

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

**TÜRKİYE’DE FARKLI İLLERDEN TOPLANAN BAL  
ARILARINDA (*Apis mellifera* L.) MEZOFİLİK BAKTERİ  
FLORASININ BELİRLENMESİ VE ARILAR ÜZERİNDEKİ  
İNSEKTİSİDAL ETKİLERİ**

**DERYA KEÇECİ**

**Bu tez,  
Biyoloji Anabilim Dalında  
Yüksek Lisans  
derecesi için hazırlanmıştır.**

**ORDU 2014**

## TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Derya KEÇECİ tarafından ve Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK danışmanlığında hazırlanan “Türkiye’de Farklı İllerden Toplanan Bal Arılarında (*Apis Mellifera* L.) Mezofilik Bakteri Florasının Belirlenmesi ve Arılar Üzerindeki İnsektisidal Etkileri” adlı bu tez, jürimiz tarafından 23/ 07/ 2014 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK  
Biyoloji, Ordu Üniversitesi

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Elif ÇİL  
İlköğretim Anabilim Dalı,  
Ordu Üniversitesi

İmza :

Üye : Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN  
Biyoloji, Ordu Üniversitesi

İmza :

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu’nun 22/08/2014 tarih ve 2014/321 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

23/08/2014



Prof. Dr. Mehmet Fikret BALTA

Enstitü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza

Derya KEÇECİ



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### TÜRKİYE'DE FARKLI İLLERDEN TOPLANAN BAL ARILARINDA (*Apis mellifera* L.) MEZOFİLİK BAKTERİ FLORASININ BELİRLENMESİ VE ARILAR ÜZERİNDEKİ İNSEKTİSİDAL ETKİLERİ

Derya KEÇECİ

Ordu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı, 2014  
Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK

*Apis mellifera* dünya'da yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan bir bal arısı türüdür. *Apis mellifera*, *Apis* cinsi altındaki dokuz türden ekonomik olarak en fazla öneme sahip olanıdır. Bu çalışmada bal arılarının mezofilik bakteri florasını belirlemek amacıyla bakteri izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen isolatların bal arıları üzerine insektisidal etkileri bioassay çalışması yapılarak incelenmiştir.

Eylül-2013'te on dört farklı ilden (Ardahan, Antalya, Artvin, Balıkesir, Edirne, Hakkari, İzmir, Kırklareli, Kırıkkale, Mersin, Muğla, Niğde, Ordu ve Yalova) sağlıklı ve ölü ergin arılar toplanmıştır. Toplanan bal arılarından mezofilik bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzolatlar VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ ve MIS (Mikrobiyal Identifikasyon Sistemi) yöntemleri kullanılarak tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bu yöntemlerin dışında biyokimyasal, fiziksel, degradasyon ve besinsel testler de yapılmıştır. Bal arılarından elde edilen Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin bal arılarına karşı olumsuz etkileri olup olmadığı Bioassay çalışmasıyla belirlenmiştir. Bioassay çalışmasında sağlıklı ergin arılar kullanılmıştır. Kontrol gruplarına göre sonuçlar değerlendirilmiştir.

Tanımlanan bakteriler *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Rhizobium*, *Pantoea*, *Vibrio*, *Sphingomonas*, *Salmonella*, *Paenibacillus* cinslerine ait türlerdir. İzolatların bir kısmı ise tanımlama için moleküler çalışmalara yönlendirilmiştir. Yapılan literatür çalışmalarında benzer tür ve cinslerin bal arılarından izole edildiği görülmüştür. Bioassay çalışmasının sonucunda *Sphingomonas* ve *Klebsiella*'nın arılar üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Arılar üzerinde herhangi bir zarar teşkil etmeyen ancak henüz tespit edilmemiş daha birçok mikroorganizmanın ortaya çıkarılmasına yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu nedenle yapılan çalışma, ülkemiz için önemli bir değere sahip olan bal arılarının bakteri florasının tespitine ilişkin bir katkı sağlar. Ayrıca yapmış olduğumuz çalışma, yeni bakteri türlerinin tanımlanması için ilk adım olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Apis mellifera*, Mezofilik Bakteri Florası, Bioassay

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF MESOPHILIC BACTERIAL FLORA AND THEIR INSECTICIDAL EFFECT ON HONEY BEE (*Apis mellifera* L.) COLLECTED FROM DIFFERENT PROVINCES OF TURKEY

Derya KEÇECİ

University of Ordu  
Institute for Graduate Studies in Natural and Technology  
Department of Biology, 2014  
MSc.

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ömer ERTÜRK

*Apis mellifera* is a kind of honey bee widely farmed in the world. *Apis mellifera* is the most important economically from nine species under the genus *Apis*. This study was made for bacteria isolation in order to determine the mesophilic bacterial flora of honeybees. Insecticidal effects on the honeybees of obtained isolates were determined by bioassay study.

Healthy and dead adults were collected from fourteen different cities in 2013 September (Ardahan, Antalya, Artvin, Balıkesir, Edirne, Hakkari, İzmir, Kırklareli, Kırıkkale, Mersin, Muğla, Niğde, Ordu ve Yalova). Total mesophilic bacteria isolation was made from collected honeybees. Isolates were identified species levels using the method of VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ ve MIS (Microbial Identification System). Alternatively, biochemical, physical, degradation and nutritional tests were also made. Whether adverse effects against honey bees of Gram negative and Gram positive bacteria obtained from honey bees were determined by bioassay study. Healthy adult honeybees were used in bioassay study. According to the control group, the results were evaluated.

Identified bacteria are species of genus *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Rhizobium*, *Pantoea*, *Vibrio*, *Sphingomonas*, *Salmonella*, *Paenibacillus*. Some of isolates have been directed molecular study to identification. In the literature study, similar genus and similar species were found to be isolated from honey bees. In the results of bioassay, it was observed to have lethal effects on the bees of *Sphingomonas* and *Klebsiella*.

It is needed to work about uncovering of many microorganisms which do not pose any harm on bees but yet not been determined. Therefore, studies contribute related to determination of bacterial flora of honey bees which has important value for our country. In addition, our studies are thought the first step for defining a new bacterial species.

**Key Words:** *Apis mellifera*, Mesophilic Bacterial Flora, Bioassay

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde, çalışmanın yürütülmesinde yardımını ve bilgisini esirgemeyen başta danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca her türlü bilgi ve deneyimini paylaşan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen her konuda klavuzluk eden değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Elif İL'e teşekkür ederim.

Giresun ve Ordu ili Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda VITEK® 2 ile yapılan çalışma süresince yardımını ve bilgisini esirgemeyen Canan TÜRKER'e ve Necati YILMAZ'a, Mikrobiyal Identification Sistemi ile olan çalışmamda emeği geçen Yeditepe nv. Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Arş. Gör. Ahmet KATI'ya, tez süresi boyunca her türlü destek ve yardımları ile yanımda olan arkadaşlarım Emre Yener YENİCE'ye, Uğur YILDIZ'a, Işıl KURT'a, Fatma KALİZ'e, Zeynep PATAN'a ve Siirt ni. Zootekni Bölümü Arş. Gör. Feyza ALEV'e ve diğer arkadaşlarıma,

Tüm ğrenim hayatımda olduğu gibi Yüksek Lisansım boyunca da maddi ve manevi desteklerini ve ilgilerini esirgemeyip yanımda olan ve beni destekleyen başta babam Hayri KEÇECİ'ye ve annem Ayşe KEÇECİ'ye, kardeşim Deniz KEÇECİ' ye ve abim Ali KEÇECİ'ye teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>TEZ ONAY</b> .....	<b>I</b>
<b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....	Hata!
Yer işareti tanımlanmamış. <b>I</b>	
<b>ÖZET</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>IV</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>V</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>ÇİZELGELER LİSTESİ</b> .....	<b>X</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>XI</b>
<b>EK LİSTESİ</b> .....	<b>XII</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Bal Arılarının Tarihi ve Evrimi .....	3
1.2. Bal Arılarının Sınıflandırılması.....	3
1.3. Bal Arılarında Irk Kavramı .....	4
1.4. Bal Arılarının Kökeni ve Dünya'ya Yayılması .....	5
1.5. Bal Arısının Morfolojisi .....	6
1.6. Bal Arılarının Koloni Yaşamı .....	7
1.7. Türkiye'de Arıcılık.....	8
1.8. Bal Arılarında Bakteriyel Hastalıklar .....	9
1.8.1 .Amerikan Yavru Çürüklüğü (AFB).....	9
1.8.2. Avrupa Yavru Çürükçülüğü (EFB) .....	11
1.8.3. Septisemi (Kan Zehirlenmesi).....	13
1.9. Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler.....	13
1.9.1. Nümerik Taksonomi .....	13
1.9.2. Yağ Asitleri Profillerine Göre Bakterilerin Tanısı ve Karakterizasyonu .....	15
1.9.3. Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması .....	16
1.10. Mikroorganizmaların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi.....	17
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>19</b>
2.1. Materyal.....	19
2.1.1. Böceklerin Toplanması İçin Arazi Çalışmaları .....	19

2.1.2. Çalışma Alanlarının Belirlenmesi .....	19
2.1.3. Örneklerin Alınması .....	19
2.2.Yöntem.....	19
2.2.1. Mezofilik Bakteri İzolasyonu.....	20
2.2.2. Saf Kültürlerin Hazırlanması .....	21
2.2.3. Saf Kültürlerin Stoklanması.....	23
2.2.4. Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	23
2.2.4.1. Basit Boyama .....	23
2.2.4.2. Gram Boyama .....	23
2.2.4.3. Endospor Boyama .....	23
2.2.4.4. Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi .....	24
2.2.4.5. Hareket Testi .....	24
2.2.4.6. MacConkey Agar.....	24
2.2.4.7. Mannitol Salt Agar .....	24
2.2.5. Bakteriyal İzolatların Özelliklerinin VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ Sistemiyle Belirlenmesi.....	25
2.2.6. Bakteriyal İzolatların Yağ Asidi Profillerinin Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) Kullanılarak Belirlenmesi.....	29
2.2.6.1. Yağ Asiti Metil Esterlerinin Saflaştırılması .....	29
2.2.7. İzolatlara Yapılan Tamamlayıcı Testler.....	31
2.2.7.1. Besinsel Testler .....	33
2.2.7.1.1. Temel Karbon Kaynaklarında Gelişme.....	33
2.2.7.1.2. Temel Azot Kaynaklarında Gelişme.....	33
2.2.7.2. Degredasyon Testleri .....	33
2.2.7.2.1. Kazein Degredasyonu .....	33
2.2.7.2.2. Nişasta Degredasyonu.....	33
2.2.7.2.3. Hipoksantin Degredasyonu .....	34
2.2.7.2.4. L-Tyrosin Degredasyonu .....	34
2.2.7.2.5. DNA Degredasyonu.....	34
2.2.7.2.6. Tween Degredasyonu.....	34
2.2.7.3. Biyokimyasal Testler .....	35
2.2.7.3.1. Aesculin Testi.....	35
2.2.7.3.2. Allantoin Testi .....	35
2.2.7.3.3. Arbutin Testi .....	36
2.2.7.3.4. Nitrat Redüksiyonu.....	37



2.2.7.3.5. İndol Testi .....	37
2.2.7.3.6. Metil Red Testi .....	37
2.2.7.3.7. Voges-Proskauer Testi .....	38
2.2.7.3.8. Sitrat Testi .....	38
2.2.7.3.9. Jelatin Hidrolizasyon Testi .....	38
2.2.7.3.10. Katalaz Testi .....	39
2.2.7.3.11. KIA (Kligler Iron Agar) Testi .....	39
2.2.7.3.12. TSI (Triple Sugar Iron Agar) Testi .....	39
2.2.7.3.13. Glikoliz Fermantasyonu Testi .....	40
2.2.7.3.14. Hidrojen Sülfür (H <sub>2</sub> S) Testi .....	40
2.2.7.3.15. Üreaz Testi .....	40
2.2.7.3.16. Hemoliz Testi .....	40
2.2.7.4. Fizyolojik Testler .....	41
2.2.7.4.1. Kimyasal İnhibitör Varlığında Gelişme .....	41
2.2.7.4.2. pH'ya Toleransı .....	41
2.2.7.4.3. Sıcaklığa Tolerans .....	41
2.2.8. Bioassay Çalışması .....	41
2.2.9. İstatiksel Analiz .....	42
<b>3.ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>43</b>
3.1. Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özellikleri .....	43
3.2. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özellikleri .....	46
3.3. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri .....	50
3.4. Bakteriyal İzolatların Degredasyon Test Sonuçları .....	54
3.5. Besinsel Test Sonuçları .....	57
3.6. VITEK® 2 Sonuçları .....	62
3.7. MIS Sonuçları .....	68
3.8. Bioassay Sonuçları .....	69
3.9. İstatiksel Analiz Sonucu .....	71
3.9.1. Küme 1: <i>Bacillus</i> sp. ....	78
3.9.2. Küme 2: <i>Bacillus</i> sp. ....	78
3.9.3. Küme 3: <i>Bacillus</i> sp. ....	78
3.9.4. Küme 4: <i>Bacillus</i> sp. ....	78
3.9.5. Küme 5: <i>Salmonella</i> sp. ....	79
3.9.6. Küme 6: <i>Pantoea</i> sp. ....	79
3.9.7. Küme 7: <i>Sphingomonas</i> sp. ....	79

3.9.8. Küme 8: <i>Sphingomonas</i> sp.....	80
3.9.9. Küme 9: <i>Staphylococcus</i> sp. ....	80
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>81</b>
<b>5.KAYNAKLAR .....</b>	<b>97</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>126</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. <i>Paenibacillus larvae</i> ' nin vejetatif, sporovejetatif ve spor formları (Shimanuki ve Knox 2000) .....	10
Şekil 1.2. EFB enfeksiyonunu takiben ortama yerleşebilen bakterilerin vejetatif veya spor formları (A: <i>Enterococcus faecalis</i> , B: <i>Bacillus laterosporus</i> , C: <i>Paenibacillus alvei</i> ) (Shimanuki ve Knox 2000). .....	12
Şekil 2.1. Türkiye'nin Farklı İllerinden Toplanan Bal Arılarının Lokaliteleri .....	19
Şekil 2.2. Mezofilik Bakteri İzolasyonu.....	21
Şekil 2.2. Çalışmada kullanılan VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ (Biome'rieux) cihazı .....	25
Şekil 2.3. VITEK®2 Advanced Colorimetry™ (Biome'rieux) cihazında kullanılan kartlar .....	25
Şekil 3.1. Bioassay Sonuçlarının Sütun Grafiği .....	70
Şekil 3.1. İstatiksel Sonuç Dendrogramı .....	72

## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1. <i>Apis mellifera</i> ' nın sistematigi.....	4
Çizelge 2.1. Çalışmada Kullanılan Bal Arılarının Laboratuvar Kodu ve Lokaliteleri .....	20
Çizelge 2.2. İzolatların Laboratuvar Numarası ve Temin Edildikleri İl .....	22
Çizelge 2.3. Gram Negatif Kart Kuyucuk İçerikleri .....	26
Çizelge 2.4. Basil Kartı Kuyucuk İçerikleri .....	27
Çizelge 2.5. Gram Pozitif Kuyucuk İçeriği .....	28
Çizelge 2.6. Tamamlayıcı Testlerde Kullanılan Birim Karakterler .....	31
Çizelge 2.6. Tamamlayıcı Testlerde Kullanılan Birim Karakterler (devamı) .....	32
Çizelge 3.1. Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özellikleri .....	44
Çizelge 3.1. Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özellikleri (devamı) .....	45
Çizelge 3.2. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özellikleri .....	48
Çizelge 3.2. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özellikleri (devamı) .....	49
Çizelge 3.3. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri.....	52
Çizelge 3.3. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri (devamı).....	53
Çizelge 3.4. Degredasyon Testi Sonuçları .....	55
Çizelge 3.4. Degredasyon Testi Sonuçları (devamı).....	56
Çizelge 3.5. Temel Karbon Kaynaklarında Gelişme .....	59
Çizelge 3.5. Temel Karbon Kaynaklarında Gelişme (devamı).....	60
Çizelge 3.6. Temel Azot Kaynaklarında Gelişme .....	61
Çizelge 3.7. Basil Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları .....	63
Çizelge 3.8. Gram Negatif Kart Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları .....	64
Çizelge 3.8. Gram Negatif Kart Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları (devamı) .....	65
Çizelge 3.9. Gram Pozitif Kart ile Tanımlanan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları .....	66
Çizelge 3.10. VİTEK® 2 ile Tanımlanan İzolatların Tür İsimleri ve Yüzdeleri .....	67
Çizelge 3.11. MIS Sonuçları .....	68
Çizelge 3.11. Abbots's Analizi Sonuçları .....	69
Çizelge 3.12. İstatiksel Analiz Sonucu Oluşan Kümelere Göre İzolatların Dağılımı .....	73
Çizelge: 3.12. İstatiksel Analiz Sonucu Oluşan Kümelere Göre İzolatların Dağılımı (devamı) .....	74
Çizelge 3.13. Tanımlayıcı Test Sonuçlarına Göre Önerilen Cins ve Türler .....	75
Çizelge 3.13. Tanımlayıcı Test Sonuçlarına Göre Önerilen Cins ve Türler (devamı) .....	76
Çizelge 3.13. Tanımlayıcı Test Sonuçlarına Göre Önerilen Cins ve Türler (devamı) .....	77

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AFB</b>	:	Amerikan Yavru Çürüklüğü
<b>ATCC</b>	:	American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Md., USA
<b>BCL</b>	:	Basil Kartı
<b>ddH<sub>2</sub>O</b>	:	Double Distile Su
<b>EFB</b>	:	Avrupa Yavru Çürüklüğü
<b>FAME</b>	:	Yağ Asit Metil Ester (Fatty acid methyl esters)
<b>G</b>	:	Gram
<b>GN</b>	:	Gram Negatif Kartı
<b>GP</b>	:	Gram Pozitif Kartı
<b>KIA</b>	:	Kligler Iron Agar
<b>L</b>	:	Litre
<b>mL</b>	:	Mililitre
<b>MIS</b>	:	Microbial Identification System
<b>MR-VP</b>	:	Metil Red-Voges Proskauer Besiyeri
<b>Mm</b>	:	Milimetre
<b>N</b>	:	Normalite
<b>NRRL</b>	:	Northen Regional Research Laboratory (National Center for Agricultural Utilization Research), Peoria, Illinois, USA
<b>NT</b>	:	Nümerik Taksonomi
<b>OTU</b>	:	Operational Taxonomic Unit
<b>VPI</b>	:	Voges Proskauer Ayracı I
<b>VPII</b>	:	Voges Proskauer Ayracı II
<b>µL</b>	:	Mikrolitre
<b>µm</b>	:	Mikrometre
<b>TSI</b>	:	Triple Sugar Iron Agar
<b>α</b>	:	Alfa
<b>β</b>	:	Beta
<b>γ</b>	:	Gama

## **EK LİSTESİ**

<b>EK 1.</b> Kùltür Ortamlarının Bileşimi, Hazırlanışı Ve Sterilizasyonu .....	110
<b>EK 2.</b> Çözeltiler .....	119
<b>EK 3.</b> Sterilizasyon Teknikleri .....	121
<b>EK 4.</b> Bazı İzolatların Test Sonuçları .....	123

## 1.GİRİŞ

İçinde bulunduğumuz günler birçok bilim adamına göre dünyamızın bir yol ayrımına geldiği günlerdir. Hemen acil önlem alınmaz ise önümüzdeki 50 yıl içinde dünya ikliminin hızla değişeceği ve arıların da içinde bulunduğu böcekler sınıfı başta olmak üzere türlerin %30'unun yok olacağı bildirilmektedir (Anonymous 2001).Ülkemizin iklim koşulları, topografik yapısı ve yeryüzündeki konumu, bitki örtüsünü ve buna bağlı olarak diğer canlıların çeşitliliğini artırdığı gibi, arı faunasının da çok zengin olmasına olanak sağlamıştır. Ülkemizde toplam 2 000 civarında arı türü olacağı tahmin edilmektedir (Özbek 2002).

Ayrıca ülkemiz Afrika, Avrupa ve Asya arasında doğal bir geçiş noktası konumunda bulunması nedeniyle, birçok arı ırkı ve ekotipini içinde barındıran bir gen havuzu konumundadır (Adam 1983).

Bal arısı (*Apis mellifera* L.), yüksek adaptasyon yeteneğinden dolayı hemen hemen dünyanın her bölgesine yayılmış ve bulunduğu bölgelerin ekolojik şartlarına adapte olarak çok sayıda coğrafik ırk ve bu ırklar içerisinde de farklı ekotipler oluşturmuştur.

Bal arıları ve insanlar arasındaki ilişki binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Başta bal olmak üzere, arı ürünleri tarih boyunca insanlar için önemli kaynaklar arasında yer almıştır. Balın yanı sıra, polen, arı sütü, arı zehiri, propolis, bal mumu, ana arı ve oğul, gibi ekonomik değeri olan ürünlerin elde edilmesi nedeni ile insanlar tarafından antik çağlardan beri yoğun olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır (Kaftanoğlu 1994). Bal arıları (*A. mellifera* L.), bal ve diğer bal arısı ürünlerini üretmelerinin yanında, nektar ve polen toplama sırasında yabani bitkilerin ve pek çok tarım ürününün polinasyonunu sağlayarak doğada yaşamsal bir rol de oynamaktadır.

Bal arıları tozlaşmaya olan katkıları yönünden ele alındığında dünya üzerinde yetiştiriciliği yapılan en değerli hayvanlar olup tarımsal üretime sağladıkları katkı, bal ve yan ürünlerinden sağladıkları katkıdan daha fazladır (Muz 2008).

FAO'nun 2012 yılı üretim istatistikleri incelendiğinde dünya bal üretiminin 1 592 701ton olduğu, arıvarlığı bakımından ilk sıradaki Çin'in 4 360 000 ton üretimle yine

ilk sırayı aldığı görülmektedir. Türkiye 6 milyon koloniden 88 000 ton bal üretimi yaparak Çin'den sonra 2.sırada yer almıştır.

Diğer arı ürünlerinin üretimi de arıcıların bu konuda yeterince bilgi sahibi olmaması nedeniyle yeterli düzeyde olamamaktadır. Ancak arı ürünlerinin verimliliğinin düşük olmasındaki esas neden; arıların çalışma gücünü etkileyen ve ölümlerine sebep olan arı hastalıkları ile arıları etkileyen biyotik ve abiyotik faktörlerdir.

Arı hastalıklarına birçok bakteri, virüs, mantar ve parazit sebep olmaktadır. Bu nedenle bal arılarından alınan verim de düşmektedir.

Bal arılarına mikroorganizmalar polen ve nektar toplarken ya da kontamine olmuş besinlerle beslendiklerinde bulaşmaktadır. Bal arıları koloni halinde yaşayan canlılar oldukları için mikroorganizmaların arıların her birine bulaşma olasılığı oldukça yüksektir. Bal arısı kolonilerinde, arıların birbirleri ile sıkça temas halinde olmaları ve trofilaksis (ağız yolu ile yiyecek paylaşımı) nedeniyle, koloni içinde patojen bir organizma varsa, büyük bir kolaylıkla yayılmaktadır (Sanford 2003).

Polen ve nektar toplayan işçi arılarından daha fazla mikroorganizma izole edilmektedir. İşçi arıların vücutlarına kovan dışındaki aktivitelerinden dolayı, kovan içindeki arılardan daha fazla mikroorganizma bulaşmaktadır.

*A. mellifera L.* ve onların besinleri; bakteri, küf ve mayaları içeren mikroorganizma grupları ile birlikte bulunur. Arılar ve onların besinlerinden 6 000'in üzerinde mikroorganizma izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Gilliam 1997).

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde arıcılık için öneme sahip olan on dört ilden toplanan melez Kafkas arılarının mezofilik bakteri florasını belirlemektir. Ayrıca izole edilen Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin bal arıları üzerine olumsuz etkilerinin olup olmadığını bioassay çalışmayla belirlemektir. Yurtdışında birçok çalışma olmasına rağmen ülkemizde buna benzer bir çalışmanın olmamasından dolayı yapılacak diğer çalışmalara öncülük edeceği düşünülmektedir. Bal arıları insanlar için ne kadar önemliyse diğer birçok canlı içinde önemlidir, bu nedenle bal arılarıyla ilgili yapılan her çalışma büyük öneme sahiptir.



## 1.1. Bal Arılarının Tarihi ve Evrimi

Arıların kretase döneminin sonlarına doğru çiçekli bitkilerin ortaya çıkması ile gelişmeye başladığı bilinmektedir. Çiçekli bitkilerin tozlaşmasına yardımcı en aktif canlı grubunun bal arıları olmasından dolayı çiçekli bitkilerin ve bal arılarının paralel şekilde evrimleşmesi söz konusudur (Krebs 1979, Sammataro ve Avitabile 1998, Demirsoy 2007).

Baltık amberinde Üst Eosen, Erken Senazoik devrelerinde birçok Hymenopter kalıntısına rastlanmış olmasına karşın *Apis* ve *Bombus* cinslerine bağlı türlere rastlanmamıştır. *Apis* cinsine bağlı türlere Alt Miosen' de Bonn yakınlarındaki Rott'da rastlanmıştır.

Malezya'da bulunan Geç Tersiyer veya Erken Kuaterner dönemine ait fosilleşmiş bir balarısı peteği ise cinsin kökeni ve Apini tribusu içindeki erken sosyal evrim hakkında bilgi vermektedir (Winston 1987).

Doğu Afrika'da daha yakın tarihlerde (yaklaşık 100 yıl) yapılan az sayıda fosil incelemesinde geçmiş yıllardakine göre fazla bir değişim gözlenmemiştir (Ruttner 1988). Fosil kayıtları, bal arısı morfolojiye dayanan evrimi hakkında çok kullanışlı olmasına karşın, sosyal davranışın evrimini göstermemektedir (Dietz 1986).

## 1.2. Bal Arılarının Sınıflandırılması

Bal arıları Hymenoptera takımında Apidae familyası içinde yer alır. Linnaeus 1758 yılında bal arılarını "bal yapan" anlamına gelen *A. mellifera* olarak isimlendirerek tür düzeyinde sınıflandırmıştır. Ancak literatürde ender de olsa *A. mellifica* olarak da rastlanmaktadır (Ericson ve ark. 1999). *A. mellifera*'nın sistematigi Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir.

### Çizelge 1.1. *Apis mellifera*'nın sistematigi

Alem:	Animalia (Hayvanlar)
Şube :	Arthropoda(Eklembacaklılar)
Sınıf :	Insecta (Böcekler)
Takım:	Hymenoptera (Zar kanatlılar)
Familya:	Apidae (Arılar)
Cins :	<i>Apis</i> (Bal arıları)
Tür:	<i>Apis cerana</i> <i>Apis dorsata</i> <i>Apis florea</i> <i>Apis mellifera</i>

İlk yapılan araştırmalar sonucu dört *Apis* türü tanımlanmıştır. Bu türler, *A. florea*, *A. dorsata*, *A. cerana* ve *A. mellifera*'dır. Son yıllarda yapılan çalışmalar ise, bunların sayısının dört'ten fazla olduğunu göstermektedir. Yeni tanımlanan *Apis* türleri *A. andreniformis*, *A. koshevnikovi*, *A. laboriosa*, *A.nicrocincta*, *A. nuluensis*'tir (Otis 1906).

*A. mellifera*'nın yuva yapımı ve haberleşmesi temelde *A. cerana*'ya benzemektedir. Bu nedenle bu iki türün genetik olarak birbirlerine daha yakın iki tür olduğu anlaşılmaktadır (Ruttner 1988). Bunlardan *A. mellifera* dünyaya yayılmış ve ekonomik öneme sahip tek bal arısı türüdür (Ruttner 1988).

### 1.3. Bal Arılarında Irk Kavramı

Tür kavramı türler arasındaki gen akışının azalması veya yok olması çiftleşmenin aynı türün bireyleri arasında olmasına, farklı türler arasında çiftleşme eğiliminin olmamasına dayanmaktadır (Mayr 1942, Berlocher 1998).

Arı taksonomisinde türden sonra ırklar yer almaktadır. İlk yapılan araştırmalarda yirmibeş *A. mellifera* ırkı olduğu bildirilirken daha sonra yapılan araştırmalarda *A. mellifera ruttneri* (Sheppard ve ark. 1997) ve *A. mellifera pomonella* (Sheppard ve Meixner 2003)'nın tanımlanması ile ırk sayısı yirmiyediye çıkmıştır.

Türkiye'de en yaygın ırk Anadolu ırkı (*A. mellifera anatolica*) başta olmak üzere diğer ırklar, Kafkasya ırkı (*A. mellifera caucasia*), Ermenistan ırkı (*A. mellifera*

*armenica*), İran ırkı (*A. mellifera meda*), Makedonya ırkı (*A. mellifera macedonia*) yayılış göstermektedir.

Bir grup araştırıcıya göre Irk kavramı aynı tür içerisindeki çeşitliliğin coğrafik olarak dağılımı ile ilgilidir. Bazı araştırıcılara göre ise irk kavramı kalıtımla ilgilidir. Bu karşı görüşler nedeniyle bu terimin sistematikteki geçerliliği ve kullanımını hala sorgulanmaktadır (Wilson ve Brown 1953). Bu denli fazla sayıda *A. mellifera* ırkının oluşmasında buzul çağındaki göçlerin ve coğrafik engeller nedeniyle izole popülasyonların oluşmasının önemli bir etkisi olduğu düşünölmektedir (Sheppard ve Smith 2000, Soysal 2004).

#### **1.4. Bal Arılarının Kökeni ve Dünya'ya Yayılması**

*A. mellifera*'nın kökenine ilişkin üç hipotez geliştirilmiştir (Rothenbuhler ve Kerr 1968, Wilson ve Brown 1953, Rutnner 1988). Wilson ve Brown (1953), bal arılarının Afrika da ortaya çıktığını ve Orta doğu üzerinden Avrupa'ya yayıldığını ileri sürmektedir. Rothenbuhler ve Kerr (1968)'e göre balarıları Asya'nın güneydoğusu veya Hindistan'da ortaya çıkmıştır. Ruttner (1988), ise bal arılarının Hazar denizinin güney kıyılarında ortaya çıktığını ve Anadolu yolu ile Avrupa'ya ve Arap yarımadası boyunca Afrika'ya yayıldığını belirtmiştir.

*A. mellifera* L., Avrupa bal arısı, dünyada en yaygın olarak bulunan bal arısı olarak bilinmektedir. İskandinavya'nın güney bölgesinden Orta Asya ve Afrika boyunca uzanan geniş bir aralığa sahip olup bulunduğu ortama son derece adapte olabilen bir türdür. Dolayısıyla farklı iklimsel ve coğrafik koşullarda birçok alttür ve ekotip oluşturmuştur. Bu kadar geniş alana yayılması, insanların gittiği yerlere arılarını da götürmesinden kaynaklanmaktadır (vanEngelsdorp ve Meixner 2010).

## 1.5. Bal Arısının Morfolojisi

Bal arıları genel olarak diğer böceklere benzemekle birlikte vücutları yoğun bir kıl örtüsüyle kaplıdır. Vücutları baş (cephalon), göğüs (thorax) ve karın (abdomen) olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır.

Arılarda baş önden bakıldığında bir üçgeni andırmaktadır. Başta gözler, antenler ve ağız parçaları bulunur. Gözler bir çift bileşik (petek) göz ile üç adet basit (nokta) gözden ibarettir. Basit gözlerin her biri binlerce küçük ünitelerden oluşmaktadır.

Arılarda koku, tat ve dokunma-hissetme duyuları, başta bulunan bir çift anten ile sağlanmaktadır (<http://www.aricilik.gov.tr/aricilik-egitimi/71-bal-arisi.html>).

Arıların ağız yapısı; üst dudak, üst çene, alt çene ve alt dudak olmak üzere dört kısımdan meydana gelen yalayıcı-emici ağız tipine sahiptir.

Göğüste bulunan üç segmentin her birinden bir çift olmak üzere üç çift bacak ve iki çift kanat bulunmaktadır. Bu nedenle göğüs arının hareket merkezidir. Bacakların arının hareket etmesini sağlaması yanında başka görevleri de vardır.

Bal arıları çok ince iki zardan yapılmış olup kitinleşmiş damarlarla desteklenmiş iki çift kanata sahiptir. Ön kanatlar arka kanatlardan daha geniş ve damarlıdır. Arılar uçuşun dışında kanatlarını kullanarak havada belirli bir noktada sabit kalabilmekte, uçuş yönlerini değiştirebilmekte ve ani olarak çeşitli yönlere dönebilmektedirler.

Arıların abdominal kısmında mide, bağırsak ve üreme organları gibi iç organlarıyla birlikte balmumu bezleri ve iğne de bulunmaktadır. Bal arısı larvasında on adet abdominal segment bulunur. Fakat birinci abdominal segment göğüsle birleşir ve ergin arıda dokuz segment bulunur. Son karın segmentleri de iç içe girerler ve böylece işçi ve ana arıda altı segment varmış gibi görünür (<http://www.aricilik.gov.tr/aricilik-egitimi/71-bal-arisi.html>).

İşçi arılar ve ana arıda abdomenin sonunda iğne bulunmaktadır. İğne, iğne odacığından çıkan ince, sivri uçlu bir savunma organıdır. İşçi arıların iğnesi geriye çentiklidir; bu yüzden işçi arılar birisini sokmak üzere iğnesini batırdığında geri çekemez. Çentikler testere ağzını andıran çıkıntılar olup bu çıkıntıların sivri uçları

iğnenin batış yönünün tersine yöneliktir. Bu nedendir ki arılar kendi hayatını tehlikede görmediği sürece insanı sokmaz.

Döllenmiş yumurtadan çıkan ve diploid olan ana arı kovandaki arıların en irisidir. Kanatları boyuna göre biraz kısadır ve arka ayaklarında polen sepeti bulunmaz. Eğri bir iğnesi vardır, Mum salgı bezleri yoktur. Genç işçi arılar tarafından beslenir ve korunur. Ana arının vücut uzunluğu 18-20 mm kadardır (Demirsoy 2006, Doğaroğlu 2009).

Arı ailesinin en büyük topluluğunu teşkil eden işçi arılar döllenmiş yumurtalardan çıkarlar ve diploid kısır dişilerdir. Vücut uzunlukları 14-15 mm'dir. İşçi arıların arka bacaklarında çiçek tozlarını yükleyip kovana taşımalarını sağlayan etrafı kıllarla çevrili polen sepeti bulunur.

Erkek arılar gelişimlerini 24 günde tamamlarlar. İşçi arılar gibi beslenen larvaların bulunduğu petek gözleri 10. günde kapatılır. İşçi arılardan daha iri ve tombul, ana arıdan daha kısa ve kalındırlar.

### **1.6. Bal Arılarının Koloni Yaşanı**

Arılar sosyal yaşayan canlılardır. Arılar, koloni olarak adlandırılan topluluklar halinde yaşarlar. Sosyal yaşayan canlılarda önemli olan koloniyi oluşturan bireyler değil, koloninin kendisi ve devamlılığıdır. Bir koloni, kovan başına bir tane ana arı (dişi), on-yetmiş bin tane işçi arı (dişi) ve 500-2 000 tane erkek arı bireylerinden oluşmaktadır.

Kovan içerisinde iyi bir işbirliği vardır. Bu düzenin sağlanmasında ana arının rolü çok büyüktür. Ana arı ağız çevresindeki salgı bezlerinden feromon salgılayarak kovan içerisindeki işbirliğini ve kovanın düzenini sağlar. Ayrıca bu feromonlar, işçi arıları etkileyerek kovanın işlevlerini gerçekleştirmelerini, erkek arıyı etkileyerek çiftleşmenin gerçekleşmesini sağlar. Kraliçe arı olarak da anılan ana arının en önemli görevi yumurtlamaktır.

İşçi arılar koloninin devamını sağlayan her türlü içgüdüsel ve yapısal yeteneklere sahiptirler. Ayrıcı koloni için polen toplamaktadırlar. Erkek arıların kolonideki görevi çiftleşmeyi sağlamaktır.

## 1.7. Türkiye’de Arıcılık

Arıcılık büyük ve küçük işletme sahiplerinin gelir kaynağını sağlamada önemli bir yeri bulunan bir iş koludur (Burğut ve Kumova 2007).

Türkiye, Asya ve Avrupa kıtalarını birbirine bağlayan köprü konumundaki coğrafi konumu ve sahip olduğu doğal zenginliklerinden dolayı, Dünya ülkeleri arasında arıcılık için avantajlı konumdadır (Kekeçoğlu ve ark. 2007).

