T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİR MAĞARADAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETME YETENEĞİ VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ

Begüm ÇANDIROĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR

Tarih girmek için burayı tıklatın.

İSTANBUL

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİR MAĞARADAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETME YETENEĞİ VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ

Begüm ÇANDIROĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR

Mayıs, 2018

İSTANBUL

Bu çalışma,23.05.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafındanBiyoloji Anabilim Dalı ,Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç. Dr.Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖRI(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr.Ayten Kimiran
İstanbul Üniversitesi
Fakülte

Prof. Dr.Gülşen ALTUĞ
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr.Mustafa YAMAÇ
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi

Dr. Öğr. ÜyesiNazmiye Özlem ŞANLI
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 20759 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca ilk günden son güne dek teşekkür etmem gereken çok değerli ve nazik insanlar oldu. İlk olarak, benim için çok verimli ve dolu geçen bu dönemde bilgisini benimle paylaşan sevgili danışmanım Doç. Dr. Nihal Doğruöz Güngör' e yakınlığı ve tüm paylaşımları için içtenlikle teşekkür ediyorum.

Ayrıca mikrobiyoloji ile tanışıp sevmemi sağlayan bölümümüzdeki tüm hocalarıma başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Ayten Kimiran olmak üzere, öğrendiğim bilgiler için teşekkür ederim. Bu çalışmanın en zor günü olan mağaraya giriş gününde, bize önderliği, yardımları ve emeği için Eray Güngör' e, katkılarından ötürü de ASPEG ekibine teşekkür ediyorum. Hem laboratuvar çalışmalarımda hem de karşılaştığım sorunlarda her zaman sakinlikle çözümler sunan Dr. Öğr. Üyesi Elif Özlem Arslan Aydoğdu hocama ve yine çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi N. Özlem Şanlı hocama çok teşekkür etmek istiyorum. Hem bilgi olarak hem de teknik olarak çalışmamızı zenginleştiren paylaşımları nedeniyle Prof. Dr. Gülşen Altuğ hocama, çalışmam sayesinde tanıdığım, bana ve çalışmama zaman ayıran hocalarım Dr. Sevan Gürün, Dr. Emre Yemişken, Dr. Pelin Saliha Çiftçi Türetken ve Uzm. Samet Kalkan' a ve yine tüm tez dönemimde ihtiyacım olduğu anlarda yardımcı olan Seval Bal ve Duygu Arslan' a da yardımlarından dolayı teşekkür ediyorum.

Son olarak her zaman benim için zor olan işleri kolaylaştıracak formüllere sahip, tez çalışmamda gerçekten çok emeği olan sevgili Arda Bali' ye ve tatlı aileme yanımda oldukları için teşekkürlerimi sunuyorum.

Mayıs 2018 Begüm ÇANDIROĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**
TABLO LİSTESİ ..... **ix**
KISALTMA LİSTESİ ..... **xi**
ÖZET ..... **xv**
SUMMARY ..... **xvii**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **3**
2.1. MAĞARALAR, MAĞARA OLUŞUMU VE TÜRLERİ 3
2.2. MAĞARA OLUŞUMUNDA MİKROORGANİZMALARIN ROLÜ 6
2.3. MAĞARALARDA BULUNAN MİKROORGANİZMALAR 8
2.4. MAĞARA MİKROORGANİZMALARININ ÖZELLİKLERİ VE BİYOTEKNOLOJİK DEĞERİ 10
3. MALZEME VE YÖNTEM **13**
3.1. PARSIK MAĞARASI KONUMU VE ÖRNEK ALINAN BÖLGELERİN BELİRLENMESİ 13
3.2. MAĞARADAN ÖRNEK ALMA İŞLEMİ 14
3.3. ÖRNEKLEME ALANLARINA AİT FİZİKO-KİMYASAL ÖLÇÜMLERİN YAPILMASI 15
3.4. BAKTERİYOLOJİK ANALİZLER 15
3.4.1. Su örneklerinin hazırlanması 15
3.4.2. Toprak örneklerinin hazırlanması 16
3.4.3. Kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakterilerin sayımı 16
3.4.4. Toplam bakteri (canlı/ölü) sayımı 16
3.4.5. Mağara yüzey oluşumlarından bakteri izolasyonu 17
3.4.6. Mağara su örneklerinden bakteri izolasyonu 17
3.4.7. Mağara toprak örneklerinden bakteri izolasyonu 17
3.4.8. Bakterilerin kültür ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi 18
3.4.9. Bakterilerin uzun süre saklanması 18

3.5. BAKTERİLERİN TÜR ANALİZİ VE ENZİMATİK REAKSİYONLAR 18
3.6. BAKTERİLERİN ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETİM YETENEĞİNİN BELİRLENMESİ 19
3.7. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ 19
3.8. KULLANILAN BESİYERLERİ VE HAZIRLANIŞI 20
3.8.1. Triptikaz soya agar 20
3.8.2. Mueller Hinton agar 20
3.8.3. Soil extract agar (Toprak özütü agar) 21
3.8.4. Tap water agar (Çeşme suyu agar) 21
3.8.5. Actinomycetes izolasyon agar-Gliserol 21
3.8.6. İnorganik tuz-nişasta agar (ISP4) 22
3.8.7. Reasoner' s 2 Agar 23
3.8.8. Nişasta kazein agar 23
3.9. KULLANILAN ÇÖZELTİ VE KİMYASALLAR 24
3.9.1. Bakteriyel floresan boyalar 24
3.9.1.1. CTC boya hazırlığı 24
3.9.1.2. DAPI boya hazırlığı 24
3.9.2. Fosfat tampon 24
3.9.3. Gram' ın iyot çözeltisi 24
3.9.4. Sulandırılmış karbol fuksin 25
3.9.5. Kristal viyole 25
3.9.6. Fizyolojik tuzlu su 25
3.9.7. Gliserol çözeltisi 25
3.9.8. Sikloheksimit 25
3.10. KULLANILAN TEST MİKROORGANİZMALARI 26
3.11. KULLANILAN ANTİBİYOTİKLER 26
4. BULGULAR 27
4.1. ÖRNEKLEME ALANLARINA AİT FİZİKO-KİMYASAL ÖLÇÜMLER 27
4.2. BAKTERİYOLOJİK ANALİZLER 27
4.2.1. Parsık Mağarası' na ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayımı 27
4.2.2. Tespit edilen toplam (canlı/ölü) bakteri sayısı 29
4.2.3. Mağara bakterilerine ait kültürel ve morfolojik özellikler 30
4.2.3.1. Mağara oluşum yüzeylerinden izole edilen bakterilere ait özellikler 30

4.2.3.2. Mağaraya ait su örneklerinden izole edilen bakterilere ait özellikler.....32
4.2.3.3. Toprak örneklerinden izole edilen bakterilere ait özellikler.....37
4.3. BAKTERİYEL TÜR KOMPOZİSYONU.....47
4.3.1. Mağara yüzey oluşumlarından izole edilen bakterilerin tür analizi.....47
4.3.2. Su örneklerinden izole edilen bakterilerin tür analizi.....51
4.3.3. Toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin tür analizi.....60
4.4. ENZİMATİK REAKSİYONLAR.....75
4.5. ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETİM YETENEĞİ.....87
4.6. ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİ.....89
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....98
KAYNAKLAR.....109
ÖZGEÇMİŞ.....119

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Mağara yüzey oluşumlarına örnekler. A: Mağara yüzey oluşumları, B: Dikit oluşumu, C: Sarkıt oluşumu. 4

Şekil 2.2: Türkiye karstik alan haritası (MTA). 6

Şekil 3.1: Parsık Mağara haritası (Kırmızı işaretli yerler örnek alınan bölgeleri göstermektedir). 13

Şekil 3.2: Parsık Mağarası' nda örnekleme işlemleri. 14

Şekil 3.3: Parsık Mağarası' nda fiziko-kimyasal ölçümlerin yapılışı. 15

Şekil 3.4: Örneklerin mililitresinde/gramında bulunan mikroorganizma sayısının hesaplandığı formül. 17

Şekil 4.1: Parsık Mağarası su örneklerine ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayıları. 28

Şekil 4.2: Parsık Mağarası toprak örneklerine ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayıları. 28

Şekil 4.3: Parsık Mağara' sından izole edilen bazı bakteri türlerine ait mikroskobik inceleme. 38

Şekil 4.4: Mağara yüzey oluşumlarından izole edilen bakterilerin dahil olduğu filum ve sınıfları gösteren grafikler ve bulunma oranları. 50

Şekil 4.5: Mağara su örneklerinden izole edilen bakterilerin dahil olduğu filum ve sınıfları gösteren grafikler ve bulunma oranları. 59

Şekil 4.6: Mağara toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin dahil olduğu filum ve sınıfları gösteren grafikler ve bulunma oranları. 74

Şekil 4.7: İzole edilen bakterilerin antimikrobiyal aktivite yeteneğini gösteren bazı fotoğraflar. 89

Şekil 4.8: Mağara izolatlarının antibiyotiklere karşı dirençlilik frekansı. 97

Şekil 4.9: Bazı suşların çeşitli antibiyotiklere karşı oluşturdukları direnç veya duyarlılık zonlarının yer aldığı Petri kapları. 97

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1: Su örneklerine ait fiziko-kimyasal ölçümler. 27

Tablo 4.2: DAPI/CTC metoduna göre su ve toprak örneklerinde tespit edilen bakteri sayıları. 29

Tablo 4.3: Mağara yüzey oluşum örneklerinden izole edilen bakterilerin izolasyon besiyerleri ve farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin izolasyon oranları. 30

Tablo 4.4: Mağara yüzey oluşum örneklerinden izole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre oranları.....30

Tablo 4.5: Mağara yüzey oluşum örneklerinden izole edilen bakterilerin kültürel ve morfolojik özellikleri.....31

Tablo 4.6: Su örneklerinden izole edilen bakterilerin izolasyon besiyerleri ve farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin izolasyon oranları. 32

Tablo 4.7: Sudan izole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre oranları.....33

Tablo 4.8: Su örneklerinden izole edilen bakterilere ait kültürel ve morfolojik özellikler. 33

Tablo 4.9: Toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin izolasyon besiyerleri ve farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin izolasyon oranları. 37

Tablo 4.10: Topraktan izole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre oranları.....38

Tablo 4.11: A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.....39

Tablo 4.12: A noktası yüzey izolatlarının tür kompozisyonu. 47

Tablo 4.13: B noktası yüzey izolatlarının tür kompozisyonu.....48

Tablo 4.14: A noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.....51

Tablo 4.15: B noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.....54

Tablo 4.16: C noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.....56

Tablo 4.17: A noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.....60

Tablo 4.18: B noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu. 64

Tablo 4.19: C noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu. 68

Tablo 4.20: Gram (–) bakterilere ait biyokimyasal özellikler. 75

Tablo 4.21: Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler. 78

Tablo 4.22: Gram (+) sporlu bakterilere ait biyokimyasal özellikler. 85

Tablo 4.23: Antimikrobiyal aktivite testi sonuçları. 87

Tablo 4.24: Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları. 89

KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
ADO	: Adonitol
ADH1	: Arjinin Dihidrolaz 1
ADH2s	: Arjinin Dihidrolaz 2
AGAL	: Alfa-Galaktosidaz
AGLTp	: Glutamil Arilamidaz pNA
AGLU	: Alfa-Glikosidaz
AIA	: Actinomycetes Isolation Agar (Actinomycetes izolasyon agar)
AlaA	: Alanin ARİLAMİDAZ
AMAN	: Alfa-Mannosidaz
AMY	: D-Amigdalin
APPA	: Ala-Phe-Pro Arilamidaz
AspA	: L-Aspartat Arilamidaz
ATCC	: American Type Culture Collection (Amerikan tipi kültür koleksiyonu)
BACI	: Basitrasin Direnci
BAlap	: Beta-Alanin arilamidaz pNA
BCL	: Gram pozitif, spor oluşturan basiller
BGAL	: Beta-Galaktosidaz
BGAR	: Beta-Galaktopiranosidaz
BGLU	: Beta-Glikosidaz
BGUR	: Beta-Glukuronidaz
BGURr	: Beta Glukuronidaz
BMAN	**:** Beta-Mannosidaz
BNAG	: Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz
BXYL	: Beta-Ksilosidaz
CDEX	: Siklodekstrin
cm^2	: Santimetrekare
CMT	: Kurmarat
CIT	: Sitrat (Sodyum)
CTC	: 5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride

DAPI : 4',6-diamidino-2-phenylindole
dCEL : D-Selobiyoz
dGAL : D-Galaktoz
dGLU : D-Glikoz
dMAL : D-Maltoz
dMAN : D-Manitol
dMNE : D-Mannoz
dMLZ : D-Melezitoz
dRAF : D-Rafinoz
dRIB : D-Riboz
dSOR : D-Sorbitol
dTAG : D-Tagatoz
dTRE : D-Trehaloz
dXYL : D-Ksiloz
ELLM : ELLMAN
ESC : Eskülin hidrolizi
g : Gram
GAA : Gliserol Asparagine Agar (Gliserol asparagin agar)
GGAA : Glu-Gli-Arg-Arilamidaz
GGT : Gama-Glutamil-Transferaz
GlyA : Glisin Arilamidaz
GLYG : Glikojen
GN : Gram Negatif
GP : Gram Pozitif
H_2S : H_2S oluşumu
IARL : L-Arabitol
IHISa : L-Histidin asimilasyonu
ILATa : L-Laktat asimilasyonu
ILATk : L-Laktat alkalileşmesi
IMLTa : L-Malat asimilasyonu
IRHA : L-Ramnoz
INO : myo-İnositol
INU : Inulin
ISP4 : Inorganic Salts-Starch Agar

KAN : Kanamisin Direnci
LAC : Laktoz
LDC : Lizin Dekarboksilaz
LeuA : Lösin Arilamidaz
LIP : Lipaz
LysA : L-Lizin-Arilamidaz
µg : Mikrogram
µl : Mikrolitre
MBdG : Metil-B-D-Glukopiranosid
MdG : Metil-A-D-Glukopiranosid asitleşmesi
MdX : Metil-D-Ksilosid
MHA : Mueller Hinton Agar
ml : Mililitre
MNT : Malonat
mS : mili Siemens
MTE : Maltotrioz
NC6.5 : % 6,5 NaCl'de çoğalma
NaCl 6.5 % : % 6,5 NaCl'de çoğalma
NAG : N-Asetil-D-Glikozamin
NAGA : Beta-N-Asetil-Galaktozaminidaz
NOVO : Novobiosin Direnci
ºC : Santigrat derece
ODC : Ornitin Dekarboksilaz
OFF : Fermantasyon/ Glikoz
OLD : Oleandomisin Direnci
OPTO : Optokin Direnci
O129R : O/129 Direnci (comp.vibrio.)
PheA : Fenilalanin Arilamidaz
PHC : Fosforil Kolin
PHOS : Fosfataz
PLE : Palatinoz
PIPLC : Fosfatidilinositol Fosfolipaz C
POLYB : Polimiksin B Direnci
POLYB_R : Polimiksin_B Direnci

ppt : g çözünen / kg veya litre çözelti
ProA : L-Prolin Arilamidaz
PSCNa : Putresin Asimilasyonu
PVATE : Piruvat
PyrA : L-Prolidonil-Arilamidaz
PUL : Pullulan
R2A : Reisoner' s 2 Agar
SAC : Sakkaroz/Sükroz
SCA : Starch Casein Agar
SAL : Salisin
SEA : Soil Extract Agar
SUCT : Süksinat alkalileşmesi
TyrA : Tirozin Arilamidaz
TTZ : Tetrazolium Kırmızısı
TWA : Tap Water Agar
URE : Üreaz
UV : Ultra viyole
5KG : 5-Keto-D-Glukonat

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİR MAĞARADAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETME YETENEĞİ VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ

Begüm ÇANDIROĞLU

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR

Dünya'nın farklı koşul ve ortamlarında yaşayabilen birbirinden farklı çok sayıda mikroorganizma olduğu bilinmektedir. Mağaralar, yüksek nem oranı, karanlık ve genelde stabil düşük sıcaklığa sahip ekstrem ortamlardır. Bu yer altı boşluklarının özellikle az miktarda besine ve oksijene sahip olması, burada hayatta kalmayı başarabilen mikroorganizmaların ender ve/veya farklı özelliklere sahip olabileceğini akla getirmektedir.

Bu çalışma kapsamında Parsık Mağarası' na (İzmit, Türkiye) ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri çeşitliliğinin ortaya çıkarılması, izole edilen bu bakterilerin antimikrobiyal madde üretme potansiyelleri ve antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Mağara yüzey oluşumlarından, sudan ve topraktan alınan örneklerden bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Mağara örneklerine ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayısı R2A ve TWA besiyerleri kullanılarak koloni sayma yöntemi ile, total ölü/canlı bakteri sayısı ise DAPI/CTC floresan boyama yöntemi ile ortaya çıkarılmıştır. İzole edilen bakterilerin adlandırılması ve enzimatik özelliklerinin belirlenmesi Vitek 2 Compact 30 mikroidentifikasyon sistemi ile gerçekleştirilmiştir.

Yapılan analiz sonuçlarına göre, Parsık Mağarası' ndan alınan tüm örneklerden Proteobacteria, Firmicutes ve Actinobacteria filumlarına ait bakteriler izole edilmiştir. Yüzey oluşumlarından ve sudan alınan örneklerde *Kocuria*, toprak örneklerinde ise *Lysinibacillus* en sık rastlanan bakteri cinsi olararak belirlenmiştir. Enzimatik reaksiyonları içeren veriler, Parsık Mağarası' ndan izole edilen bakterilerin genellikle proteolitik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu durum incelenen bakterilerin endüstriyel kullanım potansiyelini ortaya koymaktadır. Bakterilerin direnç profili incelendiğinde, ampisiline dirençlilik frekansı yüksek bulunmuşur. Tez deneyleri kapsamında izole edilen Bacilli ve Actinomycetes sınıfına ait seçili bakterilerin, *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC

6633), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Enterococcus fecalis* (ATCC 10541), *Candida albicans* (ATCC 10231), metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) (ATCC 33591) ile vankomisine dirençli *Enterococcus fecalis* (VRE) (ATCC 51299) patojen suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiş, en fazla (% 3,87) *Candida albicans* üzerinde etkili suş tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgular Parsık Mağara izolatlarının metabolik aktiviteleri, substratlara verdikleri reaksiyonlar, antibiyotik dirençlilik frekansları ve antimikrobiyal aktivitelerine yönelik ilk verileri sağlamıştır.

Mayıs 2018, 138 sayfa.

Anahtar kelimeler: Mağara mikrobiyolojisi, antibiyotik duyarlılık, antimikrobiyal madde

SUMMARY

M.Sc. THESIS

ANTIMICROBIAL COMPONENT PRODUCTIVITY AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF BACTERIA ISOLATED FROM A CAVE

Begüm ÇANDIROĞLU

Istanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR

It is known that there are many different microorganisms that can live in different conditions and environments of the world. Caves are extreme environments have high humidity, dark conditions and generally low temperature. The fact that these subterranean spaces have particularly low amounts of nutrients and oxygen, suggests that microorganisms which are able to survive here may have rare and / or different characteristics.

In this study, it was aimed to reveal the cultivated aerobic heterotrophic bacteria diversity of Parsık Cave (İzmit, Turkey), to determine antimicrobial agent production potentials and antibiotic resistance profiles of these isolated bacteria. Bacterial isolation was carried out from the samples taken from the soil, water and cave surface formations. The number of culturable aerobic heterotrophic bacteria in cave samples was determined by colony count method with R2A and TWA medias, and the total number of dead / live bacteria was determined by DAPI / CTC fluorescent staining method. The nomenclature and enzymatic properties of the isolated bacteria were determined using the Vitek 2 Compact 30 microidentification system.

Analyzes showed that bacteria belonging to the phyla of Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacteria are isolated from Parsık Cave. The most common bacteria species in the samples taken from surface formations and water is *Kocuria*, and in soil samples is *Lysinibacillus*. Enzymatic reactions' data set indicate that Parsık Cave bacteria generally have proteolytic activity. This situation reveals the potential industrial use of isolated bacteria. According to antibacterial resistance profile examination, ampicillin was identified as the antibiotic with the highest frequency of bacterial resistance. Antimicrobial activity of the selected Bacilli and Actinomycetes strains isolated in the scope of the thesis experiments were evaluated against pathogenic strains which are *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Enterococcus fecalis* (ATCC 10541), *Candida albicans* (ATCC 10231), antimicrobial activities against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (ATCC 33591) and vancomycin-resistant *Enterococcus fecalis* (VRE) (ATCC 51299). Most of isolated strains (3,87 %) were effective againts *Candida albicans*.

The findings obtained, provided the first data on the metabolic activities, reactions to substrates, frequencies of antibiotic resistance and antimicrobial activities of Parsik Cave isolates.

May 2018, 138 pages.

Keywords: Cave microbiology, Antibiotic resistance, Antimicrobial product

1. GİRİŞ

Üzerinde yaşadığımız gezegen sahip olduğu çeşitli ortam ve canlılarda pek çok mikroorganizma barındırmaktadır. Mikroskobun keşfiyle tanıştığımız bu canlıların, bugün yalnızca yaşam ortamımızda değil volkanik çevrelerden, buzullara, deniz diplerinden mağaralara dek pek çok farklı özelliğe sahip ekstrem ortamlarda da yaşayabildikleri bilinmektedir.

Mikroorganizmaların yalnızca hastalık yapmayıp ekosistemde yararlı özelliklerinin olduğu bilgisine erişildiğinden beri bu canlılar ve sahip oldukları özellikler üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Yakın geçmiş ve günümüzde ise bu canlıların sahip olduğu özelliklerden yararlı ürünler elde etme amacı giderek popüler hale gelmiştir. Bu anlamda farklı ekosistemlerin araştırılması biyoteknolojik ürünlerde kullanılabilecek yeni mikroorganizmaların, farklı mikrobiyal ürünlerin veya mekanizmaların keşfedilmesi anlamında önemli bir yere sahiptir. Ekstrem koşullarda yaşayan mikroorganizmaların incelenmesi ise özellikle adaptasyon yetenekleri nedeniyle farklı özellik ve mekanizmalara sahip olmalarından dolayı önemlidir (Lee ve diğ., 2012). Bunun başlıca sebebi bu tip koşullara sahip ortamlarda mikroorganizmaların hayatta kalma yeteneklerinin keşfedilip, insan yaşamına katkı sağlayabilecek ürünlere dönüşebilme potansiyeli taşımasıdır (Onaga, 2001). Çoğunlukla en az bir insanın girebileceği ve yüzeyden yer altına uzanan boşluklar olarak tanımlanan mağaralar, ekstrem araştırma ortamlarındandır (Curl, 1996).

Mağaraların genelde yıl boyu stabil, çoğunlukla soğuk ortam şartlarına sahip olması, yeryüzünün aksine her zaman karanlık ve nemli koşulları, bu yer altı habitatlarının ekstrem olarak tanımlanmasına neden olmaktadır (Barton ve Northup, 2007).

Canlı yaşamı için zorlu koşullara sahip mağaraların her biri özgün nitelikler taşımaktadır. Buna paralel olarak her mağara kendi özgün ekosistemine sahiptir. Her mağarada ışık alma özelliklerine göre ayrılan zonlar, özellikle fototrof canlıların yaşadığı bölgeler için seçici olmakta ve farklı özellikte canlıları barındırmaktadır. Mağara içerisinde bulunan; sarkıt, dikit, sütun, mağara incisi, mağara perdesi gibi oluşumlar ve bunların nasıl meydana geldiği ilgi çekicidir. Özellikle karstik mağara oluşumlarının, fiziksel ve kimyasal parametreler kadar

mikrobiyal süreçler sayesinde de biçimlendiği bilinmektedir (Hose ve diğ., 2000; Northup ve Lavoie, 2001).

Canlı çeşitliliği bakımından bilinen en zengin mağaralar karstik oluşum özelliği gösteren mağaralardır (Palmer, 1991). Ülkemizde 35.000-40.000 civarında mağara olduğu tahmin edilmektedir. Keşfedilen ve kayıt altına alınan mağara sayısı ise yaklaşık 3000' dir. Bu mağaraların çok azı mikrobiyolojik yönden araştırılmıştır.

Tez çalışmamız kapsamında İzmit iline bağlı Kazandere Köyü' nde konumlanan, karstik oluşum özelliğine sahip Parsık Mağara' sı seçilmiştir. Mağaraya ait örneklerden kültüre edilebilen areobik heterotrofik bakterilerin izolasyonu, izolatların biyokimyasal tür analizi ve enzimatik özelliklerinin belirlenmesi, çalışmanın ilk hedefi olarak gerçekleştirilmiştir. Ardından izolatların antibiyotik direnç profilleri ve antimikrobiyal madde üretme yetenekleri araştırılmıştır. Bu özellikler kapsamında mağara bakterilerine ait ürün ve niteliklerin biyoteknolojik amaçlarda kullanım potansiyeli değerlendirilmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. MAĞARALAR, MAĞARA OLUŞUMU VE TÜRLERİ

Yeryüzünden Dünya' nın merkezine uzanan, en az bir insanın uzuvlarıyla beraber sığabildiği ve derinlikleri birkaç metreden binlerce kilometreye uzanabilen girinti ve oyuklar mağara olarak isimlendirilmektedir (Palmer, 1991; Northup ve Lovoie, 2001). Ekstrem koşullara sahip bu yer altı şekilleri büyüklüklerine, derinliklerine veya oluşum biçimlerine göre birçok farklı kategoride farklı sınıflara ayrılır, ancak temelde tüm mağaralar içlerinde yaşayan canlılar için de belirleyici olan ışık zonlarına ayrılmıştır. Mağaraya girişin yapılabildiği ışıklı ve fototrofik canlıların yaşayabildiği ilk kısım aydınlık giriş zonu olarak isimlendirilmektedir. Güneş ışığının daha az olduğu, hayvan ve insanların kısmen daha rahat ulaştıkları ve bu sebeple mağara habitatına ait olmayan canlıların gözlemlenebileceği ikinci kısım ise alacakaranlık zonunu oluşturmaktadır. Mağaranın en derin, kesinlikle ışık almayan ve mağaraya özgü canlıların daha sık rastlandığı kısım ise karanlık zon olarak adlandırılmaktadır.

Genel anlamda ise mağaralar yapay, yarı yapay- yarı doğal ve doğal mağaralar olarak üç sınıfta incelenir. İnsanların çeşitli kullanımlar amacıyla oluşturdukları boşluklar yapay mağara sınıfına girmektedir. Bu tip oluşumlar kolay şekil alan kireç taşı ve benzeri kayaçlardan oluşmaktadır. Yarı yapay- yarı doğal mağaralar, doğal oyukların sonradan insanlar tarafından kullanılım amacıyla biçimlendirilmesi ile oluşmaktadır. Doğal mağaralar ise bilimsel çalışmalar açısından daha önemli grupları barındırmaktadır. Birincil ve ikincil mağara grupları altında iki ana başlıkta incelenebilen doğal mağaraların ortak özelliği, oluşum ve biçimlenme süreçlerinin çeşitli doğal etkenler tarafından sağlanmasıdır. Oluşumlarına göre ana kaya ile aynı zamanda biçimlenmiş mağaralar birincil mağaralar olup, lav tünelleri bu gruba örnek gösterilebilir. Oluşum ortamında kireçtaşı, jips, dolomit, kumtaşı veya çakıl taşı gibi eriyebilir niteliğe sahip kayaçların bulunduğu, yer altı sularının biçimlendirdiği mağaralar ise ikincil mağaralar olarak isimlendirilir. Suyun çeşitli kayaçlar üzerindeki aşındırma etkisinin, farklı biçimler ve özelliklere sahip yer altı oyukları oluşturması karstlaşma olayı olarak isimlendirildiği için ikincil mağaralar aynı zamanda karstik mağaralar olarak da adlandırılmaktadır.

İkincil mağara oluşumunu fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak açıklamak mümkündür. Fiziksel olarak, suda eriyebilir özelliklere sahip kayaçların bu etki ile mağaraları oluşturması ve biçimlendirmesi ile özetlenebilecek karstlaşma olayı; suyun niteliği, iklim koşulları, kayaç

çeşidi, karbondioksit miktarı gibi farklı etmenlere bağlı olması nedeniyle, oluşan her mağaraya özgün karakterler kazandırmaktadır.

