

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

**GAZIANTEP 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 onaylıyorum.

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 GAZIANTEP 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

GAZIANTEP 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 teknolojiye 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 izolasyonu 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

TABLULAR 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 Laktöz 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 (y1B) 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

1.1 Yoğurt

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 oldukları 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 amaçlanmaktadır.

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 yoğurt 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, kışık 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).

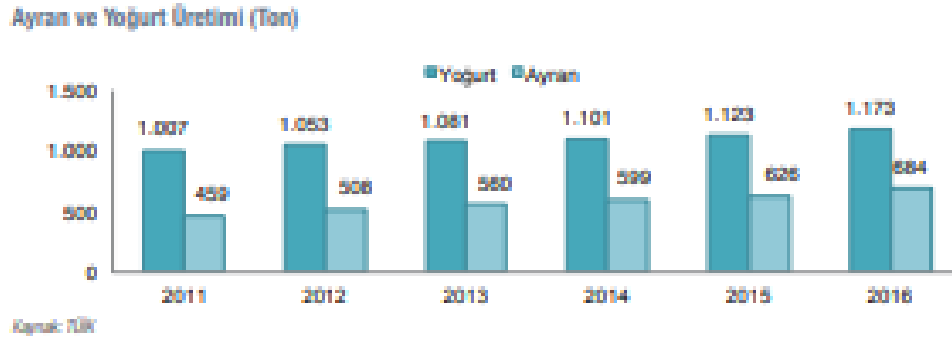
Bu teknikler içerisinde bilinen en eski yöntem süzme işlemi ile koyulaştırma dır. Bu işlem ile üretilen, yoğurda göre daha asidik, kuru madde oranı yüksek ve bir yoğunlaştırılmış yoğurt çeşidi olan süzme veya torba yoğurtlar, ilk kez göçebe Türk kavimleri tarafından üretildiği bildirilmektedir. Türkiye’nin bütün bölgelerinde yoğurdun raf ömrünü uzatmak amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Uysal 1993 - Tekinşen ve Bayar 2008). Torba içerisinde süzölen 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, oluşarı pıhtıyı bez torbada süzöp üzerine don yağı ilave edilmesiyle elde edilen bir diğeri 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 yağlı 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 yoğurttan %3,80 veya daha fazla, yarım yağlı yoğurttan %1,50 veya daha fazla, yağsız yoğurttan %0,50 veya daha az olarak, yağlı yoğurttan 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. Yoğurttan 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	$2 >$ 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 yoğurttan en az %3,80, yağlı yoğurttan en az %3, yarım yağlı yoğurttan en az %1,50, az yağlı yoğurttan en çok %1,50 ve yağsız yoğurttan 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. Yoğurttan 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 belirtilmektedir⁶. 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

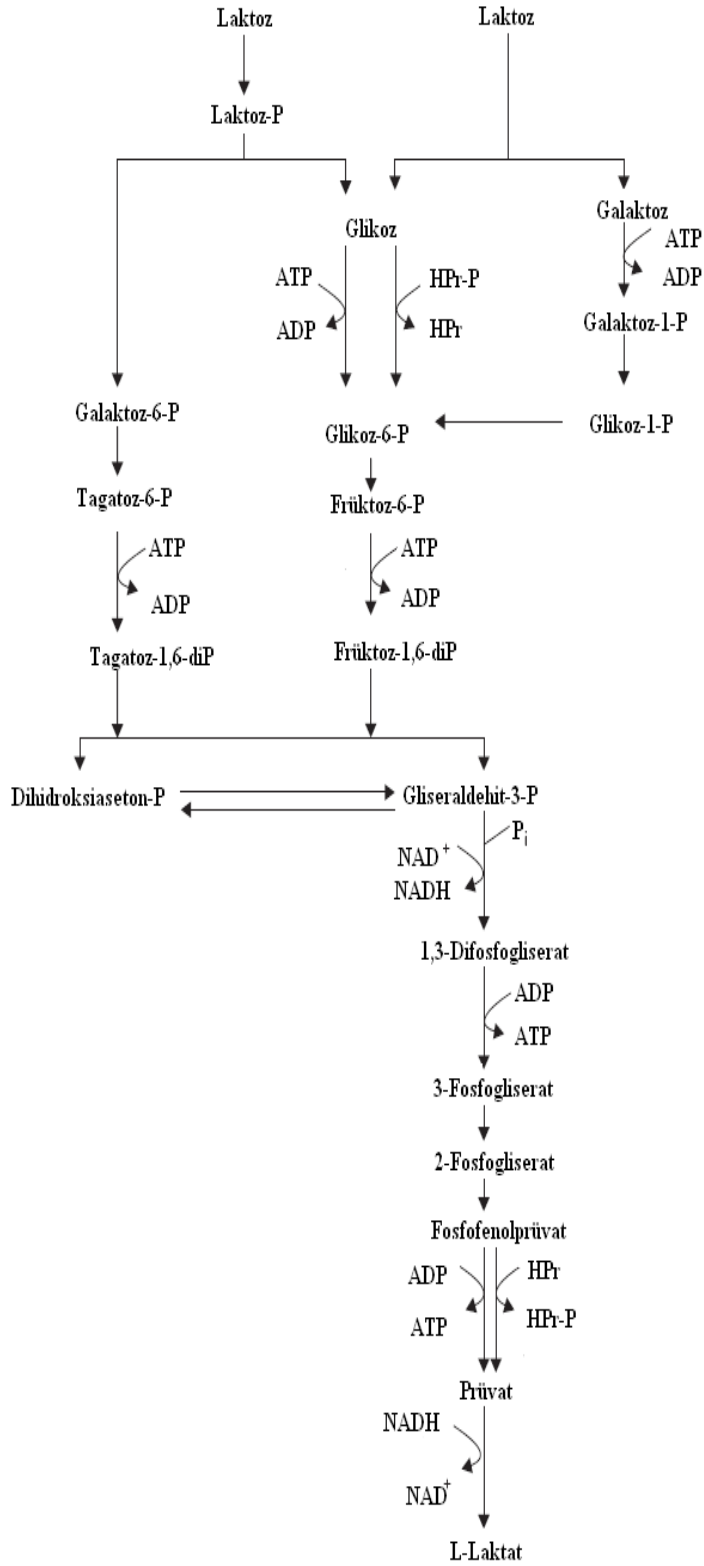
laktik dehidrogenaz enzimiyle laktik aside metabolize edilir. Şekil 4’de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yoluyla laktozun pirüvata ve laktik aside metabolize edilmesi

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 Konfigurasyonu	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-panas reaksiyon zincir yolu(Vedamuthu 2005).

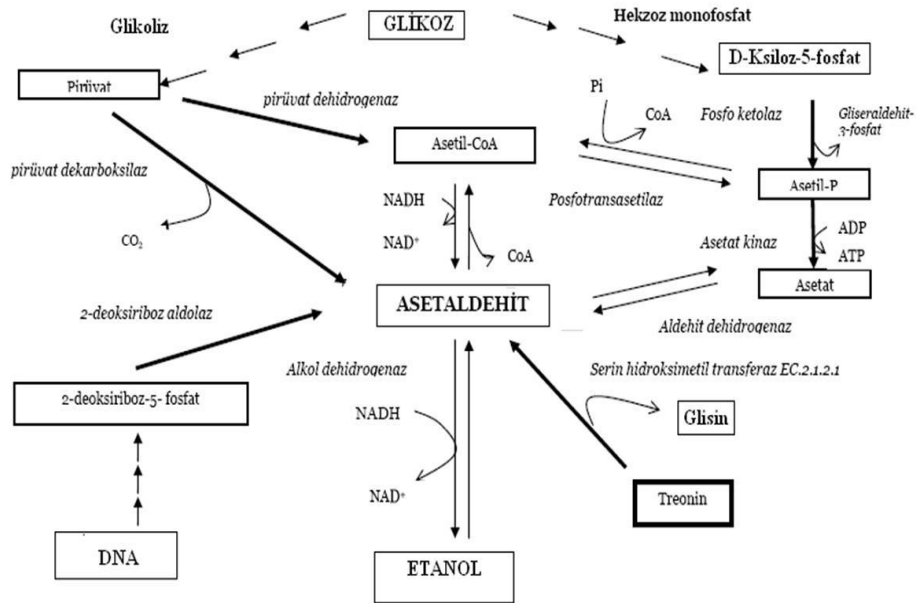
Yoğurt starter kültürlerinin oluşturduğu asiditenin etkisiyle pH 5,20-5,30'da kalsiyum-kazeinat-fosfat kompleksinin stabilizasyonun bozulduğu, kazeinlerde pıhtılaşmanın başladığı, destabilizasyon esnasında serbest kalan hidrojen iyonlarının protein moleküllerindeki bazik grup (-NH₂) tarafından tutulduğu, 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 asetatın 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 hücrelerinin 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 kefir mayası *Kluyveromyces marxianus*'un anamorfik evresidir. *Kluyveromyces marxianus* ise eskiden *Kluyveromyces fragilis*, *K.bulgaricus*, *Saccharomyces lactis* ve *S. fragilis* isimleri ile anılmıştır. Günümüzde *Candida kefir* için *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* ve *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus* isimleri de kullanılmaktadır. *Candida kefir*'in eski isimleri *Candida pseudotropicalis* ve *Torula kefir*'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. Ozmotolerant 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 fermantasyonu ile 1 molekül glukozdan 2 molekül etil alkol ve 2 molekül karbondioksit oluştururlar. Alkol fermantasyonu, 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 saklanmasında 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 fermantasyonla 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 çalışmada, 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 çalışmada, 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 koymasından sonra 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 laboratuvarında incelenen steril tüplerde 4°C de muhafaza ettiklerini, her bir örnekten 10⁻¹ dilüsyondan sonra, 10 kat seri seyreltme yapılmasının ardından alt kültürledikten 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 bildirmişler.

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 duyu 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 duyu 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 *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 ısı 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
Sığır 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 karıştırıcı 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 jöjeye aktarılmıştır. Balon jöje içeriği distile su ile çizgisine tamamlanmıştır. Balon jöje, 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 izolatlar 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.