Türkiye’de arıcılık iki dönem halinde incelenmektedir. İlk dönem 5000 yıldan daha fazla bir süre önce başlamış ve modern Türkiye’nin kuruluşuna kadar geçen süreyi içine almaktadır. Bu dönem geleneksel arıcılık olarak da adlandırılmaktadır. İkinci dönem ise Birinci Dünya Savaşı sonrası kapsamaktadır ve ilkel kovanlardan modern arıcılık ekipmanlarına ve çalışmalarına geçiş olarak bilinmektedir (Kandemir 2003). Günümüzde Türkiye’deki koloni varlığı altı milyona ulaşmıştır (Anonim 2012). Koloni varlığının artışıyla bal üretimi de artmıştır.

Arıcılıkta bal üretiminin yanında balmumu, arı sütü, polen, arı zehiri ve propolis gibi birçok ürün elde edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde bal, balmumu, propolis, arı sütü gibi ürünlerin üretimine ve işlenmesine dayalı birçok arıcılık altyapı sektörü oluşmuş ve bu ürünlerin her birine dayalı milli sanayiler kurulmuştur. Türkiye’de ise bu sektör bal üretimine yönelik bir tarımsal uğraş olmakla birlikte, diğer arı ürünleri konusunda bir gelişme görülmemektedir (Genç 1996).

Türkiye’de arıcılık bazı sorunlarla karşı karşıyadır. Bunlardan en önemlisi koloni başına verimde önemli bir artış sağlanamamıştır. Ayrıca orman ve çayır-mera alanlarındaki azalma ve tarım alanlarında denetimsiz ve zamansız pestisit kullanılması da arıcılığı olumsuz yönde etkilemektedir (Fıratlı ve ark. 2005). Yoğun olarak gerçekleşen bal arısı koloni ölümlerinin nedeni tam olarak bilinmese de, birçok faktör neden olarak gösterilmekte ve bilim adamları bu nedenler üzerine araştırmalarını sürdürmektedir. Birçok bal arısı hastalığı (bakteriyel, fungal, viral, mikrosporidial), parazitleri (*Varroa*, *Acarapis*), kontamine sular, yanlış arıcılık uygulamaları, antibiyotik kullanımı, kovan içi ve çevresel kaynaklardan pestisit zehirlenmeleri ve besinsel stres gibi nedenler, arı ölümleri etkeni olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenler üzerinde birçok çalışma yapılmaktadır. Zayıf beslenme, kuraklık, ani mevsimsel değişiklikler ve gezginci arıcılık gibi potansiyel stres

faktörleri bal arısı direncinin zayıflamasına ve kolonilerin hastalıklara karşı daha duyarlı olmasına neden olmaktadır. Ayrıca mobil telefonlar, genetiği değiştirilmiş ürünler ve nanoteknolojik ürünler gibi arı kayıplarının nedeni olabilecek durumlar tartışma konusudur (Bacandritsos ve ark. 2010, Neumann ve Carreck 2010, vanEngelsdorp ve Meixner 2010).

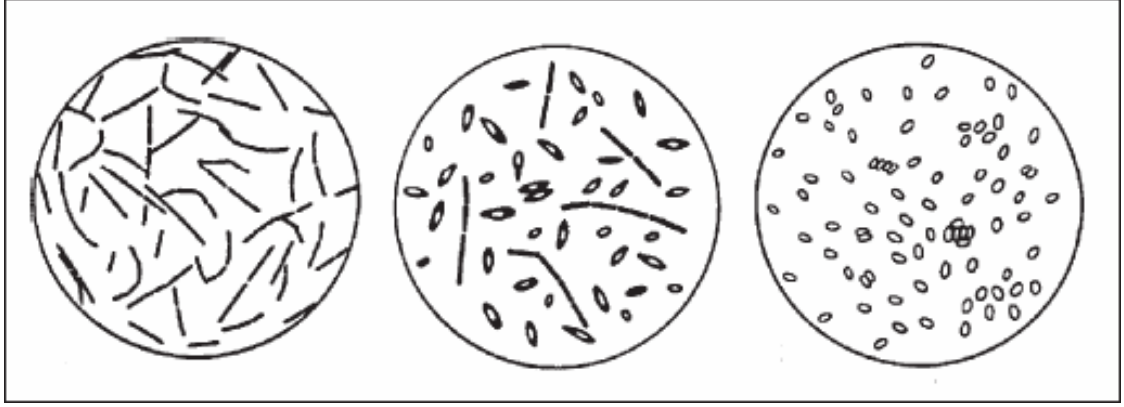
## **1.8. Bal Arılarında Bakteriyel Hastalıklar**

Bal arısı kolonilerindeki birey çokluğu özellikle enfeksiyon hastalıklarında hastalığın hızla yayılmasında çok önemli rol oynar. Arının kovan dışındaki nektar toplamak amacıyla kilometrelerce uçuşması, hastalığın başka bölgelere taşınmasında oldukça etkilidir. Diğer yandan, bal arılarının evrimi süresince enfeksiyonlara karşı güçlü doğal korunma mekanizmaları gelişmemiştir. Genellikle hastalıklı kolonilerden gerekli verim alınamamaktadır. Ancak birtakım içgüdüsel davranışlarla hastalığın kovan içinde yayılımı önlenmeye çalışılmaktadır. Örneğin, en önemli bakteriyel hastalıklar olan Amerikan Yavru Çürüklüğü ve Avrupa Yavru Çürüklüğü hastalıkları, yağışların, serin ve nemli hava koşullarının bittiği ve havaların ısınıp, kovan içi sıcaklığın 30-37°C'ye yükseldiği dönemde ortaya çıkar. Çünkü bu sıcaklık her iki hastalık içinde en uygun üreme sıcaklığıdır. Aynı zamanda bu mevsimsel periyod, arıların hayat siklusunda bakterilerin üzerinde yaşama ortamı bulacakları yavruların oluştuğu üreme mevsimidir (Morse 1997, Shimanuki ve Hung 1999, OIE 2004).

### **1.8.1. Amerikan Yavru Çürüklüğü (AFB)**

Amerikan Yavru Çürüklüğü, bal arısı *A. mellifera*'nın larvasını etkileyen ciddi bir yavru çürüklüğü hastalığıdır. Etkeni, ısıya ve kimyasal maddelere karşı oldukça dirençli spor oluşturan *Paenibacillus larvae*'dir ve basil şeklinde gram pozitif bir bakteridir (Antúnez ve ark. 2004).

Etken organizma, ilk olarak 1906 yılında White tarafından *Bacillus larvae* olarak adlandırılmış, ardından 1950 yılında *Bacillus pulvifaciens* adı önerilmiştir (Katznelson 1950). 1993 yılında ise *Paenibacillus* cinsine dahil edilmiştir (Ash ve ark. 1993).



**Şekil 1.1.** *Paenibacillus larvae*' nin vejetatif, sporovejetatif ve spor formları (Shimanuki ve Knox 2000)

*P.larvae* 2.5–5 µm boyunda, 0.5–0.8 µm eninde bir bakteridir (Bailey ve Ball 1991). Spor formu ise 1.3 µm x 0.6 µm boyutlarındadır (Lindström 2006). Karbol fuksin ile sporların duvarları kırmızımsı mor renkte boyanmaktadır ve spor merkezleri şeffaftır (Şekil 1.1.) (Shimanuki ve Knox 2000).

Parazit, sadece *Apis* cinsine dahil arıların larvalarını enfekte etmektedir (Ash ve ark. 1993). Yaklaşık 24 saatlik bir larvada enfeksiyonun başlaması için 10 sporun larvaya bulaşmış olması yeterli olmaktadır (Brødsgaard ve ark 1998). Daha ileriki dönemlerde ise enfeksiyon olabilmesi için çok daha fazla sayıda sporun bulunması gerekmektedir (Lindström 2006). *P. larvae*' nin farklı suşları arasında da enfektif doz açısından büyük çeşitlilik vardır ve bazı suşların enfeksiyon oluşturması için çok fazla miktarda spor bulunması gerekmektedir (Genersch ve ark. 2005).

Hastalık spor formu ile bulaşmakta olup, larvalar sporları besinleri vasıtasıyla almaktadır. Sporlar, sindirim sistemine girdikten yaklaşık bir gün sonra orta bağırsak lümeninde (pH: 6.6) çimlenmeye başlamaktadır. Vejetatif formdaki bakteri sayısının hızla çoğalmasını takiben, bu bakteriler peritrofik zara göç edip orta bağırsak epiteline tutunmaktadır. Epitel hücrelerine fagositik yolla giren bakterilerin bir kısmı fagositik vakuollerde yok edilse de büyük bir kısmı yaşamaya devam etmektedir. İstila ettikleri hücrenin lizisinin ardından, bakteriler larvanın hemosölüne geçip, burada hemolenf içinde hızla çoğalmakta ve sonrasında sporülasyona geçmektedirler. Larva sistemik bakteriyemi nedeniyle prepupa evresinde ölmektedir (Alippi 1999).



AFB dünya çapında yaygın olan ve beş kıtada da pek çok bölgeden vakaların rapor edildiği bir hastalıktır (Antúnez ve ark. 2004). Ülkemizde yapılan çalışmalarda ülke çapında hızla yayılmakta olduğu görülmüştür (Kaftanoğlu 1998, Özkırım 2006).

Hastalığın, bal arısı popülasyonunu ve bal üretimini azaltmak gibi arıcılık sektörüne zarar veren ciddi etkileri vardır (Antúnez ve ark. 2004). Ayrıca, etken organizmanın sporlarının doğada uzun süre hayatta kalabilmesi nedeniyle, savaşılmaya zor bir hastalıktır (Fries ve ark.2005).

### **1.8.2. Avrupa Yavru Çürükçülüğü (EFB)**

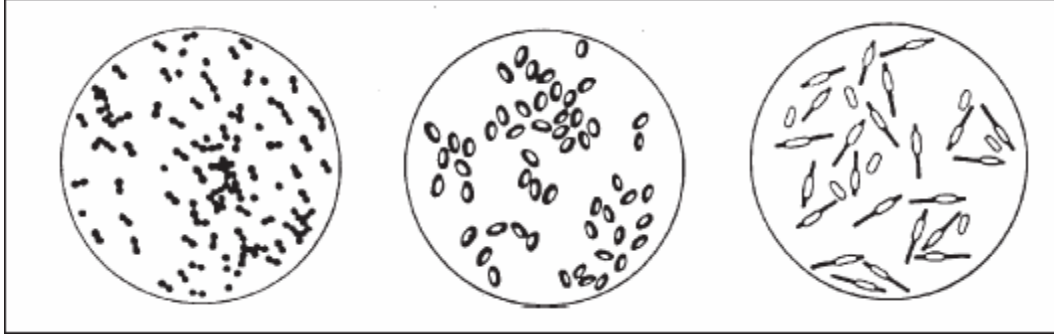
Avrupa Yavru Çürükçülüğü, etkeni *Melissococcus pluton* (White) olan, bal arısının ciddi bir bakteriyel hastalığıdır. Hastalık bal arısı yavrularını etkilemekte ve koloni kayıplarına kadar varan ciddi vakalara neden olmaktadır (Waite ve ark. 2003).

*M. pluton* kısa, spor formu olmayan bir bakteridir. 0.5–0.7 x 0.1 µm boyutlarındadır ve mikroskop altında tek başına, çift ya da toplu halde gözlenebilmektedir. Karbol fuksin ile koyu mor boyanmaktadır (Shimanuki ve Knox 2000).

Hastalık, besinler vasıtasıyla bulaşmaktadır. Sindirim sistemine giren bakteri, orta bağırsakta hızla çoğalmakta ve larvanın besinine ortak olmaktadır. Larva henüz 2–3 günlükken ve hastalığın belirtileri ortaya çıkmadan önceki dönemde, bakteriler peritrofik zar ile besinlerin arasında kalan bölgeye yerleşmektedirler. Larva 5 günlük olduğunda orta bağırsağı besin artıkları ve bakterilerle dolu bir hal almaktadır. Daha sonra, bakteriler peritrofik zarı parçalayıp bağırsak epiteline geçmektedirler. *M. pluton* larvanın besinini tükettiği için, larvanın besin gereksinimi karşılanmaz ve larva gelişemez. Dolayısı ile işçi arılar bu belirti ile larvaları tespit edip, kovan dışına atar. Bu bakımdan güçlü kolonilerde hastalığın erken teşhisi ve hafif atlatılması mümkündür (Alippi 1999). Ancak beslenmenin yetersiz olduğu durumlarda tüm besin bakteri tarafından tüketildiğinden larva açlık nedeni ile ölmektedir (Waite ve ark. 2002).

EFB hastalığında etken organizma dışında bazı bakterileri de görmek mümkündür. Hastalıkla ilişkili olan bu bakteriler *Paenibacillus alvei*, *Brevibacillus laterosporus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacterium eurydice* ve *Paenibacillus apiarius*'tur (Şekil 1.2.).

Bu bakteriler, ölü larva üzerinde üreyen ikincil saprofitlerdir (Waite ve ark. 2002).



**Şekil 1.2.** EFB enfeksiyonunu takiben ortama yerleşebilen bakterilerin vejetatif veya spor formları (A: *Enterococcus faecalis*, B: *Bacillus laterosporus*, C: *Paenibacillus alvei*) (Shimanuki ve Knox 2000).

İkincil saprofit bakteriler hastalığın klinik tablosunu etkilemektedir (FAO 2006) ve *M. pluton*' un tespiti oldukça zordur (Goodman ve ark. 2004).

Sağlıklı koloniler, enfekte kolonilerden yağma yaptıkları sırada ya da arıcının kontamine ekipmanları vasıtasıyla hastalık etkenini almaktadır. Koloni içinde ise işçi arıların besleme sırasında etkeni bulaştırmalarıyla veya yavru gözdeki bakterilerin bir sonraki yavru dönemine kadar hayatta kalmasıyla da enfeksiyon yayılabilmektedir (Alippi 1999).

EFB, kolonilerin zayıflaması ve ürünlerin azalması nedeniyle arıcılık sektörüne önemli zararlar veren bir hastalıktır. Dünya üzerinde hemen hemen her bölgede görülmektedir ancak, en çok görüldüğü yerler Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Japonya, Avustralya, Hindistan ve Güney Afrika'dır (Russenova ve Parvanov 2005). Resmi kaynaklara göre 1952 yılından bu yana hastalığın ülkemizdeki pek çok yörede de bulunduğu belirtilmektedir (Tutkun ve Boşgelmez 2003).

Son yıllarda Edirne'de (Yılmaz 1999); Trakya bölgesinde (Sıralı 1993); Güney Marmara bölgesinde (Aydın ve ark. 2003); Karadeniz bölgesinde (Yaşar ve ark. 2002); Ankara'da (Özkırım ve Keskin 2002), Elazığ'da (Şimşek ve Özcan 2001) ve Hatay yöresinde (Şahinler ve Gül 2005) yapılan çalışmalarda yavru çürüklüğü vakaları rapor edilmiştir.

### **1.8.3. Septisemi (Kan Zehirlenmesi)**

Septisemi, *Pseudomonas aeruginosa* (= *Pseudomonas apiseptica*) adı verilen bakteriler tarafından oluşturulan ergin bal arısı hastalığıdır. *Pseudomonas apiseptica* Gram (-) ve spor oluşturmayan bir bakteridir (Shimanuki ve Knox 2000). Bu bakteri doğada nemli topraklarda, bitkilerde, durgun su ve bataklıklarda bulunmaktadır. *Pseudomonas apiseptica* çeşitli yollarla arının solunum (trake) sistemine, buradan da kan sıvısına geçerek hastalık yapar. Hastalık havasız ve yüksek oranda nem bulunan kovanlarda görülmektedir. Ayrıca yoğun yapay yemleme, olumsuz hava koşulları, petek örme stresi ve varroa zararının başlaması gibi nedenlerle oluşan stres faktörleri septisemiye duyarlılığı arttırmaktadır (Tutkun ve Boşgelmez 2003, Genç ve Dodoloğlu 2002). Hastalık arının her üç gelişme döneminde de görülür. Hastalığa yakalanan arılar kısa sürede ölürlür. Ölümler daha çok bulaşmadan sonra 20-36. saatlerde olur. Sağlıklı arılarda kan rengi solgun sarımtırak renkte veya amber rengindeyken, hasta arılarda kan rengi elma-kahverenginden tebeşir beyazına dönüşür. Hastalığın en belirgin belirtisi kasların dejenere olmasıdır. Bu yüzden ölü arıları elle tutmak imkansızdır. Elle tutulduğunda arıların bacak, kanat, baş, göğüs ve karınları hemen ayrılmaktadır (Öder 1983). Septisemiye karşıdayanıklı herhangi bir arı ırkı veya hattı bilinmemektedir. Hastalığın tedavisi için de herhangi bir yöntem geliştirilememiştir. Arılığın kuru, temiz, güneş alan yerlerde kurulması, gerekli beslemelerin yapılması ve arılarda stres oluşturan faktörlerin ortadan kaldırılmasıyla hastalıktan korunulmuş olunur.

## **1.9. Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler**

### **1.9.1. Nümerik Taksonomi**

Nümerik taksonomi veya bilgisayar destekli taksonomi, karakterlerle şekillendirilen taksonomik birimlerin (OTU; Operational Taxonomic Unit) nümerik yöntemlerle sınıflandırılması anlamına gelmektedir (Sneath ve Sokal 1973).

Nümerik olarak kodlanan ve birer karakter olarak ifade edilen veriler için çeşitli matematiksel yöntemlerin uygulanması ve organizmaların kapsamlı benzerliğine dayanarak kümelere yerleştirilmesiyle dendrogramlar şeklinde ilişkilerin ortaya

konmasıdır (Manfio 1995). Bu sınıflandırma pek çok araştırmacı tarafından bakteri sistematğinde uygulanmaktadır (Sneath ve Sokal 1973, Sneath 1978, Goodfellow ve Dickinson 1985, MacDonell ve Colwell 1985, Sackin ve Jones 1993).

Bu sınıflandırmada mikroorganizmaların birçok özelliği ile ilgili bilgiler sayısal analiz için uygun bir şekilde dönüştürülmekte ve sonra bir bilgisayar yardımı ile karşılaştırılmaktadır. Ortaya çıkan sınıflandırma, her birine eşit ağırlık verilmiş birçok özelliğin karşılaştırılması ile değerlendirilen genel benzerliklere dayanmaktadır. Bu yöntem kullanılarak doğru ve güvenilir bir sınıflandırma için; en az 50, ideal olarak 100-200 adet morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik verilerden oluşan karakter karşılaştırılmalıdır (Sackin ve Jones 1993, Johansson 1999).

NT olarak ifadelendirilen nümerik taksonomi fikri ilk 1957'de Sneath tarafından kullanılmıştır (Sneath 1957a, 1957b). Nümerik taksonomi; sınıflandırmanın temel aldığı Adanson prensiplerini esas alarak çok sayıda birim karakterlerin kullanıldığı yüksek bilgi içerir ve bu sınıflandırma pek çok araştırmacı tarafından bakteri sistematğinde ve *Streptomyces* sistematik çalışmalarında uygulanmıştır (Sneath ve Sokal 1973, Sneath 1978, Goodfellow ve Dickinson 1985, Macdonell ve Colwell 1985, Sackin ve Jones 1993). Bu sınıflandırmanın ilk hedefi, her bir bakteriyal suşu, morfolojiden biyokimyasal, beslenmeden fizyolojik özelliklerine kadar tüm farklı safhalardan elde edilen fenetik verileri kullanarak homojen gruplar haline getirmektir.

Nümerik taksonomi çalışmasında bütün testlere tabi tutulacak suş setini; belirlenen habitattan izole edilen izolat suşlar, uluslararası olarak kabul edilen tip örnekleri ve kodlanmış referans suşlar ve duplike suşlar oluşturur. Duplike suşlar, testlerin güvenilirliğini kontrol etmek için, kullanılan OTU sayısının %10'nu kadar rastgele seçilen suşlardır (Priest ve Austin 1993, Logan 1994, Goodfellow 1995).

Nümerik taksonomi çalışmasında kullanılacak karakterlerin seçimi oldukça önemlidir. Test seçiminde önemli olan; çevresel faktörlerden etkilenmeyen, tek gen ya da operonun ekspresyonunu temsil eden karakterlerin kullanılmasıdır. Böyle karakterler stabil olduğu için güvenilir doğal sınıflandırmalar elde edilebilir. Pratikte, organizmaların mümkün olduğu kadar çok, biyolojik yönlerini temsil eden bir seri test kullanmak gerekir. İdeal bir liste; koloni ve mikromorfoloji verilerini, gelimse

karakterlerini, biyokimyasal testleri, inhibitör ajanların etkisini, enerji ve gelişme için tek karbon kaynağı bileşikleri, serolojik, kemotaksonomik ve moleküler genetik bilgileri içermelidir. Amaç; taksonlar arasındaki akrabalık ilişkilerini gösterecek veya farklılıkları belirleyecek yeterli bilgiyi elde etmektir. Bu nedenle, gereksiz testlerden kaçınılmalıdır ki; bu testler, çalışmada kullanılan OTU'ler için tümüyle pozitif veya tümüyle negatif olarak değerlendirilen testler olup, taksonomik çalışmada ayırt edici özelliğe sahip değildir (Priest ve Austin 1993).

Bilgisayar analizleri için testler formata uygun bir şekilde kodlanır. Genel olarak, pozitif sonuçlar için (1) veya (+), negatif sonuçlar için (0) veya (-) şeklinde kodlama yapılır.

### **1.9.2. Yağ Asitleri Profillerine Göre Bakterilerin Tanısı ve Karakterizasyonu**

Yağ asitleri, hidrokarbon  $[CH_3-(CH_2)_n-COOH]$  yapısında olan, tek veya dallanmış zincire sahip mikromoleküllerdir. Yapılarındaki farklılık dikkate alındığında yağ asitleri, tek zincirli yağ asitler ve dallanmış yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Biyolojik sistemlerde tek zincirli yağ asitleri oldukça yaygındır. Fakat prokaryotik hücrelerde dallanmış zincir oluşturan yağ asitlerine de sıkça rastlanır. Yağ asitleri; içerdikleri karbon atomlarının sayısına, karbon atomları arasındaki çift bağ sayısına, hangi karbon atomları arasında çift bağ olduğuna ve karbonların hidrojen atomları tarafından doyurulmuş olup olmamalarına göre farklı isimler alırlar. Prokaryotik hücrelerde bulunan yağ asitlerindeki karbon sayısı 9-20 arasında değişir (Şahin 2003).

Genetik olarak aynı olan mikroorganizmaların hücrelerindeki yağ asitlerinin sayısı, çeşitliliği ve yüzde olarak miktarları (yağ asitleri profilleri) aynıdır ve çevre şartları aynı olduğu sürece değişmez. Yağ asitleri profillerindeki farklılıklar ise dolaylı olarak mikroorganizmalar arasındaki genetiksel farklılığı ifade etmektedir. Bu nedenle kültür ortamında (standart suni besiyerlerinde) çoğalabilen mikroorganizmaların gerek tanısı gerekse taksonomik sınıflandırılmasının saptanması için yağ asitleri profillerinin kullanılabilmesi birçok bilimsel çalışma ile ispatlanmıştır (Şahin 2003).

Mikroorganizmaların hücre yapılarında (stoplazma ve hücresel membralarda) fosfolipid, glikolipid veya lipopolisakkarit olarak bulunan yağ asitlerini, sayısına,

çeşidine ve yüzde olarak miktarlarına göre tanılayan sistem 1985 yılında geliştirilmiştir (Miller ve Berger 1985). Mikrobiyal Identifikasyon Sistemi (MIS) olarak isimlendirilen bu yöntem, bilgisayar kontrolünde çalışmakta olup, gaz kromatografisi, bu kromatografiyi besleyen gaz tankları (hidrojen, azot ve hava), bilgisayar ünitesi, bilgisayar ünitesiyle uyumlu çalışan kütüphaneler ve yazıcı olmak üzere beş kısımdan meydana gelmektedir (Lelliot ve Stead 1978). Anaerobik ve aerobik bakteriler, aktinomisetler, maya ve gelişmiş funguslar bu sistem sayesinde kolaylıkla ve çok kısa sürede tanımlanabilmektedir (Miller ve Berger 1985, Sasser 1990, Dunfield ve ark. 1999, Buyer 2002).

### **1.9.3. Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması**

Karbonhidratlar yapı ve depo molekülü olup, enerji kaynağıdır. Mikroorganizmaların, çeşitli karbon kaynaklarını enerji kaynağı olarak kullanma ihtiyacında gösterdiği farklılıklar, tanı ve karakterizasyonda kullanılabilir. Bakteriler hayatlarını sürdürmek için biyoenerjiye ihtiyaç duymakta ve dışardan aldıkları karbon kaynaklarını metabolik enzimlerle parçalayarak biyolojik enerjiye dönüştürmektedirler. Mikroorganizmaların farklı karbon kaynaklarını (basit şekerler, alkoller, aminoasitler, deterjanlar, aminoasit benzeri moleküller) kullanımında gösterdikleri farklılıklar metabolik profil olarak adlandırılmaktadır ve profildeki bu farklılık sahip oldukları metabolik enzim çeşitliliğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Black ve Sweetmore 1994, Gamo ve Shoji 1999). Mikroorganizmaların taşıdığı bu enzim farklılığı ise onların familya düzeyinden başlayıp alt tür seviyesine kadar devam etmektedir (Konopka ve ark. 1998, Yılmaz 2004). Mikroorganizmaların arasındaki metabolik farklılıkları saptamak için farklı teknikler kullanılmaktadır.

Günümüzde VITEK® 2 kullanılarak tanımlama yapılmaktadır. Bu sistemin temeli, sistemde referans organizmalar ile doğal organizmanın biyokimyasal özellikleri bakımından karşılaştırılması esasına dayanır.

VITEK® 2 sistemi floresan temelli yeni bir teknolojiyi kullanmaktadır. Sistemde sıvı dilüsyon bazlı Gram negatif, Gram pozitif, maya ve küf gibi organizmaların

tanımlanmalarını sağlayan 64 tane kuyucuklu kart kullanılmaktadır (Verweij ve ark. 1999, Pincus 2002).

Gram-Negatif identifikasyon kartı (GN) VITEK® 2 System ile birlikte birçok klinik olarak anlamlı fermantasyona yol açan ve fermantasyona yol açmayan Gram-negatif basilin otomatik identifikasyonu için tasarlanmıştır. VITEK® 2 GN identifikasyon kartı atılabilen, tek kullanımlık bir malzemedir. GN kartı, karbon kaynağı kullanımı, enzimatik aktiviteler ve direnci ölçen kanıtlanmış biyokimyasal yöntemlere ve yeni geliştirilen substratlara dayanır. 47 adet biyokimyasal test ve bir negatif kontrol kuyucuğu mevcuttur. Dekarboksilaz Negatif Kontrol Kuyucuğu Dekarboksilaz test kuyucukları için baz çizgisi referansı olarak kullanılır. Kesin sonuçlar yaklaşık 10 saat ve daha kısa süre içinde elde edilir.

*Bacillus* identifikasyon kartı (BCL) kanıtlanmış biyokimyasal yöntemlere ve yeni geliştirilen substratlara dayanır. Karbon kaynağı kullanımı, inhibisyon direnci ve enzimatik aktiviteleri ölçen 46 biyokimyasal test mevcuttur. Kesin identifikasyon sonuçları yaklaşık 14 saat içinde elde edilir.

Gram pozitif identifikasyon kartı (GP) kanıtlanmış biyokimyasal yöntemlere ve yeni geliştirilen substratlara dayanır. Karbon kaynağı kullanımı, enzimatik aktiviteler ve direnci ölçen 43 biyokimyasal test mevcuttur. Kesin identifikasyon sonuçlar yaklaşık sekiz saat ve daha kısa süre içinde elde edilir.

### **1.10. Mikroorganizmaların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi**

Böceklerden izole edilen mikroorganizmaların, izole edildikleri böcek üzerinde patojenik bir etkiye sahip olup olmadıkları virulans testleriyle belirlenir.

Bu testler için böceğin biyolojisi göz önünde tutularak yaşayabilecekleri uygun ortamlar hazırlanır ve sağlıklı böcekler kullanılır. *In vitro* şartlarda üretilebilen mikroorganizmaların saf kültürleri hazırlanır ve uygulanır. *In vitro* olarak üretilemeyen virüsler, protozoalar ve diğer mikroorganizmaların enfeksiyon numunesi, ölü ve hastalıklı böceklerden elde edilir. Böceklerin enfeksiyonu için birçok metot bilinmektedir. Bu metodlar; besin içinde enfeksiyon, kütikula içine enfeksiyon, ağız ve çevresi içine enfeksiyon, mikroorganizmaları oral ve anal

açıklıklar üzerine yerleştirmek, mikrobeseleme ve mikroinfeksiyon şeklinde sıralanabilir (Lipa 1975).

Virölans testleri (biyoassay) süresi, uygulanan mikroorganizmaya göre değişiklik göstermektedir. Bakteriler ve virüsler gibi mikroorganizmaların virölans testlerinin genelde 5-10 gün sürdürülürken, böceklerde kronik enfeksiyonlar oluşturan protozoaların virölans testleri birkaç ay sürdürülebilir. Virölans testleri sırasında, diğer ölüm nedenlerinin sonuçlarından, mikroorganizmaların neden olduğu ölümleri ayırmak için, ölü böceklerin diseksiyonu yapılmalı ve gerçek ölüm nedeni araştırılmalıdır (Lipa 1975, Lacey 1997).

Yapılan virölans testlerinin sonuçları, istatistiksel metotlar kullanılarak matematiksel olarak ifade edilir. Bu amaç için kullanılan birçok metot bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanı Abbott Formülüdür (Abbott 1925) tarafından geliştirilen bu yöntem řu şekilde formüle edilebilir;

(%) Ölüm oranı= Toplam ölüm oranı (%) - Kontrol grubundaki ölüm oranı (%)

(%) 100 - Kontrol grubundaki ölüm oranı



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Böceklerin Toplanması İçin Arazi Çalışmaları

#### 2.1.2. Çalışma Alanlarının Belirlenmesi

Bu tezde çalışma alanı, Türkiye’de arıcılığın daha yoğun yapıldığı ve özellikle sınır illeri başta olmak üzere tüm ülkemizi temsil edebilecek önemli iller dikkate alınarak belirlendi (Şekil 2.1.). Yapılacak arazi çalışmaları ile bu illerden tez süresince kullanılacak sağlıklı ve ölü melez Kafkas ırkı bal arıları (*A. mellifera L.*) Ordu Arıcılık Enstitüsü tarafından toplanarak temin edildi.

#### 2.1.3. Örneklerin Alınması

Bu çalışmada on dört (Ardahan, Antalya, Artvin, Balıkesir, Edirne, Hakkari, İzmir, Kırklareli, Kırıkkale, Mersin, Muğla, Niğde, Ordu ve Yalova) ilden Ekim-Kasım 2013 tarihleri arasında toplanan canlı ve ölü bal arıları (*A. mellifera L.*) steril tüplere konularak laboratuara getirildi ve laboratuvar kodları verildi. Toplanan bal arıları örneklerinden bakteri izolasyonu yapılanaya kadar -20°C’de muhafaza edildi. Arıların laboratuvar kodları ve lokaliteleri Çizelge 2.1.’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Türkiye’nin Farklı İllerinden Toplanan Bal Arılarının Lokaliteleri

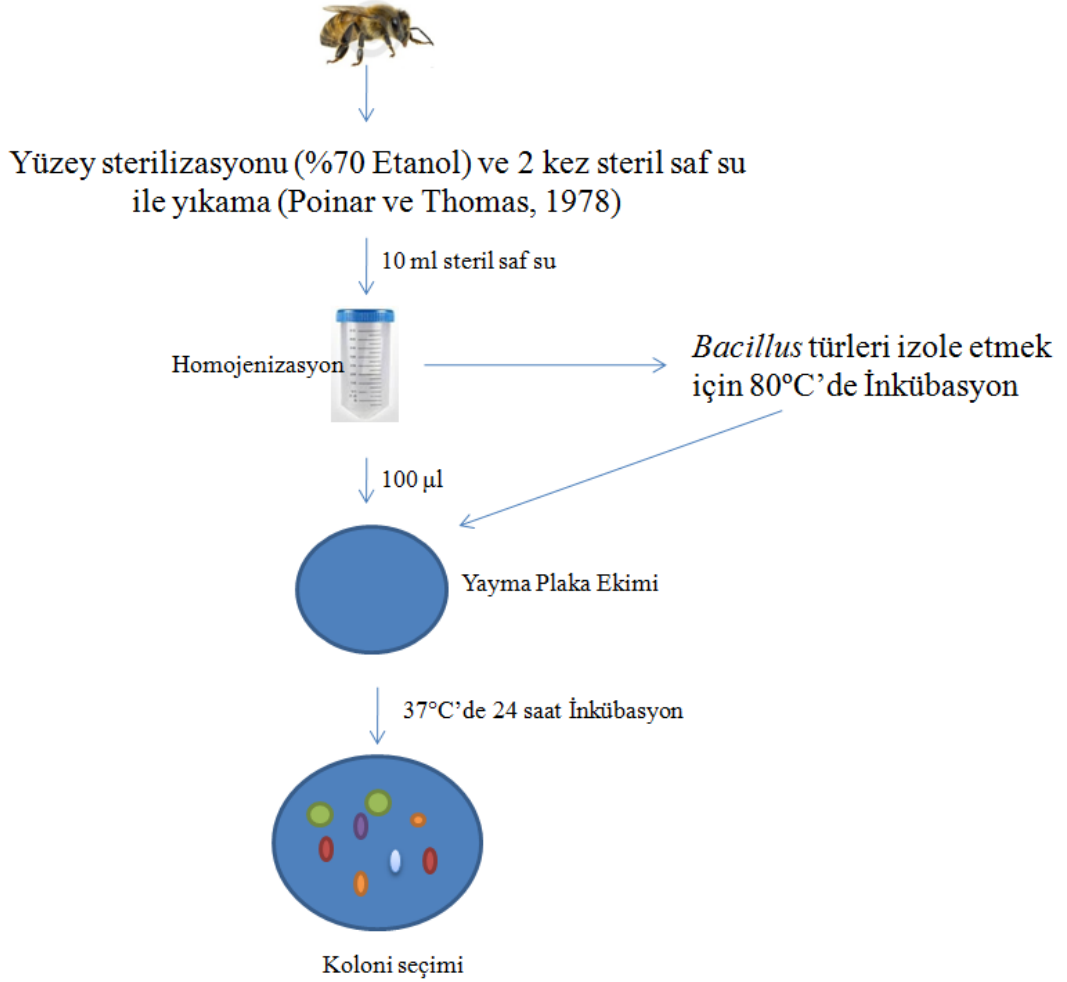
**Çizelge 2.1.** Çalışmada Kullanılan Bal Arılarının Laboratuvar Kodu ve Lokaliteleri

<b>Laboratuvar Kodu</b>	<b>Türü</b>	<b>Lokalite</b>	<b>Sayı</b>
01	<i>Apis mellifera L.</i>	Ardahan	100
02	<i>Apis mellifera L.</i>	Artvin	100
03	<i>Apis mellifera L.</i>	Antalya	100
04	<i>Apis mellifera L.</i>	Balıkesir	100
05	<i>Apis mellifera L.</i>	Edirne	100
06	<i>Apis mellifera L.</i>	Hakkari	100
07	<i>Apis mellifera L.</i>	İzmir	100
08	<i>Apis mellifera L.</i>	Kırklareli	100
09	<i>Apis mellifera L.</i>	Kırıkkale	100
10	<i>Apis mellifera L.</i>	Mersin	100
11	<i>Apis mellifera L.</i>	Muğla	100
12	<i>Apis mellifera L.</i>	Niğde	100
13	<i>Apis mellifera L.</i>	Ordu	100
14	<i>Apis mellifera L.</i>	Yalova	100

## **2.2. Yöntem**

### **2.2. 1. Mezofilik Bakteri İzolasyonu**

Toplanan bal arıları örneklerinden canlı olup sağlıklı olmayan ve ölü olan bal arılarından bakteri izole etmek için ayrı ayrı her bir ilden en az 10 tane bal arısı seçilip steril tüplere konuldu. Tüplere konulan bal arılarının yüzey sterilizasyonu %70'lik alkolle yapıldı (Poinar ve Thomas 1978). Yüzey sterilizasyonundan sonra aseptik şartlarda bal arıları iki kez verimsiz saf suyla yıkandı. Tüplere 10 mL steril saf su ilave edildi ve arılar saf su içerisinde homojen hale gelene kadar ezildi. Bu işlem bittikten sonra Nutrient Agar (Merck) üzerine 100 µL ilave edilerek yayma plaka ekimi yapıldı. Steril tüp içerisinde kalan homojen karışım *Bacillus* türleri izole etmek için 80°C'de bir saat bekletildi ve Nutrient Agar (Merck) üzerine 100 µL ilave edilerek yayma plaka ekimi yapıldı ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı (Şekil 2.2.)



