarının 1/1 oranındaki karışımının %2-3 oranında veya taze yoğurdun %5 oranında inoküle edilmesi inkübasyon işlemi başlar (Vedamuthu 2005).

İnkübasyon esnasında yoğurt bakteri kültürlerinin simbiyotik bir ilişki gösterdikleri, birbirlerinin metabolizma ürünlerini kullanarak asit oluşturma etkinliklerini artırdıkları belirtilmektedir (Vedamuthu 2005). İlk önce daha fazla proteolitik enzim aktivitesine sahip olan *L.bulgaricus*'un ürettiği, kazeini hidrolize ederek *S.thermophilus* için büyüme faktörü olan valin, histidin ve glisin gibi bazı serbest amino asitleri oluşturduğu, oluşan bu aminoasitleri ise *S.thermophilus*'un kullanarak üremesini hızlandırdığı bildirilmektedir(Vedamuthu 2005).

S.thermophilus sütte bulunan laktozu, hücre zarında yerleşik olan galaktozid permeaz enzimi yardımıyla hücre zarından içeri alır. Laktoz, hücre içinde mevcut olan β -galaktosidaz enzimleriyle hidrolize edilir. Laktozun parçalanması ile oluşan glukoz Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yoluyla pirüvata dönüştürülür. Pirüvat, daha sonra

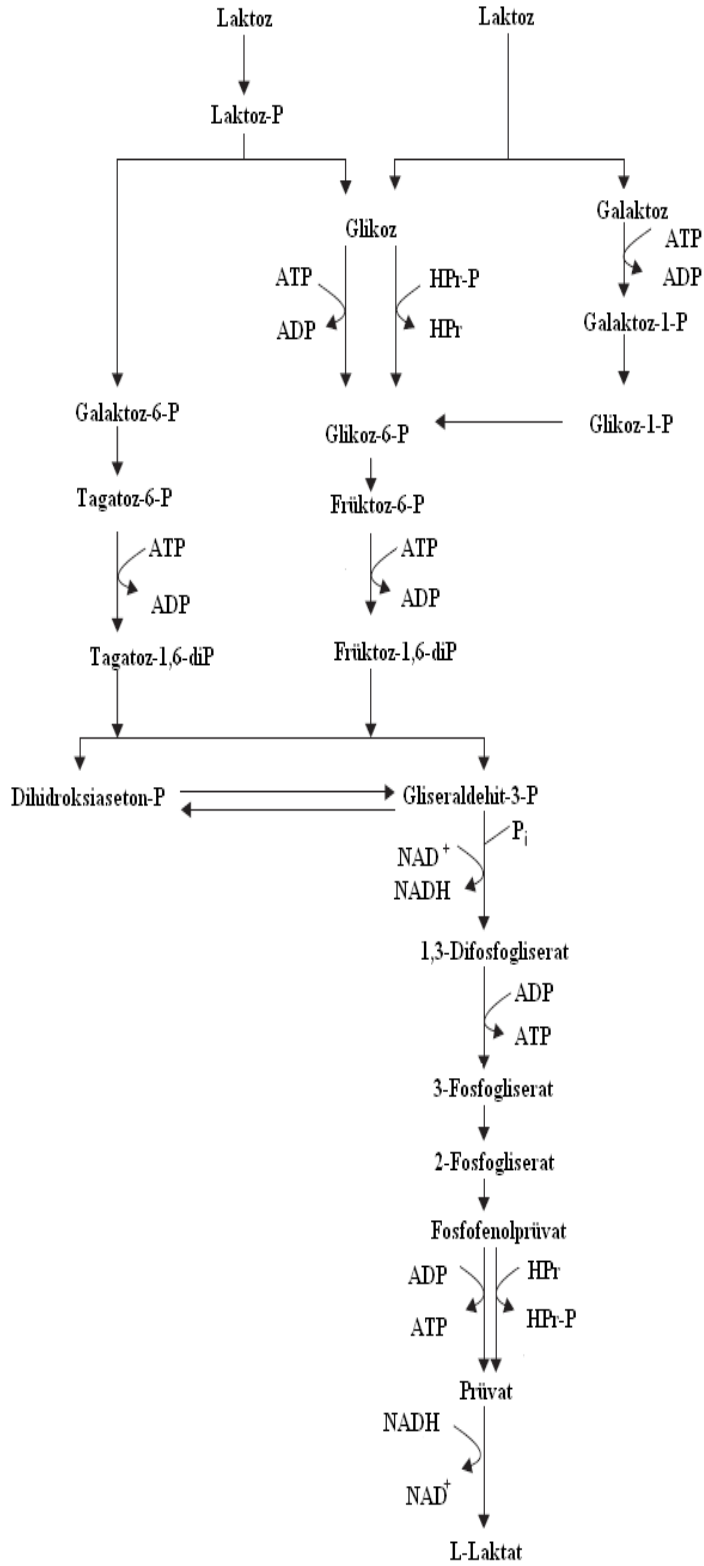
laktik dehidrogenaz enzimiyle laktik aside metabolize edilir. Şekil 4’de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yoluyla laktozun pirüvata ve laktik aside metabolize edilmesi

gösterilmiştir (Vedamuthu 2005).

S. thermophilus’un fermantasyon ortamının pH’sı 5,50’nin altına düşünceye kadar ürettiği bu arada serbest amino asit, karbondioksit, formik asit oluşturduğu belirtilmektedir(Tekinşen2005).

Özellik	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Hücre şekli ve Konfigürasyonu	Küresimsi, ovoid çiftler veya zincirler	Uçları yuvarlak, tek, kısa zincirli, metakromatik granüller
Gelişim Sıcaklığı (°C)		
Minimum	20	22
Maximum	50	52
Optimum	40-45	40-45
İnkübasyon Sıcaklığı (°C)	40-45	42
Isıya Toleranslık (60 °C’de 30 dakika)	++	+
Sütte laktik asit üretimi	%0,7-0,8	%1,8
Laktik asit izomerleri	L (+)	D (-)
Asetik Asit	İz miktarda	İz miktarda
Proteolitik aktivite	+/-	+
Lipolitik Aktivite	+/-	+/-
Sitrat fermantasyonu	-	-

Şekil 1.3 Yoğurt üretiminde kullanılan bakterilerin bazı özellikleri (Vedamuthu 2005).



Şekil 1.4 Homofermantatif laktik asit bakterilerinin laktöz metabolizması için embden-meyerhoff-parnas reaksiyon zincir yolu(Vedamuthu 2005).

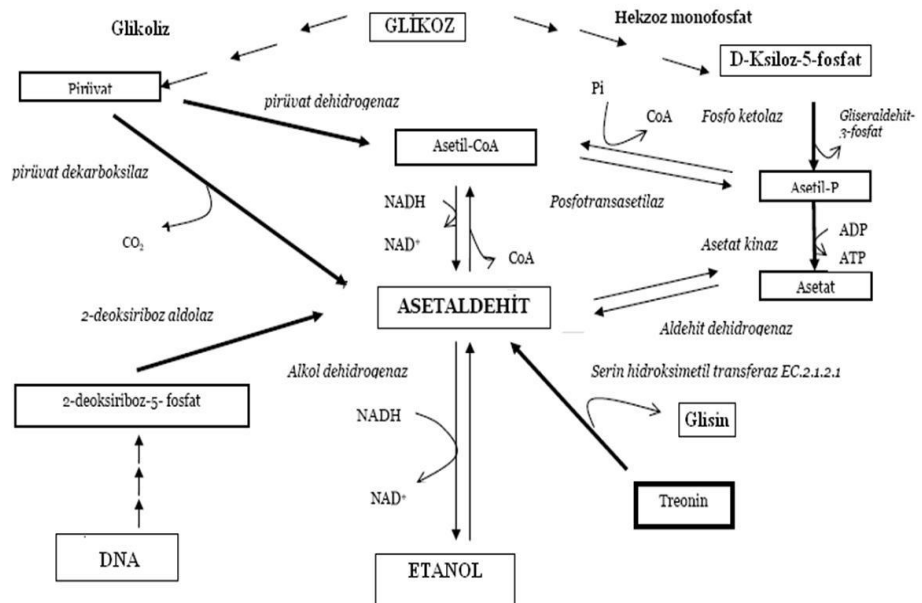
Yoğurt starter kültürlerinin oluşturduğu asiditenin etkisiyle pH 5,20-5,30'da kalsiyum-kazeinat-fosfat kompleksinin stabilizasyonun bozulduğu, kazeinlerde pıhtılaşmanın başladığı, destabilizasyon esnasında serbest kalan hidrojen iyonlarının protein moleküllerindeki bazik grup (-NH₂) tarafından tutulduğu, misellere bağlı olan kolloidal kalsiyum fosfatın ise miselden ayrılarak sütün serum fazına geçtiği ve bu geçişin pH 5-5,10 dolayında tamamlandığı belirtilmektedir. Fermantasyon ortamının asitliği yaklaşık olarak %0,6 (yüzde laktik asit) olduğunda, *S.thermophilus* ile *L.bulgaricus*'un birbirine oranı 4/1 olur. Oluşturulan fazla serbest amino asitlerin ve laktik asidin etkisiyle *S.thermophilus*'un üremesi yavaşlar. Ortamda bulunan formik asit ve karbondioksitin etkisiyle *L.bulgaricus*'un üremesi hızlanır ve ortama hakim olmaya başlar (Tekinşen 2005, Özer 2006).

Asitlik artışına bağlı olarak pH 4,60-4,70'de (kazeinin izoelektrik noktası) kazein bağlı tuzlarından serbest hale geçer ve moleküllerdeki negatif ve pozitif yükler (-COO⁻ ve NH₃⁺) eşit (toplam net elektrik yükü sıfır) olur. Moleküllerdeki yüklü gruplar, normal sütteki gibi birbirlerini itemezler; aksine bir moleküldeki pozitif yükler yakın molekülün negatif yükleriyle birleşerek protein kümelerinin oluşumuna ve sütün pıhtılaşmasına yol açarlar. Bu arada sütün serum fazında serbest halde bulunan kalsiyum çoğunlukla laktik asitle birleşerek kalsiyum laktatı oluşturur. Kazeinin pıhtılaşmasının büyük ölçüde tamamlanmasına bağlı olarak kazein partiküllerinin kümeleşmesi sonucu, misellerin büyüklüğü artar. Daha sonrada bu kümeler iplik şeklini alır (Tekinşen 2005, Özer 2006).

L.bulgaricus ortamın pH seviyesi 4,20-4,30 oluncaya kadar ürer, asidite %0,9 olduğunda ise yoğurt bakterilerinin birbirine oranının 1/1 olur (Tekinşen 2005). Oluşan yoğurt pıhtısı, ısı ile indüklenmiş zayıf vizkoelastik özellik gösteren bir asit-kazein jeli olarak tanımlanmıştır. Pıhtının kimyasal yapısı, süte uygulanan ısıl işleminden ve inkübasyon esnasındaki asitlik gelişiminden önemli ölçüde etkilenir. Süt proteinleri arasındaki etkileşimlerin çeşidi, şiddeti ve stabiliteleri yoğurt pıhtısının fiziksel özelliklerinin belirlenmesinde etkili olmaktadır. Yoğurdun fiziksel yapısı, proteinlerin pıhtılaşmasıyla oluşan bir ağ biçimindedir. Bu yapının içinde yağ globülleri, çözünmüş bileşikler ve su molekülleri bulunmaktadır (Vedamuthu 2005, Özer, vd 2010).

Yoğurt bakterilerinin metabolik aktivitelerinin bir sonucu olarak temel aroma bileşeni olan asetaldehit oluştuğu bildirilmektedir. Asetaldehit, başta glukoz olmak üzere treonin, metiyonin, etanol ve nükleik asitlerden sentezlenmektedir. Asetaldehidin yoğurtta ulaşabileceği maksimum konsantrasyon, sütte bulunan bu bileşiklerin birtakım enzimlerle asetaldehide katabolize edilmesine bağlıdır. Önemli düzeyde pH değerine bağlı olan asetaldehit üretiminin, pH 5'te başlayarak, pH 4'te sonlandığı bildirilmektedir (Zourari vd 1992).

Şekil 5'de *S.thermophilus*'da asetaldehit oluşumuna neden olan metabolik yollar50 gösterilmiştir. Glukozdan asetaldehit sentezi iki ayrı metabolik yol ile gerçekleşmektedir (Şekil 1,5). Bu metabolik yollardan biri, Embden-Meyerhoff-Parnas yolu ile oluşan pirüvatın alfa-dekarboksilaz enzimi aracılığıyla asetaldehide katalize edilmesi veya bu yol ile oluşan pirüvatın, pirüvat dehidrogenaz enzimi ile asetil-CoA'ya, asetil-CoA'nın da aldehit dehidrogenaz enzimi ile asetaldehide indirgenmesidir. Diğer metabolik yol ise Heksoz monofosfat yolunda oluşan asetilfosfatın, fosfotransasetilaz enziminin aktivitesi ile asetata katalize edilmesi, yoğurt bakterilerinin sentezledikleri asetat kinaz enzimi ile asetat oluşması ve ileri metabolik aşamalarda asetatin asetaldehide dönüştürülmesidir (Tamime vd 1999, Özer 2006).



Şekil 1.5 *Streptococcus thermophilus*'da Asetaldehit üretimi (Say 2001)

1.3.1. Mayalar

Mayalar, fungusların Ascomycetes ve Basidiomycetes sınıfına ait ökaryotik, heterotrof, tek hücreli mikroorganizmalardır. Hücre büyüklüğü, hücre yapısı ve metabolik aktiviteleri yönünden diğer mikroorganizmalardan önemli farklılıklar göstermektedirler. Genellikle yuvarlak, silindirik, oval ya da limon şeklinde kendilerine özgü hücre yapısına sahiptirler. Mayaların saf kültürlerinde, üreme ortamına ve kültür yaşına bağlı olarak farklı şekil veya boyutlara sahip hücrelere rastlanabilmektedir. Ascomycetes sınıfında bulunan mayalar belirli şartlar altında hücre içinde askospor oluştururken, Basidiomycetes sınıfındakiler hücre dışında basidiospor şekillendirirler (Jacques 2008, Kurtzman 1998). Mayalar askospor veya basidiospor oluşturmakla sonlanan eşeyli üreme gösterirler. Haploid kromozomlara sahip iki maya hücresinin bir araya gelmesi (plazmogami), haploid nükleusların füzyonu (karyogami) ve mayoz bölünme ile çekirdeğin bölünmesi ve sonuçta yeni haploid hücrelerin oluşumu eşeyli üremeyi oluşturur. Mayalar, askospor veya basidiospor oluşturma durumlarına göre iki evrede bulunurlar. Askospor veya basidiosporların oluştuğu eşeyli üreme dönemi perfekt evre (teleomorfik evre), bu sporların oluşmadığı dönem ise imperfekt evre (anamorfik evre)'dir (Soyuduru 2007).

Mayalar, teleomorfik ve anamorfik evrede bulunmalarına göre farklı isimler alırken, eskiden farklı isimlerle adlandırılan aynı maya türleri için günümüzde sinonim isimler de kullanılmaktadır (Kurtzman 1998).

Candida kefyr mayası *Kluyveromyces marxianus*'un anamorfik evresidir. *Kluyveromyces marxianus* ise eskiden *Kluyveromyces fragilis*, *K.bulgaricus*, *Saccharomyces lactis* ve *S. fragilis* isimleri ile anılmıştır. Günümüzde *Candida kefyr* için *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* ve *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus* isimleri de kullanılmaktadır. *Candida kefyr*'in eski isimleri *Candida pseudotropicalis* ve *Torula kefyr*'dir (Deak 2008, Kurtzman 1998).

Candida famata, *Debaryomyces hansenii*'nin anamorfik evresidir. *Candida famata*'nın eski ismi ise *Torulopsis candida*'dır. *Candida lipolytica* mayası *Yarrowia lipolytica* mayasının anamorfik evresidir. *Yarrowia lipolytica*'nın sinonimi ise *Saccharomycopsis lipolytica*'dır. *Candida sphaerica* mayası, *Kluyveromyces lactis*'in anamorfik evresi'dir. *Kluyveromyces lactis* mayasının yeni ismi ise *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*'dir. *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* önceden *Torulopsis sphaerica* olarak isimlendirilmiştir. *Candida krusei* mayası *Issatchenkia orientalis*'in anamorfik evresidir. *Candida sake* mayasının sinonimi *Candida tropicalis*'dir (Deak 2008, Kurtzman 1998).

Hava, toprak, su ve organik maddeler üzerinde yaygın olarak bulunan mayalar, genellikle sıcak, nemli, şekerli, tuzlu, asidik ve aerobik ortamlarda çok iyi gelişirler. Karbonhidratları, organik asitleri, proteinleri ve lipitleri kullanabilirler (Jacques 2008, Durlu and Kuleaşan 2000).

Endüstri mayalarının birçoğu mezofiliktir ve genellikle 20-30oC'de gelişirler. Ayrıca sıcakkanlı hayvanlarda bulunan ve 24-30oC gelişebilen bazı maya türleri de mezofiliktir. Psikrofilik mayalar optimum 12-15oC'de gelişirler. Düşük sıcaklıklara adaptasyon sağlayabilen bu mayalar, dondurulmuş gıdalarda bozulmalara neden olan çok önemli mikroorganizmalardır. Mayaların büyük bir çoğunluğu pH 4,50-6,50'de gelişirler ve orta derecede asidofilik özellik gösterirler. Bazı maya türleri ise daha asidik veya daha alkalik şartlarda gelişebilir. Mayalar gelişimleri ve enzimatik aktiviteleri için genellikle yüksek miktarlarda suya gereksinim duyarlar. Osmotolerant veya kserotolerant mayalar ise düşük su aktivitesine sahip çok şekerli veya tuzlu ortamlarda çok iyi gelişirler. Mayalar, oksijeni solunum olayında son elektron alıcısı olarak ve doymamış yağ asitleri ile sterollerin sentezinde gelişme faktörü olarak kullanılırlar. Sadece bir kaç maya türü mutlak oksijen eksikliğini tolere edebilir (Querol and Fleet 2006).

Mayalar, genel olarak şekerleri çok kuvvetli bir şekilde fermente ederler. Mayalar, alkol fermentasyonu ile 1 molekül glukozdan 2 molekül etil alkol ve 2 molekül karbondioksit oluştururlar. Alkol fermentasyonu, üç kimyasal reaksiyon sonucu oluşur. Bu reaksiyonlar glukoliz, pürivik asidin dekarboksilasyonu ve asetaldehitin indirgenmesidir. İlk aşamada glukoliz ile heksozlar (6 karbonlu şekerler) pürivik

aside dönüşür. İkinci aşamada pürivik asit bir molekül CO₂ kaybederek asetaldehide dönüşür. Son aşamada asetaldehit molekülüne 1 hidrojen atomu bağlanır ve indirgenen asetaldehitten etil alkol oluşur (Soyuduru 2007). *Saccharomyces* cinsinde bulunan *Saccharomyces cerevisiae* mayası glukozu, sükrozu ve rafinozu fermente edebilir. Galaktozu, maltozu, melibiyozu az oranda fermente edebilen bu maya türü, laktozu ve trehalozu ise fermente edemez (Kurtzman 1998).

Candida cinsinde yer alan mayaların şekerleri fermente edebilme yetenekleri farklılık göstermektedir. *Candida kefir* (*Kluyveromyces marxianus*) laktozu değişen oranlarda, glukozu, sükrozu, rafinozu iyi, galaktoz ve inulini yavaş bir şekilde fermente edebilir. Maltozu ve trehalozu ise fermente edemez. *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii*) laktoz yönünden nonfermantatif bir türdür. Glukozu, galaktozu, sükrozu, maltozu, rafinozu, trehalozu ise çok az fermente edebilir. *Candida sphaerica* (*Kluyveromyces lactis*) laktozu, glukozu, galaktozu fermente edebilir fakat sükrozu, rafinozu, maltozu ve trehalozu fermente edebilmesi değişkenlik gösterir. *Candida lipolytica* (*Yarrowia lipolytica*)'nın ise fermantasyon yeteneği yoktur. *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis*) laktozu, rafinozu, trehalozu, maltozu, sükrozu ve galaktozu fermente edemez fakat glukozu fermente edebilir. *Candida sake* laktozu, rafinozu, fermente edemez, ancak glukozu, galaktozu fermente edebilir. Sükrozu, maltozu ve trehalozu ise değişik oranlarda fermente edebilir. *Candida inconspicua* mayasının ise fermantasyon yeteneği yoktur(Kurtzman 1998).

Maya gelişiminin laktik asit bakterilerinin organik asitleri üretmelerine bağlı olarak oluşan düşük pH seviyesinde arttığı bildirilmektedir. Mayalar ve laktik asit bakterileri arasındaki bu ilişkinin fermente gıdaların bozulmadan uzun süre saklanması önemli olduğu belirtilmektedir (Querol and Fleet. 2006). Mayaların fermente süt ürünlerinde herhangi bir etki oluşturabilmeleri için çok yüksek sayılara ulaşması ve bu çeşit gıdalarda baskın olan laktik asit bakterileri ile bir etkileşime girmeleri gerektiği bildirilmektedir. Mayalar ve laktik asit bakterileri arasında hem pozitif hem de negatif etkileşimlerin olduğu belirtilmektedir. Mayaların karbondioksit, propiyonat ve süksinat üretimi ile laktobasillerin gelişimini desteklemesi, pozitif etkileşimler içerisinde değerlendirilmektedir. Bundan başka mayaların, amino asitleri üretmesinin ve vitaminleri sentezlemesinin de laktik asit

bakterilerinin gelişimini stimüle edebileceği belirtilmektedir (Alvarez-Martin and ark 2007).

Saccharomyces cerevisiae ve *Lactobacillus casei* arasındaki birlikteliğin araştırıldığı bir çalışmada, ortamda yeteri kadar riboflavin yoksa bakterilerin riboflavin gereksinimi açısından tamamen mayalara bağımlı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan diğer bir araştırmada, mayaların laktobasillerin gelişimlerini sürdürebilmeleri için esansiyel olan vitamin, amino asit ve pürin sentezledikleri belirlenmiştir (Megee vd 1972, Challinor vd 1954).

Mayalar ve laktik asit bakterileri arasında gerçekleşen negatif etkileşimlerin, her iki mikroorganizmanın karşılıklı olarak birbirlerinin gelişimlerini engelleme şeklinde olduğu bildirilmektedir. Bu etkileşimin, laktik asit bakterilerinin fenil-laktik asit, 4-hidroksi-fenil-laktik asit ve bazı peptitleri üreterek mayaların gelişimini, mayaların ise lipoliz ile serbest yağ asitlerini üretmelerine bağlı olarak laktobasillerin gelişimini engelleme şeklinde gerçekleşebileceği belirtilmektedir (Alvarez-Martin vd 2007). Bazı maya türlerinin bir takım bakterilerin hücre zarı fonksiyonlarını engelleyen ve öldürücü özellik gösteren birtakım hücre dışı proteinleri ve glikoproteinleri salgıladığı bildirilmektedir. Bazı türlerin ise bir kısım bakterilerin gelişimini engelleyen enzim aktivitesine sahip oldukları belirlenmiştir¹³. *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* ve *Proteus vulgaris* bakterilerine karşı etkili, bir takım inhibitör maddeleri ürettiği bildirilmektedir. Yapılan bir araştırmada, bu mayadan izole edilen iki polipeptidin *Staphylococcus aureus* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmektedir. Bu mayanın sıcaklığa dayanıklı enzimlerinin ise *Enterobacter aerogenes* bakterisine karşı bakterisit etki gösterdiği belirlenmiştir (Querol and Fleet 2006).