Her mağarada farklı şekillerde gözlemlenebilen sarkıt, dikit, mağara incisi, mağara perdesi gibi çeşitli oluşumlar da yine fiziksel olarak aynı şekilde, ana kayaç üzerinden geçen suyun toplayıp getirdiği iyonların birikmesiyle oluşmaktadır.

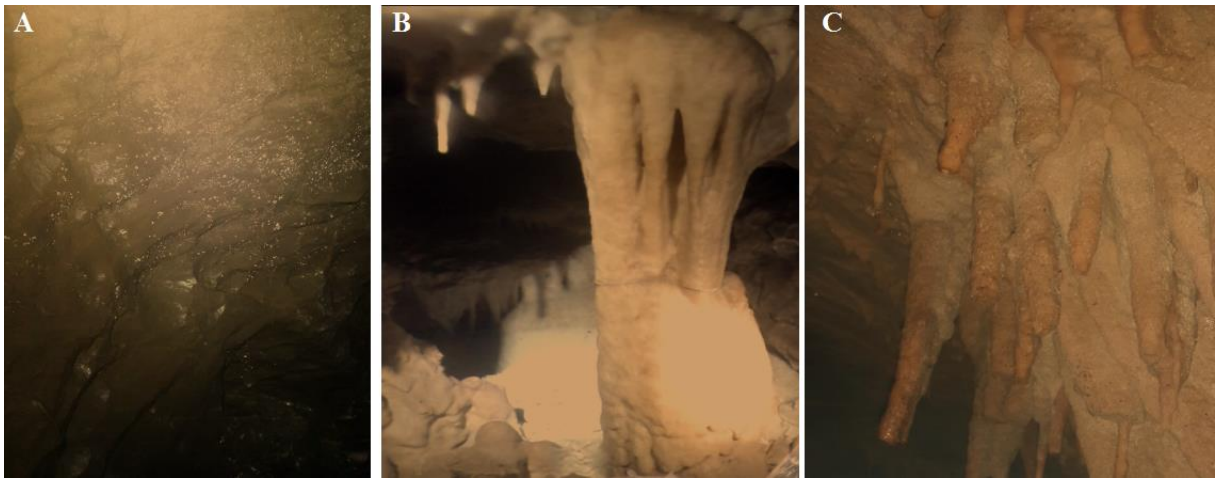
Kimyasal olarak ise oluşum esası, mağara içine ulaşmış suyun barındırdığı eriyik haldeki karbon iyonlarının ısı, basınç azalması ve buharlaşma gibi nedenlerle CO_2' i kaybetmesi ve $CaCO_3$' ın çökerek, speleothem denilen sarkıt, dikit gibi mağara yapılarını oluşturmasına dayanmaktadır (Gornitz, 2009).

$$H_2O + CO_2 \Rightarrow HCO_3 + H$$

$$CaCO_3 + HCO_3 + H \Rightarrow Ca(HCO_3)_2$$

$$Ca(HCO_3)_2 \Rightarrow CaCO_3 + H_2O + CO_2$$

Ayrıca karbondioksit oranı, nemlilik, ortamdaki suyun pH' sı gibi etmenler çökeltilerin oluşmasında etkilidir (Ozansoy ve Mengi, 2006). Mağaralardaki çeşitli oluşumlara örnekler Şekil 2.1' de verilmiştir.



Şekil 2.1: Mağara yüzey oluşumlarına örnekler. A: Mağara yüzey oluşumları, B: Dikit oluşumu, C: Sarkıt oluşumu.

Fiziksel ve kimyasal reaksiyonların biçimlerinde etkili olduğu mağara oluşumları ve mağaralarda bulunan yapıların biyolojik reaksiyonlardan da etkilenerek şekil aldığı, pek çok mikroorganizmanın kayaçlar üzerinde aşınma ve çökeltilerin oluşmasına neden olan etkileşimlerde rolü olduğu bilinmektedir (Barton ve Jurado, 2007).

Mağaralar derinliklerine göre sınıflandırıldıklarında yatay ve dikey mağara formlarıyla karşılaşılmaktadır. Yer altına doğru dikey veya yatay bir ilerleyiş sergileyen mağaralar uzunlukları ve derinliklerine göre farklı ölçülere sahip olmaktadır. ABD - Kentucky' de bulunan Mammoth Mağara Sistemi, 590.629 m' lik uzunluğuyla Dünya' daki en uzun mağaradır. Ülkemizde aynı ünvana sahip Pınargözü Mağarası ise 16.000 m uzunluğunda olup Isparta ilinde bulunmaktadır. Gezegenimizde en derin mağara ünvanı Abhazya- Gagra' da bulunan Krubera Mağarası' na aittir ve derinliği 2140 m' dir. Ülkemizde yine Peynirlikönü Mağarası 1429 m derinliği ile en derin mağaradır (http://www.tayproject.org/).

Dünya çapında yapılan araştırmalara göre, var olan tüm mağaraların yalnızca yüzde 10' u keşfedilmiştir (Eavis, 2009; Engel, 2011). Türkiye coğrafyasının ise beşte ikisi karstik alanlardan oluşmakta (Şekil 2.2) ve ülkemizde karstik mağara sayısının 35.000-40.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (http://www.mta.gov.tr/v3.0/arastirmalar/magara-envanteri).



Şekil 2.2: Türkiye karstik alan haritası (MTA).

Buna rağmen ülkemizde keşfedilen ve kayıtlı yaklaşık 3000 mağara bulunmaktadır (http://www.tayproject.org/). Özellikle karstik mağaralar bakımından oldukça zengin olduğu düşünüldüğünde, ülkemiz keşfedilecek zengin ekosistemler bakımından da önemli bir potansiyel taşımaktadır (Yamaç, 2003).

2.2. MAĞARA OLUŞUMUNDA MİKROORGANİZMALARIN ROLÜ

Günümüzde kalsit gibi çeşitli mağara çökeltilerinin oluşumunda, tek başına fiziksel etmenlerin değil, aynı zamanda mağara mikroorganizmalarının gerçekleştirdiği etkileşimlerin de katkısı olduğu bilinmektedir (Hose ve diğ., 2000; Leveille ve diğ., 2000; Riding, 2000; Warthmann ve diğ., 2000; Northup ve Lavoie, 2001; Warren ve diğ., 2001; Hammes ve diğ., 2003; Bosak ve Newman, 2005; Baskar ve diğ., 2006; Barton ve Jurado, 2007). Karstik mağaraların oluşumu için gereken su, mağara ortamına organik madde taşınmasını sağladığı için mağaralarda canlı yaşamı mümkün hale gelmekte ve bu sayede biyolojik nedenlere bağlı mağara çökeltileri veya yapı aşınmaları için potansiyel başlangıcı oluşturmaktadır. Başta tüm aerobik yaşam formları yalnızca solunumlarıyla CO_2 miktarında artışa sebep olarak bile kalsiyum karbonatlarda aşınma meydana getirir ve mikrokarstik biçimlenmeye sebep olur. Mağaraların ışık alan giriş zonundaki fototrofik bitki, alg ve mikroorganizmalar ise oksijen miktarının artmasına sebep

olduğu için mağaranın alacakaranlık ve karanlık zonlarında karbondioksit miktarına bağlı mikrokarstik aşınmanın daha fazla oluşması mümkündür.

Diğer mağaralara nazaran karstik mağaraların biyolojik olarak çok daha zengin olduğu bilinmektedir (Palmer, 1991). Mağara yapı ve biçimlerinin biyolojik açıdan oluşumu yalnızca karbondioksit artışına bağlı kimyasal süreçlerle sınırlı değildir. Pek çok karstik mağarada bulunan mikroorganizmaların, kalsit kristallerde ve diğer mineral yüzeylerde kolonize olduğu, ayrıca karbon speleothemler üzerinde ve/veya içinde mikrobiyal aktivitelerin gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Castanier ve diğ., 1999). Çökelti oluşumuna sebep olan mikroorganizmalar, speleothemlerin büyümesine doğrudan katkı sağlar ayrıca kristal materyallerin türünü de belirler (Jones, 1995). Kompleks kristal yapıları ile karakterize edilen kalsifikasyon mikroorganizmaları, sahip oldukları metabolik süreçler ve ürünleri nedeniyle benzersiz yapı ve ortamlar oluşturur (Riding, 1977). Bu oluşum pasif olarak, çevresel parametrelere bağlı olarak veya doğrudan mikrobiyal kalsifikasyonla sürekli devam etmektedir (Golubić, 1973; Northup ve Lavoie, 2001). Mağaralarda oluşumu devam eden sarkıtların uç kısımlarında yerçekimine paralel olarak su damlacığı bulunmaktadır. Bu şekilde aktif olan sarkıtlardaki su damlalarında fungal hifler belirlenmiştir (Northup ve Lavoie, 2001). Bu sayede mikroorganizmaların aktivitesine de bağlı olarak sarkıt dikit gibi yapıların devamlı oluşum halini koruduğu gözlemlenmektedir.

Mağara ortamlarının besin ve enerji açısından yetersiz olması, mikroorganizmaların rekabet etmesine veya işbirliği yapmasına neden olmaktadır. Bu rekabet ve işbirlikleri sonucunda ikincil metabolitler oluşmakta ve bu ürünlerin de mağaraların şekli ve değişiminde rol oynadığı bilinmektedir (Cañaveras ve diğ., 2001; Northup ve Lavoie, 2001; Engel ve diğ., 2004; Chen ve diğ., 2009; Barton, 2013). Yüzeydeki mikroorganizmalar, pigment, siderofor veya antibiyotik gibi ikincil metabolitleri ile bulundukları mağara yüzeyinde doğrudan çökelti oluşumu, renk değişimi veya aşınma gibi değişimlere sebep olabilir (Rajput ve diğ., 2012; Gabriel & Northup, 2013). Mikroorganizmaların mineral mağara yüzeylerine yaptığı aşınma ve korozyon oluşumu gibi etkiler ekzoenzimlerin, organik ve mineral asitlerin salgılanması gibi mekanizmalara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Sand, 1997). Özellikle, mağaralarda çözünme işlemleri demir, kükürt ve manganezi oksitleyen bakterilerin reaksiyonları yoluyla meydana gelir. Mikrobiyal etkileşimlere bağlı olarak oluşan asit, mağara duvarlarında veya speleothemlerde çözülmeye neden olur (Engel ve diğ., 2001). Hatta mağara duvarlarındaki

geçmişten günümüze ulaşan tarih öncesi resim yazı gibi değerli kalıntılarda mikrobiyal aktiviteler nedeniyle hasar görüldüğü belirlenmiştir (Cañaveras ve diğ., 2001; Allemand ve Bahn, 2005; Fox, 2008; Engel ve diğ., 2010).

Mağaraların jeolojisi, coğrafyası, kayaç yapıları ve koşulları (sıcaklık, ışık, nem, su, organik madde, pH ve mağaranın iç yüzeyinin inorganik yapısı) her mağarayı eşsiz kılmaktadır. Çevresel farklılıklar nedeniyle her mağarada farklı ekosistemler oluşurken, mağaraların yüksek mikrobiyal çeşitliliği de yine, her mağaranın kendine ait özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Sarbu ve diğ., 1996; Sarbu ve Lascu, 1997; Northup ve Lavoie, 2001).

2.3. MAĞARALARDA BULUNAN MİKROORGANİZMALAR

Birbirinden farklı kayaç ve oluşumlara sahip karstik mağaralar genel olarak yıl boyu stabil sıcaklıklara sahiptir. Nem oranı yüksek, karanlık ve genellikle düşük sıcaklık özellikleri nedeniyle mağaralar ekstrem ortam koşullarına sahip yeryüzü şekillerindendir. Bu sebeple mağara ortamlarına adapte olan canlıların incelenmesi ve bu canlıların geliştirdikleri özelliklerin araştırılması oldukça önemlidir. Öte yandan, bir mağarada mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi, gezegendeki çeşitli ekosistemlerin anlaşılması açısından da değerlidir.

Mikroorganizmaların mağara biçimlerine katkısı dışında besince fakir bu ortamlara nasıl adapte olduğu ve sahip oldukları genetik özellikler jeomikrobiyoloji açısından önemli konulardır (Lee ve diğ., 2012). Yer altı çevrelerinde, bitki ve fototrofik mikroorganizmaların gelişimi ışık olmadığı için engellenir. Dolayısıyla mağaralar limitli kaynaklara sahiptir. Çeşitli çalışmalarda kemolitotrofik bakterilerin (enerjilerini kükürt, hidrojen sülfür gibi kimyasal bileşiklerin oksidasyonundan sağlayan mikroorganizmalar) ışığın hiç olmadığı ortamlarda primer üretici olarak rol oynadığı ve heterotrofik mikroorganizmaların gelişimlerini sağladığı ortaya konmuştur. Movile Mağarası (Romanya), Frasassi Mağarası (İtalya), Lechuguilla Mağarası (New Mexico, ABD), kemolitotrofik mikroorganizmaların primer üretici olduğu mağaralardır (Chen ve diğ., 2009, Porter ve diğ., 2009). Diğer bazı mağaralarda ise, damlama suları, ziyaretçiler ve hayvanlar özellikle de yarasalar tarafından sağlanan organik madde girişi, heterotrofik mikroorganizmaların yaşamına olanak sağlar (Groth ve Saiz-Jimenez 1999; Groth ve diğ., 1999). Sahip oldukları kısıtlı besin ve karanlık koşullara göre farklı mikroorganizma gruplarını barındıran mağaralar, soğuk ortam koşulları nedeniyle de psikrofil (soğukta

yaşayabilen) ve psikrotolerant (soğuğa adapte olabilen) mikroorganizmalar için uygun ortamlardır (Schaberiter-Gurtner ve diğ., 2002; Barton ve Northup, 2007).

Bir mağaraya ait mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi Dünya üzerinde mikrobiyal keşiflerin artması ve ekoloji çalışmaları açısından değerlidir. Mikrobiyal çeşitliliğin araştırılması bu ortamlarda yaşayan ender mikroorganizmaların keşfedilme potansiyelini de taşımaktadır. Mikrobiyolojik çeşitliliği ilk kez belirlenecek mağaraların, ilk girilen/ayak basılan özellikte olması kadar, mikrobiyolojik örneklemenin nasıl ve hangi bölgelerden yapıldığı da özellikle mağara habitatına özgü mikroorganizmaların bulununabilmesi ve yeni canlıların keşfi için büyük önem taşımaktadır. Ayrıca örneklemenin doğru yapılabilmesi için bu işlemin mağaracı biyologlar tarafından yapılması gerekmektedir. Yeryüzünden mağara içine giren sularda yüzeye ait bakterilerin bulunması normaldir ve bu mikroorganizmaların mağara ekosistemine spesifik olduğunu söylemek doğru olmayacaktır. Mağara içinde durgun haldeki su birikintileri, sediment ve mağara oluşumlarından alınan örnekler ise mağaraya spesifik mikroorganizmaların araştırılması için daha doğru alanları oluşturmaktadır.

Bugün var olan mikroorganizmaların % 1' inden daha azı kültüre edilebilmektedir. Mağaralar yeni canlıların keşfi, yeni gen havuzlarının ortaya çıkarılması ve kültür ortamında çoğaltıp isimlendirme çalışmaları için değerli potansiyele sahip ekstrem ortamlardır (Winogradsky, 1949; Amann ve diğ. 1995). Moleküler metotların gelişmesi ile mağaralardan izole edilen ve ilk kez tanımlanan *Nocardia*, *Mycobacterium*, *Rhoodoccus* cinslerine ait türler, Actinomycetes türlerinin taksonomik sınıflandırmasında değişimlere sebep olmuştur (Mignard ve Flandrois, 2008; Rodríguez-Nava ve diğ., 2008). Üstelik bu türlerden bazı suşların çeşitli hastalıklara, örneğin cilt, akciğer ve / veya beyin enfeksiyonlarına neden olabildiği de bildirilmiştir (Iida ve diğ., 2005). Mağaralarda yapılan kültür temelli mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda çoğunlukla izole edilen bakteriler Proteobacteria, Actinobacteria ve Firmicutes gruplarıdır (Barton ve Jurado, 2007; Zhou ve diğ., 2007; Jurado ve diğ., 2010). Bununla birlikte, bu sonuçlar her mağaranın özelliklerine göre değişebilir niteliktedir. ABD'de Wind Mağarası' nın baskın gruplarında Gammaproteobacteria ve Acidobacteria (Chelius ve Moore, 2004) yer alırken, Lower Kane Mağarası sülfidik mağara biyofilminde ise Gammaproteobacteria ve Epsilonproteobacteria baskındır (Engel ve diğ., 2010). Zhou ve diğ. (2007), İspanya ve Çin mağaralarında en baskın filumun Proteobacteria olduğunu, Acidobacteria'nın ise ikinci baskın grup olduğunu bildirmiştir.

Mağaralarda gerçekleştirilen arke çalışmalarında, ferromangan mağara çökeltilerinde mezofilik Crenarchaeota ve Euryarchaeota gibi arke gruplarının izole edildiği gözlemlenmektedir (Northup ve diğ., 2003; Chelius ve Moore, 2004). Öte yandan mağara ortamlarındaki mantarlar üzerine yapılan çeşitli jeomikrobiyoloji çalışmalarında Ascomycota' nın baskın grup olduğu ortaya çıkarılmıştır (Nagai ve diğ., 1998; Dupont ve diğ., 2007; Kiyuna ve diğ., 2008; Docampo ve diğ., 2010).

Mağara virüs çeşitliliği çalışmaları diğer çalışmalara oranla çok nadir olmakla birlikte su, toprak sediment örnekleri üzerinde gerçekleşen viral çeşitlilik çalışmasına rastlanmamıştır. Mağaradan izole edilen virüsler üzerine yapılan çalışmalar, genellikle yarasalar üzerinden izole edilen virüslerin hastalıkla ilişkisi hakkındadır (Osborne ve diğ., 2003; Jurado ve diğ., 2010). Öte yandan biyofilm mikroorganizmaları ve protozoalar da yine mağaralardan izole edilen diğer mikroorganizmalardır. Bu gruplar daha çok patojen olup, hastalıklara neden olup olmadıklarının anlaşılması amacıyla incelenmiştir (Bastian ve diğ., 2009; Jones ve diğ., 2012).

2.4. MAĞARA MİKROORGANİZMALARININ ÖZELLİKLERİ VE BİYOTEKNOLOJİK DEĞERİ

Mikroorganizmalara ait ürünler, insan hayatına katkı sağlaması amacıyla pek çok biyoteknolojik çalışmada ve üründe kullanılmaktadır. Mağara mikroorganizmalarına ait özellikler başta sahip oldukları farklı ekosistem nedeniyle araştırılmaya değer, özgün ve kıymetlidir.

Pek çok mağara, başta besin yetersizliğinden dolayı mikroorganizmaların rekabet halinde olduğu bir ortamdır (Northup ve Lavoie, 2001; Zhou ve diğ., 2007; Dapkevicius, 2013). Bu nedenle bu rekabet ortamında üretilen çeşitli sekonder metabolitler, antimikrobiyal maddeler ve enzimler klinik veya endüstriyel alanlarda kullanım potansiyeli taşımaktadır (Ehrlich, 1997). Özellikle bazı mikroorganizma enzimlerinin biyoçözücü ve atıkların geri dönüşümü için fayda sağladığı bilinmektedir (Münster ve De Haan, 1998). Günümüzde çeşitli çözücü ve aşındırıcı etkisi bulunan deterjan, arındırıcı, kir veya atık çözen ürünlerin içinde mikrobiyal enzimler bulunmaktadır. Soğuk mağara veya okyanustan izole edilen mikroorganizmaların ortam sıcaklığının düşük olmasına rağmen enzim üretimi yapabilme potansiyeli, enzim aktivasyonu için gereken (30 ^{o}C ve üstü) yüksek sıcaklıklara gerek kalmaksızın ürünlerin kullanılabilmesine

olanak tanır. Bu sayede hem ekonomik olarak hem de enerji kayıplarının önüne geçilerek fayda sağlanması mümkün olmaktadır (Russell, 1998; Gerday ve diğ., 2000; Cabeza ve diğ., 2011).

Mağara ekosisteminde yer alan mikroorganizmaların bir diğer önemi antimikrobiyal madde salgılama özelliğidir. Günümüzde birçok enfeksiyonun tedavisi için sentetik olarak üretilen çeşitli antibiyotikler mevcuttur. Öte yandan özellikle bilinçsizce artan antibiyotik kullanımı mikroorganizmaların mevcut antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesine neden olmakta ve bu nedenle kullanılan ilaçlar etki göstermemektedir. Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı dirençlerinin artması yeni antimikrobiyal maddelere ihtiyaç duyulmasına sebep olmaktadır. Mağara ortamlarının kısıtlı kaynaklara sahip olması mikroorganizmaların rekabetine ve bu esnada çeşitli antimikrobiyal maddeleri üretmelerine yol açmaktadır (Northup ve Lavoie, 2001; Zhou ve diğ., 2007; Dapkevicius, 2013). Bu nedenle mağaralar sahip oldukları ekstrem koşullarda yaşayan mikroorganizmalara ait antimikrobiyal maddelerin keşfedilmesi için önemli araştırma ortamları sunmaktadır (Sanchez ve diğ., 2009).

Pek çok çalışma yer altı habitatlarında antibiyotik dirence sahip mikroorganizmaların bulunduğunu göstermektedir (Brown ve Balkwill, 2009; Bhullar ve diğ., 2012). Mağara mikroorganizmaları ile yapılan araştırmalar, mikroorganizmalarda antropojenik etkilerin neden olduğu çoklu ilaç direnci konusuna yeni bakış açıları getirmektedir. Thaller ve diğ. (2010) ait, mağaradan izole edilen mikroorganizmaların antibiyotik dirençliliği konusunda yapılan çalışma, direncin antropojenik etkiler nedeniyle oluştuğunu kanıtlar nitelikte bulgular taşırken, benzer şekilde insan girişinin olmadığı yer altı habitatlarında gerçekleşen farklı çalışmalar, antibiyotik direnç özelliğinin antropojenik etki ile bağlantısız da gelişebileceği fikrini işaret etmektedir (Brown ve Balkwill, 2009; Bhullar ve diğ., 2012). Bu nedenle mağaralar hem antibiyotik dirençle ilgili deneylerin yapılması hem de direnç genleri ve mekanizmasının anlaşılabilmesi için önemli ortamlardır (Knapp ve diğ., 2010). Farklı direnç mekanizmalarının keşfedilmesine paralel olarak, farklı antimikrobiyal maddelerin elde edilme potansiyeli de artmaktadır (Francisco ve Demain, 1980). Bu nedenle farklı mikroorganizmalara ait antibiyotik direnç mekanizmalarının araştırılması klinik problemlere karşı yeni çözümlerin üretilmesi için önem taşımaktadır (D'Costa ve diğ., 2006; Bhullar ve diğ., 2012).

Mağaralarda sıklıkla izole edilen Proteobacteria, Actinomycetes ve Firmicutes filumlarının antimikrobiyal ve biyoaktif bileşenleri üretme potansiyeli mağara mikrobiyoloji çalışmalarını cazip hale getirmektedir (Tomova ve diğ., 2013). Bu bilgiyi destekler nitelikte, Jiang ve diğ.

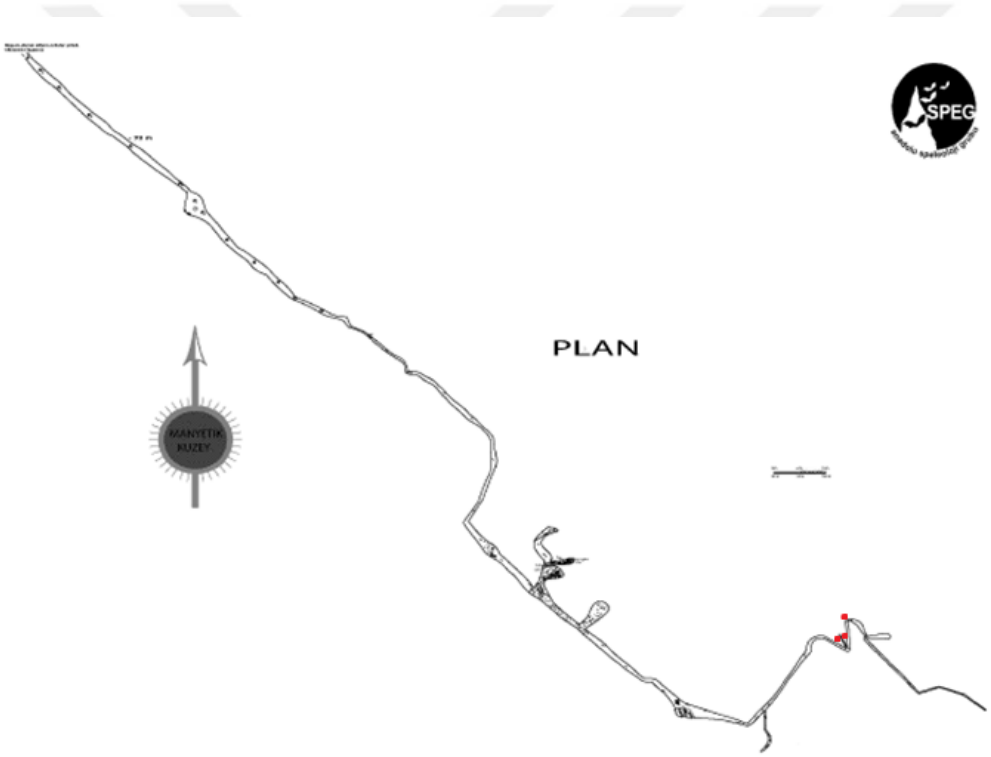
(2015), yaptıkları çalışmada mağara habitatına özgü mikroorganizmaların etkili antifungal ve antibakteriyel bileşenlere sahip olduğunu, etkili antimikrobiyal maddeleri üretme özelliğindeki mikroorganizmaların yer altı habitatlarında yaygın olarak bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca karstik mağaralarda antimikrobiyal aktivitelerin genellikle Actinomycetes sınıfına ait bakteriler tarafından oluşturulduğu tespit edilmiştir (Yücel ve Yamaç, 2010).

Parsık Mağarası' ndan izole edilen bakterilerin sahip olduğu enzimatik reaksiyonlar, antimikrobiyal aktivite ve antibiyotik dirençliliği, biyoteknoloji alt yapısı taşıyan alanlara fayda sağlayabilecek verilerin keşfedilmesi amacıyla araştırılmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. PARSIK MAĞARASI KONUMU VE ÖRNEK ALINAN BÖLGELERİN BELİRLENMESİ

Parsık Mağarası; Başiskele İlçesi, Yuvacık Beldesi, Kazandere Köyü konumunda İzmit iline bağlıdır. Yatay bir mağara olan Parsık Mağarası' nda planlanan örnekleme işlemi mağaranın karanlık zonunda yer alan üç farklı bölgede gerçekleştirilmiştir. Örnek alınan bölgeler Şekil 3.1' de mağaraya ait harita üzerinde gösterilmiştir. Belirlenen bölgelerde üç farklı su, üç farklı toprak ve iki farklı yüzeyden örnekleme yapılmıştır.



Şekil 3.1: Parsık Mağara haritası (Kırmızı işaretli yerler örnek alınan bölgeleri göstermektedir).

Örneklemeler, dışardan mağara içine akan aktif suyun akış yolu üzerinde bulunmayan ve eğitim amaçlı gezi rotasının dışında kalan kuytu ve nispeten daha izole alanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Öte yandan örnek alınan noktalar arası yükseklik farkı bulunmaktadır.

3.2. MAĞARADAN ÖRNEK ALMA İŞLEMİ

Seçilen 3 farklı noktadan su ve toprak numuneleri steril örnek kaplarına alınmıştır. Ek olarak belirlenen 2 noktaya ait mağara yüzey oluşumlarından, aseptik şartlarda eküvyon ile örnekleme yapılmış ve hemen o esnada, her bölge için çift tekrarlı olarak besiyerlerine ekilmiştir (Şekil 3.2) (Groth ve diğ.,1999). Yüzey oluşumları için kullanılan izolasyon besiyerleri, her biri 50 µg/ml oranında sikloheksimit içeren; Starch Casein Agar (SCA; nişasta kazein agar), Inorganic Salt-Starch Agar (ISP4; inorganik tuz-nişasta agar), Actinomycet Isolation Agar (AIA-G; Actinomycet izolasyon agar-gliserol) ve Soil Extract Agar (SEA; toprak özütü agar) olarak tercih edilmiştir. Örnekler en kısa sürede mikrobiyoloji araştırma laboratuvarına taşınmıştır.