Şekil 2.2. Mezofilik Bakteri İzolasyonu

### 2.2.2. Saf Kültürlerin Hazırlanması

İnkübasyon sonunda Nutrient Agar (Merck) üzerinde oluşan koloniler, koloni morfolojisi ve rengine göre ayrıtarılarak birbirinden farklı olanlar seçildi. Seçilen kolonilerin çizgi ekim yöntemi ile Nutrient Agar üzerine ekimi yapılarak saf kültürleri elde edildi ve izolatlar laboratuvar kodu verildi. İzolatların laboratuvar kodları ve temin edildikleri iller Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir.

**Çizelge2.2. İzolatların Laboratuvar Numarası ve Temin Edildikleri İl**

<b>İzolat No:</b>	<b>Laboratuvar</b>	<b>İller</b>
DE001		Ordu
DE002		Ordu
DE003		Kırıkkale
DE004		Balıkesir
DE005		Balıkesir
DE006		Ardahan
DE007		Ardahan
DE008		Balıkesir
DE009		Artvin
DE010		Artvin
DE011		Artvin
DE013		Edirne
DE014		Kırklareli
DE015		Yalova
DE016		Niğde
DE017		Hakkari
DE018		Edirne
DE019		İzmir
DE020		Mersin
DE021		Antalya
DE022		Ordu
DE023		Hakkari
DE024		Hakkari
DE025		Ardahan
DE026		Kırklareli
DE027		Mersin
DE028		Muğla
DE029		Niğde
DE030		Antalya
DE031		İzmir

### **2.2.3. Saf Kùltürlerin Stoklanması**

Seçilen izolatların uzun süreli muhafazası için Nutrient Broth'la (Merck) hazırlanan %20'lik gliserol stoklar cryo tüplerine 1.5 mL konularak 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Sterilizasyon işleminden sonra Nutrient Agar'daki taze saf kùltürler steril öze yardımıyla cryo tüplere inoküle edildi ve -20°C'de muhafaza edildi.

### **2.2.4. Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi**

#### **2.2.4.1. Basit Boyama**

Bal arılarından elde edilen izolatların hücre şekillerinin belirlenmesi amacı ile ilk olarak basit boyama yapıldı. Boyama için her bir izolat Nutrient Agar (Merck) besiyerine ekildi ve 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kùltürlerden bakteriyal smear hazırlandı ve alevden geçirilmek sureti ile tespit edildi. Daha sonra kristal viyole boya solüsyonu ilave edilip 1-2 dakika sonra, ddH<sub>2</sub>O ile yıkayıp mikroskop altında incelendi (Benson 1985).

#### **2.2.4.2. Gram Boyama**

Gram boyama için her bir izolat Nutrient Agar besiyerine ekildi ve 37°C'ye ayarlı etüvde 16–24 saat inkübasyona bırakıldı. Bakteriyal smear hazırlandı ve alevden geçirilerek tespit edildi. Gram Boyama için Merck marka Gram boyama kiti kullanıldı. Hazırlanan smear 1 dakika kristal viyole ile muamele edilerek ddH<sub>2</sub>O ile yıkandı. Kuruması beklenmeden 3 dakika lugolle muamele edildi ve alkolle yıkandı. Daha sonra renk kaybını durdurmak için hemen ddH<sub>2</sub>O ile yıkandı. 30–60 saniye safraninle muamele edildi ve tekrar ddH<sub>2</sub>O ile yıkandı. Açık havada kurutulduktan sonra mikroskop altında incelenmeye alındı. Pembe renge boyanan hücreler Gram negatif, mor renge boyanan hücreler ise Gram pozitif olarak kaydedildi (Cappuccino ve Sherman 1992).

#### **2.2.4.3. Endospor Boyama**

Her bir izolat T3 besiyerine ekildi (Bozlağan ve ark. 2009) ve 48–72 saat 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından bakteriyal smear hazırlayıp alevden geçirilerek tespit edildi. Hazırlanan smearlar filtre kâğıdı ile kapatılarak, malaşit yeşili ile 5 dakika boyunca su buharı üzerinde boyandı ve ddH<sub>2</sub>O ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra 30–60 saniye boyunca safranin ile muamele

edilip tekrar ddH<sub>2</sub>O ile yıkanarak açık havada kurutuldu ve mikroskop altında incelendi (Cappucino ve Sherman 1992).

#### **2.2.4.4. Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi**

Saflaştırılan izolatlar Nutrient agar üzerine çizgi ekim yöntemiyle ekildi ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Sonuçlar koloni rengine, kenarına göre değerlendirildi (Saygılı ve ark. 2006).

#### **2.2.4.5. Hareket Testi**

Taze kültürü hazırlanan bakteriler, Nutrient Broth (Merck) ve %0.5’lik agardan hazırlanan 5 mL’lik yarı katı besiyerine iğne uçlu öze ile inoküle edildi. 37°C’de 2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, inokülasyon çizgisi boyunca üreme var ve dallanma yoksa mikroorganizma hareketsiz olarak kaydedildi. Eğer inokülasyon çizgisinin etrafına doğru bir üreme varsa bu organizmalar hareketli olarak kaydedildi (Tittsler ve Sandholzer 1936).

#### **2.2.4.6. MacConkey Agar**

Besiyeri bileşiminde bulunan safra tuzları ve kristal viyole Gram pozitif refakatçi florayı baskılar, pH indikatörü olan neutral red laktozun kullanıldığını ya da kullanılmadığını gösterir. 35-37°C’de 18-24 saat inkübasyon sonunda laktoz negatif bakteriler renksiz koloniler yaparken, laktoz pozitif olanların kolonileri kırmızı olur.

Taze organizmalar hazırlanan MacConcey Agar üzerine ekildi ve 37°C’de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı.

#### **2.2.4.7. Mannitol Salt Agar**

Klinik ve Klinik olmayan kaynaklardan stafilocokların mannitol fermantasyonu ile izolasyonu ve ayrıştırılmasında kullanılan standart bir formülasyondur. İzolatlarda stafilocok türlerinin bulunduğunu saptamak için 48-72 saatlik inkübasyon süreleri önerilmektedir (Bannerman 2003). Etrafı sarı renkle çevrili olan koloniler de mannitol pozitifdir.

Organizmalar hazırlanan Mannitol Salt Agar üzerine ekildi ve 37°C’de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı.

### 2.2.5. Bakteriyal İzolatların Özelliklerinin VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ Sistemiyle Belirlenmesi

İzolatların Nutrient Agara ekimi yapıldı ve bir günlük inkübasyon sonrasında biyokimyasal özelliklerin belirlenmesi için VITEK®2Advanced Colorimetry™(Biome'rieux) cihazı kullanıldı. Bu işlem sırasında izolatların taze olmasına dikkat edildi. İzolatlar için Gram-Negatif (GN), Bacil (BCL) ve Gram-Pozitif (GP) kartlar kullanıldı. GN kart kuyucuk içerikleri Çizelge 2.3.'te, GP kart kuyucuk içeriği Çizelge 2.4.'de ve BCL kart kuyucuk içerikleri Çizelge 2.5.'de verilmiştir.



**Şekil 2.2.** Çalışmada kullanılan VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ (Biome'rieux) cihazı



**Şekil 2.3.** VITEK®2 Advanced Colorimetry™ (Biome'rieux) cihazında kullanılan kartlar

3 ml steril salin (su içeriği %0.45 ile %0.50 NaCl, pH 4.5 ile 7) saydam plastik (polistiren) test tüpüne (12 mm x 75 mm) Gram negatifler için aseptik olarak aktarıldı. Hazırlanan salin tüpüne Gram negatif organizmalar steril öze ile inoküle edildi. Kalibrasyonu yapılmış bir McFarland cihazı kullanılarak yoğunluğu McFarland No: 0.50-0.63'e eşdeğer olan, homojen organizma süspansiyonunu hazırlandı.

Gram pozitif organizmalar için de aynı yöntem kullanılarak yoğunluğu McFarland No: 0.50-0.63'e eşdeğer olan, homojen organizma süspansiyonunu hazırlandı.

Baciller içinde aynı yöntem kullanılarak yoğunluğu McFarland No: 1.80-2.20'ye eşdeğer olan, homojen organizma süspansiyonunu hazırlandı.

Süspansiyon tüpleri ve kartlar kasete yerleştirildikten sonra kartların barkodları okutuldu ve bilgisayara laboratuvar kodları girildi.

Bu işlemten sonra kaset VITEK® 2Advanced Colorimetry™ cihazına yerleştirildi ve kartların dolun işleminin gerçekleşmesi beklendi.

**Çizelge 2.3.** Gram Negatif Kart Kuyucuk İçerikleri

Test	Anımsatıcı	Test	Anımsatıcı
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	D-Mannoz	Dmne
Adonitol	ADO	Beta-Ksilosidaz	BXYL
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	Beta-Alanin arilamidaz pna	Balap
L-Arabitol	Larl	L-Prolin Arilamidaz	ProA
D-Selobiyoz	dCEL	Lipaz	LIP
Beta-Galaktosidaz	BGAL	Palatinoz	PLE
H <sub>2</sub> S Oluşumu	H <sub>2</sub> S	Tirosin Arilamidaz	TyrA
Beta-N-AsetilGlikozaminidaz	BNAG	Üreaz	URE
Glutamil Arilamidaz Pna	AGLTp	D-Sorbitol	dSOR
D-Glikoz	dGLU	Sakkaroz/Sükroz	SAC
Gama-Glutamil-Transferaz	GGT	D-Tagatoz	dTAG
Fermantasyon/Glikoz	OFF	D-Trehaloz	dTRE
Beta-Glikosidaz	BGLU	Sitrat (Sodyum)	CIT
D-Maltoz	dMAL	Malonat	MNT
D-Mannitol	dMAN	5-Keto-Glukonat	5KG
L-Laktat alkalileşmesi	ILATk	Alfa-Glikosidaz	AGLU
Sükkinat alkalileşmesi	SUCT	Alfa-Galaktosidaz	AGAL
Beta-N-Asetil-Galaktozaminidaz	NAGA	Fosfataz	PHOS
Glisin Arilamidaz	GlyA	Ornitin	ODC
Lizin-Dekarboksilaz	LDC	Dekarboksilaz	
DekarboksilaZ Bazı Kurmarat	ODEC	L-Histidinasimilasyonu	IHI Sa
O/129 Direnci (comp.vibrio.)	CMT	Beta-Glukuronidaz	BGUR
L-Malat asimilasyonu	O129R	Glu-Gli-Arg-Arilamidaz	GGAA
L-Laktat asimilasyonu	IMLTa	Ellman	ELLM
	ILATa		



**Çizelge 2.4.**Basil Kartı Kuyucuk İçerikleri

<b>Test</b>	<b>Anımsatıcı</b>	<b>Test</b>	<b>Anımsatıcı</b>
Beta-KsilosidaZ	BXYL	D-Mannitol	dMAN
L-Lizin Arilamidaz	LysA	D-Mannoz	dMNE
L-Aspartat Arilamidaz	AspA	D-Melezitoz	dMLZ
Lösin Arilamidaz	LeuA	N-Asetil-D-Glikozamin	NAG
Fenilalanin Arilamidaz	PheA	Palatinoz	PLE
L-Prolin Arilamidaz	ProA	L-Ramnoz	IRHA
Beta-Galaktosidaz	BGAL	Beta-Glikosidaz	BGLU
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	Beta-Mannosidaz	BMAN
Alfa-Galaktosidaz	AGAL	Fosforil Kolin	PHC
Alanin Arilamidaz	AlaA	Piruvat	PVATE
Tirosin Arilamidaz	TyrA	Alfa-Glikosidaz	AGLU
Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz	BNAG	D-Tagatoz	dTAG
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	D-Trehaloz	dTRE
Siklodekstrin	CDEX	Inulin	INU
D-Galaktoz Glikojen	Dgal	D-Glikoz	dGLU
Myo-İnositol	GLYG	D-Riboz	dRIB
Metil-A-D-Glukopiranosid asitleşmesi	INO	Putresin asimilasyonu	PSCNa
Ellman	MdG	%6,5 NaCl'de çoğalma	NaCl 6.5%
Metil-D-Ksilosid	ELLM	Kanamisin Direnci	KAN
Alfa-Mannosidaz	MdX	Oleandomisin Direnci	OLD
Maltotrioz	AMAN	Eskülin hidrolizi	ESC
Glisin Arilamidaz	MTE	Tetrazolium Kırmızısı	TTZ
	GlyA	Polimiksin_B Direnci	POLYB_R

**Çizelge 2.5.** Gram Pozitif Kuyucuk İçeriği

<b>Test</b>	<b>Anımsatıcı</b>	<b>Test</b>	<b>Anımsatıcı</b>
D-Amigdalın	AMY	Üreaz	URE
Fosfatidilinositol Fosfolipaz	PIPLC	Polimiksin B Direnci	POLYB
D-Ksiloz	Dxyl	D-Galaktoz	dGAL
Arginin dihidrolaz 1	ADH1	D-Riboz	dRIB
Beta-Galaktozidaz	BGAL	L-Laktat alkalileşmesi	ILATk
Alfa-glikosidaz	AGLU	Lactose	LAC
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	N-Asetil-D-Glikozamin	NAG
Siklodekstrin	CDEX	D-Maltoz	dMAL
L-Aspartat Arilamidaz	AspA	Basitrasin Direnci	BACI
Beta-Galaktopiranosidaz	BGAR	Novobiosin Direnci	NOVO
Alfa-Mannosidaz	AMAN	%6,5 NaCl'de Çoğalma	NC6.5
Fosfataz	PHOS	D-Manitol	dMAN
Lösin Arilamidaz	LeuA	D-Mannoz	dMNE
L-Prolin Arilamidaz	ProA	Metil-B-D-Glukopiranosid	MBdG
Beta Glukuronidaz	BGURr	Pullulan	PUL
Alfa-Galaktozidaz	AGAL	D-Rafinoz	dRAF
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	O/129 Direnci (comp. vibrio.)	O129R
Beta-Glukuronidaz	BGUR	Salisin	SAL
Alanin Arilamidaz	AlaA	Sakkaroz/Sükroz	SAC
Tirosin Arilamidaz	TyrA	D-Trehaloz	dTRE
D-Sorbitol	dSOR	Arginin Dihidrolaz	ADH2s
Optokin Direnci	OPTO	2	

## **2.2.6. Bakteriyal İzolatların Yağ Asidi Profillerinin Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) Kullanılarak Belirlenmesi**

Sistem türlere özgü olan tüm yağ asiti metil esterleri, dimetil asetil, aldehid gibi bileşikleri yüksek ayrıştırma özelliğindeki gaz sıvı kromatografisi vasıtasıyla tanımlar (Kireççi 2004).

Saf kültür olarak -20°C'de muhafaza edilen izolatların yağ asidi metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapıldı. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografisi sistemi olan Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) kullanılarak kültüre alınan örneklerin cins veya tür seviyesinde tanısı yapıldı.

### **2.2.6.1. Yağ Asiti Metil Esterlerinin Saflaştırılması**

İzolatların içerdikleri yağ asitlerini saf olarak izole edebilmek için 4 farklı çözelti kullanıldı.

#### **Cözelti 1: Saponifikasyon (Hücre Parçalanması)**

NaOH	45 g
Metil alkol	150 mL
Saf su	150 mL

Sırasıyla 150 mL metil alkol ve 150 mL saf su, 1 L'lik çözelti şişesine ilave edilip ve katı sodyum hidroksit ilave edilip çözülene kadar karıştırıldı.

#### **Cözelti 2: Metilasyon**

HCl	325 mL
Metil alkol	275 mL

Metil alkol ve hidroklorik asit 1 L'lik çözelti şişesinde iyice çözülene kadar karıştırıldı.

#### **Cözelti 3: Saflaştırma**

Hekzan	200 mL
Meti-tert-butil eter	200 mL

Sırasıyla 200 mL Meti-tert-butil eter 200 mL hekzan üzerine ilave edilerek çözelti şişesi içerisinde çözülmüceye kadar karıştırıldı.

#### **Cözelti 4: Bazik yıkama**

NaOH 10.8 g

Saf su 900 mL

10.8 g sodyum hidroksit, 900 mL saf su içerisinde iyice çözüldü.

Hazırlanan bu dört çözelti ile izolatların yağ asiti metil esterlerinin saflaştırılması için izolatların Tripton Soy Agar (Oxoid) üzerine inokülasyonu yapıldı. İnkübasyon sonrasında bakteri hücreleristeril özeyle toplanarak 5 mL'lik steril cam test tüplerine aktarıldı. Her bir tüpe 1 mL'lik çözelti 1 ilave edildi. 5-10 saniye çalkalandıktan sonra 100°C'lik su banyosunda 5 dakika bekletildi. Ardından 5-10 saniye tekrar çalkalandıktan sonra tekrar 25°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakıldı.

İkinci basamak olarak test tüplerine 2 mL çözelti 2 eklendi. 5-10 saniye çalkaladıktan sonra 80°C' de 10 dakika su banyosunda bekletildi. Bu işlemde sonra 2 dakika buz içerisinde bekletilip soğutuldu.

Üçüncü basamakta soğutulmuş tüplere 1.25 mL çözelti 3'den ilave edilecek 10 dakika hematoloji çalkalayıcısında çalkalandı.

En son aşamada her tüpe 3 mL çözelti 4'den ilave edilecek 5 dakika çalkalanıp, 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu işlemde sonra test tüplerinin üst kısmında oluşan yağ asidi metil esterleri pastör pipeti ile alınarak 2 mL'lik gaz kromatografisi tüplerine transfer edildi. Transfer işleminden sonra ağızları sıkıca kapatılıp MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildi (Miller ve Berger 1985, Ondendork ve Sasser 1995, Buyer 2002).

### 2.2.7. İzolatlara Yapılan Tamamlayıcı Testler

VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ cihazı ve MIS yöntemiyle cins düzeyinde tanımlanan bakterilerin tür düzeyinde tiplendirmesinde Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan ve Gibbons 1974) kitabının belirlenen cinsler için önerdiği tanımlayıcı testler (Çizelge 2.6.) uygulanmıştır.

Çizelge 2.6. Tamamlayıcı Testlerde Kullanılan Birim Karakterler

<b>KARAKTER</b>	<b>(%w/v)</b>	<b>KARAKTER</b>	<b>(%w/v)</b>
<b>A.BESİNSEL TESTLER</b>		<b>B.DEGREDASYON TESTİ</b>	
<b>Temel Karbon ve Enerji Kaynakları</b>		DNA	1.0
<b>Karbonhidratlar:</b>		Tween 80	1.0
<b>Monosakkaritler</b>		Tween 40	1.0
<b>Pentoz-Aldoz</b>		Tween 20	1.0
L(+) Arabinoz	1.0	Kazein	
D(+) Ksiloz	1.0	Nişasta	1.0
<b>Heksoz-Aldoz</b>		Hipoksantin	0.4
D(+) Galaktoz	1.0	L-Tyrosin	0.5
<b>Heksoz-Ketoz</b>			
D(-) Fruktoz	1.0		
<b>Deoksi-Heksoz</b>		<b>C.BİYOKİMYASAL TESTLER</b>	
$\alpha$ -L(+)Rhamnoz	1.0	Aesculin hidrolizi	0.1
<b>Disakkaritler</b>		Nitrat redüksiyonu	0.1
D(+) Laktoz	1.0	Allantoin testi	0.33
<b>Şeker Alkoller</b>		Arbutin testi	0.1
D(-) Mannitol	1.0	Üreaz hidrolizasyonu	
<b>Polisakkaritler</b>		Jelatin hidrolizasyonu	10
Parafin	0.1	Katalaz testi	
<b>Temel Azot ve Enerji Kaynakları</b>		Triple Sugar Iron Agar (TSI)	
<b>Aminoasitler</b>		Kligler Iron Agar (KIA)	
L-Sistein	0.1	Metil red	
L-iso-Leusin	0.1	İndol	
L-Valin	0.1	Sitrat	
L-Metionin	0.1	Voges-Proskauer	
L-Serin	0.1	Hemoliz	
L-Alanin	0.1	H <sub>2</sub> S Testi	

**Çizelge 2.6.** Tamamlayıcı Testlerde Kullanılan Birim Karakterler (devamı)

<b>KARAKTER</b>	<b>(%w/v)</b>	<b>KARAKTER</b>	<b>(%w/v)</b>
<b>D.FİZYOLOJİK</b>		<b>E.MORFOLOJİK</b>	
<b>TESTLER</b>		<b>TESTLER</b>	
<b>pH'da Gelişme</b>		Basit boyama	
pH: 4		Gram boyama	
pH: 9		Endospor boyama	
pH:10		Koloni morfolojisi	
<b>Sıcaklığa Tolerans</b>		Koloni rengi	
+30°C		Hareket	4
+37 °C			
+40 °C			
+44 °C			
+50 °C			
+55 °C			
+60 °C			
<b>Kimyasal</b>			
<b>İnhibitörlerde</b>			
<b>Gelişme</b>			
Demir II sülfat	0.1		
Demir II sülfat	0.02		
Bakır II Sülfat	0.01		
Sodium chloride	4		
Sodium chloride	8		
Sodium chloride	9		
Sodium chloride	10		
Sodium chloride	15		

### **2.2.7.1. Besinsel Testler**

#### **2.2.7.1.1. Temel Karbon Kaynaklarında Gelişme**

Organizmaların, gelişme ve enerji gelişimleri için farklı karbon kaynaklarını kullanıp kullanmadığı test edildi. %1'lik Fruktoz, %1'lik Galaktoz, %1'lik Ksiloz, %1'lik Arabinoz, ve %1'lik Laktoz, %1'lik Mannitol, %1'lik Rhamnoz ve %0.1'lik Parafin 40 mL ddH<sub>2</sub>O da çözüldü ve 3 gün boyunca tinalizasyon tekniği ile steril edildi ve steril edilmiş Nutrient Agar içerisine aseptik şartlarda ilave edildi. Hazırlanan besiyerlerine taze kültürden organizmalar inoküle edildikten sonra 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. %1'lik Glukoz ise pozitif kontrol olarak kullanıldı ve sonuçlar pozitif kontrole göre değerlendirildi.

#### **2.2.7.1.2. Temel Azot Kaynaklarında Gelişme**

Organizmaların, gelişme ve enerji gereksinimleri için farklı azot kaynaklarını kullanıp kullanmadığı test edildi. %0.1'lik Prolin, %0.1'lik Valin, %0.1'lik Metionin, %0.1'lik Alanin, %0.1'lik İsoleusin ve %0.1'lik Sistein uygun miktarda 40 mL ddH<sub>2</sub>O da çözüldü ve tinalizasyon tekniği ile steril edildi. Tinalizasyon sonucunda hazırlanıp steril edilmiş Nutrient Agar besiyeri içerisine aseptik şartlarda ilave edildi. Hazırlanan besiyerlerine organizmaların ekimi yapıldı ve 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Sonuçlar %0.1'lik L-asparagine ile hazırlanan besiyerindeki organizmaların üremelerine göre değerlendirildi.

### **2.2.7.2. Degredasyon Testleri**

#### **2.2.7.2.1. Kazein Degredasyonu**

Kazein degradasyonu için Crosley Skim Milk Agar (Oxoid) kullanıldı. Hazırlanan besiyerine organizmaların ekimi yapıldı ve 37°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında petri plağının etrafında ya da alt kısmında açık zon oluşmuşsa pozitif sonuç olarak kaydedildi.

#### **2.2.7.2.2. Nişasta Degredasyonu**

Nişasta degradasyon testi için %1'lik nişasta kullanıldı. Uygun miktarda ayarlanan nişasta 20 mL saf su içerisinde çözülüp, Nutrient Agar'a ilave edildikten sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Hazırlanan besiyerine organizmaların inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon

sonrasında Lugol's iyodineriyiği petri üzerine ince bir tabaka olacak şekilde döküldü ve değerlendirme yapıldı. Organizma etrafında açık zon oluşmuşsa pozitif sonuç olarak kaydedildi.

#### **2.2.7.2.3. Hipoksantin Degredasyonu**

Williams ve ark. (1983) tarafından tanımlanmış metotlar kullanılarak belirlendi. Degredasyon testi için bazal ortam olarak Bennett's Agar (Jones 1949) kullanıldı. Test için %0.4'lük hipoksantin tinalizasyon yöntemi ile steril edildi ve Bennett's agara ilave edildi. Hazırlanan besiyerine organizmaların ekimi yapıldı ve 37°C'de 1-7 gün inkübasyona bırakıldı.

#### **2.2.7.2.4. L-Tyrosin Degredasyonu**

L-Tyrosin degredasyonu için Williams ve ark. (1983) tarafından tanımlanmış metotlar kullanılarak belirlendi. Degredasyon testi için bazal ortam olarak Bennett's Agar (Jones 1949) kullanıldı. Degredasyon için %0.5'lik L-Tyrosin tartıldı ve tinalizasyon tekniği ile sterilizasyon yapıldı. Steril edilen L-Tyrosin aseptik şartlarda hazırlanıp steril edilen Bennett's Agar içerisine ilave edildi. Hazırlanan besiyerine organizmaların ekimi yapıldı ve 37°C'de 1-7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında etrafında ya da altında açık zon oluşmuşsa pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

#### **2.2.7.2.5. DNA Degredasyonu**

1 litre de 2 g DNA olacak şekilde ölçüm yapıldı ve tinalizasyon tekniği ile steril edildi. Besiyeri olarak Tripton Soy Agar (Oxoid) kullanıldı ve aseptik şartlarda DNA, besiyeri içerisine ilave edildi. Organizmalar besiyerine inoküle edildi ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 1 N'lik HCl petri yüzeyine döküldü ve petride açık zon oluşması pozitif sonuç olarak kaydedildi.

#### **2.2.7.2.6. Tween Degredasyonu**

Tween sorbitolün polioksiakilen türevi suda çözünebilir, yüksek moleküler ağırlığa sahip yağ asidi esterlerinin homolog serilerindedir ve spesifik esterazların tespitinde kullanılmaktadır. Test organizmaları tarafından üretilen esterazlar Tween'deki ester bağlarını hidrolize ederek serbest yağ asitleri açığa çıkmasına sebep olur. Yağ asitleri



de ortamda bulunan kalsiyum iyonları ile birleşerek karakteristik beyaz kristaller olarak çözülerek, çözünmeyen kalsiyum tuzlarını oluştururlar.

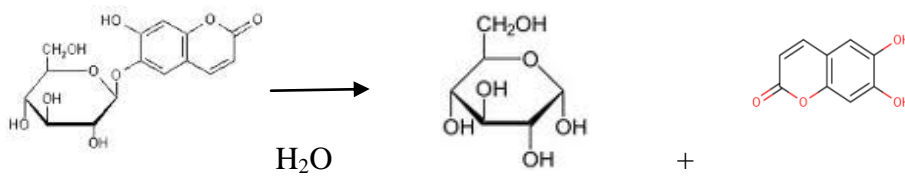
Tween degradasyonu için %1'lik Tween 80, Tween 40 ve Tween 20 kullanıldı. Her biri 40 mL ddH<sub>2</sub>O içerisinde çözüldü ve tinalizasyon tekniği ile steril edildi. Besiyeri olarak Sierra besiyeri (Sierra 1957) kullanıldı. Tinalizasyonu yapılan Tweenler besiyeri içerisine aseptik şartlarda ilave edildi ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında petride saydam olmayan beyaz bir halka oluştuğunda sonuç pozitif olarak kaydedildi.

### 2.2.7.3. Biyokimyasal Testler

#### 2.2.7.3.1. Aesculin Testi

Aesculin hidrolizi; 5 mL'lik deney tüplerinin her birine 2 mL, aesculin (%0.1 w/v) ilave edilmiş Korn-Wendisch ve Kutzner'in 1992'de tanımladığı besiyeri kullanılarak belirlendi. Aesculin içermeyen bazal besiyerleri de negatif kontrol tüpleri olarak kullanıldı. İnkübasyonu 37°C'de yapılmış tüpler 2 gün sonunda incelendi. Besiyerinin kararması pozitif sonuç olarak kaydedildi. Negatif kontrol besiyeri sayesinde renk değişikliğinin kahverengi/siyah eriyebilir pigmentlerin oluşumundan dolayı olup olmadığından emin olundu.

Aesculin hidrolizi karakteristik siyahımsı pigment oluşturmak üzere besiyerindeki demir iyonları ile kompleks oluşturan 6,7-dihydroxycoumarin oluşmasına sebep olur.



Aesculin

Glukoz

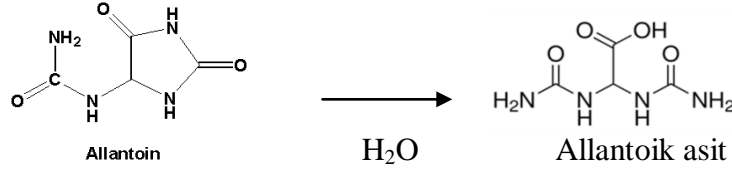
6,7- Dihydroxycoumarin

Aesculin *Aesculus hippocastanum*'dan elde edilen bir glikozit (C<sub>5</sub>H<sub>16</sub>O<sub>9</sub>) olup, hidroliz reaksiyonu yukarıdaki şekilde gösterilmiştir.

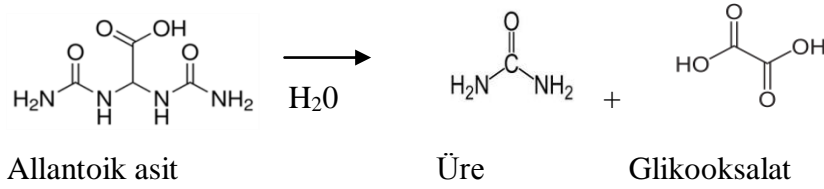
#### 2.2.7.3.2. Allantoin Testi

Allantoin hidrolizi (%0.33, w/v) için hazırlanan besiyeri deney tüplerine 2 mL olacak şekilde konuldu. Besiyeri içeren tüplere taze kültürden ekim yapılacak ve 37°C de 2

gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Aktif enzim üretimi inokülatör vasıtasıyla belirlenen bir alkalın reaksiyona sebep olur. İndikatör olarak reaksiyon sonunda sarıdan parlak gül kırmızısına renk değişikliği gösteren fenol red kullanıldı. İnkübasyon sonrası parlak gül kırmızısı renk oluşumu pozitif (+) sonuç olarak kaydedildi (Gordon 1968). Pozitif allantoin sonucu iki hidrolitik enzimin varlığını gösterir. Bu enzimlerden biri allantoini allantoik asie çevirir.



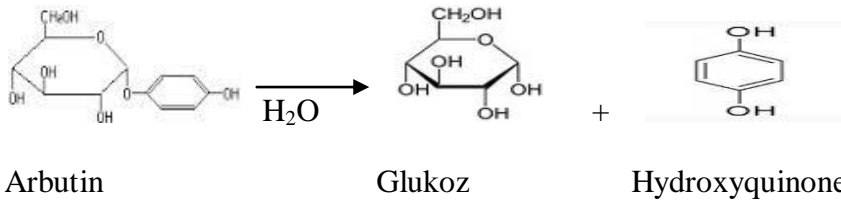
Diğer enzimde allantoik asidi, üre ve glikooksalata çevirir.



### 2.2.7.3.3. Arbutin Testi

Arbutin hidrolizi (%0.1 w/v; hydroxyquinone-β-glucopyranoside) Korn-Wendisch ve Kutzner'in 1992'de tanımladığı besiyeri kullanılarak belirlendi. Test sonuçları 37°C'de 2 günlük inkübasyon sonrasında siyah renk olan besiyeri pozitif sonuç olarak kaydedildi.

Arbutin hidrolizi bir hidrolaz enzimi ile katalizlenir.

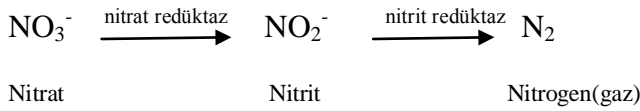


Arbutin hidrolizi, arbutinin bir hidrolaz enzimi tarafından katalizlenmesi sonucunda açığa çıkan hydroxyquinonenun, besiyeri ortamındaki demir iyonları ile kompleks oluşturarak kahverengi-siyah renk oluşturmasıyla karakterize edilir.

#### 2.2.7.3.4. Nitrat Redüksiyonu

Taze kültürden, 2 mL %0.1'lik nitrat broth (Gordon ve Mihm 1962) içeren test tüpüne organizmalar inoküle edildi ve 37°C' de 7 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında tüplere eşit hacimde nitrat redüksiyon ayraçları eklendi.

Sulfanilik asit, diazonyum tuzunu oluşturmak için nitrit ile reaksiyona girer, naftilamin varlığında stabil red azo renk oluşur. Renginde bu şekilde değişim olanlar pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Renginde değişim olmayan tüplere ise az miktarda çinko tozu eklenip bir süre bekletildi. Bekledikten sonra renk kırmızı ise sonuç negatif olarak kaydedildi. Eğer renk değişimi olmamışsa sonuç pozitif olarak kaydedildi. Çinko iyonları ( $Zn^{++}$ ) aynı reaksiyonu nitrat redüktaz enzimi gibi katalizlemektedir.



#### 2.2.7.3.5. İndol Testi

Taze kültürden 2 mL Pepton Water (Merck) besiyeri içeren tüplere inoküle edildi ve 37°C'de 2 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında bakterilerin triptofan amino asidini enzimatik hidrolize uğratarak indol oluşturup oluşturmadığı gözlemlendi. Gözlem için tüplere 0.5 mL Kovac's ayracı damlatıldı. Ayıraç damlatıldıktan sonra üstte oluşan kırmızı halka pozitif sonuç olarak, oluşan sarı halka ise negatif sonuç olarak kaydedildi (Apha 1995).

#### 2.2.7.3.6. Metil Red Testi

Metil kırmızısı testi, besi yerinde bakterilerin glukozu fermente edip organik asit oluşturarak ortamın pH:4.4'ün altına düşürme esasına dayanır. Bu test, bakterilerin cins ve türlerinin ayırt edilmesinde kullanılır. Metil kırmızısı testinde organik asitler ortamın pH'ını düşürdüğünden pH'daki bu düşüşü belirlemek için kültüre metil kırmızısı indikatörü ilave edildi ve bu indikatör pH 6.2'de sarı, pH 4.2 ve altında ise kırmızı renk verdi. Metil Red testi 5 mL sıvı MR-VP besi yeri içeren test tüpüne izolatların inokülasyonu ile gerçekleştirildi. 2 günlük inkübasyon sonucunda birkaç

damla metil red damlatıldı. Tüplerde kırmızı renk görülmesi pozitif olarak değerlendirildi (Halkman 2005).

#### **2.2.7.3.7. Voges-Proskauer Testi**

Bu test, bakteri türlerini belirlemede kullanılır. Bazı bakteriler, glikozu parçalayarak nötral bir ürün olan aseton (asetil metil karbinol) oluşturur. Aseton, potasyum hidroksid (KOH) varlığında okside olarak diasetil meydana getirir. Bu ürün ise alfa naftol ile reaksiyona girdiğinde kırmızı renk oluşturur. 5 mL MR-VP (Merck) besiyeri içeren test tüplerine bakteri kültüründen ekim yapıldı ve 37°C'de 2-7 gün inkübe edildi. Kültüre 0.6 mL VPI ayracı damlatıldıktan sonra 0.2 mL VPİI ayracı damlatıldı. Tüpler iyice karıştırıldı ve havaya maruz kalmaları için kapakları açılarak 10-15 dk beklendi. Kırmızı renk oluşumu pozitif, renk oluşmaması ise negatif olarak değerlendirildi (Temiz 2000).

#### **2.2.7.3.8. Sitrat Testi**

Bu test organizmaların sitratı karbon kaynağı ve amonyum tuzlarını da nitrojen kaynağı olarak kullanıp kullanmadığını saptamak için kullanılır.

Test için besiyeri olarak Simmon's Sitrat Agar (Merck) kullanıldı. Hazırlanan besiyeri tüplere 2 mL olacak şekilde konuldu ve otoklavlandıktan sonra yatık agar olacak şekilde soğutuldu. Hazırlanan besiyerine taze kültürlerin inokülasyonu yapıldı ve 37°C' de 2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında mavi renk olanlar pozitif sonuç, rengi değişmeyenler ise negatif sonuç olarak kaydedildi (Temiz 2000).

#### **2.2.7.3.9. Jelatin Hidrolizasyon Testi**

Bu test organizmalar için jelatini hidrolize eden jelatinase enzim sentez yeteneğini ölçmede kullanılır.