Debaryomyces hansenii (*Candida famata*)'nın bakterilere karşı antagonistik aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, mayaların *Clostridium tyrobutyricum* ve *Clostridium butyricum*'un gelişimini engelleyen hücre dışı veya hücre içi antimikrobiyal bileşikler ürettiği tespit edilmiştir (Liu and Tsao2008)

1.3.2.Yoğurtta Mayalar

Yoğurdun pH seviyesinin düşük olmasının yanında laktik asit bakterileri tarafından üretilen organik asitler ile laktozun yıkımlanması sonucu oluşan galaktozu metabolize edebilmelerinin yoğurdu maya gelişimi için selektif bir ortam haline getirdiği belirtilmektedir. Bundan başka yoğurtta mayaların gelişmesi, mayaların süt yağını ve proteinlerini hidrolize eden lipolitik ve proteolitik enzimleri üretebilmeleri, laktozu, sükrozu, glukozu fermente edebilmeleri ve buzdolabı sıcaklığında gelişebilmeleri ile ilişkilendirilmektedir (Lourens-Hatting and Viljoen 2002) Yoğurt bakterilerinin gelişiminden sonra mayaların ikinci bir flora olarak yoğurtta gelişebileceği bildirilmektedir. Yoğurt yapımı esnasında, sütte bulunan laktozun yaklaşık olarak %35'inin yoğurt bakterileri tarafından hidrolize edilmesiyle oluşan glukoz ve galaktoz şekerlerinden sadece glukozun laktik aside dönüşmesinin sütteki mevcut galaktoz seviyesini %1 gibi çok yüksek seviyeye çıkardığı ve böylece galaktoz pozitif veya laktoz yönünden nonfermantatif mayaların gelişmesine imkân sağlandığı belirtilmektedir (Lourens-Hatting and Viljoen 2002).

Mayaların organik asitleri, uçucu asitleri, antibiyotik özelliği taşıyan maddeleri ve diğer birçok ara ürünü oluşturmaya yönelik olumlu faaliyetlerine rağmen, pH seviyesinin düşük olduğu ortamlarda gelişebilmeleri, lipolitik ve proteolitik enzimleri üretebilmeleri nedeniyle yoğurtta istenmeyen mikroorganizmalar olarak değerlendirilmektedir. Mayaların fermentasyonla aşırı miktarda gaz üretmelerinin yoğurt kaplarının şişmesine, lezzet kayıplarına ve tekstür kalitesinde azalmaya neden olduğu da belirtilmektedir (Mayoral vd 2005).

Yoğurttan değişik cinslere ait mayaların izole edilmesi; meyve, fındık, bal gibi katkı maddelerinin yoğurda ilave edilmesine, yoğurt yapımında temiz ve hijyenik olmayan alet ve ekipmanların kullanılmasına bağlanmaktadır (Suriyarachchi vd 1981). Yoğurda meyve ilavesine bağlı olarak sükroz oranındaki artışın *Saccharomyces cerevisiae*'yi dominant tür haline getirdiği ve bioyoğurtlarda probiyotik olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii*'nin meyveli yoğurtlarda iyi bir gelişim gösterdiği belirtilmektedir(Lourens-Hatting and Viljoen 2002).

Meyveli yoğurtlara *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii*), *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefir*), *S.cerevisiae*, *Candida stellata* ve *C. diffluens* mayalarının inoküle edildiği bir çalışmada, bu maya türlerinin meyveli yoğurtlarda iyi bir gelişim gösterdikleri bildirilmektedir (Fleet and Mian 1987)

Meyveli yoğurtlardan yaygın olarak *Kluyveromyces* ve *Saccharomyces* cinsine ait mayaların izole edilebileceği belirtilmektedir. Farklı meyve çeşitleri kullanılarak yapılan yoğurtlardan *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*), *Candida versatilis*, *Candida intermedia*, *Pichia anomala* mayaları izole edilebileceği belirtilmektedir. Viljoen et al tarafından yoğurtta maya gelişimine sıcaklığın etkisi ile ilgili yürütülen bir çalışmada, 16 adet meyveli ve 16 adet sade yoğurt örneğinden en sık izole edilen maya türlerinin sırasıyla *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*), *Saccharomyces exiguus*, *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefir*), *Yarrowia lipolytica* (*Candida lipolytica*) ve *Rhodotorula glutinis* olduğu bildirilmektedir (Şahan vd 1999)

Şeker, meyve ve stabilizatör gibi katkı maddelerini içermeyen yoğurtlardan ana maya türleri olarak, laktozu fermente edebilen *Torulopsis*, *Candida* ve *Kluyveromyces* cinsi mayalar izole edilebileceği bildirilmektedir (Fleet and Mian 1987).

Laurens-Hattingh ve Viljoen tarafından mandıra ürünleriyle ilgili mayaların yoğurt ve yoğurt türevlerinde hayatiyetini sürdürmesinin incelendiği bir çalışmada, *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) mayasının meyveli yoğurtlarda mevcut glukozu kullanarak canlılığını sürdürdüğü ve az da olsa etanol miktarında artışa sebep olduğunun gösterilmesi, bu maya türünün meyveli yoğurtlardan izole edilebileceğini göstermektedir (Laurens-Hattingh and Viljoen 2002). Geleneksel olarak üretilen yoğurtlarda *Candida krusei*, *Candida mycoderma*, *Candida pseudotropicalis* ve *Saccharomyces* cinsi mayaların bulunabileceği bildirilmektedir (Alvarez-Martin vd 2007).

Laktozu fermente edebilen mayaların koliform bakteriler ile yoğurt bakterilerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, sade yoğurtlardan *Torulopsis* cinsinin laktozu fermente eden türleri ile *Candida pseudotropicalis* (*Candida kefir*) ve *Kluyveromyces bulgaricus* (*Kluyveromyces marxianus*) mayalarının izole

edilebileceği belirtilmektedir (Van Uden N, Carmo Sousa LD). İngiltere’de yapılan bir çalışmada, perakende satılan yoğurtlardan *Torulopsis candida* (*Candida famata*), *Torulopsis versatilis*, *Candida pelliculosa*, *Candida intermedia* ve *Hansenula anomala* mayalarının izole edildiği bildirilmektedir (Tilbury vd 1974).

Brezilya’da yerel olarak satışı yapılan sade ve meyveli yoğurtlarda mayaların izolasyonu ve identifikasyonu ilgili yürütülen bir araştırmada, 72 yoğurt örneğine ait 577 adet maya izolatu tür dağılımları *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*) 191 izolat, *Saccharomyces cerevisiae* 114 izolat, *Hansenula spp.* 91 izolat, *Mrakia frigida* 68 izolat, *Candida parapsilosis* 44 izolat, *Debaryomyces castellii* 33 izolat, *Candida maltosa* 31 izolat, *Schizosaccharomyces pombe* 3 izolat, *Candida mogii* 1 izolat ve *Kluyveromyces marxianus* 1 izolat şeklinde belirlenmiştir (Moreira vd 2001).

Aynı çalışmada sade yoğurt örneklerinden elde edilen 178 izolatu tür düzeyinde dağılımının *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*) 48 izolat, *Saccharomyces cerevisiae* 17 izolat, *Hansenula cinsine* ait mayalar 36 izolat, *Mrakia frigida* 40 izolat, *Candida parapsilosis* 7 izolat, *Debaryomyces castellii* 8 izolat, *Candida maltosa* 17 izolat, *Schizosaccharomyces pombe* 3 izolat, *Candida mogii* 1 izolat, *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefir*) 1 izolat şeklinde olduğu belirtilmektedir. Meyveli yoğurt örneklerinden elde edilen 409 izolatu tür düzeyinde dağılımlarının ise *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*) 143 izolat, *Saccharomyces cerevisiae* 97 izolat, *Hansenula cinsine* ait mayalar 55 izolat, *Mrakia frigida* 28 izolat, *Candida parapsilosis* 37 izolat, *Debaryomyces castellii* 25 izolat ve *Candida maltosa* 24 izolat şeklinde olduğu bildirilmektedir (Moreira vd 2001).

Avusturya marketlerinde satışa sunulan 99 adet süt ürünü ile yürütülen bir araştırmada, 4 yoğurt örneğinden elde edilen 26 izolatu cins düzeyinde dağılımı *Candida spp.* 4 izolat, *Clavispora spp.* 4 izolat, *Debaryomyces spp.* 6 izolat, *Geotrichum spp.* 4 izolat, *Pichia spp.* 1 izolat, *Yarrowia spp.* 1 izolat, *Rhodotorula spp.* 3 izolat şeklinde, izolatların tür düzeyinde dağılımı ise *Candida pseudoglebosa* 3 izolat, *Candida sojae* 1 izolat, *Clavispora lusitaniae* 4 izolat, *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*) 6 izolat, *Geotrichum candidum* 4 izolat, *Pichia guilliermondii* 1 izolat, *Yarrowia lipolytica* (*Candida lipolytica*) 1 izolat, *Rhodotorula mucilaginosa* 3 izolat şeklinde olmuştur (Lopandica K, Zelger S. vd 2006).

Avustralya marketlerinde tüketime sunulan 128 yoğurt örneği ile yürütülen bir diğer araştırmada, 9 adet sade ve 119 adet meyveli yoğurt örneğinden elde edilen 73 izolat sekiz maya cinsinde toplanmış, bu izolatların cins dağılımları ise *Torulopsis* spp. (25 izolat), *Kluyveromyces* spp. (13 izolat), *Saccharomyces* spp. (13 izolat), *Candida* spp. (7 izolat), *Rhodotorula* spp. (6 izolat), *Pichia* spp. (5 izolat), *Debaryomyces* spp. (2 izolat), *Sporobolomyces* spp. (2 izolat) şeklinde olmuştur. Bu araştırmada en sık izole edilen maya türü olarak *Torulopsis candida* yeni ismi ile *Candida famata* (21 örnek) belirlenmiş, bu maya türünü 11 örnekten izole edilen *Kluyveromyces fragilis* (*Candida* kefir), 9 örnekten izole edilen *Saccharomyces cerevisiae*, 2 örnekten izole edilen *Kluyveromyces lactis* (*Candida sphaerica*), 2 örnekten izole edilen *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*) takip etmiştir (Suriyarachchi VR, Fleet GH. 1987).

1.4 Mayaların Moleküler Yöntemlerle Tanınması

Fenotipik tekniklerin yararlı olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen, benzer fenotiplere sahip suşların her zaman birbiriyle yakından alakalı genotiplere sahip olmadığı bilinmektedir. Ayrıca fenotipik metotların tekrarlanabilirliği ve ayırt ediciliği zayıftır. Doğal habitatlardan izole edilen yabani suşlar fenotipik değişkenlik gösterir ve “atipik” olarak sınıflandırılır (Miller vd. 1996). Fenotipik tanımlama yalnız başına laktobasillerin tanımlanması için yeterli bir yöntem değildir. Dolayısıyla 16S rRNA gen dizisindeki farklılıklar kullanılarak PCR ile daha güvenilir tanımlama yapılabilmektedir (Couret vd. 2003, Tabasco vd. 2007, Tokatlı 2013).

Genotipik teknikler; tür seviyesinden, ayrı ayrı suş seviyesine kadar, farklı ayırt etme düzeyine sahiptir. Bunların birçoğu, kontrollü reaksiyon koşulları altında, tasarlanmış primerlerin kullanımı ile hedeflenen DNA kısımlarının büyütülmesine olanak tanıyan polimeraz zincir reaksiyona dayanmaktadır.

Moleküler tanımlama teknikleri; plazmid profil analizleri, kromozomal DNA’nın restriksiyon endonükleaz analizi, RFLP PCR, RAPD-PCR, PFGE olarak sıralanabilir. Bu tekniklerin spesifik ayırım gücü, tekrarlanabilirlik ve tiplendirebilirliklerine göre avantajları ve dezavantajları vardır (Ünal ve İstanbulluoğlu 2009).

En güçlü ve en yaygın filogenetik işaretleyici 16S ribozomal RNA ve onun genetik kodudur. Ribozomların erken dönem prokaryotik hücrelerde bulunuyor olmasının verdiği avantaj ile ribozom bileşenleri fonksiyonlarını değiştirmemiş ve çoklu rRNA gen kodlamasının varlığı, yatay gen transferinin oluşma olasılığının ortadan kaldırmıştır. Bu nedenle tRNA gen serileri içerisinde korunma derecesi yüksektir. Gen bankalarında 12000’den fazla 16S rDNA serisi bulunduğunu belirtmiştir (Erkuş 2007).

16S rRNA gen bölgesi dizi analizi, moleküler yöntemler içinde sıklıkla kullanılmakta olup ilk defa Woese adlı araştırmacının 1987 yılında, prokaryotik türler arasında korunan 16S bölgesinin fonksiyonunu ortaya koyması sonucu açıklığa kavuşmuştur (Woese 1987, O’Sullivan 1999, Çakır 2003).

16S, 23S ve 5S rRNA genleri bakteriyel kromozom üzerinde bir operonla birlikte düzenlenmiştir ve 16S ile 23S rRNA arasındaki ayırıcı bölgenin baz dizi sırası türe özgü olup çok değişken bir yapıya sahiptir. 16S rRNA bölgesinin spesifik primerler kullanılarak PCR’da çoğaltılması ve baz dizisinin belirlenmesi ile (500-750 bp) ayırıcı bölgenin dizi sırası tespit edilmekte, dolayısı ile türlerin %97 oranında tanımlanması sağlanmaktadır (Stackebrandt ve Goebel 1994). 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yöntemi ile bakterilerin tanımlanması; DNA izolasyonu, 16S ileri ve geri primerleri kullanılarak izole edilen DNA’nın PCR’da çoğaltılması, çoğaltılan DNA’nın baz dizi sırasının belirlenmesi ve bu sıranın, veri tabanında bulunan mikroorganizmalara ait baz dizi sıraları ile karşılaştırılarak isimlendirilmesi aşamalarından oluşmaktadır (Sanger vd. 1977, Brosius vd. 1978, Kullen vd. 2000,).

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETLERİ

Kavas ve ark. tarafından süzme ve sade yoğurt üzerine yapılan bir araştırmada, elde edilen 68 izolatın cinslere göre dağılımı *Saccharomyces* 23 izolat, *Tricosporon* 13 izolat, *Kluyveromyces* 8 izolat, *Candida* 7 izolat, *Debaryomyces* 7 izolat, *Geotricum* 7 izolat, *Pichia* 3 izolat şeklinde bildirmiştir. İzolatların tür düzeyinde dağılımları ise *Saccharomyces cerevisiae* biovar I 17 izolat, *Saccharomyces cerevisiae* biovar II 5 izolat, *Saccharomyces cerevisiae* biovar III 1 izolat, *Pichia farinosa* 3 izolat, *P.anemola* 1 izolat, *Candida blankii* 1 izolat, *Candida lipolytica* 3 izolat, *Candida tropicalis* (*Candida sake*) 2 izolat, *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* (*Candida sphaerica*) 5 izolat, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (*Candida kefir*) 3 izolat, *Geotricum candidum* 7 izolat, *Tricosporon cutaneum* 9 izolat, *Tricosporon brassicae* 4 izolat, *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*) 7 izolat şeklinde belirlenmiştir (Kavas G. vd 2010).

Savova ve Nikelova Bulgaristan'ın farklı bölgelerine ait süt ürünlerinde yapmış oldukları bir çalışmada, inek sütünden yapılan yoğurt örneklerinde *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefir*) dominant maya türü olarak belirlenmiş, keçi sütünden üretilen yoğurtlarda ise *Trichosporon beigelii*, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (*Candida kefir*) ve *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus* (*Candida kefir*) %30 oranında, *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii* (*Candida famata*), *Candida krusei* ve *Candida rugosa* ise eşit oranlarda izole edilmiştir (Savova I. and Nikolova M. 2002).

Skriver ve ark., (2003) fermente sütlerde starter kültürlerin gelişmesinin en az iki *Streptococcus thermophilus* ve bir *Lactobacillus bulgaricus* suşunun birleşimlerine bağlı olduğunu tanımlamışlardır. Starter kültürlerin birleşimlerinin hızlı asitleşme oranı, uygun yapı ve aroma gibi her bir suşun önemli özelliklerinin birleştirileceği belirtilmiştir.

Issazadeh ve ark., (2013) laktik asit bakterilerinin geniş çapta doğada yaygın olduğunu ve çiğ süt, yoğurt vb. mikroflorasında doğal olarak meydana geldiğini, çoğu gıda fermantasyon işlemlerinde önemli role sahip olan laktik asit bakterilerinin gram pozitif olduğunu belirtmişler. 2011 ve 2012 süresince toplam 50 yoğurt örneğini Kuzey İran'ın farklı kısımlarından topladıklarını, bu örnekleri laboratuvarda incelenen steril tüplerde 4°C de muhafaza ettiklerini, her bir örnekten 10⁻¹ dilüsyondan sonra, 10 kat seri seyreltme yapılmasının ardından alt kültürlendikten sonra kullanılarak gram pozitif ve katalaz negatif reaksiyonları ile LAB suşları izolasyonu için kullanılan M17 ve MRS agar içerisinde çoğalttıkları ve sonuç olarak özellik tanımlama için kullandıklarını bildirilmişler.

Çin' in kuzeybatı bölgesindeki özel ekolojik konumlarında bulunan geleneksel mandıra ürünlerinin 7 örneğinden toplam 32 doğal laktik asit bakteri izolatu elde edilen bir başka araştırmada; 32 izolat arasından 9 LAB suşu fermente süt ürünleri potansiyeli için seçilmiş ve 16S rDNA nükleotid dizi analiziyle tanımlanmış olduğu, ve bu 9 izolatın birbirleriyle birleştiği ve 8 kombinasyonun yoğurt üretiminde fermantasyon karakteristiklerine göre seçildiği, bu 8 kombinasyonun asitleşmeye etkisini, post asidifikasyonu, yoğurdun yapısı ve duysal kalitesinin analiz edildiği bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, *Streptococcus thermophilus* SP1.1 ile kombinlenen *Lactobacillus bulgaricus* 3 4.5'un en iyi kombinasyon olduğu ve yoğurt fermantasyon zamanı ve duysal kalite açısından ticari starter kültürlerden daha iyi olduğu belirlenmiştir. Bu kombinasyonun yoğurt kalitesini geliştirmek için ticari starter olarak önerilebileceği bildirilmiştir (Han ve ark., 2014).

Mete (2011) laboratuvar koşullarında geleneksel yöntemle üretilmiş şalgam suyundan fermantasyon süresince LAB izolasyonu gerçekleştirmiş ve izole edilen 85 adet bakteriden biyokimyasal testler kullanarak 56 adedinin cins bazında LAB olduğunu saptamıştır. Gezginç ve Akyol (2010) geleneksel yoğurtlardan izole edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*'ların tanımlanması amacıyla, kimyasal tanımlama ile moleküler tanımlamalardan 16S rRNA'yı kodlayan DNA bölgeleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) metodunun birbirini tamamlayan çalışmalar olduğu sonucuna varmışlardır.

Özer, (2006) yaptığı çalışmada; Yoğurt üretiminde starter kültür olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* kullanılmaktadır. Bu iki bakteri arasında simbiyotik bir ilişki vardır. *Lactobacillus bulgaricus* tarafından açığa çıkarılan serbest aminoasitleri içeren oligopeptitler *Streptococcus thermophilus* gelişimini teşvik etmektedir. *Streptococcus thermophilus* tarafından üretilen peptitler, pürin ve pürimidinler oksalik asit, fumarik asit, formik asit, pirüvik asit ve CO₂ gibi metabolitler ise *Lactobacillus bulgaricus*’un gelişimine yardımcı olmaktadır.

Beyatlı (1982) tarafından yapılan bir çalışmada, Ankara piyasasından toplanan yoğurt örneklerinden izole edilen yoğurt bakterilerinin tanımlanmaları fenotipik yöntemlerle yapılmış ve elde edilen suşların proteolitik aktivite ve laktik asit üretimi gibi özellikleri incelenmiştir. Bundan sonra starter suş kombinasyonları oluşturularak yoğurt üretimine uygunlukları duyuşal, mikrobiyolojik ve aroma maddelerinin oluşması açısından incelenerek ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Tavşanlı (2015) tarafından yapılan çalışmada geleneksel yöntemlerle üretilen yoğurtlardan, aynı zamanda bitki, yağmur suyu ve çiy damlalarından yoğurt üretilerek, üretilen yoğurtlarda doğal ortamda bulunan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlanması ve suşların teknolojik karakterizasyonlarını belirlemek amacıyla yapılmış. MALDI-TOF ile tanımlanması neticesinde, geleneksel yöntemlerle üretilen yoğurtlardan 27 adet, bitki kullanarak pıhtılaştırılan sütlerden 3 adet, yağmur suyu ile pıhtılaştırılan sütlerden 8 adet ve çiy damlaları ile pıhtılaştırılan sütlerden 7 adet olmak üzere toplam 45 adet *Lactobacillus delbrueckii* suşu izole edilmiştir. Aynı şekilde, geleneksel yöntemlerle üretilen yoğurtlardan 42 adet, bitki kullanarak pıhtılaştırılan sütlerden 4 adet, yağmur suyu ile pıhtılaştırılan sütlerden 8 adet ve çiy damlaları ile pıhtılaştırılan sütlerden 12 adet olmak üzere toplam 66 adet *Streptococcus thermophilus* suşu elde edilmiştir.

Demirci (2017) tarafından yapılan çalışmada, Ağrı ilinde bazı yöresel yoğurt örneklerindeki çeşitli bakterinin izolasyonu, kültüre alınması ve tanımlanması yapılmıştır. Ağrı ilini temsil edecek şekilde 28 izolat elde edilmiştir. İzolatların ilk olarak morfolojik testleri, fizyolojik testleri, biyokimyasal testleri ve antibiyotiğe direnç testleri yapılmıştır. Moleküler testler kapsamında 28 izolatın DNA izolasyonu ve 16S rDNA gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. 24 izolatın sekans verileri alınmış

ve sekans verisi alınamayan 4 izolat ise VİTEK yöntemiyle karakterize edilmiştir. LAB'lerin NCBI'daki nükleotit blastlama verilerine izolatların 4 tanesi *Sphingonomas* sp. ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus paracasei* türlerinin her birinden birer izolat %99 benzerlik göstermiştir. Bu çalışma sonucuna göre yöresel yoğurtta LAB'lerinin yanında patojenlerin de bulunması; sütün yeterince ısıtılma işlem görmediğini, ana kaynağı yoğurt olmayan patojenlerin bulaşmış olabileceğini, sağım yapılan hayvanların hastalıklı (mastitis) olabileceğini, sağım yapan insanda hastalık olabileceğini ve kullanılan alet –ekibmanın yeterince temiz olmadığı düşünülmektedir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1 Yoğurt Örneklerinin Toplanması

Çalışmada kullanılacak olan yoğurt örnekleri Şhitkamil ilçesinde bulunan 12 köyden 36 örnek steril falkonlara (50ml) toplandı. Bu örnekler Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiş + 4 c° ' de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1 Yoğurt örneklerinin toplandığı köylerin haritası

3.2 Mikrobiyolojik Analizler:

Aseptik koşullar altında 10 g tartılan örnekler 90 mL steril %0,1 YSB dilüsyon sıvısına katılarak homojenize edilmiştir. Homojenizasyon ve sonraki seyreltmeler 1:9 oranında yapılmıştır. Wahr ve Frank (2004)'e göre MRS Agar, M17 Agar ve Lee's Agar (Lee vd.1974)'a ekim yapılmış ve inkübasyon sonrası, gram boyama ve katalaz testleri yapılmıştır.