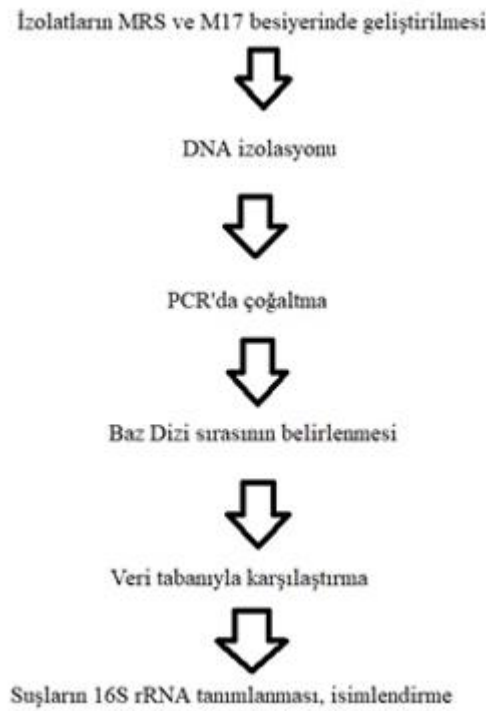
3.2.10 İzolatların Saklanması

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 olusan tüplerdeki tortu/bulanıklıktan yaklaşık 2 ml alınarak içinde 600 µL gliserol bulunan steril tüplere aktarılarak 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 izolatin 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 (bioMérieux) 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

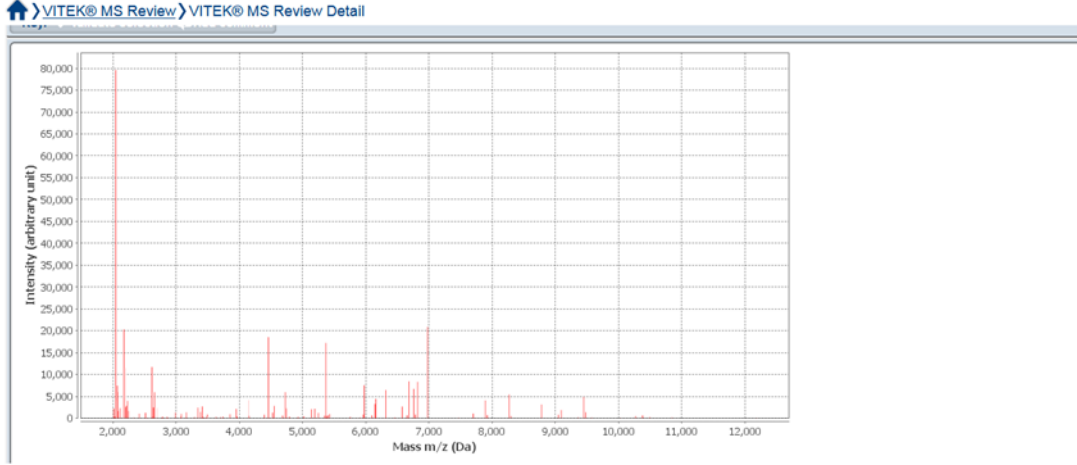
Gram boyama, katalaz testi ve mikroskopta 100 imersiyon objetifinde morfolojik olarak tanımlandıktan sonra elde edilen koloniler MALDI-TOF MS yöntemi için Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Bursa' ya gönderilmiştir.

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.

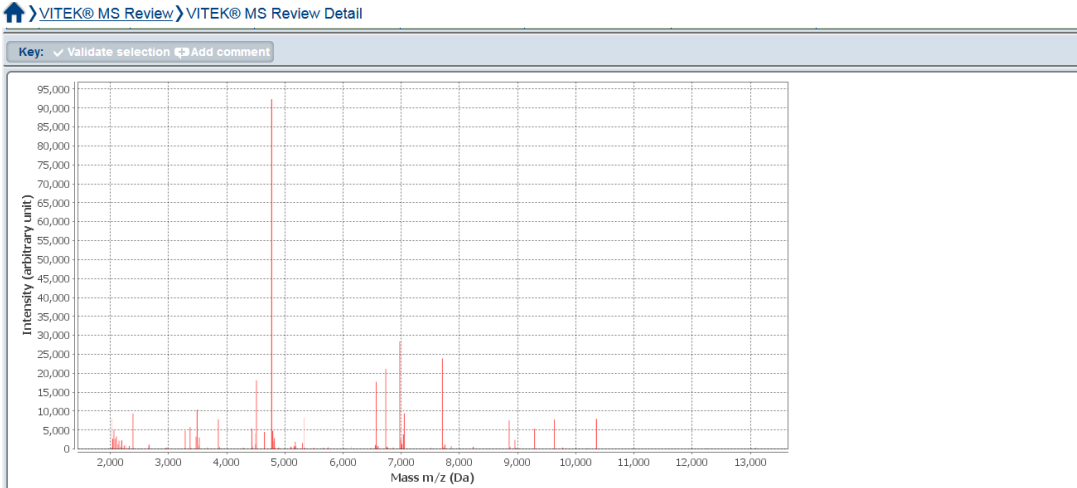
Sıra Nosu	İzolat Kodu	Morfolojisi/Gram	MALDI-TOF MS İdentifikasyon Sonuçları
1	1M (akM) AkçaburçM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
2	2M (açM) AkçagözeM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
3	3M (köM) KöksalanM	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
4	4M (yğM) Yığınlı M	Maya	<i>Kluyveromyces marxianus</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) Yıgınlık	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-GGAACAAACACCCAGCGAGTCTT			72
Sbjct	674	CAACTTTGAGAGTTTGGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCCAGCGAGTCTT			615
Query	73	TACAACACCTATGAGTCTCTTTGACCCCAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTAAGACG			132
Sbjct	614	TATAACACCTATGAGTCTCTTTGACCCCAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTAAGACG			555
Query	133	TAGATGTGCAGAGTTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCAA			192
Sbjct	554	TAGATGTGCAGAGTTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCAA			495
Query	193	CGGCTAGCCACTTTCAGGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGTT			252
Sbjct	494	CGGCTAGCCACTTTCAGGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGTT			435
Query	253	TGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTGC			312
Sbjct	434	TGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTGC			375
Query	313	GTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAAATCTGCAATTCAACAATACATATCGCAATTCGCTG			372
Sbjct	374	GTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAAATCTGCAATTCAACAATACATATCGCAATTCGCTG			315
Query	373	CGTTCCTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAAATATTAATTT			432
Sbjct	314	CGTTCCTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAAATATTAATTT			255
Query	433	TATAGTATAAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAGA			492
Sbjct	254	TATAGTATAAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAGA			195
Query	493	CGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAAT			552
Sbjct	194	CGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAAT			135
Query	553	AGAAAACTGATGACAGAGAAATCAAGAACTGGCCCGCGCAATTAAAGCGCA 603			
Sbjct	134	AGAAAA-CTGATGACAGAGAA-TCAAGAACTGG-CCGCGCAATTAAAGCGCA 87			

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

Kluyveromyces lactis culture CBS:5669 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	AACTTTTGAAGATTTTGGTTAAAGGCCGTATGCCTCAAGGAGACAA-CACCCAGCGAGTCT			72
Sbjct	676	AAC-TTTGAG-AGTTTGGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCCAGCGAGTCT			619
Query	73	TTATCTCTTCTATGAGTCTCTTTGACCCA-GCTTACCACGAATTGGCGCATACCTAAGAC			131
Sbjct	618	TTATAACACCTATGAGTCTCTTTGACCCAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACTAAGAC			559
Query	132	GTAGATGTGCAGAGTTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA			191
Sbjct	558	GTAGATGTGCAGAGTTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCACGCAGATGGCA			499
Query	192	ACGCTTAGCCACTTTCAGGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGTT			251
Sbjct	498	ACGCTTAGCCACTTTCAGGTTAAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCCAAAGGTT			439
Query	252	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTG			311
Sbjct	438	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAAATACCAGAGGGGCGCAATGTG			379
Query	312	CGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAAATCTGCAATTCAACAATACATATCGCAATTCGCT			371
Sbjct	378	CGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAAATCTGCAATTCAACAATACATATCGCAATTCGCT			319
Query	372	GCGTTCCTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAAATATTAATTT			431
Sbjct	318	GCGTTCCTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAAATATTAATTT			259
Query	432	TTATAGTATAAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTTGTGTTTATGTCCACTGGAAAG			491
Sbjct	258	TTATAGTATAAATAGTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTTGTGTTTATGTCCACTGGAAAG			199
Query	492	ACGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATACAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAA			551
Sbjct	198	ACGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGAAA			139
Query	552	TATAAAAAGCTGGATAGCAGAAAAATCAAGAACTGGCCCGCGCAATTAAACCGAGGCTTGT			611
Sbjct	138	TAGAAAA-CT-GATAGCAGAGAAATCAAGAACTGGCCCGCGCAATTAAACCGAGGCTTGT			81
Query	612	TCAGACGATTCACCAACCAATCTATTTCATTCCTAATCTTTTAAATGATCTCTCCACA			671
Sbjct	80	-CAGACGATTCACCAACCAATCTATT-CATTCATAATCTTT-AAT-GAT-C-CTTCGCA			27
Query	672	AGTTTACCTTACCGAACC 689			
Sbjct	26	GGTTCACCTA-CGGAACC 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- AAGCCGTAATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGGGTCT	74			
Sbjct 678	AACTTTG-AGAGTTTGGTTAAAGCCGT-ATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGAGTCT	621			
Query 75	TTATAAAACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACCTAAGAC	134			
Sbjct 620	TTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACCTAAGAC	561			
Query 135	GTAATGTGCAAGAGTGGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTCACGCGAGATGGCA	194			
Sbjct 560	GTAGATGTGCAAGAGTGGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTCACGCGAGATGGCA	501			
Query 195	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	254			
Sbjct 500	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	441			
Query 255	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	314			
Sbjct 440	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	381			
Query 315	CGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCAATTCGCT	374			
Sbjct 380	CGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCAATTCGCT	321			
Query 375	GCGTTCATTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAT	434			
Sbjct 320	GCGTTCATTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAT	261			
Query 435	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAG	494			
Sbjct 260	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAGAG	201			
Query 495	ACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTAGGATGAGA	554			
Sbjct 200	ACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTCATAGAGAAAAAA-CTCCATTGTGTTTAGGATGAGA	143			
Query 555	AAATAAAAACTGAATAGCAGGAAATCAAGAAATTTGGCCCGCGCAATTTAAGCGCAA	614			
Sbjct 142	AA-TAGAAAA-CTGA-TAGCAGAGAA-TCAAGAACT--GGCC-GCGCAA-TTAAGCGCAG	91			
Query 615	GCCTTGTTTCAAGAGATTCAGCAATCTATTCATTCATAATCTTAAATGATCCCTTC	674			
Sbjct 90	GCCTTGTTTCAAGAGATTCAGCAATCTATTCATTCATAATCTTAAATGATCC-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 688

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	AAACTTTGAGAGTTTTTGGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCAGCGAGTCT	610			
Query 75	TTATAATACCAATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACCTAAGAC	134			
Sbjct 609	TTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCAAACCTAAGAC	550			
Query 135	GTAGATGTGCAAGAGTGGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTCACGCGAGATGGCA	194			
Sbjct 549	GTAGATGTGCAAGAGTGGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTCACGCGAGATGGCA	490			
Query 195	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	254			
Sbjct 489	ACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAACCCAAAGGT	430			
Query 255	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	314			
Sbjct 429	TTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTG	370			
Query 315	CGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCAATTCGCT	374			
Sbjct 369	CGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCAATTCGCT	310			
Query 375	GCGTTCATTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAT	434			
Sbjct 309	GCGTTCATTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGAATATTAAT	250			
Query 435	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAG	494			
Sbjct 249	TTATAGTATAATAGTTTTTCATAATACAAAATATGTTTGTGTTTATGTCCACTGGAG	192			
Query 495	AGACGAGCTCTCCAGGGAAGTAATTCATAAAGAAAAAATCCATTGTGTTTAGGATGAGA	554			
Sbjct 191	AGACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGTTTAGGATGAGA	132			
Query 555	AATAAGAAAACTGATAGCATAGAATCAAGAAATTTGGCCCGCGCAATTAAGCGCAGGCCCTGT	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 728

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
401 bits(217)	5e-108()	<u>254/271(94%)</u>	5/271(1%)	Plus/Minus	