Organizmalar 5 mL Tripton Soy Broth (Oxoid) ve %10'luk jelatin içeren test tüplerine inoküle edildi ve 37°C' de 14 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan 7 gün sonra tüpler +4°C' de 30 dakika bekletildi. 30 dakika bekledikten sonra sıvı olarak kalanlar pozitif sonuç olarak kaydedildi. Sıvı olarak kalmayan test tüpleri ise 7 gün boyunca tekrar bekletildi. Bu sürenin sonunda +4°C'de tüpler tekrar kontrol edildi ve sıvı olarak kalmayanlar negatif sonuç olarak kaydedildi (Clarke 1953).

### **2.2.7.3.10. Katalaz Testi**

Bu test bazı mikroorganizmalarca sentezlenen katalaz enziminin varlığını saptamak ve tanımlanması amacıyla kullanılır.

Nutrient Agara (Merck) ekilmiş mikroorganizmaların 24 saatlik inkübasyonu sonucunda, temiz bir lam üzerine steril öze ile bir miktar alındı ve taze hazırlanmış %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonundan birkaç damla damlatıldı. Solüsyon damlatıldıktan sonra gaz kabarcığı oluşursa pozitif sonuç oluşmamışsa negatif sonuç olarak kaydedildi (MacFaddin 2000).

### **2.2.7.3.11. KIA (Kligler Iron Agar) Testi**

Test için Oxoid'in hazır KIA besiyeri kullanıldı. Hazırlanan besiyeri 2 mL tüplere konulduktan sonra otoklavda steril edildi ve yatık agar şeklinde hazırlandı. Besiyerine organizmaların inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında sarı renk oluşumu asidik ürün oluştuğunu ve glukoz ve laktozun fermente edildiğini, siyah renk oluşumu H<sub>2</sub>S varlığını, kırmızı renk oluşumu alkalın ürün oluştuğunu ve laktoz ve glukozun fermente edilmediğini, test tüpünün dip kısmı sarı yüzeyi kırmızı olduğunda ise organizmaların sadece glukozu fermente edebildiğini göstermektedir (Kligler 1917).

### **2.2.7.3.12. TSI (Triple Sugar Iron Agar) Testi**

Bu testle organizmaların glukoz, süktroz ve laktozu fermente edip edemediğini gözlemlemek amacıyla yapıldı.

Besiyeri olarak TSI besiyeri (Difco) kullanıldı ve her bir tüpe 2 mL olacak şekilde konuldu. Besiyeri steril edildikten sonra yatık agar olacak şekilde soğutuldu. Hazırlanan besiyerine organizmaların inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrası sarı renk oluşumu laktoz ve süktroz fermentasyonunun olduğunu, kırmızı renk oluşumu ise laktoz ve glikoz kullanılmadığını göstermektedir. Dip sarı yüzey kırmızı renk olduğunda sadece glukozu fermentasyonunun olduğunu göstermektedir. Eğer siyah renk oluşmuşsa H<sub>2</sub>S varlığını göstermektedir (Potter 2008).

### **2.2.7.3.13. Glikoliz Fermantasyonu Testi**

Glikoz fermantasyonu için Nutrient Broth (Merck) ve %1'lik glukoz kullanıldı. Tüplere 6 mL besiyeri konuldu ve durham tüpü konulacaktır. Organizmaların inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Üreme sonucunda durham tüpünde gaz oluşumu pozitif olarak değerlendirildi ve tüplere bir kaç damla fenol red damlatıldı. Fenol red damlatıldıktan sonra kırmızı renk oluşumu asidik ürün varlığını, sarı renk oluşumu ise asidik ürünün olmadığını göstermektedir.

### **2.2.7.3.14. Hidrojen Sülfür (H<sub>2</sub>S) Testi**

Test için Pepton Iron Agar (Difco) kullanıldı ve deney tüplerine 2 mL konuldu. Tüplerin sterilizasyonundan sonra yatık agar olacak şekilde soğutuldu. Hazırlanan besiyerine organizmaların inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası siyah renk oluşumu sisteindesülfiraz enzimi varlığını göstermektedir. Siyah renk oluşumu pozitif olarak kaydedildi (Williams ve Goodfellow 1966).

### **2.2.7.3.15. Üreaz Testi**

Bu test, mikroorganizmaların üreyi hidrolize eden üreaz enzimini saptamak amacıyla yapılır. Üreaz hidrolizasyon testi bakterilerin cins ve tür tayininde işe yarar. Üre, karbonik asitin bir diamididir. Bütün amidler de kolayca hidrolize olurlar. Ürenin hidrolizasyonu da spesifik bir enzim olan üreaz tarafından katalize edilir. Reaksiyonun sonunda iki molekül amonyak ve karbondioksit meydana gelir.

Üreaz testi için Üreaz Base Agar kullanıldı. Hazırlanan besiyerine organizmalar inoküle edildi ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında pembe renk olanlar pozitif sonuç olarak değerlendirildi (Christensen 1946, MacFaddin1985).

### **2.2.7.3.16. Hemoliz Testi**

Hemoliz bakterilerin ekzotoksin üreterek kırmızı kan hücrelerini parçalamasıdır. Kanlı agar üzerinde oluşan kolonilerin etrafında renksiz zon oluşması β-Hemoliz olarak, yeşil renk oluşması α-Hemoliz olarak, hiçbir renk ve zon oluşmaması ise γ-hemoliz olarak adlandırılmaktadır.

Hemoliz testi için %5'lik koyun kanı içeren besiyeri kullanıldı. Hazırlanan besiyerlerine organizmaların inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de 1-7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresince her gün besiyerleri kontrol edildi ve sonuçlar değerlendirildi (Pelczar ve ark. 1977, Koneman ve ark. 1992).

#### **2.2.7.4. Fizyolojik Testler**

##### **2.2.7.4.1. Kimyasal İnhibitör Varlığında Gelişme**

Bu testte %4'lük NaCl, %8'lik NaCl, %9'luk NaCl, %10'luk NaCl, %15'lik NaCl, %0.1 demir II sülfat, %0.02 demir II sülfat ve %0.01 bakır II sülfat inhibitörleri kullanıldı. Sodyum klorürler için Nutrient Agar, diğer kimyasal inhibitörler için ise Benett's Agar kullanıldı. Besiyeri hazırlandıktan sonra organizmaların ekimi yapıldı ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası üreme olanlar pozitif sonuç olarak kaydedildi.

##### **2.2.7.4.2. pH'ya Toleransı**

Organizmaların üç farklı pH'ya toleransı değerlendirildi. pH denemesi için besiyeri otoklavlanmadan pH'sı ölçüldü. Otoklav lantıktan sonra tekrar pH ölçüldü ve aradaki fark göz önüne alınarak pH ayarı yapıldı. pH 4 için 1 M HCl, pH 9 ve pH 10 içinse %20'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kullanarak cam elektrotlu pH metre ile ayarlaması yapıldı. Hazırlanan besiyerine organizmaların inokülasyonu yapıldı ve 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. Üreme olanlar pozitif sonuç olarak kaydedildi.

##### **2.2.7.4.3. Sıcaklığa Tolerans**

Organizmaların 30°C, 40°C, 44°C, 50°C, 55°C ve 60°C' ye olan toleransları değerlendirildi. Test için Nutrient Agar besiyeri kullanıldı. İnokülasyonu yapılan organizmalar 1-2 günlük süre içerisinde değerlendirildi ve üreme olanlar pozitif sonuç olarak kaydedildi.

#### **2.2.8. Bioassay Çalışması**

Elde edilen izolatların arılar üzerine etkisini belirlemek amacıyla her bir izolat için 20 tane sağlıklı arı seçilerek deney grubu oluşturuldu. Deney grupları için Arıcılık Enstitüsü'nden temin edilen hazır petekler kullanıldı.

Peteklere konulan deney gruplarının beslenmesi için 1:1 oranında glukoz çözeltisi hazırlandı. Deney gruplarının beslenmesi için hazırlanan çözeltiden 5 mL alınarak bakteriyal izolatların herbiri için ayrı ayrı Mcfarland ile yoğunluğu çözelti ile beraber 0.5 Mcfarland'a ayarlandı. Ayarlanan bakteri-çözelti karışımı arıların beslenme kaplarına konuldu ve arıların besin yoluyla bakterileri alması sağlandı. Arıların uygun yaşam şartlarının sağlanması için 25°C'ye ayarlı etüv kullanıldı ve arılara belirli aralıklarla glukoz çözeltisi ve su verildi. Deney grupları her gün kontrol edildi ve her gün ölen arı sayısı tespit edilip ortalama ölüm oranları belirlendi. Bu uygulama her bir izolat için 3 kez tekrarlandı. Yapılan uygulama için kontrol grupları da kullanıldı. Ölüm oranının hesaplanması için Abbott formülü kullanıldı (Sezen ve Demirbağ 2007).

### **2.2.9. İstatiksel Analiz**

İstatistiksel analizler için önce mikroorganizmalara uygulanan her bir test numaralandırıldı. Ayrıca hata hesaplamasında kullanılacak duplike suşların da dahil olduğu veri tabanındaki +/- sonuçlar 2/1 formatına dönüştürüldü. Benzerlik hesaplaması yapılması için kullanılan testlerde, tüm mikroorganizmaların +/- verdiği testler son veri matrisinden çıkarıldıktan sonra istatistiki analizler yapıldı. Test verilerinin PASW Statistics Data 18 (SPSS 18) (<http://www.winwrap.com>) istatistiksel programında Ward's metoduna göre analizleri gerçekleştirildi.



### 3.ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, 14 farklı ilden toplanan *A. mellifera* L.(Bal arısı)'nın bakteri florası belirlenmeye çalışıldı. Çalışmalar sonucunda 30 farklı izolat elde edildi. İzolatların tür tayinlerinin yapılabilmesi için VITEK® 2, MIS, morfolojik testler, biyokimyasal testler, fizyolojik testler, degridasyon testleri ve besin kaynaklı testler yapıldı. VITEK® 2 sonucuna göre izolatların 19 tanesi tür düzeyinde, MIS sonucuna göre de izolatların 14 tanesi tür düzeyinde tanımlanmıştır. Ayrıca 14 farklı tür olduğu düşünülen izolatların bal arıları üzerinde insektisidal etkisi araştırıldı.

#### 3.1. Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özellikleri

İzolatların morfolojik özellikleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Basit boyama sonucu organizmaların morfolojik şekilleri belirlendi. Gram boyama sonucu DE001, DE003, DE004, DE005, DE006, DE008, DE010, DE015, DE018, DE019 ve DE031 nolu izolatlar Gram negatif olarak diğer izolatlar Gram pozitif olarak kaydedildi. İzolatların koloni morfolojisine bakıldığında DE007, DE010, DE013, DE019, DE022, DE028 ve DE029 nolu izolatların koloni kenarı tırtıklı olarak, diğer izolatların koloni kenarı ise düz olarak kaydedildi. DE001, DE010, DE019, DE022, DE023, DE024, DE026, DE028, DE029, DE030 ve DE031 nolu izolatların kolonileri opak olarak kaydedildi. Diğer izolatların kolonileri ise parlak olarak kaydedildi. DE006 ve DE017 nolu izolatların koloni rengi sarı-turuncu olarak, diğer izolatların koloni rengi krem olarak kaydedildi. Hareket testi sonucu DE001, DE002, DE009, DE010, DE011, DE016, DE017, DE019, DE021, DE023, DE024, DE025, DE029, DE030 ve DE031 nolu izolatların hareketsiz olduğu, diğer izolatların hareketli olduğu tespit edildi.

MacConcey Agarda DE003, DE004, DE005,DE006 ve DE017 nolu izolatların ürettiği diğer izolatların üreyemediği tespit edildi.

Mannitol Salt Agarda DE004, DE005, DE006, DE008, DE010, DE011, DE015, DE017, DE020, DE022, DE022, DE030 ve DE031 nolu izolatların üreyemediği, diğer izolatların ürettiği gözlemlendi. Üreyen organizmalar içerisinde DE019 ve DE028 nolu izolatların pembe renk koloniler oluşturduğu, diğer izolatların ise besiyerinin rengini sarıya dönüştürdüğü gözlemlendi.

**Çizelge 3.1.** Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özellikleri

<b>İzolatlar</b>	<b>Gram Boyama</b>	<b>Spor Boyama</b>	<b>Basit Boyama</b>	<b>KKT</b>	<b>KKD</b>
DE001	-	-	Bacil	-	+
DE002	+	+	Bacil	-	+
DE003	-	-	Bacil	-	+
DE004	-	-	Bacil	-	+
DE005	-	-	Bacil	-	+
DE006	-	-	Bacil	-	+
DE007	+	+	Bacil	+	-
DE008	-	-	Bacil	-	+
DE009	+	-	Coccus	-	+
DE010	-	-	Bacil	+	-
DE011	+	-	Coccus	-	+
DE013	+	+	Bacil	+	-
DE014	+	+	Bacil	-	+
DE015	-	-	Bacil	-	+
DE016	+	+	Bacil	-	+
DE017	-	-	Bacil	-	+
DE018	-	-	Bacil	-	+
DE019	-	-	Bacil	+	-
DE020	+	+	Bacil	-	+
DE021	+	-	Bacil	-	+
DE022	+	+	Bacil	+	-
DE023	+	+	Bacil	-	+
DE024	+	+	Bacil	-	+
DE025	+	+	Bacil	-	+
DE026	+	+	Bacil	-	+
DE027	+	+	Bacil	-	+
DE028	+	+	Bacil	+	-
DE029	+	+	Bacil	+	-
DE030	+	-	Bacil	-	+
DE031	-	-	Bacil	-	+

KKD: Koloni Kenarı Düz KKT: Koloni Kenarı Tırtıklı

**Çizelge 3.1.** Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özellikleri (devamı)

İzolatlar	Parlak	Krem	Sarı- Turuncu	Hareket	MCA	MSA
DE001	-	+	-	-	-	+
DE002	+	+	-	-	-	+
DE003	+	+	-	+	+	+
DE004	+	+	-	+	+	-
DE005	+	+	-	+	+	-
DE006	+	-	+	+	+	-
DE007	+	+	-	+	-	+
DE008	+	+	-	+	-	-
DE009	+	+	-	-	-	+
DE010	-	+	-	-	-	-
DE011	+	+	-	-	-	-
DE013	+	+	-	+	-	+
DE014	-	+	-	+	-	+
DE015	+	+	-	+	-	-
DE016	+	+	-	-	-	+
DE017	+	-	+	-	+	-
DE018	+	+	-	+	-	+
DE020	-	+	-	-	-	+
DE021	+	+	-	+	-	-
DE022	+	+	-	-	-	-
DE023	-	+	-	+	-	-
DE024	-	+	-	-	-	+
DE025	-	+	-	-	-	+
DE026	+	+	-	-	-	+
DE027	-	+	-	+	-	+
DE028	+	+	-	+	-	+
DE029	-	+	-	+	-	+
DE030	-	+	-	-	-	-
DE031	-	+	-	-	-	-

MCA: MacConcey Agar MSA: Mannitol Salt Agar

### 3.2. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özellikleri

İzolatların fizyolojik özellikleri Çizelge 3.2.'de verilmiştir. İzolatların üremeleri üzerine etkili olan sıcaklık, pH ve NaCl'e karşı fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla testler yapıldı.

İzolatların NaCl'e olan toleransının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda %4'lük NaCl içeren besiyerinde DE001, DE009, DE018 nolu izolatların üreyebildiği, DE005, DE0011, DE014, DE016, DE017 nolu izolatların zayıf üreme gösterdiği, diğer izolatların ise üreyemedikleri tespit edildi. %8'lik NaCl içeren besiyerinde DE009 ve DE019 nolu izolatların zayıf üreme gösterdikleri, diğer izolatların ise besiyerinde üreyemediği tespit edildi. %9'lük NaCl içeren besiyerinde DE018 nolu izolatın üreyebildiği, DE001, DE007 ve DE013 nolu izolatların ise zayıf üreme gösterdikleri tespit edildi. %10'lük NaCl içeren besiyerinde DE001, DE018, DE019 nolu izolatların üreyebildiği, DE005, DE007, DE009, DE010, DE011, DE013, DE014, DE016, DE017, DE021, DE022, DE023, DE024 ve DE025 nolu izolatların zayıf üreyebildikleri gözlemlendi. %15'lik NaCl içeren besiyerinde DE007, DE009, DE011, DE013, DE014, DE015, DE016, DE021, DE022, DE023, DE024, DE025, DE026, DE027, DE028, DE029, DE030, DE031 nolu izolatların zayıf üreme gösterdikleri, diğer izolatların ise %15'lik NaCl içeren besiyerinde üreyemedikleri tespit edildi.

İzolatların pH'a toleransının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda pH 4'te DE004, DE005, DE028 nolu izolatların üreyebildikleri, DE021, DE023 ve DE026 nolu izolatların zayıf üreme gösterdikleri, diğer izolatların ise üreyemedikleri tespit edildi. pH 9 ve pH 10'da bütün izolatların üreyebildikleri tespit edildi.

Sıcaklığın izolatların üremeleri üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan testler sonucunda 30°C'de bütün izolatların üreyebildiği tespit edildi. 40°C'de DE006, DE008, DE010, DE013, DE020, DE021 nolu izolatların zayıf üreme gösterdikleri, DE007 nolu izolatın 40°C'de üreyemediği, diğer izolatların ise üreyebildikleri tespit edildi. 44°C'de DE002, DE003, DE006, DE008, DE018, DE009, DE020, DE030, DE031 nolu izolatların üreyemedikleri, DE004, DE005, DE011 ve DE015 nolu izolatların zayıf ürediği, diğer izolatların ise üreyebildikleri tespit edildi. 50°C'de DE001, DE007, DE013, DE014, DE016, DE027 nolu

izolatların üreyebildikleri, DE023, DE024, DE025 ve DE026 nolu izolatların ise zayıf üredikleri, diğer izolatların ise üreyemedikleri tespit edildi. 55°C’de DE016 ve DE027 nolu izolatların üreyebildikleri, DE001 ve DE013 nolu izolatların zayıf üredikleri, diğer izolatların ise üreyemedikleri tespit edildi. 60°C’de DE013 nolu izolatın zayıf ürediği, DE016 ve DE027 nolu izolatların üreyebildikleri, diğer izolatların ise üreyemedikleri tespit edildi.

Çizelge 3.2. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özellikleri

İzolatlar	Sıcaklık Testi(°C)						pH Testi		
	30	40	44	50	55	60	4	9	10
DE001	+	+	+	+	Z+	-	-	+	+
DE002	+	+	-	-	-	-	-	+	+
DE003	+	+	-	-	-	-	-	+	+
DE004	+	+	Z+	-	-	-	+	+	+
DE005	+	+	Z+	-	-	-	+	+	+
DE006	+	Z+	-	-	-	-	-	+	+
DE007	+	-	+	+	-	-	-	+	+
DE008	+	Z+	-	-	-	-	-	+	+
DE009	+	+	+	-	-	-	-	+	+
DE010	+	Z+	+	-	-	-	-	+	+
DE011	+	+	Z+	-	-	-	-	+	+
DE013	+	Z+	+	+	Z+	Z+	-	+	+
DE014	+	+	+	+	-	-	-	+	+
DE015	+	+	Z+	-	-	-	-	-	-
DE016	+	+	+	+	+	+	-	+	+
DE017	+	+	+	-	-	-	-	+	+
DE018	+	+	-	-	-	-	-	+	+
DE019	+	+	-	-	-	-	-	+	+
DE020	+	Z+	-	-	-	-	-	+	+
DE021	+	Z+	+	-	-	-	Z+	+	+
DE022	+	+	+	-	-	-	-	+	+
DE023	+	+	+	Z+	-	-	Z+	+	+
DE024	+	+	+	Z+	-	-	-	+	+
DE025	+	+	+	Z+	-	-	-	+	+
DE026	+	+	+	Z+	-	-	Z+	+	+
DE027	+	+	+	+	+	+	-	+	+
DE028	+	+	+	-	-	-	+	+	+
DE029	+	+	-	-	-	-	-	+	+
DE030	+	+	-	-	-	-	-	+	+
DE031	+	+	Z+	-	-	-	-	+	+

Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 3.2. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özellikleri (devamı)

İzolatlar	NaCl Testi(%)				
	%4	%8	%9	%10	%15
DE001	+	-	Z+	+	-
DE002	-	-	-	-	-
DE003	-	-	-	-	-
DE004	-	-	-	-	-
DE005	Z+	-	-	Z+	-
DE006	-	-	-	-	-
DE007	-	-	Z+	Z+	Z+
DE008	-	-	-	-	-
DE009	+	Z+	-	Z+	Z+
DE010	-	-	-	Z+	-
DE011	Z+	-	-	Z+	Z+
DE013	-	-	Z+	Z+	Z+
DE014	Z+	-	-	Z+	Z+
DE015	-	-	-	-	Z+
DE016	Z+	-	-	Z+	Z+
DE017	Z+	-	-	Z+	-
DE018	+	-	+	+	-
DE019	-	Z+	-	+	-
DE020	-	-	-	-	-
DE021	-	-	-	Z+	Z+
DE022	-	-	-	Z+	Z+
DE023	-	-	-	Z+	Z+
DE024	-	-	-	Z+	Z+
DE025	-	-	-	Z+	Z+
DE026	-	-	-	-	Z+
DE027	-	-	-	-	Z+
DE028	-	-	-	-	Z+
DE029	-	-	-	-	Z+
DE030	-	-	-	Z+	Z+
DE031	-	-	-	Z+	Z+

Z+: Zayıf pozitif

### 3.3. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

İzolatların biyokimyasal özellikleri Çizelge 3.3.'de verilmiştir. aesculin, allantoin, arbutin, nitrat redüksiyonu, indol, metil red, Voges- Proskauer, sitrat, katalaz, jelatin hidrolazasyonu, triple sugar iron (TSI) testi, kligler iron agar (KIA) testi, H<sub>2</sub>S testi, üreaz hidrolizi olmak üzere toplam 14 test uygulandı.

Metil red testi sonucu DE004, DE013, DE020, DE021, DE027, DE030, DE031 nolu izolatların zayıf pozitif, diğer izolatların ise pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Voges-Proskauer testi sonucu DE002, DE028 nolu izolatların zayıf pozitif sonuç verdiği, DE003, DE008, DE010, DE011, DE014, DE015, DE018, DE021, DE023, DE024, DE025, DE030 ve DE031 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, diğer izolatların ise pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

İndol testi sonucu DE004, DE005 nolu izolatların indol oluşturduğu, diğer izolatların ise oluşturmadığı gözlemlendi.

Sitrat testi sonucu DE003, DE004, DE005, DE006 ve DE011 nolu izolatların sitratı kullanabildiği, diğer izolatları ise kullanamadıkları gözlemlendi.

Aesculin testi sonucu DE009, DE011, DE018, DE021, DE030, DE031 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, diğer izolatların pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Allantoin testi sonucu DE002, DE003, DE006, DE008, DE010, DE011, DE018 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, DE014, DE015, DE017, DE019, DE020, DE021, DE026, DE030, DE031 nolu izolatların zayıf pozitif sonuç verdiği, diğer izolatların ise pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Arbutin testi sonucu DE002, DE008, DE009, DE010, DE011, DE015, DE017, DE018, DE019, DE021, DE030, DE031 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, DE013, DE014, DE016, DE020 nolu izolatların zayıf pozitif sonuç verdiği, diğer izolatların pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Nitrat redüksiyon test sonucu DE003, DE004, DE005, DE006, DE007, DE008, DE010, DE013, DE015, DE016, DE020, DE021, DE022, DE027, DE028, DE029, DE029, DE030, DE031 nolu izolatların pozitif sonuç verdiği, ayrıca DE004 ve



DE027 nolu izolatların nitrati nitritten sonra amonyum ve moleküler azota kadar indirgediği gözlemlendi. Diğer izolatların ise negatif sonuç verdiği gözlemlendi.

Jelatin hidrolizasyonu testi sonucu DE002, DE005, DE006, DE009, DE010, DE011, DE030, DE031 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, diğer izolatların ise pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Katalaz testi sonucu DE015 ve DE018 nolu izolatlarının negatif sonuç verdiği ve diğer izolatlarının ise pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

TSI testi sonucu DE002, DE008, DE009, DE015, DE030 nolu izolatların sarı renk oluşturarak laktoz, sükröz ve glukozu kullanabildikleri DE010, DE021 nolu izolatların glukozu fermente ettikleri ancak laktoz ve sükrözü fermente edemedikleri, DE004, DE005, DE024, DE025, DE026 nolu izolatların siyah renk oluşturarak H<sub>2</sub>S ürettikleri, pembe renk oluşturan izolatların ise laktoz ve glukozu kullanamadığı tespit edildi.

KIA testi sonucu DE002, DE004, DE005, DE009, DE018, DE019, DE020 nolu izolatların sarı renk oluşturarak asidik ürün oluşturduğu, glukoz ve laktozu fermente ettiği gözlemlendi. pembe renk oluşturan izolatların ise alkalik ürün oluşturduğu, glukoz ve laktozu fermente edemediği gözlemlendi.

Hemoliz testi sonucu ise DE004 ve DE005 nolu izolatların  $\alpha$  hemoliz yaptığı, DE001, DE008, DE009, DE010, DE011, DE013, DE014, DE015, DE016, DE018. DE022, DE028 ve DE029 nolu izolatların  $\beta$  hemoliz yaptığı, diğer izolatların ise  $\gamma$  hemoliz yaptığı gözlemlendi.

H<sub>2</sub>S testi sonucu DE004 nolu izolatın pozitif sonuç verdiği, diğer izolatların negatif sonuç verdiği gözlemlendi.

Üre hidrolizi testinde DE001, DE003, DE004, DE005, DE009, DE016, DE023, DE024, DE025, DE026, DE027 nolu izolatların pozitif sonuç verdiği, DE006, DE007 ve DE013 nolu izolatların zayıf pozitif sonuç verdiği, diğer izolatların ise negatif sonuç verdiği gözlemlendi.

**Çizelge 3.3.** Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

İzolatlar	Metil Red	Voges-Proskauer	İndol Testi	Sitrat Testi	Aesculin Testi	Allantoin Testi	Arbutin Testi	Nitrat Redüksiyonu
DE001	+	+	-	-	+	+	+	-
DE002	+	Z+	-	-	+	-	-	-
DE003	-	-	-	+	+	-	+	+
DE004	Z+	+	+	+	+	+	+	++
DE005	+	+	+	+	+	+	+	+
DE006	+	+	-	+	+	-	+	+
DE007	+	+	-	-	+	+	+	+
DE008	+	-	-	-	+	-	-	+
DE009	+	+	-	-	-	+	-	-
DE010	+	-	-	-	+	-	-	+
DE011	-	-	-	+	-	-	-	-
DE013	Z+	+	-	-	+	+	Z+	+
DE014	+	-	-	-	+	Z+	Z+	-
DE015	+	-	-	-	+	Z+	-	+
DE016	-	+	-	-	+	+	Z+	+
DE017	+	+	-	-	+	Z+	-	-
DE018	+	-	-	-	-	-	-	-
DE019	+	+	-	-	+	Z+	-	-
DE020	Z+	+	-	-	+	Z+	Z+	+
DE021	Z+	-	-	-	-	Z+	-	+
DE022	+	+	-	-	+	+	+	+
DE023	+	-	-	-	+	+	+	-
DE024	+	-	-	-	+	+	+	-
DE025	+	-	-	-	+	+	+	-
DE026	+	-	-	-	+	Z+	+	-
DE027	Z+	+	-	-	+	+	+	++
DE028	+	Z+	-	-	+	+	+	+
DE029	+	+	-	-	+	+	+	+
DE030	Z+	-	-	-	-	Z+	-	+
DE031	Z+	-	-	-	-	Z+	-	+

Z: Zayıf pozitif

++: Nitrattan amonyum ve moleküler azota indirgeme

**Çizelge 3.3.** Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri (devamı)

İzolatlar	Jelatin	Katalaz	TSI	KIA	Glukoz	Hemoliz	Ürea	
	Hidrolizasyonu	Testi	Testi	Testi	Fermantasyonu	Testi	H <sub>2</sub> S	Hidrolizi
DE001	+	+	P	P		β	-	+
DE002	-	+	S	S		γ	-	-
DE003	+	+	P	P		γ	-	+
DE004	+	+	Siyah	S	+	α	+	+
DE005	-	+	Siyah	S		α	-	+
DE006	-	+	P	P	-	γ	-	Z+
DE007	+	+	P	P	-	γ	-	Z+
DE008	+	+	S	P		β	-	-
DE009	-	+	S	S	+	β	-	+
DE010	-	+	S-P	P		β	-	-
DE011	-	+	P	P	-	β	-	-
DE013	+	+	P	P	-	β	-	Z+
DE014	+	+	P	P		β	-	+
DE015	+	-	S	P	-	β	-	-
DE016	+	+	P	P		β	-	+
DE017	+	+	P	P		γ	-	-
DE018	+	-	P	S	-	β	-	-
DE019	+	+	P	S	-	γ	-	-
DE020	+	+	P	S	+	γ	-	-
DE021	+	+	S-P	P		γ	-	-
DE022	+	+	P	P	-	β	-	-
DE023	+	+	P	P		γ	-	+
DE024	+	+	Siyah	P		γ	-	+
DE025	+	+	Siyah	P		γ	-	+
DE026	+	+	Siyah	P	-	γ	-	+
DE027	+	+	P	P		γ	-	+
DE028	+	+	P	P	-	β	-	-
DE029	+	+	P	P		β	-	-
DE030	-	+	S	P		γ	-	-
DE031	-	+	P	P	-	γ	-	-

P: Pembe renk S: Sarı renk S-P: Alt sarı üst pembe Z+: zayıf pozitif

### 3.4. Bakteriyal İzolatların Degredasyon Test Sonuçları

İzolatların degredasyon özellikleri Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Nişasta degredasyon testi sonucu DE001, DE003, DE004, DE005, DE006, DE011, DE013, DE015, DE016 ve DE018 nolu izolatların nişastayı kullanamadığı, DE014, DE017, DE026 ve DE030 nolu izolatların zayıf pozitif gösterdiği, diğer izolatların nişastayı parçalayarak kullanabildikleri gözlemlendi.

Tween 20 degredasyon testi sonucu; DE008, DE010, DE011, DE015, DE017, DE018 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, diğer izolatların pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Tween 40 degredasyon testi sonucu; DE008, DE009, DE010, DE015, DE017, DE018, DE020 ve DE030 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, diğer izolatların pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Tween 80 degredasyonu sonucu; DE001, DE002, DE007, DE016, DE021, DE027, DE028, DE030 ve DE031 nolu izolatların pozitif sonuç verdiği, DE013 nolu izolatın zayıf pozitif olduğu ve diğer izolatların negatif sonuç verdiği gözlemlendi.

DNA degredasyonu sonucu DE004 ve DE005 nolu izolatların pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Kazein degredasyonu sonucu DE001, DE017, DE020, DE023, DE024 ve DE025 nolu izolatların pozitif sonuç verdiği, DE007, DE010, DE013, DE016 ve DE027 nolu izolatların zayıf pozitif verdiği gözlemlendi.

L-Tyrosin degredasyonu sonucu DE020, DE021, DE022, DE030 ve DE031 nolu izolatların pozitif sonuç verdiği gözlemlendi.

Hipoksantin degredasyonu sonucu DE002, DE003, DE006, DE008, DE013, DE015, DE016, DE017 ve DE018 nolu izolatların negatif sonuç verdiği, DE001 nolu izolatın zayıf üreyebildiği gözlemlendi. Ayrıca DE004 ve DE005 nolu izolatın besiyeri üzerinde sarı pigment oluşturdukları gözlemlendi.

**Çizelge 3.4.** Degredasyon Testi Sonuçları

<b>İzolatlar</b>	<b>Nişasta</b>	<b>Tween 20</b>	<b>Tween 40</b>	<b>Tween 80</b>
<b>DE001</b>	-	+	+	+
<b>DE002</b>	+	+	+	+
<b>DE003</b>	-	+	+	-
<b>DE004</b>	-	+	+	-
<b>DE005</b>	-	+	+	-
<b>DE006</b>	-	+	+	-
<b>DE007</b>	+	+	+	+
<b>DE008</b>	+	-	-	-
<b>DE009</b>	+	+	-	-
<b>DE010</b>	+	-	-	-
<b>DE011</b>	-	-	-	-
<b>DE013</b>	-	+	+	Z+
<b>DE014</b>	Z+	+	+	-
<b>DE015</b>	-	-	-	-
<b>DE016</b>	-	+	+	+
<b>DE017</b>	Z+	-	-	-
<b>DE018</b>	-	-	-	-
<b>DE019</b>	+	+	+	-
<b>DE020</b>	+	+	-	-
<b>DE021</b>	+	+	+	+
<b>DE022</b>	+	+	+	-
<b>DE023</b>	+	+	+	-
<b>DE024</b>	+	+	+	-
<b>DE025</b>	+	+	+	-
<b>DE026</b>	Z+	+	+	-
<b>DE027</b>	+	+	+	+
<b>DE028</b>	+	+	+	+
<b>DE029</b>	+	+	+	-
<b>DE030</b>	Z+	+	-	+
<b>DE031</b>	+	+	+	+

Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 3.4. Degredasyon Testi Sonuçları (devamı)

İzolatlar	DNA	Kazein	L- Tyrosin	Hipoksantin
DE001	-	+	-	Z+
DE002	-	-	-	-
DE003	-	-	-	-
DE004	+	-	-	+
DE005	+	-	-	+
DE006	-	-	-	-
DE007	-	Z+	-	+
DE008	-	-	-	-
DE009	-	-	-	Z+
DE010	-	Z+	-	+
DE011	-	-	-	+
DE013	-	Z+	-	-
DE014	-	+	-	+
DE015	-	-	-	-
DE016	-	Z+	-	-
DE017	-	+	-	-
DE018	-	-	-	-
DE019	-	-	-	+
DE020	-	+	+	+
DE021	-	-	+	+
DE022	-	-	+	+
DE023	-	+	-	+
DE024	-	+	-	+
DE025	-	+	-	+
DE026	-	-	-	+
DE027	-	Z+	-	-
DE028	-	-	-	+
DE029	-	-	-	+
DE030	-	-	+	-
DE031	-	-	+	-

Z+: Zayıf pozitif

### 3.5. Besinsel Test Sonuçları

Temel karbon kaynağında gelişme sonuçları Çizelge 3.5.'de verilmiştir. Glukozu bütün izolatların kullanabildiği gözlemlendi.

Fruktoz içeren besiyerinde DE008, DE010 ve DE015 nolu izolatların üreyemediği, DE002, DE003, DE006, DE009 ve DE019 nolu izolatların zayıf üreme gösterdiği ve diğer izolatların üreyebildiği gözlemlendi.

Ksiloz içeren besiyerinde DE001, DE005, DE006, DE008, DE010 ve DE011 nolu izolatların üreyemediği, DE003, DE015 ve DE019 nolu izolatların zayıf ürettiği, diğer izolatların üreyebildiği gözlemlendi. Ayrıca DE004 nolu izolatın kahverengi pigment salgıladığı gözlemlendi.

Laktoz içeren besiyerinde DE002, DE006, DE008 ve DE010 ve DE015 nolu izolatların üreyemediği, DE003 ve DE011 nolu izolatların zayıf ürettiği ve besiyerinde DE004 nolu izolatın kahverengi pigment salgıladığı gözlemlendi.

Galaktoz içeren besiyerinde DE018, DE026 ve DE030 nolu izolatların üreyemediği, DE004 nolu izolatın kahverengi pigment ürettiği gözlemlendi.

Parafin içeren besiyerinde DE001, DE006, DE008, DE009, DE015, DE018, DE019 ve DE030 nolu izolatların üreyemediği, DE020, DE021, DE022, DE023, DE024, DE025, DE027, DE028 ve DE029 nolu izolatların ürettiği, diğer izolatların üreyemediği gözlemlendi.

Mannitol ve Rhamnoz içeren besiyerinde bütün izolatların üreyebildiği gözlemlendi. Ayrıca her iki besiyerinde de DE004 ve DE005 nolu izolatların sarı pigment oluşturdukları gözlemlendi.

Temel azot kaynağında gelişme sonuçları Çizelge 3.6.'da verilmiştir. Prolin içeren besiyerinde DE026 ve DE030 nolu izolatların gelişemediği, DE015 nolu izolatın zayıf üreyebildiği kaydedildi.

Valin içeren besiyerinde DE020, DE024 ve DE030 nolu izolatların üreyemediği, DE002, DE023 ve DE026 nolu izolatların zayıf geliştiği gözlemlendi.

İzoleusin içeren besiyerinde DE008, DE014, DE020, DE024, DE026 ve DE030 nolu izolatların reyemediği, DE003 ve DE023 nolu izolatların zayıf ürediği gözlendi.

Metionin içeren besiyerinde DE030 nolu izolatin reyemediği, DE001, DE002, DE003, DE019, DE020, DE024 ve DE026 nolu izolatların zayıf ürediği gözlendi.

Sistein içeren besiyerinde DE014, DE024, DE026 ve DE030 nolu izolatların reyemediği, DE003, DE010 ve DE015 nolu izolatların zayıf ürediği gözlendi.