3.2.1 MRS Agar

Lactobacillus izolasyonu için pH' sı 5,4' e ayarlanmış MRS Agar kullanılmıştır. MRS Agar, pH' sı 5,4' e düşürülmüş MRS Agar ile hazırlanmıştır. MRS Agar ticari besiyerinin bileşimi 1 L besiyeri için Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 3.1 MRS Agar Bileşimi

Bileşen	Bileşim miktarı (g/ L)
Proteaz pepton No: 3	10,0
Siğir eti ekstraktı	10,0
Maya ekstraktı	5,0
Dekstroz	20,0
Polysorbat	1,0
Amonyum sitrat	2,0
Sodyum asetat	5,0
Magnezyum sülfat	0,1
Manganez sülfat	0,05
Dipotasyum fosfat	2,0
Agar	15,0

MRS Agar’ dan 70 g tartılmış, tartılan miktar 1000 ml distile suda çözündürülmüştür. Çözelti, sürekli karıştırılarak kaynama noktasına kadar ısıtılmış ve besiyerinin tamamen berrak şekilde çözünmesi sağlanmıştır. Çözünmüş besiyerinin pH’ sı sitrik asit ilavesi ile 5,4’ e ayarlanmıştır. Bu işlem sırasında karıştırıcılı ısıtıcı yardımıyla çözünmüş besiyeri sürekli karıştırılarak besiyerinin sıcaklığı ve sıvı fazı korunmuştur. pH kontrolü 25 °C sıcaklıkta yapılmıştır. pH ayarlandıktan sonra besiyeri şişelere dağıtılarak 121 °C’ de 15 dakika süre ile otoklavda steril edilmiştir. Otoklavlama işlemi sonunda pH’ nın, 25 °C’ de, $5,4 \pm 0,1$ olduğu kontrol edilmiştir. Besiyeri hazırlandıktan sonra hemen kullanıldığı için 45 °C’ ye soğutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir (Anonymous, 2002 a).

3.2.2. % 10’ luk Laktoz çözeltisi hazırlanması

Streptococcus izolasyonunda kullanılan M17 Agar’ ın hazırlanmasında % 10’ luk laktoz çözeltisi kullanılmıştır. Laktoz çözeltisi hazırlanırken; laktoz (Oxoid L70)’ dan 10 g tartılmış ve 100 ml suda çözündürülmüştür (Anonymous,2002b).

3.2.3 M17 Agar

Streptococcus izolasyonunda M17 Agar kullanılmıştır. M17 Agar ticari besiyerinin bileşimi 1 L besiyeri için Tablo 2’ de verilmiştir.

Tablo 3.2 M17 Agar Bileşimi

Bileşen	Bileşim miktarı (g/ L)
Tripton	5,0
Soya pepton	5,0
Et ekstraktı	5,0
Maya ekstraktı	2,5
Askorbik asit	0,5
Magnezyum sülfat	0,25
Di- sodyum-β- gliserofosfat	19,0
Agar	11,0

M17 Agar’ dan 48,25 g tartılmış, tartılan miktar 950 ml distile suda çözündürülmüştür. Çözelti, sürekli karıştırılarak kaynama noktasına kadar ısıtılmış ve besiyerinin tamamen berrak şekilde çözünmesi sağlanmıştır. Çözünmüş besiyeri 50 °C civarına soğutulmuştur. Soğutulan besiyerine, % 10’ luk laktoz çözeltisinden 50 ml ilave edilerek dikkatlice karıştırılmıştır. Daha sonra besiyeri şişelere dağıtılarak 121 °C’ de 15 dakika süre ile otoklavda steril edilmiştir. Otoklavlama işlemi sonunda pH’ nın, 25 °C’ de, $6,9 \pm 0,2$ olduğu kontrol edilmiştir. Besiyeri hazırlandıktan sonra hemen kullanıldığı için 45 °C’ ye soğutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir (Anonymous, 2002 b).

3.2.4 % 2’ lik Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Çözeltisi

2 ml analitik saf (%35’ lik) Hidrojen peroksit (H₂O₂) 100 ml’ lik balon jojeye aktarılmıştır. Balon joje içeriği distile su ile çizgisine tamamlanmıştır. Balon joje, meydana gelen ısınma sebebiyle oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve yine distile su ile çizgisine tamamlanmıştır. Çözelti 24 saat bekletildikten sonra kullanılmıştır.

3.2.5 Gram Boyama Çözeltileri

Gram boyamada kullanılan reaktif çözeltiler set halinde BioMérieux' den temin edilmiştir.

3.2.6 Maya ve LAB İzolasyonu

Maya ve Laktik asit bakterilerinin izole edilmesi için yoğurt örnekleri steril dilüsyonlar kullanılarak 10^{-6} dilüsyon oranına kadar seyreltilmişlerdir. 10^{-5} ve 10^{-6} dilüsyon oranındaki tüplerden ekim yapılmıştır. Ekimlerde pH 5,4' e ayarlanmış MRS Agar (Difco 288210), Besiyerinin litresine 50 ml %10' luk (m/ v) laktoz çözeltisi ilave edilen M17 Agar besiyerleri kullanılmıştır (Anonymous, 2002 a, 2002 b).

Yoğurt örneklerinin besiyerine inokülasyonun yapıldığı andan itibaren, *Lactobacillus* izolasyonu için MRS agar besiyerinde geliştirilerek incelemeye alınan bakteriler *Streptococcus* izolasyonu için M17 agar besiyerinde geliştirilerek incelemeye alınmıştır. Ürünlerin üretilmesi için gereken kültürlerin hazırlanması aşamasında da kültürlerin hangi bakterilerden oluştuğu belirtilirken isolatlar için yine aynı tanımlamalar kullanılmıştır.

Petri kutuları, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* izolasyonu için anaerobik ortamda 37 °C' de 5 gün, *Streptococcus thermophilus* izolasyonu için aerobik ortamda 37 °C' de 3 gün inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda elde edilen kolonilerden saf bakteri stoğu hazırlayabilmek için birer tane alınıp *Streptococcus thermophilus* için M17 broth (Merck 15029), *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* için MRS broth (Merck 10661) besiyerine aktarılmıştır. Tüplere aktarma işleminden önce, koloniler üzerinde gram boyama ve katalaz testleri (Ellner, 2001) uygulanmış, Gram pozitif ve katalaz negatif koloniler değerlendirilmeye alınmıştır.

3.2.7 Gram Boyama

Temizlenip alev ile fikse edilen lam üzerine steril öze ucu ile distile su aktarılmıştır. Gram boyama yapılacak olan bakteri kolonisi steril öze ile lam üzerine alınarak lamdaki su yardımı ile dağıtılmış ve ince bir tabaka haline gelmesi sağlanmıştır. Lam, üzerine sürülen tabaka kuruyuncaya kadar kendi haline bırakılmıştır. Kuruma gerçekleşikten sonra lam, hızla iki üç kez alev üzerinden geçirilmiştir. Daha sonra sırasıyla aşağıdaki adımlar takip edilerek Gram Boyama (HUCKER'e göre Kristalviolett- Safranin boyaması) işlemi gerçekleştirilmiştir (Ellner, 2001); Kurutma ile kontrole hazırlanan preparata immersiyon yağı damlatılarak 100' lük objektif ile kontrol yapılmıştır. Mavi renkli hücreler Gram (+), kırmızı- pembe renkli hücreler Gram (-) olarak tanımlanmıştır (Ellner, 2001).

3.2.8 Katalaz Testi

Araştırmada besiyeri üzerinde gelişmiş bakteri kolonilerinden steril öze yardımı ile bos ve steril petri plağı içine aktarılmıştır. % 2' lik H₂O₂ çözeltisinden bir iki damla koloni üzerine damlatılarak gaz çıkışı olup olmadığı gözlemlenmiştir. Gaz çıkışı olan koloniler Katalaz (+) ve gaz çıkışı olmayan koloniler Katalaz (-) olarak tanımlanmıştır.

3.2.9 Gliserol

Ticari olarak satılan gliserol alınarak 121 °C' de 15 dakika süre ile otoklavda steril edildikten sonra araştırmada kullanılmıştır.

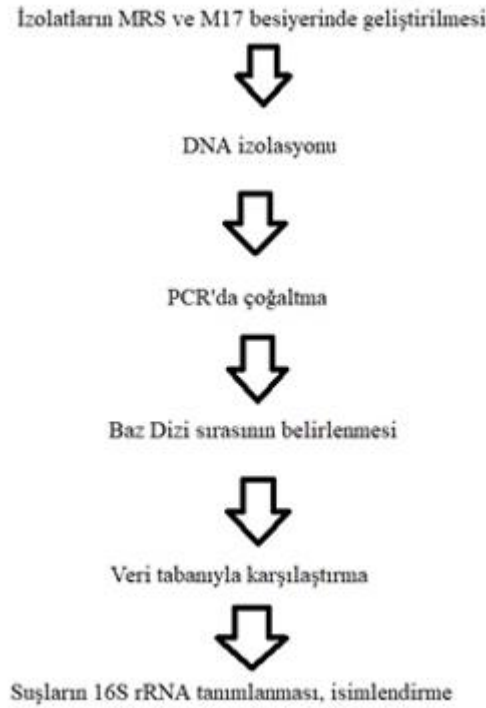
3.2.10 İzolatların Saklanması

İzole edilen mayalar ve Gram (+) ve katalaz (-) olduğu teyit edilen çubuk ve kok bakterilere ait tek bir koloni Gram (+) ve katalaz (-) olduğu teyit edilen çubuk ve kok bakterilere ait tek bir koloni aktarılan sıvı besiyeri 37 °C' de inkübasyona bırakılmış ve tortu ve/ veya bulanıklık oluşumu takip edilmiştir. Tortu ve/ veya bulanıklık oluşan tüplerdeki tortu/bulanıklıktan yaklaşık 2 ml alınarak içinde 600 µL gliserol bulunan steril tüplere aktararak stok izolatlar oluşturulmuştur. Stok izolatlar derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edilmişlerdir.

3.3 Laktik Asit Bakterilerinin 16S rRNA Yöntemi ile Moleküler Tanımlanması

PCR teknolojisi ile 16S rRNA genlerinin direk sekansı bilinmeyen bir suşun tek bir basamak ile tanımlanmasında oldukça etkili bir yöntemdir. 16S ve 23S rRNA bölgeleri yüksek derecede korunmuş dizileri içeren bölgelerdir. Bu bölgelere özgü primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilerek sekanslama işlemi neticesinde sonuca gidilebilir (Leblond-Bourget *et al.* 1996).

Çalışmada; Elde edilmiş olan yoğurtlardan izole edilmiş 28 adet izolatın moleküler tanımlanması aşaması 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yöntemi (Sanger vd. 1977) ile Ankara Sentegen Firmasında iki kez tekrarlanarak doğrulanmıştır. Şekil 3.de izolatların tanımlanmasında izlenen aşamalar görülmektedir. Buna göre; moleküler tanımlama aşamasında ilk olarak bakteriyel DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2 İzolatların Moleküler Tanımlanmasında İzlenen Aşamalar

DNA izolasyon aşaması EK 1’de belirtildiği gibi yapılmıştır. Moleküler tanımlama sırasında, genomik DNA izolasyonu amacıyla Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit kullanılmıştır. DNA izolasyonundan sonra DNA’lar, öncelikli olarak %1’lik agaroz jelde kontrol edilmiştir. Agaroz jel elektroforez aşaması EK 3’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra saflık ve miktar değerlerinin belirlenmesi için NanoDrop ND-1000 spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır.

Çalışmamızda PCR denemelerinde Sanger yöntemi (1977) kullanılmıştır. Saflık ve miktarı kontrol edilen bakteriyel DNA, PCR’da çoğaltılmış ve ardından baz dizi sırası tespit edilmiştir. Bilindiği gibi PCR 3 aşamalı bir yöntem olup; DNA’nın; çift sarmallı DNA’dan tek sarmallı DNA’ya dönüştürülmek üzere denature edilmesi; oligonükleotit primerlerin, hedef DNA’daki tamamlayıcı bölgelere bağlanması; son olarak DNA’nın, 20 DNA polimeraz aktivitesi süresince nükleotit eklenmesi ile primerlerden uzatılması ve bunun sonucunda çift sarmallı ürünler oluşması şeklindedir. DNA çoğaltımı ve PCR optimizasyon çalışmaları için Biometra ve MJ

Research Thermocycler cihazları kullanılmış ve PCR optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. PCR’ da kullanılan reaktifler; 15-200 ng DNA (2 µl), 10 pmol ileri (forward) primer (2 µl), 10 pmol floresan işaretlenmiş ters (revers) primer (2 µl), 2,5 mM toplam dNTP (1µl), 0.5 unit Go Taq DNA Polymerase (0,6 µl)(Promega), 25 mM MgCl₂ (2,4 µl), 10 µl buffer 5x buffer olacak şekilde toplam 50µl PCR karışımı şeklinde hazırlanmıştır.

DNA çoğaltımı için kullanılan PCR programı;

1. 94°C’de 3 dakika (1döngü)
 2. 94°C’de 1 dakika (35 döngü)
 3. 53°C’de 1 dakika
 4. 72°C’de 2 dakika
 5. 72°C’de 10 dakika (1döngü)
- (10°C’de sabit tutulmuştur)

PCR sonrasında DNA'lar agaroz jelde yürütülmüştür. Daha sonra görünen bantlar kesilip Promega kit yardımıyla saflaştırılmıştır. PCR sonrası saflaştırma işlemi Ek 4'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

Saflaştırılan PCR ürünleri 5µl AB Gene Plate'e alınmıştır. Seal ile iyice kapatıldıktan sonra PCR'da 94°C'de 4 dakika denatüre edilmiştir. Bu sürenin sonunda hemen buz üzerine alınıp soğutulularak, 1500 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Bu aşamanın ardından saf DNA örnekleri sekans PCR aşamasına tabi tutulmuş olup PCR protokolü (dizi analizi) EK 5'da belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

Sekans PCR ürünlerinin temizlenmesi Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification kit kullanılmıştır. DNA dizi analizi saflaştırması BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing ile yapılmış ve DNA dizi analizi Beckman Coulter CEQ 8000 otomatik dizi analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Dizi analizinden çıkan sonuçlar NCBI gen bankasındaki referans genomlarla eşleştirilmiştir.

3.4 MALDI-TOF Yöntemi

MALDI-TOF kütle spektrometresinde analiti iyonize etmek için organik, aromatik ve zayıf asidik bir matriks kullanılır. Test edilecek mikroorganizma direk transfer metoduyla çelik bir plak üzerine ince bir film olarak sürülür. Üzerine matriks solüsyonu eklenir ve oda ısısında kurutulur (Posteraro vd., 2013).

Numune sisteme girdikten sonra üzerine lazer atışları gönderilerek lazer enerjisinin matriks tarafından absorbe edilmesi sağlanır. Matriks moleküllerinin fotoeksitasyonu ya da fotoiyonizasyonu, matriksten analite proton transferini, dolayısı ile analitin iyonizasyonunu kolaylaştırır (Douglass, 2006).

İyonizasyon işlemi sonucunda moleküller uyarılarak katı veya likit halden yüklü iyonize gaz molekülleri haline dönüştürülürler. Uçuş zamanlı kütle analizörlerinde, üretilen iyonların iyon kaynağı içerisinde dedektöre ulaşmak için sabit bir mesafeyi katetmeleri prensibi kullanılmaktadır. Bu amaçla iyonlara yaklaşık 1 metre uzunluğundaki bir tüp içerisinde hareket etmeleri için hızlandırıcı voltaj uygulanmaktadır (Biberoğlu, 2003).

Levhadan ayrılan iyonize analit molekülleri, uygulanan voltaj ile hızlandırılarak uçuş tüpü içerisinde dedektöre ulaşana kadar sürüklenirler ve kütle/ yük oranlarına (yük genellikle 1' dir) göre ayrılırlar (Posteraro vd., 2013).

Tüm moleküllere aynı kinetik enerji verildiğinden, analit moleküllerinin uçuş tüpü uzunluğunu katetme süresi, moleküllerin kütlesi ile orantılıdır. Moleküllerin uçuş zamanı, molekül ağırlıklarının belirlenmesinde kullanılır (Douglass JF, 2006). Dolayısıyla değişik kütledeki iyonlar değişik hızlarda yol alır ve dedektöre değişen zamanlarda ulaşırlar (Biberoğlu, 2003).

Dedektöre ulaşan veriler işlenerek; önceden iyi karakterize edilmiş mikroorganizmaların toplamının profilleriyle kıyaslanır, tepe noktaları 2000-20 000 arasında değişen final kütle spektrumlarıyla sonuçlanır. Kütle spektrumları türe özgü parmak izleridir, tekrarlanabilirliği yüksektir ve üreme koşullarından minimal etkilenir. İdentifikasyon için; elde edilen kütle spektrum parmak izi, uygun algoritmalar ile referans kütüphanelerdeki temel spektrumlarla kıyaslanarak yapılır (Posteraro vd., 2013).

MALDI-TOF-MS yönteminin uygulandığı dört ticari sistem bulunmaktadır. Bunlar; MALDI Biotyper, AXIMA/SARAMIS database, ANDROMAS (Andromas) ve VITEK MS (bioMe'rieux) sistemleridir (Willinger vd., 2014; Bader, 2013).

MALDI-TOF-MS yöntemi bakterilerin ve birçok mantarın tanımlanmasında hızlı ve doğru tanımlama yapabilen bir sistemdir (Willinger vd. 2014). Oldukça kısa sürede sonuç veren bir sistem olup; tek bir suş çalışıldığında yaklaşık 11 dakikada sonuçlanırken, 96 suş toplu çalışıldığında her bir izolat için yaklaşık 2,5 dakikada sonuç alınmaktadır. Yayınlarda ortalama 4-6 dakika olarak bildirilmiştir (Larone, 2011). Gram boyama, katalaz testi ve mikroskopta 100 imersiyon objektifinde morfolojik olarak tanımlandıktan sonra elde edilen koloniler MALDI-TOF MS yöntemi için Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Bursa'ya gönderildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 Dilüsyon ve Ekimler

Aseptik koşullar altında 10 g tartılan örnekler 90 mL steril %0,1 YSB dilüsyon sıvısına katılarak homojenize edilmiştir. M17 ve MRS besiyerlerinde ekimi yapılmış ve 72 saatlik inkübasyon sonrası üremiş olan mayalar ve laktik asit bakterlerinden 28 adet izolat elde edilmiştir.

4.2 Gram Boyama

Boyamaları yapılan 28 adet izolatın morfolojik olarak incelenmiş 12 adet eliptik maya 9 adet yuvarlak gram (+) kok 7 adet kısa veya uzun çubuk gram (+) basil olduğu gözlenmiştir.

4.3 Katalaz Testi

16 adet bakteri izolatının katalaz testinin yapılışı Şekil 4.11’de, sonuçları ise tablo 4.1 de verilmiştir. Tüm izolatların sonuçları gaz çıkarmamıştır ve buna bağlı olarak katalaz (-) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1 Katalaz testi yapılışı

Tablo 4.1 Katalaz test sonuçları

İzolatlar	Katalaz
1B (akB)	(-)
1K (akK)	(-)
3B (köB)	(-)
3K (köK)	(-)
4K (yğK)	(-)
6B (acB)	(-)
6K (acK)	(-)
7B (yaB)	(-)
7K (yaK)	(-)
8K (baK)	(-)
9B (övB)	(-)
10B (ylB)	(-)
10K (ylK)	(-)
11K (beK)	(-)
12B (güB)	(-)
12K (güK)	(-)

4.4 MALDI-TOF Yöntemi

Gram boyama, katalaz testi ve mikroskopta 100 imersiyon objektifinde morfolojik olarak tanımlandıktan sonra elde edilen koloniler MALDI-TOF MS yöntemi için Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Bursa' ya gönderilmiştir.

Tablo 4.2 Agarlardan tipik elde edilen 28 izolattan MALDI-TOF MS tekniğine göre identifikasyonda % 11'i (3tane) *S. thermophiles*, % 25'i (7tane) *L.delbrueckii*, %28'i (8) *Kluyveromyces marxianus*, %14'ü (4) *Saccharomyces cerevisiae*, %14'ü (4) *Staphylococcus epidermidis*, %4'ü (1) *Acinetobacter variabilis*, %4'ü (1) *Staphylococcus hominis* olarak tanımlandı.