Features:

```

Query 11  ATAAAAAATGATTAATCCGCAAGTTGGAAAAACCTAAAAACGACCGGTACTTGCATTATAACC 70
Sbjct 726  ATAAAAAA-GATT-AGCCGCAAGTTGGTAAAAACCTAAAAACGACCG-TACTTGCATTATAACC 670

Query 71  TCAAGCAGCA-AGAAACCTCTCTTTGGaaaaaaaaaCATCCAATGAAAAGGCCACCAA 129
Sbjct 669  TCAAGCAGCAGAGAAACCTCTCTTTGGAAAAAAAAAAAAACATCCAATGAAAAGGCCAGCAA 610

Query 130  TTTCAATTTAACTOCAAA-ATTATCACTCACTACAAAACAAAATGTTTAAAAAAGAAAATG 188
Sbjct 609  TTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACAAAACAAAATGTTTAAAAAAGAAAATG 550

Query 189  ACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGAAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCA 248
Sbjct 549  ACGCTCAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCA 490

Query 249  ATGATTCACGAAATCTGCAATTCACATTAC 279
Sbjct 489  ATGATTCACGAAATCTGCAATTCACATTAC 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  ATTTGGGGTC-ACCTTTGAGAGTTTTGGTTAA-GCCGTATGCCTCABGGAGACAAACAC 64
Sbjct 681  ATTTGAGGTCAAACTTTG-AGAGTTTTGGTTAAAGCCGTATGCCCAAGGAGACAAACAC 623

Query 65  CAGCGGGTCTTTATAACTCCAATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCA 124
Sbjct 622  CAGCGAGTCTTTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATTGGCGCA 563

Query 125  AACCTAAGACGTAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCAC 184
Sbjct 562  AACCTAAGACGTAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCAC 503

Query 185  GCAGATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA 244
Sbjct 502  GCAGATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA 443

Query 245  ACCCAAAGGTTTGAGAGAGAAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGAG 304
Sbjct 442  ACCCAAAGGTTTGAGAGAGAAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGAG 383

Query 305  GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTACAAAAATCTGCAATTCACAATACATATC 364
Sbjct 382  GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTACAAAAATCTGCAATTCACAATACATATC 323

Query 365  GCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTGA 424
Sbjct 322  GCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTGA 263

Query 425  ATATTAATTTTATAGTATAATAGTTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTATGTC 484
Sbjct 262  ATATTAATTTTATAGTATAATAGTTTTTTCATAATACAAAATATTGTTTGTGTTATGTC 203

Query 485  CACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTA 544
Sbjct 202  CACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATAGAGAAAAAACTCCATTGTGTTTA 143

Query 545  GGATGAGAAAATAGAAAATGATAGCAGAGAAATCAAGAAATGGCCGCGCAATTTAAGCGCA 604
Sbjct 142  GGATGAGAAAATAGAAAATGATAGCAGAGAAATCAAGAAATGGCCGCGCAATTTAAGCGCA 84

Query 605  GGCCTTGTTCAGACGATTCGCCAGCAATCTATTCAATTCATAAAATCTTTAAATGATCCTT 664
Sbjct 83  GGCCTTGTTCAGACGATTCGCCAGCAATCTATTCAATTCATAAAATCTTTAAATGATCCTT 25

Query 665  CCGCAGGTTACCTACGGAAA 685
Sbjct 24  CCGCAGGTTACCTACGGAAA 4
  
```

Şekil 4.9 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-AGGTCAACTTTGAAAGTTTTGGTTAAAGCCGATGCOCTCAAGGAGACAAAACACCA	65			
Sbjct 625	ATTTGAGGTCAACTTTGAGAGTTTTGGTTAAAGCCGATGCOCTCAAGGAGACAAAACACCA	566			
Query 66	GCGGGTCTTTATCA-ACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACACGAATTGGCGGCAA	124			
Sbjct 565	GCGAGTCTTTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACACGAATTGGCG-CAA	507			
Query 125	ACCTAAGACGTAAATGTGCAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACAOCGACGCCCTGCTCACG	184			
Sbjct 506	ACCTAAGACGTAGATGTGCAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACAOCGACGCCCTGCTCACG	447			
Query 185	CAGATGGCCACCGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA	244			
Sbjct 446	CAGATGGCCACCGCTAGCCACTTTCAAGTTAAACCGAGACGAGTATCACTCACTACCAA	387			
Query 245	CCCAAAGGTTTGAGAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAAATACCAAGGG	304			
Sbjct 386	CCCAAAGGTTTGAGAGGAAATGACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAAATACCAAGGG	327			
Query 305	CGCAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAATCTGCAATTACAAATACATATCG	364			
Sbjct 326	CGCAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAATCTGCAATTACAAATACATATCG	267			
Query 365	CAATTCGCTGCGTTCCTTCATCGATGCGAGAAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAA	424			
Sbjct 266	CAATTCGCTGCGTTCCTTCATCGATGCGAGAAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAA	207			
Query 425	TATTAAGTTTTATAGTATAAATACCTTTTTCATAAATAAAA-TATTGTTTGTGTTTATGTCC	483			
Sbjct 206	TATTAAGTTTTATAGTATAAATAGTTTTTTCATAAATAAAAATATTGTTTGTGTTTATGTCC	147			
Query 484	ACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATAGAAAAAAAACTCCATTTGTGTTTAG	543			
Sbjct 146	ACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAAAGTAGTTCATAGAAAAAAAACTCCATTTGTGTTTAG	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	AATTTTAAAGAA-ATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTTCCAAATACGCT	74			
Sbjct 12	AACTTTAAAGAACATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTTATCGATAACGTTCCAAATACGCT	71			
Query 75	CCGTATAAAAAAGATTAGCGCGTGGTAAAAACCTAAAAACGACCGTACTTGCATTATAC	134			
Sbjct 72	CAGTATAAAAAAGATTAGCGCGTGGTAAAAACCTAAAAACGACCGTACTTGCATTATAC	131			
Query 135	CTCAAGCACGCGAGAAACCTCTCTTTGGAAAAAAAAAACATCCCAATGAAAAGGCCAGCA	194			
Sbjct 132	CTCAAGCACGCGAGAAACCTCTCTTTGGAAAAAAAAAACATCCCAATGAAAAGGCCAGCA	191			
Query 195	ATTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAACAAAATGTTTGTATAGGAAAG	254			
Sbjct 192	ATTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAACAAAATGTTTGTAAAGGAAAT	251			
Query 255	GACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT	314			
Sbjct 252	GACGCTCAAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT	311			
Query 315	AATGATTCACGGAATTCGCAATTCACATTAAGTATCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCG	374			
Sbjct 312	GATGATTCACGGAATTCGCAATTCACATTAAGTATCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCG	371			
Query 375	ATGCGAAAAACCAAGAAAACCGTTGTTGaaagtttttaataattttaaaatttcaagttaca	434			
Sbjct 372	ATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTTAAATTTTTAAAAATTCAGTTAC-	430			
Query 435	aaaaattcttgtttttgcaaaaaatTTaatGAAATGATAAAATGTTTGTGTTTGTTAAC	494			
Sbjct 431	AAAAATCTTGTGTTTTGACAAAAATTTAATGAATAGATAAAAATGTTTGTGTTTGTTAAC	490			
Query 495	CTCTGGGCCCCGATGGCTCGA 515				
Sbjct 491	CTCTGGGCCCCGATGGCTCGA 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-ACATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTATCGATAAACGTTCCAAATAGCTC			68
Sbjct	788	ACTTTAAGAACATTGTTGCGCTAGACGCTCTCTTCTATCGATAAACGTTCCAAATAGCTC			729
Query	69	AGTATAAAAAAGATTAGCCGCAAGTTGGTAAAACTAAAAACGACCGTACTTGCATTATAAC			128
Sbjct	728	AGTATAAAAAAGATTAGCCGCAAGTTGGTAAAACTAAAAACGACCGTACTTGCATTATAAC			669
Query	129	TCAAGCAAGCAGAGAAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCCAATGA AAAAGGCCAGCAA			188
Sbjct	668	TCAAGCAAGCAGAGAAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCCAATGA AAAAGGCCAGCAA			609
Query	189	TTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTGAAAAAGAAATG			248
Sbjct	608	TTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAACAGAAATGTTGAAAAAGAAATG			549
Query	249	ACGCTCAAAACAGGCATGCCCTCGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCG			308
Sbjct	548	ACGCTCAAAACAGGCATGCCCTCGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCG			489
Query	309	ATGATTCACGGAAATTCGCAATTCACATTACGTATCGCAATTCGCTGCGTTTCATCGA			368
Sbjct	488	ATGATTCACGGAAATTCGCAATTCACATTACGTATCGCAATTCGCTGCGTTTCATCGA			429
Query	369	TGCGAGAACCCANGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTTAAATATTTTAAAAATTTCCAGTTACAA			428
Sbjct	428	TGCGAGAACCCANGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTTAAATATTTTAAAAATTTCCAGTTACAA			369
Query	429	AAATTCCTGTTTTTGGCAAAAAATTTAATGAATAGATAAAAATGTTTTGTTTTGTTAACT			488
Sbjct	368	AAATTCCTGTTTTTGGCAAAAAATTTAATGAATAGATAAAAATGTTTTGTTTTGTTAACT			309
Query	489	CTGGGCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAGAAAAAAGTTGCAAAAGATATGAAAACTCCACAG			548
Sbjct	308	CTGGGCCCCGATTGCTCGAATGCCCAAGAAAAAAGTTGCAAAAGATATGAAAACTCCACAG			249
Query	549	TGTGTTGATTTGAAAAGGTTTTTAAATGTCCTATAACAAAAACACAGAAATCTCTCACCGT			608
Sbjct	248	TGTGTTGATTTGAAAAGGTTTTTAAATGTCCTATAACAAAAACACAGAAATCTCTCACCGT			189
Query	609	TTGGAAATAGCAAGAAAAAATTTACAAAGCCTAGCAAGACCCGCGCACTTAAAGCCAGGGCCC			668
Sbjct	188	TTGGAAATAGCAAGAAAAAATTTACAAAGCCTAGCAAGACCCGCGCACTTAAAGCCAGGGCCC			129
Query	669	GGGCTGGACTCT-CATCTCTTGTCTCTCTTGGCCAGTAAA-GCTCTCATGCTCT-G-CAAA			724
Sbjct	128	GG-CTGGACTCTCCATCTCTTGTCTCTCTTGGCCAGTAAAAGCTCTCATGCTCTTGGCCAAA			70
Query	725	ACAAAAAATTTTCATTTTCAAAAATTTTAAAAATTTCTCTAAAGATACCCCTTCGGGAGGT			784
Sbjct	69	ACAAAAAATTTTCATTTTCAAAAATTTTAAAAATTTCTCTAAAGATACCCCTTCGGGAGGT			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: 802 Number of Matches: 1
 Range 1: 1 to 849