Alanin içeren besiyerinde DE008, DE010, DE015, DE020, DE024 ve DE030 nolu izolatların reyemediği, DE002, DE006, DE019 ve DE026 nolu izolatların zayıf üreyebildiği gözlendi.



Çizelge 3.5. Temel Karbon Kaynaklarında Gelişme

İzolatlar	Glukoz	Fruktoz	Ksiloz	Laktoz	Galaktoz
DE001	+	+	-	+	+
DE002	+	Z+	+	-	+
DE003	+	Z+	+	Z+	+
DE004	+	+	+	+	+
DE005	+	+	-	+	+
DE006	+	Z+	-	-	+
DE007	+	+	+	+	+
DE008	+	-	-	-	+
DE009	+	Z+	+	+	+
DE010	+	-	-	-	+
DE011	+	+	-	Z+	+
DE013	+	+	+	+	+
DE014	+	+	+	+	+
DE015	+	-	Z+	-	+
DE016	+	+	+	+	+
DE017	+	+	+	+	+
DE018	+	+	+	+	-
DE019	+	Z+	Z+	+	+
DE020	+	+	+	+	+
DE021	+	+	+	+	+
DE022	+	+	+	+	+
DE023	+	+	+	+	+
DE024	+	+	+	+	+
DE025	+	+	+	+	+
DE026	+	+	+	+	-
DE027	+	+	+	+	+
DE028	+	+	+	+	+
DE029	+	+	+	+	+
DE030	+	+	+	+	-
DE031	+	+	+	+	+

Z+: zayıf üreme

Çizelge 3.5. Temel Karbon Kaynaklarında Gelişme (devamı)

İzolatlarda	Arabinoz	Parafin	Mannitol	Rhamnoz
DE001	+	-	+	+
DE002	+	Z+	+	+
DE003	+	-	+	+
DE004	+	Z+	+	+
DE005	+	Z+	+	+
DE006	-	-	+	+
DE007	+	Z+	+	+
DE008	+	-	+	+
DE009	+	-	+	+
DE010	Z+	Z+	+	+
DE011	+	Z+	+	+
DE013	+	Z+	+	+
DE014	+	Z+	+	+
DE015	+	-	+	+
DE016	+	Z+	+	+
DE017	+	Z+	+	+
DE018	+	-	+	+
DE019	+	-	+	+
DE020	Z+	+	+	+
DE021	+	+	+	+
DE022	+	+	+	+
DE023	+	+	+	+
DE024	+	+	+	+
DE025	+	+	+	+
DE026	+	Z+	+	+
DE027	+	+	+	+
DE028	+	+	+	+
DE029	+	+	+	+
DE030	+	Z+	+	+
DE031	+	-	+	+

Z+: Zayıf pozitif

**Çizelge 3.6.** Temel Azot Kaynaklarında Gelişme

İzolatlarda	Prolin	Valin	İzoleusin	Metionin	Sistein	Alanin
DE001	+	+	+	Z+	+	+
DE002	+	Z+	+	Z+	+	Z+
DE003	+	+	Z+	Z+	Z+	+
DE004	+	+	+	+	+	+
DE005	+	+	+	+	+	+
DE006	+	+	+	+	+	Z+
DE007	+	+	+	+	+	+
DE008	+	+	-	+	+	-
DE009	+	+	+	+	+	+
DE010	+	+	+	+	Z+	-
DE011	+	+	+	+	+	+
DE013	+	+	+	+	+	+
DE014	+	+	-	+	-	+
DE015	Z+	+	+	+	Z+	-
DE016	+	+	+	+	+	+
DE017	+	+	+	+	+	+
DE018	+	+	+	+	+	+
DE019	+	+	+	Z+	+	Z+
DE020	-	-	-	Z+	+	-
DE021	+	+	+	+	+	+
DE022	+	+	+	+	+	+
DE023	+	Z+	Z+	+	+	+
DE024	+	-	-	Z+	-	-
DE025	+	+	+	+	+	+
DE026	-	Z+	-	Z+	-	Z+
DE027	+	+	+	+	+	+
DE028	+	+	+	+	+	+
DE029	+	+	+	+	+	+
DE030	-	-	-	-	-	-
DE031	+	+	+	+	+	+

Z+: Zayıf pozitif

### **3.6. VITEK® 2 Sonuçları**

İzolasyon sonucu elde edilen 30 izolat, Gram pozitif, Gram negatif ve Bacil kartları kullanılarak tür ve cins düzeyinde tanımlandı. Gram pozitifler için biyokimyasal test sonuçları izelge 3.7.'de gösterilmiştir. Gram negatifler için biyokimyasal test sonuçları izelge 3.8.'de gösterilmiştir. Baciller için biyokimyasal test sonuçları izelge 3.9.'da gösterilmiştir. Tanımlanan izolatların tür isimleri ve yüzdeleri izelge 3.10.'da verilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Basil Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

Test/İzolatlar	DE007	DE013	DE020	DE022	DE025	DE026	DE031
BXYL	+	+	+	-	-	-	-
BGAL	+	+	+	-	+	+	-
APPA	-	+	-	-	+	+	+
ELLM	-	+	-	-	-	-	+
dMNE	+	+	+	+	+	-	-
BMAN	-	+	-	-	-	-	-
INU	-	-	-	-	+	-	+
OLD	+	+	-	-	-	-	-
LysA	-	-	-	-	-	-	-
PyrA	+	+	-	+	+	-	-
CDEX	-	+	-	-	-	-	-
MdX	-	-	-	-	-	-	-
dMLZ	-	-	-	-	+	+	-
PHC	-	-	-	-	-	-	-
Dglu	+	+	+	+	+	+	-
ESC	+	+	+	+	+	+	-
AspA	-	-	-	-	-	-	-
AGAL	+	+	+	-	+	+	+
dGAL	+	+	+	-	+	+	-
AMAN	-	-	-	-	-	-	-
NAG	+	+	-	+	+	+	-
PVATE	+	+	-	+	+	+	-
dRIB	+	+	+	+	+	-	-
TTZ	+	+	+	-	-	-	-
LeuA	+	+	-	+	-	-	-
AlaA	+	+	-	-	-	+	-
GLYG	+	+	+	-	+	+	-
MTE	+	+	+	+	+	+	-
PLE	+	+	+	-	+	-	-
AGLU	-	-	-	-	-	-	-
PSCNa	-	-	-	-	-	-	-
POLYB_R	+	+	+	+	-	-	-
PheA	+	+	-	-	+	+	+
TyrA	-	+	-	-	+	+	+
INO	+	+	-	-	-	-	-
GlyA	-	+	-	-	-	-	-
IRHA	+	+	-	-	-	-	-
dTAG	+	+	-	-	-	-	-
NaCl 6.5%	+	+	-	+	+	+	-
ProA	-	-	-	-	-	-	-
BNAG	+	+	-	-	-	-	-
MdG	-	+	+	-	+	-	-
dMAN	+	+	+	-	+	+	-
BGLU	+	+	+	+	-	+	-
dTRE	+	+	+	+	+	+	-
KAN	+	-	-	+	-	-	-

**Çizelge 3.8.** Gram Negatif Kart Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

Test	İzolatlar				
	DE001	DE003	DE004	DE006	DE008
APPA	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-
BGLU	+	+	+	-	-
ProA	-	-	-	-	-
SAC	+	+	+	+	-
ILATk	-	-	-	+	-
GlyA	-	-	-	-	-
O129R	-	-	+	-	-
ADO	-	-	+	-	+
BNAG	-	-	-	-	-
dMAL	-	+	+	-	+
LIP	+	-	-	-	-
dTAG	+	-	+	-	-
AGLU	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-
GGAA	-	-	-	-	-
PyrA	-	-	+	-	-
AGLTp	-	-	-	-	-
dMAN	+	-	+	+	-
PLE	-	+	+	-	-
dTRE	+	+	+	+	+
SUCT	-	-	-	+	-
LDC	-	-	+	-	-
IMLTa	-	-	-	-	-
IARL	-	-	-	-	-
dGLU	+	+	+	+	+
dMNE	+	+	+	+	-
TyrA	-	-	-	-	+
CIT	-	-	+	-	-
NAGA	-	-	-	-	-
IHISa	-	-	-	-	-
ELLM	-	-	-	-	-
dCEL	+	+	+	-	-
GGT	+	-	-	-	-
BXYL	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-
MNT	-	-	+	-	-
AGAL	-	-	+	-	-
CMT	-	+	-	-	-
ILATa	-	-	-	-	-
BGAL	+	-	+	+	-
OFF	-	-	+	+	-
BAIap	-	-	-	-	-
dSOR	-	+	+	-	-
5KG	-	-	+	-	-
PHOS	-	-	-	+	-
BGUR	-	-	-	-	-

**Çizelge 3.8.** Gram Negatif Kart Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları (devamı)

Testler	İzolatlar				
	DE010	DE015	DE017	DE018	DE019
APPA	+	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	+	-	-	-	-
BGLU	+	-	+	-	+
ProA	-	-	-	-	-
SAC	-	-	+	+	+
ILATk	-	-	-	-	-
GlyA	-	-	-	-	-
O129R	-	-	+	-	-
ADO	-	-	-	-	-
BNAG	+	-	-	-	-
dMAL	-	-	+	+	+
LIP	-	-	-	-	-
dTAG	-	-	-	-	-
AGLU	+	-	+	-	-
ODC	-	-	-	-	-
GGAA	-	-	-	-	-
PyrA	+	-	-	+	-
AGLTp	-	-	-	-	-
dMAN	-	-	+	+	-
PLE	-	-	-	-	+
dTRE	+	-	+	+	+
SUCT	-	-	-	-	-
LDC	-	-	-	-	-
IMLTa	-	-	-	-	-
IARL	-	-	-	-	-
dGLU	+	-	+	+	+
dMNE	-	-	-	+	+
TyrA	+	+	-	-	-
CIT	-	-	-	-	-
NAGA	-	-	-	-	-
IHISa	-	-	-	-	-
ELLM	-	-	-	-	-
dCEL	-	-	+	-	+
GGT	-	-	-	-	-
BXYL	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-
MNT	-	-	-	-	-
AGAL	+	-	+	-	-
CMT	-	-	+	+	+
ILATa	-	-	-	-	-
BGAL	+	-	-	-	-
OFF	-	-	-	-	-
BAIap	-	-	-	-	-
dSOR	-	-	-	+	-
5KG	-	-	-	-	-
PHOS	-	-	-	-	-
BGUR	-	-	-	-	-

**Çizelge 3.9.** Gram Pozitif Kart ile Tanımlanan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

<b>TESTLER</b>	<b>DE011</b>	<b>DE009</b>
AMY	-	-
APPA	-	-
LeuA	+	-
AlaA	+	-
Drib	-	-
NOVO	-	+
Drap	-	-
OPTO	-	+
PIPLC	-	-
CDEX	-	-
ProA	-	-
TyrA	-	-
ILATk	-	-
NC6.5	-	+
O129R	-	+
dXYL	-	-
AspA	-	-
BGURr	-	-
dSOR	-	-
LAC	-	+
dMAN	+	+
SAL	-	-
ADH1	+	+
BGAR	-	-
AGAL	-	-
URE	-	+
NAG	+	-
dMNE	+	-
SAC	+	+
BGAL	-	+
AMAN	-	-
PyrA	-	-
POLYB	-	-
dMAL	-	+
MBdG	-	-
dTRE	-	+
AGLU	-	-
PHOS	-	-
BGUR	-	-
dGAL	+	-
BACI	-	-
PUL	-	-
ADH2	+	-



**Çizelge 3.10.** VİTEK® 2 ile Tanımlanan İzolatların Tür İsimleri ve Yüzdeleri

<b>İzolatlar</b>	<b>Sonuç</b>	<b>Yüzde</b>	<b>İller</b>
DE001	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%86	Ordu
DE002	Tanımlanamadı	-	Ordu
DE003	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%92	Kırıkkale
DE004	<i>Klebsiella oxytoca</i>	%98	Balıkesir
DE005	Tanımlanamadı	-	Balıkesir
DE006	<i>Vibrio fluvialis</i>	%93	Ardahan
DE007	<i>Bacillus vallismortis</i>	%85	Ardahan
DE008	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%90	Balıkesir
DE009	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	%99	Artvin
DE010	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%91	Artvin
DE011	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	%91	Artvin
DE013	<i>Bacillus licheniformis</i>	%87	Edirne
DE014	Tanımlanamadı	-	Kırklareli
DE015	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	%99	Yalova
DE016	Tanımlanamadı	-	Niğde
DE017	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%93	Hakkari
DE018	<i>Escherichia coli</i>	%85	Edirne
DE019	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%96	İzmir
DE020	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	%91	Mersin
DE021	Tanımlanamadı	-	Antalya
DE022	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	%90	Ordu
DE023	Tanımlanamadı	-	Hakkari
DE024	Tanımlanamadı	-	Hakkari
DE025	<i>Bacillus megaterium</i>	%85	Ardahan
DE026	<i>Bacillus megaterium</i>	%91	Kırklareli
DE027	Tanımlanamadı	-	Mersin
DE028	<i>Bacillus thuringensis</i>	%94	Muğla
DE029	Tanımlanamadı	-	Niğde
DE030	Tanımlanamadı	-	Antalya
DE031	Tanımlanamadı	-	İzmir

### 3.7. MIS Sonuçları

*A. mellifera*'dan izole edilen 30 izolatın hücre duvarı yağ asidi analiz sonuçları Çizelge 3.11.'de verilmiştir. 30 farklı izolattan sadece 14 tanesi MIS ile tür düzeyinde tanımlanmıştır.

Çizelge 3.11.MIS Sonuçları

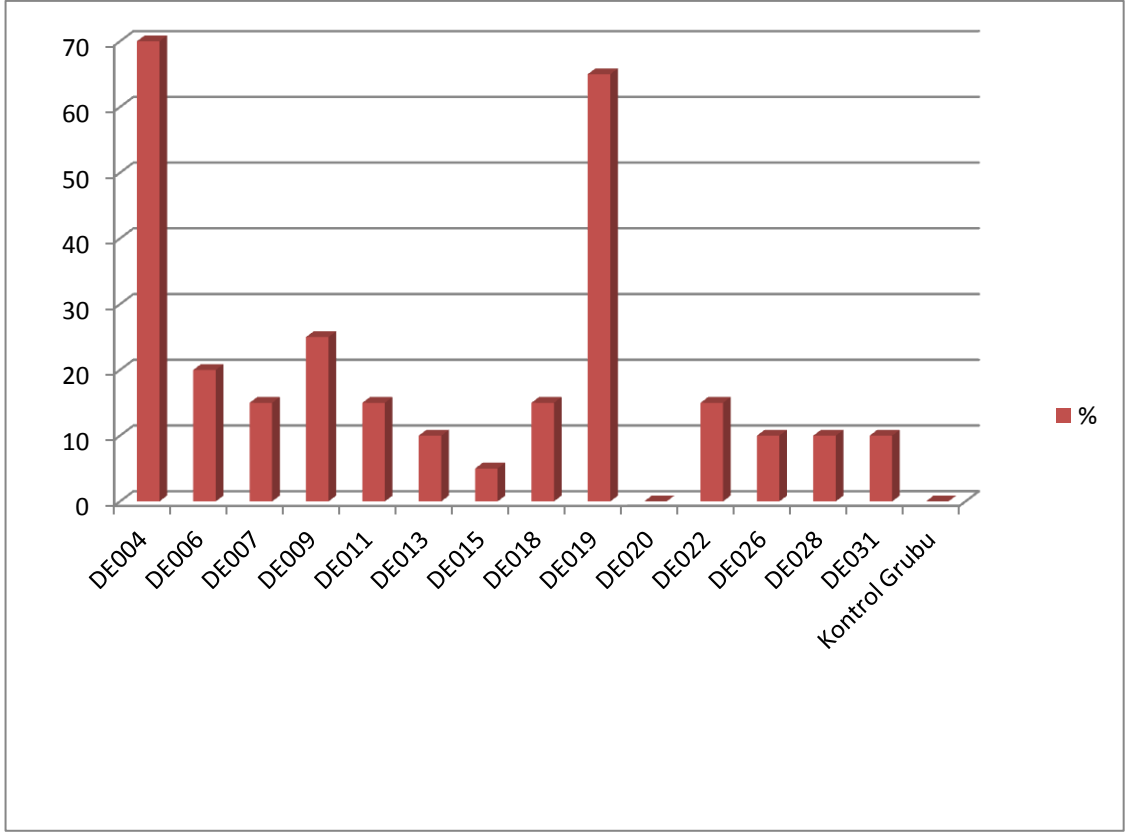
İzolatlar	Sonuç	Yüzde	İller
DE001	Tanımlanamadı	-	Ordu
DE002	<i>Paenibacillus pabuli</i>	%50	Ordu
DE003	Tanımlanamadı	-	Kırıkkale
DE004	<i>Salmonella choleraesuis houtenae</i>	%88	Balıkesir
DE005	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	%87	Balıkesir
DE006	<i>Pantoea agglomerans</i>	%91	Ardahan
DE007	Tanımlanamadı	-	Ardahan
DE008	Tanımlanamadı	-	Balıkesir
DE009	<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	%80	Artvin
DE010	Tanımlanamadı	-	Artvin
DE011	Tanımlanamadı	-	Artvin
DE013	Tanımlanamadı	-	Edirne
DE014	<i>Bacillus megaterium</i>	%49	Kırklareli
DE015	Tanımlanamadı	-	Yalova
DE016	Tanımlanamadı	-	Niğde
DE017	Tanımlanamadı	-	Hakkari
DE018	Tanımlanamadı	-	Edirne
DE019	<i>Serratia odorifera</i>	%77	İzmir
DE020	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	%57	Mersin
DE021	<i>Bacillus viscosus</i>	%87	Antalya
DE022	Tanımlanamadı	-	Ordu
DE023	<i>Bacillus megaterium</i>	%81	Hakkari
DE024	<i>Bacillus megaterium</i>	%76	Hakkari
DE025	Tanımlanamadı	-	Ardahan
DE026	<i>Bacillus megaterium</i>	%82	Kırklareli
DE027	Tanımlanamadı	-	Mersin
DE028	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	%88	Muğla
DE029	Tanımlanamadı	-	Niğde
DE030	<i>Bacillus viscosus</i>	%83	Antalya
DE031	Tanımlanamadı	-	İzmir

### 3.8. Bioassay Sonuçları

VITEK<sup>®</sup>2 ve MIS sonuçları değerlendirilip, 14 farklı tür olduğu düşünülen izolatın insektisidal etkileri incelenmiştir. Her bir izolat için 20 tane sağlıklı arı kullanılmış ve çalışma kontrol grubuyla beraber üç tekerrür şeklinde tamamlanmıştır. Bioassay çalışmasının sonuçları Abbot analizi formülüne göre hesaplanmıştır (Çizelge 3.11.). Hesaplama sonucunda DE004 ve DE019 nolu izolatların en yüksek insektisidal etkiyi gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 3.1.).

Çizelge 3.11. Abbots's Analizi Sonuçları

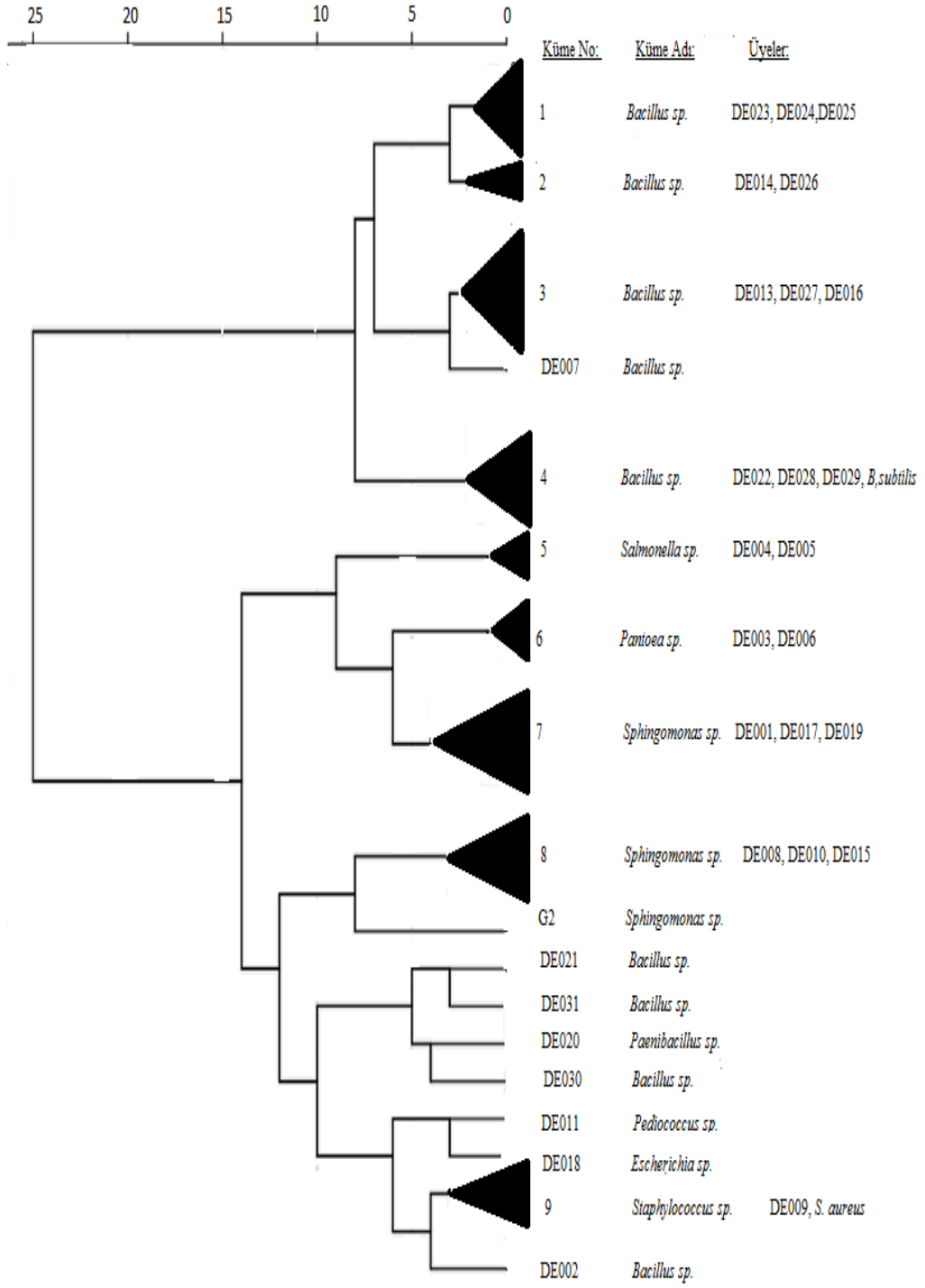
İzolatlar	Ölüm Oranı (%)	VITEK <sup>®</sup> 2	MIS	İller
DE004	%70	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Salmonella choleraesuis houtenae</i>	Balıkesir
DE006	%20	<i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	Ardahan
DE007	%15	<i>Bacillus valismortis</i>	-	Ardahan
DE009	%25	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	Artvin
DE011	%15	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	-	Artvin
DE013	%10	<i>Baillus licheniformis</i>	-	Edirne
DE015	%5	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	-	Yalova
DE018	%15	<i>Escherichia coli</i>	-	Edirne
DE019	%65	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Serratia odorifera</i>	İzmir
DE020	%0	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Mersin
DE022	%15	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	-	Ordu
DE026	%10	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	Kırklareli
DE028	%10	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	Muğla
DE031	%10	Tanımlanamadı	Tanımlanamadı	İzmir
Kontrol Grubu	%0			



Şekil 3.1. Bioassay Sonuçlarının Sütun Grafiği

### 3.9. İstatiksel Analiz Sonucu

Seçilen kırk üç test suşuna yetmiş altı birim karakterin uygulanması sonucu bütün test sonuçları (morfolojik karakterizasyon verileri hariç) formata uygun olarak olumlu sonuçlar için pozitif (+), olumsuzlar için negatif (-) olarak kodlanıp, Excel dosyasına kaydedilmiştir. PASW Statistic Data Editor 18 (SPSS) istatistik programında +/- sonuçlar 2/1 formatına çevrilmiştir. Tüm test suşlarının pozitif ve negatif sonuç verdiği bir birim karakter son veri matrisinden çıkarılmış ve hiyerarşik kümeleme işlemi için toplam yetmişbeş birim karakter kullanılmıştır. PASW Statistic Data Editor 18 (SPSS) istatistik programında kümeleme metodu olarak Ward's metod ve ölçüm için Squared Euclidean Distance kullanılarak dissimilarity matris elde edilmiştir (Şekil 3.2.). Yapılan istatiksel analiz çalışmasına VITEK®2 sonuçları dahil edilmemiştir.



Şekil 3.2. İstatiksel Sonuç Dendrogramı

**Çizelge 3.12.** İstatiksel Analiz Sonucu Oluşan Kümelere Göre İzolatların Dağılımı

<b>İzolat No:</b>	<b>Suşun Adı:</b>	<b>Kaynaklar</b>
<b>KÜME 1</b>	<b><i>Bacillus</i> sp.</b>	
DE023	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Hakkari
DE025	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Ardahan
DE024	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Hakkari
<b>KÜME 2</b>	<b><i>Bacillus</i> sp.</b>	
DE014	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Kırklareli
DE026	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Kırklareli
<b>KÜME 3</b>	<b><i>Bacillus</i> sp.</b>	
DE013	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Edirne
DE027	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Mersin
DE016	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Niğde
<b>KÜME 4</b>	<b><i>Bacillus</i> sp.</b>	
DE028	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Muğla
DE029	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Niğde
DE022	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Ordu
<i>B.subtilis</i>		NRRLB-209 (İngiltere)
<b>KÜME 5</b>	<b><i>Salmonella</i> sp.</b>	
DE004	<i>Salmonella</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Balıkesir
DE005	<i>Salmonella</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Balıkesir
<b>KÜME 6</b>	<b><i>Pantoea</i> sp.</b>	
DE003	<i>Pantoea</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Kırıkkale
DE006	<i>Pantoea</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Ardahan
<b>KÜME 7</b>	<b><i>Sphingomonas</i> sp.</b>	
DE017	<i>Sphingomonas</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Hakkari
DE019	<i>Sphingomonas</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , İzmir
DE001	<i>Sphingomonas</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Ordu
<b>KÜME 8</b>	<b><i>Sphingomonas</i> sp.</b>	
DE010	<i>Sphingomonas</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Artvin
DE015	<i>Sphingomonas</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Yalova
DE008	<i>Sphingomonas</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Balıkesir
<b>KÜME 9</b>	<b><i>Staphylococcus</i> sp.</b>	
DE009	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Artvin
<i>Staphylococcus aureus</i>		ATCC: 25923

NRRL: Northern Regional Research Laboratory (National Center for Agricultural Utilization Research), Peoria, Illinois, USA

ATCC: American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Md., USA

**Çizelge: 3.12.**İstatiksel Analiz Sonucu Oluşan Kümelere Göre İzolatların Dağılımı (devamı)

<b>Tek Üyeli Kümeler</b>	<b>Suşun Adı:</b>	<b>Kaynaklar</b>
<b>DE002</b>	<i>Paenibacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Ordu
<b>DE007</b>	<i>Bacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Ardahan
<b>DE011</b>	<i>Pediococcus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Artvin
<b>DE018</b>	<i>Escherichia</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Edirne
<b>DE020</b>	<i>Paenibacillus</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Mersin
<b>DE021</b>	<i>Arthrobacter</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Antalya
<b>DE030</b>	<i>Arthrobacter</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , Antalya
<b>DE031</b>	<i>Arthrobacter</i> sp.	<i>A. mellifera</i> , İzmir
<b>G2</b>	<i>Sphingomonas</i> sp.	Referans suş



**Çizelge 3.13.** Tanımlayıcı Test Sonuçlarına Göre Önerilen Cins ve Türler

<b>İzolatlar</b>	<b>Tamamlayıcı Test Sonuçları</b>	<b>Önerilen Cins/ Tür</b>
<b>KÜME 1: <i>Bacillus</i> sp.</b> DE023, DE024, DE025	Gram (+), spor (+), basil, hareket (-), aesculin (+), nişasta (+), ürea (+), 50°C (+), katalaz (+), kazein (+), nitrat (-)	<i>Bacillus megaterium</i>
<b>KÜME 2: <i>Bacillus</i> sp.</b> DE014, DE026	Gram (+), spor (+), basil, hareket (+), aesculin (+), nişasta (+), katalaz (+), 50°C (+), nitrat (-)	<i>Bacillus megaterium</i>
<b>KÜME 3: <i>Bacillus</i> sp.</b> DE013, DE027, DE016	Gram (+), spor (+), basil, opak (-), aesculin (+), nitrat (+), katalaz (+), kazein (+), KKT (+), 50-55°C (+)	<i>Bacillus licheniformis</i>
<b>KÜME 4: <i>Bacillus</i> sp.</b> DE028, DE029, DE022, <i>Bacillus subtilis</i>	Gram (+), basil, spor (+), KKD (+), opak (+), krem (+), hareket (+), jelatin (+), kazein (+), nişasta (+)	<i>Bacillus subtilis</i>
<b>KÜME 5: <i>Salmonella</i> sp.</b> DE004, DE005	Gram (-), basil, spor (-), parlak (+), KKD (+), Hareket (+), 44°C (+), MCA (+), indol (+), metil red (+), VP (+), sitrat (+), H <sub>2</sub> S (+), nitrat (+)	<i>Salmonella</i> sp.
<b>KÜME 6: <i>Pantoea</i> sp.</b> DE003, DE006	Gram (-), spor (-), sarı-turuncu (-), hareket (+), parlak (+), katalaz (-), nişasta (-), kazein (-), 40°C (+)	<i>Pantoea</i> sp.
<b>KÜME 7: <i>Sphingomonas</i> sp.</b> DE017, DE019, DE001	Gram (-), spor (-), basil, hareket (-), sarı-turuncu (+), katalaz (+)	<i>Sphingomonas</i> sp.
<b>KÜME 8: <i>Sphingomonas</i> sp.</b> DE010, DE015, DE008	Gram (-), spor (-), basil, hareket (-), krem (+), katalaz (+), üreaz (-), Tween 20-40-80 (-), allantoin (-)	<i>Sphingomonas</i> sp.
<b>KÜME 9: <i>Staphylococcus</i> sp.</b> DE009, <i>Staphylococcus aureus</i>	Gram (+), spor (-), coccus (+), krem, parlak, mannitol fermentasyonu (+), hareket (-), üreaz (+), β-hemoliz	<i>Staphylococcus</i> sp.

KKD: Koloni kenarı düz, KKT: Koloni Kenarı Tırtıklı, MSA: Mannitol Salt Agar, MCA: MacConkey Agar, VP: Voges Proskauer

**Çizelge 3.13.**Tanımlayıcı Test Sonuçlarına Göre Önerilen Cins ve Türler (devamı)

<b>Tek Üyeli Kümeler</b>	<b>Tanımlayıcı Test Sonuçları</b>	<b>Önerilen Cins/Tür</b>
<b>DE007</b>	Gram (+), basil, spor (+), KKT, parlak, krem, 50°C (+), nişasta (+), Tween 20-40-80 (+), katalaz (+), aesculin (+), nitrat (+)	<i>Bacillus</i> sp.
<b>G2</b>	Gram (-), bacil, spor (-), sarı (+), hareket (-)	<i>Sphingomonas</i> sp.
<b>DE011</b>	Gram (+), coccus (+), krem (+), spor (-), hareket (-), parlak, 40°C (+), nitrat (-), katalaz (+)	<i>Pediococcus</i> sp.
<b>DE018</b>	Gram (-), basil, spor (-), hareket (+), parlak, krem, 40°C (+), Metil Red (+), VP (-), indol (-), sitrat (-), üre (-), H <sub>2</sub> S (-)	<i>Escherichia</i> sp.
<b>DE002</b>	Gram (+), basil, hareket (-), spor (+), KKD, parlak, aesculin (+), katalaz (+)	<i>Bacillus</i> sp.
<b>DE020</b>	Gram (+), basil, spor (+), hareket (+), parlak, mannitol fermantasyonu (-), VP (+), aesculin (+), nitrat (+), üreaz (-), nişasta degredasyonu (+), kazein (+), L-Tyrosin (+)	<i>Paenibacillus</i> sp.
<b>DE021</b>	Gram (+), basil, spor(-), parlak, hareket (-), mannitol fermantasyonu (-), VP (-), aesculin (-), nitrat (+), üreaz (-), nişasta degredasyonu (+), kazein (-), L-Tyrosin (+)	<i>Arthrobacter</i> sp.
<b>DE030</b>	Gram (+), KKD, basil, spor (-), hareket (-), aesculin (-), nitrat (+), jelatin (-), katalaz (+), üreaz (-), nişasta (+), kazein (-), L-Tyrosin (+)	<i>Arthrobacter</i> sp

KKD: Koloni kenarı düz, KKT: Koloni Kenarı Tırtıklı, VP: Voges Proskauer

**Çizelge 3.13.**Tanımlayıcı Test Sonuçlarına Göre Önerilen Cins ve Türler (devamı)

<b>Tek Üyeli Kümeler</b>	<b>Tanımlayıcı Test Sonuçları</b>	<b>Önerilen Cins/Tür</b>
<b>DE031</b>	Gram (-), basil, spor (-), hareket (-), opak, aesculin (-), nitrat (+), jelatin (-), katalaz (+), üreaz (-), nişasta (+), kazein (-), L-Tyrosin (+)	<i>Arthrobacter</i> sp.

### **3.9.1. Küme 1: *Bacillus* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram pozitif, spor oluşturan, basil, hareketsiz, krem renkli ve opak kenarı düz koloni oluşturan DE023, DE024 ve DE025 nolu izolatlar oluşturmaktadır. Kümenin üyelerinin Mannitol Salt Agar da ürettiği, TSI Agar da H<sub>2</sub>S ürettikleri,  $\gamma$ -hemoliz yaptıkları, katalaz aktivitesinin pozitif olduğu, pH 9, pH 10'da üredikleri, aesculin, ürea ve jelatin hidrolizasyonu testlerinin pozitif olduğu kaydedilmiştir. İzolatların nişasta, Tween 20, Tween 40, Tween 80 ve kazeini degrede edebildikleri, tez çalışmasında kullanılan karbon kaynaklarının hepsini kullanabildikleri tespit edilmiştir.

### **3.9.2. Küme 2: *Bacillus* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram pozitif, spor oluşturan, basil, hareketli, krem renkli ve opak kenarı düz koloni oluşturan DE014 ve DE026 nolu izolatlardan oluşmaktadır. Kümenin üyelerinin 50°C'de, pH 9, pH 10'da üredikleri, aesculin, arbutin, jelatin ve üreaz hidrolizasyonu, katalaz, testlerine pozitif, nitrat redüksiyonu ve H<sub>2</sub>S testine negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Tween 20, Tween 40 ve nişastayı degrede edebildikleri ve tez çalışmasında kullanılan temel karbon kaynaklarının hepsini kullanabildikleri tespit edilmiştir.

### **3.9.3. Küme 3: *Bacillus* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram pozitif, spor oluşturan, basil, krem renkli olan DE013, DE027 ve DE016 nolu izolatlar oluşturmaktadır. Kümenin üyelerinin, 60°C'de, pH 9, pH 10'da üredikleri, arbutin, allantoin, aesculin, nitrat redüksiyonu, jelatin hidrolizasyonu, üreaz hidrolizasyonu, katalaz, Tween 20, Tween 40, Tween 80 degradasyonu testlerine pozitif sonuç verdiği ve tez çalışmasında kullanılan temel azot ve karbon kaynaklarının tümünü kullanabildikleri tespit edilmiştir.

### **3.9.4. Küme 4: *Bacillus* sp.**

Kümenin üyelerini DE028, DE029, DE022 nolu izolatlar ve *Bacillus subtilis* oluşturmaktadır. Kümenin üyeleri Gram pozitif, spor oluşturan, basil, koloni kenarı düz, krem renkli organizmalardır. Kümenin üyelerinin, jelatin hidrolizasyonu, nişasta degradasyonu, aesculin, arbutin, allantoin, nitrat redüksiyonu, katalaz, nişasta

degradasyonu, tezde kullanılan azot ve temel karbon kaynakları kullanabilme testlerine pozitif sonuç verdiği, ürea hidrolizasyonu ve kazein degradasyonu testine negatif sonuç verdiği gözlenmiştir.