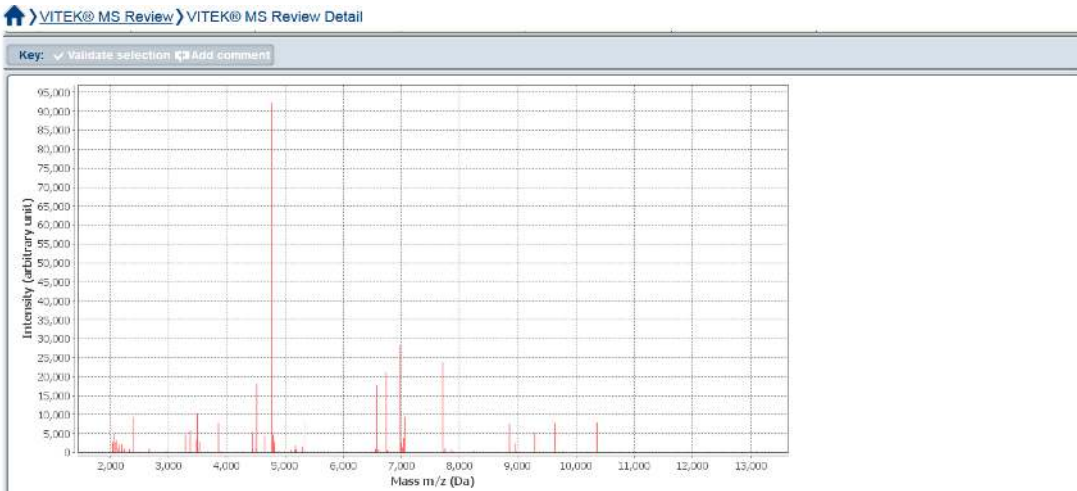
Sıra Nosu	İzolat Kodu	Morfolojisi/Gram	MALDI-TOF MS İdentifikasyon Sonuçları
1	1M (akM) AkçaburçM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
2	2M (açM) AkçagözeM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
3	3M (köM) KöksalanM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
4	4M (yğM) Yığınlı M	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
5	5M (byM) BoynaM	Maya	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
6	6M (acM) AcarobaM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
7	7M (yaM) YamaçobaM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
8	8M (baM) BayatlıM	Maya	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
9	9M (övM) ÖvündükM	Maya	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
10	10M (ylM) YalangozM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
11	11M (beM)	Maya	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

	BedirköyM		
12	12M (güM) GüngörgeM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
13	1K(akK) AkçaburçM	Kok (+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
14	3K (köK) KöksalanK	Kok (+)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
15	4K (yğK) YığınlıK	Kok (-)	<i>Acinetobacter variabilis</i>
16	6K (acK) AcarobaK	Kok (+)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
17	7K (yaK) YamaçobaK	Kok (+)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
18	8K (baK) BayatlıK	Kok (+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
19	10K (ylK) YalangozK	Kok (+)	<i>Streptococcus. thermophilus</i>
20	11K (beK) BedirK	Kok (+)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
21	12K (güK) GüngörgeK	Kok (+)	<i>Staphylococcus hominis</i>
22	1B (akB) AkçaburçB	Basil (+)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
23	3B (köB) KöksalanB	Basil (+)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
24	6B (acB) AcarobaB	Basil (+)	<i>Lactobacillus. bulgaricus</i>
25	7B (yaB) YamaçobaB	Basil (+)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
26	9B (övB)	Basil (+)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>

	ÖvündükB		
27	10B (ylB) YalangozB	Basil (+)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
28	12B (güB) GüngörgeB	Basil (+)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>



Şekil 4.2 *Streptococcus thermophilus* MALDI-TOF kütle spektrometresi



Şekil 4.3 *Lactobacillus delbrueckii* MALDI-TOF kütle spektrometresi

4.5 LAB 16S rRNA Gen Bölgesi Dizi Analizi Yöntemi ile Tanımlanması

Çalışmada; Elde edilmiş olan yoğurtlardan izole edilmiş 28 adet izolatin moleküler tanımlanması aşaması 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yöntemi (Sanger vd. 1977) ile Ankara Sentegen Firmasında iki kez tekrarlanarak doğrulanmıştır. Dizi analizinden çıkan sonuçlar NCBI gen bankasındaki referans genomlarla eşleştirilmiştir. Bu eşleştirme sonuçları tablo 4.3 te verilmiş olup 8 izolat *Kluyveromyces marxianus*, 4 izolat *Saccharomyces cerevisiae*, 7 izolat *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 3 izolat *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, 4 izolat *Staphylococcus epidermidis*, 1 izolat *Staphylococcus hominis*, 1 izolat *Acinetobacter variabilis* olarak tanımlanmıştır.

Tablo 4.3 16S rRNA Gen Bölgesi Moleküler Tanımlama Sonuçları

Sıra Nosu	İzolat Kodu	Moleküler Tanımlama Sonuçları	% Referans Genoma Benzerlik
1	1M (akM)	<i>Kluyveromyces marxianus/lactis</i>	99
2	2M (açM)	<i>Kluyveromyces marxianus/lactis</i>	95
3	3M (köM)	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	96
4	4M (yğM)	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	98
5	5M (byM)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	94
6	6M (acM)	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	98
7	7M (yaM)	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	98
8	8M (baM)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	97
9	9M (övM)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	98
10	10M (ylM)	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	99
11	11M (beM)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	94
12	12M (güM)	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	95
13	1K (akK)	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	99
14	3K (köK)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	97
15	4K (yğK)	<i>Acinetobacter variabilis</i>	97
16	6K (acK)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	97
17	7K (yaK)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	97

18	8K (baK)	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	97
19	10K (ylK)	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	97
20	11K (beK)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	98
21	12K (güK)	<i>Staphylococcus hominis</i>	95
22	1B (akB)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	96
23	3B (köB)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	97
24	6B (acB)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	95
25	7B (yaB)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	97
26	9B (övB)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	90
27	10B (ylB)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	95
28	12B (güB)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	96

Kluyveromyces marxianus culture CBS:6497 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: **KY103779.1** Length: 718 Number of Matches: 1
Range 1: 87 to 674

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1048 bits(567)	0.0()	<u>584/591(99%)</u>	5/591(0%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 15	CAACTTTGAGAGTTTGGTTAA-GCCGTATGCCTCA-GGAAACAAACACCAGCGAGTCTT	72			
Sbjct 674	CAACTTTGAGAGTTTGGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGAGTCTT	615			
Query 73	TACAACACCTATGAGTCTCTTTGACCCAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTTAAGACG	132			
Sbjct 614	TATAACACCTATGAGTCTCTTTGACCCAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTTAAGACG	555			
Query 133	TATAGTGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCAA	192			
Sbjct 554	TATAGTGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCAA	495			
Query 193	CGGCTAGCCACTTTCAGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGTT	252			
Sbjct 494	CGGCTAGCCACTTTCAGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGTT	435			
Query 253	TGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTGC	312			
Sbjct 434	TGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTGC	375			
Query 313	GTTCAAAGATTGATGATTACGAAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTCGCTG	372			
Sbjct 374	GTTCAAAGATTGATGATTACGAAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTCGCTG	315			
Query 373	CGTTCCTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATTT	432			
Sbjct 314	CGTTCCTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATTT	255			
Query 433	TATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAGA	492			
Sbjct 254	TATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAGA	195			
Query 493	CGAGCTCTCCAGGGGAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAAT	552			
Sbjct 194	CGAGCTCTCCAGGGGAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAAT	135			
Query 553	AGAAAACTGATAGCAGAGAAATCAAGAACTGGCCCGCGCAATTAAAGCGCA	603			
Sbjct 134	AGAAAA-CTGATAGCAGAGAA-TCAGAACTGG-CCGCGCAATTAAAGCGCA	87			

Şekil 4.4 1M (akM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Kluyveromyces lactis culture CBS:5689 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: **KY103739.1** Length: 722 Number of Matches: 1
Range 1: 10 to 676

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1068 bits(578)	0.0()	<u>647/678(95%)</u>	13/678(1%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 14	AACCTTTGAGAAATTTTGGTTAAGGCCGTATGCCCTCAAGGAGACAA-CACCAAGCGAGTCT	72			
Sbjct 676	AAC-TTTGAG-AGTTTGGTTAAGGCCGTATGCCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGAGTCT	619			
Query 73	TTATCTCTTCTATGAGTCTCTTTGACCCA-GCTTACCACGAATTGGCGCATACCTAAGAC	131			
Sbjct 618	TTATAACACCTATGAGTCTCTTTGACCCAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTTAAGAC	559			
Query 132	GATAGTGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA	191			
Sbjct 558	GATAGTGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA	499			
Query 192	ACGCTATGCCACTTTCAAGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGT	251			
Sbjct 498	ACGCTATGCCACTTTCAAGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGT	439			
Query 252	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTG	311			
Sbjct 438	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTG	379			
Query 312	CGTTCAAAGATTGATGATTACGAAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTGCT	371			
Sbjct 378	CGTTCAAAGATTGATGATTACGAAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTGCT	319			
Query 372	GCGTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATTT	431			
Sbjct 318	GCGTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATTT	259			
Query 432	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAAAG	491			
Sbjct 258	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAAAG	199			
Query 492	ACGAGCTCTCCAGGGGAAGTAGTTCATACAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAA	551			
Sbjct 198	ACGAGCTCTCCAGGGGAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAA	139			
Query 552	TATAAAACTGGATAGCAGAAAAATCAAGAACTGGCCCGCGCAATTAAACGCGAGGCTTGTT	611			
Sbjct 138	TAGAAAA-CT-GATAGCAGAGAAATCAAGAACTGGCCCGCGCAATTAAACGCGAGGCTTGTT	81			
Query 612	TCAGACGATTCCTCCCAACCAATCTATTTCATTCTTAATCTTTTAATGATCTCTTCCACA	671			
Sbjct 80	-CAGACGATTCCTCCCAACCAATCTATT-CATTCTAATCTTT-AAT-GAT-C-CTTCGCA	27			
Query 672	AGTTTACCTTACCGAATC	689			
Sbjct 26	GGTTACCTA-CGGAATC	10			

Şekil 4.5 2M (açM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Kluyveromyces marxianus culture CBS:2237 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence
Sequence ID: KY103821.1 Length: 694 Number of Matches: 1
Range 1: 12 to 678

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1110 bits(601)	0.0()	<u>657/681(96%)</u>	16/681(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 17	AACTTTGAAGA-ATTTGGTT-AAAGCCGTAATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGGGTCT	74			
Sbjct 678	AACTTTG-AGAGTTTGGTTAAAGCCGT-ATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGAGTCT	621			
Query 75	TTATAAAACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTTAAGAC	134			
Sbjct 620	TTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTTAAGAC	561			
Query 135	GTAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA	194			
Sbjct 560	GTAGATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA	501			
Query 195	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	254			
Sbjct 500	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	441			
Query 255	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	314			
Sbjct 440	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	381			
Query 315	CGTTCAAAGATTGATGATTCAAGAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTCGCT	374			
Sbjct 380	CGTTCAAAGATTGATGATTCAAGAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTCGCT	321			
Query 375	GCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATT	434			
Sbjct 320	GCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATT	261			
Query 435	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAG	494			
Sbjct 260	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAG	201			
Query 495	ACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTATAGGATGAGA	554			
Sbjct 200	ACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTATAGAGAAAAAA-CTCCATTGTGTTT-AGGATGAGA	143			
Query 555	AAATAAAAAAACTGAATAGCAGAGAAATCAAGAAATTGGCCCGCGCAATTAAAGCGCAA	614			
Sbjct 142	AA-TAGAAAA-CTGA-TAGCAGAGAA-TCAAGAACT--GGCC-GCGCAA-TTAAGCGCAG	91			
Query 615	GCCTTGTTTCAGACGATTCCTCCAGCAATCTATTCAATTCATAATCTTTAATGATCCCTTC	674			
Sbjct 90	GCCTTGTT-CAGACGATTCCTCCAGCAATCTATTCAATTCATAATCTTTAATGATCC-TTC	33			

Şekil4.6 3M (köM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Kluyveromyces marxianus strain AUMC 7259 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: JQ425346.1 Length: 725 Number of Matches: 1
Range 1: 2 to 668

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1160 bits(628)	0.0()	<u>659/673(98%)</u>	6/673(0%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 15	AAACTTTGAGAGTTTTTGGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGGGTCT	74			
Sbjct 668	AAACTTTGAGAGTTTTT-GGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGAGTCT	610			
Query 75	TTATAATACCAATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTTAAGAC	134			
Sbjct 609	TTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTTAAGAC	550			
Query 135	GTAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA	194			
Sbjct 549	GTAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA	490			
Query 195	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	254			
Sbjct 489	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	430			
Query 255	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	314			
Sbjct 429	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	370			
Query 315	CGTTCAAAGATTGATGATTCAAGAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTCGCT	374			
Sbjct 369	CGTTCAAAGATTGATGATTCAAGAAAATCTGCAATTACAAATACATATCGCAATTCGCT	310			
Query 375	GCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATT	434			
Sbjct 309	GCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAATT	250			
Query 435	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAG	494			
Sbjct 249	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTT-GTGTTTATGTCCACTGGAGAG	192			
Query 495	AGACGAGCTCTCCAGGGAAGTAATTCATAAAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGA	554			
Sbjct 191	AGACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGA	132			
Query 555	AATAAGAAAACTGATAGCATAGAATCAAGAAATTGGCCCGCGCAATTAAAGCGCAGGCCTTGT	614			

Şekil 4.7 4M (yğM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Saccharomyces cerevisiae strain TU121 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

Sequence ID: KU535602.1 Length: 818 Number of Matches: 1
Range 1: 459 to 726

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
401 bits(217)	5e-108()	<u>254/271(94%)</u>	5/271(1%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 11	ATAAAAAATGATTAAATCCGCGAGTTGGAAAAACCTAAAAACGACCGGTACTTGCAATTATACC	70			
Sbjct 726	ATAAAAA--GATT-AGCCGCGAGTTGGTAAAACTAAAAACGACCG-TACTTGCAATTATACC	670			
Query 71	TCAAGCAGCA-AGAAACCTCTCTTTGGAAAAAATCATCCAATGAAAAGGCCACCAA	129			
Sbjct 669	TCAAGCAGCAGAGAAACCTCTCTTTGGAAAAAATCATCCAATGAAAAGGCCAGCAA	610			
Query 130	TTTCAATTTAACTCCAAA-ATTATCACTCACTACAAAACAAATGTTTAAAAAGAAATG	188			
Sbjct 609	TTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAACAAATGTTTGAAAAGGAAATG	550			
Query 189	ACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGAAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCA	248			
Sbjct 549	ACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTG	490			
Query 249	ATGATTACAGAAATCTGCAATTCACCTTTAC	279			
Sbjct 489	ATGATTACAGGAATCTGCAATTCACATTAC	459			

Şekil 4.8 5M (byM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Kluyveromyces marxianus culture CBS:2173 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KY103810.1 Length: 720 Number of Matches: 1
Range 1: 4 to 681

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1175 bits(636)	0.0()	<u>667/681(98%)</u>	5/681(0%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 7	ATTGCGGTC-ACCTTTGAAGAGTTTGGTTAA-GCCGTATGCTCAGGAGACAAACAC	64			
Sbjct 681	ATTGAGGTCAAACCTTG-AGAGTTTGGTTAAAGCCGTATGCCCTAAGGAGACAAACAC	623			
Query 65	CAGCGGGTCTTTATAACTCCAATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCA	124			
Sbjct 622	CAGCGAGTCTTTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCA	563			
Query 125	AACCTAAGACGTAAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCAC	184			
Sbjct 562	AACCTAAGACGTAGATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCAC	503			
Query 185	GCAGATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA	244			
Sbjct 502	GCAGATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA	443			
Query 245	ACCCAAAGGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAACAGGCATGCCCTTGGAAATACAGAGG	304			
Sbjct 442	ACCCAAAGGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAACAGGCATGCCCTTGGAAATACAGAGG	383			
Query 305	GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTGATGATTACAAAAATCTGCAATTCACAATACATATC	364			
Sbjct 382	GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTGATGATTACAAAAATCTGCAATTCACAATACATATC	323			
Query 365	GCAATTGCGTGCCTTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGA	424			
Sbjct 322	GCAATTGCGTGCCTTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGA	263			
Query 425	ATATTAAATTTTATAGTATAATAGTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTC	484			
Sbjct 262	ATATTAAATTTTATAGTATAATAGTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTTATGTC	203			
Query 485	CACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGTTTA	544			
Sbjct 202	CACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGTTTA	143			
Query 545	GGATGAGAAATAGAAAACTGATAGCAGAGAAATCAAGAAATGGCCGCGCAATTAAAGCGCA	604			
Sbjct 142	GGATGAGAAATAGAAAACTGATAGCAGAGAAATCAAGAAATGGCCGCGCAATTAAAGCGCA	84			
Query 605	GGCCTTGTTCAGACGATTCGCCAGCAATCTATTCAATTCATAAATCTTTAAATGATCCTT	664			
Sbjct 83	GGCCTTGTTCAGACGATTCGCCAGCAATCTATTCAATTCATAAATCTTTAAATGATCCTT	25			
Query 665	CCGCAGGTTACCTACGGAAA	685			
Sbjct 24	CCGCAGGTTACCTACGGAAA	4			

Şekil4.9 6M (acM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Kluyveromyces marxianum strain VM004 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 2, and 28S ribosomal RNA gene, complete sequence
Sequence ID: KY421190.1 Length: 645 Number of Matches: 1
Range 1: 76 to 625

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
953 bits(516)	0.0()	<u>540/551(98%)</u>	4/551(0%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 7	ATTT-AGGTCAACTTTGAAAAGTTTGGTTAAAGCCGTATGCOCTCAAGGAGACAAACACCA	65			
Sbjct 625	ATTTGAGGTCAACTTTGAGAGTTTGGTTAAAGCCGTATGCOCTCAAGGAGACAAACACCA	566			
Query 66	GCGGGTCTTTATCA-ACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACACGAATTGGCGGCA	124			
Sbjct 565	GCGAGTCTTTATACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACACGAATTGGCG-CAA	507			
Query 125	ACCTAAGACGTAAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACAAGCAGCCCTGCTCAG	184			
Sbjct 506	ACCTAAGACGTAGATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACAAGCAGCCCTGCTCAG	447			
Query 185	CAGATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA	244			
Sbjct 446	CAGATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA	387			
Query 245	CCCAAAGGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGG	304			
Sbjct 386	CCCAAAGGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGG	327			
Query 305	CGCAATGTGCGTTCAAGGATTTGATGATTCACGAAAATCTGCAATTCACAATACATATCG	364			
Sbjct 326	CGCAATGTGCGTTCAAGGATTTGATGATTCACGAAAATCTGCAATTCACAATACATATCG	267			
Query 365	CAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGA	424			
Sbjct 266	CAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGA	207			
Query 425	TATTAAATTTTATAGTATAAATCTTTTCATAATAACAA-TATTGTTTGTGTTTATGTCC	483			
Sbjct 206	TATTAAATTTTATAGTATAAATCTTTTCATAATAACAAATATTGTTTGTGTTTATGTCC	147			
Query 484	ACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAGTAGTTTCATAGAAAAATCTCCATTGTGTTTAG	543			
Sbjct 146	ACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAGTAGTTTCATAGAAAAATCTCCATTGTGTTTAG	87			
Query 544	GATGAGAAATA	554			
Sbjct 86	GATGAGAAATA	76			

Şekil4.10 7M (yaM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Saccharomyces cerevisiae strain JM internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence
Sequence ID: KT962206.1 Length: 730 Number of Matches: 1
Range 1: 12 to 511

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
846 bits(458)	0.0()	<u>487/501(97%)</u>	2/501(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 16	AATTTTAAGAA-ATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTTCCAATACGCT	74			
Sbjct 12	AACTTTAAGAACATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTTCCAATACGCT	71			
Query 75	CCGTATAAAAAAGATTAGCCGCGAGTTGGTAAACCTAAAAACGACCGTACTTGCAATTATAC	134			
Sbjct 72	CAGTATAAAAAAGATTAGCCGCGAGTTGGTAAACCTAAAAACGACCGTACTTGCAATTATAC	131			
Query 135	CTCAAGCACGCGAGAGAAACCTCTCTTTGGAAAAAACAATCCAAATGAAAAGGCCAGCA	194			
Sbjct 132	CTCAAGCACGCGAGAGAAACCTCTCTTTGGAAAAAACAATCCAAATGAAAAGGCCAGCA	191			
Query 195	ATTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAACAAATGTTTGTATAGGGAAG	254			
Sbjct 192	ATTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAACAAATGTTTGTATAGGGAAT	251			
Query 255	GACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT	314			
Sbjct 252	GACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT	311			
Query 315	AATGATTACGGAAATCTGCAATTCACATTACGTATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATCG	374			
Sbjct 312	GATGATTACGGAAATCTGCAATTCACATTACGTATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATCG	371			
Query 375	ATGCGAAAAACCAAGAAACCGTTGTTGaaagtgttttaataatttttaaaatttcaagtta	434			
Sbjct 372	ATGCGAGAAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTTAATATTTTAAATTTCCAGTTAC-	430			
Query 435	aaaaattcttgtttttgacaaaaatttaaatGAATAGATAAAAATTGTTGTGTTTGTTAAC	494			
Sbjct 431	AAAAATCTTGTGTTTGGACAAAAATTAATGAATAGATAAAATGTTTGTGTTTGTTAAC	490			
Query 495	CTCTGGGCCCCGATGGCTCGA	515			
Sbjct 491	CTCTGGGCCCCGATTGCTCGA	511			

Şekil 4.11 8M (baM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Saccharomyces cerevisiae strain Chicha 01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KC183722.1 Length: 846 Number of Matches: 1

See 1 more title(s)
Range 1: 12 to 788

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1338 bits(724)	0.0()	<u>763/780(98%)</u>	9/780(1%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 11	ACTTT-AG-ACATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTATCGATAACGTTCCAAATACGCTC	68			
Sbjct 788	ACTTTTAGAACATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTATCGATAACGTTCCAAATACGCTC	729			
Query 69	AGTATAAAAAAGATTAGCCGCGAGTTGGTAAAACCTAAAACGACCGTACTTGCATTATACC	128			
Sbjct 728	AGTATAAAAAAGATTAGCCGCGAGTTGGTAAAACCTAAAACGACCGTACTTGCATTATACC	669			
Query 129	TCAAGCAGCGAGAGAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCCAATGAAAAGGCCAGCAA	188			
Sbjct 668	TCAAGCAGCGAGAGAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCCAATGAAAAGGCCAGCAA	609			
Query 189	TTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAAGAGGAAATG	248			
Sbjct 608	TTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTTGAAGAGGAAATG	549			
Query 249	ACGCTCAAAACAGGATGCCCCCTGGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAGAGATTG	308			
Sbjct 548	ACGCTCAAAACAGGATGCCCCCTGGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAGAGATTG	489			
Query 309	ATGATTCAAGGAATTCGCAATTCACATTACGTATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATCGA	368			
Sbjct 488	ATGATTCAAGGAATTCGCAATTCACATTACGTATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATCGA	429			
Query 369	TGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGGTGAAGGTTTTTAATATTTTAAAAATTTCCAGTTACAA	428			
Sbjct 428	TGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGGTGAAGGTTTTTAATATTTTAAAAATTTCCAGTTACAA	369			
Query 429	AAATTCCTTGTGTTTGAAGAAATTTAATGAATAGATAAAATTTGTTTGTGTTTGTAAACCT	488			
Sbjct 368	AAATTCCTTGTGTTTGAAGAAATTTAATGAATAGATAAAATTTGTTTGTGTTTGTAAACCT	309			
Query 489	CTGGGCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAGAAAAAGTTGCAAGAGATATGAAGAACTCCACAG	548			
Sbjct 308	CTGGGCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAGAAAAAGTTGCAAGAGATATGAAGAACTCCACAG	249			
Query 549	TGTGTTGTATTTGAAGAGGTTTTTAATTTGCTCTATACAAAAACACAGAAATCTCTCACCGT	608			
Sbjct 248	TGTGTTGTATTTGAAGAGGTTTTTAATTTGCTCTATACAAAAACACAGAAATCTCTCACCGT	189			
Query 609	TTGGAATAGCAAGAAAGAAACTTACAAAGCCTAGCAAGACCGCGCACTTAAAGCGCAGGCC	668			
Sbjct 188	TTGGAATAGCAAGAAAGAAACTTACAAAGCCTAGCAAGACCGCGCACTTAAAGCGCAGGCC	129			
Query 669	GGGCTGGACTCT-CATCTCTTGTCTCTCTTGGCCAGTAAA-GCTCTCATGCTCT-G-CAAA	724			
Sbjct 128	GG-CTGGACTCTCCATCTCTTGTCTCTCTTGGCCAGTAAAAGCTCTCATGCTCTTGGCACA	70			
Query 725	ACAAAAAATTCATTTTCAAAATTTTAAAAATTTCTCTAAGATACCCCTTCGCGAGGTT	784			
Sbjct 69	ACAAAAAATTCATTTTCAAAATTTTAAAAATTTCTCTAAGATACCCCTTCGCGAGGTT	12			