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-AAGCCGTATGCCCTAAGGAGACAAAACCCAGCGGGTCTTTA			69
Sbjct	649	ACTTTGAGAGTTTGGTTAAGCCGTATGCCCTAAGGAGACAAAACCCAGCGAGTCTTTA			590
Query	70	TAAACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATGGCGCAAACTAAGACGTA			129
Sbjct	589	TAAACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATGGCGCAAACTAAGACGTA			530
Query	130	GATGTGCAAGAGTCCGATCCATAGACTTGCACACGCGCCCTGCTCACGCGAGATGGCAACG			189
Sbjct	529	GATGTGCAAGAGTCCGATCCATAGACTTGCACACGCGCCCTGCTCACGCGAGATGGCAACG			470
Query	190	GCTAGCCACTTTCAAGTTAACCOCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCAAGGTTTG			249
Sbjct	469	GCTAGCCACTTTCAAGTTAACCOCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAACCAAGGTTTG			410
Query	250	AGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT			309
Sbjct	409	AGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT			350
Query	310	TCAAAGATTTGATGATTACGAAAATCTGCAATTCACAAATACATATCGCAATTCGCTGCG			369
Sbjct	349	TCAAAGATTTGATGATTACGAAAATCTGCAATTCACAAATACATATCGCAATTCGCTGCG			290
Query	370	TTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTGAATATTTAAATTTTA			429
Sbjct	289	TTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTGAATATTTAAATTTTA			230
Query	430	TAGTATAAATAGTTTTTTCATAATACAAAATATGTTTTGTGTTTATGTTCCACTGGAGAGACG			489
Sbjct	229	TAGTATAAATAGTTTTTTCATAATACAAAATATGTTTTGTGTTTATGTTCCACTGGAGAGACG			170
Query	490	AGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGTTTAGGATGAGAAATAG			549
Sbjct	169	AGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGTTTAGGATGAGAAATAG			110
Query	550	AAAAC TGATAGCAGAGAAATCAAGAAATGGCCGCGCAATTAAGCGCAGGCCCTGTTTCAGAC			609
Sbjct	109	AAAAC TGATAGCAGAGAAATCAAGAAATGGCCGCGCAATTAAGCGCAGGCCCTGTTTCAGAC			50
Query	610	GATTCGCCAGCAATCTATTCAATTCATAATCTTTAATGATCCTTCGGCA	658		
Sbjct	49	GATTCGCCAGCAATCTATTCAATTCATAATCTTTAATGATCCTTCGGCA	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-CCTAAAACGACCGTACT			119
Sbjct	821	CCAATACGCTCAGTATAAAAAAGATTAGCCGCGAGTTGGTAAAACCTAAAACGACCGTACT			762
Query	120	TGCATTATAC-TAAAGCACGCAGAGAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCAATGAA			178
Sbjct	761	TGCATTATACCTCAAGCACGCAGAGAAACCTCTCTTTGGGAAAAAAAAAATCCAATGAA			702
Query	179	AAGGCCAGCTTTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAAAAGAATGTTTG			238
Sbjct	701	AAGGCCAGCAATTTCAAGTTAACTCCAAAGAGTATCACTCACTACCAAACAGAATGTTTG			642
Query	239	AGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT			298
Sbjct	641	AGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGT			582
Query	299	TCAAAAATTCGATGATTCACGGATTTCTGCATTTACATTACATATCGAATTTTCG			353
Sbjct	581	TCAAAGATTCGATGATTCACGGATTTCTGCAATTCACATTACGTATCGCATTTCG			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: 699 Number of Matches: 1
 Range 1: 188 to 625

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-AAATTTAAGAATTTTGGTTAA-GCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACGAG			65
Sbjct	625	TTGAGGTCAAACCTTTGAGAGTTTTGGTTAAAGCCGTATGCCTCAAGGAGACAAACACCAG			566
Query	66	CGGGTCTTT-CACCCCTATGAGTCTCTATGACCC-TGCTTACCACGAATGGGCGCAA-C			122
Sbjct	565	CGGGTCTTTATAACACCTATGAGTCTCTATGACCCAAAGCTTACCACGAATGGGCGCAAAC			506
Query	123	CTAAGACGTAAATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGC-TCCCTGCTCAGCA			181
Sbjct	505	CTAAGACGTAGATGTGCAAGAGTCGAGTCCATAGACTTGACACGCAGCCCTGCTCAGCA			446
Query	182	GATGGCAACGGCTAGCCACTTTCA-GTTAACCCGAAACGAGTATCACTCACTACCAAAAC			240
Sbjct	445	GATGGCAACGGCTAGCCACTTTCAAGTTAACCCGAGACGAGTATCACTCACTACCAAAAC			386
Query	241	CAA-GGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCG			299
Sbjct	385	CAAAGGTTTGAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCTGGAATACCAGAGGGCG			326
Query	300	CAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCA			359
Sbjct	325	CAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTCACGAAAATCTGCAATTCACAATACATATCGCA			266
Query	360	ATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGGAAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAATA			419
Sbjct	265	ATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGGAAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAATA			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-AAAGGTTA			68
Sbjct 1402		ACTTAGGCGCTGGCTC-AAAGGTTA			1343
Query 69		TGTGACGGGCGGTGTGTACAAAG			129
Sbjct 1342		TGTGACGGGCGGTGTGTACAAAG			1293
Query 129		TTACTAGCGATTCGACCTTCATGT			189
Sbjct 1282		TTACTAGCGATTCGACCTTCATGT			1223
Query 189		CTTTAGAGATTAGCTCGCCGTCAC			248
Sbjct 1222		CTTTAGAGATTAGCTCGCCGTCAC			1163
Query 249		GTGTGTAGCCCGAGTTCATAAGGG			308
Sbjct 1162		GTGTGTAGCCCGAGTTCATAAGGG			1103
Query 309		TTATTACCGCAGTTCGCTAGAGT			368
Sbjct 1102		TTATTACCGCAGTTCGCTAGAGT			1043
Query 369		GCCTCGTTTCGGGACTTAACCCAA			429
Sbjct 1042		GCCTCGTTTCGGGACTTAACCCAA			993
Query 429		ACCTGTACACCGATGTACCGAAGT			488
Sbjct 992		ACCTGTACACCGATGTACCGAAGT			923
Query 489		ACCTGTAGAGTTCCTTGGCGTTC			548
Sbjct 922		ACCTGTAGAGTTCCTTGGCGTTC			863
Query 549		CCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTT			608
Sbjct 862		CCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTT			803
Query 609		TGCGTTAGCTTCGGCACTGAAAT			668
Sbjct 802		TGCGTTAGCTTCGGCACTGAAAT			743
Query 669		GCCTGACTTACCGAGTTCATAAT			728
Sbjct 742		GCCTGACTTACCGAGTTCATAAT			683
Query 729		GTTACGAGCCAGAGAGCCCGCTT			788
Sbjct 682		GTTACGAGCCAGAGAGCCCGCTT			623
Query 789		CGCTACACATGGAATTCCTCTCT			848
Sbjct 622		CGCTACACATGGAATTCCTCTCT			565
Query 849		GAACTATGGTTGAGCCACAGCTT			908
Sbjct 564		GAACTATGGTTGAGCCACAGCTT			509
Query 909		CTTTAAGCCCATTAATTCGGGAC	944		
Sbjct 508		CTTTAAGCCCATTAATTCGGGAC	475		

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

Staphylococcus epidermidis strain SE1, 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-CTTGA-GGCTAGCTCCAAATGG			65
Sbjct 730226		CCA-CTTGA-GGCTAGCTCCAAATGG			730285
Query 66		GTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACA			125
Sbjct 730286		GTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACA			730345
Query 126		ACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCA			185
Sbjct 730346		ACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCA			730405
Query 186		ACAACCTTATGGGATTTGCTTGA			245
Sbjct 730406		ACAACCTTATGGGATTTGCTTGA			730465
Query 246		GCACGTGTGTAGCCCAAAATCATA			305
Sbjct 730466		GCACGTGTGTAGCCCAAAATCATA			730525
Query 306		CGGTTTGTCAACGGCAGTCAACTT			365
Sbjct 730526		CGGTTTGTCAACGGCAGTCAACTT			730585
Query 366		GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA			425
Sbjct 730586		GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA			730645
Query 426		CACCACCTGTCACTCTGTGCCCG			485
Sbjct 730646		CACCACCTGTCACTCTGTGCCCG			730705
Query 486		GTCAAGATTTGGTAAAGTTCTTGC			545
Sbjct 730706		GTCAAGATTTGGTAAAGTTCTTGC			730765
Query 546		TGCGGGTCCCCTCAATTCCTTTG			605
Sbjct 730766		TGCGGGTCCCCTCAATTCCTTTG			730825
Query 606		GCTTAATGCGTTAGCTGCAAGCA			665
Sbjct 730826		GCTTAATGCGTTAGCTGCAAGCA			730885
Query 666		TTTACGGCGTGGACTACCA-GGT			724
Sbjct 730886		TTTACGGCGTGGACTACCA-GGT			730945
Query 726		GGCTCAGTTACAGAACAG-AGT			782
Sbjct 730946		GGCTCAGTTACAGAACAG-AGT			731003
Query 786		CA-TTCACCGCTACACATGGAAT			838
Sbjct 731004		CA-TTCACCGCTACACATGGAAT			731062
Query 839		CCA-TGACCCCTTCAACCGGGTTG			894
Sbjct 731063		CCA-TGACCCCTTCAACCGGGTTG			731117
Query 895		TACGGCGCGCT 905			
Sbjct 731118		TACGGCGCGCT 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-AAGCTCT-CCT-AGGTTAGACTACTACTTCTGGTGCACAAACTCCCAT			67
Sbjct	232504	ACCGAGGTAAAGCTCTCTCCCTAAGGTTAGACTACTACTTCTGGTGCACAAACTCCCAT			232445
Query	68	GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAACGATATTCAACCGGCGCATTTCTGATCCGC			127
Sbjct	232444	GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAACGATATTCAACCGGCGCATTTCTGATCCGC			232385
Query	128	GATTACTAGCGATTTCCGACTTACCGAGTCCGAGTTGCAGACTGCGATCCGGACTACGATC			187
Sbjct	232384	GATTACTAGCGATTTCCGACTTACCGAGTCCGAGTTGCAGACTGCGATCCGGACTACGATC			232325
Query	188	GGCTTTTGTGAGATTAGCATCTGCTTCGCGCAGTAGCAACCCCTTTGTACCGACCATTTGTAGC			247
Sbjct	232324	GGCTTTTGTGAGATTAGCATCTGCTTCGCGCAGTAGCAACCCCTTTGTACCGACCATTTGTAGC			232265
Query	248	ACGTTGTAGCCCTTGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGAACGTCGCTCCCGCCTTCCCTCCA			307
Sbjct	232264	ACGTTGTAGCCCTTGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGAACGTCGCTCCCGCCTTCCCTCCA			232205
Query	308	GTITGTCACTGGCAGTATCTTAAGGTTCCACCOCGAAAGTGTGGCAAAATAAGGAAAAGG			367
Sbjct	232204	GTITGTCACTGGCAGTATCTTAAGGTTCCACCOCGAAAGTGTGGCAAAATAAGGAAAAGG			232145
Query	368	GTTCGCTTCGCTTCCGAGCTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGAGCAGACAGCCATGC			427
Sbjct	232144	GTTCGCTTCGCTTCCGAGCTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGAGCAGACAGCCATGC			232085
Query	428	AGCACCTGTATCAGAGTTCCCGAAGGCCCAATCCATCTCTGGAAAGTTCTCTGTATGTC			487
Sbjct	232084	AGCACCTGTATCAGAGTTCCCGAAGGCCCAATCCATCTCTGGAAAGTTCTCTGTATGTC			232025
Query	488	AAAGCCAGGTAAAGGTTCTTCGCGTTCGATCGAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGC			547
Sbjct	232024	AAAGCCAGGTAAAGGTTCTTCGCGTTCGATCGAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGC			231965
Query	548	GGGCCCCCGTCAATTCATTTAGTCTTTAGTCTTTCGCAACCGTACTCCCGAGGCGGTCTACT			607
Sbjct	231964	GGGCCCCCGTCAATTCATTTAGTCTTTAGTCTTTCGCAACCGTACTCCCGAGGCGGTCTACT			231905
Query	608	TATCGCTTAGCTTCGCGCACTTAAAGCCCTCAAGGGCCCCAACCGCTAGTAGACATCGTTTA			667
Sbjct	231904	TATCGCTTAGCTTCGCGCACTTAAAGCCCTCAAGGGCCCCAACCGCTAGTAGACATCGTTTA			231845
Query	668	CGGCATGACTACCAAGGATATCTAACTCTCTTTCGCTCCCAATGCTTTCCGACCTCAAGTGT			727
Sbjct	231844	CGGCATGACTACCAAGGATATCTAACTCTCTTTCGCTCCCAATGCTTTCCGACCTCAAGTGT			231785
Query	728	CAGTATTAG-CCAGATGCTTCGCGTTCGCGATCGGATATCTTCCAGATCTCTACGATC			786
Sbjct	231784	CAGTATTAGCCAGATGCTTCGCGTTCGCGATCGGATATCTTCCAGATCTCTACGATC			231727
Query	787	TCACCGCTTACACCTTGAATTTCTACCATC-TCCTCCACTACTCTAGCTAAACAGATATCGAA			845
Sbjct	231726	TCACCGCTTACACCTTGAATTTCTACCATC-TCCTCCACTACTCTAGCTAAACAGATATCGAA			231668
Query	846	TGCA-TTCC-AGG-TAAGCTCGGGGATTTACATTGGAAT-A-T-AGCCACCTAACCGCG			899
Sbjct	231667	TGCA-TTCC-AGG-TAAGCTCGGGGATTTACATTGGAAT-A-T-AGCCACCTAACCGCG			231610
Query	900	CGCTTACCGCCAGTAAATC-GAT-AAGCTTTGCA-CCTCTGTATTACGGCG			949
Sbjct	231609	CGCTTACCGCCAGTAAATC-GAT-AAGCTTTGCA-CCTCTGTATTACGGCG			231558