Şekil 3.2: Parsık Mağarası' nda örnekleme işlemleri.

3.3. ÖRNEKLEME ALANLARINA AİT FİZİKO-KİMYASAL ÖLÇÜMLERİN YAPILMASI

Örnekleme alanlarının nem ve sıcaklık değerleri, taşınabilir sıcaklık/nem ölçer cihazı ile ölçülmüştür. Bunun yanı sıra örnekleme yapılan su kaynaklarının sıcaklığı, iletkenliği, çözünmüş madde miktarı ve pH değerleri yine örnek alma esnasında ölçülerek (Hach Lange HQ40D) kaydedilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Parsık Mağarası' nda fiziko-kimyasal ölçümlerin yapılışı.

3.4. BAKTERİYOLOJİK ANALİZLER

3.4.1. Su örneklerinin hazırlanması

Karanlık zonun farklı bölgelerinden alınan üç su örneği 0,2 µm por çaplı naylon filtre kağıdı (Sartorious-Sartolon) kullanılarak süzülmüştür. Filtrasyonun ardından her bir filtre ayrı ayrı 10 ml steril fosfat tampon içeren steril plastik poşetlere konulmuştur. Filtrelerde tutunan bakterilerin fosfat tampona geçmesi amacıyla poşetler ikişer kez birer dakika stomacker cihazında (IUL Instruments) tutulmuş, ardından her örneğe ait poşetten 1 ml sıvı çekilerek 9 ml fosfat tampon içeren tüplere eklenmiştir. Daha sonra 10^{-1} -10^{-4} oranlarına sahip sulandırma serileri hazırlanmıştır.

3.4.2. Toprak örneklerinin hazırlanması

Laboratuvara getirilen her bir toprak örneği steril koşullarda 1 g tartılmış ve daha sonra 9 ml fosfat tampon içeren tüplere aktarılmıştır. Sulandırma işlemi 10^{-1} -10^{-5} oranlarına sahip sulandırma setleri hazırlanana dek sürdürülmüştür.

Bu işleme ek olarak aynı toprak örneklerinin bir kısmına hem vejetatif bakterilerin üremesini inhibe etmek, hem de Actinomycetes sınıfını zenginleştirmeyi sağlamak amacıyla bir ön işlem uygulanmıştır. Buna göre mağaradan toplanan üç toprak örneğine % 1 (g/g) oranında $CaCO_3$ eklenmiş ve bu karışım 1 hafta süreyle oda sıcaklığında kurutulmuştur (Williams ve Cross, 1971; Korn-Wendish ve Kutzner, 1992). Süre bitiminde toprak örnekleri bu ön işleme maruz bırakılmayan diğer toprak örnekleri gibi 1 g tartılarak 9 ml' lik fosfat tampon içeren tüplere eklenmiştir. Daha sonra ise 10^{-1}- 10^{-5} oranlarına sahip sulandırma serileri hazırlanmıştır.

3.4.3. Kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakterilerin sayımı

Kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayısının belirlenebilmesi amacıyla su ve toprak örneklerinin hazırlanan her bir sulandırımından Tap Water Agar (TWA; Çeşme suyu agar) ve Reasoner's 2 Agar (R2A) besiyerlerine üç tekrarlı olarak ekim yapılmıştır. 20 ^{o}C' de yedi günlük inkübasyon sonunda besiyerlerinde 30-300 koloni içeren Petri kaplarından koloni sayımı yapılarak Parsık Mağarası örneklerine ait aerobik heterotrofik bakteri sayısı belirlenmiştir.

3.4.4. Toplam bakteri (canlı/ölü) sayımı

Mağarada belirlenen üç noktadan alınan ve su örnekleri için 10^{-1}-10^{-4}, toprak örnekleri için ise 10^{-1}-10^{-5} oranlarında hazırlanan seri sulandırım tüplerinin her birinden 900 µl alınarak; folyo ile sarılmış steril kapaklı tüplere konmuş ve üzerine 100 µl CTC (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) boyası eklenmiştir. Tüplerin 28 ^{o}C' de 4 saat bekletilmesinin ardından, 110 µl DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) boyası eklenmiş ve 28 ^{o}C' de 1 saat daha bekletilmiştir. Ardından tüplere 3 ml steril bidistile su eklenip vorteks ile karıştırılmış ve siyah polikarbonat filtrelerden geçirilmiştir. Her filtre epifloresan mikroskobunda, 100 büyütmeli objektifle incelenmiştir. Rastgele fotoğrafı çekilen 20 bölgeden alınan sinyaller sayılarak ortalamaları hesaplanmıştır. Örneklerin mililitresindeki/gramındaki mikroorganizma sayısı Şekil 3.4' deki formülde belirlenmiştir (Schwartz ve diğ., 2003; Signoretto ve diğ., 2000).

$$N = \frac{S \times n}{C \times V} \times D$$

N= Mililitredeki mikroorganizma sayısı
S= Filtrasyon alanı
n= İncelenen alandaki ortalama mikroorganizma sayısı
C= Mikroskobik alan
V= Filtre edilen örnek hacmi
D= Örneğin sulandırma oranı

Şekil 3.4: Örneklerin mililitresinde/gramında bulunan mikroorganizma sayısının hesaplandığı formül.

3.4.5. Mağara yüzey oluşumlarından bakteri izolasyonu

Mağara yüzey oluşumlarından örnekleme sırasında ekim yapılan tüm besiyerleri (SCA, ISP4, SEA, GAA, AIA) 20 ºC' lik etüvde 5-30 gün inkübasyona bırakılmıştır. Üremeler takip edilmiş, birbirinden farklı özellik gösteren tüm bakteri kolonileri seçilerek bakteri izolasyonu gerçekleşmiştir.

3.4.6. Mağara su örneklerinden bakteri izolasyonu

Mağara suyundan kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakterilerin izolasyonu için hem direkt su örneğinin kendisinden hem de sulandırma tüplerinin her birinden 100 µl miktarında Triptic Soy Agar (TSA (½); triptikaz soya agar), besiyerlerine çift tekrarlı olacak şekilde; TWA ve R2A besiyerlerine üç tekrarlı olarak yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Besiyerleri inkübasyon amacıyla 20 ºC' lik etüvde 5-30 gün bekletilmiştir. Süre sonunda ekim yapılan tüm besiyerlerinden bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.7. Mağara toprak örneklerinden bakteri izolasyonu

Mağaraya ait toprak örneklerinden kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri izolasyonu için hazırlanan sulandırma serilerinin her biriden 100 µl SEA, TSA (½), besiyerlerine çift tekrarlı olarak; R2A ve TWA besiyerlerine ise üç tekrarlı olarak, yayma metodu ile ekilmiştir.

$CaCO_3$ ile ön muamele gören toprak örneklerinden elde edilen sulandırma serilerinden de aynı şekilde 100 µl alınarak, 45 ºC' ye dek soğutulup 50 µg/ml oranında sikloheksimit ilave edilerek hazırlanmış AIA, SEA, SCA, ISP4 besiyerlerine çift tekrarlı olarak ekim yapılmıştır.

Tüm Petri kapları 20 ^{o}C' lik etüvde 5-30 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüm besiyerlerinden bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.8. Bakterilerin kültür ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi

İnkübasyon sonunda ekim yapılan tüm besiyerlerinde, birbirinden farklı koloniler belirlenmiş ve numaralandırılmıştır. Tespit edilen tüm kolonilerin ürediği besiyeri türü, izole edildiği kaynak, örnekleme noktasına ait kod, kolonin rengi, çapı, kolonin kıvamı ve koloniye ait kenar şekli bilgileri not edilmiştir. Belirlenen tüm koloniler taze besiyerlerine azaltma metodu ile ekilmiş, hazırlanan taze kültürlerin hücre morfolojileri ve Gram boyanma özellikleri belirlenmiştir.

3.4.9. Bakterilerin uzun süre saklanması

Saflaştırma işlemlerinin ardından kültürel ve morfolojik özellikleri belirlenen tüm bakterilerin 24 saatlik kültürlerine 2 ml fosfat tampon eklenmiş ve bakteri kolonileri yoğun şekilde süspanse edilmiştir. Ardından süspansiyonlardan 1 ml alınarak, 2 ml hacimli vida kapaklı steril mikrotüplere konmuş, üzerine 0,8 ml gliserin çözeltisi eklenerek -20 ^{o}C' de muhafaza edilmiştir.

3.5. BAKTERİLERİN TÜR ANALİZİ VE ENZİMATİK REAKSİYONLAR

Mağaradan izole edilen bakterilerin tanımlanması için Vitek 2 Compact 30 (bioMerieux, France) mikrotanımlama cihazı kullanılmıştır. Gram boyanma özellikleri belirlenen her bir saf izolat Gram (-), Gram (+) ve Gram (+) sporlular olmak üzere gruplara ayrılmış ve her bir grup 3 ml fizyolojik tuzlu su içerisinde cihaz prosedürüne uygun yoğunluklarda süspanse edilmiştir. GN (Gram negatif, fermantasyona yol açan ve fermantasyona yol açmayan basiller), GP (Gram pozitif, kok ve spor oluşturmayan basiller) ve BCL (Gram pozitif, spor oluşturan basiller) kartlar, bu özelliklerine göre ayırdığımız bakteri süspansiyonlarının enzimatik özelliklerini, karbon kaynağı kullanımını, inhibisyon ve dirençlilik özelliklerini ortaya çıkarmak ve tür tayini yapmak amacıyla uygun şekilde cihaza yüklenmiştir. Vitek 2 Compact cihaz kartları üç gruba özel biyokimyasal testleri içermektedir. GN kartlar 47, GP kartlar 43 ve BCL tanımlama kartları ise 46 test içeren kuyucuğa sahiptir (Pincus, 2005). Yüklemenin ardından 24 saat sonunda bakterilerin test edilen substratlara verdiği reaksiyon profilleri çevresel/endüstriyel yazılımlı

kütüphane ile karşılaştırılarak elde edilmektedir. Cihaz, tanımladığı türleri % güven aralığı üzerinden değerlendirmektedir. Buna göre tanımlamalar mükemmel identifikasyon (% 99-96), çok iyi identifikasyon (% 95-93), iyi identifikasyon (% 92-89) ve kabul edilebilir identifikasyon (% 88-85) şeklinde oranlarla değerlendirilir.

3.6. BAKTERİLERİN ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETİM YETENEĞİNİN BELİRLENMESİ

Parsık Mağarası' dan izole edilen ve Vitek 2 Compact cihazı ile tür analizi tamamlanan izolatlar içinde, Bacilli veya Actinomycetes sınıfından olan bakteri suşları belirlenerek, antimikrobiyal aktiviteleri seçili yedi standart, iki bakteri ve bir mantar suşu üzerinde test edilmiştir. Seçilen mağara bakterilerine ait 24 saatlik taze kültürler, McFarland 1 standart tüpüne göre ml' sinde $3x10^8$ hücre olacak şekilde süspanse edilmiştir. Test edilecek her bir bakteri süspansiyonundan 2.5 µl Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerlerine damlatılarak 24 saat 20 ^oC' de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından üremelerin gözlemlendiği tüm besiyerleri, hepafiltreleri açık laminar kabin içinde 50 dakika Ultraviyole (UV)' ye maruz bırakılmıştır. Bu işlem sonucunda bakterilerin canlılık özelliği yok edilmiştir. Mağara bakterilerine karşı test edilecek standart suşlara ait 24 saatlik taze kültürler McFarland 0.5 standart tüpüne göre ml' sinde $1.5x10^8$ hücre sayısına sahip olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan suspansiyonlardan, 45 ^oC' de erimiş halde bulunan yüksek tabaka TSA besiyerleri içerisine 100 µl eklenmiş ve karıştırılmıştır. Ardından seri şekilde, UV' ye maruz bırakılmış mağara bakterilerinin bulunduğu besiyerleri üzerine dökülmüştür. Eklenen besiyerleri, katılaşmasının ardından etüve kaldırılarak 37 ^oC' de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonuda ikinci tabaka olarak eklenen TSA içinde bulunan standart bakterilerin üremesi incelenmiş ve standart bakterilere karşı antimikrobiyal maddeye sahip olan mağara bakterilerinin etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür (Ritchie ve diğ., 2017).

3.7. İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Mağara izolatlarının piperasillin (100 µg), eritromisin (15 µg), vankomisin (30 µg), ampisilin (10 µg), neomisin (10 µg), gentamisin (10 µg), kloramfenikol (30 µg), tetrasiklin (10 µg), rifampisin (30 µg) ve oflofloksasin (10 µg) antibiyotiklerine karşı direnç veya hassasiyet gösterme özelliği Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bunun için McFarland 0.5 standart tüpüne göre hazırlanmış bakteri süspansiyonlarından 0.1 ml Mueller Hinton Agar

besiyerine inoküle edilmiş ve Drigalski spatülü ile yayılmıştır. Ekim yapılmış Petri kaplarına antibiyotik diskler yerleştirilmiş ve 20 ºC' de uygun süre boyunca (≥ 24 saat) inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda oluşan inhibisyon zonları ölçülmüş ve seçili antibiyotiklere karşı mağara izolatlarının duyarlılığı yorumlanmıştır (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003).

3.8. KULLANILAN BESİYERLERİ VE HAZIRLANIŞI

3.8.1. Triptikaz soya agar

*Toprak ve su örneklerinden bakteri izolasyonu için kullanılmıştır.

Pancreatic digest of casein (Kazeinin pankreatik özütü)	15.0 g
Papaic digest of soy bean (Soya fasülyesinin papaik özütü)	5.0 g
Sodyum klorit ($NaClO_2$)	5.0 g
Bakteriyolojik agar	15.0 g
Distile su	1000 ml

121°C'de 15 dakika steril edilir.

3.8.2. Mueller Hinton agar

*Antimikrobiyal madde etkinlik deneyi ve Antibiyotik duyarlılık testinde kullanılmıştır.

Beef, dehydrated infusion from (Susuz infüzyon ile elde edilmiş sığır eti)	300.0 g
Kazein hidrolizatı	17.5 g
Nişasta	1.5 g
Agar	17.0 g
Distile su	1000 ml

121°C'de 15 dakika steril edilir.

3.8.3. Soil extract agar (Toprak özütü agar)

*Toprak ve mağara oluşum yüzeyleri örneklerinden bakteri izolasyonu için kullanılmıştır.

Bahçe toprağı	10 g
Agar agar	15 g
İçme suyu	1000 ml

121°C'de 15 dakika steril edilir.

3.8.4. Tap water agar (Çeşme suyu agar)

*Toprak ve su örneklerinden bakteri izolasyonu ve kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayımı için kullanılmıştır.

Agar agar	15.0 g
İçme suyu	1000 ml

121 ^{o}C' de 15 dakika steril edilir

3.8.5. Actinomycetes izolasyon agar-Gliserol

*Toprak ve mağara oluşum yüzeyleri örneklerinden bakteri izolasyonu için kullanılmıştır.

Sodyum kazeinat	2.0 g
Asparagin	0.1 g
Sodyum propiyonat ($C_3H_5NaO_2$)	4.0 g
Dipotasyum fosfat (K_2HPO_4)	0.5 g
Magnezyum sülfat ($MgSO_4$)	0.1 g
Demir II sülfat ($FeSO_4$)	0.001 g
Bakteriyolojik agar	15.0 g

Gliserol	22.0 g
Su	1000 ml

121°C'de 15 dakika steril edilir.

3.8.6. İnorganik tuz-nişasta agar (ISP4)

*Toprak ve mağara oluşum yüzeyleri örneklerinden bakteri izolasyonu için kullanılmıştır.

Çözünür nişasta	10.0 g
Dipotasyum fosfat (K_2HPO_4)	1.0 g
Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4$. 7H2O)	1.0 g
Sodyum klorit ($NaClO_2$)	1.0 g
Amonyum sülfat (NH_4)2SO_4	2.0 g
Kalsiyum karbonat ($CaCO_3$)	2.0 g
Shirling ve Gottlieb iz element çözeltisi*	1.0 ml
Agar	15.0 g
Distile su	1000 ml

pH 7.0 - 7.4

* İz element çözeltisi (Shirling and Gottlieb, 1968)

Demir (II) sülfat heptahidrat ($FeSO_4$. 7H2O)	0.10 g
Manganez (II) klorit tetrahidrat ($MnCl_2$. 4H2O)	0.10 g
Çinko sülfat heptahidrat ($ZnSO_2$. 7H2O)	0.10 g
Distile su	100 ml

121°C’de 15 dakika steril edilir.

3.8.7. Reasoner' s 2 Agar

*Toprak ve su örneklerinden bakteri izolasyonu ve kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayımı için kullanılmıştır.

Kazein asit hidrolizatı	0.5 g
Maya özü	0.5 g
Proteoz pepton	0.5 g
Dekstroz	0.5 g
Çözünür nişasta	0.5 g
Dipotasyum fosfat (K_2HPO_4)	0.3 g
Magnezyum sülfat ($MgSO_4$)	0.024 g
Sodyum piruvat ($C_3H_3NaO_3$)	0.3 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 ml

121°C’de 15 dakika steril edilir.

3.8.8. Nişasta kazein agar

*Toprak ve mağara oluşum yüzeylerinden bakteri iolasyonu için kullanılmıştır.

Kazein tozu	1.0 g
Nişasta	10.0 g
Deniz suyu	37.00 ml

Agar 15.0 g

121°C'de 15 dakika steril edilir.

3.9. KULLANILAN ÇÖZELTİ VE KİMYASALLAR

3.9.1. Bakteriyel floresan boyalar

3.9.1.1.CTC boya hazırlığı

50 mM stok için,

50 mg CTC 3209 µl filtre edilmiş bidistile su

-20 °C' de saklanır.

3.9.1.2.DAPI boya hazırlığı

1 mg/ml stok için,

50 mg DAPI 50 ml filtre edilmiş bidistile su

-20 °C' de saklanır.

3.9.2. Fosfat tampon

STOK A: 0.68 g Mono Potasyum Fosfat (KH_2PO_4) + 100 ml distile su

STOK B: 0.89 g Disodyum Fosfat (Na_2HPO_4) + 100 ml distile su

STOK A' dan 28.5 ml ve STOK B' den 71.5 ml ile süspansiyon hazırlanmıştır. H_2PO_4 (Dihidrojen Fosfat) ile pH'ı 7.2' ye ayarlanmış ve 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir.

3.9.3. Gram' ın iyot çözeltisi

İyot (I) 1 g

Potasyum iyodür (KI) 2 g

Damıtık su 300 ml

3.9.4. Sulandırılmış karbol fuksin

Bazik fuksin	3 g
Alkol (% 95)	100 ml
Doymuş alkolik çözelti	10 ml
Fenol (% 5) asit fenik- Karbolik asit	100 ml

3.9.5. Kristal viyole

Kristal viyole	1 g
Damıtık su	100 ml

3.9.6. Fizyolojik tuzlu su

Sodyum klorür (NaCl)	0.85 g
Distile su	100 ml

121 °C' de 15 dakika steril edilir.

3.9.7. Gliserol çözeltisi

Gliserin (% 87' lik)	28.73 ml
Su (H_2O)	21 ml

121 °C' de 15 dakika steril edilir.

3.9.8. Sikloheksimit

Naramysin B ($C_{15}H_{23}NO_4$)	281,35

3.10. KULLANILAN TEST MİKROORGANİZMALARI

Antimikrobiyal aktivite testinde, patojen olarak *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Enterococcus fecalis* (ATCC 10541) standart suşları, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) (ATCC 3591) ile vancomisine dirençli *Enterococcus fecalis* (VRE) (ATCC 51299) bakterileri ve mantar olarak ise *Candida albicans* (ATCC 10231) kullanılmıştır.

3.11. KULLANILAN ANTİBİYOTİKLER

Seçili mağara mikroorganizmalarına uygulanan antibiyotik duyarlılık testinde 10 adet antibiyotik disk kullanılmıştır. Kullanılan antibiyotiklerin isimleri ve etken madde miktarlar şu şekildedir: Piperasilin (100 μg), Eritromisin (15 μg), Vankomisin (30 μg), Ampisilin (10 μg), Neomisin (10 μg), Gentamisin (10 μg), Kloramfenikol (30 μg), Tetrasiklin (10 μg), Rifampisin (30 μg) ve oflofloksasin (10 μg).

4. BULGULAR

4.1. ÖRNEKLEME ALANLARINA AİT FİZİKO-KİMYASAL ÖLÇÜMLER

Su örneklerine ait sıcaklık (ºC), pH (Power of Hidrogen), iletkenlik (mS), sertlik (ppt) değerleri Tablo 4.1' de gösterilmiştir. Örneklerin alındığı A, B, C noktalarına ait hava sıcaklığının 9,4 ºC, nem değerinin ise % 93 olduğu tespit edilmiştir.

Toprak örneklerinin alındığı A noktasına ait hava sıcaklığı 9,8 ºC ölçülürken, B ve C noktalarına ait sıcaklık 9,4 ºC olarak belirlenmiştir. Bu noktaların hepsinde ölçülen nem değeri ise % 93 olarak tespit edilmiştir.

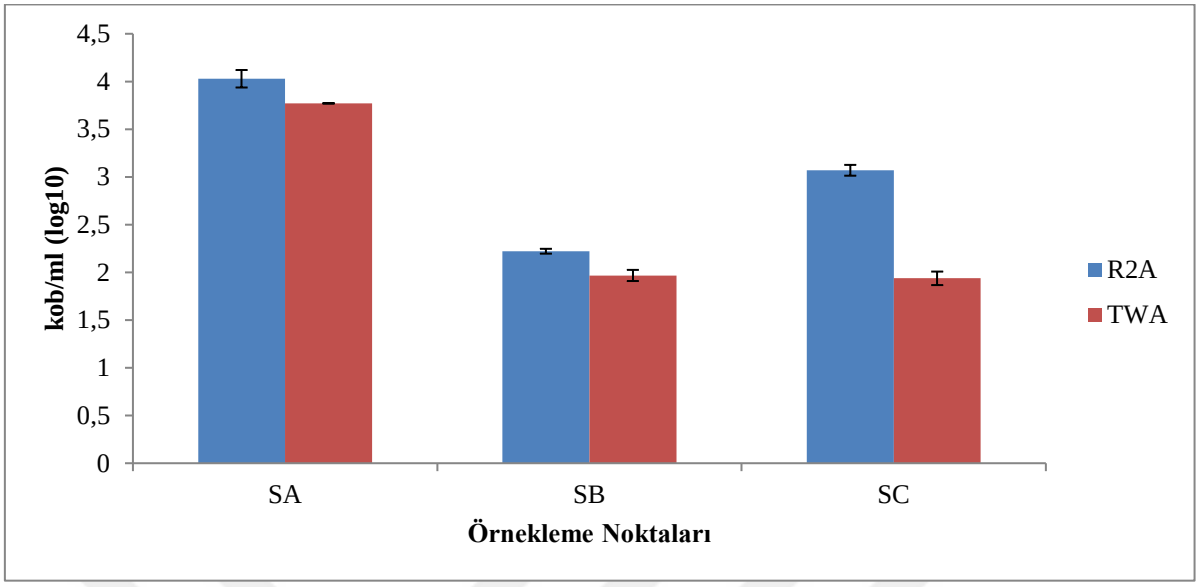
Tablo 4.1: Su örneklerine ait fiziko-kimyasal ölçümler.

Ölçüm değerleri	Su örneklerinin alındığı alanlar		
	A noktası	B noktası	C noktası
pH	8,2	9,8	9,8
Sertlik (ppt)	0,107	0,145	0,145
İletkenlik (mS)	0,22	0,30	0,30
Sıcaklık (ºC)	10	9,2	9,2

4.2. BAKTERİYOLOJİK ANALİZLER

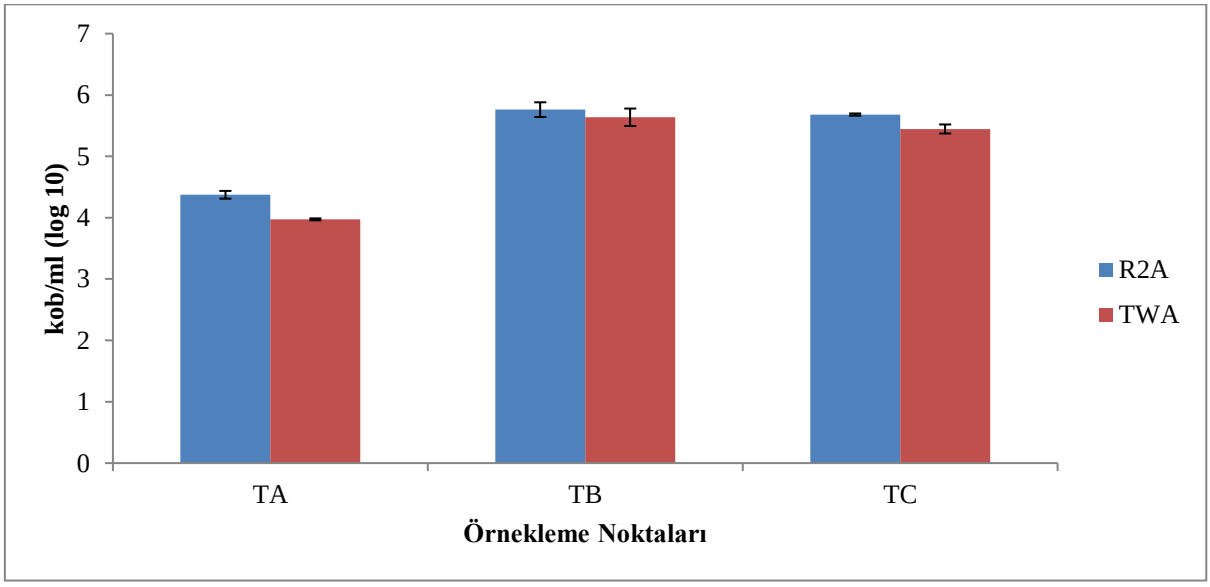
4.2.1. Parsık Mağarası' na ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayımı

Parsık Mağarası' na ait su örneklerindeki kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayımı için kullanılan R2A ve TWA besiyerlerinden elde edilen bakteri sayıları Şekil 4.1' de verilmiştir.



Şekil 4.1: Parsık Mağarası su örneklerine ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayıları.

Su örneklerine ait bakterilerin R2A ve TWA besiyerlerindeki sayımları incelendiğinde R2A besiyerlerinde daha fazla bakteri sayısı tespit edilmiştir. Toprak örneklerinden izole edilen kültüre edilebilir aerobik heterotrofik bakteri sayıları Şekil 4.2' de gösterilmektedir.



Şekil 4.2: Parsık Mağarası toprak örneklerine ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayıları.

Toprak örneklerinde de su örneklerinde olduğu gibi R2A besiyerindeki bakteri sayısı TWA besiyerinden elde edilen bakteri sayısından daha fazladır. Bu sonuçların istatistik olarak değerlendirildiği Kruskal-Wallis testinde p değeri 0,091675 olarak bulunmuş, R2A ve TWA besiyerleri üzerinde üreyen bakteri sayıları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Ayrıca alınan su örneklerinden ölçülen pH, sertlik, iletkenlik ve sıcaklık parametrelerinin (Tablo 4.1) sudan izole edilen bakteri sayıları ile ilişkisi korelasyon yapılarak incelenmiştir. İstatistik test sonuçlarına göre bakteri sayılarının, sıcaklığın artışı ile pozitif yönde (+0,7515), pH değeri (-0,7515), su sertliği (-0,7515) ve iletkenliği (-0,7515) ile negatif yönde ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

4.2.2. Tespit edilen toplam (canlı/ölü) bakteri sayısı

Su ve toprak örneklerinde bulunan toplam ölü/canlı bakteri sayısının belirlenebilmesi amacıyla uygulanan DAPI/CTC floresan boyama yöntemi sonrası epifloresan mikroskobu ile fotoğraflar çekilmiş ve alınan sinyaller sayılmış ve toplam canlı bakteri sayıları hesaplanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: DAPI/CTC metoduna göre su ve toprak örneklerinde tespit edilen bakteri sayıları.