#### **3.9.5. Küme 5: *Salmonella* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram negatif, bacil, spor oluşturmeyen, parlak, krem renkli koloni kenarı düz ve hareketli izolatlar olan DE004 ve DE005 nolu izolatlar oluşturmaktadır. İzolatların 44°C'de ve MacConkey Agarda ürettiği tespit edilmiş, aynı zamanda kümenin her iki üyesi de metil red, indol, Voges Proskauer ve sitrat testine pozitif sonuç vermiştir. Kümenin üyelerinin DNA, Tween 20 ve Tween 40 degrede edebildikleri, jelatin hidrolizasyonu, katalaz, ve üreaz testlerine pozitif sonuç verdiği, TSI agar da H<sub>2</sub>S ürettikleri, α-hemoliz gösterdikleri tespit edilmiştir. Üyelerin her ikisinde çalışmada kullanılan temel azot kaynaklarının tümünü kullanabildikleri kaydedilmiştir.

#### **3.9.6. Küme 6: *Pantoea* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram negatif, basil, spor oluşturmeyen, parlak, kenarı düz koloniler oluşturan ve hareketli organizmalar olan DE003 ve DE006 nolu izolatlardır. DE006 nolu izolatın koloni renki sarı-turuncu ve DE003 nolu izolatın koloni rengi kremdir. Kümenin her iki üyesinin de, 40°C'de üredikleri, arbutin, aesculin, nitrat redüksiyonu, katalaz testine pozitif sonuç verdiği, allantoin, indol testlerine ve nişasta, kazein ve DNA degradasyon testlerine negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Kümenin üyelerinin çalışmada kullanılan temel azot kaynaklarının tümünü kullanabildikleri kaydedilmiştir.

#### **3.9.7. Küme 7: *Sphingomonas* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram negatif, basil, spor oluşturmeyen, hareketsiz organizmalar olan DE017, DE019 ve DE001 nolu izolatlar oluşturmaktadır. Kümenin üyelerinin, 55°C'de üredikleri, çalışmada kullanılan temel azot kaynaklarının tümünü kullanabildikleri, katalaz, jelatin hidrolizasyonu ve aesculin testlerine pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir.

### **3.9.8. Küme 8: *Sphingomonas* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram negatif, basil, spor oluşturmeyan DE010, DE015 ve DE008 nolu izolatlar oluşturmaktadır. Kümenin üyeleri 40°C'de ve pH 9, pH 10'da üredikleri, aesculin, nitrat redüksiyonu ve katalaz testlerine pozitif, arbutin, H<sub>2</sub>S testlerine ve nişasta, Tween 20, Tween 40, Tween 80 ve DNA degradasyon testlerine negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir.

### **3.9.9. Küme 9: *Staphylococcus* sp.**

Kümenin üyelerini, Gram pozitif, spor oluşturmeyan, coccus, koloni kenarı düz krem renkli hareketsiz organizmalar olan DE009 ve *Staphylococcus aureus* oluşturmaktadır. Kümenin üyeleri 44°C'de ve Mannitol Salt Agarda üreyere sarı zon oluşturmaktadır. Kümenin üyesi olan DE009 nolu izolat, katalaz, allantoin, metil red, Voges Proskauer testlerine pozitif, aesculin, arbutin, jelatin hidrolizasyonu, nitrat redüksiyonu, sitrat ve indol testlerine negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca DE009 nolu izolat çalışmada kullanılan temel azot kaynaklarını tümünü kullanmıştır.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde arıcılık ekonomik açıdan insanlara katkı sağlayan önemli tarımsal faaliyet alanlarından biridir ve arılardan elde edilen bal, arı sütü, polen, arı zehri ve propolis gibi ürünler insan sağlığına olan katkıları ile sağlık sektöründe ve ürünlerin ticareti ile ülke ekonomisinde büyük öneme sahiptir (Özbek 2002; 2003). Ayrıca büyük oranda arılar tarafından sağlanan tozlaşma, doğal ortamda bitkilerin nesillerinin devamını sağlamakla beraber doğal bitki örtüsünün korunması açısından da önemlidir. Büyük öneme sahip bal arılarının yok olması insanlar ve bitkiler hatta daha birçok canlı için büyük kayıp olarak düşünülmektedir.

Bal arılarının yok olması ve veriminin düşmesi birçok arı hastalıkları ve zararlılarından kaynaklanmaktadır. Zararı en aza indirmek için arıcıların en çok görülen parazit ve hastalıkların belirti ve özellikleri ile bunlarla mücadele yöntemleri hakkında bilgi sahibi olmaları gerekmektedir. Arı hastalık ve zararlıları ile erken mücadele başlatmalı ve sağlıklı arı kolonilerine bulaşmadan önlem alınmalıdır. Bilinçsizce yapılan arıcılık hem ekonomik kayıplara neden olabilecek hem de birçok bitkinin tozlaşmasına engel olacaktır. Ancak önlem alınırken kullanılan ilaç ve dozlarına dikkat etmek gerekmektedir çünkü aşırı ilaçlama sonucu bal ve bal mumunda kalıntı oluşturabileceği ve insan sağlığına zarar verebileceği unutulmamalıdır.

Bu tezde ülkemizin birçok yöresinde arıcılık yapılmasına rağmen, arıcılığın daha yoğun olarak yapıldığı ve özellikle sınır illeri başta olmak üzere tüm ülkemizi temsil edebilecek (Türkiye'nin 14 farklı ilinden) ölü ve canlı bal arıları toplanmıştır (Çizelge 2.1.). Toplanan arılar hastalıklı ve ölü olarak ayrıldıktan sonra bakteriyel saflaştırma yöntemleri kullanılarak izolatlardan saf koloniler elde edilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan izolatlar koloni morfolojisi, koloni rengi, hücre şekli ve Gram özelliklerine göre belirlenmiş ve 30 bakteri izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. 30 izolatın Gram boyama sonucu 18 izolatın Gram pozitif, 12 izolatın Gram negatif olduğu belirlenmiş ve basit boyama sonucu 2 izolatın coccus diğer izolatların basil olduğu görülmüştür (Çizelge 3.1.).

Tez çalışması süresince bal arılarının mezofilik bakteri florası belirlenmeye çalışılmış ve izolatların insektisidal etkileri araştırılmıştır. Bal arılarının mezofilik bakteri florasını belirlemek amacıyla izolatların Gram ve morfolojik özelliklerinden yola çıkılarak günümüzde hızlı tanımlama yöntemlerinden olan VITEK® 2 ve MIS yöntemleri kullanılarak izolatlar tür düzeyinde tanımlanmaya çalışılmıştır.

Tanımlama yöntemlerinden olan VITEK® 2 sistemi floresan temelli yeni bir teknolojiyi kullanmakta ve sistemde sıvı dilüsyon bazlı Gram negatif, Gram pozitif, maya ve küf gibi organizmaların tanımlanmalarını sağlayan 64 tane biyokimyasal test içeren kuyucuklu kart kullanılmaktadır. Sistemin temeli izolatlarla referans organizmaların biyokimyasal test sonuçlarının karşılaştırılması esasına dayanır. Tez çalışmasında Gram pozitif coccus, Gram pozitif basil ve Gram negatif olarak ayrılan izolatların VITEK® 2 sistemi ile tanımlama işlemi sonucunda 19 izolat tanımlanmış ve başta *Bacillus* cinsi olmak üzere, *Sphingomonas*, *Pantoea*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Klebsiella* ve *Staphylococcus* olmak üzere birçok bakteri grubunun olduğu sonucuna varılmıştır (Çizelge 3.10.).

MIS yöntemi ise mikroorganizmaların hücre yapılarında (stoplazma ve hücrel membralarda) fosfolipid, glikolipid veya lipopolisakkarit olarak bulunan yağ asitlerini, sayısına, çeşidine ve yüzde olarak miktarlarına göre tanılayan sistemdir. Çalışmada kullanılan izolatların sadece 14 tanesi tanımlanabilmiş diğer izolatlar MIS yöntemi ile tanımlanamamıştır. Tanımlanan izolatların *Bacillus* cinsi başta olmak üzere, *Paenibacillus*, *Pantoea* ve *Staphylococcus* cinslerine ait olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3.11.).

Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında DE009 nolu izolatın cins düzeyinde aynı olduğu, DE020, DE026 ve DE028 nolu izolatların ise sonuçlarının tür düzeyinde aynı sonucu verdiği görülmüştür. Test sonuçlarının farklı sonuçlar vermesi VITEK® 2 ve MIS ile bu iki tanımlama sistemlerinin gerek tanımlama yöntemleri gerekse içerdikleri testlerden dolayı birbirlerini çoğu kez desteklemediğini görmekteyiz. Yapılan literatür çalışması sonucunda Katı (2011)'nin yaptığı bir çalışmada aynı izolata ait bir bakteri suşunun VITEK® 2, yağ asidi profilleri (MIS) yöntemi ve 16S rRNA genleri moleküler tanımlama yöntemlerine



göre çıkan sonuçları karşılaştırıldığında her birinde farklı tür bakteri tanımlandığı görülmüştür.

Sonuçların farklı olmasından yola çıkılarak izolatların tür düzeyinde tiplendirilmesinde Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabının belirlenen cinsler için önerdiği tanımlayıcı testler yapılmış ve her bir test cins düzeyinde belirlenen tip örneklerine de uygulanmıştır. Tanımlayıcı test sonuçlarının istatistiği yapılmış ve hiyerarşik kümeleme metodu olan Ward's metodu kullanılarak izolatların dendrogramı oluşturulmuştur (Şekil 3.2.). Oluşan dendrogramda ki kümelerin üyeleri Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabının göre değerlendirilmiş ve olası cins ve türler belirlenmiştir (Çizelge 3.13.).

Dendrogramda birbirinden ayrılan 1, 2, 3, 4 ve 9 nolu kümelerin üyelerinin Gram pozitif, spor oluşturan basil olması, *B. subtilis* tip örneğiyle kümelerin aynı kolda olması, Gram pozitif coccus ve Gram negatif üyelerden oluşan kümelerden ayrılmasından dolayı kümelerin *Bacillus* cinsine ait olduğu sonucuna varılmıştır.

*Bacillus* cinsine ait organizmalar spor oluşturabildikleri için doğa da birçok çevreden izole edilmektedir ancak cinsin gerçek habitatlarını toprak oluşturmaktadır. Topraktan izole edildiği gibi, bitkilerin rizosferlerinden, gıdalardan, su ve bir çok canlının sindirim sisteminden de izole edilmektedir. Bunun yanı sıra sivrisinek, kınkanatlı, kelebek ve sinek larvalarından da izole edilmişlerdir.

1 nolu kümenin üyeleri olan DE023, DE024 ve DE025 nolu izolatların test sonuçları incelendiğinde üyelerin krem renkli kenarı düz koloni oluşturan, Gram (+), hareketsiz sporlu basil organizmalar olduğu ve sadece DE025 nolu izolatin parlak, kümenin diğer üyelerinin opak koloniler oluşturduğu görülmüştür. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde küme 1'in *Bacillus* cinsine ait olduğuna karar verilmiştir. VITEK® 2 sonucuna göre; yalnızca DE025 nolu izolat %85 *Bacillus megaterium* olarak tanımlanmış DE023 ve DE024 nolu izolatlar tanımlanamamıştır. MIS sonucuna göre ise; DE023 ve DE024 nolu izolatlar sırasıyla %85 ve %76 *Bacillus megaterium* olarak tanımlanmış DE025 nolu izolat tanımlanamamıştır. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında tanımlanan *B.*

*megaterium* 'un ayırt edici testleri nitrat redüksiyonu (+/-), hareket (+/-), kazein (+), nişasta degradasyonu (+), aesculin (+) ve katalaz (+)'dır. 1 nolu küme üyelerinin Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında *B. megaterium* türü için tanımlayıcı morfolojik özelliklerinin aynı olduğu,  $\gamma$ -hemoliz yaptığı, nitrat redüksiyonu, hareket ve indol test sonuçların negatif olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında 1 nolu küme üyelerinin *B. megaterium* türüne ait olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde Alippi ve Reynaldi'nin 2006 yılında yapmış oldukları çalışmada benzer karakterler kullanılmış, *B. megaterium* için ayırt edici testlere ek olarak jelatin hidrolizasyonu (+) ve  $\beta$ -hemoliz kullanılmıştır. Patil ve ark.'nın 2013 yılında yapmış oldukları çalışmada ise ayırt edici testlere ek olarak, indol (-), katalaz parlak/opak koloni (+) olarak verilmiştir.

2 nolu kümenin üyeleri olan DE014 ve DE026 nolu izolatların test sonuçları incelendiğinde üyelerin krem renkli opak kenarı düz koloni oluşturan, Gram (+), hareketli sporlu basil organizmalar olduğu görülmüştür. Her iki organizmanın Kırklareli'nden toplanan bal arılarından izole edildiği belirlenmiştir. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde 2 nolu kümenin *Bacillus* cinsine ait olduğuna karar verilmiştir. VITEK® 2 sonucuna göre DE026 nolu izolat %91 *B. megaterium* olarak tanımlanmış, DE014 nolu izolat tanımlanamamıştır. MIS sonucuna göre ise DE014 ve DE026 nolu izolatlar sırasıyla %49 ve %82 *B. megaterium* olarak tanımlanmıştır. Kümenin üyelerinin morfolojik özelliklerinin Bergey's Manual of Determinative Bacteriology kitabının da tanımlanan *B. megaterium* türüyle aynı olduğu görülmüştür. DE014 ve DE026 nolu izolatların test sonuçları Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında ki ayırt edici testlerle karşılaştırıldığında; nitrat redüksiyonu her iki üyede, kazein degradasyonu sadece DE026 nolu üyede negatif olarak belirlenmiştir. Üyelerin test sonuçları Alippi ile Reynaldi'nin 2006 yılında, Patil ve ark.'nın 2013 yılında yapmış oldukları çalışmalarda verilen tanımlayıcı testlerle karşılaştırıldığında DE014 nolu üyenin kazein degradasyonu pozitif ve  $\beta$  hemoliz yaptığı belirlenmiş, DE026 nolu izolatın sonuçlarının ise yapılan çalışmalardaki ayırt edici testlerle aynı sonuç verdiği görülmüştür. 1 ve 2 nolu kümelerin üyelerinin *B. megaterium* türüne ait olabileceğini gösteren başka bir çalışma ise Gilliam ve Morton'un 1978 yılında yapmış oldukları

çalışmadır. Çalışmanın sonucunda yetişkin işçi arılardan *B. megaterium* türüne ait bakteri tanımlamış olmalarıdır bu nedenle Küme 2 ve küme 1'in üyelerinin *B. megaterium* olabileceği düşünülmektedir. *Bacillus* cinsi bakterilerin sınıflandırılmasında, aerobik, Gram (+), çubuk şekilli olmaları ve endospor oluşturmaları önemli yer tutmasına rağmen, türlerin ayrımının güç olduğu ve yanlış tanımlamalar yapılabileceği bildirilmiş, yüksek derecede heterojenitenin standart testler ile tanımlamayı zorlaştırdığı rapor edilmiştir (Rosovitz ve ark.1998; Priest 1993). Cinsin sahip olduğu geniş fenotipik çeşitliliğin aynı zamanda geniş bir filogenetik dağılıma neden olduğu ve gelişmiş moleküler teknikler elde edilen kriterlerin organizmanın gruplandırılmasında esas yeri teşkil ettiği belirtilmiştir (Rosovitz ve ark.1998).

3 nolu kümenin üyeleri olan DE013, DE016 ve DE027 nolu izolatların test sonuçları incelendiğinde DE013 nolu üyenin krem renkli kenarı tırtıklı parlak koloni oluşturan, Gram (+), hareketli, sporlu basil organizmalar olduğu, DE016 ve DE027 nolu üyelerin koloni kenarı düz opak koloniler oluşturduğu görülmüştür ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabının da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde, kümenin üyelerinin *Bacillus* cinsine ait olduğu belirlenmiştir. VITEK® 2 sonucuna göre DE013 nolu üye %87 *B. licheniformis* olarak tanımlanmış olup diğer üyeler tanımlanamamıştır. MIS yöntemiyle ise 3 nolu kümenin hiçbir üyesi tanımlanamamıştır. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabın da tanımlanmış olan *B. licheniformis*'in ayırt edici testleri nişasta degradasyonu (+), nitrat redüksiyonu (+), katalaz (+), kazein (-), L-Tyrosin (-), opak koloni ve 50-55°C'de üreme (+)'dir. 2013 yılında Ghani ve ark.'nın ve 2006 yılında Alippi ve Reynaldi'nin yapmış oldukları çalışmada; Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabından farklı olarak tür için verilen tanımlayıcı testler jelatin hidrolizasyonu (+), sitrat (+) ve  $\beta$ -hemoliz olarak verilmiştir. Çalışmada DE013 nolu üye için yapılan tanımlayıcı test sonuçları incelendiğinde sitrat, nişasta degradasyonu negatif olduğu ve izolatın 60°C'ye kadar ürettiği görülmüştür. Yapılacak olan "AR-1357 numaralı Bal Arılarından (*Apis mellifera*) İzole Edilmiş Çeşitli Bakterilerin 16S rRNA Gen Bölgelerinin Bazı Fenotipik Karakterlerinin Belirlenmesi " isimli projeden elde edilecek moleküler veriler ışığında 3 nolu küme üyelerinin tür tanımlaması yapılacağı düşünülmektedir.

4 nolu kümenin üyeleri olan DE022, DE028, DE029 nolu izolatların test sonuçları incelendiğinde Gram (+), sporlu basil, hareketli, krem renkli opak kenarı tırtıklı koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüş ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabın da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde ve üyelerin *B. subtilis* ile de aynı kümede bulunmasından dolayı üyelerin *Bacillus* cinsine ait olduğu sonucuna varılmıştır. VITEK® 2 sonucuna göre DE028 nolu üye %94 *B. thurigenensis*, DE022 nolu üye %90 *Brevibacillus laterasporus* olarak tanımlanmış ve DE029 nolu üye tanımlanamamıştır. MIS sonucuna göre ise DE028 nolu üye %88 *B. thurigenensis israelensis* olarak tanımlanmış, DE022 ve DE029 nolu üyeler ise tanımlanamamıştır. VITEK® 2 sonucundan yola çıkarak tanımlanan türleri Bergey'e göre değerlendirdiğimizde, DE028 nolu üyenin Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında tanımlanmış türün ayırt edici testleri hareket (+/-), mannitol fermentasyonu (-), nitrat redüksiyonu (+), 40°C'de üreme (+) ve L-Tyrosin degradesyonu (+/-)'dir. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında verilen tanımlayıcı test sonuçları, çalışmada yapılan tanımlayıcı testlerle karşılaştırıldığında mannitol fermentasyonu (+) ve L-Tyrosin degradesyonu (-) sonuçları farklı bulunmuştur. DE028 nolu izolatın AR-1357 nolu proje sonucunda elde edilen moleküler veriler ışığında türünün belirleneceği sonucuna varılmıştır. VITEK® 2 ile %90 *Brevibacillus laterasporus* olarak tanımlanan DE022 nolu üyenin Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında tanımlayıcı testleri hareket (+), mannitol fermentasyonu (+), nişasta degradesyonu (-), katalaz (+), VP (-), indol (+/-), nitrat redüksiyonu (+), kazein (+) ve L-Tyrosin (+)'dir. Alippi ve Reynaldi'nin 2006 yılında yapmış oldukları çalışma da tür için tanımlayıcı test jelatin hidrolizasyonu (+)'dir. Çalışmada yapılan tamamlayıcı testlerin sonuçları karşılaştırıldığında, hareket (+), mannitol (-), nişasta degradesyonu (+), VP (+) ve indol (-), kazein (-) olarak belirlenmiştir. Ancak Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında da belirtildiği üzere *B. laterasporus* türü sudan, topraktan ve ölü bal arı larvalarından izole edilmiştir ve *Brevibacillus laterasporus*'un bal arısının doğal florasında bulunduğunu ve yetişkin işçi arılarının sindirim sisteminden de izole edildiği bilinmektedir (Gilliam ve Valentine'in 1976). Ayrıca *Brevibacillus laterasporus* hastalıklı bal arı larvalarından da izole edilmiş ve probiyotik veya

sekonder istilacı olabileceği sonucuna varılmıştır (Bailey 1963, Alippi 2002). Bu sonuç DE022 nolu izolatin *Brevibacillus laterasporus* olabileceğini düşündürmekte fakat test sonuçlarında ki farklılıklardan dolayı AR-1357 nolu proje sonunda moleküler sonuçlar göz önüne alınarak küme 4'ün üyeleri tanımlanabileceği düşünülmektedir.

Tek üyeli kümeler içinde olan DE002 ve DE020 nolu izolatlara VITEK® 2 ve MIS sonucundan yola çıkılarak, Gram (+), sporlu basil ancak 40°C'ye kadar üreyebildikleri ve %10 NaCl'de üreyemedikleri için *Paenibacillus* cinsine, DE007 nolu izolatin *Bacillus* cinsine, DE021, DE030 ve DE031 nolu izolatlara Gram (+/-), sporsuz basil olduğundan dolayı *Arthrobacter* cinsine ait olacağı sonucuna varılmıştır.

Tek üyeli küme olan DE007 nolu izolatin test sonuçları incelendiğinde Gram (+), sporlu basil, hareketli, krem renkli parlak kenarı tırtıklı koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüş ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabın da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde üyelerin *Bacillus* cinsine ait olduğu sonucuna varılmıştır. DE007 nolu izolat VITEK® 2 ile %85 *Bacillus vallismortis* olarak tanımlanmıştır. MIS yöntemiyle ise tanımlanamamıştır. 2009 yılında Roneey ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada *B. vallismortis*'in, *B. subtilis* ile yakın akraba olabileceği rapor edilmiştir. *B. vallismortis* 1996 yılında Roberts ve ark. tarafından tanımlanmış ve tanımlayıcı testleri Tween 20 (+), Tween 40 (+) ve DNA degradesyonu (+) olarak belirlenmiştir. Tez süresince yapılan testlerin sonuçları tanımlayıcı testlerle karşılaştırıldığında DNA degradesyonu (-) olarak görülmüş ve tür düzeyinde tanımlama yapılamamıştır. Tür düzeyinde tanımlamasının yapılamamasının bir nedeni olarak *B. subtilis* ile yakın akraba olması düşünülebilir. Bu nedenle izolatin hangi türe ait olduğuna AR-1357 nolu projeden elde edilen veriler sonucunda karar verilmesi sonucuna varılmıştır.

Tek üyeli küme olan DE002 nolu izolatin test sonuçları incelendiğinde Gram (+), sporlu basil, hareketsiz, krem renkli parlak kenarı düz koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüş ve Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2011) kitabın da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde üyelerin *Paenibacillus* cinsine ait olduğu sonucuna varılmıştır. Fakat *Bacillus* cinsi ile yakın akraba olan

*Paenibacillus* cinsine ait türler Ash ve ark.'nın 1993 yılında yapmış oldukları 16S rRNA gen bölgesi çalışmasıyla *Bacillus* cinsinden ayrılmış ve *Paenibacillus* cinsine dahil edilmiştir. Ash ve ark.'nın 1993 yılında yapmış olduğu çalışmada *Paenibacillus* cinsi için tanımlayıcı testler hareket (+), Gram (+), spor (+), katalaz (+), üreaz (-), H<sub>2</sub>S (-), sitrat (-), ve %10'luk NaCl (-)'dir. DE002 nolu izolat MIS yöntemi ile %50 *Paenibacillus papuli* olarak tanımlanmıştır. VITEK®2 sonucuna göre tanımlanamamıştır. MIS sonucundan yola çıkarak tanımlanan türün Shida ve ark.'nın 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada tanımlayıcı testleri hareket (+), mannitol fermantasyonu (+), nitrat redüksiyonu (+/-), 40°C'de üreme (+), katalaz (+), VP (+/-), Nişasta degradasyonu (+), indol (-), kazein degradasyonu (+/-), aesculin (-), sitrat (-), üreaz (-) ve jelatin hidrolizasyonu (+/-) olarak belirlenmiştir. Shida ve ark.'nın 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada verilen tanımlayıcı test sonuçlarıyla tez çalışmasında yapılan tanımlayıcı testlerin sonuçları ile karşılaştırıldığında, hareket (-), VP (+), aesculin (+), nitrat (-), jelatin hidrolizasyonu (-) ve kazein (-) sonuçları farklı olduğu belirlenmiştir. Diğer test sonuçlarının benzer olduğu görülmüş fakat tür düzeyinde tanımlama yapılamamıştır. Tek üyeli küme olan DE020 nolu izolatın test sonuçları incelendiğinde Gram (+), sporlu basil, hareketli, krem renkli parlak kenarı düz koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüş ve Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2011) kitabın da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde üyelerin *Paenibacillus* cinsine ait olduğu sonucuna varılmıştır. İzolat VITEK® 2 ile %91 *P. polymyxa* olarak tanımlanmıştır. MIS yöntemiyle ise %57 *P. polymyxa* olarak tanımlanmıştır. Shida ve ark.'nın 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada *P. polymyxa* için tanımlayıcı testler katalaz (+), nitrat redüksiyonu (+), indol (-), kazein degradasyonu (+), nişasta degradasyonu (+), sitrat (-), 50°C'de üreme (-) ve mannitol fermantasyonu (+)'dur. Tez çalışmasında yapılan tanımlayıcı test sonuçlarıyla karşılaştırıldığında sadece mannitol fermantasyonu (-) sonucunun farklı olduğu ve tanımlanan cinsin test sonuçlarıyla karşılaştırıldığında %10'luk NaCl (-), üreaz (-) ve H<sub>2</sub>S testi (-) sonuçlarının ise aynı olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak izolatın *P. paenibacillus* türüne ait olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada bal arılarından izole edilen 30 izolatın, 11 tanesinin *Bacillus* cinsine ait olduğu görülmüş ve bal arılarından en çok *Bacillus* cinsine ait izolatlar elde

edilmesinin sonucu olarak bal arılarının doğal çevresinde *Bacillus* cinsinin yaygın olarak bulunduğu sonucuna varılmıştır (Gilliam 1987, 1997, Snowdon ve Cliver 1996). Balda, bal arılarının sindirim sisteminde, bal arıları larvalarında ve bal arılarında en yaygın olarak bulunan ve izole edilen cinsin *Bacillus* olduğu rapor edilmiştir. (Smolska-Szymczewska 1989, Rada ve ark.1997, Kačániová ve ark. 2004, Piccini ve ark. 2004, Iurlina ve Fritz 2005, Mohr ve Tebbe 2006, Evans ve Armstrong 2006, Mohr ve Tebbe 2007, Babendreier ve ark. 2007, López ve Alippi 2007, Kačániová ve ark. 2009).Loncaric ve ark.'nın 2011 yılında *A. m. carnica* ile yapmış oldukları çalışmada *Bacillus* cinsine ait organizmalar izole ettikleri ve başka bir çalışma olan Andere ve ark.'nın 2011 yılında bal arılarının semeniyle yapmış oldukları çalışmada bal arılarının semeninden *Bacillus* cinsine ait organizmalar izole ettikleri görülmüştür.

Bal arısı larvalarında Avrupa yavru çürüklüğü hastalığa neden olan *Paenibacillus larvae* türüne karşı yapılan çalışmalarda, larvalardan izole edilen *Bacillus* cinsi organizmaların inhibitör etkisinin olduğu görülmüştür (Evans ve Armstrong 2005, Alippi ve Reynaldi 2006, Sabate' ve ark. 2009).

Tek üyeli kümelerden olan DE021, DE030 ve DE031nolu izolatların test sonuçları incelendiğinde Gram (+/-), sporsuz basil, hareket (+/-), krem renkli parlak kenarı düz koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüştür. Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology (2012) kitabın da tanımlanan cinsine göre değerlendirildiğinde üyelerin *Arthrobacter* cinsine ait olduğu sonucuna varılmıştır. İzolatlar VITEK® 2 sonucuna göre DE031 nolu izolat %94 *B. smithii* olarak tanımlanmış, diğer izolatlar ise tanımlanamamıştır. MIS yöntemiyle ise, DE021 nolu izolat %87 *B. viscosus*, DE030 nolu izolat %83 *B. viscosus*, DE031 nolu izolat %72 *B. megaterium* olarak tanımlanmıştır. Conn'un 1928 yılında yapmış olduğu çalışma da, topraktan izole ettiği *Arthrobacter* cinsine ait izolatların gelişme fazındayken Gram (-) basil, durağan fazdayken ise Gram (+) coccus oldukları rapor edilmiş ve literatürde cinsin üyelerinin pleomorfik organizmalar olduğu belirtilmiştir. Yapılan literatür çalışması sonucu daha önce *Bacillus* cinsine ait olan organizmalar, sporlarının olmamasından ve Gram değişken olmasından dolayı *Arthrobacter* cinsine dahil edilmiştir. Keddie ve Jones 1981 yılında yayınlamış oldukları *The Prokaryotes* kitabının birinci baskısında *Arthrobacter* cinsinin heterojen olduğu sonucuna varılmış, aynı zamanda

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2012) kitabında tanımlanan cinsin, *Brevibacterium* ve *Micrococcus* gibi cinslerle yakın ilişkili olmasından dolayı cinsin sadece fenotipik karakterlerle ayrımın zor olduğu ve yanlış tanımlamaların sık görüldüğü heterojen bir cins olduğu belirtilmiştir. 16S rRNA gen analizi ve dizi benzerlikleri cinsin tanımlanmasında yeterli görülmemekte ve polifazik çalışma önerilmektedir. *Arthrobacter* cinsi organizmaların 16S rRNA gen analiz sonuçları hücre duvarının, peptidoglukan tipi, quinone tipi ve poliamin analizleriyle desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

5 nolu kümenin üyeleri olan DE004 ve DE005 nolu izolatların test sonuçları incelendiğinde Gram (-), sporsuz basil, hareketli, krem renkli parlak kenarı düz koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüştür ve her iki izolat Balıkesir ilinden toplanan bal arılarından izole edilmiştir. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabın da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde *Salmonella* cinsine ait olabileceği düşünülmektedir. VITEK® 2 ile DE004 nolu izolat %98 *Klebsiella oxytoca* olarak tanımlanmış, DE005 nolu izolat tanımlanamamıştır. MIS yöntemiyle ise DE004 nolu izolat %88 *Salmonella choleraesuis houtenae* ve DE005 nolu izolat %87 *Kluyvera cryocrescens* olarak tanımlanmıştır. *S. choleraesuis houtenae* olarak tanımlanan izolatın Su ve ark.'nın 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada *S. enterica houtenae* olarak değiştiği rapor edilmiştir. VITEK® 2 sonucuna göre *K. oxytoca* olarak tanımlanan DE004 nolu izolatın cins düzeyinde "The Prokaryotes" (2006) kitabına göre tanımlayıcı testleri hareket (-), VP (+), sitrat (-), indol (+), üreaz (+), nitrat redüksiyonu (+), L-tyrosin (-), alanin (+), rhamnoz (+)'dir. Çalışmada yapılan tanımlayıcı testlerle karşılaştırıldığında hareket (+), sitrat (+) olarak belirlenmiş ve test sonuçlarının farklı olduğu görülmüştür. Aynı zamanda "The Prokaryotes"(2006) kitabında *Klebsiella* cinsine ait bütün organizmaların hareketsiz olduğu belirtilmiştir. 2001 yılında Brisse ve Verhoefin yapmış oldukları çalışmada elde ettikleri izolatların biyokimyasal analiz için VITEK apparatus (BioMe'rieux)'us kullandıkları görülmüş ve veri tabanında olmayan *K. planticola* ve *K. terrigena*'nın *K. pneumoniae* ya da *K. oxytoca* olarak yanlış tanımlanabileceği sonucuna varılmıştır. MIS yöntemi ile %88 *S. choleraesuis houtenae* olarak tanımlanan DE004 nolu izolat tür düzeyinde Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında verilen ayır edici testleri



hareket (+), katalaz (+), nitrat (+), metil red (+), sitrat (+), indol (+) ve VP (-)'dir. Türün bazı alt türlerinde H<sub>2</sub>S (+) olabileceği belirlenmiştir. VP (+) ve üreaz (+) sonuçları farklı bulunmuştur. Bu sonuçtan yola çıkılarak izolatın *Salmonella* cinsine ait olacağı düşünülmektedir. MIS yöntemiyle *K. cryocrescens* olarak tanımlanan DE005 nolu izolatın Farmer ve ark.'nın 1981 yılında yapmış oldukları çalışmada türün tanımlayıcı test sonuçları, indol (+), metil red (+), VP (-), sitrat (+), H<sub>2</sub>S üretimi (-), üreaz hidrolizasyonu (-), aesculin (+), nitrat redüksiyonu (+) olarak belirlenmiştir. Tez çalışmasında yapılan test sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, VP (+) ve üreaz hidrolizasyonunun (+) olduğu görülmüştür. Bendel'in 2004 yılında yapmış olduğu çalışmada *Salmonella* cinsi organizmalar izole ettiği görülmüş ve bu sonuçtan da yola çıkarak kümenin *Salmonella* cinsine ait olabileceği düşünülmektedir.

6 nolu kümenin üyeleri olan DE003 ve DE006 nolu izolatların test sonuçları incelendiğinde, DE003 nolu izolatın Gram (-), sporsuz basil, hareketli, krem renkli parlak kenarı düz koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüştür. DE006 nolu izolatın Gram (-), sporsuz basil, hareketli, sarı-turuncu parlak kenarı düz koloniler oluşturan organizmalar olduğu belirlenmiştir. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabın da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde *Pantoea* cinsine daha yakın olabileceği sonucuna varılmıştır. Beijerinck 1988 yılında cinsi *Enterobacter* olarak isimlendirmiş, fakat Gavini ve ark.'nın 1989 yılında yapmış oldukları çalışma sonucunda *Pantoea* olarak değiştirilmiştir. VITEK ® 2 sonucuna göre DE003 nolu izolat %92 *Sphingomonas paucimobilis*, DE006 nolu izolat %93 *Vibrio fluvialis* olarak tanımlanmıştır. MIS yöntemiyle ise DE003 nolu izolat tanımlanamamış, DE006 nolu izolat ise %91 *Pantoea agglomerans* olarak tanımlanmıştır. 2013 yılında Mardaneh ve Dallal'nın yapmış oldukları çalışmada *P. agglomerans* türünü Gram (-), sporsuz basil, hareket (+) ve katalaz (+) olarak tanımlamışlardır. Tez çalışmasında yapılan tanımlayıcı test sonuçlarıyla karşılaştırıldığında her iki izolatında benzer sonuç verdiği belirlenmiştir. 2007 yılında Kılıç ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada ise *S. paucimobilis*' in hareket (+) sarı pigmentli organizmalar olduğunu kaydetmişlerdir, ancak kümenin DE003 nolu üyesi kremli renkli organizmadır. Bu sonuçtan yola çıkılarak yapılan literatür çalışması sonucunda 2000 yılında Sung ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada Vitek AutoMicrobic Sistemle yapılan tanımlama sonucunda yanlış tanımlanan türler

arasında *S. paucimobilis*'in de olduğunu rapor etmişlerdir. Loncaric'in 2009 yılında yapmış olduğu çalışmada *P. agglomerans* türü bakterilerin bal arılarının çevresinde yaygın olarak bulunduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuçtan yola çıkılarak izolatın *P. agglomerans* türü olabileceği düşünülmektedir.