Şekil 4.12 9M (övM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Kluyveromyces marxianus strain Y8-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KF646163.1 Length: 692 Number of Matches: 1
Range 1: 1 to 649

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1181 bits(639)	0.0()	<u>646/649(99%)</u>	2/649(0%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 12	ACTTTGAGAG-TTTGGTT-AAGCCGTATGCCCTCAGGAGACAAAACCCAGCGGCTCTTTA	69			
Sbjct 649	ACTTTGAGAGTTTGGTTAAAGCCGTATGCCCTCAGGAGACAAAACCCAGCGAGTCTTTA	590			
Query 70	TAAACCTATGAGTCTCTATGACCAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTAAGACGTA	129			
Sbjct 589	TAAACCTATGAGTCTCTATGACCAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTAAGACGTA	530			
Query 130	GATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTCACGCAGATGGCAACG	189			
Sbjct 529	GATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTCACGCAGATGGCAACG	470			
Query 190	GCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCAAGGTTTG	249			
Sbjct 469	GCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCAAGGTTTG	410			
Query 250	AGAGAGAAATGACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT	309			
Sbjct 409	AGAGAGAAATGACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT	350			
Query 310	TCAAAGATTGATGATTACAGAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCAATTGCGTGCG	369			
Sbjct 349	TCAAAGATTGATGATTACAGAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCAATTGCGTGCG	290			
Query 370	TTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTGAATATTAAATTTTA	429			
Sbjct 289	TTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTGAATATTAAATTTTA	230			
Query 430	TAGTATAATAGTTTTTCAATAACAAAATATGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAGACG	489			
Sbjct 229	TAGTATAATAGTTTTTCAATAACAAAATATGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAGACG	170			
Query 490	AGCTCTCCAGGGAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGTTTAGGATGAGAAATAG	549			
Sbjct 169	AGCTCTCCAGGGAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGTTTAGGATGAGAAATAG	110			
Query 550	AAACCTGATAGCAGAGAAATCAAGAAATTGGCCGCGCAATTAAGCGCAGGCCCTTGTTCAGAC	609			
Sbjct 109	AAACCTGATAGCAGAGAAATCAAGAAATTGGCCGCGCAATTAAGCGCAGGCCCTTGTTCAGAC	50			
Query 610	GATTCCCCCAGCAATCTATTCAATTCATAATCTTTAATGATCCTTCGCA	658			
Sbjct 49	GATTCCCCCAGCAATCTATTCAATTCATAATCTTTAATGATCCTTCGCA	1			

Şekil 4.13 10M (yİM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Saccharomyces cerevisiae strain ADJ1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KX904345.1 Length: 925 Number of Matches: 1
Range 1: 527 to 881

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
529 bits(286)	3e-146()	<u>333/355(94%)</u>	6/355(1%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 5	ATTTTAGGTTAACTTTAA-AACATTGTTTCGCCAAGA-TCTCTCTTCTTATCGATAACGTT	62			
Sbjct 881	ATTTGAGGTCAACTTTAAGAACATTGTTTCGCCCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTT	822			
Query 63	CCAATACGCTC-CTAAATAAAGA-TAGCCGCGAGTTGGTAAA-CCTAAAAACGACCGTACT	119			
Sbjct 821	CCAATACGCTCAGTATAAAAAAGATTAGCCGCGAGTTGGTAAAACCTAAAAACGACCGTACT	762			
Query 120	TGCATTATAC-TAAAGCACGCAGAGAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCAATGAA	178			
Sbjct 761	TGCATTATACCTCAAGCACGCAGAGAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCAATGAA	702			
Query 179	AAGGCCAGCTTTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAAAGAATGTTTG	238			
Sbjct 701	AAGGCCAGCAATTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAACAGAATGTTTG	642			
Query 239	AGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT	298			
Sbjct 641	AGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT	582			
Query 299	TCAAAAATTCGATGATTACGGATTTCTGCATTTACATTACATATCGAATTTTCG	353			
Sbjct 581	TCAAAGATTTCGATGATTACGGATTTCTGCATTTACATTACATATCGAATTTTCG	527			

Şekil 4.14 11M (beM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Kluyveromyces marxianus strain ZT-Kma.10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KM921932.1 Length: 899 Number of Matches: 1
Range 1: 188 to 825

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
691 bits(374)	0.0()	<u>418/438(95%)</u>	8/438(1%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 8	TTGGGGT-AAATTTTAAGAATTTTGGTTAA-GCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACGAG	65			
Sbjct 625	TTGAGGTCAAACTTTGAGAGTTTGGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCGAG	566			
Query 66	CGGGTCTTT-CACCCCTATGAGTCTCTATGACCC-TGCTTACCACGAATGGGCGCAA-C	122			
Sbjct 565	CGGGTCTTTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATGGGCGCAAAC	506			
Query 123	CTAAGACGTAAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGC-TCCCTGCTCAGGCA	181			
Sbjct 505	CTAAGACGTAGATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCAGGCA	446			
Query 182	GATGGCAACGGCTAGCCACTTTCA-GTTAACCCGAAACGAGTATCACTCACTACCAAAAC	240			
Sbjct 445	GATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAAC	386			
Query 241	CAA-GGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCG	299			
Sbjct 385	CAAAGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCG	326			
Query 300	CAATGTGCGTTCAAAGATTGTGATGATTACGAAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCA	359			
Sbjct 325	CAATGTGCGTTCAAAGATTGTGATGATTACGAAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCA	266			
Query 360	ATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATA	419			
Sbjct 265	ATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATA	206			
Query 420	TTAAATTTTATAGTATAA	437			
Sbjct 205	TTAAATTTTATAGTATAA	188			

Şekil 4.15 12M (güM) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Streptococcus thermophilus strain TW55-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KJ02686.1 Length: 1410 Number of Matches: 1
Range 1: 475 to 1402

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1653 bits(895)	0.0()	924/936(99%)	9/936(0%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 10		ACTTAGGCGCTGGCTC-AAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGG			68
Sbjct 1402		ACTTAGGCGCTGGCTC-AAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGG			1343
Query 69		TGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAAAGTATTACCGCGGCGTGTCTGATCCGCGA			129
Sbjct 1342		TGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAAAGTATTACCGCGGCGTGTCTGATCCGCGA			1283
Query 129		TTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTTCAGCCCTACAATCCGAACTGAGATTGG			188
Sbjct 1282		TTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTTCAGCCCTACAATCCGAACTGAGATTGG			1223
Query 189		CTTTAGAGATTAGCTCGCCGTCACCGACTTCGAACTCGTTGTACCAACCATTTGTAGCAC			248
Sbjct 1222		CTTTAGAGATTAGCTCGCCGTCACCGACTTCGAACTCGTTGTACCAACCATTTGTAGCAC			1163
Query 249		GTGTGTAGCCCGAGGTATAGAGGGGATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGT			308
Sbjct 1162		GTGTGTAGCCCGAGGTATAGAGGGGATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGT			1103
Query 309		TTATTACCGCACTCTCGCTAGAGTGCCCAACTGAATGATGGCAACTAAACAATAGGGGTT			368
Sbjct 1102		TTATTACCGCACTCTCGCTAGAGTGCCCAACTGAATGATGGCAACTAAACAATAGGGGTT			1043
Query 369		GCGCTCGTTTCGGGACTTAACCCAACTCTCACGACACGAGCTGACGACAAACATGACCC			428
Sbjct 1042		GCGCTCGTTTCGGGACTTAACCCAACTCTCACGACACGAGCTGACGACAAACATGACCC			983
Query 429		ACCTGTACCGGATGTACCGAAGTAACTTTTATCTCTAGAAATAGCATCGGGATGTCAAAG			488
Sbjct 982		ACCTGTACCGGATGTACCGAAGTAACTTTTATCTCTAGAAATAGCATCGGGATGTCAAAG			923
Query 489		ACCTGTAGAGGTTCTTCGCGTTCGCTTCGAATTAACCAACATGCTCCACCGCTTGTGCGGG			548
Sbjct 922		ACCTGTAGAGGTTCTTCGCGTTCGCTTCGAATTAACCAACATGCTCCACCGCTTGTGCGGG			863
Query 549		CCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGTTCGACTCCCGAGGCGAGTGTCTAA			608
Sbjct 862		CCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGTTCGACTCCCGAGGCGAGTGTCTAA			803
Query 609		TGCGTTAGCTTCGCGCACTGAATCCCGAAGGATCCAAACACTAGCACTCATCGTTTACG			668
Sbjct 802		TGCGTTAGCTTCGCGCACTGAATCCCGAAGGATCCAAACACTAGCACTCATCGTTTACG			743
Query 669		GCGTGAAGTACCGAGGATCTTAATCTGTTTCGCTCCCGACGCTTTTCGAGCTTCAGCGTCA			728
Sbjct 742		GCGTGAAGTACCGAGGATCTTAATCTGTTTCGCTCCCGACGCTTTTCGAGCTTCAGCGTCA			683
Query 729		GTTACAGAACAGAGAGCCGCTTTTCGCCACCGGTGTTCCTTCATATATCTACGCATTTTAC			788
Sbjct 682		GTTACAGAACAGAGAGCCGCTTTTCGCCACCGGTGTTCCTTCATATATCTACGCATTTTAC			623
Query 789		CGCTTACATGGAATTCCTACTCTCCCTTCTTCGACTCAAGTTTGAACAGTTTCCAAAGC			848
Sbjct 622		CGCTTACATGGAATTCCTACTCTCCCTTCTTCGACTCAAGTTTGAACAGTTTCCAAAGC			565
Query 849		GAACATATGGTTGAGCCACAGCTTTTAAACTTCAGACTTATCAAAACCGCCCTGCGGCTCCG			908
Sbjct 564		GAACATATGGTTGAGCCACAGCTTTTAAACTTCAGACTTATCAAAACCGCCCTGCGGCTCCG			509
Query 909		CTTTTACCGCCATTAAATCCCGAACACGCTCCGGGA 944			
Sbjct 508		CTTTTACCGCCATTAAATCCCGAACACGCTCCGGGA 475			

Şekil 4.16 1K (akK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Staphylococcus epidermidis strain SEI, complete genome
Sequence ID: CP009046.1 Length: 2500626 Number of Matches: 6
Range 1: 730226 to 731127

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1519 bits(822)	0.0()	885/911(97%)	22/911(2%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 8		CCA-CTTCGA-GGCTAGCTCCAAATGGTTACTTCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTC			65
Sbjct 730226		CCACCTTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTTCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTC			730285
Query 66		GTGGTGTGACGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAAAGTATTACCGTAGCATGCTGATCT			125
Sbjct 730286		GTGGTGTGACGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAAAGTATTACCGTAGCATGCTGATCT			730345
Query 126		ACGATTACTAGCGATTTCAGCTTCATATAGTGGAGTTGCAAGCTACAAATCCGAACTGAGA			185
Sbjct 730346		ACGATTACTAGCGATTTCAGCTTCATATAGTGGAGTTGCAAGCTACAAATCCGAACTGAGA			730405
Query 186		ACAACTTTATGGGATTTGCTTGACCTTCGCGTTCGCTGCTTCCTTTGTATTTGTCATTGTA			245
Sbjct 730406		ACAACTTTATGGGATTTGCTTGACCTTCGCGTTCGCTGCTTCCTTTGTATTTGTCATTGTA			730465
Query 246		GCACGTGTGTAGCCCAAAATCATAGGGGGCATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCCTC			305
Sbjct 730466		GCACGTGTGTAGCCCAAAATCATAGGGGGCATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCCTC			730525
Query 306		CGGTTTGTCAACGGGAGTCAACTTAGAGTGCCTCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAGG			365
Sbjct 730526		CGGTTTGTCAACGGGAGTCAACTTAGAGTGCCTCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAGG			730585
Query 366		GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACTTCACGACACGAGCTGACGACACACCATG			425
Sbjct 730586		GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACTTCACGACACGAGCTGACGACACACCATG			730645
Query 426		CACCACCTGTCACTCTGTCCGCCGAGGGGGAAAACCTCTATCTCTAGAGGGGTCAGAGGAT			485
Sbjct 730646		CACCACCTGTCACTCTGTCCGCCGAGGGGGAAAACCTCTATCTCTAGAGGGGTCAGAGGAT			730705
Query 486		GTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCTTCGAAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTG			545
Sbjct 730706		GTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTCGCTTCGAAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTG			730765
Query 546		TGCGGGTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGGTGTAATCCCGAGGCGGAGT			605
Sbjct 730766		TGCGGGTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGGTGTAATCCCGAGGCGGAGT			730825
Query 606		GCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCG			665
Sbjct 730826		GCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCG			730885
Query 666		TTTACGGCGTGGACTACCA-GGTATCTTAATCTGTTTGAATCCCGACGCTTTTCGACATCA			724
Sbjct 730886		TTTACGGCGTGGACTACCA-GGTATCTTAATCTGTTTGAATCCCGACGCTTTTCGACATCA			730945
Query 725		GGCTCACTTACAGACCAAGAGTCCGCTTCGCC-AGTGG-TGTTCCCATATCTCTGCG			782
Sbjct 730946		GGCTCACTTACAGACCAAGAGTCCGCTTCGCC-AGTGG-TGTTCCCATATCTCTGCG			731003
Query 783		CA-TTCACCGCTACACATGGAAATTCACCTTTC-TCTTCTGCACCTCA-GTTTTTC-AGTTT			838
Sbjct 731004		CATTTTCACCGCTACACATGGAAATTCACCTTTCCTCTCTCTGAC-TCAAGTTTTCCAGTTT			731062
Query 839		CCA-TGACCTTCACCGGGTTGA-CCATGGGGGCTTCACATCCAGACCTTAAAGAC-CC-			894
Sbjct 731063		CCAATGACCTTCAC-GG-TTGAGCCGTTGG-CTTTCACATC-AGAC-TTAAAGAACCGCC			731117
Query 895		TACGCGCGGCT 905			
Sbjct 731118		TACGCGC-GCT 731127			

Şekil 4.17 3K (köK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Acinetobacter sp. ACNIH1 chromosome, complete genome
Sequence ID: CP026420.1 Length: 3307251 Number of Matches: 7
Range 1: 231558 to 232504

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1609 bits(871)	0.0()	929/953(97%)	20/953(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 11	ACCGAGGT-AAGCTCTT-CCT-AGGTTAGACTACCTACTTCTGGTGCACAACTCCCAT				67
Sbjct 232504	ACCGTGGTAAAGCTCTCTCCCTAAGGTTAGACTACCTACTTCTGGTGCACAACTCCCAT				232445
Query 68	GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAACGATATTCAACGGCGCATTTCTGATCCGC				127
Sbjct 232444	GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAACGATATTCAACGGCGCATTTCTGATCCGC				232385
Query 128	GATTACTAGCGATTCCGACTTCACGCACTCGAGTTGCGAGCTGCGATCCGGACTACGATC				187
Sbjct 232384	GATTACTAGCGATTCCGACTTCACGCACTCGAGTTGCGAGCTGCGATCCGGACTACGATC				232325
Query 188	GGCTTTTGAAGATTAGCATCTGCTCGCGCAGTAGCAACCCCTTTGTACCGACCATTTGTAGC				247
Sbjct 232324	GGCTTTTGAAGATTAGCATCTGCTCGCGCAGTAGCAACCCCTTTGTACCGACCATTTGTAGC				232265
Query 248	ACGTGTGTAGCCCTGGCCGTAAAGGCCCATGATGACTTGAACGTCTGCTCCCGCTTTCCTCCA				307
Sbjct 232264	ACGTGTGTAGCCCTGGCCGTAAAGGCCCATGATGACTTGAACGTCTGCTCCCGCTTTCCTCCA				232205
Query 308	GTGTGTCACTGGCAGTATCTTTAAGTTTCCCAACCGAAGTGTGCGCAAAATAGGGAAGAG				367
Sbjct 232204	GTGTGTCACTGGCAGTATCTTTAAGTTTCCCAACCGAAGTGTGCGCAAAATAGGGAAGAG				232145
Query 368	GTTCGCTCTGTTTCGGGACTTAAACCAACATCTTCACGACACGAGCTGACGACACGATGC				427
Sbjct 232144	GTTCGCTCTGTTTCGGGACTTAAACCAACATCTTCACGACACGAGCTGACGACACGATGC				232085
Query 428	AGCACCCTGTATCAGAGTTCCCGAAGGACCAATCCATCTCTGGAAAGTTCTCTGTATGTC				487
Sbjct 232084	AGCACCCTGTATCAGAGTTCCCGAAGGACCAATCCATCTCTGGAAAGTTCTCTGTATGTC				232025
Query 488	AAAGCCAGGTAAAGTTCTTTCGCTTGCATCGAATTAAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGC				547
Sbjct 232024	AAAGCCAGGTAAAGTTCTTTCGCTTGCATCGAATTAAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGC				231965
Query 548	GGGCCCCCGTCAATTCAATTGAGTTTGTAGTCTTGCAGACCGTACTTCCCGAGGCGGTCTACT				607
Sbjct 231964	GGGCCCCCGTCAATTCAATTGAGTTTGTAGTCTTGCAGACCGTACTTCCCGAGGCGGTCTACT				231905
Query 608	TATCGCTTATGCTGCGCCACTTAAAGCCCTCAAGGGCCCCAACGGCTAGTAGACATCGTTTA				667
Sbjct 231904	TATCGCTTATGCTGCGCCACTTAAAGCCCTCAAGGGCCCCAACGGCTAGTAGACATCGTTTA				231845
Query 668	CGGCATGGAATACCAAGGATATCTAATCTCTGTTTGCCTCCCATGCTTTCGACCTCAAGTGT				727
Sbjct 231844	CGGCATGGAATACCAAGGATATCTAATCTCTGTTTGCCTCCCATGCTTTCGACCTCAAGTGT				231785
Query 728	CAGTATTAG-CCAGATGGCTGCTTTCGCCATCGGGTATTCCTTCCAGATCTCTACGCAAT				786
Sbjct 231784	CAGTATTAGCCAGATGGCTGCTTTCGCCATCGG-TATTCC-TCCAGATCTCTACGCAAT				231727
Query 787	TCACCGCTACACCTGGAATCTTACCATC-TCTTCCATACCTCTAGCTAAACCAATACGGA				845
Sbjct 231726	TCACCGCTACACCTGGAATCTTACCATCCTCTCCCATACCTCTAGCTAAACCAATACGGA				231668
Query 846	TGCA-TTCC-AAG-TAAGCTCGGGGATTTACATTGGGACT-A-T-AGCCACCTAACGCG				899
Sbjct 231667	TGCAATTCCCAAGTTAAGCTCGGGGATTTACATTGGGACTA-TAATTAGCCACCTA-CG-CG				231610
Query 900	CGCTTTACGCCAGT-TAATCCGATTAAAGCTTGCACCCCTCTGTATTACCGCG				949
Sbjct 231609	CGCTTTACGCCAGT-TAATCCGATTAAAGCTTGCACCCCTCTGTATTACCGCG				231558

Şekil 4.18 4K (ygK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Staphylococcus epidermidis strain UERSG70 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KU981249.1 Length: 844 Number of Matches: 1
Range 1: 53 to 834

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1308 bits(707)	0.0()	773/801(97%)	20/801(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 14	TTTGAAGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGT				73
Sbjct 834	TTTGAAGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGT				775
Query 74	GCGAAAGGCGGTGTGTACAAAGACCCGGGAAACGATTTACCCGTAGCATGCTGATCTACGAT				133
Sbjct 774	GTCAGGCGGTGTGTGTACAAAGACCCGGGAAACGATTTACCCGTAGCATGCTGATCTACGAT				715
Query 134	TACTAGCGATTCCAGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAAATCCGAACGTAGGAACAAAC				193
Sbjct 714	TACTAGCGATTCCAGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAAATCCGAACGTAGGAACAAAC				655
Query 194	TTTATGGGATTTGCTTTCACCTCGCGGTTTCGCTGCCCCCTTGTATTGTCCATTGTAGCACG				253
Sbjct 654	TTTATGGGATTTGCTTTCACCTCGCGGTTTCGCTGCCCCCTTGTATTGTCCATTGTAGCACG				595
Query 254	TGTGTAGCCCAATCATAAGGGGATGATGATTGACGTCATCCCGACCTTCCCTCGGTT				313
Sbjct 594	TGTGTAGCCCAATCATAAGGGGATGATGATTGACGTCATCCCGACCTTCCCTCGGTT				535
Query 314	TGTCACCGGCGAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTG				373
Sbjct 534	TGTCACCGGCGAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTG				475
Query 374	CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCCAACATCTCAACGACACGAGCTGACGACAAACATGACACCA				433
Sbjct 474	CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCCAACATCTCAACGACACGAGCTGACGACAAACATGACACCA				415
Query 434	CCTGTCACTCTGTCCCCCGAAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGATCAGAGGATGTCAA				493
Sbjct 414	CCTGTCACTCTGTCCCCCGAAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGATCAGAGGATGTCAA				355
Query 494	GATTTGGTAAAGTTCTTTCGCGTTGCTTTCGAATTAAACCAATGCTTCCACCGCTTGTGCGG				553
Sbjct 354	GATTTGGTAAAGTTCTTTCGCGTTGCTTTCGAATTAAACCAATGCTTCCACCGCTTGTGCGG				295
Query 554	GTCCCCGTCAATTTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTCTGACTCCCGAGGCGGAGTGCTTA				613
Sbjct 294	GTCCCCGTCAATTTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTCTGACTCCCGAGGCGGAGTGCTTA				235
Query 614	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAAGGGGCGGAAACCCCTTAACACTTAGCACTCATCGTTTA				673
Sbjct 234	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAAGGGGCGGAAACCCCT-TAACACTTAGCACTCATCGTTTA				176
Query 674	CCGCGTG-ACTACCGGTTATCTAATCCCTGTTTGATCCCCACGCTTTTCGCCACATCA				732
Sbjct 175	CCGCGTGAGACTACCGGTTATCTAATCC-TGTTTGATCCCC-ACGCTTT-CG-CACATCA				120
Query 733	ACGTCAAGTTACAGAACAGAAAGTCCGCCCTTCGCCCCATGGTGTTCCTCCCATTA				792
Sbjct 119	GCGTCAAGTTACAGA-CCAGAAA-GTC-GCC-TT-CGCCAC-T-GGTGTT-CCTCC-AT-A				70
Query 793	TCTTCTTGGCGCCATTTACCC		813		
Sbjct 69	TCT-CT-G-CGC-ATTTCACC		53		

Şekil 4.19 6K (acK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Staphylococcus epidermidis strain T-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: HQ202847.1 Length: 1455 Number of Matches: 1
 Range 1: 563 to 1447