Örnekler	Toplam sinyal sayısı *		
	CTC	TOPLAM	CANLILIK (%)
SA	**$4{,}06 \times 10^{8}$**	**$2{,}94 \times 10^{9}$**	**13,8**
SB	**$1{,}35 \times 10^{8}$**	**$6{,}43 \times 10^{8}$**	**21**
SC	**$5{,}08 \times 10^{8}$**	**$1{,}93 \times 10^{9}$**	**26,3**
TA	**$1{,}08 \times 10^{9}$**	**$5{,}31 \times 10^{9}$**	**20,3**
TB	**$8{,}13 \times 10^{9}$**	**$2{,}1 \times 10^{10}$**	**38,7**
TC	**$6{,}09 \times 10^{9}$**	**$2{,}06 \times 10^{10}$**	**29,5**

*Toplam sinyal sayımı su örneklerinde ml, toprak örneklerinde g cinsinden hesaplanmıştır.

Bakteri sayıları ile DAPI/CTC floresan boyama yöntemi ile elde edilen canlı bakteri sayılarının arasında anlamlı bir farklılığın olup olmadığı Kruskal-Wallis testi ile istatistik olarak değerlendirilmiştir.

Test sonucu elde edilen p değeri 0,4159 olarak tespit edilmiş canlı bakteri sayıları ile R2A besiyerinden elde edilen kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayıları arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir.

4.2.3. Mağara bakterilerine ait kültürel ve morfolojik özellikler

Tez çalışması kapsamında mağara oluşum yüzeylerinden, toprak ve su alanlarından alınan örnekler bakteri izolasyonu için kullanılmıştır.

4.2.3.1.Mağara oluşum yüzeylerinden izole edilen bakterilere ait özellikler

Parsık Mağarası' ndaki yüzey oluşumlarından A noktasına ait 12, B noktasına ait ise 22 adet farklı morfolojik özelliklere sahip bakteri izole edilmiştir. Hangi besiyerleri üzerinde daha fazla sayıda farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin elde edildiği belirlenmiş, izole edilme oranları Tablo 4.3' de verilmiştir. Buna göre A oluşum yüzeyi örneklerinde en fazla sayıda farklı morfolojik özellikte bakteri izolasyonu SCA besiyerinde, B noktası örneklerinde ise AIA besiyerinde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.3: Mağara yüzey oluşum örneklerinden izole edilen bakterilerin izolasyon besiyerleri ve farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin izolasyon oranları.

İzolasyon Noktası	İzolasyonların tespit edildiği besiyerleri (%)			
	AIA	SCA	SEA	ISP4
A	8	50	42	-
B	36	32	9	23

Mağara yüzey oluşumlarından izole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre oranları Tablo 4.4' de verilmiştir. İki farklı yüzey örneğine ait izolatların en fazla Gram (+) bakteriyi içerdiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.4: Mağara yüzey oluşum örneklerinden izole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre oranları.

İzolasyon Noktaları	Mikroskobik özellikler		
	Gram (+)	Gram (-)	Gram (+) Sporlu
A	% 50	% 42	% 8
B	% 64	% 18	% 18

Çalışmalar sonucu yüzey oluşumlarından elde edilen bakterilere ait izolasyon bilgileri, koloni ve mikroskobi özellikleri Tablo 4.5' de yer almaktadır.

Tablo 4.5: Mağara yüzey oluşum örneklerinden izole edilen bakterilerin kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
A1	SEA	Ortası beyaz, kenarı kahverengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kokobasil
A2	SEA	Toprak rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Sert	+S	Basil
A3	SEA	Ortası koyu kahve-çevresi beyaz-kenarları toprak rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
A4	SEA	Bej	4,5	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+	Basil
A5	SCA	Ortası taş rengi-kenarı bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
A6	SCA	Mat sarı	1,2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
A7	SCA	Ortası siyah-kenarı mat sarı	3	Yuvarlak-yarı düzenli	Kremsi	+	İpliksi
A8	SCA	Ortası siyah-kenarı mat sarı	1,8	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+	Kok
A9	SCA	Ortası daha koyu-kenarı açık bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
A10	SCA	Turuncu	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
A11	AIA	Ortası siyah-kenarı bej	1,5	Oval- düzenli	Kremsi	+S	Basil
A12	SEA	Safran sarısı	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
B1	AIA	Pudra turuncu	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
B2	AIA	Sarı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
B3	AIA	Pudra pembe	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
B4	AIA	Ortası gri-kenarı bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
B5	AIA	Bej	1,8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
B6	AIA	Bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
B7	AIA	Bej	3	Oval-kenarı girintili	Kremsi	+	Basil
B8	AIA	Krem rengi	5,5	Oval-kenarı hafif düzensiz	Kremsi	+	Basil
B9	SCA	Bej	2	Oval-kenarı hafif düzensiz	Kremsi	+	Basil
B10	SCA	Duman rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
B11	SCA	Krem rengi	3,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
B12	SCA	Krem rengi	3	Oval-düzensiz	Kremsi	+	Kok
B14	SCA	Soluk sarı	2	Oval-düzensiz	Kremsi	-	Basil
B15	SCA	Açık ten rengi	3	Oval-düzenli	Kremsi	+	Basil

Tablo 4.5 (devam): Mağara yüzey oluşum örneklerinden izole edilen bakterilerin kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
B16	ISP4	Açık sarı	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
B17	ISP4	Açık turuncu	1,7	Yuvarlak-düzenli	Sert	+	İpliksi
B18	ISP4	Beyaz	1,5	Yuvarlak-düzenli	Sert	+S	Basil
B19	ISP4	Sarımsı beyaz	1,3	Yuvarlak-düzenli	Sert	+S	Basil
B20	ISP4	Beyaz	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
B21	ISP4	Ortası beyaz-kenarı duman rengi	4,5	Oval-düzenli	Kremsi	-	Kokobasil
B22	SEA	Gri	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
B23	SEA	Krem rengi	3	Oval-düzenli	Kremsi	+	Basil

+S: Gram Pozitif sporlu bakterileri ifade etmektedir.

4.2.3.2.Mağaraya ait su örneklerinden izole edilen bakterilere ait özellikler

Su örneklerinin alındığı 3 nokta A, B ve C kodları ile tanımlanmıştır. A noktasından 55, B noktasından 29 ve C noktasından ise 44 farklı morfolojik özelliklere sahip olduğu belirlenen bakteri izole edilmiştir. Hangi besiyerleri üzerinde daha fazla sayıda farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin elde edildiği belirlenmiş, izole edilme oranları Tablı 4.6' da verilmiştir. A noktası ve C noktası su örneklerinden en fazla sayıda farklı morfolojik özellik gösteren koloniler R2A besiyerleri üzerinde, B noktasına ait su örneklerinden en fazla sayıda farklı morfolojik özellik gösteren koloniler ise TSA (½) besiyeri üzerinde tespit edilmiştir.

Tablo 4.6: Su örneklerinden izole edilen bakterilerin izolasyon besiyerleri ve farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin izolasyon oranları.

İzolasyon Noktaları	İzolasyon Oranları (%)		
	TSA	TWA	R2A
A	44	11	45
B	52	27	21
C	34	30	36

İzole edilen bakterilerin mikroskobik incelemelerine göre Gram (+) bakterilerin daha yüksek oranda bulunduğu, bunu Gram (-) bakterilerin takip ettiği tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Sudan izole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre oranları.

İzolasyon Noktaları	İzolasyon Oranları (%)		
	Gram (-)	Gram (+)	Gram (+) Sporlu
A	33	56	11
B	31	48	21
C	23	66	11

Örneklerden elde edilen bakterilere ait izolasyon bilgileri, koloni ve mikroskobi özellikleri Tablo 4.8' de verilmiştir.

Tablo 4.8: Su örneklerinden izole edilen bakterilere ait kültürel ve morfolojik özellikler.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
SA1	TSA	Açık sarı	4	Oval-düzensiz	Kalıp gibi	+S	Basil
SA2	TSA	Krem rengi	5	Yuvarlak-düzenli	Yoğun-kremsi	+	Kok
SA3	TSA	Sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+	Basil
SA4	TSA	Krem rengi	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA5	TSA	Sarı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA6	TSA	Açık turuncu	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA7	TSA	Sarı	3	Yuvarlak düzenli	Sert-kalıp gibi	-	Basil
SA8	TSA	Sarı	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA9	TSA	Sarı-ortası saydam	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA10	TSA	Açık turuncu	2	Yuvarlak-tırtıklı	Kremsi	+S	Basil
SA11	TSA	Sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+	Kok
SA12	TSA	Açık krem rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA13	TSA	Renksiz	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA14	TSA	Sarı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA15	TSA	Sarımsı bej	10	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
SA16	TSA	Turuncu	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA17	TSA	Çok açık sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA18	TSA	Açık soluk sarı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA19	TSA	Ortası sarı-kenarı bej	8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA20	TSA	Koyu sarı	6	Oval-kenarı hafif tırtıklı	Kremsi	+	Basil- tüy benzeri görünüm
SA21	TSA	Sarı	5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kok
SA22	TSA	Kenarı sarı-ortası mor	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi-hafif yapışkan	+	Basil

Tablo 4.8 (devam): Su örneklerinden izole edilen bakterilere ait kültürel ve morfolojik özellikler.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
SA23	TSA	Sarı	3	Düzensiz-tırtıklı kenar	Kalıp gibi	-	Basil
SA24	TSA	Bej	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA25	R2A	Soluk sarı	8	Düzensiz şekil	Kremsi	-	Basil
SA26	R2A	Sarı	10	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA27	R2A	Bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA28	R2A	Sarı	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA29	R2A	Bej	8	Yuvarlak-düzensiz	Kremsi	-	Kokobasil
SA30	R2A	Lila	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SA31	R2A	Lila	4	Düzensiz kenar	Kremsi	+	Basil
SA32	R2A	Turuncu	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA33	R2A	Uçuk sarı	4	Oval-düzensiz	Kremsi	+	Kok
SA34	R2A	Sarımsı bej	4,5	Oval-düzensiz	Kremsi	+	Kokobasil
SA35	R2A	Soluk sarı	4,5	Düzensiz	Kremsi	-	Basil
SA36	R2A	Pudra pembe	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA37	R2A	Mor	15	Yuvarlak düzenli	Yapışkan	-	Basil
SA38	R2A	Sarı	11	Çiçek görünümünde-düzensiz kenar	Kremsi	-	Basil
SA39	R2A	Soluk Bej	5	Yayılan-düzensiz	Kremsi	-	Basil
SA40	R2A	Krem rengi	5,5	Yuvarlak düzenli	Sulu	+	Kokobasil
SA41	R2A	Soluk beyaz	3	Yuvarlak-düzensiz kenar	Kremsi	+	Basil
SA42	R2A	Pastel turuncu	4,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA43	R2A	Açık sarı-kenarı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Sert-kalıp gibi	+S	Basil-Flamentöz görünüm
SA44	R2A	Krem rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA45	R2A	Sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SA47	R2A	Turuncu	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SA48	R2A	Pastel turuncu	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA49	R2A	Sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA50	R2A	Sarı	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA51	TWA	Duman rengi	1,9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SA52	TWA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA53	TWA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SA54	TWA	Duman rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SA55	TWA	Sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kok
SA56	TWA	Şeffaf sarı	1	Yuvarlak-düzensiz	Kremsi	+	Kokobasil
SB1	TSA	Sarımsı bej	5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SB2	TSA	Turuncu	5	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+	Basil
SB3	TSA	Bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SB4	TSA	Pastel sarı	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SB5	TSA	Sarı	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil

Tablo 4.8 (devam): Su örneklerinden izole edilen bakterilere ait kültürel ve morfolojik özellikler.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
SB6	TSA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SB7	TSA	Duman rengi	3,5	Oval- düzenli	Kremsi	+S	Basil
SB8	TSA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SB9	TSA	Sarımsı bej	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SB10	TSA	Açık pastel sarı	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SB11	TSA	Turuncu	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
SB13	TSA	Koyu mor	5	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	-	Basil
SB14	TSA	Kayısı sarısı	6	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+	Basil
SB15	TSA	Sarı	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SB16	TSA	Bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SB18	R2A	Bej	3	Yuvarlak-düzgün	Yapışkan	-	Basil
SB20	R2A	Sarı	20	Yayılan-düzensiz	Kremsi	-	Basil
SB21	R2A	Bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SB23	R2A	Kayısı sarısı	4,5	Yuvarlak-düzenli	Hafif yapışkan	-	Basil
SB24	R2A	Sarı	4	Oval-düzenli	Kremsi	+	Kok
SB25	R2A	Bej	7	Düzensiz şekilde	Kremsi	-	Kokobasil
SB26	TWA	Krem rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SB27	TWA	Sarı	1	Yuvarlak-düzensiz	Kremsi	+	Basil
SB28	TWA	Bej	1,9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SB29	TWA	Krem rengi	3,5	Oval-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SB30	TWA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SB32	TWA	Ten rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
SB33	TWA	Açık sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SB34	TWA	Ortası koyu-kenarı açık krem rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	kok
SC1	TSA	Yavru ağzı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC2	TSA	Krem rengi	4	Yuvarlak-tırtıklı kenar	Kremsi	+	Kok
SC3	TSA	Bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
SC4	TSA	Açık sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC5	TSA	Sarımsı Bej	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SC6	TSA	Koyu sarı	2	Yuvarlak-düzenli	Kalıp gibi-dağılabilir	-	Basil
SC7	TSA	Koyu sarı	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SC8	TSA	Açık turuncu	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC9	TSA	Açık yavru ağzı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok

Tablo 4.8 (devam): Su örneklerinden izole edilen bakterilere ait kültürel ve morfolojik özellikler.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
SC11	TSA	Koyu sarı	2	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+	Basil
SC12	TSA	Soluk bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC13	TSA	Turuncu	5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SC14	TSA	Açık pembe	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC15	TSA	Uçuk sarı	3	Oval-düzensiz	Yapışkan	+	Kokobasil
SC16	TSA	Bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC17	R2A	Bej	5	Yuvarlak-tırtıklı kenar	Kremsi	-	Basil
SC18	R2A	Sarı	9	Oval-düzensiz-yayılan kenar	Yapışkan	-	Basil
SC19	R2A	Bej	4	Oval-düzensiz	Kremsi	+	Kok
SC20	R2A	Açık bej	2,5	Oval-düzensiz	Sıvı kıvamda-kremsi	+	Kokobasil
SC21	R2A	Kavun içi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SC23	R2A	Sarı	14	Düzensiz	Yapışkan	-	Kokobasil
SC24	R2A	Bej	5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC25	R2A	Beyaz	4	Düzensiz	Kremsi	+S	Basil
SC26	R2A	Soluk sarı	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi-yayılgan	+	Basil
SC27	R2A	Krem rengi	3,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi-yayılgan	+	Kokobasil
SC28	R2A	Soluk turuncu	1	Yuvarlak-düzenli	Sert	+S	Basil-Flamentöz görünüm
SC29	R2A	Sarımsı krem rengi	4,5	Yuvarlak-düzenli	Yarı yapışkan	+	Kokobasil
SC30	R2A	Duman rengi	3,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi-yayılgan	+	Basil
SC31	R2A	Bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi-kar kıvamda	+	Kok
SC32	R2A	Mor	11	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	-S	Basil
SC33	R2A	Sarı	4	Yuvarlak-tırtıklı kenar	Kremsi	-	Kok
SC35	TWA	Duman rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
SC36	TWA	Bej	1,9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
SC37	TWA	Kenarı sarı-ortası kahve rengi	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil

Tablo 4.8 (devam): Su örneklerinden izole edilen bakterilere ait kültürel ve morfolojik özellikler.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
SC38	TWA	Kenarı duman rengi-ortası şeffaf	1,9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
SC39	TWA	Krem rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC40	TWA	Duman rengi	2,1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC41	TWA	Bej	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC42	TWA	Krem rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
SC43	TWA	Açık yavru ağzı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
SC44	TWA	Açık pembe	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kok
SC45	TWA	Kenarı duman rengi ortası krem rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
SC46	TWA	Krem rengi	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
SC47	TWA	Bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil

+S: Gram Pozitif sporlu bakterileri ifade etmektedir.

4.2.3.3. Toprak örneklerinden izole edilen bakterilere ait özellikler

Parsık Mağarası' na ait üç farklı toprak örneği A, B ve C nokta isimleriyle kodlandırılmıştır. A noktasından 65, B noktasından 63 ve C noktasından 82 farklı morfolojik özelliklere sahip olduğu belirlenen bakteri izole edilmiştir. Hangi besiyerleri üzerinde daha fazla sayıda farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin elde edildiği belirlenmiş, izole edilme oranları Tablo 4.9' da verilmiştir. A ve C noktası toprak örneklerinden en fazla sayıda farklı morfolojik özelliklere sahip bakteri izolasyonu TSA (½) besiyerinde, C noktası toprak örneklerinde ise R2A besiyerinde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.9: Toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin izolasyon besiyerleri ve farklı morfolojik özelliklere sahip kolonilerin izolasyon oranları.

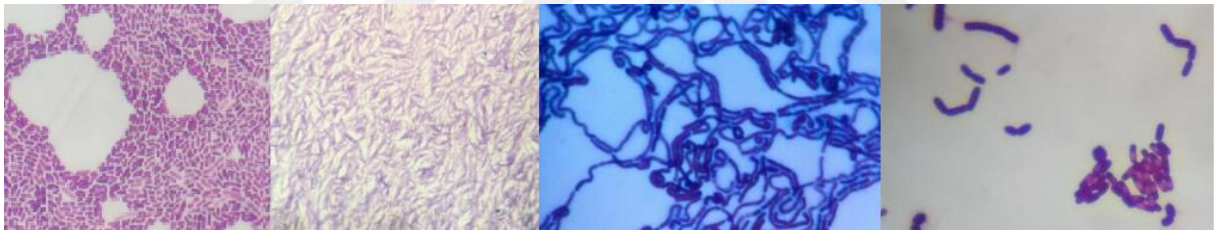
İzolasyon Noktaları	İzolasyon Oranları (%)						
	AIA	SCA	SEA	ISP4	TSA	R2A	TWA
A	8	-	11	-	38	25	18
B	-	1	8	-	24	45	22
C	12	1	9	2	31	29	16

Mikroskobik incelemeler her üç noktadan elde edilen örneklerde de Gram (+) bakterilerin baskın olduğunu ortaya çıkarılmıştır (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: Topraktan izole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre oranları.

İzolasyon Noktaları	İzolasyon Oranları (%)		
	Gram (-)	Gram (+)	Gram (+) sporlu
A	20	57	23
B	27	55	18
C	26	47	27

Çalışma boyunca gerçekleştirilen mikroskobik incelemeler ve Gram boyama sonuçlarına dair bazı görüntüler Şekil 4.3' de yer almaktadır.



Şekil 4.3: Parsık Mağara' sından izole edilen bazı bakteri türlerine ait mikroskobik inceleme.

Toprak örneklerinden izole edilen bakterilere ait kültürel ve morfolojik özellikler Tablo 4.11' de verilmiştir.

Tablo 4.11: A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TA1	TWA	Bej	2	Oval- düzenli	İz gibi	+	Kok
TA2	TWA	Krem rengi	3	Yuvarlak yüzenli	Su gibi akışkan	+	Kok
TA3	TWA	Krem rengi	2	Oval- düzenli	Kremsi	+S	Basil
TA4	TWA	Ortası koyu gri kenarları bej	1,1	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+S	Basil
TA5	TWA	Duman rengi	2	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+S	Basil
TA7	TWA	Duman rengi	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TA8	TWA	Çok açık turuncu	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TA10	TWA	Duman rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Su gibi akışkan	+S	Basil
TA11	TWA	Ortası koyu kahve kenarı bej	1,5	Yuvarlak-düzenli	Üst kısmı kremsi tabanı iz gibi	+	Basil
TA12	TWA	Turuncu	2	Oval-düzensiz yayılgan	Üst kısmı kremsi tabanı iz gibi	+	İpliksi
TA13	TWA	Duman rengi	2	Su damlası şeklinde-düzenli	Su gibi akışkan	+	Basil
TA14	TWA	Duman rengi	2	Yuvarlak- hafif düzensiz	Su gibi akışkan	+	Basil
TA15	TSA	Ortası sarımsı bej- kenarı bej	10	Oval- düzenli	Kremsi	-	Kokobasil
TA16	TSA	Ortası sarımsı bej- kenarı bej	6,9	Oval- hafif düzensiz	Kremsi	+	Kokobasil
TA17	TSA	Ortası sarımsı bej- kenarı bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TA18	TSA	Sarımsı bej	4	Oval- düzenli	Kremsi	+S	Basil
TA19	TSA	Fosforlu sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TA20	TSA	Bej	6,9	Oval- düzenli	Kremsi	+	Kok
TA21	TSA	Sarı	9	Oval- düzenli	Kremsi	-	Basil
TA22	TSA	Bej	7	Oval- düzenli	Kremsi	-	Basil
TA23	TSA	Bej	3	Yuvarlak- hafif düzensiz	Kremsi	+	İpliksi
TA24	TSA	Tatlı turuncu	1,7	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TA25	TSA	Pudra turuncu	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TA26	TSA	Açık turuncu	4	Şekilsiz- kenarı düzensiz	Kremsi	+	Basil
TA27	TSA	Bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TA28	TSA	Turuncu bej	1,7	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TA29	TSA	Pudra turuncusu	2	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+	Basil
TA30	TSA	Sarımsı bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil

Tablo 4.11 (devam): A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TA31	TSA	Bej	1,8	Yuvarlak-düzenli	Çok sert	+	Flamentöz görünüm
TA32	TSA	Pamuksu bej	yaygın	Yayılgan	Kremsi	+S	Basil
TA34	TSA	Sarımsı bej	5, 8	Oval –düzenli	Kremsi	+S	Basil
TA35	TSA	Yoğun sarımsı bej	9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kok
TA36	TSA	Sarımsı bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TA37	TSA	Bej	8	Yuvarlak-kenarı dalgalı	Kremsi	+S	Basil
TA38	TSA	Krem rengi	6	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TA39	TSA	Bej	1,8	Yuvarlak-düzenli	Hafif iz gibi	+	Kokobasil
TA40	TSA	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TA41	SEA	Kahverengi-ortası beyaz	4	Yuvarlak-düzenli	Sert	+	Flamentöz görünüm
TA42	SEA	Duman rengi	3,8	Yuvarlak-düzenli	Su gibi	+	Kok
TA43	SEA	Beyaz-kahve	4,5	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+S	Basil
TA44	SEA	Opak siyah-çevresi gümüş	1,2	Yuvarlak- hafif düzensiz kenar	Üstü su damlacıklı	+	Basil
TA46	SEA	Ortası yeşil-kenarı beyaz	5,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TA48	SEA	Ortası beyaz-kenarı kahve	2,2	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+	Kokobasil
TA49	SEA	Gri	2,8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil Flamentöz görünüm
TA51	R2A	Krem rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TA56	R2A	Merkezi Kahve- ortası beyaz- kenarı şeffaf renk	2,9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TA57	R2A	Duman rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TA58	R2A	Krem rengi	6	Oval- çiçek görünümlü	Kremsi	+S	Basil
TA59	R2A	Sarı	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TA60	R2A	Açık sarı	1,6	Yuvarlak-düzenli	Kremsi-üstü sulu	+	Kokobasil
TA61	R2A	Duman rengi	5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TA62	R2A	Bej-üstü beyaz	3,5	Yuvarlak-düzenli	Sert	+	Flamentöz görünüm
TA63	R2A	Sarımsı bej	4,5	Yuvarlak-kenarı düzensiz	Kremsi	-	Basil
TA64	R2A	Pudru turuncu	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TA66	R2A	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kokobasil

Tablo 4.11 (devam): A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TA67	R2A	Bej	3,9	Oval- düzensiz	Kalıp gibi-kremsi	+S	Basil
TA68	R2A	Turuncu	< 1	Yuvarlak-düzenli	Sert	+	Basil
TA69	R2A	Sarımsı bej	2,1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TA70	R2A	Duman rengi	5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TA71	R2A	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-girintili kenar	Kremsi	+	Basil
TAA1	AIA	Beyaz	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TAA2	AIA	Sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TAA3	AIA	Beyaz	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TAA4	AIA	Ortası sarı-yesil, kenarı beyaz	3,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TAA5	AIA	Ortası şeffaf kenarı duman rengi	1	Kenarı tırtıklı	Kremsi	+	Basil
TB1	TWA	Krem rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TB2	TWA	Duman rengi	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB3	TWA	Sarı	1	Yuvarlak-düzenli	Kalıp şeklinde- iz gibi	+S	Basil
TB4	TWA	Duman rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB5	TWA	Açık sarı	1	Yuvarlak-kenarı silik	İz gibi	+	Kokobasil
TB6	TWA	Açık beyaz	1,8	Yuvarlak-kenarı silik	Kremsi	+	Basil
TB7	TWA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+	Kok
TB8	TWA	Duman rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Orta yapışkan kıvamda	+	Kok
TB9	TWA	Çok açık renk sarı	4	Yayılgan-düzensiz kenar	Kremsi	-	Basil
TB11	TWA	Duman rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB12	TWA	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TB13	TWA	Krem rengi	< 1	Yuvarlak-düzenli	İz- kalıp gibi	+	Basil
TB14	TWA	Duman rengi	1,8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB16	TWA	Duman rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kalıp gibi sert	-	Basil
TB17	R2A	Krem rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Flamentöz görünüm

Tablo 4.11 (devam): A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TB19	R2A	Bej	1,5	Oval-hafif düzensiz	Kremsi	-	Basil
TB20	R2A	Sarımsı bej	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TB21	R2A	Sarımsı bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB22	R2A	Sarı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TB23	R2A	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TB24	R2A	Sarımsı bej	4,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TB25	R2A	Bej	5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TB26	R2A	Açık sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Hafif yapışkan	-	Basil
TB27	R2A	Krem rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB28	R2A	Duman rengi	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB29	R2A	Sarımsı bej	4,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB30	R2A	Sarı	5	Yuvarlak-dalgalı kenar	Kremsi	-	Kokobasil
TB31	R2A	Turuncu bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TB32	R2A	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TB33	R2A	Turuncu	1	Yuvarlak-düzenli	Kalıp şeklinde-tek parça	+S	Basil
TB34	R2A	Sarı	2	Düzensiz-yayılgan	Kremsi	-	Basil
TB35	R2A	Bej	3,8	Yuvarlak- hafif düzensiz	Kremsi	-	Kok
TB36	R2A	Yavru ağızı	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TB37	R2A	Sarımsı bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB38	R2A	Kavun içi	1,8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TB39	R2A	Duman rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB40	R2A	Duman rengi	1,8	Oval- düzenli	Kremsi	+	Basil
TB41	R2A	Sarımsı bej	9	Oval- düzensiz-dirintili kenar	Kremsi	+	Kok
TB42	R2A	Krem rengi	6	Yuvarlak-düzenli	Sıvı kıvamda	+	Kokobasil
TB43	R2A	Sarımsı bej	5	Oval- düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB44	R2A	Krem rengi	3	Oval- düzenli	Kremsi	+	Kok
TB45	R2A	Sarı	3,5	Yuvarlak-düzenli sayılır	Kremsi	+	Basil
TB46	SEA	Kirli beyaz	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB47	SEA	Kirli beyaz	1,8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil

Tablo 4.11 (devam): A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TB48	SEA	Koyu kahve	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TB49	SEA	Duman rengi	1,8	Yuvarlak-düzenli sayılır	Kremsi	+	Kokobasil
TB51	SEA	Kirli beyaz	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB52	TSA	Bej	4	Yuvarlak-düzenli	Hafif yapışkan	+	Kokobasil
TB53	TSA	Kayısı sarısı	3	Oval- kenarları düzensiz	Hafif yapışkan	-	Basil
TB54	TSA	Kayısı sarısı	5	Oval- düzenli	Kremsi	+	Basil
TB55	TSA	Krem rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB56	TSA	Turuncu- kenarı bej	4,7	Yuvarlak-düzenli	Hafif yapışkan	+	Basil
TB57	TSA	Sarımsı bej	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TB58	TSA	Kayısı sarısı	8	Yuvarlak- az düzenli	Hafif yapışkan	-	Basil
TB59	TSA	Sarımsı bej	8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TB60	TSA	Açık sarı	4	Oval- girintili-düzensiz kenar	Hafif kalıp gibi	+	Basil
TB61	TSA	Turuncu	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TB62	TSA	Tatlı turuncu	3,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TB63	TSA	Sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Hafif yapışkan	+	Basil
TB64	TSA	Sarımsı bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TB65	TSA	Sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Hafif yapışkan	-	Basil
TB66	TSA	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TB68	R2A	Açık turuncu	1,8	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TBA1	SCA	Turuncu	<1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TC1	TWA	Koyu sarı	0,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TC2	TWA	Duman rengi	2,5	Yuvarlak-düzensiz kenar	Kremsi	-	Basil
TC3	TWA	Krem reni	1,2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TC4	TWA	Açık duman rengi	1,2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC6	TWA	Duman rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Sıvı kıvamlı	+S	Basil
TC7	TWA	Açık sarı	1,5	Yuvarlak-düzensiz kenar	İz gibi	-	Basil
TC8	TWA	Krem rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Sıvı kıvamlı	+S	Basil