Şekil 4.18 4K (yğK) 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	TTTCGAAAGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGT			73
Sbjct	834	TTTCGAAAGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGT			775
Query	74	GCGAAAGCGGGTGTGTACAAAGGCCCGGGAACGATATTCAACCGGCTAGCATGCTGATCTACGAT			133
Sbjct	774	GCGAAAGCGGGTGTGTGTACAAAGGCCCGGGAACGATATTCAACCGGCTAGCATGCTGATCTACGAT			715
Query	134	TACTAGCGATTCAGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAAATCCGAACTGAGAACCAAC			193
Sbjct	714	TACTAGCGATTCAGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAAATCCGAACTGAGAACCAAC			655
Query	194	TTTATGGGATTTGCTTGAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCCCTTTGTAATTGTCATTTGTAGCACG			253
Sbjct	654	TTTATGGGATTTGCTTGAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCCCTTTGTAATTGTCATTTGTAGCACG			595
Query	254	TGTGTAGCCCAATTCATTAAGGGGCAATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCCTCCGGTT			313
Sbjct	594	TGTGTAGCCCAATTCATTAAGGGGCAATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCCTCCGGTT			535
Query	314	TGTCACCGGCAGTCAACTTAGAGTGCACCACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAAGGGTTG			373
Sbjct	534	TGTCACCGGCAGTCAACTTAGAGTGCACCACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAAGGGTTG			475
Query	374	CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAAACCATGCAACCA			433
Sbjct	474	CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAAACCATGCAACCA			415
Query	434	CCTGTCACTCTGTCCCGGAAAGGGGAAAACCTATCTCTAGAGGGATCAGAGGATGTCAA			493
Sbjct	414	CCTGTCACTCTGTCCCGGAAAGGGGAAAACCTATCTCTAGAGGGATCAGAGGATGTCAA			355
Query	494	GATTTGGTAAAGGTTCTTTCGCGTTGCTTCGAAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG			553
Sbjct	354	GATTTGGTAAAGGTTCTTTCGCGTTGCTTCGAAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG			295
Query	554	GTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTTCGTAATCCCAAGGCGGAGTGCTTA			613
Sbjct	294	GTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTTCGTAATCCCAAGGCGGAGTGCTTA			235
Query	614	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAAGGGGCGGAAACCCCTTAAACACTTAGCACTCATCGTTTA			673
Sbjct	234	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAAGGGGCGGAAACCCCTTAAACACTTAGCACTCATCGTTTA			176
Query	674	CCGCGTG-actaccagggtatctaaatccctggtttgatccccacgcttttccgacacatca			732
Sbjct	175	CCGCGTGactaccagggtatctaaatccctggtttgatccccacgcttttccgacacatca			120
Query	733	ACGCTTACAGAAACAGAAAGTCCGCCCCCTTCGCGCCATGTTGTTTCCCTCCATTA			792
Sbjct	119	ACGCTTACAGAAACAGAAAGTCCGCCCCCTTCGCGCCATGTTGTTTCCCTCCATTA			70
Query	793	TCTTCTTGGCGCCATTTTACC	813		
Sbjct	69	TCT-CT-G-CGC-ATTTTACC	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	TCAA	CTTCGACGGCTAGGCTC-ARTGGTTACTCCACC	GGCTTCGGGTGTACAAACTCTCTCG		70
Sbjct 1447	TCAA	CTTCGACGGCTAGGCTC-ARTGGTTACTCCACC	GGCTTCGGGTGTACAAACTCTCTCG		1388
Query 71	TGGT	GTGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCCGGGAAC	CGTATTCCACCGTAGCATGCTGATCTA		130
Sbjct 1387	TGGT	GTGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCCGGGAAC	CGTATTCCACCGTAGCATGCTGATCTA		1328
Query 131	CGAT	TACTAGCGATTCCAGCTTCATATAGTTCAGTT	GCAGACTACAAATCCGAACTGAGAA		190
Sbjct 1327	CGAT	TACTAGCGATTCCAGCTTCATATAGTTCAGTT	GCAGACTACAAATCCGAACTGAGAA		1268
Query 191	CAACT	TTATGGGATTTGCTTGAACCTCGCGGTTTCG	GTGCCCCCTTTGTATTGTCCATTGTAG		250
Sbjct 1267	CAACT	TTATGGGATTTGCTTGAACCTCGCGGTTTCG	GTGCCCCCTTTGTATTGTCCATTGTAG		1208
Query 251	CACGT	TGTGTAGCCCAATCATAAAGGGGCATGATG	ATTTGAGCTCATCCCGACCTTCTCTC		310
Sbjct 1207	CACGT	TGTGTAGCCCAATCATAAAGGGGCATGATG	ATTTGAGCTCATCCCGACCTTCTCTC		1148
Query 311	GGTT	TGTACCCGGCAGTCAACTTAGAGTGC	CCAACTTAATGATGGCAACTAAGGCTTAA		370
Sbjct 1147	GGTT	TGTACCCGGCAGTCAACTTAGAGTGC	CCAACTTAATGATGGCAACTAAGGCTTAA		1088
Query 371	GTTG	CGCTCGTTCGGGACTTAAACCAACATCTC	ACGACACGAGCTGACGACAAACCATGC		430
Sbjct 1087	GTTG	CGCTCGTTCGGGACTTAAACCAACATCTC	ACGACACGAGCTGACGACAAACCATGC		1028
Query 431	ACCA	CTGTCACTCTGTCCCGGAAAGGGGAA	AACTCTATCTTAGAGGGGTTCAGAGGATG		490
Sbjct 1027	ACCA	CTGTGTCACTCTGTCCCGGAAAGGGGAA	AACTCTATCTTAGAGGGGTTCAGAGGATG		968
Query 491	TCAA	GATTTGGTAAAGGTTCTTCGCTTTCG	AAATTAACCAACATGCTCCACCGCTTGT		550
Sbjct 967	TCAA	GATTTGGTAAAGGTTCTTCGCTTTCG	AAATTAACCAACATGCTCCACCGCTTGT		908
Query 551	GGGG	TCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTC	CAACCTTGGGCTGCTACTCCCGAGGCGAGT		610
Sbjct 907	GGGG	TCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTC	CAACCTTGGGCTGCTACTCCCGAGGCGAGT		848
Query 611	CTTA	TGCGTTTACGTCAGCACTAAAGGGG	CGGAAACCCCTTAACACTTTAGCACTCAT		670
Sbjct 847	CTTA	TGCGTTTACGTCAGCACTAAAGGGG	CGGAAACCCCTTAACACTTTAGCACTCAT		790
Query 671	GTTT	ACGGCTG-ACTACCCAGGGTATCTA	ATCCCTGTTTGGATCCCGCAGATC		729
Sbjct 789	GTTT	ACGGCTG-ACTACCCAGGGTATCTA	ATCCCTGTTTGGATCCCGCAGATC		730
Query 730	AGCG	TCAAGTACAGACCAGAAATCGG	CCCTTCCCACTGGTGTTC-TC	AAATCTCTCTCG	788
Sbjct 729	AGCG	TCAAGTACAGACCAGAAATCGG	CCCTTCCCACTGGTGTTC-TC	AAATCTCTCTCG	671
Query 789	CAAT	TACCCGCTACACATG-A--TCC	ACTTTCTCTCT-CTGCACTTCAAGTT--	CCAGT	842
Sbjct 670	CAAT	TACCCGCTACACATG-A--TCC	ACTTTCTCTCT-CTGCACTTCAAGTT--	CCAGT	613
Query 843	-C-ART	GACCTC-ACGCTTGAAGCC-TGG	CGTT-C-CATC-GACT-AAAA	884	
Sbjct 612	TCCA	ATGACCTCCACGCTTGAAGCCG	TGGCGTTTCACATCAGACTTAAAA	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	GGGG	CTGGCTCCAGGTTACTCTACCGGACTTC	GGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTGACG		76
Sbjct 1414	GGGG	CTGGCTGGCTCCAGGTTACTCTACCGGACTTC	GGGTGTGTACAAACTCTCGTGGTGTGACG		1355
Query 77	GGCG	GTGTACAGGGCCCGGGAACGTATT	CACCGCGGCGTCTGATCCGCGATTACTAG		136
Sbjct 1354	GGCG	GTGTGTACAGGGCCCGGGAACGTATT	CACCGCGGCGTCTGATCCGCGATTACTAG		1295
Query 137	CGAT	TCCGACTTCATGTAGGCGAGTTG	CAGCCTACAAATCCGAACTGAGATTGG	CTTTAAG	196
Sbjct 1294	CGAT	TCCGACTTCATGTAGGCGAGTTG	CAGCCTACAAATCCGAACTGAGATTGG	CTTTAAG	1235
Query 197	AGAT	TAGCTGCGCTCACCGGACTCGCA	ACTCGTTGTACCAACCAATGTAGCAGTGT	GTATA	256
Sbjct 1234	AGAT	TAGCTGCGCTCACCGGACTCGCA	ACTCGTTGTACCAACCAATGTAGCAGTGT	GTATA	1175
Query 257	GCCC	AGGTCATAGGGGGCATGATGATTT	GACGTCATCCCACTTCCCTCCGGTTTATT	AC	316
Sbjct 1174	GCCC	AGGTCATAGGGGGCATGATGATTT	GACGTCATCCCACTTCCCTCCGGTTTATT	AC	1115
Query 317	CGGC	AGTCTGCTAGAGTGCACCACTG	AATGATGGCAACTAACAAATAGGGGTG	CGCTCG	376
Sbjct 1114	CGGC	AGTCTGCTAGAGTGCACCACTG	AATGATGGCAACTAACAAATAGGGGTG	CGCTCG	1055
Query 377	TTGC	GGGACTTAAACCAACATCTC	ACGACACGAGGTGACGACAAACCATG	CAACCACTGCT	436
Sbjct 1054	TTGC	GGGACTTAAACCAACATCTC	ACGACACGAGGTGACGACAAACCATG	CAACCACTGCT	995
Query 437	ATCG	ATGTACCGAAGTAACTTTCTAT	CTCTAGAAATAGCATCGGGATGT	CAGAACCCTGGT	496
Sbjct 994	ATCG	ATGTATACCGAAGTAACTTTCTAT	CTCTAGAAATAGCATCGGGATGT	CAGAACCCTGGT	935
Query 497	AAAG	TTCTTGGCTTCTTCAAAATTA	AAACCAATGCTCCACCGCTTGTG	CGGGCCCGCT	556
Sbjct 934	AAAG	TTCTTGGCTTCTTCAAAATTA	AAACCAATGCTCCACCGCTTGTG	CGGGCCCGCT	875
Query 557	CAAT	TCTTGGATTTCAACCTTGC	GGTCTGTACTCCCCAG-CGG	AGTGCCTTAATGGGTTA	615
Sbjct 874	CAAT	TCTTGGATTTCAACCTTGC	GGTCTGTACTCCCCAG-CGG	AGTGCCTTAATGGGTTA	815
Query 616	GCTG	CGCACTGAATCCCGGAAAGG	ATCCAAACCTAGCACTCATCGTT	TACGGCTGGA	675
Sbjct 814	GCTG	CGCACTGAATCCCGGAAAGG	ATCCAAACCTAGCACTCATCGTT	TACGGCTGGA	755
Query 676	CTAC	CAAGG-TATCTAATCCCTG	TTCGCTCCCAACGCTTTCGAG	CCCTCAGCGTCA	734
Sbjct 754	CTAC	CAAGGATATCTAAT-CCG	TTCGCTCCCAACGCTTTCGAG	CCCTCAGCGTCA	696
Query 735	GACCA	GAGAGCCGCTTTCCG	CCACCGGTTCCCTCCATATAT	CTACGCTTTTCCAC-GCTA	793
Sbjct 695	GACCA	GAGAGCCGCTTTTC-GCC	ACCGGTTTCCTCCATATATCT	ACGCTTTTCCACCGGCTA	637