7 nolu kümenin üyeleri olan DE001, DE017 ve DE019 nolu izolatın test sonuçları incelendiğinde, her bir izolatın Gram (-), sporsuz basil olduğu belirlenmiştir. DE001 ve DE017 nolu izolatın koloni kenarı düz ve hareket (-), DE017 nolu izolatın sarı-turuncu parlak koloni, diğer izolatların kolonilerinin beyaz ve opak, DE019 nolu izolatın koloni kenarının tırtıklı ve hareket (-) olduğu gözlenmiştir. VITEK® 2 sonucuna göre DE001, DE017 ve DE019 nolu izolatlar sırasıyla %86, %93 ve %96 *Sphingomonas paucimobilis* olarak tanımlanmıştır. MIS yöntemiyle ise yalnız DE019 nolu izolat %77 *Serratia odorifera* olarak tanımlanmış, diğer iki izolat tanımlanamamıştır. Yabuuchi ve ark.'nın 1990 yılında yapmış oldukları çalışmada, Holmes'in 1977 yılında *Pseudomonas* cinsi olarak tanımladığı organizmaların ayrı bir cins olarak *Sphingomonas* cinsine ait olduğunu rapor edilmiştir. VITEK® 2 sonucundan da yola çıkarak, Yabuuchi'nin (1990) tanımlamış olduğu *S. paucimobilis* türünün ayırt edici testleri, hareket (+/-), Gram (-), spor (-), sarı-turuncu koloni (+/-), beyaz koloni (+/-) ve katalaz (+)'dir. İzolatların test sonuçları Yabuuchi'nin 1990 yılında yapmış olduğu çalışmadaki sonuçlarla karşılaştırıldığında *S. paucimobilis* olarak tanımlanan izolatların benzer sonuç verdiği görülmüştür. Takeuchi ve ark.'nın 2001 yılında yapmış oldukları çalışmada *Sphingomonas* cinsinin ayırt edici testleri, indol (-), üreaz (-), jelatin hidrolizasyonu (-), aesculin (+) ve nitrat redüksiyonu (+)'dir. Kümenin üyelerinin test sonuçları Takeuchi ve ark.'nın (2001) yapmış oldukları çalışmadaki sonuçlarla karşılaştırıldığında, DE001 nolu izolatın üreaz (+), nitrat redüksiyonu (-), DE017 ve DE019 nolu izolatın nitrat redüksiyonu (-) olarak belirlenmiş ve tanımlanan cinsten farklı bulunmuştur. Ayrıca Sung ve ark.'nın (2000) yapmış oldukları çalışmada Vitek AutoMicrobic sistemle yapılan tanımlama sonucunda en fazla yanlış tanımlanan organizmanın *S. paucimobilis* olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurularak sistematığı zor olan *Sphingomonas* cinsi gibi organizmaların tanımlanmasının polifazik çalışma sonunda mümkün olacağı düşünülmekte ve tür düzeyin de tanımlamanın AR-1357 nolu projeden elde edilen veriler sonucunda yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

8 nolu kümenin üyeleri DE008, DE010 ve DE015 nolu izolatlar olarak diğer kümelerden ayrılmıştır. İzolatların test sonuçları incelendiğinde, DE008 ve DE015 nolu izolatların Gram (-), sporsuz basil, hareket (+) ve krem koloni kenarı düz parlak koloniler, DE010 nolu izolatin ise hareket (-), krem koloni kenarı tırtıklı opak koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Yabuuchi ve ark.'nın 1990 yılında yapmış oldukları çalışmada cins belirlemiş oldukları ayırt edici testlerden yola çıkarak izolatların *Sphingomonas* cinsine ait olabileceği düşünülmektedir. VITEK® 2 sonucuna göre DE008 nolu izolat %90 *S. paucimobilis*, DE010 nolu izolat %91 *S. paucimobilis*, DE015 nolu izolat %99 *Acinetobacter lwoffii* olarak tanımlanmıştır. MIS yöntemiyle ise hiç bir izolat tanımlanamamıştır. Constantiniu ve ark.'nın 2004 yılında yapmış oldukları çalışmada *A. lwoffii* olarak tanımlanan cinsin test sonuçları, katalaz (+), hareket (-), MacConkey Agarda üreme (+), aesculin (-), H<sub>2</sub>S (-), sitrat (+), nitrat redüksiyonu (-), metil red (-) ve VP (-) olarak belirlenmiştir. Çalışma da VITEK® 2 sonucuna göre *A. lwoffii* olarak tanımlanan DE015 nolu izolatin test sonuçları Constantiniu ve ark.'nın 2004 yılında yapmış oldukları çalışmanın sonucu ile karşılaştırıldığında, katalaz (-), hareket (+), MacConkey Agarda üreme (-), aesculin (+), sitrat (-), nitrat redüksiyonu (+), metil red (+) ve VP (+) testlerinin farklı sonuç verdiği görülmüştür. İzolatların test sonuçları Yabuuchi ve ark.(1990)'na göre değerlendirildiğinde, DE008 nolu izolatin test sonuçları hareket (+), indol (-), nitrat redüksiyonu (+), üreaz (-) ve aesculin (+), DE010 nolu izolatin test sonuçları, hareket (-), indol (-), aesculin (+), katalaz (+), jelatin hidrolizasyonu (+), nitrat redüksiyonu (+) ve üreaz (-), DE015 nolu izolatin, hareket (+), indol (-), aesculin (+), katalaz (+), nitrat redüksiyonu (+) ve üreaz (-) olarak belirlenmiş ve izolatların *S. paucimobilis*'e daha yakın olduğu sonucuna varılmıştır.

9 nolu kümenin üyesi olan DE009 nolu izolatin ve *Staphylococcus aureus*'un test sonuçları incelendiğinde Gram (+), coccus, hareket (-), krem kenarı düz koloni oluşturan organizmalar olduğu görülmüş ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabın da tanımlanan cinse göre değerlendirildiğinde DE009 nolu izolatin *Staphylococcus* cinsine ait olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca izolatin cins düzeyinde tip örneği olarak belirlenen *S. aureus* ile aynı kümede olması da *Staphylococcus* cinsine ait olabileceğinin göstergesi olarak düşünülmektedir. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında tanımlanan

*Staphylococcus* cinsinin ayırt edici testleri hareket (-), katalaz (+), nitrat redüksiyonu (-), %15'lik NaCl'de üreme (+), Tween 20 (+) ve Mannitol Salt Agarda sarı zon oluşturma (+)'dir. Tez çalışmasında yapılan test sonuçlarının cins düzeyinde değerlendirildiğinde aynı olduğu belirlenmiştir. VITEK®2 sonucuna göre DE009 nolu izolat %99 *S. saprophyticus* olarak tanımlanmıştır. MIS sonucuna göre ise %80 *S. cohnii cohnii* olarak tanımlanmıştır. Her iki yöntemle de izolat *Staphylococcus* cinse ait organizma olarak tanımlanmıştır. VITEK® 2 sonucuna göre değerlendirme yapıldığında, Hajek ve ark.'nın 1996 yılında yapmış oldukları çalışma da tanımlanan tür için ayırt edici testleri hareket (-), nitrat redüksiyonu (-), aesculin (-), üreaz hidrolizasyonu (+), arabinoz (-) ve ksiloz (-)'dir. Tez çalışmasında yapılan test sonuçlarında arabinoz (+) ve ksiloz (+) olarak belirlenmiş ve farklı olduğu görülmüştür. MIS sonucuna göre değerlendirme yapıldığında ise, Kloos ve Wolfshohl'un 1991 yılında yapmış oldukları çalışmada tanımlanan tür için ayırt edici testler hareket (-), katalaz (+), üreaz hidrolizasyonu (-), aesculin (-) ve nitrat redüksiyonu (-)'dir. İzolatın test sonuçları ile karşılaştırıldığında üreaz hidrolizasyonu (+) olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak izolatın yalnız cins düzeyinde tanımlanması yapılmış ve *Staphylococcus* cinsine ait olacağı sonucuna varılmıştır. Yapılan literatür çalışması sonucunda balarlarıyla yapılan çalışmalar sonucunda *Staphylococcus* cinsine ait izolasyonların olduğu sonucu elde edilmiştir (Rada ve ark. 1997, Bendel 2004, Andere ve ark. 2011). Kacaniova ve ark.'nın 2004 yılında bal arılarıyla yapmış oldukları çalışmada ise *Staphylococcus* cinsine ait bakteri izole etmedikleri görülmüştür. Ancak yapılan diğer çalışmalar kümenin *Staphylococcus* cinsine ait olduğunu desteklenmiştir.

Tek üyeli küme olan DE011 nolu izolatın test sonuçları incelendiğinde, Gram (+), coccus, hareket (-), kenarı düz koloni oluşturan organizma olduğu görülmüş ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında verilen cinse göre değerlendirildiğinde *Pediococcus* cinsine ait olduğu düşünülmüştür. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında cinsin ayırt edici testi, katalaz sonucunun yalancı pozitiflik vermesi olarak belirtilmiştir. VITEK® 2 sonucu %91 *Pediococcus pentosaceus* olarak tanımlanmıştır. MIS yöntemiyle ise tanımlanamamıştır. VITEK® 2 sonucundan yola çıkılarak yapılan literatür çalışması sonucu cinsin bir laktik asit bakterisi olduğu rapor edilmiştir (Dobson ve ark. 2002).

Tanasupawat ve ark.'nın 1993 yılında yapmış oldukları çalışmada türün ayırt edici testleri, katalaz (-), aesculin (+), nitrat redüksiyonu (-), jelatin hidrolizasyonu (-) ve 40°C'de üreme (+)'dir. Tez çalışmasında yapıla test sonuçlarıyla karşılaştırıldığında aesculin (-),44°C'de üreme (+) ve katalaz (+) olduğu görülmüş ve bu sonuçlar farklı bulunmuştur. Ancak katalaz aktivitesinin yavaş gerçekleştiği bilinmekete ve izolatin katalaz sonucun yalancı pozitiflik olabileceği sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmalarla benzer sonuçların elde edilmesinde yola çıkarak izolatin *P. pentosaceus* türüne ait olabileceği düşünülmektedir.

Tek üyeli küme olan DE018 nolu izolatin test sonuçları incelendiğinde, Gram (-), sporsuz basil, hareket (+), krem kenarı düz koloniler oluşturan organizmalar olduğu görülmüştür. VITEK® 2 sonucuna göre izolat %85 *Esherichia coli* olarak tanımlanmıştır. MIS yöntemiyle ise tanımlanamamıştır. VITEK® 2 sonucundan yola çıkılarak Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) kitabında türün ayırt edici testleri katalaz (+), aesculin (+/-), laktoz (+/-), mannitol (+), ksiloz (+/-), metil red (+), VP (-), indol (+), üreaz hidrolizasyonu (-), sitrat (-) ve H<sub>2</sub>S (-)'dir. Yapılan test sonuçları ile karşılaştırıldığında, katalaz (-), aesculin (-), laktoz (+), ksiloz (+), metil red (+), indol (-), VP (-), sitrat (-) olarak bulunmuş ve türe özgü olan testlerin birçoğunun farklı olduğu görülmüştür. İzolatin tür düzeyinde tanımlaması yapılamamış ve AR-1357 nolu projeden elde edilen veriler ışığında izolatin tür düzeyinde tanımlamasının yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızın diğer bir amacı ise; elde edilen izolatların içerisinde son zamanlarda toplu arı ölümlerine sebep veren bazı arı hastalılarının sebebi olan bakterilerin olup olmadığını bioassay çalışmasıyla belirlemektir. 30 izolattan, VITEK® 2 ve MIS sonucundan yola çıkılarak farklı tür olabileceği düşünülen 14 farklı izolatin bal arıları üzerinde insektisidal etkilerinin olup olmadığı test edilmiştir (Çizelge 3.11.). Yaptığımız bioassay testlerinde elde edilen sonuca göre, DE013, DE026, DE028 ve DE031 nolu izolatların insektisidal etkileri %10, DE007, DE011 ve DE022 nolu izolatların insektisidal etkileri %15, DE009 nolu izolatin izolatların insektisidal etkisi %25, DE006 nolu izolatin insektisidal etkisi %20, DE015 nolu izolatin izolatların insektisidal etkisi %5, DE019 nolu izolatin izolatların insektisidal etkisi %65 ve DE004 nolu izolatin insektisidal etkisi %70 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar

değerlendirildiğinde ise en fazla insektisidal etkiye DE004 ve DE019 nolu izolatların sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca DE019 nolu izolatın VITEK® 2 sonucunda oksidaz pozitif olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise ölüm oranı %0 olarak bulunmuştur. DE004 nolu izolat Balıkesir'den, DE019 nolu izolat ise İzmir'den izole edilmiştir ve her iki ilinde birbirine sınıırı bulunduğu görülmüştür.

İzole edilen birçok suşun birbiriyle karşılaştırılması, suşların tür düzeyinde ayrımının zor olması, bazı suşların pleomorfik özelliğinin olması gibi nedenlerden dolayı suşlar arasında ayırım geliştirmek ve suşların teşhisinin doğruluğunu ispatlamak zorunluluğu gündeme gelmiştir. Ancak, sınıflandırma için geliştirilen morfolojik ve biyokimyasal testler ve fenotipik özellikler suşların ayrımı için yeterli olmadığından değişik yöntemler geliştirilmiştir (Bağcı ve ark. 1991). Sınıflandırmadaki mevcut problemleri çözmek ve modern bakteriyel taksonomiye yardımcı olmak amacıyla son yıllarda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA-PZR (RAPD-PZR), 16S rRNA Dizi Analizi, DNA-DNA hibridizasyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Parça Uzunluk Polimorfizmi (PZR-RFLP), Toplam Hücre proteinlerinin sodyum dodesil sulfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) gibi moleküler yöntemler kullanılarak türler arasındaki farklılıklar ve benzerlikler belirlenmeye çalışılmaktadır (Chang ve ark. 2003). Bu çalışmada da izole edilen *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Salmonella*, *Pantoea*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter* cinsi olduğu düşünülen izolatların tür düzeyinde tanımlanması için morfolojik, biyokimyasal, fiziksel ve degradasyon testlerle kesin sonucu varılamamış ve 16S rRNA genleri bölgelerinin çalışılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle "AR-1357- Bal Arılarından (*A.mellifera*) İzole Edilmiş Çeşitli Bakterilerin 16S rRNA Gen Bölgelerinin Bazı Fenotipik Karakterlerinin Belirlenmesi" başlıklı proje yazılmış ve proje desteklenmiştir. Ribozomal RNA genleri (rRNA) (16S, 23S ve 5S) bakterilerde yüksek derecede korunmuş bölgelerdir. Özellikle de 16S rRNA genleri bakteri türleri arasında filogenetik yakınlığın belirlenmesi için oldukça sık kullanılmaktadır (Rainey ve ark. 1994). Yapılacak bu gen bölgesi dizileme çalışması ile bal arılarının mezofilik bakteri florasının belirleneceği ve literatüre yeni bakteri türlerinin kazandırılabilceği düşünülmektedir.

## 5.KAYNAKLAR

- Abbott, W.S. 1925. A Method of Computing of Effectiveness of on Insecticide, Journal of Economic Entomology, 18, 265-267.
- Adam, B. 1983. In search of best strains of honeybees. 2nd Edition, Northern Bee Books, Mytholmroyd, Hebden Bridge, UK. pages 206.
- Alippi, A.M. 1999. Bacterial diseases, In: Bee disease diagnosis: Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, edited by Coline M. E., Ball, B. V. and Kilani, M., 182.
- Alippi, A.M., Lopez, A.C., Aguilar, O.M. 2002. Differentiation of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, the cause of American foulbrood of honeybees, by using PCR and restriction fragment analysis of genes encoding 16S rRNA. Applied Environment Microbiology. 68, 3655–3660.
- Alippi, A.M., Reynaldi, F.J. 2006. Inhibition of the growth of *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood of honeybees, by selected strains of aerobic spore-forming bacteria isolated from apiarian sources. Journal of Invertebrate Pathology, 91:141–146.
- Andere, C.I., Monteavaro, C., Palacio, M.A., Catena, M., Rodríguez, E.M., Collins A.M. 2011. *Apis mellifera* semen: bacterial contamination and susceptibility to antibiotics. Apidologie, 42:551–559.
- Anonim, FAO, 2006. Honeybee diseases and pests: a practical guide, Agricultural And Food Engineering Technical Report, Rome, 102.
- Anonim, FAO 2012. StatisticalDatabases/Agriculture(www.fao.org).
- Anonymous, 2001. IPCC, Climate Change 2001: The Scientific Basic Contribution of Working Group I to The Third Assesment Report of The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), Cambridge University Press, Cambridge.
- Antúnez, K., Alessandro, B.D., Piccini, C., Corbella, E. and Zunino, P. 2004. *Paenibacillus larvae larvae* spores in honey samples from Uruguay: a nationwide survey. Journal of Invertebrate Pathology, 86:56-58.
- Apha, (American Public Health Association) Eaton, A.D., Clesceri, E.L.S., Greenberg, A.E. (ed). 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (19th ed.), APHA, Washington, DC.
- Ash, C., Priest, F.G. and Collins, M.D. 1993. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test, Antonie van Leeuwenhoek, 64:253-260.
- Aydın, L., Çakmak, İ., Güleğen, E. ve Korkut, M. 2003. Güney Marmara bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları anket sonuçları, Uludağ Arıcılık Dergisi, 3(1):37-40.
- Babendreier, D., Joller, D., Romeis, J., Bigler, F., Widmer, F. 2007. Bacterial community structures in honeybee intestines and their response to two insecticidal proteins. FEMS Microbiology Ecology, 59:600–610.

- Bacandritsos, N., Granato, A., Budge, G., Papanastasiou, I., Roinitoy, E., Caldon, M., Falcaro, C., Gallina, A., Mutinelli, F. 2010. Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies, *Journal of Invertebrate Pathology*, 105:335-340.
- Bağcı, H., Shareef, S.R. ve Özdamar. K. 1991. “*Bacillus thuringiensis* varyetelerinin sınıflandırılmasında sayısal taksonominin uygulanması”, *Doğa Turkish Journal of Biology*, 5: 70-81.
- Bailey, L. 1963. The pathogenicity for honey-bee larvae of microorganisms associated with European foulbrood.- *Journal of Insect Pathology*, 5: 198-205.
- Bailey, L., Ball, B. 1991. *Honey bee pathology*, Second Edition, Academic Press 64-72:141-143.
- Bannerman, T.L. 2003. *Staphylococcus, Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Bendel, J.L. 2004. Characterization of the Normal Flora of Honeybee Hives in Central Wisconsin.
- Benson, H. J., 1985. *Microbiological Applications, a Laboratory Manual in General Microbiology*, Brock, Fourth Edition, Wm C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.
- Berlocher, S.H. 1998. Origins: A brief history of research on speciation, pp.3-18. In Howard DJ, Berlocher SH (eds), *Endless forms: species and speciation*, Oxford University Press, Oxford, England.
- Black, R.Sweetmore, A. 1994. Appropriate Bacterial Identification Systems for Small Plant Pathology Laboratories Overseas Incorporating the Biolog Method, *Plant Pathology*, 43:438-441.
- Bozlağan, İ., Ayvaz, A., Öztürk, F., Açık, L., Akbulut, M., Yılmaz, S. 2009. Detection of the *cryI* gene in *Bacillus thuringiensis* isolates from agricultural fields and their bioactivity against two stored product moth larvae. *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, 34:145-154.
- Brisse, S. and Verhoef, J. 2001. Phylogenetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates revealed by randomly amplified polymorphic DNA, *gyrA* and *parC* genes sequencing and automated ribotyping *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51:915–924.
- Brisse, S. Grimant, F. and Grimant P.A.D. 2006. The Genus *Klebsiella*. *Prokaryotes*, 6:159-198.
- Brødsgaard, C., Ritter, W., Hansen, H. 1998. Response of in vitro reared honey bee larvae to various doses of *Paenibacillus larvae larvae* spores. *Apidologie*, 29:1-10.



- Buchanan, R.E., Gibbons's, N.E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Eighth Edition. Cowan, S.T., Holt, J.G., Liston, J., Murray, R.G.E., Nihens, C.F., Ravin, A.W., Stanier, R.Y. Stanier with contributions from 128 colleagues the Williams & Wilkins. Company/Baltimore.
- Burğut, A., Kumova, U. 2007. Çukurova Bölgesi ve Gezgin Arıcılığa Uygun Bir Kovan Tipinin Geliştirilmesi, Kovan Tipi ile Gücünün Kışlatma, Koloni Gelişimi ve Bal Verimi Üzerine Etkileri, V. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fak. Zootekni Böl., S:66.
- Buyer, S.J. 2002. Identification of bacteria from single colonies by fatty acid analysis. Journal of Microbiology Methods, 48:259.
- Cappuccino, J.G. and Sherman, N. 1992. Microbiology a Laboratory Manual, Third Edition, Rockland Community College, Suffern, New York.
- Chang, Y.H., Shangkuan, Y.H., Lin, H.C. and Liu, H.W. 2003. "PCR assay of the groEL gene for detection and differentiation of *Bacillus cereus* group cells", Applied and Environmental Microbiology, 69(8):4502-4510.
- Christensen W. B., 1946, Journal of Bacteriology, 52:461.
- Clarke, S.K.R. 1953. A simplified plate method for detecting gelatin-liquefying bacteria. Journal of Clinical Pathology, 6:246-248.
- Conn, H.J. 1928. A type of bacteria abundant in productive soils, but apparently lacking in certain soils of low productivity. Tech. Bull. N.Y. Sta. Agr. Exp. Sta. 138:3-26.
- Constantiniu, S., Romaniuc, A., Iancu, L.S., Filimon, R., Taraşi, I. 2004. Cultural and Biochemical Characteristics of *Acinetobacter* spp. Strains Isolated from Hospital Units. The Journal of Preventive Medicine, 12(3-4): 35-42.
- Demirsoy, A., 2006. Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar / Böcekler / Entomoloji, cilt II kısım II, dokuzuncu baskı, Ankara.
- Demirsoy, A. 2007. Genel Zoocoğrafya ve Türkiye Zoocoğrafyası 'Hayvan Coğrafyası', 6. Baskı, Meteksan A.Ş., Maltepe, Ankara,1007s.
- Dietz, A. 1986. Bee Genetics and Breeding, Ed. Thomas Rinderee, Evolution, Academic Press, Inc., 426.
- Dobson, C.M., Deneer, H., Lee, S., Hemmingsen, S., Glaze, S. and Ziola, B. 2002. Phylogenetic analysis of the genus *Pediococcus*, including *Pediococcus clausenii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from beer International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52:2003–2010.
- Doğaroğlu, M. 2009. Modern Arıcılık Teknikleri, 4. Basım, Türkmenler Matbaacılık, Tekirdağ.

- Dunfield, K.E., Xavier, L.J.C., Germida, J.J. 1999. Identification of *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium sp.* (Cicer) Strains Using a Custom Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Profile Library, *Journal of Applied Microbiology*, 86:78-86.
- Ericson, E.H., Stanley, J. D., Martin, C. and Garment, B. 1999. *Bee Book*, Jawa University Press, USA, 326.
- Evans, J.D., Armstrong, T.M. 2005. Inhibition of the American foulbrood bacterium, *Paenibacillus larvae larvae*, by bacteria isolated from honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 44:168–71.
- Evans, J.D., Armstrong, T.M. 2006. Antagonistic interactions between honey bee bacterial symbionts and implications for disease. *Biomedcentral Ecology*, 6:4.
- Farmer, J.J., Holmes, B., Hickman, F.W., Fanning, C.G.R., Richard, G.P. and Brenner, D.J. 1981. *Kluyvera*, a new (redefined), genus in the family Enterobacteriaceae: identification of *Kluyvera ascorbata* sp. Nov. and *Kluyverea cryocrescens* sp. Nov. in clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 13(5):919.
- Fıratlı, Ç., Karacaoğlu, M., Gençer, H.V., Koç, A. 2005. Türkiye Arıcılığına İlişkin Değerlendirmeler ve Öneriler, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi 3-7 Ocak, Ankara.
- Fries, I., Lindström A. and Korpela, S. 2005. Vertical Transmission of American Foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in Honey Bees (*Apis mellifera*), *Veterinary Microbiology*, 114 (3-4):269-274.
- Gamo, M.,Shoji, T. 1999. A Method of Profiling Microbial Communities Based on a Most-Probable-Number Assay that Uses Biolog Plates and Multiple Sole Carbon Sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 65:4419-4424.
- Gavini, F. J., Mergaert, A., Beji, C., Mielcarek, D., Izard, K., Kersters, and J. Deley. 1989. Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *International Journal of Systema Bacteriology*, 39:337–345.
- Genç, F. 1996. Türkiye Arıcılığının Sorunları ve Koloni Yönetim Yanlışları ve Verimlilik Üzerine Etkileri. *Teknik Arıcılık Dergisi*, 53:18-19.
- Genç, F., Dodoloğlu, A. 2002. Arıcılığın Temel Esasları. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Yayınları. No: 166, Erzurum.
- Genersch, E., Ashiralieva, A., Fries, I. 2005. Strain- and genotype-specific differences in virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a bacterial pathogen causing American foulbrood disease in honeybees. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:7551-7555.
- Ghani, M., Ansari, A., Aman, A., Zohra, RR., Siddiqui N.N. and Qader, S.A.U. 2013. Isolation and characterization of different strains of *Bacillus*

- licheniformis* for the production of commercially significant enzymes. Pakistan Journal of Pharmology Science, 26:691-697.
- Gilliam, M., and Valentine, D.K. 1976. Bacteria isolated from the intestinal contents of foraging worker honey bees, *Apis mellifera*: the genus *Bacillus*. Journal of Invertebrata Pathology, 28:275-276.
- Gilliam, M., Morton, H.L. 1978. Bacteria belonging to the genus *Bacillus* isolated from honeybees, *Apis mellifera*, fed 2,4-D and antibiotics. Apidologie, 9:213-22.
- Gilliam, M.; Prest, D.B. 1987. Microbiology of faeces of the larval honey bee, *Apis mellifera*. Journal of Invertebrate Pathology, 49(1): 70-75.
- Gilliam, M. 1997. Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. FEMS microbiology letters, 155:1-10.
- Goodfellow, M. and Dickinson, C. H. 1985. Delineation and description of microbial populations using numerical methods. In Computer-assisted bacterial systematics. Edited by Goodfellow, M.; Jones, D. and Priest, F. G. Academic Press, London, 165-225.
- Goodfellow, M. 1995. Numerical taxonomy. In Biology of the prokaryotes. Edited by Schlegel, H. G. and Lengeler, J. W. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Goodman, R., McKee, B. and Kaczynski, P. 2004. European Foulbrood-investigation control measures, RIRDC Publications, 1-122.
- Gordon, R.E. ve Mihm, J.M. 1962. The type species of the genus *Nocardia*. Journal of Genetics and Microbiology, 27:1-10.
- Gordon, R.E. 1968. The taxonomy of soil bacteria. In the Ecology of Soil Bacteria. Edited by Gray, TRG. And Parkinson D., Liverpool University Press: Liverpool, 293-321.
- Hajek, V., Meugnier, H., Bes, M., Brun, Y., Fiedler, F., Chmela, Z., Lasne, Y., Fleurette, J., and Freney, J. 1996. *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *bovis* subsp. nov., Isolated from Bovine Nostrils. International Journal of Systematics Bacteriology, 46:(3)792-796.
- Halkman, AK. (Ed.). 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık, Ankara, 334 s.
- Holmes, B., Owen, R.J., Evans, A., Malnick, H. And Willcox, W.R. 1977. *Pseudomonas paucimobilis*, a new species isolated from human clinical specimens, the hospital environment, and other sources. International Journal of Systematics Bacteriology, 27:133-146.
- <http://www.aricilik.gov.tr/aricilik-egitimi/71-bal-arisi.html>
- Iurlina, M.O., Fritz, R. 2005. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. International Journal of Food Microbiology, 105:297-304.

- Johansson, C.B. 1999. Bakterilerin Sınıflandırılması. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Editörler: Ustaçelebi, S., Mutlu, G., Cengiz, A.T., Tümbay, E., Mete, Ö., GüneşKitabevi, Ankara, 1339.
- Jones, K.L. 1949. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogenous aerial mycelia is a fluctuating characteristic. Journal of Bacteriology, 57:141-145.
- Kačániová, M., Chlebo, R., Kopernicky, M., Trakovicka, A. 2004. Microflora of the honeybee gastrointestinal tract. Folia Microbiology, (Praha), 49:169–171.
- Kačániová, M., Pavlicová, S., Hascík, P., Kociubinski, G., Kházovická, V., Sudzina, M., Sudzinová, J., Fikselová, M. 2009. Microbial communities in bees, pollen and honey from Slovakia. Acta. Microbiology Immunology Hungary, 56:285–295.
- Kaftanoğlu, O. 1994. Türkiye’de Arı Sağlığı Sorunları ve Çözüm Yolları. II. Teknik Arıcılık Kongresi 8-10 Şubat 1994, Ankara.
- Kaftanoğlu, O. 1998. National Beekeeping Development Project, Çukurova University, Agricultural Faculty, Department of Animal Sciences, Adana.
- Kandemir, I. 2003. Beekeeping Experience and Developments in Turkey and in Northern Cyprus, American Bee Journal, 143(6):464-467.
- Katı, A. 2011. *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Coleoptera: Curculionidae)'dan İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması, İnsektisidal ve Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans, Giresun Üniversitesi, Giresun, 75 s.
- Katznelson, H. 1950. *Bacillus pulvifaciens* (n. sp.), an organism associated with powderyscale of honeybee larvae. Journal of Bacteriology, 59:153-155.
- Keddie, R.M. and Jones, D. 1981. Aerobic saprophytic coryneform bacteria. In The Prokaryotes, vol. 2:1838-1878.
- Kekeçoğlu, M., Gürcan, E.K., Soysal, M.İ. 2007. Türkiye Arı Yetiştiriciliğinin Bal Üretimi Bakımından Durumu. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 4(2). Tekirdağ.
- Kılıç, A., Şenses, Z., Kürekçi, A.E., Aydoğan, H., Şener, K., Kısmet E. Ve Başustaoğlu, A.C. 2007. Nosocomial Outbreak of *Sphingomonas paucimobilis* bacteremia in a hemato/oncology unit. Japan Journal of Infection, Dis. 60:397-396.
- Kireççi, E., Aktaşı A.E. 2004. Stafilokok Suşlarının Gaz Kromatografî Metoduyla Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Türk. Mikrobiyol. Cem. Dergisi., 34:215-219.
- Kligler, I.J. 1917. *American Journal of Public Health* 7. 1042-1044.
- Kloos, W.E. and Wolfshohl, J.F. 1991. *Staphylococcus cohnii* Subspecies: *Staphylococcus cohnii subsp. cohnii* subsp. nov. and *Staphylococcus*

- cohnii* subsp. *Urealyticum* subsp. nov. International Journal of Systematics Bacteriology, 41: 284-289.
- Koneman, E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., Winn W.C.J. 1992. Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 4th Ed., JB. Lippincott Company.
- Konopka, A., Oliver, L., Turco, R.F., 1998. The Use of Carbon Substrate Utilization Patterns in Environmental and Ecological Microbiology, Microbiology Ecology, 35:103-115.
- Korn-Wendisch, F. and Kutzner, H. J. 1992. The family Streptomycetaceae. In The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications. Edited by Balows, A.; Trüper, H. G.; Dworkin, M.; Harder, W. & Schleifer, K.-H., 2nd ed., vol. 1. Springer-Verlag, New York, 921-995
- Krebs, J.R. 1979. Coevolution bees and flowers, Nature, 278- 689.
- Lacey, L.A. 1997. Bacteria: Laboratory Bioassays of Bacteria Against Aquatic Insects with Emphasis on Larvae of Mosquitoes and Black Flies, In "Manual of Techniques in Insect Pathology (Lacey, L.A., Ed.), 79:88, Academic Press, New York.
- Lelliot, R., Stead, D. 1978. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants, Method in Plant Pathology, 2, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 216s.
- Lindström, A. 2006. Distribution and transmission of american foulbrood in honey bees, Ph.D thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 28.
- Linnaeus, C. 1758. Systema Naturae. 10th edn. Holmiae Laur Salvii, in Ruttner F (1988). Biogeography and taxonomy of honeybees Springer Verlag, Berlin.
- Lipa, J.J. 1975. An Outline of Insect Pathology, Warsaw, Poland.
- Logan, N.A. 1994. Bacterial systematics. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Lončarić, I., Heigl H., Licek E., Moosbeckhofer R., Busse H., Rosengarten R. 2009. Typing of *Pantoea agglomerans* isolated from colonies of honey bees (*Apis mellifera*) and culturability of selected strains from honey. Apidologie. 40-54.
- Lončarić, I., Ruppitsch W., Licek E., Moosbeckhofer R., Busse H., Rosengarten R. 2011. Characterization of selected Gram- negative non- fermenting bacteria isolated from honey bees (*Apis mellifera carnica*). Apidologie. 42:312-325.
- López, A.C., Alippi, A.M. 2007. Phenotypic and genotypic diversity of *Bacillus cereus* isolates recovered from honey. Int. Journal of Food Microbiology. 117: 175–184.
- MacDonell, M. J. and Colwell, R.R. 1985. The contribution of numerical taxonomy to the systematics of Gram-negative bacteria in Computer-Assisted Bacterial

- Systematics Edited by M. Goodfellow, D. Jones and F.G. Priest, Academic Press, London, 107-135.
- MacFaddin J.F. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria, Vol. 1, Williams and Wilkins, Baltimore, Md.
- MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, Third Edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania., p. 912.
- Manfio, G.P. 1995. Towards Minimal Standards for the Description of *Streptomyces* species. Ph.D. Thesis, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK.
- Mardaneh, L., Dallal M.M.S. 2013. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pantoea (Enterobacter) agglomerans* isolated from consumed powdered infant formula milk (PIF) in NICU ward: First report from Iran. Iranian journal of microbiology, 5:263-267.
- Mayr, E. 1942. Systematics and origin of species. Columbia University Press, New York.
- Miller I, Berger T. 1985. Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acids. Hewlett-Packard gas chromatography application note, Hewlett-Packard Co., Alto, CA, 8.
- Mohr, K.I., Tebbe, C.C. 2006. Diversity and phylotype consistency of bacteria in the guts of three bee species (Apoidea) at an oilseed rape field. Environmental Microbiology. 8: 258–272.
- Mohr, K.I., Tebbe, C.C. 2007. Field study results on the probability and risk of a horizontal gene transfer from transgenic herbicide-resistant oil seed rape pollen with gut bacteria of bees. Applied Microbiological Biotechnology. 75:573–582.
- Morse, R. A. 1997. Honeybee Pests, Predators and Diseases, Mediwa, A. I. Root Co. 1-56.
- Muz, M.N. 2008. Bal arılarında ani koloni sönmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32 (3): 271-275.
- Neumann, P., Carreck, N.L. 2010. Honey bee colony losses. Journal of Apicultural Research, 49(1), 1-6.
- OIE, 2004. World Organisation of Animal Health Reference Laboratory Terrestrial Manual, American Foulbrood, Chapter 2. 9. 2., 970-978.
- Onderdonk, A.B, Sasser, M. 1995. Gas-liquid and high-performance liquid chromatographic methods for the identification of microorganisms. "E.J. Baron, P.R. Murray, M.A.
- Otis, G.W. 1906. Distribution of recently recognized species of honeybees (*Hymenoptera: Apidae: Apis*) in Asia. Journal of Kansas Entomology Society., 69: 311-333.
- Öder, E. 1983. Balarısı Hastalıkları. Atatürk Üniversitesi Basımevi. Erzurum
- Özbek, H. 2002. Arılar ve Doğa, Uludağ Arıcılık Dergisi, 3: 22-25.