Tablo 4.11 (devam): A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TC9	TWA	Duman rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Yoğun bir sıvı kıvamında	+S	Basil
TC10	TWA	Duman rengi	1,7	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC11	TWA	Bej	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC12	TWA	Duman rengi	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC13	TWA	Bej	2	Yuvarlak-düzensiz kenar	İz gibi	+S	Basil
TC14	TWA	Şeffaf renk	3	Oval-düzensiz kenar	Kremsi	+	Basil
TC15	TSA	Kayısı sarısı	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC16	TSA	Sarımsı bej	2	Yuvarlak-tırtıklı kenar	Kremsi	+	Basil
TC17	TSA	Bej	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TC18	TSA	Sarımsı bej	4,8	Yuvarlak-düzenli	Yoğun yapışkan	+	Kokobasil
TC19	TSA	Sarımsı bej	3	Oval- düzenli	Kremsi	+	Basil
TC20	TSA	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TC21	TSA	Sarımsı bej	3,2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC22	TSA	Kayısı sarısı	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC23	TSA	Ortası sarı-kenarı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC24	TSA	Bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC25	TSA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TC26	TSA	Kayısı sarısı	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC27	TSA	Sarımsı bej	4	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+	Basil
TC28	TSA	Bej	4,8	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	+S	Basil
TC29	TSA	Sarımsı bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC30	TSA	Açık sarı	1	Yuvarlak-düzenli	Su kıvamında	+	Basil
TC31	TSA	Kayısı sarısı	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TC32	TSA	Şeffaf	1,9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC33	TSA	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC34	TSA	Sarımsı bej	9	Yuvarlak-düzenli	Hafif sıvı kıvamda	+S	Basil
TC35	TSA	Bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC36	TSA	Sarı	6	Oval- kenarı dalgalı	Yapışkan	-	Kokobasil

Tablo 4.11 (devam): A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TC37	TSA	Duman rengi	2,5	Oval- düzensiz	İz gibi	+S	Basil
TC38	TSA	Sarımsı bej	9	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TC39	TSA	Sarımsı bej	3,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC40	SEA	Kirli beyaz	2	Oval- düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TC41	SEA	Kahve rengi-üstü bej nokta	2	Yuvarlak- hafif düzensiz	Kremsi	+	Kokobasil
TC42	SEA	Duman rengi	1,2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TC43	SEA	Açık kahve rengi-üstü hafif bej	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kokobasil
TC44	SEA	Ortası koyu kahve-üstü şeffaf sarı nokta	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TC45	SEA	Krem rengi	1,2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kokobasil
TC46	SEA	Açık şeffaf sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC47	R2A	Bej	3	Çiçek görününüm	Kremsi	+	Basil
TC48	R2A	Sarı	4	Oval- kenarı girintili	Kremsi	+	Basil
TC49	R2A	Krem rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC50	R2A	Soluk sarı	13	Düzensiz-kenarı dalgalı	Yapışkan	-	Basil
TC51	R2A	Soluk sarı	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC52	R2A	Duman rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC53	R2A	Duman rengi	3	Oval- düzenli kenar	Sıvı kıvamda	+	Basil
TC54	R2A	Sarımsı bej	7	Oval- kenarı düzensiz	Kremsi	-	Basil
TC55	R2A	Sarı	6	Düzensiz-kenarı girintili	Kremsi	-	Basil
TC56	R2A	Açık kayısı sarısı	4,3	Yuvarlak-düzenli	Yapışkan	-	Basil
TC58	R2A	Krem rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TC60	R2A	Bej	1	Yuvarlak-düzenli	İz gibi	+	Kokobasil
TC61	R2A	Bej	İplik görünü münde-çapsız	Kıvrılan tüysü görünüm	Kremsi	+	Basil
TC62	R2A	Turuncu bej	2	Yuvarlak-düzenli	Sert-besiyerine bağlı	-	Basil
TC63	R2A	Sarı	11	Yuvarlak-kenarı düzensiz	Hafif yapışkan	+S	Basil
TC64	R2A	Duman rengi	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil

Tablo 4.11 (devam): A, B ve C noktalarına ait toprak izolatların kültürel ve morfolojik özellikleri.

Bakteriler	Besiyerleri	Koloni rengi	Koloni çapı (mm)	Koloni kenar şekli	Koloni kıvamı	Gram boyanma özelliği	Hücre şekli
TC65	R2A	Açık sarı	< 1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kokobasil
TC66	R2A	Bej	3	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Basil
TC67	R2A	Bej	4	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TC68	R2A	Krem rengi	2,8	Yuvarlak- hafif düzensiz	Kremsi	+S	Basil
TC69	R2A	Kayısı sarısı	3,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TC70	R2A	Sarı	16,5	Yayılgan-girintili kenar	Kremsi	+	Basil
TC71	R2A	Sarımsı bej	4,5	Oval- düzensiz	Yapışgan-Kenarı hafif pürüzlü	+	Basil
TC72	R2A	Açık sarı	4	Oval- hafif düzensiz	Kremsi	+S	Basil
TCA1	AIA	Krem rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TCA2	AIA	Bej	4	Yuvarlak-düzensiz	Kremsi	+S	Basil
TCA3	AIA	Krem rengi	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Basil
TCA4	AIA	Bej	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TCA5	AIA	Somon rengi	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TCA6	AIA	Ortası turuncu, kenarı kavuniçi rengi	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TCA8	AIA	Somon rengi	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TCA9	AIA	Beyaz, kenarları bej	2	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TCA10	AIA	Krem rengi	2,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+S	Basil
TCA11	AIA	Açık kırmızı	1	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	-	Kok
TCA12	SCA	Sarı	1,5	Yuvarlak-düzenli	Kremsi	+	Kok
TCA13	ISP4	Beyaz	4	Oval	Kremsi	+S	Basil

+S: Gram Pozitif sporlu bakterileri ifade etmektedir.

4.3. BAKTERİYEL TÜR KOMPOZİSYONU

Mağaradan izole edilip kültürel ve morfolojik özellikleri tanımlanan 371 izolat içinden 295 tanesine Vitek 2 Compact mikrotanımlama cihazı ile tür analizi yapılmıştır.

4.3.1. Mağara yüzey oluşumlarından izole edilen bakterilerin tür analizi

A noktasından izole edilen 10 yüzey suşunun ait olduğu familya, sınıf ve filum bilgileri Tablo 4.12' de yer almaktadır. Vitek 2 Compact cihazın verdiği sonuçlar A noktası yüzey izolatlarının % 50' sinin tanımlanamadığını göstermektedir.

Tablo 4.12: A noktası yüzey izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
A1****	*Aeromonas salmonicida*	Aeromonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
A4****	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
A6**	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
A9****	*Dermacoccus nishinmiyaensis/ Kytococcus sedentarius*	Dermacoccaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
A10***	*Lysinibacillus sphaericus/ Lysinibacillus fusiformis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
A11	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
A12	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
A5	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
A7	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
A8	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

Tablo 4.13' de yer alan veriler B noktası yüzey izolatlarının tür analiz sonuçlarını içermektedir. Bu bölgede analizi yapılan 19 yüzey izolatı bulunmaktadır. Bu örneklerin % 21,05' i cihaz tarafından tanımlanamamıştır.

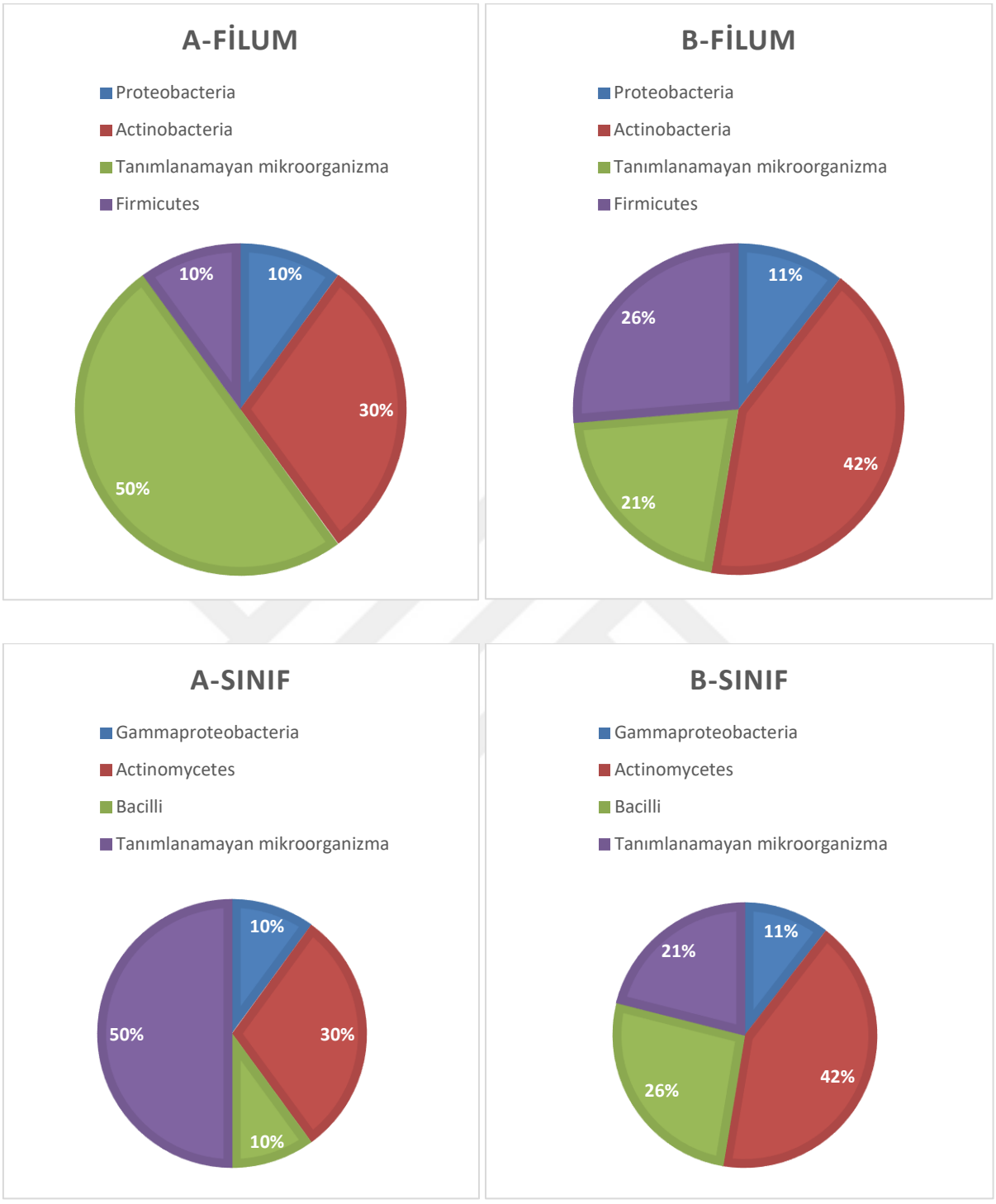
Tablo 4.13: B noktası yüzey izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
B21****	*Enterobacter cloacae complex/kobei/hormaechei/ludwigii*	Enterobactericeae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
B14	*Aeromonas salmonicida/ Brevundimonas diminuta/vesicularis*	Aeromonadaceae/ Caulobacteraceae	Gammaproteobacteria/ Alphaproteobacteria	Proteobacteria
B3	*Kocuria varians/rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
B4	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella elegans*	Dermacoccaceae/ Carnobacteriaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
B9	*Kocuria varians/rhizophila/ Micrococcus lylae/luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
B10****	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
B12	*Kocuria varians/rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
B15	*Kocuria varians/rhizophila/ Micrococcus lylae/luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
B23	*Kocuria varians/rhizophila/ Micrococcus lylae/luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
B20	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella elegans/Kocuria rosea*	Dermacoccaceae/ Carnobacteriaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes/ Bacilli	Actinobacteria/ Firmicutes
B16	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella elegans*	Dermacoccaceae/ Carnobacteriaceae	Actinomycetes/ Bacilli	Actinobacteria/ Firmicutes
B6	*Bacillus simplex/Brevibacillus choshinnensis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
B7*	*Lysinibacillus sphaericus/ Lysinibacillus fusiformis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
B8*	*Staphylococcus haemolyticus*	Staphylococcaceae	Bacilli	Firmicutes
B18**	*Bacillus cereus/thuringiensis/mycoides*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
B5	Tanımlanamayan organizma	-	-	-
B22	Tanımlanamayan organizma	-	-	-
B17	Tanımlanamayan organizma	-	-	-
B11	Tanımlanamayan organizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

A ve B noktalarına ait yüzey izolatlarının tür analiz sonuçlarında birbirinden farklı 9 bakteri türü tespit edilmiştir. Öte yandan Parsık Mağarası yüzey oluşumlarında en yüksek oranda belirlenen sınıf/filumun Actinomycetes/Actinobacteria olduğu, buna paralel şekilde en fazla

rastlanan bakteri cinsinin de *Kocuria* olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.4’ de A ve B yüzey oluşumlarından izole edilen bakterilerin ait olduğu filum ve sınıflar bulunma sıklığına göre, birbirlerine oranları ile birlikte verilmiştir.



Şekil 4.4: Mağara yüzey oluşumlarından izole edilen bakterilerin dahil olduğu filum ve sınıfları gösteren grafikler ve bulunma oranları.

4.3.2. Su örneklerinden izole edilen bakterilerin tür analizi

A noktası su örneklerinden izole edilen 43 bakteri ve ait oldukları familya, sınıf, filum bilgileri Tablo 4.14' de yer almaktadır. Suşların % 28' i Vitek 2 cihazı tarafından tanımlanamamıştır.

Tablo 4.14: A noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SA7*	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SA12	*Francisella tularensis/Oligella ureolytica*	Francisellaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SA19**	*Pseudomonas fluorescens*	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SA21*	*Pseudomonas fluorescens*	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SA27**	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SA32**	*Brevundimonas dimunita/vesicularis*	Caulobacteraceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SA42	*Sphingomonas paucimobilis/ Acinetobacter lwoffii/ Moraxella lacunata/ nonliquefaciens/ osloensis*	Sphingomonadaceae/ Moraxellaceae	Alphaproteobacteria/ Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SA55	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SA44***	*Pseudomonas fluorescens*	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SA2	*Kocuria varians/ rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA3	*Kocuria kristinae/Rothia dentocariosa*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA4**	*Micrococcus lylae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria

Tablo 4.14 (devam): A noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SA6* **	*Gardnerella vaginalis*	Bifidobacteriaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA14**	*Micrococcus luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA17* **	*Kocuria varians*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA9	*Kocuria kristinae/Rothia dentocariosa*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA22	*Kocuria kristinae/Rothia dentocariosa*	Micrococcaceae	Actinobacteria	Actinobacteria
SA24* **	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA28	*Kocuria kristinae/Rothia dentocariosa*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA47	*Gardnerella vaginalis/elegans*	Bifidobacteriaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA49	*Kocuria kristinae/Rothia dentocariosa*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA50	*Kocuria kristinae/ Rothia dentocariosa*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA56	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/Kocuria rosea*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SA5**	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
SA11**	*Granulcatella adiacens*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
SA23* **	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
SA31*	*Brevibacillus choshinensis*	Paenibacillaceae	Bacilli	Firmicutes

Tablo 4.14 (devam): A noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SA40	*Erysipelothrix rhusiopathiae/* *Granulicatella adiacens/elegans*	Erysipelotrichaceae/ Carnobacteriaceae	Erysipelotrichia/ Bacilli	Firmicutes
SA41****	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
SA52****	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
SA53***	*Alicyclobacillus acidoterrestris/* *acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
SA10	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA18	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA20	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA25	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA26	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA34	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA35	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA38	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA48	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA51	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

Tablo 4.14 (devam): A noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SA54	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SA1	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

Tablo 4.15' de B noktası su örneklerinden izole edilen 23 bakteri ve ait oldukları familya, sınıf, filum bilgileri bulunmaktadır. Bu bakterilerin % 17' si Vitek 2 cihazı tarafından tanımlanamamıştır.

Tablo 4.15: B noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SB5**	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SB15**	*Brevundimonas dimunita/vesicularis*	Caulobacteraceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SB18	*Methylobacterium spp/ Francisella tularensis/ Oligella ureolytica*	Methylobacteriaceae /Francisellaceae	Alphaproteobacteria/ Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SB20***	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SB25**	*Pseudomonas fluorescens*	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SB21**	*Serratia fonticola*	Yersiniaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SB4*	*Micrococcus luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB6**	*Micrococcus lylae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB8**	*Micrococcus lylae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB10***	*Kocuria rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria

Tablo 4.15 (devam): B noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SB11	*Micrococcus luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB16* **	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB24** **	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius*	Dermacoccaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB26** **	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB30* **	*Micrococcus lylae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB32	*Kocuria rosea/rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SB34	*Granulicatella adiacens/Kocuria rosea*	Carnobacteriaceae/ Micrococcaceae	Bacilli/Actinomycetes	Firmicutes/ Actinobacteria
SB14*	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
SB1* **	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ Acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
SB3	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SB13	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SB9	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SB33	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

Tablo 4.16’ da C noktası su örneklerinden izole edilen bakterilerin tür analiz sonuçları, ait oldukları familya, sınıf ve filum bilgileri ile birlikte verilmiştir. Tür tayini yapılan 38 bakterinin % 11’ i Vitek 2 Compact cihazı tarafından tanımlanamamışır.

Tablo 4.16: C noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SC5****	*Rahnella aquatilis*	Yersiniaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SC17**	*Pseudomonas fluorescens*	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SC18****	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SC23****	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
SC28****	*Rahnella aquatilis*	Yersiniaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SC38****	*Rahnella aquatilis*	Yersiniaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SC46****	*Serratia fonticola*	Yersiniaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
SC1	*Kocuria rosea/Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris*	Micrococcaceae/ Leuconostocaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC2	*Kocuria varians/ rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC4****	*Kocuria rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC9***	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC12****	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC14***	*Micrococcus lylae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC29****	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC30**	*Kocuria varians*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC39****	*Kocuria rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC41	*Kocuria varians/ rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria

Tablo 4.16 (devam): C noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

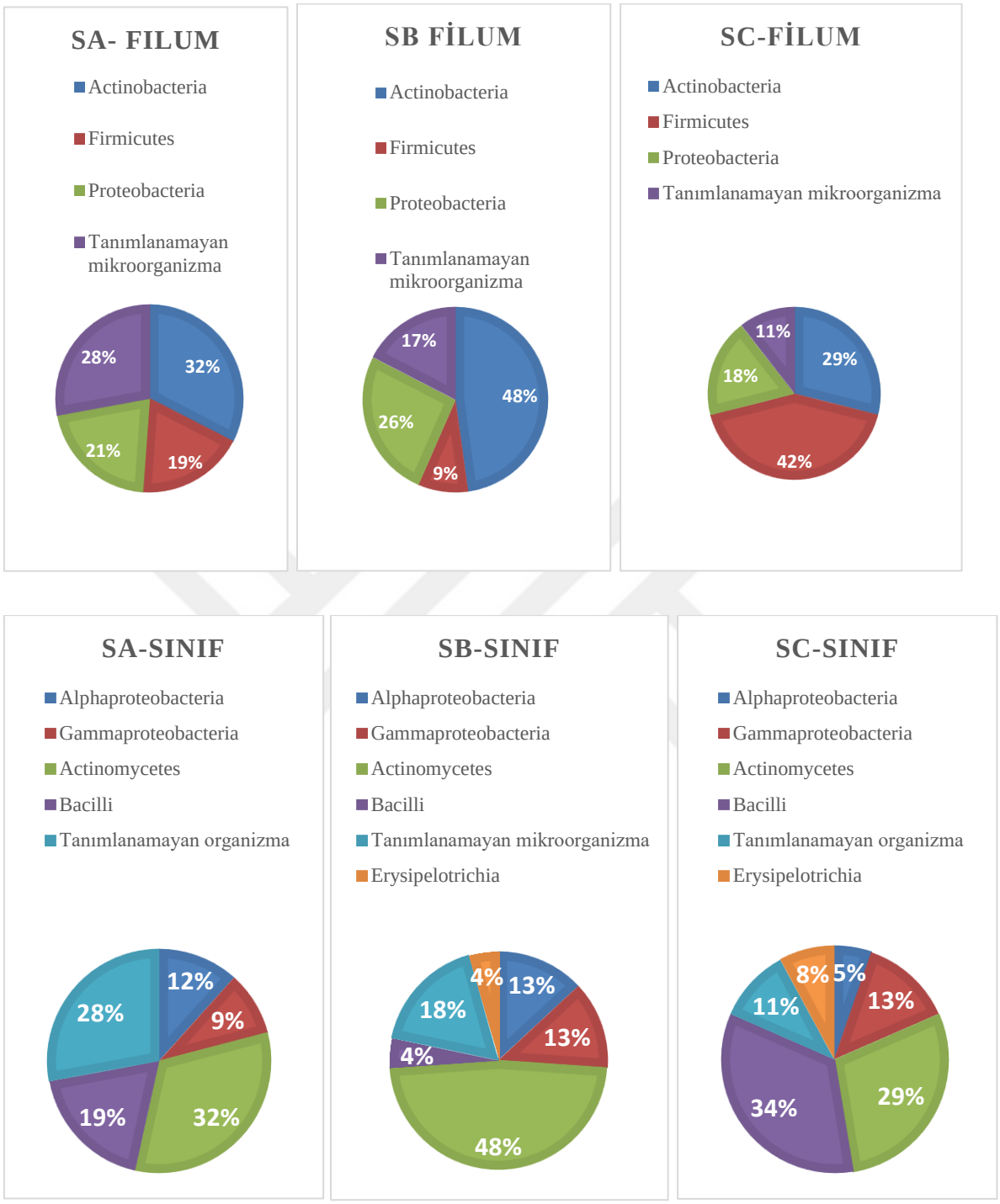
Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SC42****	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
SC3	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ Acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
SC7**	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
SC11**	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
SC13***	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
SC15***	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
SC19***	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
SC20***	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
SC21***	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
SC24**	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
SC25****	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ Acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
SC27***	*Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris*	Leuconostocaceae	Bacilli	Firmicutes
SC32	*Lysinibacillus fusiformis/sphaericus/ Alicyclobacillus acidoterrestris/ acidocaldarius*	Bacillaceae/ Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes

Tablo 4.16 (devam): C noktası su izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
SC37	*Lysinibacillus fusiformis/sphaericus/ Geobacillus thermoleovorans*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
SC43* **	*Streptococcus pneumoniae*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
SC45* **	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
SC47** **	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ Acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
SC8	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SC26	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SC35	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
SC36	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

Üç su örneğine ait izolatlarının tür analiz sonuçlarında birbirinden farklı 24 bakteri türü tespit edilmiştir. Öte yandan tanımlanan bakteri türleri arasında yüksek oranda bulunan sınıf/filumun Actinomycetes/Actinobacteria olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca paralel şekilde en çok tanımlanan bakteri cinsi de *Kocuria* olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.5' de A, B ve C noktalarından alınan su örneklerinden izole edilen bakterilerin ait olduğu filum ve sınıflar bulunma sıklığına göre, birbirlerine oranları ile birlikte gösterilmektedir.



Şekil 4.5: Mağara su örneklerinden izole edilen bakterilerin dahil olduğu filum ve sınıfları gösteren grafikler ve bulunma oranları.

4.3.3. Toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin tür analizi

A noktası toprak örneklerinden izole edilen 46 bakteri ve ait oldukları familya, sınıf, filum bilgileri Tablo 4.17' de yer almaktadır. Suşların % 26' sı Vitek 2 Compact cihazı tarafından tanımlanamamıştır

Tablo 4.17: A noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TA20	*Francisella tularensis/Oligella ureolytica*	Francisellaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TA22	*Francisella tularensis/Aeromonas salmonicida*	Francisellaceae/Aeromonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TA28**	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TA35	*Pseudomonas fluorescens/salmonicida /Acinetobacter haemolyticus*	Pseudomonadaceae/ Moraxellaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TA66**	*Bordetella hinzii*	Alcaligenaceae	Betaproteobacteria	Proteobacteria
TA57**	*Oligella ureolytica*	Alcaligenaceae	Betaproteobacteria	Proteobacteria
TAA1**	*Micrococcus llylae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA7	*Kocuria varians/rhizophilia/ Micrococcus lylae/luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA11*	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA12**	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA14**	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA17***	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA19**	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria

Tablo 4.17 (devam): A noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TA27	*Dermacoccus nishinomyaensis/ Kytococcus sendentarius/Kocuria varians*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA29	*Kocuria varians/rhizophilia/ Micrococcus lylae/luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA34*	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA37**	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA39**	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA41**	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA44**	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA62**	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA69**	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TA24	*Alloiococcus otitis/Granulicatella elegans/Kocuria rosea*	Carnobacteriaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes/Bacilli	Actinobacteria/ Firmicutes
TA30	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella adiacens*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae/ Carnobacteriaceae	Actinomycetes/Bacilli	Actinobacteria/ Firmicutes
TA56	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella elegans*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae/ Carnobacteriaceae	Actinomycetses/Bacilli	Actinobacteria/ Firmicutes

Tablo 4.17 (devam): A noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TA68	*Abiotrophia defactiva/Gamella morbillorum*	Aerococcaceae/ Bacillales incertae sedis/ Micrococcaceae	Bacilli/Actinomycetes	Firmicutes/ Actinobaceria
TA5****	*Alicylobacillus acidoterrestris/ acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TA10***	*Bacillus clausii*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TA13***	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TA32	*Lysinibacillus sphaericus/* *Lysinibacillus fusiformis/Brevibacillus choshinensis*	Bacillaceae/ Paenibacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TA38*	*Geobacillus stearothermophilus*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TA42***	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TA58	*Bacillus simplex/Brevibacillus choshinensis*	Bacillaceae/ Paenibacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TA61****	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TA63	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA51	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA31	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

Tablo 4.17 (devam): A noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TA9	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA16	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA18	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TAA3	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA15	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA60	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA70	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TAA2	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TA3	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

Tablo 4.18' de B noktası toprak örneklerinden izole edilen 49 bakteri ve ait oldukları familya, sınıf, filum bilgileri yer almaktadır. Suşların % 35' i Vitek 2 cihazı tarafından tanımlanamamıştır.

Tablo 4.18: B noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TB20	*Francisella tularensis/Oligella ureolytica*	Francisellaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TB26	*Aeromonas salmonicida/Oligella ureolytica*	Aeromonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TB53	*Sphingomonas paucimobilis/Brucella melitensis/Neisseria animaloris/zoodegmatis*	Sphingomonadaceae/ Brucellaceae/ Neisseriaceae	Alphaproteobacteria/ Betaproteobacteria	Proteobacteria
TB58****	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TB59	*Acinetobacter lwoffii*	Moraxellaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TB17	*Aeromonas salmonicida/Neisseria animaloris/zoodegmatis*	Aeromonadaceae/ Neisseriaceae	Gammaproteobacteria/ Betaproteobacteria	Proteobacteria
TB6	*Kocuria kristinae/Rothia dentocariosa*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB21***	*Kocuria rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB24**	*Kocuria rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB25****	*Kouria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB2****	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB32****	*Kocuria rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB64**	*Micrococcus luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB60****	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB37	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/Kocuria rosea/Kocuria varians*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria

Tablo 4.18 (devam): B noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TB38*	*Gardnerella vaginalis*	Bifidobacteriaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TB5	*Granulicatella adiacens/Micrococcus lylae/ Micrococcus luteus/Kocuria rosea*	Carnobacteriaceae/ Micrococcaceae	Bacilli/ Actinomycetes	Firmicutes/ Actinobacteria
TB9**	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
TB14*	*Lysinibacillus sphaericus* *Lysinibacillus fusiformis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TB27**	*Bacillus sporothermodurans*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TB30**	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
TB36	*Streptococcus pneumoniae*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TB39	*Lysinibacillus sphaericus/* *Lysinibacillus fusisormis/choshinensis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TB46**	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TB48**	*Lysinibacillus sphaericus/* *Lysinibacillus fusiformis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TB54***	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
TB55***	*Facklamia hominis*	Aerococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TB61***	*Aerococcus viridans*	Aerococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TB62***	*Aerococcus viridans*	Aerococcaceae	Bacilli	Firmicutes

Tablo 4.18 (devam): B noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TB67* **	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichia	Firmicutes
TB68* **	*Streptococcus pneumoniae*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TBA1** **	*Lysinibacillus sphaericus/* *Lysinibacillus fusisormis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TB33	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ acidocaldarius/ Brevibacillus choshinensis*	Alicyclobacillaceae/ Paenibacillaceae	Bacilli/ Alphaproteobacteria	Firmicutes/ Proteobacteria
TB63	Aktif olmayan veya düşük reaktivasyona sahip örnek	-	-	-
TB1	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB4	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB11	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB13	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB16	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB31	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB34	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB35	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

Tablo 4.18 (devam): B noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TB41	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB42	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB43	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB52	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB56	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB65	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB66	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TB44	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

Tablo 4.19' da C noktası toprak örneklerinden izole edilen 67 bakteri ve ait oldukları familya, sınıf, filum bilgileri yer almaktadır. Suşların % 14' ü Vitek 2 cihazı tarafından tanımlanamamıştır.