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1485 bits(804)	0.0()	865/890(97%)	22/890(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 12		TCAAATTCGACGGCTAGCTC-AAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTACAAACTCTCTG			70
Sbjct 1447		TCAAATTCGACGGCTAGCTC-AAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTACAAACTCTCTG			1388
Query 71		TGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGACCCGGGAACGTATTACCGTAGCATGCTGATCTA			130
Sbjct 1387		TGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGACCCGGGAACGTATTACCGTAGCATGCTGATCTA			1328
Query 131		CGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATATAGTCGAGTTGCAGACTACAAATCCGAACGTGAGAA			190
Sbjct 1327		CGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATATAGTCGAGTTGCAGACTACAAATCCGAACGTGAGAA			1268
Query 191		CAACTTTATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTGTAG			250
Sbjct 1267		CAACTTTATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTGTAG			1208
Query 251		CACGTGTGTAGCCCAATCATAAAGGGGATGATGATTTGACGTCAATCCCACTTCCTCTC			310
Sbjct 1207		CACGTGTGTAGCCCAATCATAAAGGGGATGATGATTTGACGTCAATCCCACTTCCTCTC			1148
Query 311		GGTTTGTACCCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGGCTTAAGG			370
Sbjct 1147		GGTTTGTACCCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGGCTTAAGG			1088
Query 371		GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAATCTTCACGACACGAGCTGACGACAAACATGC			430
Sbjct 1087		GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAATCTTCACGACACGAGCTGACGACAAACATGC			1028
Query 431		ACCACCTGTCACTCTGTCCCGGAGAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGGTACAGGGATG			490
Sbjct 1027		ACCACCTGTCACTCTGTCCCGGAGAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGGTACAGGGATG			968
Query 491		TCAAGATTGGTAAAGGTTCTTCGCTTGCTTCGAATTAAACCAATGCTCCACCGCTTGT			550
Sbjct 967		TCAAGATTGGTAAAGGTTCTTCGCTTGCTTCGAATTAAACCAATGCTCCACCGCTTGT			908
Query 551		GCGGGTCCCGGTCAATTCCTTTGAGTTTCACCTTCGCGTCTGTACTCCCGGCGGAGTG			610
Sbjct 907		GCGGGTCCCGGTCAATTCCTTTGAGTTTCACCTTCGCGTCTGTACTCCCGGCGGAGTG			848
Query 611		CTTAATGCTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGGAAACCCCTAACCACTTAGCACTCATC			670
Sbjct 847		CTTAATGCTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGGAAACCCCTAACCACTTAGCACTCATC			790
Query 671		GTTTACGGCGTGGACTACACAGGGTATCTAATCCTGTGTTGATCCCGACGCTTCGACATC			729
Sbjct 789		GTTTACGGCGTGGACTACACAGGGTATCTAATCCTGTGTTGATCCCGACGCTTCGACATC			730
Query 730		AGCGTCAGTTACAGACCAAGAGTCCGCGCTTCGCCACTGGTGTTC-TCAATATCTCTGCG			788
Sbjct 729		AGCGTCAGTTACAGACCAAGAGTCCGCGCTTCGCCACTGGTGTTC-TCAATATCTCTGCG			671
Query 789		CATTTCAACCGCTACACATG-A--TCCACTTTCTCTCT-CTGCACTCAAGTT--CCAAGT			842
Sbjct 670		CATTTCAACCGCTACACATGAAATCCACTTTCTCTCTCTGCACTCAAGTT--CCAAGT			613
Query 843		-C-AATGACCTTC-ACGGTTGAGCC-TGGGCTT-C-CATC-GACT-AAAA			884
Sbjct 612		TCCATGACCTTCACGGTTGAGCCGTTGGGCTTTCACATCAGACTTAAAA			563

Şekil 4.20 7K (yaK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Streptococcus thermophilus gene for 16S ribosomal RNA, strain: SC-5
 Sequence ID: LC004484.1 Length: 1414 Number of Matches: 1
 Range 1: 523 to 1414

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1504 bits(814)	0.0()	875/900(97%)	21/900(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 17		GCGGCTGGCTCCAGGTTACTCTACCGGACTTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTGACG			76
Sbjct 1414		GCGGCTGGCTCCAGGTTACTCTACCGGACTTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTGACG			1355
Query 77		GCGGCTGGTGTACAGGGCCCGGGAACGTATTACCGCGCGGTCTGATCCGCGATTACTAG			136
Sbjct 1354		GCGGCTGGTGTACAGGGCCCGGGAACGTATTACCGCGCGGTCTGATCCGCGATTACTAG			1295
Query 137		CGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCGAGCCTACAATCCGAACCTGAGATTGGCTTTAAG			196
Sbjct 1294		CGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCGAGCCTACAATCCGAACCTGAGATTGGCTTTAAG			1235
Query 197		AGATTAGCTGCGCTCACCGACTCGCAACTCGTTGTACCAACCAATTTGTAGCAGTGTGTA			256
Sbjct 1234		AGATTAGCTGCGCTCACCGACTCGCAACTCGTTGTACCAACCAATTTGTAGCAGTGTGTA			1175
Query 257		GCCCCAGGTACATAGGGGGCATGATGATTTGACGTCAATCCCACTTCCTCCGGTTTATTAC			316
Sbjct 1174		GCCCCAGGTACATAGGGGGCATGATGATTTGACGTCAATCCCACTTCCTCCGGTTTATTAC			1115
Query 317		GCGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCACTGGAATGATGGCAACTAACCAATAGGGGTTGCGCTCG			376
Sbjct 1114		GCGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCACTGGAATGATGGCAACTAACCAATAGGGGTTGCGCTCG			1055
Query 377		TTGCGGGACTTAAACCAACATCTTCAGCACACGAGCTGAACGACAAACCATGCACCACTGTC			436
Sbjct 1054		TTGCGGGACTTAAACCAACATCTTCAGCACACGAGCTGAACGACAAACCATGCACCACTGTC			995
Query 437		ATCGATGTACCGAAGTAACTTTCTATCTCTAGAAATAGCATCGGGATGTCAAGACCTGGT			496
Sbjct 994		ATCGATGTACCGAAGTAACTTTCTATCTCTAGAAATAGCATCGGGATGTCAAGACCTGGT			935
Query 497		AAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGT			556
Sbjct 934		AAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGT			875
Query 557		CAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGTCTGACTCCCGAG-CGGAGTGTCTAATGCGTTA			615
Sbjct 874		CAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGTCTGACTCCCGAGCGGAGTGTCTAATGCGTTA			815
Query 616		GCTGCGGCACTGAATCCCGGAAGGATCCAAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGAA			675
Sbjct 814		GCTGCGGCACTGAATCCCGGAAGGATCCAAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGAA			755
Query 676		CTACCAAGG-TATCTAATCCCTGTGCTCCCGACGCTTTGAGCGCTCAGCGTCAAGTTACA			734
Sbjct 754		CTACCAAGGATCTAAT-CCGTGTTCTGCTCCCGACGCTTTGAGCGCTCAGCGTCAAGTTACA			696
Query 735		GACCAAGAGGCGGCTTTTCGCGCAACCGGTTTCCTCATATATCTACGCACTTTTCAC-GCTA			793
Sbjct 695		GACCAAGAGGCGGCTTTTCGCGCAACCGGTTTCCTCATATATCTACGCACTTTTCACGCTA			637
Query 794		CACATGGAAATCCACCTCTCCCGCTTCGCGCAACTCAAGGTTGACAGTT-C-AA-GCG-A			849
Sbjct 636		CACATGGAA-TTCCA-CTCTCCCGCTTCG-C-ACTCAAGTTGACAGTTTCCAAGCGAA			581
Query 850		CTATGATGGAGC-ACAGGCTT-AACT-CAGACT-ATCAA-C-GCCTGCGCTTCGCGCTTA			903
Sbjct 580		CTATGATGGAGCCAGGCTTTAACTTCAGACTTATCAAACCGCGCTTCGCT-CGC-TTTA			523

Şekil 4.21 8K (baK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Streptococcus thermophilus strain St2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: MG825731.1 Length: 1361 Number of Matches: 1
Range 1: 1007 to 1337

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
569 bits(308)	2e-158()	326/334(98%)	4/334(1%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 28	GGTGTGTAAACAAGGCCCGGGAAACGTATTGCGCCGCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAG	87			
Sbjct 1337	GGTGTGT-ACAAGGCCCGGGAA-CGTATT-CACCGCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAG	1281			
Query 88	CGATTCCGACTTCATGTATGAGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAAGATTGGCTTTA-G	146			
Sbjct 1280	CGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAAGATTGGCTTTAAG	1221			
Query 147	AGATTAGCTCGCCGTCACCGACTCGCAACTCGTTGTACCAACCATTGTAGCACGTGTGTA	206			
Sbjct 1220	AGATTAGCTCGCCGTCACCGACTCGCAACTCGTTGTACCAACCATTGTAGCACGTGTGTA	1161			
Query 207	GCCCAGGTCTAAGGGGCGATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATTAC	266			
Sbjct 1160	GCCCAGGTCTAAGGGGCGATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATTAC	1101			
Query 267	CGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCTCAACTGAATGATGGCAACTAACAAATAGGGGTTGCGCTCG	326			
Sbjct 1100	CGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCTCAACTGAATGATGGCAACTAACAAATAGGGGTTGCGCTCG	1041			
Query 327	TTGCGGGACTTAACCCATCATCTCAGCACACGAG	360			
Sbjct 1040	TTGCGGGACTTAACCCATCATCTCAGCACACGAG	1007			

Şekil 4.22 10K (yİK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Staphylococcus epidermidis strain HCD20-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: MH111555.1 Length: 1429 Number of Matches: 1
Range 1: 513 to 1429

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1550 bits(839)	0.0()	899/923(97%)	23/923(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 16	TTCCGACGGCTAGCTCCAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTG	75			
Sbjct 1429	TTCCGACGGCTAGCTCCAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTGTACAAACTCTCGTGGTG	1370			
Query 76	TGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCCGGGAACGTATTACCCGTAGCATGCTGATCTACGATT	135			
Sbjct 1369	TGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCCGGGAACGTATTACCCGTAGCATGCTGATCTACGATT	1310			
Query 136	ACTAGCGGATTCAGGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAAGTGAAGAACACT	195			
Sbjct 1309	ACTAGCGGATTCAGGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAAGTGAAGAACACT	1250			
Query 196	TTATGGGATTTGCTTGACCTTCGGGTTTTCCTGCGCTTTGTATTGTTCATTGTAGCACGT	255			
Sbjct 1249	TTATGGGATTTGCTTGACCTTCGGGTTTTCCTGCGCTTTGTATTGTTCATTGTAGCACGT	1190			
Query 256	GTGTAGCCCAATTCATAGGGGCGATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTT	315			
Sbjct 1189	GTGTAGCCCAATTCATAGGGGCGATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTT	1130			
Query 316	GTACCGGCGAGTCAACTTAGAGTGCCTCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGC	375			
Sbjct 1129	GTACCGGCGAGTCAACTTAGAGTGCCTCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGC	1070			
Query 376	GCTCGTTGCGGGACTTAACCCACATCTCAGCACGAGCTGACGACAAACCATGACACAC	435			
Sbjct 1069	GCTCGTTGCGGGACTTAACCCACATCTCAGCACGAGCTGACGACAAACCATGACACAC	1010			
Query 436	CTGTCACTCTGTCCCGGAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGGTGAGAGGATGTCAAG	495			
Sbjct 1009	CTGTCACTCTGTCCCGGAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGGTGAGAGGATGTCAAG	950			
Query 496	ATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTTGTCTGGAATTAAACCAATGCTCCACCGCTTGTGCGGG	555			
Sbjct 949	ATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTTGTCTGGAATTAAACCAATGCTCCACCGCTTGTGCGGG	890			
Query 556	TCCCCGTCAATTCTCTTGAAGTTTCAACCTTGCGGTCTGACTCCCCAG-CGGAGTGTCTAA	614			
Sbjct 889	TCCCCGTCAATTCTCTTGAAGTTTCAACCTTGCGGTCTGACTCCCCAGCGGAGTGTCTAA	830			
Query 615	TGCGTTAGCTGCGAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC	674			
Sbjct 829	TGCGTTAGCTGCGAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC	771			
Query 675	GCGGTGAGTACCAAGGGGTATCTAATCTCTGATCCCGACGCTTTTCGACATCAGCGT	734			
Sbjct 770	GCGGTGAGTACCAAGGGGTATCTAATCTCTGATCCCGACGCTTTTCGACATCAGCGT	711			
Query 735	CAGTTACAGACCCAGAAAGTCCGCTTTTCGCGCACTGGGTGTCTCTCCATATCTCTGCGCAT	794			
Sbjct 710	CAGTTACAGACCCAGAAAGTCCGCTTTTCGCGCACTGGGTGTCTCTCCATATCTCTGCGCAT	653			
Query 795	TCACCGCTACACATGGA-TTC-ACCT-CTGCT-CTGCGCACTCA-GTTTTCCAGTT-CCAT	848			
Sbjct 652	TCACCGCTACACATGGAATTCACCTTTCTCTCTGCG-ACCTCAAGTTTCCAGTTTTCCTCA	594			
Query 849	TGAACCTTTCCACG-TTGAAC-GTGGGCTT-CACATCAGACT-AAAA-C-GCTTACGC-	901			
Sbjct 593	TGA-CCCT-CCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCTTACGC	536			
Query 902	CGCTT-ACGCCCCA-TA-TTCCGG	921			
Sbjct 535	CGCTTTACGCCCAATAATTCCGG	513			

Şekil 4.23 11K (beK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Staphylococcus hominis strain +Y112 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: JX077103.1 Length: 1443 Number of Matches: 1
Range 1: 539 to 1442

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1506 bits(815)	0.0()	894/927(96%)	28/927(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 9	GGTTCA-CTTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGCTTCGGGTGTACAAACTC				66
sbjct 1442	GGTTCACTTTTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGCTTCGGGTGTACAAACTC				1393
Query 67	TCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCGGGAACTATTCACCGTAGCATGCTGAT				126
sbjct 1382	TCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCGGGAACTATTCACCGTAGCATGCTGAT				1323
Query 127	CTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTTCAGACTACAAATCCGAACTGA				186
sbjct 1322	CTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTTCAGACTACAAATCCGAACTGA				1263
Query 187	GAAACAACTTTATGGGATTTGCTTTGACCTTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTG				246
sbjct 1262	GAAACAACTTTATGGGATTTGCTTTGACCTTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTG				1203
Query 247	TAGCAAGTGTGTAGCCCAATCATAAAGGGCATGATGATTGACGTCATCCCCACCTTCC				306
sbjct 1202	TAGCAAGTGTGTAGCCCAATCATAAAGGGCATGATGATTGACGTCATCCCCACCTTCC				1143
Query 307	TCCGGTTTGTCAACCGCAGTCAACTTAGAGTCCCAACTTAAATGATGGCAACTAAGCTTA				366
sbjct 1142	TCCGGTTTGTCAACCGCAGTCAACTTAGAGTCCCAACTTAAATGATGGCAACTAAGCTTA				1083
Query 367	AGGGTTGCGCTTCGTTGCGGGACTTAAACCAATTCACGACACGAGCTGACGACAAACA				426
sbjct 1082	AGGGTTGCGCTTCGTTGCGGGACTTAAACCAATTCACGACACGAGCTGACGACAAACA				1023
Query 427	TGCACCACTTGTCACTTTTGTCCCGGAGGGGAAACTTCTATCTAGAAAGGGTCAAAAG				486
sbjct 1022	TGCACCACTTGTCACTTTTGTCCCGGAGGGGAAACTTCTATCTAGAAAGGGTCAAAAG				963
Query 487	ATGTCAAGATTTGTGTAAAGGTTCTTCGCGTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				546
sbjct 962	ATGTCAAGATTTGTGTAAAGGTTCTTCGCGTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				903
Query 547	TGTGCGGTTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				606
sbjct 902	TGTGCGGTTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCGCGTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				843
Query 607	GTGCTTTAATGCTTAGCTGACACTAAAGGGGCGAAACCCCTTAACTTAGCACTC				666
sbjct 842	GTGCTTTAATGCTTAGCTGACACTAAAGGGGCGAAACCCCTTAACTTAGCACTC				785
Query 667	ATCGTTTACGGCTGGAATACCAAGGGTATCTAATCTGTTTGATCCCGACGCTTTTCGCA				726
sbjct 784	ATCGTTTACGGCTGGAATACCAAGGGTATCTAATCTGTTTGATCCCGACGCTTTTCGCA				726
Query 727	CATCAGCGTCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCGCCCTTCGGCAAACTGGGTGTTCTCTCAT				786
sbjct 725	CATCAGCGTCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCGCCCTTCGGCAAACTGGGTGTTCTCTCAT				672
Query 787	AATCCCTTCGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCACATTTCTCTCTCTGCCAC				845
sbjct 671	A-T-CTCTGCGCATTTCAACCGCTACACA-TGG-AATT-CC-ACCTTCCTC-TTCGCG-AC				620
Query 846	TCCAAAGTTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				904
sbjct 619	T-CAAGTTTTCAGTTTCCAAATGA-ACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				564
Query 905	GACCTAAAAAAGCCGCTTAACGCCGCG 931				
sbjct 563	GACTTAAAAAA-CCGCGCTA-CGCGCGCG 539				

Şekil 4.24 12K (güK) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Lactobacillus delbrueckii strain SH3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: FJ888318.1 Length: 1444 Number of Matches: 1
Range 1: 523 to 1440

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1439 bits(779)	0.0()	880/921(96%)	37/921(4%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 14	TAGCGGCTGACCTGCTAGT-GGTGAATCCACCGGCTTCGGGTCATGCGAGACTTCACATGGT				71
sbjct 1440	TAGCGGCTGACCTGCTAGTGGTGAATCCACCGGCTTCGGGTCATGCGAGACTTCACATGGT				1381
Query 72	CTTCTGCGCATTTCAACCGCTACACA-TGG-AATT-CC-ACCTTCCTC-TTCGCG-AC				131
sbjct 1380	CTTCTGCGCATTTCAACCGCTACACA-TGG-AATT-CC-ACCTTCCTC-TTCGCG-AC				1321
Query 132	TACTAGCGCTATTCACCGCTGGAATACCAAGGGTATCTAATCTGTTTGATCCCGACGCTTTTCGCA				191
sbjct 1320	TACTAGCGCTATTCACCGCTGGAATACCAAGGGTATCTAATCTGTTTGATCCCGACGCTTTTCGCA				1261
Query 192	TTTAAAGTTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				251
sbjct 1260	TTTAAAGTTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				1201
Query 252	TCCAAAGTTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				311
sbjct 1200	TCCAAAGTTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				1141
Query 312	TCCAAAGTTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				371
sbjct 1140	TCCAAAGTTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				1081
Query 372	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCACATTTCTCTCTCTGCCAC				431
sbjct 1080	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCACGGTGAATTCGCGCTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				1021
Query 432	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCACATTTCTCTCTCTGCCAC				491
sbjct 1020	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCACGGTGAATTCGCGCTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				961
Query 492	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCACATTTCTCTCTCTGCCAC				551
sbjct 960	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCACGGTGAATTCGCGCTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				901
Query 552	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCACATTTCTCTCTCTGCCAC				610
sbjct 900	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCACGGTGAATTCGCGCTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				841
Query 611	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCACATTTCTCTCTCTGCCAC				670
sbjct 840	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCACGGTGAATTCGCGCTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				781
Query 671	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCACATTTCTCTCTCTGCCAC				729
sbjct 780	CCCTTCGCTTCGCGCAATTTCACGGTGAATTCGCGCTTCGCTTCGAAATTAAACCATGCTCCACCGCT				721
Query 730	TTCGCAAGCTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				782
sbjct 720	TTCGCAAGCTTCCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				662
Query 783	-T-CAAGTTTTCAGTTTCCAAATGA-ACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				835
sbjct 661	-T-CAAGTTTTCAGTTTCCAAATGA-ACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				604
Query 836	AGCTTCAGCTTTCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				884
sbjct 603	AGCTTCAGCTTTCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				544
Query 885	-T-CAAGTTTTCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				900
sbjct 543	-T-CAAGTTTTCAGTTTCCAAATGAACCTTCACCGTTCGAAAGCCGTTCGCGCTTTTCACATCA				523

Şekil 4.25 1B (akB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1519 bits(822)	0.0()	885/911(97%)	22/911(2%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 8		CCA-CTTCGA-GGCTAGCTCCAAATGGTTACTCTCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTC			65
Sbjct 730226		CCACCTCTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCTCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTC			730285
Query 66		GTCGTGTGACACGGCGGTGTGTGTACAGAGACCCGGAACTGATTCACCGTAGCATGCTGATCT			125
Sbjct 730286		GTCGTGTGACACGGCGGTGTGTGTACAGAGACCCGGAACTGATTCACCGTAGCATGCTGATCT			730345
Query 126		ACGATTTACTAGCGATTTCAGCTTCATATAGTCGAGTTCCAGACTACAAATCGAACTGAGA			185
Sbjct 730346		ACGATTTACTAGCGATTTCAGCTTCATATAGTCGAGTTCCAGACTACAAATCGAACTGAGA			730405
Query 186		ACAACTTTTATGGGATTTCGTTGACCTTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATTTGTCTTATGTA			245
Sbjct 730406		ACAACTTTTATGGGATTTCGTTGACCTTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATTTGTCTTATGTA			730465
Query 246		GCACGTTGTGTAGCCCAAAATCATAAAGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCCTC			305
Sbjct 730466		GCACGTTGTGTAGCCCAAAATCATAAAGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCCTC			730525
Query 306		CGGTTTGTGACCCGGGAGTCAACTTAGAGATTCGCAACTTAAATGATGCATTAAGCTTTAAG			365
Sbjct 730526		CGGTTTGTGACCCGGGAGTCAACTTAGAGATTCGCAACTTAAATGATGCATTAAGCTTTAAG			730585
Query 366		GTTTGCCTCTCGTTGCGGGACTTAAACCCAAATCTCACGACACGAGCTGCAGCAACCCATG			425
Sbjct 730586		GTTTGCCTCTCGTTGCGGGACTTAAACCCAAATCTCACGACACGAGCTGCAGCAACCCATG			730645
Query 426		CACCACTGTCTACTCTTGTCCGCCGAAAGGGGAAAACTCTATCTCTAGAGGGGTTCAGAGGAT			485
Sbjct 730646		CACCACTGTCTACTCTTGTCCGCCGAAAGGGGAAAACTCTATCTCTAGAGGGGTTCAGAGGAT			730705
Query 486		GTCGAAGATTTGTGTAAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAGCCACATGCTCCACCGCTTG			545
Sbjct 730706		GTCGAAGATTTGTGTAAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAGCCACATGCTCCACCGCTTG			730765
Query 546		TGCGGGATCCCGCTCAAGTTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGTGATCTCCCGAGGCGGAGT			605
Sbjct 730766		TGCGGGATCCCGCTCAAGTTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGTGATCTCCCGAGGCGGAGT			730825
Query 606		GCTTAATGCGTTAGCTGTCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTTAACACTTtagCACTCATCG			665
Sbjct 730826		GCTTAATGCGTTAGCTGTCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTTAACACTTtagCACTCATCG			730885
Query 666		TTTACGGCGTGTGACTACCA-GGTATCTTAATCTGTGTTGATCCCCACGCTTTTCGCACATCA			724
Sbjct 730886		TTTACGGCGTGTGACTACCAAGGGTATCTAACTGTGTTGATCCCCACGCTTTTCGCACATCA			730945
Query 725		GCCTCAGTTACAGACCAAG-AGGTGCCCTTCGCGCACCTGGGT-TCTTCCATATCTCTCTCG			782
Sbjct 730946		GCCTCAGTTACAGACCAAGAGGTGCCCTTCGCGCACCTGGGT-TCTTCCATATCTCTCTCTCG			731003
Query 783		CA-TTCACGCGTACACATGGAATTCGACTTTC-TCTTCTGACACCTCA-GTTTCT-AGTTT			838
Sbjct 731004		CATTCTCACGCTACACATGGAATTCGACTTTCCTCTCTGTCAC-TCAGATTTTTCAGTTT			731062
Query 839		CCA-TGACCGCTTACCGGGTGA-CCATGGGCGCTTCACATCGAAGCCTTAAGAAC-GC			894
Sbjct 731063		CCAATGACCGCTTACCGGGTGA-CCATGGGCGCTTCACATCGAAGCCTTAAGAACCCGCC			731117
Query 895		TACGCGCGCGCT 905			
Sbjct 731118		TACGCGC-GCT 731127			