Query 794	CACAT	GGAAATCCACCTCTCC	CCCTTCGGCAACTCAAGGTTG	ACAGTT-C-AA-GCG-A	849
Sbjct 636	CACAT	GGAA-TTCA-CTCTCC	CCCTTCGGCAACTCAAGGTTG	ACAGTT-C-AA-GCG-A	581
Query 850	CTAT	GATGGAGC-ACAGCCCTT	AACT-CAGACT-ATCAA-C	GCCTGCCCCCTCGCCTTTA	903
Sbjct 580	CTAT	GATGGAGC-ACAGCCCTT	AACT-CAGACT-ATCAA-C	GCCTGCCCCCTCGCCTTTA	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()	<u>326/334(98%)</u>	4/334(1%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 28	GGTGTGTAACAAGGCCCGGGAAACGTATTGCGCCGCGGGCGTGTGATCCGCGATTACTAG				87
Sbjct 1337	GGTGTGT-ACAAGGCCCGGGAA-CGTATT-CACCGCGGGCGTGTGATCCGCGATTACTAG				1281
Query 88	CGATTCCGACTTCATGTATGAGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGATTGGCTTTA-G				146
Sbjct 1280	CGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGATTGGCTTTAAG				1221
Query 147	AGATTAGCTCGCCGTCACCGACTCGCAACTCGTTGTACCAACCATTGTAGCACGTGTGTA				206
Sbjct 1220	AGATTAGCTCGCCGTCACCGACTCGCAACTCGTTGTACCAACCATTGTAGCACGTGTGTA				1161
Query 207	GCCAGGTTCATAGGGGCATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATTAC				266
Sbjct 1160	GCCAGGTTCATAGGGGCATGATGATTTGACGTTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATTAC				1101
Query 267	CGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCAACTGAATGATGGCACTAACCAATAGGGGTTGCGCTCG				326
Sbjct 1100	CGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCAACTGAATGATGGCACTAACCAATAGGGGTTGCGCTCG				1041
Query 327	TTGCGGGACTTAACCCATCATCTCACGACACGAG				360
Sbjct 1040	TTGCGGGACTTAACCCATCATCTCACGACACGAG				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()	<u>899/923(97%)</u>	23/923(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 16	TTCCGACGGCTAGCTCCAATGGTTACTCCACCAGGCTTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTG				75
Sbjct 1429	TTCCGACGGCTAGCTCCAATGGTTACTCCACCAGGCTTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTG				1370
Query 76	TGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCCGGGAACGTATTCCACCGTAGCATGCTGATCTACGATT				135
Sbjct 1369	TGACGGGCGGTGTGTACAAAGACCCGGGAACGTATTCCACCGTAGCATGCTGATCTACGATT				1310
Query 136	ACTAGCGGATTCAGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAACTACT				195
Sbjct 1309	ACTAGCGGATTCAGCTTCATATAGTTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAACTACT				1250
Query 196	TTATGGGATTTGCTTGAACCTCGGGTTTTCCCTGCCCCCTTGTATTGTCCATTGTAGCAAGT				255
Sbjct 1249	TTATGGGATTTGCTTGAACCTCGGGTTTTCCCTGCCCCCTTGTATTGTCCATTGTAGCAAGT				1190
Query 256	GTGTAGCCCAATTCATAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTT				315
Sbjct 1189	GTGTAGCCCAATTCATAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTT				1130
Query 316	GTCACCGGCAGTCAACTTAGAGTCCCAACTTAATGATGGCACTAAGCTTAAAGGGTTGC				375
Sbjct 1129	GTCACCGGCAGTCAACTTAGAGTCCCAACTTAATGATGGCACTAAGCTTAAAGGGTTGC				1070
Query 376	GCTCCGTCGGGACTTAAACCCATCTCACGACACGAGCTGACGACAAACCATGCAACCC				435
Sbjct 1069	GCTCCGTCGGGACTTAAACCCATCTCACGACACGAGCTGACGACAAACCATGCAACCC				1010
Query 436	CTGTCACTCTGTCCGCCGAAAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGGTGAGAGGATGTCAA				495
Sbjct 1009	CTGTCACTCTGTCCGCCGAAAGGGGAAACTCTATCTCTAGAGGGGTGAGAGGATGTCAA				950
Query 496	ATTTGGTAAGGTTTTCGCGGTTGCTTGGAAATTAACCAATGCTCCACCGCTTGTGGCGG				555
Sbjct 949	ATTTGGTAAGGTTTTCGCGGTTGCTTGGAAATTAACCAATGCTCCACCGCTTGTGGCGG				890
Query 556	TCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCCGCGTCTACTCCCCAG-CGGAGTGTCTAA				614
Sbjct 889	TCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTCCGCGTCTACTCCCCAGCGGAGTGTCTAA				830
Query 615	TGCCTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACCACTTAGCACTCATCGTTTAC				674
Sbjct 829	TGCCTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACCACTTAGCACTCATCGTTTAC				771
Query 675	GGCGTGGACTACCAAGGGGTATCTAATCCCTGTTTGTATCCCCACGCTTTCGACATCAGCGT				734
Sbjct 770	GGCGTGGACTACCAAGGGGTATCTAATCCCTGTTTGTATCCCCACGCTTTCGACATCAGCGT				711
Query 735	CAATTACAGACCCAGAAAGTCCGCTTTCGCGCACTGGGTTGTCTCTCCATATCTCTGCGCATT				794
Sbjct 710	CAATTACAGACCCAGAAAGTCCGCTTTCGCGCACTGGGTTGTCTCTCCATATCTCTGCGCATT				653
Query 795	TCACCCCTACACATGGA-TTC-ACCTT-CCTCT-CTGCCACTCA-GTTTTCCAGTT-CCAT				848
Sbjct 652	TCACCCCTACACATGGAATTCACCTTTCCTCTCTG-C-CTCAAGTTTCCAGTTTCCAA				594
Query 849	TGACCCCTTCCAGC-TTGAGC-GTGGGCTT-CACATCAGACT-AAAA-C-GCTTACCG-				901
Sbjct 593	TGA-CCCT-CCACGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCTACGCG				536
Query 902	CGCTT-ACGCCCCA-TA-TTCCGG				921
Sbjct 535	CGCTTTACGCCCAATAAATTCGGG				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()	<u>894/927(96%)</u>	26/927(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 8	GGTTCA-CITCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCAGCCTTCGGGTGTGTACAAACTC				66
Sbjct 1442	GGTTCAACCTTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCAGCCTTCGGGTGTGTACAAACTC				1393
Query 67	TCGTGTGTGTGACGGGCGGTGTGTGTACAAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGAT				126
Sbjct 1382	TCGTGTGTGTGACGGGCGGTGTGTGTACAAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGAT				1323
Query 127	CTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTTCAGACTACAAATCCGAACCTGA				186
Sbjct 1322	CTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTTCAGACTACAAATCCGAACCTGA				1263
Query 187	GAACAACTTTATGGGATTTGCTTGAACCTTCGGGTTTCGCTGCCCCCTTTGTATTGTCCATTG				246
Sbjct 1262	GAACAACTTTATGGGATTTGCTTGAACCTTCGGGTTTCGCTGCCCCCTTTGTATTGTCCATTG				1203
Query 247	TAGCAAGTGTGTAGCCCAATCATAAAGGGGCATGATGATTTGAAGTTCATCCCCACCTTCC				306
Sbjct 1202	TAGCAAGTGTGTAGCCCAATCATAAAGGGGCATGATGATTTGAAGTTCATCCCCACCTTCC				1143
Query 307	TCCGGTTTGTCCACCAGCTCAGCTTAGAGTCCCAACTTAAATGATGGCAACTAAGCTTA				366
Sbjct 1142	TCCGGTTTGTCCACCAGCTCAGCTTAGAGTCCCAACTTAAATGATGGCAACTAAGCTTA				1083
Query 367	AGGTTTGCCTTCGTTGCGGGACTTAAACCAACATCTCAACGACAGAGCTGACGACAAACA				426
Sbjct 1082	AGGTTTGCCTTCGTTGCGGGACTTAAACCAACATCTCAACGACAGAGCTGACGACAAACA				1023
Query 427	TGCACCACTTGTCACTTTTGTCCCGGAGGGGAAACTTCTATCTGTAGAAAGGTTCAAAGG				486
Sbjct 1022	TGCACCACTTGTCACTTTTGTCCCGGAGGGGAAACTTCTATCTGTAGAAAGGTTCAAAGG				963
Query 487	ATGTCAAAGATTTGGTAAAGTTTCTTCGCGTTGCTTCCGAAATTAAGCCACATGCTCCACCGCT				546
Sbjct 962	ATGTCAAAGATTTGGTAAAGTTTCTTCGCGTTGCTTCCGAAATTAAGCCACATGCTCCACCGCT				903
Query 547	TGTGCGGTTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTGTGTACGCCCAAGCGGA				606
Sbjct 902	TGTGCGGTTCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTGTGTACGCCCAAGCGGA				843
Query 607	GTGCTTTAATGCTTTAGCTGCAAGTACTAAAGGGGCGGAAACCCCTTAACTTAGCACTC				666
Sbjct 842	GTGCTTTAATGCTTTAGCTGCAAGTACTAAAGGGGCGGAAACCCCTTAACTTAGCACTC				785
Query 667	ATCGTTTACGGCGTGGACTTACCAAGGGTATCTAATCTGTTTGTATCCCCACGCTTTTGCA				726
Sbjct 784	ATCGTTTACGGCGTGGACTTACCAAGGGTATCTAATCTGTTTGTATCCCCACGCTTTTGCA				726
Query 727	CATCAAGCTCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				786
Sbjct 725	CATCAAGCTCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				672
Query 787	AATCCCTTCGCGCAATTCAC-GCTACACAATGGGAATTTCCACACTTTCCCTTCTGCCAC				845
Sbjct 671	A-T-CCTTCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				620
Query 846	TCCAAAGTTTCCAGTT-CCAAATGAACCTTCCACCCTTGAAGCCCTTGGCCCTTTTCAATCA				904
Sbjct 619	T-CAAGTTTCCAGTTTCCAAATG-ACCCTTCCACGGTGTGA-GCCGCTGGG-CCTTTCACATCA				564
Query 905	GACCTAAAAAAGCCGCTAACGCCCC 931				
Sbjct 563	GACTTAAAAAA-CCGCTTA-CGCGCGC 539				