- Özbek, H. 2003. Türkiye’de Arılar ve Tozlaşma sorunu, Uludağ Arıcılık Dergisi, 3: 41-44.
- Özkırım, A. ve Keskin, N. 2002. Ankara ili ve çevresindeki arılarda teşhis edilen başlıca yavru hastalıklarının dağılımı, Mellifera, 2 (4):8-12.
- Özkırım, A. 2006. Bal arılarındaki (*Apis mellifera* L.) Amerikan ve Avrupa yavru çürüklüğü hastalıklarında kullanılan antibiyotiklere karşı oluşan direncin saptanması, Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi, 1-107.
- Patil, H.S.R., Naik, T.V., Avin, B.R.V. ve Sayeswara, H.A. 2013. Isolation and molecular characterization of *Bacillus megaterium* isolated from various agro climatic zones of Karnataka and its effect on medicinal plant *Ruta gradiolus*. Current Research in Microbiology and Biotechnology, Vol:1, 4:173-182.
- Pelczar, M.J., Reid R.D., Chan E.C.S. 1977. Microbiology, 4th Ed., Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd, New Delhi.
- Piccini, C., Antúnez, K., Zunino, P. 2004. An approach to the characterization of the honey bee hive bacterial flora. Journal of Apicultural Research, 43: 101–104.
- Pincus, D.H. 2002. Microbial Identification Using The Biomérieux Vitek 2 System, Biomérieux Inc., Hazelwood, MO, USA.
- Poinar G.O. and Thomas G.M. 1978. Diagnostic Manual for the Identification of Insect Pathogens. Plenum Press, New York, 218.
- Potter, B. 2008. Introduction to biochemical tests. Microbiology Lab 202. Erie, Pa, USA.
- Priest, F. & Austin, B. 1993. Modern bacterial taxonomy. 2nd ed. Chapman & Hall, London.
- Priest, F.G., 1993. “*Bacillus*, Biotechnology, Biological Fundamentals”, Vol. 1, by edited Sahm H., Wiley-Vch Verlag Gmbh, Weinheim, 1267-1280.
- Rada, V., Machoa, M., Huk, J., Marounek, M., Duskova, D. 1997. Microflora in the honeybee digestive tract: counts, characteristics and sensitivity with veterinary drugs. Apidologie, 28: 357–365.
- Rainey, F.A., Fritze, D., Stackebrandt, E. 1994. “The phylogenetic diversity of thermophilic members of the genus *Bacillus* as revealed by 16S Rdna analysis”, FEMS Microbiol. Lett. 115: 205–212.
- Roberts, M.S., Nakamura, L.K. and Cohan F.M. 1996. *Bacillus vallismortis* sp. nov., a Close Relative of *Bacillus subtilis*, Isolated from Soil in Death Valley, California International Journal of Systematic Bacteriology, 470-475.
- Rooney, A.P., Price, N.P.J., Ehrhardt, C., Swezey, J.L. and Bannan, J.D. 2009. Phylogeny and molecular taxonomy of the *Bacillus subtilis* species complex and description of *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* subsp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 59: 2429–2436.
- Rosovitz, M.J., Voskuil, M.I., Chambliss, G.H., 1998. “*Bacillus*, Topley and Wilson’s Microbiology and Microbial Infections, Systematic Bacteriology”,

- 9nd Edition, Volume 2, by edited Collier L., Balows, A. and Susman, M., Oxford University Pres, New York, 709-730.
- Rothenbuhler, W.C., Kerr, W.E. 1968. Bee genetics' Annual Review of Genetics, 2: 413-438.
- Russenova, N. and Parvanov, P. 2005. European foulbrood disease –aetiology.
- Ruttner, F. 1988. Biogeography and Taxonomy of Honey bee, Springer-Verlag, Berlin, 284p.
- Sabate, D.C., Carrillo, L., Audisio, M.C. 2007. Inhibition of *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis* by *Bacillus subtilis* by polyphasic analysis and comparative genomics. Journal of Bacteriology, 189:1311–21.
- Sackin, M.J. and Jones, D. 1993. Computer-assisted classification. In Handbook of new bacterial systematics. Edited by Goodfellow, M. & O'Donnell, A. G. Academic Press, London, 281-313.
- Sammataro, D., Avitabile, A. 1998. The Beekeeper's Handbook, Cornell University Press, U.S.A., 414.
- Sanford, M. T. 2003. Diseases and Pests of The Honey Bee, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida Press, 13 pp.
- Sasser, M.S. 1990. Identification of by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids, Technical Note 101, Newark, DE, Microbial ID Inc.
- Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y. 2006. Fitobakteriyoloji. İzmir, İstanbul, Adana, 65-75.
- Sezen K. ve Demirbağ Z. 2007. Adi Mayıs Böceği (*Melolontha melolontha*, Coleoptera: Scarabaeidae)'nin Biyolojik Kontrol Ajanının Araştırılması. Ekoloji, 16 (63):34-40.
- Sheppard, W.S., Arias, M.C., Grech, A., Meixner, M.D. 1997. *Apis mellifera ruttneri*, a new honeybee subspecies from Malta. Apidologie 28:287-293.
- Sheppard, W.S., Smith, D.R. 2000. Identification of African-Derived Bees in The America: A Survey of Methods. Annals of the Entomological Society of America, 93(2): 159-176.
- Sheppard, W.S., Meixner, M.D. 2003. *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. Apidologie, 34:367–375.
- Shida, O., Tagaki, H., Kadowaki, K., Nakamura, L.K. and Komagata, K. 1997. Transfer of *Bacillus alginolyticus*, *Bacillus chondroitinus*, *Bacillus curdlanolyticus*, *Bacillus glucanolyticus*, *Bacillus kobensis*, and *Bacillus thiaminolyticus* to the genus *Paenibacillus* and emended description of the genus *Paenibacillus*. International Journal of Systematic Bacteriology, 47:289-298.
- Shimanuki, H. and Hung, A.C. 1999. Detection of honey bee viruses by direct RT-PCR, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 8-27.



- Shimanuki, H., Knox, D.A. 2000. Diagnosis of Honeybee Diseases, Department of Agriculture, Agriculture Handbook No AH.690, USA, 1-56.
- Shimanuki, H., Knox, D.A., Furgala, B., Caron, D.M. and Williams J.L. 1992. Diseases and pests of honeybees, 1083-1151 pp,
- Sıralı, R. 1993. Trakya Bölgesi Arıcılığı, Sorunları ve Çözüm Yolları Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Sierra, G. 1957. A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of contact between cells and acid substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*. 23:15-22.
- Smolska-Szymczewska, B. 1989. The influence of the chosen chemotherapeutics on the intestinal flora of honey bees. *Apiacta*, 24: 71-79.
- Sneath, P. H. A. 1957a. Some thoughts on bacterial classification. *Journal of General Microbiology*, 17, 184-200.
- Sneath, P. H. A. 1957b. The application of computers to taxonomy. *Journal of General Microbiology*, 17, 201-226.
- Sneath, P. H. A. and Sokal, R. R. 1973. *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. W. H. Freeman, Baltimore.
- Sneath, P. H. A. 1978. Classification of microorganisms. In *Essays in Microbiology*, Section 9. Edited by J. R. Norris and M. H. Richmond. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 1-31.
- Snowdon, J.A., Cliver, D.O. 1996. Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31: 1-26.
- Soysal, M.İ. 2004. Autochthonous Breeds of Domestic Animals in Türkiye (Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarımız), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Zootečni Bölümü Tekirdağ.
- Su, L.H., Chiu, C.H. 2007. *Salmonella*: Clinical Importance and Evolution of Nomenclature. *Chang Gung Medical Journal*, 30:210-9.
- Sung, L.L., Yang, D.I., Hung, C.C. and Ho, H.T. 2000. Evaluation of auto SCAN-W/A and the Vitek GNI+AutoMicrobic System for Identification of Non-Glucose-fermenting Gram Negative Bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3):1127.
- Şahin, F. 2003. Moleküler Tanı Yöntemleri, Biyoinformatik-I Lisansüstü Yaz Kursu Kitabı, 6. Bölüm (Telefoncu, A., Küfrevioğlu, İ. ve Pazarlıoğlu, N., Eds.), Ege Üniv. Basımevi, İzmir.
- Şahinler, N. ve Gül, A. 2005. Hatay yöresinde bulunan arıcılık işletmelerinde arı hastalıklarının araştırılması, *Uludağ Bee Journal*, 5:27-31.
- Şimşek, H. ve Özcan, C. 2001. Elazığ ve yöresinde bulunan arı işletmelerinde Avrupa yavru çürüklüğü hastalığının araştırılması, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 25:929-932.

- Takeuchi, M. Hamana K. and Hiraishi A. 2001. Proposal of the genus *Sphingomonas sensu stricto* and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 51:1405–1417.
- Tanasupawat, S., Okada, S., Kozaki, M. and Komagata, K. 1993. Characterization of *Pediococcus pentosaceus* and *Pediococcus acidilactici* strains and replacement of the type strains of *P. acidilactici* with the proposed neotype DSM 20284. Request for an opinion. International Journal of Systematics Bacteriology. 43: 860–863.
- Temiz, A. 2000. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. 3. Baskı. Hatipoğlu Yayınları, Ankara. 291.
- Tittler, R.P. ve Sandholzer, L.A. 1936. Motility. Journal of Bacteriology. 31(6):575.
- Tutkun, E. ve Boşgelmez, A. 2003. Bal arısı zararlıları ve hastalıkları teşhis ve tedavi yöntemleri, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 1-365.
- VanEngelsdorp, D., Meixner, M.D. 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them, Journal of Invertebrate Pathology, 103, 80-95.
- Verweij, P.E., Breuker, I.M., Rijs, A.J. 1999. Comparative study of seven commercial yeast identification systems. Journal of Clinical Pathology, 52:271–273.
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Heinz-Schleifer, K., Whitman, W.B. 2011. The *Firmicutes*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 3.cilt.
- Waite, R., Jackson, S. And Thompson H. 2002. Preliminary investigations into possible resistance to oxytetracycline in *Melissococcus plutonius*, a pathogen of honeybee larvae, Applied Microbiology 36, 20-24.
- Waite, R.J., Brown, M.A., Thompson, H.M. and Bew, M.H. 2003. Controlling European foulbrood with the shook swarm method and oxytetracycline in the UK, Apidologie, 34, 569-575.
- Whitman, W.B., Parte, A., Goodfellow, M., Kampfer, P., Jürgen-Busse, H., Trujillo, M.E., Ludwig, W., Suzuki, K. 2012. The Actinobacteria. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 5.cilt.
- Williams S.T. and Goodfellow, M. 1966. Use of Peptone Iron Agar for the Detection of Hydrogen Sulfide. Journal of Bacteriology, 91(2):907.
- Williams, S.T. and Goodfellow M., Alderson, G., Wellington, E. M. H., Sneath, P. H. And Sackin, M.J. 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. Journal of General Microbiology, 129:1743-1813.
- Wilson, E.O., Brown, W.L. 1953. The subspecies concept and its taxonomic application. Systema Zoology 2:97-111.
- Winston, M.L. 1987. The Biology of the Honey Bee, Harvard University Press, London, England, 281.

- Yabuuchi, E., Yano, I., Oyaizu, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T. and Yamamoto, H. 1990. Proposals of *Sphingomonas paucimobilis* gen. nov. and comb. nov., *Sphingomonas parapaucimobilis* sp. nov., *Sphingomonas yanoikuyae* sp. nov., *Sphingomonas adhaesiva* sp. nov., *Sphingomonas capsulata* comb. nov., and two genospecies of the genus *Sphingomonas*. Microbiological Immunology, 34:99-119.
- Yaşar, N., Güler, A., Yeşiltaş, H. B., Bulut, G. ve Gökçe, M. 2002. Karadeniz Bölgesi Arıcılığının Genel Yapısının Belirlenmesi. Mellifera, 2 (3):15-24.
- Yılmaz, H. 1999. Edirne Bölgesi Arıcılığı Sorunları ve Çözüm Yolları Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Yılmaz, H. 2004. *Dendroctonus micans*'ın Bakteriyal Florası ve Mikrobiyal Mücadele Ajanlarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Trabzon.

## **EK 1. Kùltür Ortamlarının Bileşimi, Hazırlanışı Ve Sterilizasyonu**

### **1.1.Kùltür Ortamları**

#### **1.1.1. Nutrient Agar (Merck)**

Pepton from meat	5 g
Meat extract	3 g
Agar-agar	12 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri 1 000mL’de 20 g olacak şekilde saf su içersinde ısıtılarak çözüldü. Çözülen besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi. 45-50 °C’ye kadar soğuduktan sonra steril petrilere aseptik şekilde döküldü. 25°C’de pH’sı 7.0±0.2’dir.

#### **1.1.2. Nutrient Broth (Merck)**

Pepton from meat	5 g
Meat extract	3 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri 1 000 mL’de 8 g olacak şekilde saf su içersinde çözüldü, tüplere konulan besiyerleri otoklavda 121°C’de 15 dakikasteril edildi. 25°C’de pH’sı 7.0±0.2’dir.

#### **1.1.3. Peptone Water (Merck)**

Pepton	10 g
NaCl	5 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	9 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri 1000 mL’de 25.5 g olacak şekilde saf su içersinde çözüldü. Tüplere 2 mL konuldu ve otoklavda 121°C’de 15 dakikasteril edildi. 25°C’de pH’sı 7.2±0.2’dir.

#### 1.1.4. MR-VP Broth (Merck)

Pepton from meat	7 g
D(+) Glukoz	5 g
Fosfat tamponu	5 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri, 1 000 mL'de 17 g olacak şekilde saf su içerisinde çözüldü. Tüplere 5 mL konuldu ve otoklavda 121°C'de 15 dakikasteril edildi. 25°C'de pH'sı 6.9±0.2'dir.

#### 1.1.5. Simmons Citrate Agar (Merck)

Ammonium dihydrojen phosphate	1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
NaCl	5 g
Sodium citrate	2 g
MgSO <sub>4</sub>	0.2 g
Bromothymol blue	0.08 g
Agar-agar	13 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri, 1 000 mL'de 22.3 g olacak şekilde ısıtılarak saf su içerisinde çözüldü. Çözülen besiyeri tüplere 2 mL konuldu ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyerleri 1-2 cm yüksekliğinde ki çubuklar üzerine yatırılarak soğuması beklendi ve yatık agar elde edildi. Besiyerinin rengi berrak yeşil renktedir ve 25°C'de pH'sı 6.6±0.2'dir.

### 1.1.6. Triple Sugar Iron Agar

Beef extract	3 g
Yeast extract	3 g
Peptone	15 g
Proteose pepton	5 g
Dextrose	1 g
Laktoz	10 g
Sukroz	10 g
Ferrous sulfat	0.2 g
NaCl	5 g
Sodyum Thiosulfate	0.3 g
Agar	12 g
Fenol red	0.024 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri, 1 000 mL'de 65 g olacak şekilde ısıtılarak saf suda çözüldü. Çözünen besiyeri tüplere 2'şer mL aktarılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyerleri 1-2 cm yüksekliğinde ki çubuklar üzerine yatırılarak soğuması beklendi ve yatık agar elde edildi. 25°C'de pH'sı 7.4±0.2'dir.

### 1.1.7. Kligler Iron Agar (Oxoid)

Lab-lemco	3 g
Yeast extract	3 g
Pepton	20 g
NaCl	5 g
Laktoz	10 g
Glukoz	1 g
Ferric citrat	0.3 g

Sodyum thiosulfat	0.3 g
Fenol red	0.05 g
Agar	12 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri, 1 000 mL'de 55 g olacak şekilde saf su içerisinde ısıtılarak çözüldü. Çözünen besiyeri tüplere 2 mL konularak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyeri 1-2 cm yüksekliğinde ki çubuklar üzerine yatırılarak soğuması beklendi ve yatık agar elde edildi.

#### **1.1.8. Jelatin Hidrolizi**

##### **Tryptone Soya Broth (Oxoid)**

Pancreatic digest of casein	17 g
Papaic digest of soybean meat	3 g
NaCl	5 g
Dibazik potassium phosphate	2.5 g
Glucose	2.5 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri, 1 000 mL'de 30 g olacak şekilde saf suda çözüldü. Çözülen besiyerine jelatin hidrolizi için %10'luk jelatin ilave edildi, ısıtılarak homojen hale getirildi. Hazırlanan besiyerinden tüplere 5 mL konuldu ve otoklavda 121°C'de 15 dakikasteril edildi. 25°C'de pH'sı 7.3±0.2'dir.

#### **1.1.9. Allantoin Hidrolizi**

Peptone	5 g
Lab lemco	2.4 g
Allantoin	5 g
Fenol red	0.012 g
Saf su	1 000 mL

pH 6.8

Fenol red hariç tüm içerik saf suda çözüldükten sonra pH ayarlaması yapıldı. pH ayarlamasından sonra ortama fenol red de eklendi. Hazırlanan besiyeri tüplere 2'şer mL aktarıldı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi.

#### **1.1.10. Aesculin Hidrolizi**

Yeast extract	3 g
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -Fe <sub>3</sub> (Ammonium Ferrous citrate)	0.5 g
Agar	10 g
Saf su	1 000 mL
pH	7.2

Agar hariç diğer besiyeri içerikleri 1 000 mL saf su içerisinde çözülerek pH, 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl ile ayarlandı ve agar ilave edildi. Bazal ortam içerisine %0.1'lik aesculin ilave edildi ve kaynatıldı. Ardından hazırlanan besiyeri karışımı, tüplere 2 mL olacak şekilde konuldu ve 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyerlerinin yatık agar olacak şekilde soğuması sağlandı.

#### **1.1.11. Arbutin Hidrolizi**

Yeast extract	3 g
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -Fe <sub>3</sub> (Ammonium Ferrous citrate)	0.5 g
Agar	10 g
Saf su	1 000 mL
pH	7.2

Agar hariç diğer besiyeri içerikleri 1 000 mL saf su içerisinde çözülerek pH, 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl ile ayarlandı ve agar ilave edildi. Bazal ortam içerisine %0.1'lik arbutin ilave edildi ve kaynatıldı. Ardından hazırlanan besiyeri karışımı, tüplere 2 mL olacak şekilde konuldu ve 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyerlerinin yatık agar olacak şekilde soğuması sağlandı.



### 1.1.12. Bennett's Agar

Yeast extract	1 g
Lab-lemco	0.8 g
Bacto-casitone	2 g
Gliserol	10 mL
Agar	12 g
Saf su	1 000 mL
pH	7.2

Agar hariç diğer besiyeri içerikleri 1 000 mL saf su içerisinde çözüldü. pH 0.1 M NaOH veya 0.1 M HCl ile ayarlandı ve karışıma agar ilave edildikten sonra kaynatıldı. Otoklav şişelerine dökülerek 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyerinin 45-50°C'ye kadar soğuması beklendi ve aseptik şartlarda petrilere döküldü. Degredasyon maddeleri, tinalizasyon tekniği ile steril edildikten sonra steril besiyerine katıldı.

### 1.1.13. Sierra's Besiyeri

Bacto-peptone	10 g
Calcium carbonate (dihydrate)	0.1 g
NaCl	5 g
Agar	18 g
Saf su	1 000 mL
pH	7.4

Agar hariç tüm malzemeler saf su içerisinde çözülüp, besiyerinin pH'sı ayarlandı. Agar ilave edilip homojen hale geldikten sonra 121°C'de 15 dakika steril edildi. Ardından besiyerinin 50°C'ye kadar soğuması beklendi. Tinalizasyon yöntemiyle steril edilen Tween 20, Tween 40, Tween 80, steril besiyerine aseptik şartlarda ilave edildi ve Sierra's besiyerine iyice karıştırıldıktan sonra petrilere döküldü.

#### **1.1.14. Nitrat Redüksiyonu Besiyeri**

Potassium nitrate	1.0 g
Peptone	5 g
Lab-lemco	2.4 g
Saf su	1 000 mL
pH	7.0

Tüm besiyeri içeriği saf suda çözülüp, pH ayarlaması yapıldıktan sonra tüplere 2 mL konularak 121°C'de 15 dakika steril edildi.

#### **1.1.15. T3 Besiyeri**

Tryptone	3 g
Tryptose	2 g
Yeast extract	1.5 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7.1 g
Saf su	1 000 mL
Agar	12 g

Besiyeri içerikleri saf suda çözüldükten sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyeri petrilere döküldü.

#### **1.1.16. Crossley Milk Medium (Oxoid)**

Skim milk powder	100 g
Peptone	10 g
Bromocresol purple	0.1
Agar	12 g
Saf su	1 000 mL
pH	6.8

Dehidre besiyerinin 110 gramı 1 000 mL saf su içerisinde çözüldü ve otoklavda 121°C’de 5 dakika steril edildi. Steril edilen besiyeri aseptik şartlarda petrilere döküldü. Besiyeri kazein degradasyonu için kullanıldı.

#### **1.1.17. DNA Degredasyonu**

##### **Tryptone Soya Agar (Oxoid)**

Pancreatic digest of casein	15 g
Enzymatic digest of soyabean	5 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Saf su	1 000 mL
pH	7.3

1 000 mL saf su da 40 gram besiyeri çözüldü ve otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyeri 50°C’ye kadar soğutuldu ve tinalizasyon yöntemiyle steril edilen DNA aseptik şartta besiyerine ilve edildi ve karışması sağlandı. Ardından petrilere döküldü.

#### **1.1.18. Hareket Testi Besiyeri**

Pepton from meat	5 g
Meat extract	3 g
Saf su	1 000 mL

Besiyeri içeriğine %4’lük agar ilave edildi, tüplere 5 mL aktarılarak otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi.

#### **1.1.19. Peptone Iron Agar**

Peptone	15 g
Proteose peptone	5 g
Ferric ammonium citrate	0.5 g
Sodium gliserolphosphate	1 g

Sodium thiosulfate	0.08 g
Agar	15 g
Saf su	1 000 mL
pH	6.7

1 000 mL'de 36 g olacak şekilde besiyeri kaynatılarak çözüldü. Çözünen besiyeri tüplere 2 mL olacak şekilde konuldu ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyeri yatık agar olacak şekilde soğutuldu.

### **1.1.20. Üre Hidrolizi Besiyeri**

#### **Ürea Base Agar**

Peptone	1 g
Glucose	1 g
NaCl	5 g
Disodium phosphate	1.2 g
Potassium dihydrogen phosphate	0.8 g
Phenol red	0.012 g
Agar	15 g
pH	6.8

95 mL saf su içerisinde 2.4 g besiyeri kaynatılarak çözüldü. Ürea base agar otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Steril besiyeri 50°C'ye kadar soğutuldu. Filtrasyon yöntemi ile steril edilen %40'luk üre steril bazal ortamın içerisine katıldı ve karıştırıldı. Karışım steril tüplere 2 mL döküldü ve yatık agar olacak şekilde soğutuldu.

## **EK 2. Çözeltiler**

### **1.%20'lik Gliserol Stok Çözeltisi**

Gliserol stok izolatların uzun süre -20°C'de saklanması için hazırlandı.

Gliserol 20 mL

Nutrient broth 80 mL

%20'lik gliserol çözeltisi hazırlandıktan sonra cryo tüplere 1.5 mL konuldu ve 121°C'de 15 dakika otoklav edilerek steril edildi.

### **2.Nitrat Ayraçları**

Nitrat testinin değerlendirilmesinde her iki ayraçtan eşit miktarda karıştırılarak kullanılmıştır.

#### **2.1.A ayıracı**

Sülfanilik asit 8 g

5 N Asetik asit 1 000 mL

1 birim glacial asetik asit ve 2.5 birim saf su karıştırılarak 3.5 birim 5 N asetik asit hazırlandı. Daha sonra 1000 mL 5 N asetik asit içerisinde 8 g sülfanilik asit çözüldü. Hazırlanan çözelti amber renkli bir şişede saklandı.

#### **2.2.B ayıracı**

Dimetil  $\alpha$ -naphthylamine 6 ya da 5 g

5 N asetik asit 1 000 mL

1 000 mL 5 N asetik asit içerisinde 6 ya da 5 g Dimetil  $\alpha$ - naphthylamine çözüldü ve hazırlanan çözelti amber renkli bir şişede saklandı.

### **3.Lugol's Iodine Ayıracı**

Nişasta degradasyon testinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

Iodine 5 g

KI (potassium iodine) 10 g

Saf su 1 000 mL

Kimyasallar önce 10 mL saf su içerisinde çözüldü ve 100 mL'ye tamamlandı.

#### **4.Kovac's Ayracı**

p-dimetylaminobenzaldehyde	10 g
HCl (%37'lik)	50 mL
Amyl alkol	150 mL

Kovac's ayracı indol testinde kullanılır. p- dimetylaminobenzaldehyde amil alkol içinde çözülür. Yavaşça çözeltiliye HCl ilave edilir ve sarı renkli çözeltili elde edilir. Hazırlanan çözeltili amber renkli şişede en fazla bir hafta buzdolabında saklanır.

#### **5.Voges Proskauer Ayracı**

##### **5.1.VPI Ayracı**

Etanol (absolute)	100 mL
$\alpha$ -naphthol	5 g

5 gram  $\alpha$ -naphthol etanolün içinde çözülür.

##### **5.2.VPII Ayracı**

KOH	40 g
Saf su	100 mL

40 g KOH 100 mL saf su içerisinde çözülür. Hazırlanan çözeltili amber renkli şişede en fazla bir hafta saklanır.

## **EK 3. Sterilizasyon Teknikleri**

### **1.Basınçlı Buhar ile Sterilizasyon**

Sterilizasyona dayanıklı cam tüpler, petri plakları, otomatik pipet uçları, kültür ortamları ve solüsyonların sterilizasyonunda ısı ve basınçtan faydalanılır. Bu teknik, sterilizasyonu sağlanacak olan materyallerin, 121°C ısıya ayarlanmış otoklav adı verilen alet içerisinde 15 dakika bekletilmesi ile gerçekleşir. Bununla birlikte, yüksek ısıya dayanıksız kimyasal maddeler, karbon ve azot kaynakları ile antibiyotik gibi maddeler, farklı sterilizasyon teknikleri kullanılarak steril edilmiştir.

### **2.Yakma ve Alevden Geçirme ile Sterilizasyon**

Yakma ve alevden geçirme ile sterilizasyon tekniği, direkt ısıda bozulmayacak madeni araç-gereçlerin veya camdan yapılmış bazı aletlerin sterilizasyonunda kullanılır. İnokülasyonda kullanılan özeler, akkor haline gelene kadar yakılarak; alevden geçirilerek steril edilmiştir.

### **3.Tindalizasyon Tekniği ile Sterilizasyon**

Azot ve karbon kaynakları ile degradasyon ve kimyasal inhibitör testlerinde kullanılan bazı kaynakların sterilizasyonunu sağlamak için kullanılan bir tekniktir ve sıvı maddelerin 100°C sıcaklıkta 3 gün boyunca aynı saatte 30 dakika boyunca kaynayan suda bekletilmesine dayanır. Ölçülü miktardaki azot ve karbon kaynakları ile degradasyon ve kimyasal inhibitör testlerinde kullanılan bazı maddeler, daha önceden otoklav ile steril edilmiş, içinde 50 mL saf su bulunan ağzı kapaklı 100 ml'lik cam şişeler içine konmuştur. Kapağı hafifçe gevşetilmiş cam şişeler, içinde 100°C'ye kadar ısıtılmış az miktarda su bulunan ağzı kapaklı, geniş tabanlı kaplarda 30 dakika süreyle ısıtılmıştır. Bu süre sonunda, cam şişelerin kapakları sıkıca kapatılarak oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Bu işlem, 2. ve 3. gün ardışık olarak aynı saatte tekrarlanmıştır.

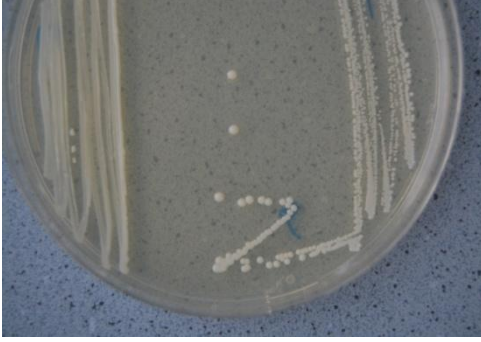
Kapakları kapalı bir şekilde oda sıcaklığında korunan şişeler, tindalizasyon bittiği gün aseptik koşullarda besiyerlere eklenerek yine aseptik koşullarda petrilere dökülmüştür.

#### **4.Filtrasyon Tekniğiyle Sterilizasyon**

Filtrasyon tekniği ile sterilizasyon, ısı ile yapısı bozulan sıvı materyallerin sterilizasyonunu sağlamak için kullanılmıştır. Bu teknikte, sıvı bir ortam, membran filtre adı verilen özel süzgeçlerden geçirilir. Üre solüsyonunun sterilizasyonunda bu teknik kullanılmıştır. Ölçülü miktardaki üre solüsyonu, 47 mm çapında, 0.45 µm por büyüklüğündeki selüloz membran filtrelerden (Oxoid Ltd.) geçirilerek steril edilmiştir.



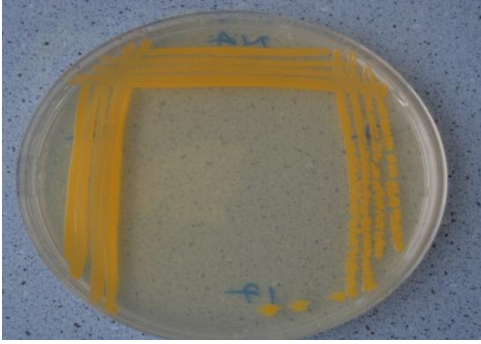
#### EK 4. Bazı İzolatların Test Sonuçları



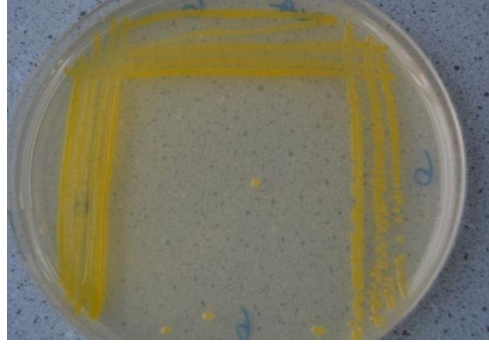
DE009 Koloni Morfolojisi



DE014 Koloni Morfolojisi



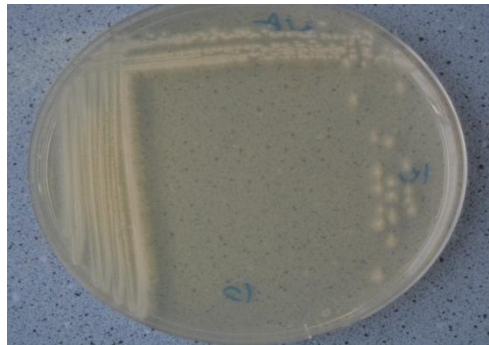
DE017 Koloni Morfolojisi



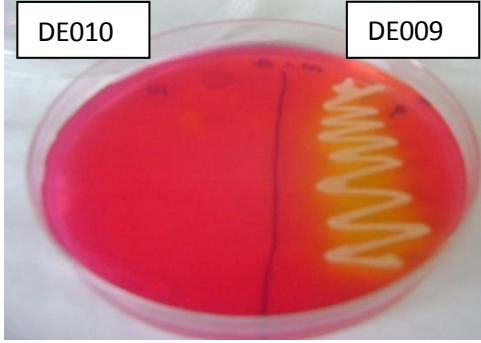
DE006 Koloni Morfolojisi



DE016 Koloni Morfolojisi



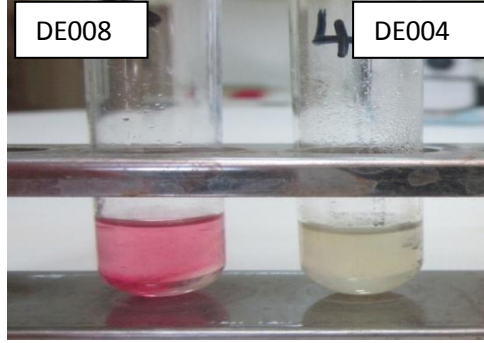
DE010 Koloni Morfolojisi



DE010

DE009

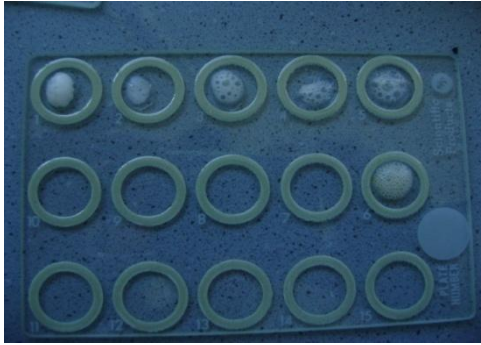
DE009-DE010 Mannitol Salt  
Agar'da üremesi



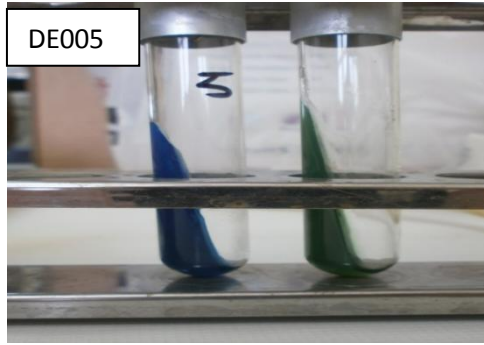
DE008

DE004

DE008- DE004 nitrat redüksiyon

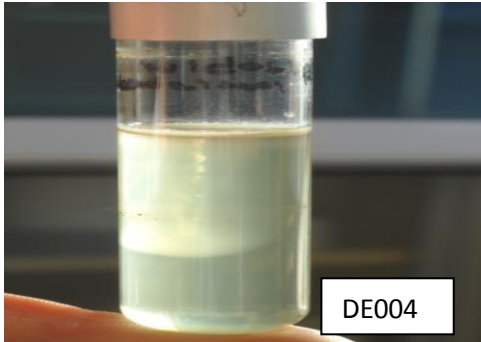


DE001-DE002-DE003- DE004-  
DE005-DE006 Katalaz Testi



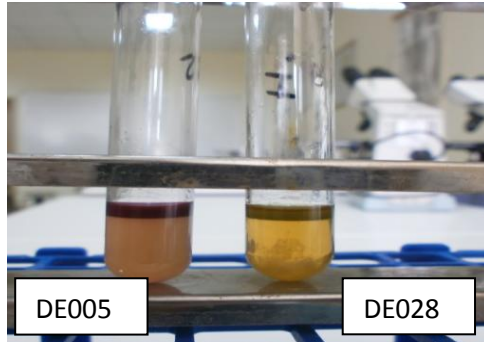
DE005

DE005 Sitrat Testi



DE004

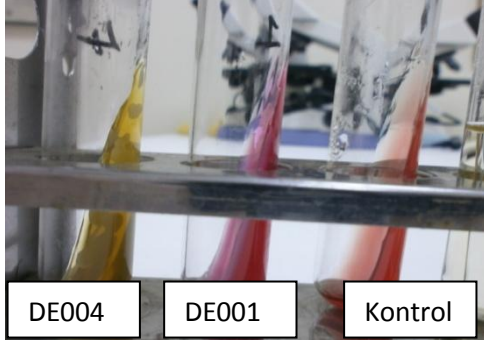
DE004 Hareket Testi



DE005

DE028

DE005-DE028 İndol testi

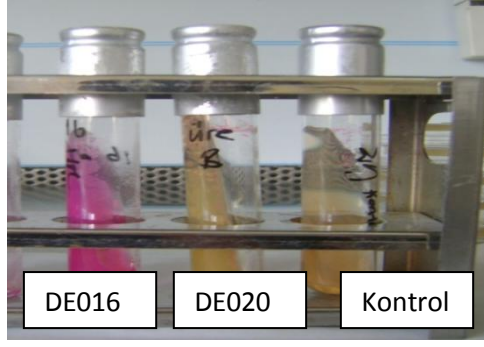


DE004

DE001

Kontrol

KIA Test Sonucu

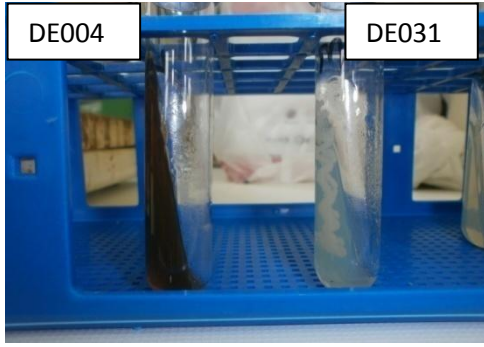


DE016

DE020

Kontrol

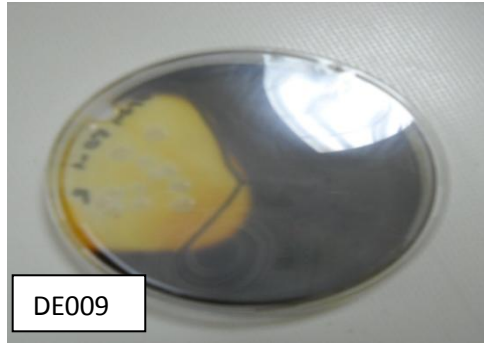
DE016-DE020 Üre  
Hidrolizasyonu



DE004

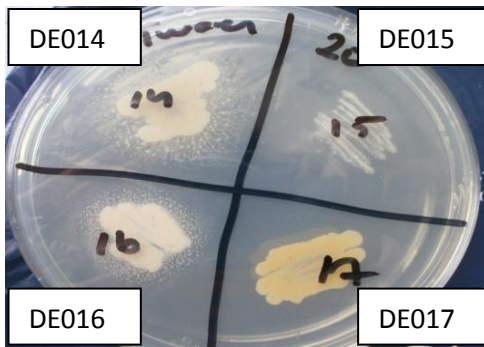
DE031

DE004-DE031 Arbutin Testi



DE009

DE009 Nişasta Degredasyonu



DE014

DE015

DE016

DE017

DE014-DE015-DE016-DE017  
Tween Degredasyonu

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Derya KEÇECİ  
**Doğum Yeri** : GİRESUN/GÖRELE  
**Doğum Tarihi** : 10.06.1989  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**E-mail** : [deryakececiderya@hotmail.com](mailto:deryakececiderya@hotmail.com)  
**İletişim Bilgileri** :

### Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	BİYOLOJİ	ORDU ÜNİVERSİTESİ	2011
Y. Lisans	BİYOLOJİ	ORDU ÜNİVERSİTESİ	2014

Pedagojik Formasyon Eğitimi Sertifikası, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 2012

### Yayınlar:

1. Bal Arılarından (*Apis mellifera*) İzole Edilmiş Çeşitli Bakterilerin 16S rRNA Gen Bölgelerinin ve Bazı Fenotipik Karakterlerinin Belirlenmesi. Ordu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi, 2014
2. Türkiye'de farklı illerden toplanan bal arılarında (*Apis mellifera*) bakteri florasının belirlenmesi ve arılar üzerindeki etkileri, (Sözlü sunum) 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir, 2014
3. Rize İlinden Toplanan Çayların Antimikrobiyal, Antitoksidan Aktiviteleri ve Biyoaktif Bileşenlerinin Tayini, (Poster) 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir, 2014
4. Telemorler ve Yaşlanma. Yüksek Lisans Semineri, Ordu Üniversitesi, 2012