Tablo 4.19: C noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TC2****	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TC4*	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TC7****	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TC12***	*Pasteurella canis*	Pasteurellaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TC15***	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TC21	*Aeromonas salmonicida/Oligella ureolytica*	Aeromonadaceae/ Alcaligenaceae	Gammaproteobacteria/ Betaproteobacteria	Proteobacteria
TC24	*Acinetobacter lwoffii/Neisseria animaloris/zoodegmatis*	Moraxellaceae/ Neisseriaceae	Gammaproteobacteria/ Betaproteobacteria	Proteobacteria
TC29	*Aeromonas salmonicida/ Brevundimonas diminuta/vesicularis*	Aeromonadaceae/ Caulobacteraceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TC45	*Pseudomonas aeruginosa/fluorescens*	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TC46	*Acinetobacter haemolyticus*	Moraxellaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
TC32****	*Oligella ureolytica*	Alcaligenaceae	Betaproteobacteria	Proteobacteria
TC51***	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TC54****	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TC55***	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria

Tablo 4.19 (devam): C noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TCA11****	*Sphingomonas paucimobilis*	Sphingomonadaceae	Alphaproteobacteria	Proteobacteria
TCA12****	*Micrococcus luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC30*	*Micrococcus luteus*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC40*	*Kocuria kristinae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC18	*Kocuria rosea/rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC52***	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC16****	*Kocuria varians*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC53***	*Micrococcus llylae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC48****	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC20	*Dermacoccus nishinomyaensis/ Kytococcus edentarius/Kocuria varians*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC71	*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella elegans/Kocuria rosea*	Dermacoccaceae/ Micrococcaceae/ Carnobacteriaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TC14**	*Kocuria krisninae*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TCA4****	*Kocuria rhizophila*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria
TCA5****	*Kocuria rosea*	Micrococcaceae	Actinomycetes	Actinobacteria

Tablo 4.19 (devam): C noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TC35	*Streptococcus pluranimalium/ Streptococcus pseudoporcinus/ Kocuria rosea*	Streptococcaceae/ Micrococcaceae	Bacilli/Actinomycetes	Firmicutes/ Actinobacteria
TC41	*Abiotrophia defactiva/Gamella morbillorum/Rothia dentocariosa*	Aerococcaceae/ Bacillales incertae sedis/ Micrococcaceae	Bacilli/Actinomycetes	Firmiculates/ Actinobaceria
TC10	*Granulicatella adiacens/Micrococcus luteus/lylae*	Carnobacteriaceae/ Micrococcaceae	Bacilli/Actinomycetes	Firmicutes/ Actinobacteria
TCA1	*Granulicatella adiacens/Micrococcus lylae/ Micrococcus luteus*	Carnobacteriaceae/Micrococcaceae	Bacilli/ Actinomycetes	Firmicutes/ Actinobacteria
TCA9****	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TCA13***	*Bacillus cereus/thuringiensis/ mycoides*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC8**	*Geobacillus thermoleovorans*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC9**	*Bacillus clausii*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC11***	*Granulicatella adiacens*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TC19***	*Streptococcus thoraltensis*	Streptococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TC25	*Geobacillus toebii*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TCA2**	*Bacillus megaterium*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes

Tablo 4.19 (devam): C noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

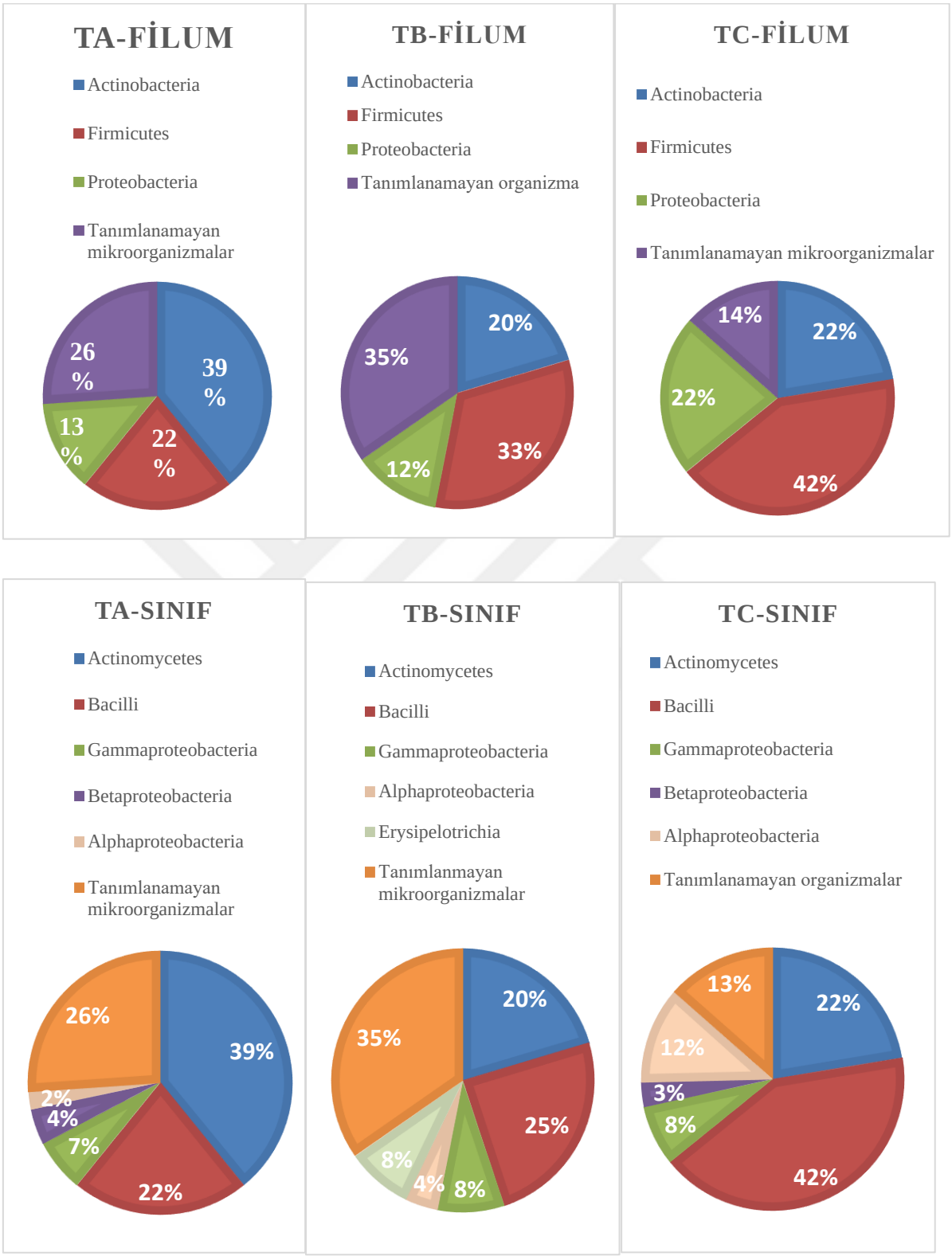
Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TC28* **	*Alicyclobacillus acidocaldarius/ acidoterrestris*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC31* **	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC34*	*Lysinibacillus sphaericus/ Lysinnibacillus fusisormis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC37**	*Aerococcus viridans*	Aerococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TC38***	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TC39**	*Alloiococcus otitis*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TC43* **	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TC47* **	*Granulicatella adiacens*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TC58*	*Lysinibacillus sphaericus/ Lysinibacillus fusiformis*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC61	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TC63*	*Alicyclobacillus acidoterrestris/ Acidocaldarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC67 ***	*Granulicatella elegans*	Carnobacteriaceae	Bacilli	Firmicutes
TC70	*Erysipelothrix rhusiopathiae/ Granulicatella elegans*	Erysipelotrichaceae/ Carnobacteriaceae	Erysipelotrichia/Bacilli	Firmicutes

Tablo 4.19 (devam): C noktası toprak izolatlarının tür kompozisyonu.

Bakteri kodları	Türler	Familya	Sınıf	Filum
TC72* **	*Alicyclobacillus acidoterresis/ acidocaltarius*	Alicyclobacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TCA10* **	*Bacillus smithii*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TCA3*	*Staphylococcus lentus*	Staphylococcaceae	Bacili	Firmicutes
TCA6* **	*Aerococcus viridans*	Aerococcaceae	Bacilli	Firmicutes
TCA8**	*Bacillus firmus*	Bacillaceae	Bacilli	Firmicutes
TC17	*Aktif olmayan veya düşük reaktivasyona sahip örnek*	-	-	-
TC36	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TC49	Tamımlanamayan organizma	-	-	-
TC50	Tamımlanamayan organizma	-	-	-
TC33	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TC56	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TC27	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TC22	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-
TC60	Tanımlanamayan mikroorganizma	-	-	-

*: % 85-% 88 oranlarında (Kabul edilebilir) identifikasyon
**: % 89-% 92 oranlarında (İyi) identifikasyon
***: % 93-% 95 oranlarında (Çok iyi) identifikasyonu
****: % 96-% 99 oranlarında (Mükemmel) identifikasyon

Üç noktaya ait toprak izolatlarının tür analiz sonuçlarında birbirinden farklı 42 bakteri türü tespit edilmiştir. Ayrıca topraktan izole edilen tüm bakteriler içinde en yüksek oranda saptanan sınıf/filumun Bacilli/Firmicutes olduğu, buna paralel şekilde en çok rastlanan bakteri cinsinin de *Lysinibacillus* olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.6’ da A, B ve C noktalarından alınan toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin ait olduğu filum ve sınıflar, bulunma sıklığına göre birbirlerine oranları ile birlikte gösterilmektedir.

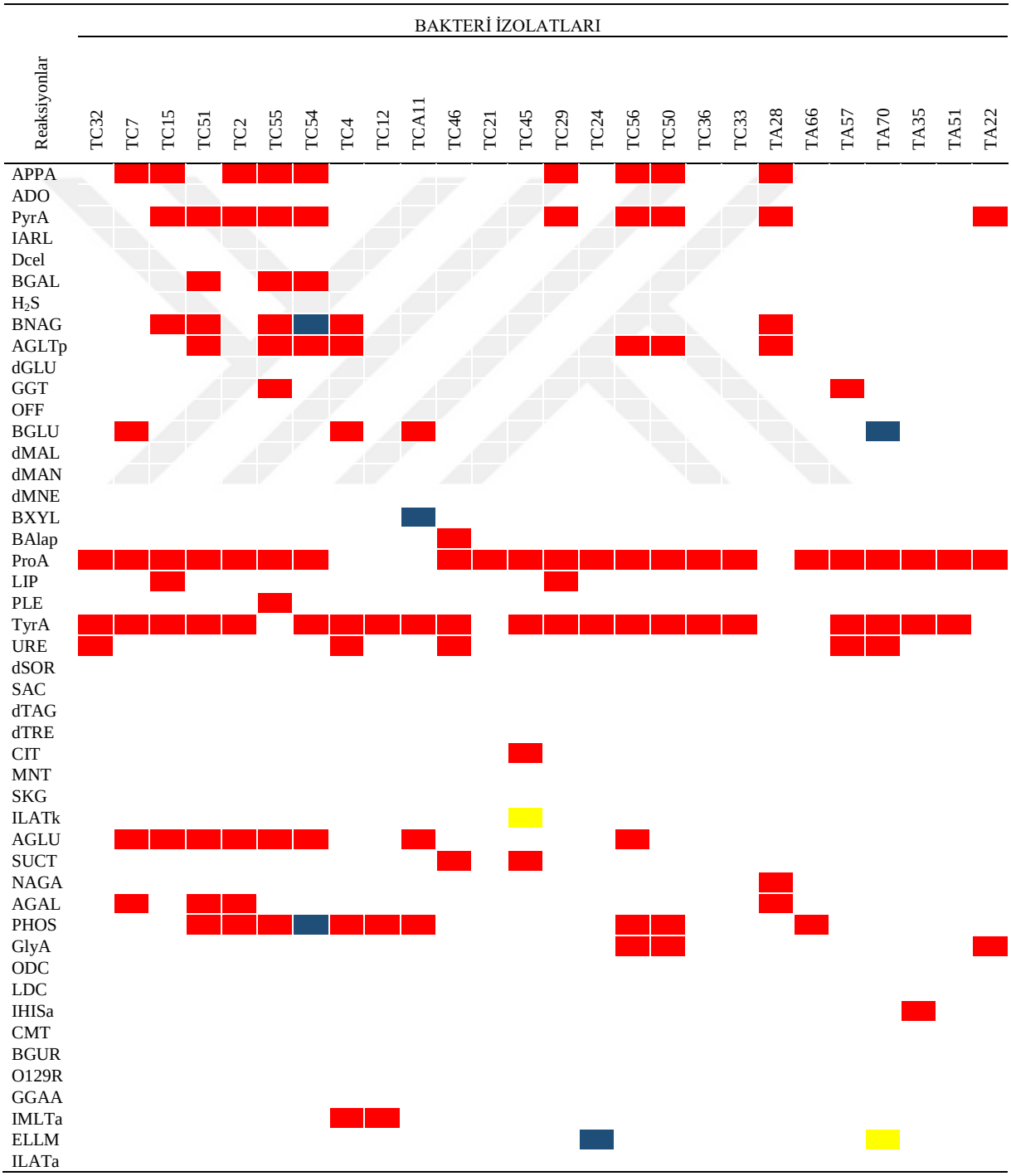


Şekil 4.6: Mağara toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin dahil olduğu filum ve sınıfları gösteren grafikler ve bulunma oranları.

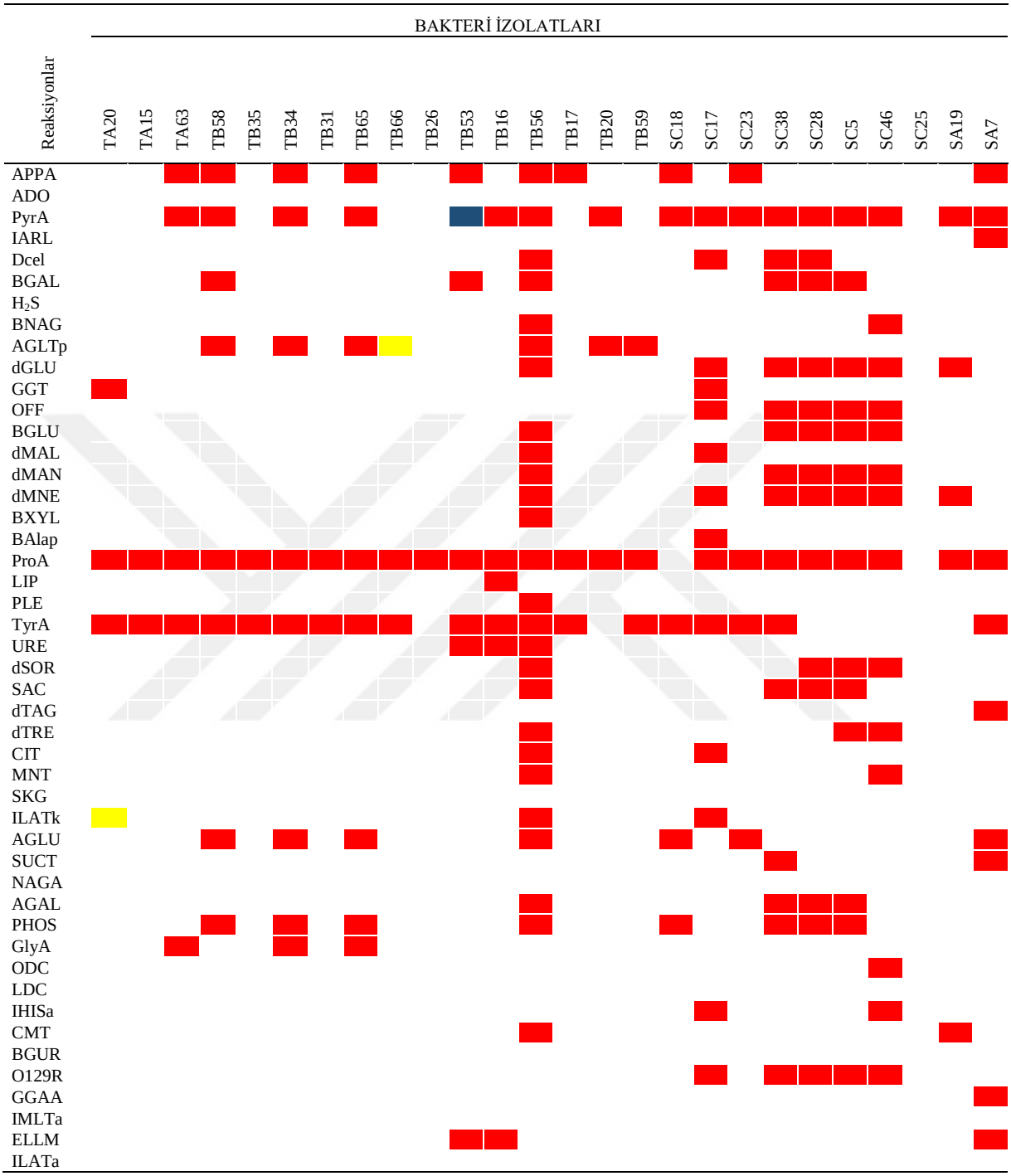
4.4. ENZİMATİK REAKSİYONLAR

Vitek 2 Compact cihazıyla tanımlanan bakterilare ait enzimatik reaksiyonlar 3 grup altında toplanmıştır. Gram (-), Gram (+) ve Gram (+) sporlu bakterilerin test edilen substratlara verdiği pozitif reaksiyonların dağılımı; Tablo 4.20, Tablo 4.21 ve Tablo 4.22' de verilmiştir.

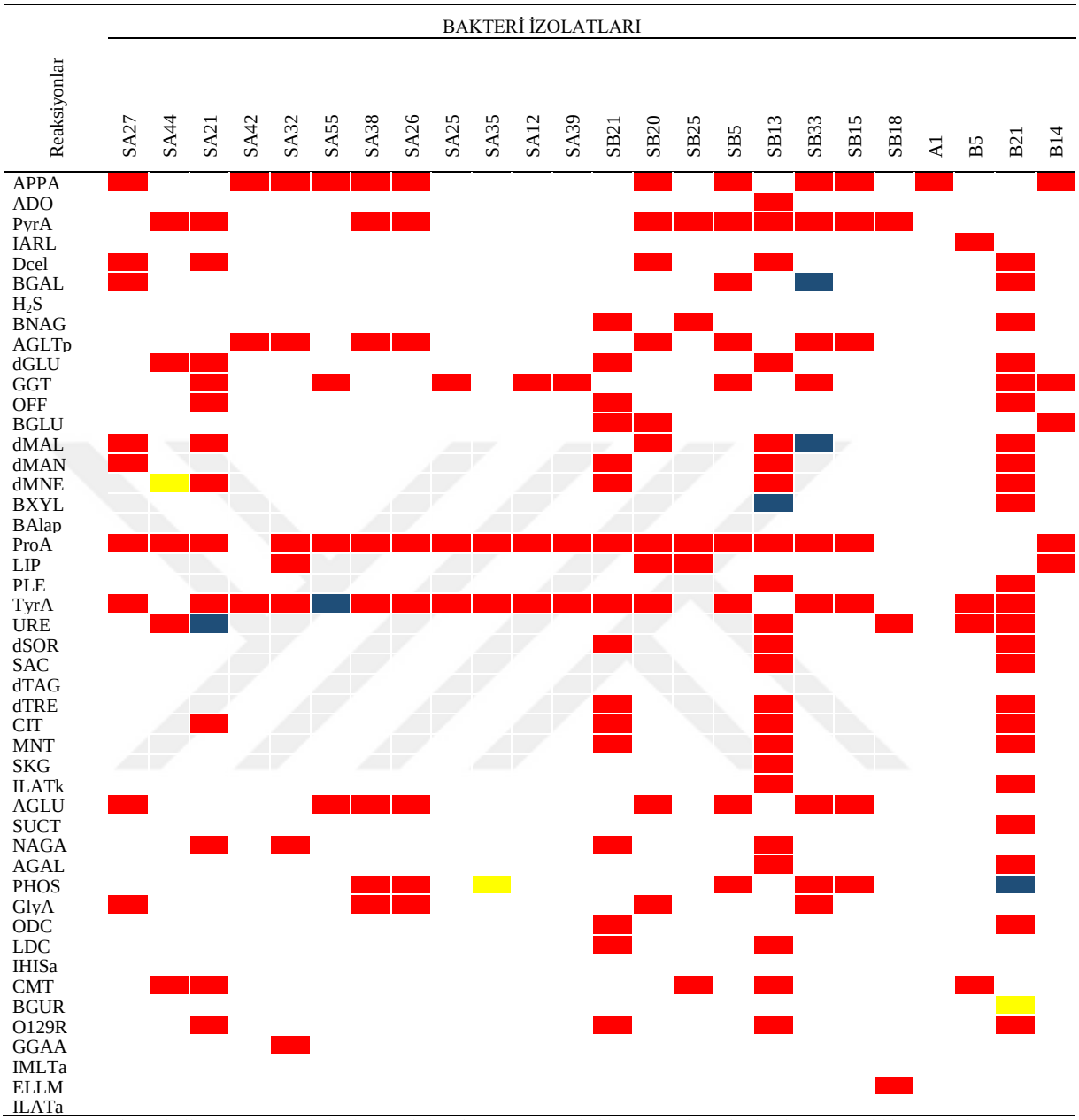
Tablo 4.20: Gram (–) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



Tablo 4.20 (devam): Gram (–) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



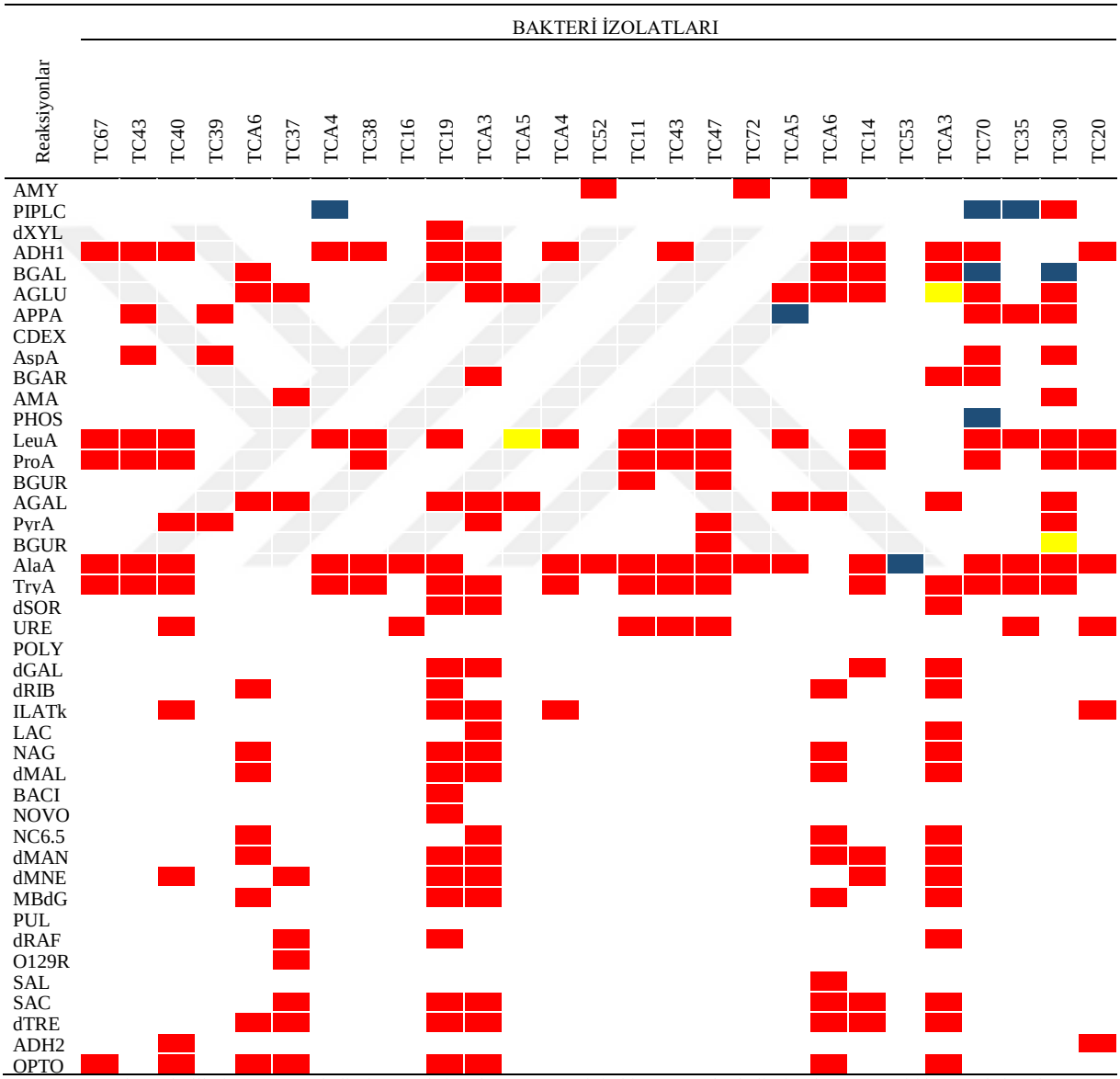
Tablo 4.20 (devam): Gram (–) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



- Renk sembollleri: “Kırmızı” belirgin + reaksiyonları, “Sarı” eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, “Mavi” eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GN kart kullanılarak Gram (-) (fermantasyon yapan ve yapmayan Çomak) izolatlara yapılan testler: APPA: Ala-Phe-Pro-Arilamidaz; ADO: Adonitol; PyrA: L-Pirolidonil-Arilamidaz; IARL: L-Arabitol; dCEL: D-Selobiyoz; BGAL: Beta-Galaktosidaz; H_2S: H_2S oluşumu; BNAG: Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz; AGLTp: Glutamil Arilamidaz pNA; dGLU; D-Glikoz; GGT: Gama-Glutamil-Transferaz; OFF: Fermantasyon/ Glikoz; BGLU: Beta-Glikosidaz; dMAL: D-Maltoz; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; BXYL: Beta-Ksilosidaz; BAlap: Beta-Alanin arilamidaz pNA; ProA: L-Prolin Arilamidaz; LIP: Lipaz; PLE: Palatinoz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; URE: Üreaz; dSOR: D-Sorbitol; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTAG: D-Tagatoz; dTRE: D-Trehaloz; CIT: Sitrat (Sodyum); MNT: Malonat; 5KG: 5-Keto-D-Glukonat; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; AGLU: Alfa-Glikosidaz; SUCT: Süksinat alkalileşmesi; NAGA: Beta-N-Asetil-Galaktozaminidaz; AGAL: Alfa-Galaktosidaz; PHOS: Fosfataz; GlyA: Glisin Arilamidaz; ODC: Ornitin Dekarboksilaz; LDC: Lizin Dekarboksilaz; IHISa: L-Histidin asimilasyonu; CMT: Kurmarat; BGUR: Beta-Glukuronidaz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); GGAA: Glu-Gli-Arg-Arilamidaz; IMLTa: L-Malat asimilasyonu; ELLM: ELLMAN; ILATa: L-Laktat asimilasyonu.