Ekil 4.26 3B (akB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1471 bits(796)	0.0()	<u>893/934(96%)</u>	29/934(3%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 9	GCTTAA-GCGGCTGACTCCTCTATAAAGGTTATCCACCAGACTTTTGCGCATTGCAAGACTTTCCA	67			
Sbjct 1409	GCTTAAAGCGGCTGACTCCTCTATAAAGGTTATCCACCAGACTTTTGCGCATTGCAAGACTTTCCA	135			
Query 68	TGGTGTGACAGGGCGGGTGTGTGTAACAAGCCCCGGGAACGTATTACACCGCGCGCTGTGCTGATCCG	117			
Sbjct 1349	TGGTGTGACAGGGCGGGTGTGTGTAACAAGCCCCGGGAACGTATTACACCGCGCGCTGTGCTGATCCG	129			
Query 128	CGATTACTAGCGATTCCAGCTTCGTGCGAGGCGAGTTGCAAGCCTGCGAGTCCGAACTGAGAA	187			
Sbjct 1289	CGATTACTAGCGATTCCAGCTTCGTGCGAGGCGAGTTGCAAGCCTGCGAGTCCGAACTGAGAA	123			
Query 188	CAGCTTTAAGAGATACCGCTTACCTCCCTGCGGGTTTCGTTCTCGTTGTACTGCCATTGCTAG	247			
Sbjct 1229	CAGCTTTAAGAGATACCGCTTACCTCCCTGCGGGTTTCGTTCTCGTTGTACTGCCATTGCTAG	117			
Query 248	CACGTGTGTAGCCCAAGGTCATAAAGGGGCGATGATGACTTGAAGTCATCCCCACCTTCCTCC	307			
Sbjct 1169	CACGTGTGTAGCCCAAGGTCATAAAGGGGCGATGATGACTTGAAGTCATCCCCACCTTCCTCC	111			
Query 308	GGTTTGTGTCACCGCGAGCTCTCTTTAGAGTGGCCCAACTTAATGATGGCACTTAAGAGACAAGG	367			
Sbjct 1109	GGTTTGTGTCACCGCGAGCTCTCTTTAGAGTGGCCCAACTTAATGATGGCACTTAAGAGACAAGG	105			
Query 368	GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTTAAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGC	427			
Sbjct 1049	GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTTAAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGC	990			
Query 428	ACCACCTGTCTCTGCGTCCCGGAAGGGAACCACTATCTCTAGGTGTAGCGCAGGATGTC	487			
Sbjct 999	ACCACCTGTCTCTGCGTCCCGGAAGGGAACCACTATCTCTAGGTGTAGCGCAGGATGTC	930			
Query 488	AAGACCTGTTAAGGTTCTTTCGCGTTGCTTTCGAATTAAACCAATGCTCCACCGCTGTGTGC	547			
Sbjct 929	AAGACCTGTTAAGGTTCTTTCGCGTTGCTTTCGAATTAAACCAATGCTCCACCGCTGTGTGC	870			
Query 548	GGGCCCCCGCTCAATTCTCTTGAATTTCAACCTTTCGGGTCTGATCTCCCGACG-CGGAGCGCT	606			
Sbjct 869	GGGCCCCCGCTCAATTCTCTTGAATTTCAACCTTTCGGGTCTGATCTCCCGACG-CGGAGCGCT	810			
Query 607	TAATGCGTTTGTCTGCGCGACTGAGAGGACCGGAAGTCCCCAACACCTAGCGCTCATCGTTT	666			
Sbjct 809	TAATGCGTTTGTCTGCGCGACTGAGAGGACCGGAAGTCCCCAACACCTAGCGCTCATCGTTT	750			
Query 667	ACGGCATGGACTACCAAGG-TATCTCTCTGTTTGCATACCATGCTCTTTCGAGCCTCAGCG	725			
Sbjct 749	ACGGCATGGACTACCAAGG-TATCTCTCTGTTTGCATACCATGCTCTTTCGAGCCTCAGCG	690			
Query 726	TCAGTTGCAAGACCAAGAGAGC-TC-TCGCGCACTGGGGTGTTCCTCATTTATATCTACGCATT	783			
Sbjct 689	TCAGTTGCAAGACCAAGAGAGC-TC-TCGCGCACTGGGGTGTTCCTCATTTATATCTACGCATT	631			
Query 784	C-AC-GCTACAAACATG-A-T-CCACTCTC-TCTTTCTGCACTCAGGA-TGACAGGTTTCG	836			
Sbjct 630	CCACCGCTACA-CATGGAATTCCAATCTCTCTC-TTCGCACTCAAGAAATGACAGTTTCCG	573			
Query 837	ATGCACTTCCACG-T-GAAGCGTGGGCTT-CACATC-GACT-ATCAT-CGCG-TGC-C-C	887			
Sbjct 572	ATGCACTTCCACG-T-GAAGCGTGGGCTT-CACATCAGACTTATCATCTCGCCCTCGCTC	513			
Query 888	GCGTTA-GCC-A-TAAATGTCGGACCAACGCGCTTG	918			
Sbjct 512	GCTTTACGCGCAATAAAT-CGCGCAACACG-TTG	481			

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus strain p56 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: MG757343.1 Length: 1478 Number of Matches: 1
Range 1: 841 to 1461

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
809 bits(438)	0.0()	572/634(90%)	20/634(3%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 15		CCTTAAGCGGCTGAATCCCTAT-AAGGTTTTCACCACGACTTTGGGCATTGCAGACTTC-			72
Sbjct 1461		CCTTAAGCGGCTGAATCC-TATAAAGGTTATCCACCACGACTTTGGGCATTGCAGACTTC			1403
Query 73		ATGCAGAGAAAAACGGTGTGTATA-AAGGGCCCGGGAACG-GGTCCCGGTTGCAGAAAAATC			130
Sbjct 1402		ATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGCCCGGGAAACGTATTCAACCGCGCGTGT-CTGATC			1344
Query 131		CGCGATTACAAACGATTCCAGCTTCCTGTCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAG			190
Sbjct 1343		CGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCCTGTCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAG			1284
Query 191		AACAGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCGGGTTTCGCTTCTCGTTGTACTGCCCATTTGT			250
Sbjct 1283		AACAGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCGGGTTTCGCTTCTCGTTGTACTGCCCATTTGT			1224
Query 251		AGCACGTGTGTAGCCACAGGTCATAAGGGGCGATGATGACTTGCAGCTCATCCCCACCTTCCT			310
Sbjct 1223		AGCACGTGTGTAGCCACAGGTCATAAGGGGCGATGATGACTTGCAGCTCATCCCCACCTTCCT			1164
Query 311		CCGGTTTGTGTC-CGCGCAGTCTCTTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAATACAA			369
Sbjct 1163		CCGGTTTGTGTCACCGGCGAGTCTCTTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAAGACAA			1104
Query 370		GGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCAT			429
Sbjct 1103		GGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCAT			1044
Query 430		GCCCCACCTGTCTCTGCTTCCCCCGAAGGGGAACCACTATCCTCTAGGTGTAGCACAGG			489
Sbjct 1043		GCACCACTGT-CTCTGCGT-CCCCGAAGGGGAACCACTATC-CTAGGTGTAGCACAGG			987
Query 490		ATGTCAGAGACCTGTTAAGGTTCTTCTCTCTTCTTC-ATTAAACCAACTTGTCTCCACA			548
Sbjct 986		ATGTCAGAGACC-TGGTAAGGTTCTTCTCG-CGTTGCTTCGAATTAAACC-ACATGCTCCACC			930
Query 549		GTTTTGTAAAGAGCCCCCGTCAATTTCTTTGAATTTACTACCTTGCAGGTCTTTCTCCCCCA			608
Sbjct 929		GCTT-GTGCAGGCCCCCGTCAATTTCTTTGAGTTT-CAACCTTGCAGGTCTGTACTCCCC-A			873
Query 609		GGCGGA-CGCTTAATTGCGTTTGTGCTGCTTCACT	641		
Sbjct 872		GGCGGAGCGCTTAAT-GCGTTT-GCTGCGGCACT	841		

Şekil 4.28 7B (yaB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus strain TW20-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: KJ026606.1 Length: 1438 Number of Matches: 1
Range 1: 522 to 1436

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1502 bits(813)	0.0()	886/917(97%)	22/917(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 9		ACTTGGCGGCTGACTTCTATAAA-GGTTATCCCAACGACTTTGGGCATTGCAGACTTCCAT			67
Sbjct 1436		ACTTAGCGGCTGACTTCTATAAAGGTTATCCCAACGACTTTGGGCATTGCAGACTTCCAT			1377
Query 68		GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGCCCGGGAAACGTATTCAACCGCGCGTGTGATCCGC			127
Sbjct 1376		GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGCCCGGGAAACGTATTCAACCGCGCGTGTGATCCGC			1317
Query 128		GATTACTAGCGATTCCAGCTTCCTGTCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAAC			187
Sbjct 1316		GATTACTAGCGATTCCAGCTTCCTGTCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAAC			1257
Query 188		AGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCGGGTTTCGCTTCTCGTTGTACTGCCCATTTGTAGC			247
Sbjct 1256		AGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCGGGTTTCGCTTCTCGTTGTACTGCCCATTTGTAGC			1197
Query 248		ACGTGTGTAGCCACAGTCATAAGGGGCGATGATGACTTGCAGCTCATCCCCACCTTCTCCG			307
Sbjct 1196		ACGTGTGTAGCCACAGTCATAAGGGGCGATGATGACTTGCAGCTCATCCCCACCTTCTCCG			1137
Query 308		GTTTGTCAACCGGCGAGTCTCTTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAAGGCAAGGG			367
Sbjct 1136		GTTTGTCAACCGGCGAGTCTCTTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAAGGCAAGGG			1077
Query 368		TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCA			427
Sbjct 1076		TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCA			1017
Query 428		CCACCTGTCTCTGCGTCCCCGAAAGGGAAACCACTATCTCTAGGTGTAGCACAGGATGTCA			487
Sbjct 1016		CCACCTGTCTCTGCGTCCCCGAAAGGGAAACCACTATCTCTAGGTGTAGCACAGGATGTCA			957
Query 488		AGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTTGCCTTCGAATTAAACACATGCTCCACCGCTTGTGCG			547
Sbjct 956		AGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTTGCCTTCGAATTAAACACATGCTCCACCGCTTGTGCG			897
Query 548		GGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGGTCTGACTCCCCAG-CGGAGCGCTT			606
Sbjct 896		GGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGGTCTGACTCCCCAGGCGGAGCGCTT			837
Query 607		AATGCGTTTGTCTCGGCACTGAGGACCGGAAAGTCCCCAACACCTAGCGCTCATCGTTTA			666
Sbjct 836		AATGCGTTTGTCTCGGCACTGAGGACCGGAAAGTCCCCAACACCTAGCGCTCATCGTTTA			777
Query 667		CG-CATGGACTACCAAG-TATCTTAATCCTGTTTCGCTACCCATGCTTTTCAGC-TCAGCGT			723
Sbjct 776		CGGATAGGACTACCAAGGTATCTTAATCCTGTTTCGCTACCCATGCTTTTCAGGCTCAGCGT			717
Query 724		CAGTTGCAGAACAGAGAGCCGCGCTTCGC-ACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCAT-CC			781
Sbjct 716		CAGTTGCAGAACAGAGAGCCGCGCTTCGCCTGCTGCTGCTTCCATATATCTACGCATGCC			657
Query 782		ACCGCTACCAACATGGA-TT-CACT			836
Sbjct 656		ACCGCTACCA-CATGGAAATTCACCT			598
Query 837		CAGTTC-ACA-T-GAGC-GTGG-CTTCCA-ATCCGACTTATCAT-C-GCTTGGCGCTCGC			888
Sbjct 597		CAGTTCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTATCATTCGCGCT-GCGCTCGC			539
Query 889		CTTACGCCCATTAATTC	905		
Sbjct 538		TTTACGCCCAATAATTC	522		

Şekil 4.29 9B (övB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus strain MN-BM-F01, complete genome
 Sequence ID: CP013610.1 Length: 1875071 Number of Matches: 8
 Range 1: 694548 to 695428

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1426 bits(772)	0.0()	874/916(95%)	36/916(3%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 9		CCCTGCATTAGGGCGGGCTGACTTCCTATAA-GGTATATCCACCGACTTTGGGCAATTGCAG			67
Sbjct 695428		CCCTGCCTTA-GGC-GGCTGACTTCCTATAAAGGTATATCCACCGACTTTGGGCAATTGCAG			695371
Query 68		ACTTCATGGCCTGACCGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGAAACGTATTCACCGCGGGCTGC			127
Sbjct 695370		ACTTCATGGTGTGACCGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGAAACGTATTCACCGCGGGCTGC			695311
Query 128		TGATCCCGGATTACTAGCGATTCCAGCTTCGTGTCAGGGAGTTGCAAGCTGCAAGTCCGAA			187
Sbjct 695310		TGATCCCGGATTACTAGCGATTCCAGCTTCGTGTCAGGGAGTTGCAAGCTGCAAGTCCGAA			695251
Query 188		CTAGAAACAGCTTTAAGAGATCCGCTTCCTCCCGGTTCCCTTCCTGTTGTTACTGCC			247
Sbjct 695250		CTAGAAACAGCTTTAAGAGATCCGCTTCCTCCCGGTTCCGCTTCCTGTTGTTACTGCC			695191
Query 248		ATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAGGTCATAAGGGGCATGATGACTTACGCTCATCCCCAC			307
Sbjct 695190		ATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAGGTCATAAGGGGCATGATGACTTACGCTCATCCCCAC			695131
Query 308		TTCTTCGCGTTTGTTCACCGGCACTCTCTTATAGAGTGCCTCACTTAATGATGGCAACTAA			367
Sbjct 695130		TTCTTCGCGTTTGTTCACCGGCACTCTCTTATAGAGTGCCTCACTTAATGATGGCAACTAA			695071
Query 368		GACAAAGGTTTCGCTCTGTTGCGGACTTAACCAACATCTTCAGAACACGAGCTGAGACA			427
Sbjct 695070		GACAAAGGTTTCGCTCTGTTGCGGACTTAACCAACATCTTCAGAACACGAGCTGAGACA			695011
Query 428		GCCATGCAACCACTCTCTCTGCTGCTCCCGGAAAGGAAACCACTATCTCTAGAGTGTAGCCA			487
Sbjct 695010		GCCATGCAACCACTCTCTCTGCTGCTCCCGGAAAGGAAACCACTATCTCTAGAGTGTAGCCA			694951
Query 488		GGATGTCAGAGCTTGGTAAAGTTCTTCGCTTCCTTCGAAATTAACCACTGCTTCCACG			547
Sbjct 694950		GGATGTCAGAGCTTGGTAAAGTTCTTCGCTTCCTTCGAAATTAACCACTGCTTCCACG			694891
Query 548		CTTGTGCGGGCCCCCGCTCAATTCCTTTAGGTTTCACCTTCGCGTCTACTTCCCGAGGCG			607
Sbjct 694890		CTTGTGCGGGCCCCCGCTCAATTCCTTTAGGTTTCACCTTCGCGTCTACTTCCCGAGGCG			694831
Query 608		GAGCGCTTAATGCGTTTGTCTGCGGCACCTAGAGACCGGAAAGTCCCGCAACCACTAGCGCT			667
Sbjct 694830		GAGCGCTTAATGCGTTTGTCTGCGGCACCTAGAGACCGGAAAGTCCCGCAACCACTAGCGCT			694772
Query 668		CATCGTTTACCGCATGCGGACTACCAAGGTATCTAATCCTGTATCGCTACCCATAGCTTT			727
Sbjct 694771		CATCGTTT-ACCGCAT-GGACTACCAAGGTATCTAATCCTGT-TCGCTACCCAT-CTTT			694716
Query 728		CGAGCTTCAACCTCAGTTGTCAGAACAGAGAGCCCGCTTCGCGCACTGGGTGTTCTTT			787
Sbjct 694715		CGAGCTTCAACCTCAGTTGTCAGAACAGAGAGCCCGCTTCGCGCACTGGGTGTTCTTT			694661
Query 788		CATATATCTACGCAATTTCACCGGCTTACACATGGAATTTCCACTGCTCCCTCTCTG			847
Sbjct 694660		CATATATCTACGCAATT-CCACC-GCT-ACACATGGAA-TT-CCACTCTCC-TC-TT-CTG			694609
Query 848		GCCACTTCAAGAAATGGACAGTTTCCCGATGCGAGTTCCCGCGGTGAAAGGCCGGGGG			907
Sbjct 694608		-C-ACT-CAAGAA-TG-ACAGTTT-CC-GATG-CAGTTCCAC-GGTTGA-G-CCGTGGG-			694561
Query 908		ggCTTTCACATCAGA 923			
Sbjct 694560		--CTTTC-ACATCAGA 694548			

Şekil 4.30 10B (yIB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

Staphylococcus hominis strain +Y112 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: JX077103.1 Length: 1443 Number of Matches: 1
 Range 1: 539 to 1442

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1506 bits(815)	0.0()	894/927(96%)	26/927(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 8		GGTTCA-CTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTGTACAAACTC			66
Sbjct 1442		GGTTCACTTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTGTACAAACTC			1383
Query 67		TCGTGGTGTGACCGGGCGGTGTGTACAGAACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGTGTAT			126
Sbjct 1382		TCGTGGTGTGACCGGGCGGTGTGTACAGAACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGTGTAT			1323
Query 127		CTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTGTGAGATTGCAAGACTACAATCCGAATGA			186
Sbjct 1322		CTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTGTGAGATTGCAAGACTACAATCCGAATGA			1263
Query 187		GAACAACTTTATGGAAATTGCTTGAACCTTCGGGTTTCGCTGCCCCCTTTGTATTTGCTATTG			246
Sbjct 1262		GAACAACTTTATGGAAATTGCTTGAACCTTCGGGTTTCGCTGCCCCCTTTGTATTTGCTATTG			1203
Query 247		TAGCACGTGTGTAGCCCAATCATAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCC			306
Sbjct 1202		TAGCACGTGTGTAGCCCAATCATAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCC			1143
Query 307		TCCGGTTTGTCAACCGGCACTCACTTAGAGTGCACCACTTAATGATGGCACTTAGGCTTA			366
Sbjct 1142		TCCGGTTTGTCAACCGGCACTCACTTAGAGTGCACCACTTAATGATGGCACTTAGGCTTA			1083
Query 367		AGGGTTGCGCTTCGTTGCGGGAATTAAACCAACATCTCACGACACGAGTTGACGACAAACCA			426
Sbjct 1082		AGGGTTGCGCTTCGTTGCGGGAATTAAACCAACATCTCACGACACGAGTTGACGACAAACCA			1023
Query 427		TGCACCACTGTGTACTTTGTCCCGCGAAGGGGAAACTTCTATCTCTAGAAAGGCTCAAAGG			486
Sbjct 1022		TGCACCACTGTGTACTTTGTCCCGCGAAGGGGAAACTTCTATCTCTAGAAAGGCTCAAAGG			963
Query 487		ATGTCAAGATTGTGTAAAGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACTAGCTTCCACCGCT			546
Sbjct 962		ATGTCAAGATTGTGTAAAGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACTAGCTTCCACCGCT			903
Query 547		TGTGCGGGTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGTGTACTTCCCGAGCGGA			606
Sbjct 902		TGTGCGGGTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGTGTACTTCCCGAGCGGA			843
Query 607		GTGCTTTAATGCGTTAGCTGCAAGCACTAAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTC			666
Sbjct 842		GTGCTT-AATGCGTTAGCTGCAAGCACTAA-GGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTC			785
Query 667		ATCGTTTACGGCGTGGACTACCAAGGTATCTAATCCTGTTTGATCCCGCACGCTTTTGCA			726
Sbjct 784		ATCGTTTACGGCGTGGACTACCAAGGTATCTAATCCTGTTTGATCCCGCACGCTTTTGCA			726
Query 727		CATCAGCGTCAAGTTTACAGAACAGAAAGTCCCGCTTCGGCAACCTGGGTGTTCCTCCAT			786
Sbjct 725		CATCAGCGTCAAGTT-ACAGAACAGAAAGTCCCGCTTCGGCAACCTGGGTGTTCCTCCAT			672
Query 787		AATCTCTGCGCAATTTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCCACTTTCTCTCTCTGCGAC			845
Sbjct 671		A-T-CTGCGCAATTTCAC-TGG-AATT-CC-ACCTTCTCT-TCCTGCG-AC			620
Query 846		TCCAGTTTCCCAAGTT-CCAAAGAACCTTCCACCGTTGAGAGCGCTTGGCCCTTCACATCA			904
Sbjct 619		T-CAAGTTTCCCAAGTTTCCCAAG-ACCCCTCCACGGTTGA-GCCGTGGG-CTTTACATCA			564
Query 905		GACCTAAAAAGCCGCCCTAACGCCGC 931			
Sbjct 563		GACTTAAAAAA-CCGCCCTA-CGCGCGC 539			

Şekil 4.31 12B (güB) NCBI Bankasındaki Referans Genom Benzerliği

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yoğurt ve Süt endüstrisi günümüzde tüketici beklentileri doğrultusunda çeşitli lezzetlerde ve sağlıklı olacak şekilde aynı zamanda kişi başına süt ve süt ürünlerinin tüketimini arttıracak yeni üretim teknolojileri ya da aktif pazarlama stratejilerinin geliştirilmesine yönelmiştir. Savova ve Nikelova Bulgaristan'ın farklı bölgelerine ait süt ürünlerinde yapmış oldukları bir çalışmada, inek sütünden yapılan yoğurt örneklerinde *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefir*) dominant maya türü olarak belirlenmiş, keçi sütünden üretilen yoğurtlarda ise *Trichosporon beigelii*, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (*Candida kefir*) ve *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus* (*Candida kefir*) %30 oranında, *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii* (*Candida famata*), *Candida krusei* ve *Candida rugosa* ise eşit oranlarda izole edildiği belirtilmiştir. Çalışmamızda Gaziantep/şehitkamil köylerinden alınan yoğurt örneklerinde *Kluyveromyces marxianus* ve *Saccharomyces cerevisiae* izole edilmiştir. Han ve ark. 2014 Çin' in kuzeybatı bölgesindeki özel ekolojik konumlarında bulunan geleneksel mandıra ürünlerinin 7 örneğinden toplam 32 doğal laktik asit bakteri izolatu elde ettiklerini raporlamışlardır. Yine başka bir çalışmada; 32 izolat arasından 9 LAB suşu fermente süt ürünleri potansiyeli için seçilmiş ve 16S rDNA nükleotid dizi analiziyle tanımlanmış ve bu 9 izolatın birbirleriyle birleştiği 8 kombinasyonun yoğurt üretiminde fermantasyon karakteristiklerine göre seçildiği, bu 8 kombinasyonun asitleşmeye etkisini, post asidifikasyonu, yoğurdun yapısı ve duyu kalitesinin analiz edildiği bildirilmiş olup elde edilen sonuçlara göre, *Streptococcus thermophilus* SP1.1 ile kombinlenen *Lactobacillus bulgaricus* 3 4.5'un en iyi kombinasyon olduğu ve yoğurt fermantasyon zamanı ve duyu kalite açısından ticari starter kültürlerden daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Skriver ve ark.(2003) fermente sütlerde starter kültürlerin gelişmesinin en az iki *Streptococcus thermophilus* ve bir *Lactobacillus bulgaricus* suşunun birleşimlerine bağlı olduğunu tanımlamışlardır. Starter kültürlerin birleşimlerinin hızlı asitleşme

oranı, uygun yapı ve aroma gibi her bir suşun önemli özelliklerinin birleştirileceği belirtilmiştir. Standartlarda yoğurdun tanımı yapılırken, mikroflorasının *Str. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus*'tan oluşması gerektiği belirtilse de farklı birçok yerden toplanan yoğurt örnekleri üzerinde yapılan çalışmalar, yoğurt mikroflorasının *Str.thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* yanında çeşitli laktik asit bakterileri, mayalar ve küflerden meydana geldiğini göstermiştir.(Rasic and Kurman, 1978). Araştırma sonuçları incelendiğinde yoğurt bakterilerinin yanı sıra mayaların bulunduğu saptanmış ancak küf 'e raslanmamıştır.