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

Lactobacillus delbrueckii strain SH3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: FJ888918.1 Length: 1444 Number of Matches: 1
 Range 1: 523 to 1440

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1439 bits(779)	0.0()	<u>880/921(96%)</u>	37/921(4%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 14	TAGCGGCGGACTTCCTAGG-GGTGATCCCGACCGGACTTTGGGCGATTCGACATTCGACGGT				71
Sbjct 1440	TAGCGGCGGACTTCCTAGG-GGTGATCCCGACCGGACTTTGGGCGATTCGACATTCGACGGT				1381
Query 72	GTGCTTTAATGCTTTAGCTGCAAGTACTAAAGGGGCGGAAACCCCTTAACTTAGCACTC				131
Sbjct 1380	GTGCTTTAATGCTTTAGCTGCAAGTACTAAAGGGGCGGAAACCCCTTAACTTAGCACTC				1321
Query 132	TACTAGCCAGTTCACAGCTGTCAGGCGGCTTCCAGCCGCTTCCAGCCGCTTCCAGCCGCT				191
Sbjct 1320	TACTAGCCAGTTCACAGCTGTCAGGCGGCTTCCAGCCGCTTCCAGCCGCTTCCAGCCGCT				1261
Query 192	TTTAAAGTTTCCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				251
Sbjct 1260	TTTAAAGTTTCCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				1201
Query 252	TCCAAAGTTTCCAGTT-CCAAATGAACCTTCCACCCTTGAAGCCCTTGGCCCTTTTCAATCA				311
Sbjct 1200	TCCAAAGTTTCCAGTT-CCAAATGAACCTTCCACCCTTGAAGCCCTTGGCCCTTTTCAATCA				1141
Query 312	TTTAAAGTTTCCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				371
Sbjct 1140	TTTAAAGTTTCCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				1081
Query 372	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				431
Sbjct 1080	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				1021
Query 432	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				491
Sbjct 1020	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				961
Query 492	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				551
Sbjct 960	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				901
Query 552	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				610
Sbjct 900	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				841
Query 611	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				670
Sbjct 840	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				781
Query 671	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				729
Sbjct 780	CCCTTCGCGCAATTCACCGCTACACA-TGG-AAAT-CC-ACCTTCCCTC-TTCGCG-AC				721
Query 730	TCCAAAGTTTCCAGTT-CCAAATGAACCTTCCACCCTTGAAGCCCTTGGCCCTTTTCAATCA				782
Sbjct 720	TCCAAAGTTTCCAGTT-CCAAATGAACCTTCCACCCTTGAAGCCCTTGGCCCTTTTCAATCA				662
Query 783	TTTAAAGTTTCCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				835
Sbjct 661	TTTAAAGTTTCCAGTTTACAGACCAAGAAAGTCCGCTTCCGCGCACTGGGTTTCTCTCCAT				604
Query 836	AGCTTAAAAAAGCCGCTAACGCCCC 900				884
Sbjct 603	AGCTTAAAAAAGCCGCTAACGCCCC 523				544
Query 885	-A-GCC-T-TAATTTTCCG-AGT 900				
Sbjct 543	TAGCGGCGGACTTCCTAGG-GGTGATCCCGACCGGACTTTGGGCGATTCGACATTCGACGGT				523

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

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()	<u>572/634(90%)</u>	20/634(3%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 15	CCTTAAGCGGCTGAATCCCTAT-AGGTTTTC	CCACCGACTTTGGGCATTGCAGACTTC-			72
Sbjct 1461	CCTTAAGCGGCTGAATCCCTAT-AGGTTTTC	CCACCGACTTTGGGCATTGCAGACTTC-			1403
Query 73	ATGCAGAGAAAAACGGTGTGTATA-AGGGCC	CGGGAACG-GGTCCCCGTTGCAGAAAAATC			130
Sbjct 1402	ATGCAGAGAAAAACGGTGTGTATA-AGGGCC	CGGGAACG-GGTCCCCGTTGCAGAAAAATC			1344
Query 131	CGCGATTACAAACGATTCACAGCTTCGTGCA	GGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAG			190
Sbjct 1343	CGCGATTACAAACGATTCACAGCTTCGTGCA	GGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAG			1284
Query 191	AACAGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCG	GGTTTCGCTTCTCGTTGACTGCCCATTTGT			250
Sbjct 1283	AACAGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCG	GGTTTCGCTTCTCGTTGACTGCCCATTTGT			1224
Query 251	AGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCAT	GATGACTTGCAGTTCATCCCCACCTTCTCT			310
Sbjct 1223	AGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCAT	GATGACTTGCAGTTCATCCCCACCTTCTCT			1164
Query 311	CCGGTTTGTGTC-CGGCAGTCTCTTTAGAGTG	CCCAACTTAATGATGGCAACTAAAGACAA			369
Sbjct 1163	CCGGTTTGTGTC-CGGCAGTCTCTTTAGAGTG	CCCAACTTAATGATGGCAACTAAAGACAA			1104
Query 370	GGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCCAC	ATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCAT			429
Sbjct 1103	GGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCCAC	ATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCAT			1044
Query 430	GCCCCACCTGTTCTCTGCTTCCCCCGAAGGG	AAACCACTATCCTCTAGGTTGTAGCACAGG			489
Sbjct 1043	GCCCCACCTGTTCTCTGCTTCCCCCGAAGGG	AAACCACTATCCTCTAGGTTGTAGCACAGG			987
Query 490	ATGTCAGAGCCCTGTTAAGGTTCTTCTCTCT	TTC-ATTAAACCAACTTGTCTCCACA			548
Sbjct 986	ATGTCAGAGCCCTGTTAAGGTTCTTCTCTCT	TTC-ATTAAACCAACTTGTCTCCACA			930
Query 549	GTTTTGTAAAGAGCCCCCGTCAATTTCTTTG	AAATTAACCTTGCAGGTTCTTCTCCCCCA			608
Sbjct 929	GTTTTGTAAAGAGCCCCCGTCAATTTCTTTG	AAATTAACCTTGCAGGTTCTTCTCCCCCA			873
Query 609	GGCGGA-CGCTTAATTGCGTTTGTCTGCTTCA	CT 641			
Sbjct 872	GGCGGAGCGCTTAAT-GCGTTT-GCTGCGCA	CT 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()	<u>886/917(97%)</u>	22/917(2%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 9	ACTTGGCGCTGACTTCCTATAA-GGTTATCC	CCACCGACTTTGGGCATTGCAGACTTC			67
Sbjct 1436	ACTTGGCGCTGACTTCCTATAA-GGTTATCC	CCACCGACTTTGGGCATTGCAGACTTC			1377
Query 68	GGTGTGACGGGCGGTGTGTATAAAGGGCC	CGGGAACG-GGTCCCCGTTGCAGAAAAATC			127
Sbjct 1376	GGTGTGACGGGCGGTGTGTATAAAGGGCC	CGGGAACG-GGTCCCCGTTGCAGAAAAATC			1317
Query 128	GATTACTAGCCGATTCACAGCTTCGTGCA	GGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAG			187
Sbjct 1316	GATTACTAGCCGATTCACAGCTTCGTGCA	GGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAG			1257
Query 188	AGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCGG	GGTTTCGCTTCTCGTTGACTGCCCATTTGT			247
Sbjct 1256	AGCTTTAAGAGATCCGCTTACCCTCGCGG	GGTTTCGCTTCTCGTTGACTGCCCATTTGT			1197
Query 248	ACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATG	ACTGACTTGCAGTTCATCCCCACCTTCTCT			307
Sbjct 1196	ACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATG	ACTGACTTGCAGTTCATCCCCACCTTCTCT			1137
Query 308	GTTTTGTAAAGAGCCCCCGTCAATTTCTTTG	AAATTAACCTTGCAGGTTCTTCTCCCCCA			367
Sbjct 1136	GTTTTGTAAAGAGCCCCCGTCAATTTCTTTG	AAATTAACCTTGCAGGTTCTTCTCCCCCA			1077
Query 368	TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCCAC	ATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATG			427
Sbjct 1076	TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCCAC	ATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATG			1017
Query 428	CCACCTGTCTCTGCGTCCCCCGAAGGGAA	CCACTATCTCTAGGTTGTAGCACAGGATG			487
Sbjct 1016	CCACCTGTCTCTGCGTCCCCCGAAGGGAA	CCACTATCTCTAGGTTGTAGCACAGGATG			957
Query 488	AGACCTGGTAAGGTTCTTCCGCTTTCGAA	TAAACCACTATGCTCCACCGCTTGTGCG			547
Sbjct 956	AGACCTGGTAAGGTTCTTCCGCTTTCGAA	TAAACCACTATGCTCCACCGCTTGTGCG			897
Query 548	GGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAAC	CTTGCAGGTTCTTCTCCCCAG-CGGAGCG			606
Sbjct 896	GGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAAC	CTTGCAGGTTCTTCTCCCCAG-CGGAGCG			837
Query 607	AATGCGTTTGTCTCGGCACTGAGGACCGG	AAAGTCCCAACACTAGCGCTCATCGTTTA			666
Sbjct 836	AATGCGTTTGTCTCGGCACTGAGGACCGG	AAAGTCCCAACACTAGCGCTCATCGTTTA			777
Query 667	CG-CATGGACTACCAAG-TATCTAATCCTT	TTCCTTACCCATGCTTTTCGAGC-TCAGCG			723
Sbjct 776	CG-CATGGACTACCAAG-TATCTAATCCTT	TTCCTTACCCATGCTTTTCGAGC-TCAGCG			717
Query 724	CAGTTGACAGACCAAGAGCCCGCTTCCG	-ACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCAT-CC			781
Sbjct 716	CAGTTGACAGACCAAGAGCCCGCTTCCG	-ACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCAT-CC			657
Query 782	CAAGTACACACATGGA-TT-CACTCTCTC	CTCCTGCACTCA-GA-TGCAGGTTG-GATG			836
Sbjct 656	CAAGTACACACATGGA-TT-CACTCTCTC	CTCCTGCACTCA-GA-TGCAGGTTG-GATG			598
Query 837	CAAGTTC-ACA-T-GAGC-GTGG-CTTCCA	-ATCCGACTTATCAT-C-GCCTGGCGCTCGC			888
Sbjct 597	CAAGTTC-ACA-T-GAGC-GTGG-CTTCCA	-ATCCGACTTATCAT-C-GCCTGGCGCTCGC			539
Query 889	CTTACGCCCAATTAATC 905				
Sbjct 538	TTTACGCCCAATTAATC 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 694528