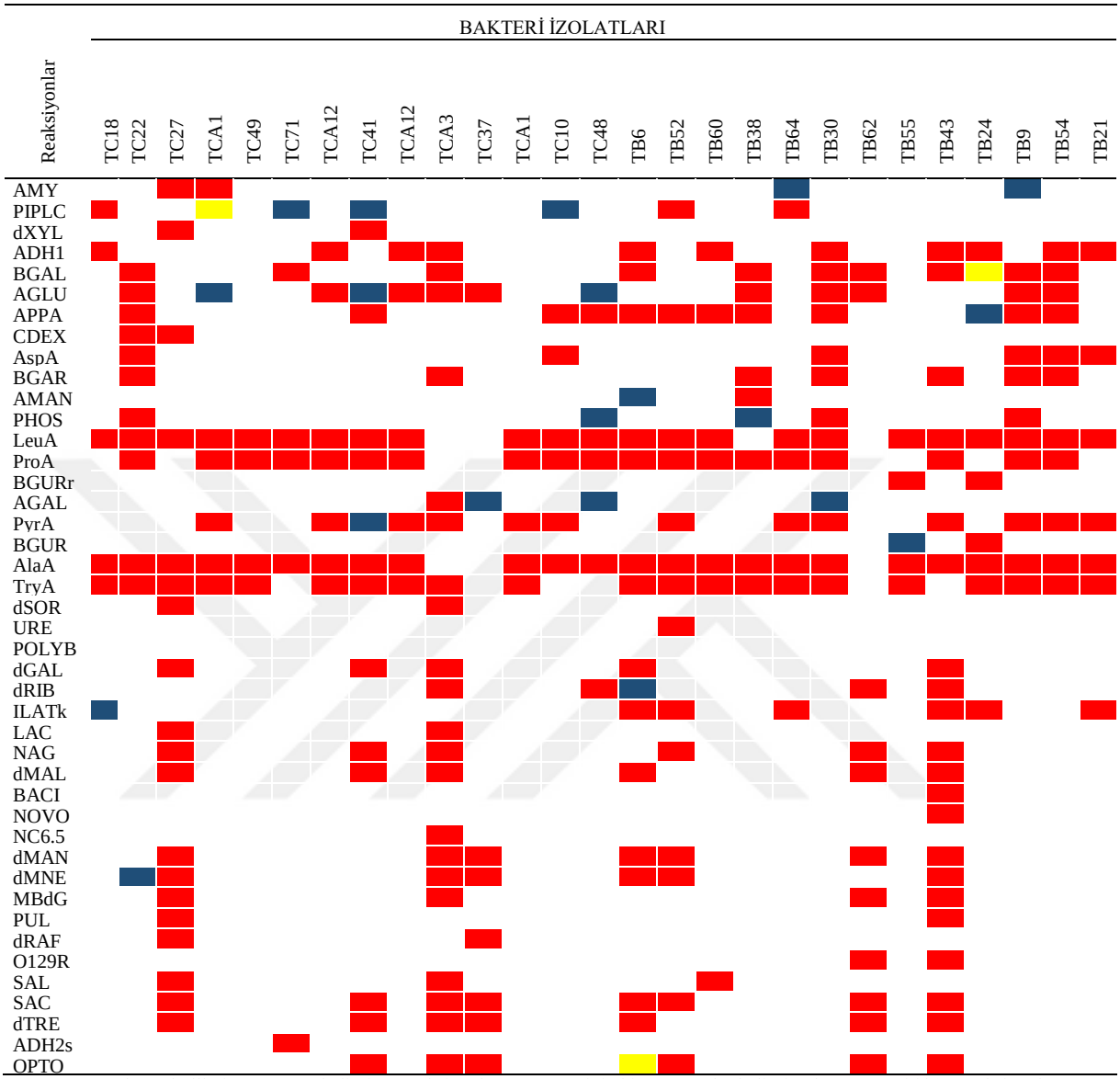
76 Gram (-) bakteriye ait biyokimyasal analiz sonuçlarına göre H_2S oluşumuna ve Beta-Glukuronidaz oluşumuna sebep olan bir izolat tespit edilemezken, bu gruptaki bakterilerin % 85,52' sinin L-prolin arilamidaz, % 75' inin tirozin arilamidaz, % 48,68' inin L-pirolidonil arilamidaz ve % 40,78' inin de Ala-phe-Pro-Arilamidaz enzimlerini oluşturduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.21: Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



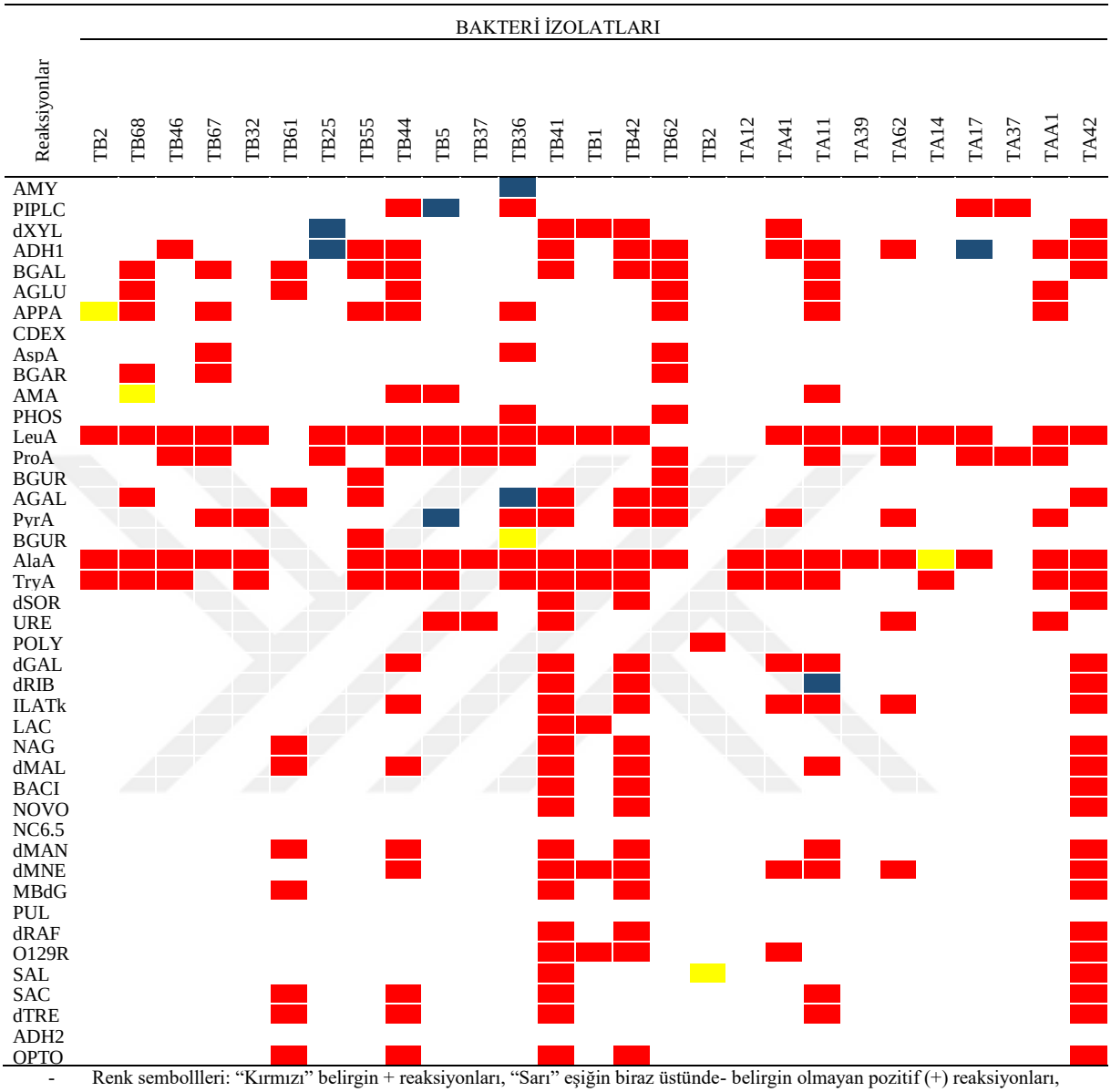
- Renk sembollleri: "Kırmızı" belirgin + reaksiyonları, "Sarı" eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, "Mavi" eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GP kart kullanılarak Gram (+) izolatlara yapılan testler: AMY: D-Amigdalin; PIPLC: Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; dXYL: D-Ksiloz; ADH1: Arjinin Dİhidrolaz 1; BGAL: Beta-Galaktosidaz; AGLU: Alfa-Glikosidaz; APPA: Ala- Phe-Pro Arilamidaz; CDEX: Siklodekstrin; AspA: L-Aspartat Arilamidaz; BGAR: Beta-Galaktopiranosidaz; AMAN: Alfa-Mannosidaz; PHOS: Fosfataz; LeuA: Lösin Arilamidaz; ProA: L-Prolin Arilamidaz; BGURr: Beta Glukuronidaz; AGAL: Alfa- Galaktosidaz; PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz; BGUR: Beta-Glukuronidaz; AlaA: Alanin Arilamidaz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; dSOR: D-Sorbitol; URE: Üreaz; POLYB: Polimiksin B Direnci; dGAL: D-Galaktoz; dRIB: D-Riboz; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; LAC: Laktoz; NAG: N-Asetil-D-Glikozamin; dMAL: D-Maltoz; BACI: Basitrasin Direnci; NOVO: Novobiosin Direnci; NC6.5: % 6,5 NaCl'de çoğalma; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; MBdG: Metil-B-D-Glukopiranosid; PUL: Pullulan; dRAF: D-Rafinoz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); SAL: Salisin; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTRE: D-Trehaloz; ADH2s: Arjinin Dihidrolaz 2; OPTO: Optokin Direnci.

Tablo 4.21 (devam): Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



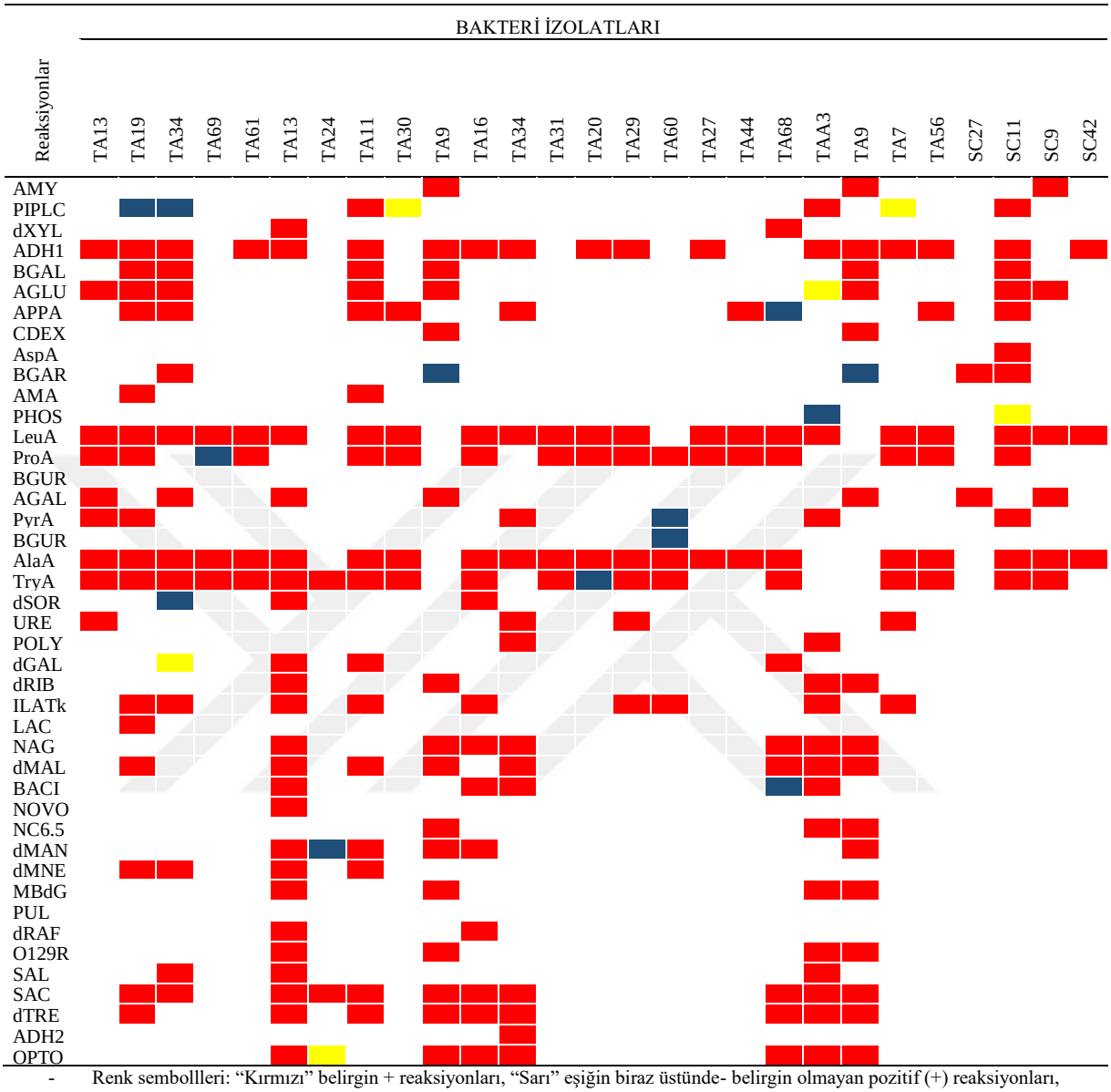
- Renk sembollleri: “Kırmızı” belirgin + reaksiyonları, “Sarı” eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, “Mavi” eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GP kart kullanılarak Gram (+) izolatlara yapılan testler: AMY: D-Amigdalin; PIPLC: Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; dXYL: D-Ksiloz; ADH1: Arjinin Dİhidrolaz 1; BGAL: Beta-Galaktosidaz; AGLU: Alfa-Glikosidaz; APPA: Ala- Phe-Pro Arilamidaz; CDEX: Siklodekstrin; AspA: L-Aspartat Arilamidaz; BGAR: Beta-Galaktopiranosidaz; AMAN: Alfa-Mannosidaz; PHOS: Fosfataz; LeuA: Lösin Arilamidaz; ProA: L-Prolin Arilamidaz; BGURr: Beta Glukuronidaz; AGAL: Alfa- Galaktosidaz; PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz; BGUR: Beta-Glukuronidaz; AlaA: Alanin Arilamidaz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; dSOR: D-Sorbitol; URE: Üreaz; POLYB: Polimiksin B Direnci; dGAL: D-Galaktoz; dRIB: D-Riboz; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; LAC: Laktoz; NAG: N-Asetil-D-Glikozamin; dMAL: D-Maltoz; BACI: Basitrasin Direnci; NOVO: Novobiosin Direnci; NC6.5: % 6,5 NaCl'de çoğalma; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; MBdG: Metil-B-D-Glukopiranosid; PUL: Pullulan; dRAF: D-Rafinoz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); SAL: Salisin; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTRE: D-Trehaloz; ADH2s: Arjinin Dihidrolaz 2; OPTO: Optokin Direnci.

Tablo 4.21 (devam): Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



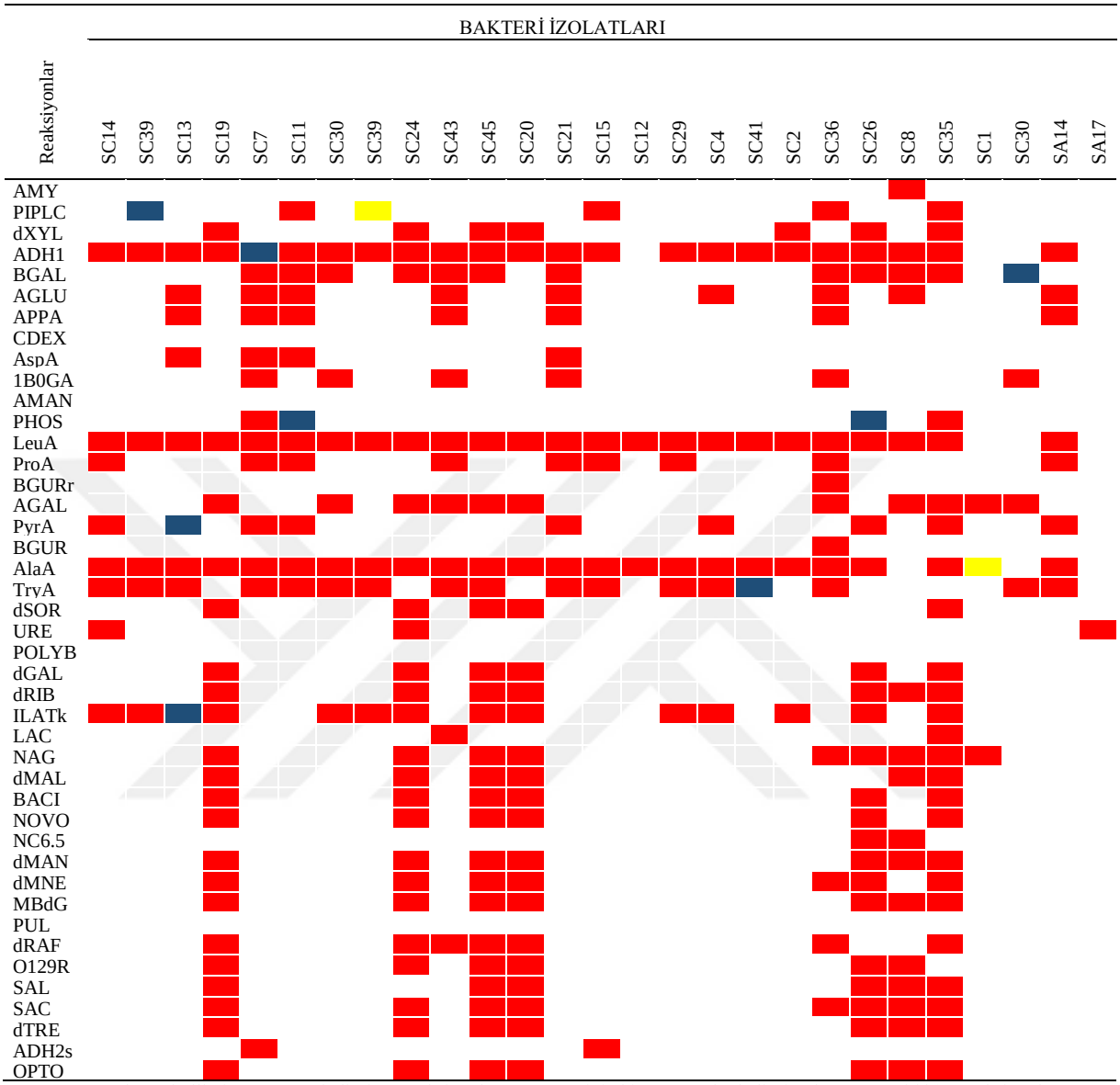
- Renk sembollleri: “Kırmızı” belirgin + reaksiyonları, “Sarı” eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, “Mavi” eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GP kart kullanılarak Gram (+) izolatlara yapılan testler: AMY: D-Amigdalin; PIPLC: Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; dXYL: D-Ksiloz; ADH1: Arjinin Dİhidrolaz 1; BGAL: Beta-Galaktosidaz; AGLU: Alfa-Glikosidaz; APPA: Ala- Phe-Pro Arilamidaz; CDEX: Siklodekstrin; AspA: L-Aspartat Arilamidaz; BGAR: Beta-Galaktopiranosidaz; AMAN: Alfa-Mannosidaz; PHOS: Fosfataz; LeuA: Lösin Arilamidaz; ProA: L-Prolin Arilamidaz; BGURr: Beta Glukuronidaz; AGAL: Alfa- Galaktosidaz; PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz; BGUR: Beta-Glukuronidaz; AlaA: Alanin Arilamidaz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; dSOR: D-Sorbitol; URE: Üreaz; POLYB: Polimiksin B Direnci; dGAL: D-Galaktoz; dRIB: D-Riboz; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; LAC: Laktoz; NAG: N-Asetil-D-Glikozamin; dMAL: D-Maltoz; BACI: Basitrasin Direnci; NOVO: Novobiosin Direnci; NC6.5: % 6,5 NaCl'de çoğalma; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; MBdG: Metil-B-D-Glukopiranosid; PUL: Pullulan; dRAF: D-Rafinoz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); SAL: Salisin; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTRE: D-Trehaloz; ADH2s: Arjinin Dihidrolaz 2; OPTO: Optokin Direnci.

Tablo 4.21 (devam): Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



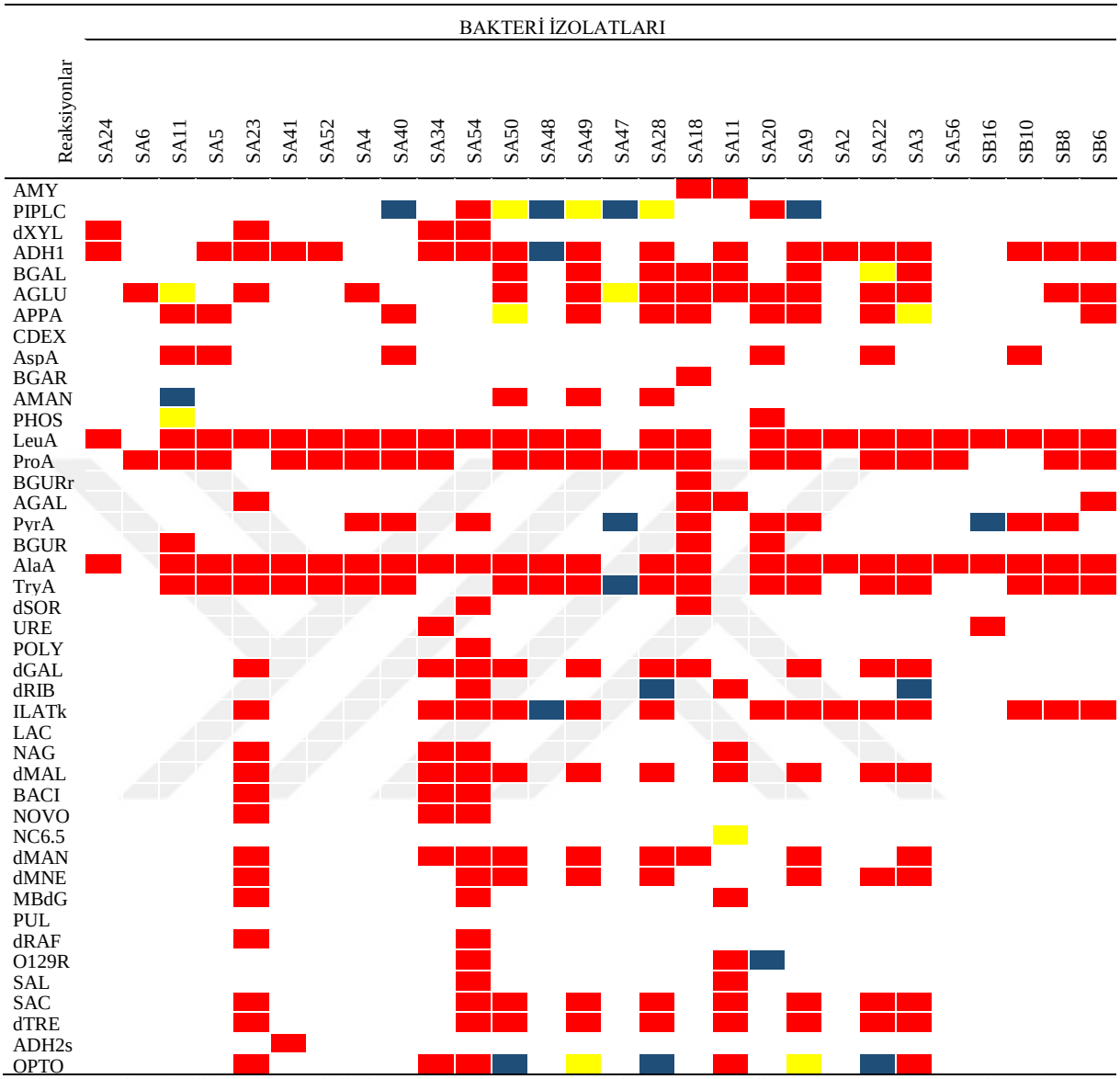
- Renk sembollleri: “Kırmızı” belirgin + reaksiyonları, “Sarı” eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, “Mavi” eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GP kart kullanılarak Gram (+) izolatlara yapılan testler: AMY: D-Amigdalin; PIPLC: Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; dXYL: D-Ksiloz; ADH1: Arjinin Dİhidrolaz 1; BGAL: Beta-Galaktosidaz; AGLU: Alfa-Glikosidaz; APPA: Ala- Phe-Pro Arilamidaz; CDEX: Siklodekstrin; AspA: L-Aspartat Arilamidaz; BGAR: Beta-Galaktopiranosidaz; AMAN: Alfa-Mannosidaz; PHOS: Fosfataz; LeuA: Lösin Arilamidaz; ProA: L-Prolin Arilamidaz; BGURr: Beta Glukuronidaz; AGAL: Alfa- Galaktosidaz; PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz; BGUR: Beta-Glukuronidaz; AlaA: Alanin Arilamidaz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; dSOR: D-Sorbitol; URE: Üreaz; POLYB: Polimiksin B Direnci; dGAL: D-Galaktoz; dRIB: D-Riboz; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; LAC: Laktoz; NAG: N-Asetil-D-Glikozamin; dMAL: D-Maltoz; BACI: Basitrasin Direnci; NOVO: Novobiosin Direnci; NC6.5: % 6,5 NaCl'de çoğalma; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; MBdG: Metil-B-D-Glukopiranosid; PUL: Pullulan; dRAF: D-Rafinoz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); SAL: Salisin; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTRE: D-Trehaloz; ADH2s: Arjinin Dihidrolaz 2; OPTO: Optokin Direnci.