Özer, (2006) yaptığı çalışmada; Yoğurt üretiminde starter kültür olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* kullanılmaktadır. Bu iki bakteri arasında simbiyotik bir ilişki vardır. *Lactobacillus bulgaricus* tarafından açığa çıkarılan serbest aminoasitleri içeren oligopeptitler *Streptococcus thermophilus* gelişimini teşvik etmektedir. *Streptococcus thermophilus* tarafından üretilen peptitler, pürin ve pürimidinler oksalik asit, fumarik asit, formik asit, pirüvik asit ve CO₂ gibi metabolitler ise *Lactobacillus bulgaricus*'un gelişimine yardımcı olmaktadır. Yoğurt üretiminde bu ikili simbiyotik yaşama mayalar bölgeye göre katkılar sunmaktadır.

Demirci (2017) tarafından yapılan çalışmada, Ağrı ilinde bazı yöresel yoğurt örneklerindeki çeşitli bakterinin izolasyonu, kültüre alınması ve tanımlanması yapılmıştır. Ağrı ilini temsil edecek şekilde 28 izolat elde edilmiştir. İzolatların ilk olarak morfolojik testleri, fizyolojik testleri, biyokimyasal testleri ve antibiyotiğe direnç testleri yapılmıştır. Moleküler testler kapsamında 28 izolatın DNA izolasyonu ve 16S rDNA gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. 24 izolatın sekans verileri alınmış ve sekans verisi alınamayan 4 izolat ise VİTEK yöntemiyle karakterize edilmiştir. LAB'lerin NCBI'daki nükleotit blastlama verilerine izolatların 4 tanesi *Sphingomonas* sp. Ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus paracasei* türlerinin her birinden birer izolat %99 benzerlik göstermiştir. Bu çalışma sonucuna göre yöresel yoğurtta LAB'lerinin yanında patojenlerin de bulunması; sütün yeterince ısıtılma işlem görmediğini, ana kaynağı yoğurt olmayan patojenlerin bulaşmış olabileceğini, sağım yapılan hayvanların hastalıklı (mastitis) olabileceğini, sağım yapan insanda hastalık olabileceğini ve kullanılan alet ekipmanın yeterince temiz olmadığı konusunda önemli veriler sunmaktadır. Sonuçlarımıza bakıldığında izole edilen bakteriler arasında patojen potansiyelli bakterilerin olduğu görülmektedir. Buda köylerde üretim koşullarının hijyenik Bunun

sebebinin yukarıda belirtildiği gibi üretim koşullarının hijyenik olamayacağı gibi gerçekten hangi koşullarda üretildiğinin sorgulanması gerektiğini düşünöüren sonuçlarımızdır. Gerek bilimsel çalışmalarda gerekse medyada yoğurt konusunda kafa karıştırıcı bilgiler yer almaktadır. Bu durumda tüketicinin hazır market yoğurtlarını mı yoksa köy yoğurtlarını mı tercih etmesi gerektiği konusu muallaktır. Bu durumda köy yoğurtlarının hijyen sorunu, hazır market yoğurtlarının ise duysal olarak farklılık içermesi, jelatin katkısı gibi olumsuz yönleriyle ön plana çıkan dezavatajları bulunmaktadır. Kendi yoğurdumuzu güveniler bir starter ile yapmamız daha güvenilir olabileceği düşünölmektedir.

Saptadığımız *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* gibi bakterilerin yanı sıra mayalar stoklanarak költür koleksiyonuna eklenmiş olup ihtiyaç duyulduğuunda diğer araştırmalarda kullanılabilecektir.

KAYNAKLAR

- Alvarez-Martin P, Florez A.B. Hernandez-Barranco A, et al. Interaction between dairy yeasts and lactic acid bacteria strains during milk fermentation. *Food Control* 2007. **19**, 62-70.
- Anonim 2010. Bulletin of the International Dairy Federation, *The World Dairy Situation. International Dairy Federation*;176-177.
- Anonim. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 16.02.2009 tarih ve **27143** sayılı *Resmi Gazete*, Ankara.
- Anonim. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. 2005. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, ilk yayın 16.11.1997 tarih ve 23172 sayılı Resmî Gazete, son yapılan değişiklik 30.06.2005 tarih ve **25861** sayılı **Resmi Gazete** Ankara
- Anonim. Türk Standartlar Enstitüsü TS 1330. Yoğurt Standardı. 2006. TSE, Ankara, **1-11**.
- Balcazar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Vendrell, D., Girones, O. and Muzquiz, L. 2007. Sequencing of variable regions of the 16S rRNA gene for identification of lactic acid bacteria isolated from the intestinal microbiota of healthy salmonids. *Comparative Immunol., Microbiology and Infectious Diseases* **30**, 111-118.
- Brosius, J., Palmer, M.L., Kennedy, P.J. and Noller, H.F. 1978. Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proc. Nat.l Acad. Sci. October*, **75(10)**, 4801–4805, US
- Challinor SW, Rose AH. 1954. Interrelationship between a yeast and a bacterium when growing together in defined medium. *Nature* **174**, 877-878.
- Cosentino S, Fadda ME, Deplano M, et al. 2001. Yeasts associated with Sardinian ewe's dairy products. *Int J Food Microbiol* **69**,53-58.
- Couret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M. and Vernoux, J.P. 2003. Isolation characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Lait*, **83**, 269–306.

- Çağlar A, Çakmakçı S. 1995. Yoğurdun İnsan Sağlığı ve Beslenmesindeki Rolü ve Önemi. III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, *Yoğurt. Milli Produktivite Merkezi Yayınları*, Ankara, 205-220.
- Çakır, İ. 2003. Lactobacillus ve bifidobacterlerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, **92**, Ankara.
- Deak T. 2008. *Handbook of Food Spoilage Yeasts*. CRS Pres. Newyork, 160- 230.
- Durlu Özkaya F, Kuleaşan H. 2000. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Sim Matbaası, Ankara, 11-522.
- Erkuş O. 2007. Yoğurt kültürlerinin izolasyonu fenotipik ve genotipik karaterizasyonu. *Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Fakültesi Doktora tezi*, Haziran
- Erkuş, O. 2007. Isolation, phenotypic and genotypic characterization of yoghurt starter bacteria. *Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü*, **117**, İzmir.
- Gönç S, Oktar E. 1973. Hatay bölgesinde yapılan kış yoğurdunun teknolojisi ve kimyasal bileşimi üzerine araştırmalar. *Ege Üniv Zir Fak Mecmuası* **10(1)**, 97-110.
- Jacques N, Casaregola S. 2008. Safety assessment of dairy microorganism. *The hemiascomycetous yeasts. Int J Food Microbiol* **166**, 321-326.
- Kaptan N. Süt Teknolojisi Kitabı. 1986. *Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları* Ankara, 18.
- Kullen M.J., Sanozky-Dawes, R.B., Crowell, D.C. and Klaenhammer, T.R. 2000. Use of the DNA sequence of variable regions of the 16S rRNA gene for rapid and accurate identification of bacteria in the Lactobacillus acidophilus complex. *J. Appl. Microbiol.*, September, 511-516.
- Kurt A, Çağlar A. 1988. Peskütenin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine bir araştırma. *Gıda* **13(5)**: 341-347.
- Kurt A. Yoğurdun Tarihçesi ve Yeryüzüne yayılışı. 1995. III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, *Yoğurt. Milli Produktivite Merkezi Yayınları*, Ankara, 23- 25.
- Kurtzman CP, Fell JW. The Yeasts, A Taxonomic Study. 1998. *Elsevier Science*, Amsterdam North-Holland, 57-300.
- Liu S, Tsao M, 2008. Biocontrol of dairy moulds by antagonistic dairy yeast Debaryomyces hansenii in yoghurt and cheese at elevated temperatures. *In press, Food Control*,
- Lourens-Hatting A, Viljoen BC. 2001. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. *Food Res Int* **34**,597-604.

Lourens-Hatting A, Viljoen BC. 2002. Survival of dairy-associated yeasts in yoghurt and yoghurt-related products. *Food Microbiol.***19**,597-604.

Mayoral MB, Martin R, Sanz AE, Hernandez P, Gonzalez I, Garcia T. 2005. Detection of *Kluyveromyces marxianus* and other spoilage yeasts in yoghurt using a PCR culture technique. *Int J Food Microbiol.* **105**, 27-35.

Megee RD, Drake JF, Frederickson AG, et al. 1972. Studies in intermicrobial symbiosis. *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus casei*. *Can J Microbiol.***18**, 1733-1742.

Miller, K.G., Alfonsott, A., Nguyen, M., Crowell, J.A., Johnson, C. D. and Rand, J.B. 1996. A genetic selection for *Caenorhabditis elegans* synaptic transmission mutants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Neurobiology*, **93**, 12593–12598.

O’Sullivan, D.J. 1999. Methods for analysis of the intestinal microflora. *Curr Issues Intest Microbiol.***1**(2), 39-50.

Ocak E. 2008. Van ve Yöresinde Üretilen Kış Yoğurtlarının Duyusal, Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri Üzerine Bir Araştırma. Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 1996 Özden A. Yoğurdun tarihi. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi.* **12/2**:128-133.

Okur ÖD. Isparta İlinde Satılan Süt ve Süt Ürünlerinin Kalite Düzeylerinin ve Yağ Asidi Profillerinin Belirlenmesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Isparta, 2005.

Özer B. 2006. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Sidas Medya Ltd. Şti. Şanlıurfa **42**- 264.

Patır B, Ateş G. 2002. Kurut’un mikrobiyolojik ve kimyasal bazı nitelikleri üzerine araştırmalar. *Turk J Vet Anim Sci.* **26**, 785-792.

Querol A, Fleet G. 2006. *Yeast in Food and Beverages*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg Germany. **83**-119.

Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R. 1977. DNA Sequencing with chain terminating inhibitors. *PNAS* **74**(12), 5463-5467.

Say D. İnek ve Keçi Sütlerinden Üretilen Tuzlu Yoğurtların Özellikleri ve Bu Özelliklere Depolama Koşullarının Etkisi. *Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Adana, 2001

Soyuduru D. Fermantasyonla Etanol Üretiminde Etanol Veriminin Artırılması. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, 2007.

Stackebrandt, E. and Goebel, B.M. 1994. Taxonomic Note: A Placa for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **44** (4), 846- 849.

Tabasco, R., Paarup, T., Janer, C., Pel  ez, C., Requena, T. 2007. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. *International Dairy Journal*, **17**, 1107–1114.

Tamime AY, Deeth HC. 1980. Yo urt: Technology and biochemistry. *J Food Protection* **43**: 939-977.

Tamime AY, Muir DD, Khaskheli M, Barclay MNI. Effect of processing conditions and raw materials on the properties of Kishk 1. Compositional and microbiological qualities. *U Technol* 2000; **33**: 444-45

Tamime AY, Robinson RK. 1999. *Yoghurt Science and Technology*. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge-England, 1-587.

Tarakçı Z, K      ner E, Yurt B. 2001.Ordu ve yöresinde imal edilen ke  in yapılışı ve bazı özellikleri üzerinde bir araştırma. *Gıda* **26**(4): 295-300.

Tayar M, Anar   ,    en C. 1993. Bursa’da tüketilen yoğurtların kalitesi. *Gıda* **18**: 203-205.

Tekin   en KK, Bayar N. 2008. Geleneksel   r  n süzme yoğurt. *Süt Dünyası* **3**(13):54-57.

Tekin   en OC. 2005. Süt ve Süt   r  nleri. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya 75-100.

Tofeili I, Melki C, Shadarevian S, Robinson RK. 1999. Some nutritional and sensory properties of bulgur and whole wheatmeal kishk (a fermented milk-wheat mixture). *Food Quality and Preference* **10**: 9-15.

Tokatlı, M. 2013. Ankara   ubuk Yöresi Tur  şularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları, Teknolojik ve Fonksiyonel   zelliklerinin Belirlenmesi ve Starter Olarak Kullanılma Olanaklarının Değerlendirilmesi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, 183, Ankara.

Uysal HR. Vakum ve Ultrafiltrasyonla Koyula  tırılan Sütlerden Torba Yoğurdu Yapımı ve Klasik Yöntemlerle Karşılaştırılması   zerine Araştırmalar. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, İzmir, 1993.

  nal, N. ve İstanbulluoğlu, E. 2009. İnsan ve sığır k   enli *Staphylococcus aureus* izolatlarının fenotipik ve genetik özelliklerinin araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **56**, 119-126.

  nsal A. 2007. Silivri’ın Kaymak! Türkiye’nin Yo urtları. Yapı Kredi K  lt  r Sanat Yayıncılık ve Ticaret A.   Mas Matbaacılık A.  . İstanbul, 1-25.

Vedamuthu ER. 2006. Starter Cultures for Yogurt and Fermented Milks. In RC Chandan Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. *Blackwell Publishing USA*, 88-115.

Viljoen BC, Lourens-Hattingh A, Ikalafeng B, Peter G. 2003. Temperature abuse initiating yeast growth in yoghurt. *Food Research Int* **36**: 193-197

Woese, C.R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.*, **51**, 221-271.

Yaygın, H., 1999. Yoğurt Teknolojisi. Akdeniz Üniversitesi Basımevi, Antalya

Yöney Z. 1979. Yoğurt Teknolojisi. Ankara Üni. Basımevi, Ankara, 8-9.

Zourari A, Accolas JP, Desmazeaud MJ. 1992. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. *A review. Elsevier/INR* **72**: 1-34.



EKLER

- EK 1 Gram Pozitif Bakterilerden Genomik DNA İzolasyonu
- EK 2 DNA İzolasyonu Aşamasında Kullanılan Malzemeler
- EK 3 AgaroZ Jel Elektrofözezi
- EK 4 PCR Saflaştırma Protokolü
- EK 5 PCR Protokolü (Dizi analizi)
- EK 6 Cycle Sekans PCR mix:



EK 1 Gram Pozitif Bakterilerden Genomik DNA İzolasyonu

1. MRS Agar ve M17 Agar besiyerinde 18 saat süre ile geliştirilen hücreler (10 ml) 6000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir.
2. Pellet 500µl TE tampon içerisinde çözülerek 14.000 g'de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilir.
3. Pellet 500 µl SET tampon içinde çözülür, 50 µl lizozim eklenir ve 30 dakika 37 °C'de inkübe edilir.
4. Hücre süspansiyonu iki mikrosantrifüj tüpüne bölünür. 200 µl TE tampon ve 30 µl %20'lik SDS (her tüpe ayrı ayrı) eklenir. Birkaç kez karıştırılır.
5. 100 µl 5 M NaCl eklenir ve hemen karıştırılır.
6. Eşit hacimde (≈500µ) fenol eklenir ve emülsiyon oluşana kadar iyice karıştırılır. Kısa süre vortekslenir.
7. 14.000g'de 15 dakika santrifüj edilir ve fazların ayrılması sağlanır. (+4°C'de)
8. Kesik uç ile üst faz yeni bir tüpe aktarılır.
9. Eşit hacimde (≈500µl) kloroform/izoamil alkol eklenir ve nazikçe karıştırılır. (Bu basamak 2 kez yapılabilir.)
10. 14.000 g'de 15 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilir ve üst faz yeni tüplere aktarılır.
11. Tüpte bulunan süpernatantın 2 katı kadar hacimde -20°C'de saklanan %100'lük etanolden eklenir.
12. 12.000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulur.
13. Pellet havada kurutulur.
14. 100 µl TE tampon ya da suda çözülür.
15. DNA saflığı spektrofotometrede (A260/A280 oranı) kullanılarak ölçülür.

EK 2 DNA İzolasyonu Aşamasında Kullanılan Malzemeler

- 1) Sakaroz-EDTA-TrisHCl (SET) Tampon: %20 sakkaroz, 50 mM TrisHCL, pH:7.6
- 2) 10mg/ml RNaz A
- 3) 20mg/ml proteinaz K
- 4) 5mg/ml lizozim
- 5) %20 SDS (otoklavlamak gerekmektedir.)
- 6) 5M NaCl
- 7) %100 etanol
- 8) Fenol (tuz ile doyurulmuş)

9) Kloroform/izoamil alkol

10) TE tampon

Tris (tris hidroksimetil amino metan) / EDTA (etilen diamin tetra asetik asit)

Tris 21g

EDTA 0.37g

Distile su 100 ml

pH 2N HCl kullanılarak 7,4'e ayarlanır. Sterilizasyon için 121°C'de 15 dakika sıcaklık uygulanır.

SET (sucrose-EDTA-tris HCl) Tampon

Tris HCL 0.788g

EDTA 1,86g

Sakaroze 20g

dH₂O 100ml

Mix (50µl): Su 29,75µl, Tampon 10µl, dNTP (2mM) 1µl, F (20pmol) 1µl, R (20pmol) 1µl, MgCl₂ 4µl, Taq 0.25µl, DNA 3µl

EK 3 Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz Jel Hazırlanması

1-Gerekli miktarlarda agaroz tartılır ve erlene koyulur.

Malzemeler	%1'lik 50 ml
Agaroz	1 g
TBE 0.5X	50 ml
EtBr	2 µl

2-Gerekli miktarda TBE eklenir.

3-Hafifçe çalkalanıp mikrodalga fırına koyulur.

4-Mikrodalga fırın örnek kaynamaya başlayana kadar yüksek ayarda çalıştırılır.

5-Aralıklarla erlen mikrodalga fırından çıkarılıp çalkalanır.

6-Kaynamaya başladıktan sonra mikrodalga fırın ayarı düşürülür. Tamamen eriyene

kadar çalkalanarak ısıtılır.

7-EtBr eklenir ve çalkalayarak tüm çözeltiye dağılması sağlanır.

8-Trayin çatlamaması için çözelti muslukta biraz soğutulur.

9-Traye yavaşça dökülür ve polimerize olması için en az 15 dakika beklenir.

EK 4 PCR Saflaştırma Protokolü

1. Jelden alınan bantların ağırlıkları ölçülür.
2. Üzerine 1:1 oranında (ağırlık:hacim) “membran binding” solüsyonundan eklenir ve 65°C’de eritilir.
3. Kolonlar temiz tüpe takılır ve üzerlerine örnekler yüklenir. 1 dakika beklenilir.
4. 14000 rpm’de, oda sıcaklığında, 1 dakika santrifüj yapılır.
5. Alt solüsyonları dökülür.
6. Kolonlara 700 µl “membran wash” solüsyonu eklenir.
7. 4000 rpm’de, oda sıcaklığında, 1 dakika santrifüj yapılır.
8. Alt solüsyonları dökülür.
9. “Membran wash” solüsyonundan 500 µl eklenerek işlem tekrarlanır.
10. 14000 rpm’de 5 dakika santrifüj yapılır.
11. Kolonlar temiz tüplere takılıp, 25 µl “Nuclease Free” (=DNAaz ve RNAaz’sız su)membrana değmeden tam ortasına bırakılır.
12. 1 dakika bekletilir.
13. 14000 rpm’de, oda sıcaklığında, 1 dakika santrifüj yapılır.
14. Kolonlar atılıp, tüplerin kapakları kapatılır ve +4°C’de saklanır.
15. DNA’nın miktar ve saflığı kontrol edilir.

EK 5 PCR Protokolü (Dizi analizi)

1. PCR ürünü PCR’da 94°C’de 4 dakika denatürasyon gerçekleştirilir.
2. 4 dakikanın sonunda hemen buz üzerine alınarak soğutularak, 1500 rpm’de 1 dakika santrifüj edilir.

PCR protokolü (dizi analizi)

Forward Primeri	2,0 µl
**Premix	5,0 µl
ddH ₂ O	x.x µl
Toplam	20,0 µl

PCR ürünü 94°C’de 4 dakika denatüre edilir.

**Premix

10X sequencing reaction Buffer	200 µl
dNTP(I) veya dNTP (G) Mix	100 µl dNTP(I) Mix
ddUTP Dye Terminator	200 µl
ddGTP Dye Terminator	100 µl
ddCTP Dye Terminator	200 µl
ddATP Dye Terminator	200 µl
DNA Polymerase Enzyme	100 µl
Toplam	1100 µl

Hazırlanan karışım bölünerek -20°C’de saklanır.

PCR programı

96° C	3 dakika
96°C 20 sn.	34 döngü
53°C 20 sn	
60°C 4 dakika	

EK 6 Cycle sequencing PCR mix:

BigDye 0.5 μ l

5X Sequencing buffer 2 μ l

DEPC treated water upto 10 μ l

Primer 0.5 μ l

DNA 2 μ l

Thermal cycler conditions

96°C 1 min

96°C 10 sec

50°C 25 sec 25 cycle

60°C 4 min

4°C ∞