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1426 bits(772)	0.0()	874/916(95%)	36/916(3%)	Plus/Minus	
Features:					
Query 9		CCCTGCATTAGGGCGGGCTGACTTCCTATAA-GGTATATCCACCAGCTTTGGGCATTGCAAG			67
Sbjct 695428		CCCTGCCTTA-GGC-GGCTGACTTCCTATAAAGGTATATCCACCAGCTTTGGGCATTGCAAG			695371
Query 68		ACTTCCATGGCTGAACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAAACGTATTCAACCGCGCGGTGC			127
Sbjct 695370		ACTTCCATGGCTGAACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAAACGTATTCAACCGCGCGGTGC			695311
Query 128		TGATCCCGGATTAAGCGATTCCAGCTTCGTGCAAGGGAGTTGCAAGCTTCCAGTCCGAA			187
Sbjct 695310		TGATCCCGGATTAAGCGATTCCAGCTTCGTGCAAGGGAGTTGCAAGCTTCCAGTCCGAA			695251
Query 188		CTGAGAACAGCTTTAAGAGATCCGCTTTCCTCCGCGGTTCCGTTCTCGTTGTAACCTCC			247
Sbjct 695250		CTGAGAACAGCTTTAAGAGATCCGCTTTCCTCCGCGGTTCCGCTTTCCTCGTTGTAACCTCC			695191
Query 248		ATTGTAGCACCGTGTGTAGCCAGGTCATAAAGGGGCAATGATGACTTACCTCATCCCAAC			307
Sbjct 695190		ATTGTAGCACCGTGTGTAGCCAGGTCATAAAGGGGCAATGATGACTTACCTCATCCCAAC			695131
Query 308		TTCTTCGGGTTTGTCAACCGGCACTCTTTTAGAGTTCGCCAATCTTAAATGATGGCAACTAAA			367
Sbjct 695130		TTCTTCGGGTTTGTCAACCGGCACTCTTTTAGAGTTCGCCAATCTTAAATGATGGCAACTAAA			695071
Query 368		GACAAAGGTTTCGCTCGTTTCGGGACTTTAACCCAAACATTTTCACGACACGAGCTGACACA			427
Sbjct 695070		GACAAAGGTTTCGCTCGTTTCGGGACTTTAACCCAAACATTTTCACGACACGAGCTGACACA			695011
Query 428		GCCATGCAACCCCTGCTCTGCTCCGCCGCCGAAAGGAAACCCCTATCTCTAGGTTGACGCA			487
Sbjct 695010		GCCATGCAACCCCTGCTCTGCTCCGCCGCCGAAAGGAAACCCCTATCTCTAGGTTGACGCA			694951
Query 488		GGATGTCAGAACCTGGTAAAGTTTCCTTCGCTTTCGCTTTCGAAATTAACCAATGCTCCACC			547
Sbjct 694950		GGATGTCAGAACCTGGTAAAGTTTCCTTCGCTTTCGCTTTCGAAATTAACCAATGCTCCACC			694891
Query 548		CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTTAGTTTCGAACTTCGGGTTCGCTACTCCCAAGGG			607
Sbjct 694890		CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTTAGTTTCGAACTTCGGGTTCGCTACTCCCAAGGG			694831
Query 608		GAAGCGCTTAAATGCGTTTGTCTGCGGCATGAGGACCGGAAAGTCCCAACCACTAGCGCT			667
Sbjct 694830		GAAGCGCTTAAATGCGTTTGTCTGCGGCATGAGGACCGGAAAGTCCCAACCACTAGCGCT			694772
Query 668		CATCGTTTTACGGCATGAGACTACCAAGGGTATCTAATCCGTATCGCTACCCATAGCGTTT			727
Sbjct 694771		CATCGTTTTACGGCAT-GGACTACCAAGGGTATCTAATCCGTATCGCTACCCATAGCGTTT			694716
Query 728		CGAGCCCTCAACGCTCAGTTTCGAGAACAGAGGCCCGCTTTCCGCCAAGCTGGGTTTCTTC			787
Sbjct 694715		CGAGCCCTCAACGCTCAGTTTCGAGAACAGAGGCCCGCTTTCCGCCAAGCTGGGTTTCTTC			694661
Query 788		CATATATCTACGCAATTCACCCGCTTACACATGGAATTTCCCACTCCGCCCTTCTCTG			847
Sbjct 694660		CATATATCTACGCAATTCACCCGCTTACACATGGAATTTCCCACTCCGCCCTTCTCTG			694609
Query 848		GCCACTTCAAGAAATGGAGCTTTTCCCGATGGCACTTCCCGCGTTGAAAGGCCGGGGGG			907
Sbjct 694608		-C-ACT-CAAGAA-TG-ACAGTTT-CC-GATG-CAGTTCAC-GGTTGA-G-CCGTGGG-			694561
Query 908		ggCTTTCACATCGA 923			
Sbjct 694560		--CTTTC-ACATCGA 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-CTTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTGTACAAACTC			66
Sbjct 1442		GGTTCACTTTCGACGGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTGTACAAACTC			1383
Query 67		TCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGAACCCGGGAACTGATTCACCGTAGCATGCTGAT			126
Sbjct 1382		TCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGAACCCGGGAACTGATTCACCGTAGCATGCTGAT			1323
Query 127		CTACGATTAACGATTCAGCTTCAGGTGATGAGTTCGAGACTACAATCCGAACTGA			186
Sbjct 1322		CTACGATTAACGATTCAGCTTCAGGTGATGAGTTCGAGACTACAATCCGAACTGA			1263
Query 187		GAACAACTTTATGGGATTTGCTTGAACCTTCGGGTTTCGCTTCGCTTTGTATTTGGCATTG			246
Sbjct 1262		GAACAACTTTATGGGATTTGCTTGAACCTTCGGGTTTCGCTTCGCTTTGTATTTGGCATTG			1203
Query 247		TAGCACGTTGTGTAGCCCAATCATAGGGGCAATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCC			306
Sbjct 1202		TAGCACGTTGTGTAGCCCAATCATAGGGGCAATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCC			1143
Query 307		TCCGGTTTGTCAACGGCAGTCAACTTAGAGTGCACCACTTAATGATGGCAACTAAGCTTA			366
Sbjct 1142		TCCGGTTTGTCAACGGCAGTCAACTTAGAGTGCACCACTTAATGATGGCAACTAAGCTTA			1083
Query 367		AGGGTTGCGCTTCGTTGCGGACTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAAACCA			426
Sbjct 1082		AGGGTTGCGCTTCGTTGCGGACTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAAACCA			1023
Query 427		TGCACCACTGTGCACTTTGTCCCGCGAAGGGGAACTTCTATCTCTAGAAAGGTTCAAAGG			486
Sbjct 1022		TGCACCACTGTGCACTTTGTCCCGCGAAGGGGAACTTCTATCTCTAGAAAGGTTCAAAGG			963
Query 487		ATGTCAGATTTGGTAAAGGTTTCCTCGGTTGCTTCGAAATTAACCAACATGCTCCACCGCT			546
Sbjct 962		ATGTCAGATTTGGTAAAGGTTTCCTCGGTTGCTTCGAAATTAACCAACATGCTCCACCGCT			903
Query 547		TGTGCGGGTCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCACCTTCGGGTTCGCTACTCCCGAGCGGA			606
Sbjct 902		TGTGCGGGTCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCACCTTCGGGTTCGCTACTCCCGAGCGGA			843
Query 607		GTGCTTTAATGCGTTAGCTGCAAGCACTAAAGGGGCGAAACCCCTAACACTTAGCACTC			666
Sbjct 842		GTGCTT-AATGCGTTAGCTGCAAGCACTAAAGGGGCGAAACCCCTAACACTTAGCACTC			785
Query 667		ATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCGTTTGTATCCCGCACGCTTTTCGCA			726
Sbjct 784		ATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCGTTTGTATCCCGCACGCTTTTCGCA			726
Query 727		CATCAGCGTCAAGTTTACAGAACAGAAAGTCCGCTTCGGGAAACTGGGTGTTCCTCCAT			786
Sbjct 725		CATCAGCGTCAAGTT-ACAGAACAGAAA-GTCGCC-TTCGCCA--CT-GGTGTTCCCTCCAT			672
Query 787		AATCCTCTGCGCAATTCAC-GCTACACAAATGGGAATTTCCCACTTTCTCTCTCTGCGAC			845
Sbjct 671		A-T-CTGCGCAATTCACCGGTACACA-TGG-AATT-CC-ACTTTCCTC-TTCTGC-AC			620
Query 846		TCCAGTTTCCCGAGTT-CCAATGAACCTCCACCGTTGAAAGCGGTTTGGCTTCCACATCA			904
Sbjct 619		T-CAGTTTTCAGTTTCCCAATG-ACCCCTCCACGGTTGA-GCCGTGGG-CITTCACATCA			564
Query 905		GACCTAAAAAGGCCGCTAACGCCCCC 931			
Sbjct 563		GACTTAAAAA-CCGCCTA-CGCGCC 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 araştırmada; 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 sütte 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 ısıl 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 düşünödüren 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 duyulduğunda 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 Internatiolan Dairy Federation, *The World Dairy Situation. Internatiolan 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 Esherichia 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 karakterizasyonu. *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 chainterminating 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., Peláez, 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. Yoğurt: 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. *J Food Technol* 2000; **33**: 444-45

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

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

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

Tekinşen KK, Bayar N. 2008. Geleneksel ürün süzme yoğurt. *Süt Dünyası* **3(13)**:54-57.

Tekinşen OC. 2005. Süt ve Süt Ürünleri. 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 Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları, Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi ve Starter Olarak Kullanılma Olanaklarının Değerlendirilmesi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, 183, Ankara.

Uysal HR. Vakum ve Ultrafiltrasyonla Koyulaştırılan Sütlerden Torba Yoğurdu Yapımı ve Klasik Yöntemlerle Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, İzmir, 1993.

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

Ünsal A. 2007. Silivri’ın Kaymak! Türkiye’nin Yoğurtları. Yapı Kredi Kültür Sanat Yayıncılık ve Ticaret A.Ş Mas Matbaacılık A.Ş. 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 Elektroforezi
- 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

Sakaroz 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)

PCR Ürünü

4-5 µl (100-300ng)

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 ∞