Tablo 4.21 (devam): Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



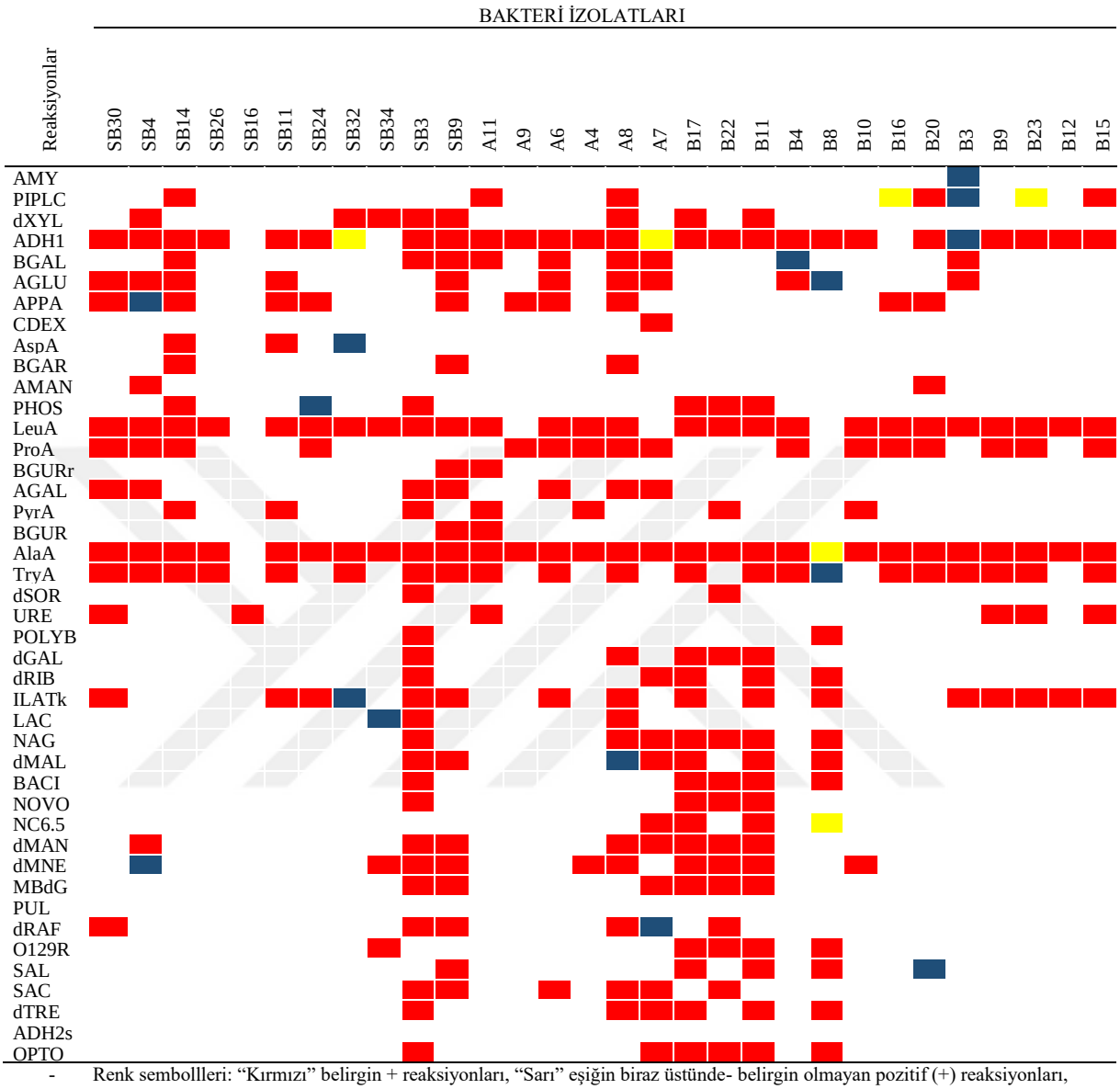
- Renk sembollleri: “Kırmızı” belirgin + reaksiyonları, “Sarı” eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, “Mavi” eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GP kart kullanılarak Gram (+) izolatlara yapılan testler: AMY: D-Amigdalin; PIPLC: Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; dXYL: D-Ksiloz; ADH1: Arjinin Dİhidrolaz 1; BGAL: Beta-Galaktosidaz; AGLU: Alfa-Glikosidaz; APPA: Ala- Phe-Pro Arilamidaz; CDEX: Siklodekstrin; AspA: L-Aspartat Arilamidaz; BGAR: Beta-Galaktopiranosidaz; AMAN: Alfa-Mannosidaz; PHOS: Fosfataz; LeuA: Lösin Arilamidaz; ProA: L-Prolin Arilamidaz; BGURr: Beta Glukuronidaz; AGAL: Alfa- Galaktosidaz; PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz; BGUR: Beta-Glukuronidaz; AlaA: Alanin Arilamidaz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; dSOR: D-Sorbitol; URE: Üreaz; POLYB: Polimiksin B Direnci; dGAL: D-Galaktoz; dRIB: D-Riboz; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; LAC: Laktoz; NAG: N-Asetil-D-Glikozamin; dMAL: D-Maltoz; BACI: Basitrasin Direnci; NOVO: Novobiosin Direnci; NC6.5: % 6,5 NaCl'de çoğalma; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; MBdG: Metil-B-D-Glukopiranosid; PUL: Pullulan; dRAF: D-Rafinoz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); SAL: Salisin; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTRE: D-Trehaloz; ADH2s: Arjinin Dihidrolaz 2; OPTO: Optokin Direnci.

Tablo 4.21 (devam): Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



- Renk sembollleri: “Kırmızı” belirgin + reaksiyonları, “Sarı” eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, “Mavi” eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GP kart kullanılarak Gram (+) izolatlara yapılan testler: AMY: D-Amigdalin; PIPLC: Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; dXYL: D-Ksiloz; ADH1: Arjinin Dİhidrolaz 1; BGAL: Beta-Galaktosidaz; AGLU: Alfa-Glikosidaz; APPA: Ala- Phe-Pro Arilamidaz; CDEX: Siklodekstrin; AspA: L-Aspartat Arilamidaz; BGAR: Beta-Galaktopiranosidaz; AMAN: Alfa-Mannosidaz; PHOS: Fosfataz; LeuA: Lösin Arilamidaz; ProA: L-Prolin Arilamidaz; BGURr: Beta Glukuronidaz; AGAL: Alfa- Galaktosidaz; PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz; BGUR: Beta-Glukuronidaz; AlaA: Alanin Arilamidaz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; dSOR: D-Sorbitol; URE: Üreaz; POLYB: Polimiksin B Direnci; dGAL: D-Galaktoz; dRIB: D-Riboz; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; LAC: Laktoz; NAG: N-Asetil-D-Glikozamin; dMAL: D-Maltoz; BACI: Basitrasin Direnci; NOVO: Novobiosin Direnci; NC6.5: % 6,5 NaCl'de çoğalma; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; MBdG: Metil-B-D-Glukopiranosid; PUL: Pullulan; dRAF: D-Rafinoz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); SAL: Salisin; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTRE: D-Trehaloz; ADH2s: Arjinin Dihidrolaz 2; OPTO: Optokin Direnci.

Tablo 4.21 (devam): Gram (+) bakterilere ait biyokimyasal özellikler.

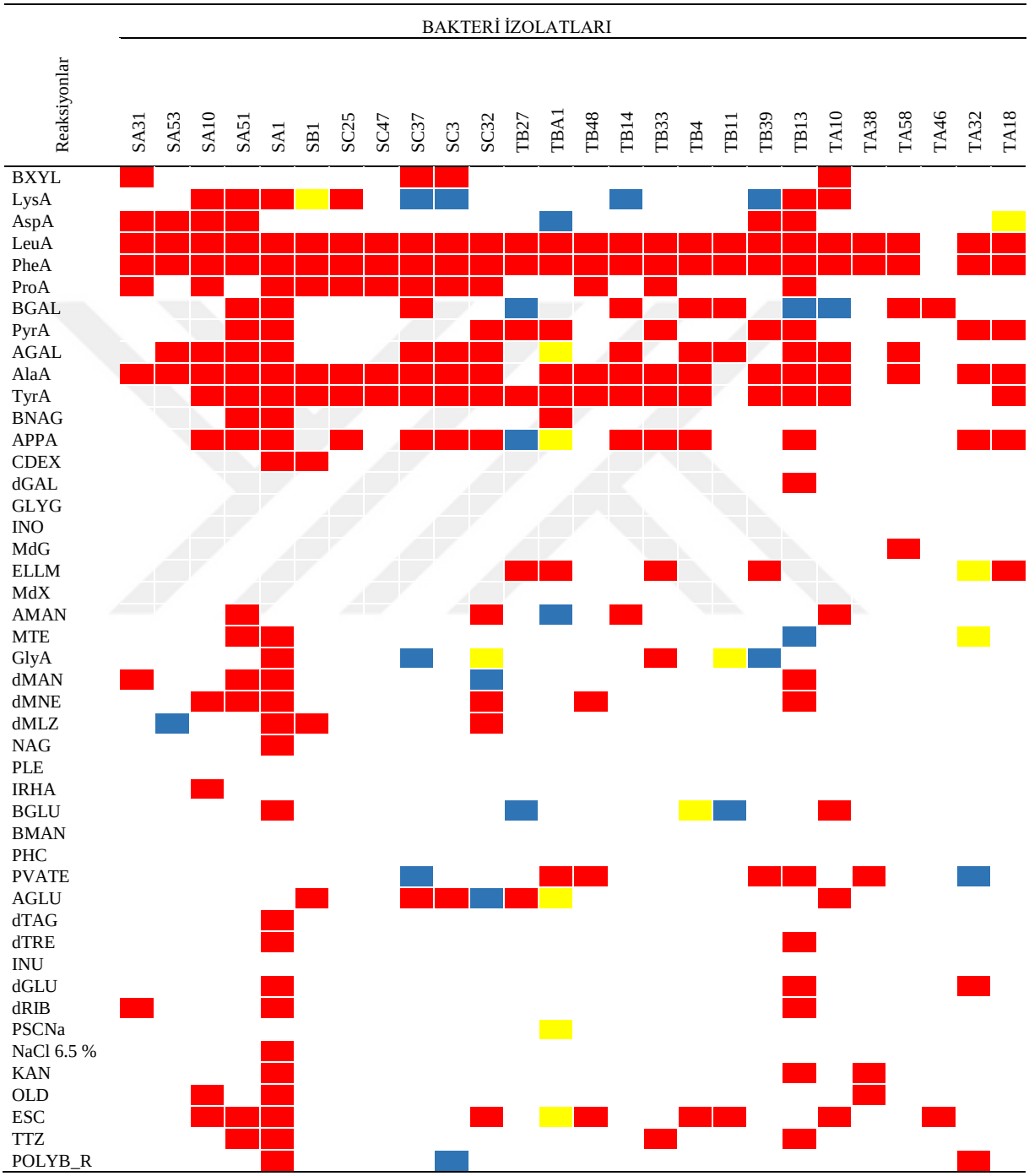


- Renk sembollleri: “Kırmızı” belirgin + reaksiyonları, “Sarı” eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, “Mavi” eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında GP kart kullanılarak Gram (+) izolatlara yapılan testler: AMY: D-Amigdalin; PIPLC: Fosfatidilinositol Fosfolipaz C; dXYL: D-Ksiloz; ADH1: Arjinin Dİhidrolaz 1; BGAL: Beta-Galaktosidaz; AGLU: Alfa-Glikosidaz; APPA: Ala- Phe-Pro Arilamidaz; CDEX: Siklodekstrin; AspA: L-Aspartat Arilamidaz; BGAR: Beta-Galaktopiranosidaz; AMAN: Alfa-Mannosidaz; PHOS: Fosfataz; LeuA: Lösin Arilamidaz; ProA: L-Prolin Arilamidaz; BGURr: Beta Glukuronidaz; AGAL: Alfa- Galaktosidaz; PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz; BGUR: Beta-Glukuronidaz; AlaA: Alanin Arilamidaz; TyrA: Tirozin Arilamidaz; dSOR: D-Sorbitol; URE: Üreaz; POLYB: Polimiksin B Direnci; dGAL: D-Galaktoz; dRIB: D-Riboz; ILATk: L-Laktat alkalileşmesi; LAC: Laktoz; NAG: N-Asetil-D-Glikozamin; dMAL: D-Maltoz; BACI: Basitrasin Direnci; NOVO: Novobiosin Direnci; NC6.5: % 6,5 NaCl'de çoğalma; dMAN: D-Manitol; dMNE: D-Mannoz; MBdG: Metil-B-D-Glukopiranosid; PUL: Pullulan; dRAF: D-Rafinoz; O129R: O/129 Direnci (comp.vibrio.); SAL: Salisin; SAC: Sakkaroz/Sükroz; dTRE: D-Trehaloz; ADH2s: Arjinin Dihidrolaz 2; OPTO: Optokin Direnci.

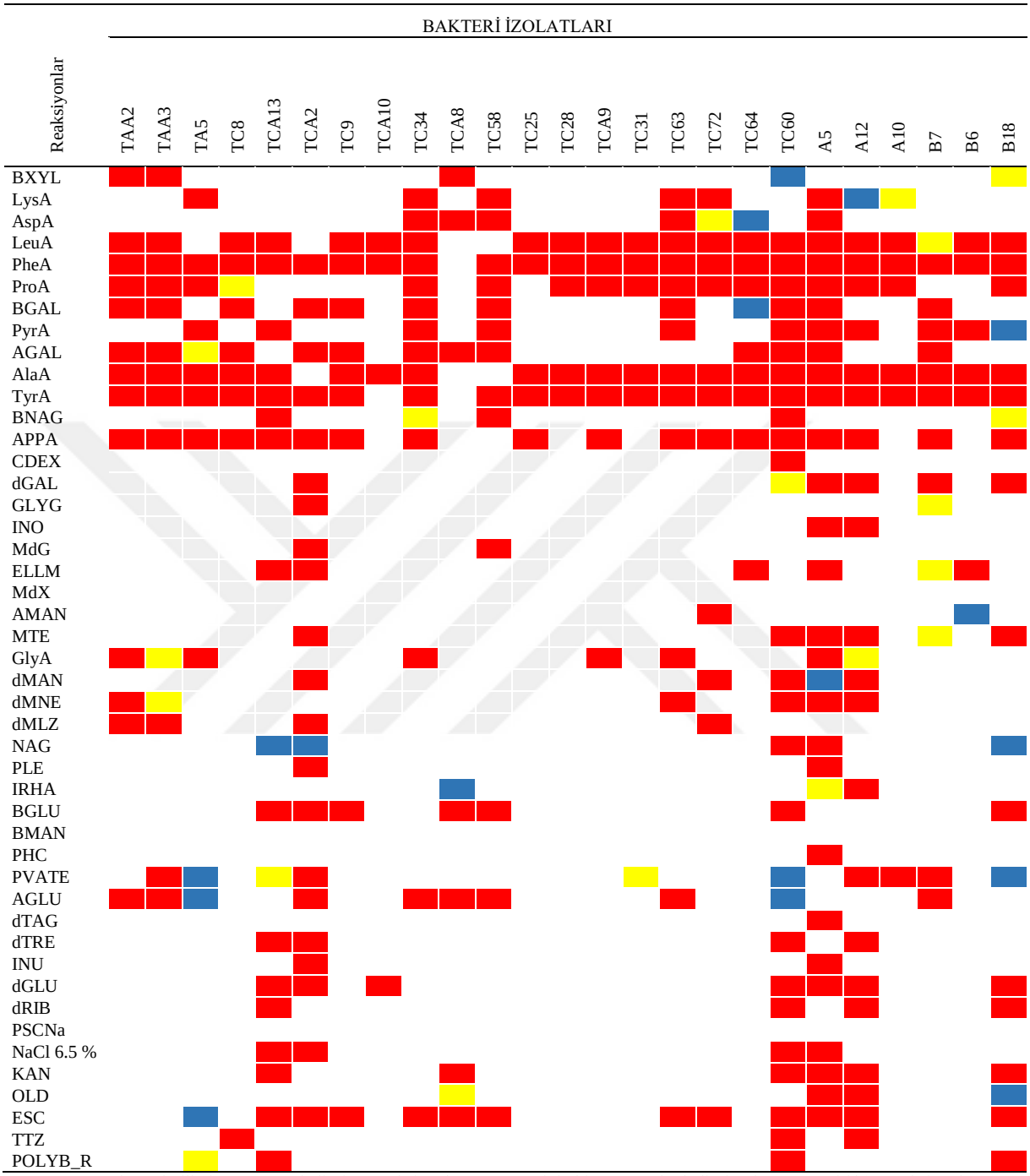
194 adet Gram (+) bakterinin Vitek 2 Compact tanımlama cihazı ile biyokimyasal reaksiyonları incelenmiş, buna bakterilerin sırasıyla; % 84,53’ ünün alanin arilamidaz, % 81,95’ inin lösin arilamidaz, % 65,97’ sinin tirozin arilamidaz ve % 60,82’ sinin de arjinin dihidrolaz 1 enzimlerini üretme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Gram (+) mağara bakterilerinin

yanlızca % 1,03’ ünün üretebildiği en nadir rastlanan enzimin ise pullulan olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.22: Gram (+) sporlu bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



Tablo 4.22 (devam): Gram (+) sporlu bakterilere ait biyokimyasal özellikler.



- Renk sembollleri: "Kırmızı" belirgin + reaksiyonları, "Sarı" eşiğin biraz üstünde- belirgin olmayan pozitif (+) reaksiyonları, "Mavi" eşiğin biraz altında- belirgin olmayan negatif reaksiyonları vurgulamak için kullanılmıştır.
- VITEK 2 Compact 30 mikro tanımlama cihazında BCL kart kullanılarak Gram (+) spor-oluşturan Çomak izolatlara yapılan testler: BXYL: Beta-Ksilosidaz, LysA: L-Lizin-Arilamidaz, AspA: L-Aspartat Arilamidaz, LeuA: Lösin Arilamidaz, PheA: Fenilalanin Arilamidaz, ProA: L-Prolin Arilamidaz, BGAL: Beta-Galaktosidaz, PyrA: L-Prolidonil-Arilamidaz, AGAL: Alfa-Galaktosidaz, AlaA: Alanin ARİLAMİDAZ, TyrA: Tirozin Arilamidaz, BNAG: Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz, APPA: Ala-Phe-Pro Arilamidaz, CDEX: Siklodekstrin, dGAL: D-Galaktoz, GLYG: Glikojen, INO: myo-İnositol, MdG: Metil-A-D-Glukopiranosid asitleşmesi, ELLM: ELLMAN, MdX: Metil-D-Ksilosid, AMAN: Alfa-Mannosidaz, MTE: Maltotrioz, GlyA: Glisin Arilamidaz, dMAN: D-Manitol, dMNE: D-MAnnoz, dMLZ: D-Melezitoz, NAG: N-Asetil-D-Glikozamin, PLE: Palatinoz, IRHA: L-Ramnoz, BGLU: Beta-Glikosidaz, BMAN: Beta-Mannosidaz, PHC: Fosforil Kolin, PVATE: Piruvat, AGLU: Alfa-Glikosidaz, dTAG: D-Tagatoz, dTRE: D-Trehaloz, INU: Inulın, dGLU: D-Glikoz, dRIB: D-Riboz, PSCNa: Putresin asimilasyonu, NaCl 6.5 %: % 6,5 NaCl'de çoğalma, KAN: Kanamisin Dİrenci, OLD: Oleandomisin Direnci, ESC: Eskülin hidrolizi, TTZ: Tetrazolium Kırmızısı, POLYB_R: Polimiksin_B Direnci.

Vitek 2 cihazı ile Gram (+) sporlu 51 bakterinin % 96,07' sinin fenilalanin arilamidaz enzimi % 88,23' ünün lösin arilamidaz, % 86,27' sinin alanin arilamidaz, % 82,35' inin tirozin arilamidaz enzimini ürettiği tespit edilmiştir. Bu bakteriler içinde metil-D-ksilosid, beta-mannosidaz ve putresin asimilasyonu reaksiyonlarında pozitif sonuç veren izolat bulunmamıştır.

4.5.ANTİMİKROBİYAL MADDE ÜRETİM YETENEĞİ

Mağara izolatlarının sahip oldukları antimikrobiyal aktivitelerin tespiti için Bacilli ve Actinomycetes familyasına dahil olan suşlar seçilmiştir. Toplam 129 adet mağara bakterisinin 7 farklı standart bakteri suşuna, iki bakteri ve ve bir mantar suşuna karşı antimikrobiyal etkiye sahip olup olmadığı test edilmiştir. Deneyler sonucunda seçilen bakterilerin 10' unun (altı Actinomycetes, dört Bacilli sınıfından bakteri) kullanılan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Denenen mikroorganizmalar arasında *Candida albicans*, mağara izolatlarının en yüksek oranda üremesini önlediği patojen olararak belirlenmiş; *E. coli, E. fecalis, B. subtilis,* MRSA, *K. pneumoniae' nin* üremesi üzerinde engelleyici nitelikte antimikrobiyal maddeye sahip bir bakteri ise tespit edilmemiştir (Tablo 4.23 ve Şekil 4.7).

Tablo 4.23: Antimikrobiyal aktivite testi sonuçları.

İzolatlar\Bakteri sınıfı	Test edilen mikroorganizmalar									
	E. coli	***E. fecalis***	***B. subtils***	***S. aureus***	***S. epidermidis***	***Candida albicans***	**MRSA**	**VRE**	***P. aeruginosa***	***K. pneumoniae***
SA22/ Actinomycetes	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-
TA44/ Actinomycetes	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-
TA12/ Actinomycetes	-	-	-	-	-	-	-	-	13,5	-

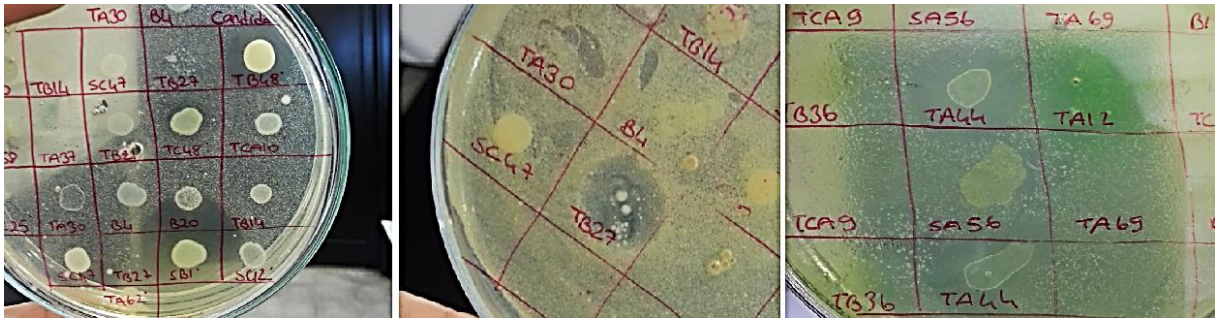
Tablo 4.23 (Devam): Antimikrobiyal aktivite testi sonuçları.

İzolatlar\Bakteri sınfı	Test edilen mikroorganizmalar									
	E. coli	***E. fecalis***	***B. subtils***	***S. aureus***	***S. epidermidis***	***Candida albicans***	**MRSA**	**VRE**	***P. aeruginosa***	***K. pneumoniae***
SA56/ Actinomycetes	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-
TB48/ Bacilli	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-
SB1/ Bacilli	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-
TA62/ Actinomycetes	-	-	-	-	-	24	-	-	-	-
TB27/ Bacilli	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-
SC3/ Bacilli	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-
TB64/ Actinomycetes	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-
Piperasillin	11	24	19	13	20	x	9	31	16	22
Eritromisin	6	13	17	9	10	x	-	-	*	11
Vankomisin	-	16	13	8	10	x	21	18	-	-
Ampisilin	8	21	20	12	21	x	9	28	-	*
Neomisin	5	-	12	*	9	x	14	-	5	18
Gentamisin	11	6,5	16	8	13	x	20	-	11	22
Kloramfenikol	13	-	18	15	15	x	11	9	*	25
Tetrasiklin	10	-	16	8	14	x	-	14	5	19
Rifampisin	7	16	17	10	18	x	35	28	8	15
Oflofloksasin	15	18	21	13	15	x	31	30	23	35

- Zon çapları mm cinsinden ölçülmüştür.

*: inhibisyon zonu (-) iken bakteri yarı üreme zonu (+) alan gözlenmesi

-: inhibisyon zonu (-), x: test edilmemiştir.



Şekil 4.7: İzole edilen bakterilerin antimikrobiyal aktivite yeteneğini gösteren bazı fotoğraflar.

4.6.ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİ

Tez çalışması kapsamında izole edilip identifikasyonu yapılan bakteriler içerisinde Vitek 2 cihazı tarafından daha yüksek oranla tanımlananların antibiyotik direnç özellikleri araştırılmıştır. Aynı tür adına sahip, farklı örneklerden izole edilen seçili suşların antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilmiş ve bunlar arasında bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Kullanılan 10 antibiyotiğe karşı seçili 101 suşun test sonuçları, antibiyotiklerin oluşturdukları zonun çapı ölçülerek değerlendirilmiştir. İzole edilen bakterilerin, antimikrobiyal madde etkinlik deneyinde kullanılan yedi standart bakteri suşunun ve iki bakterinin antibiyotiklere karşı sahip olduğu direnç profili Tablo 4.24' de verilmiştir.

Tablo 4.24: Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

	Antibiyotik Diskler									
Test Mikroorganizmaları	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
SA5/ *Granulicatella elegans*	26	30	19	30	16	22	24	29	30	33
SC15/ *Granulicatella elegans*	35	-	10	24	21	33	17	30	30	50
TA61/ *Granulicatella elegans*	28	8	8	-	19	Etkili	14	16	17	38
TB46/*Granulicatella elegans*	29	12 *	-	-	19	26	-	15	21	40
TB61/*Granulicatella elegans*	30	2	23	13	20	23	30	18	18	29

Tablo 4.24. (devam): Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

	Antibiyotik Diskler									
Test Mikroorganizmaları	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
TC38/*Granulicatella elegans*	30	-	-	-	18	24	-	16	22	40
TC43/ *Granulicatella elegans*	13	*	-	-	10	15	12	11	11	20
SA11/ *Granulcatella adiacens*	36	20	16	30	19	23	36	31	30	30
TC11/ *Granulicatella adiacens*	30	30	30	40	10	12	30	24	40	18
SA4/ *Micrococcus lylae*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SB6/ *Micrococcus lylae*	31	40	30	30	14	13	42	32	40	21
SB30/ *Micrococcus lylae*	15	18	14	17	9	10	15	20	23	12
SC14 / *Micrococcus lylae*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SA14/ *Micrococcus luteus*	22	40	26	20	20	-	-	-	-	-
SB4/ *Micrococcus luteus*	12	17	13	11	10	7	17	12	22	13
SB11/ *Micrococcus luteus*	32	23	15	-	12	15	13	9	30	25
TC12 / *Micrococcus luteus*	46	44	28	36	17	*	10	30	38	-
SA24/*Kocuria rosea*	7	7	6	8	7	9	12	13	7	10
SB16/ *Kocuria rosea*	34	32	20	28	20	30	32	-	18	30
SB26/ *Kocuria rosea*	13	12	6	11	11	12	13	12	11	15
SC12/ *Kocuria rosea*	25	42	15	28	20	26	40	23	38	34
TA12/ *Kocuria rosea*	22	-	13	-	-	-	16	12	12	11
TA69 / *Kocuria rosea*	42	46	44	28	41	40	90	40	100	46
TB25/ *Kouria rosea*	-	10	6	9	7	12	15	9	9	13
SA17/*Kocuria varians*	-	27	28	-	-	32	27	36	36	36

Tablo 4.24 (devam): Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

Test Mikroorganizmaları	Antibiyotik Diskler									
	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
B9/ *Kocuria varians/rhizophila/ Micrococcus lylae/luteus*	13	15	15	13	14	16	14	15	14	20
TC16/ *Kocuria varians*	42	34	28	44	26	25	27	34	35	45
A4/ *Kocuria kristinae*	56	36	30	40	32	44	40	50	Etkili	36
B10/*Kocuria kristinae*	25	8	7	7	15	20	9	13	14	36
SC29/*Kocuria kristinae*	28	-	-	-	13	22	12	23	22	36
TA34/ *Kocuria kristinae*	23	31	23	8	24	27	30	20	24	30
SC4/*Kocuria rhizophila*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SB10/ *Kocuria rhizophila*	20	-	-	-	-	-	28	-	14	19
SA28/ *Kocuria kristinae/Rothia dentocariosa*	38	40	22	28	21	19	17	20	28	24
TB32 / *Kocuria rhizophila*	40	25	-	24	16	23	40	36	23	46
TCA4/ *Kocuria rhizophila*	21	26	14	28	18	25	33	25	31	34
SA6/ *Gardnerella vaginalis*	19	15	14	23	13	20	16	20	26	26
TB38/ *Gardnerella vaginalis*	20	30	20	20	20	36	14	32	60	8
SA7/*Sphingomonas paucimobilis*	20	11	9	12	15	17	16	16	16	25
SA27/*Sphingomonas paucimobilis*	40	42	30	33	21	23	30	20	38	22
SA55/*Sphingomonas paucimobilis*	-	45	62	30	28	24	33	46	25	65
SC23/*Sphingomonas paucimobilis*	17	-	-	-	10	-	-	-	-	-

Tablo 4.24. (devam): Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

Test Mikroorganizmaları	Antibiyotik Diskler									
	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
TA28/*Sphingomonas paucimobilis*	14	14	8	-	-	-	-	10	46	-
TB58/*Sphingomonas paucimobilis*	-	32	-	-	13	14	12	14	20	30
TCA5/*Sphingomonas paucimobilis*	28	42	29	48	28	23	30	40	40	30
TC55/*Sphingomonas paucimobilis*	20	30	-	9	11	17	32	34	34	36
SA12/*Francisella tularensis/Oligella ureolytica*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SA19/ *Pseudomonas fluorescens*	13	-	-	-	8	13	6	8	9	15
SB25/ *Pseudomonas fluorescens*	17	7	-	-	8	*	*	*	*	*
SC17/*Pseudomonas fluorescens*	15	6	-	-	11	14	9	9	7	13
TA35/*Pseudomonas fluorescens/salmonicida/Acineto bacter haemolyticus*	22	*	7	*	18	21	-	20	20	31
SA23/*Streptococcus thoraltensis*	30	10	-	-	19	25	23	16	10	30
SC20/*Streptococcus thoraltensis*	10	*	-	8	6	8	11	9	7	17
TA13/ *Streptococcus thoraltensis*	29	10	-	22	18	23	28	20	14	43
TC19/ *Streptococcus thoraltensis*	25	9	-	9 *	15	20	25	16	12	34
SA31/ *Brevibacillus choshinensis*	30	11	-	-	25	27	30	20	15	45
B6/*Bacillus simplex/Brevibacillus choshinnensis*	46	40	14	48	30	34	32	36	26	34

Tablo 4.24. (devam): Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

Test Mikroorganizmaları	Antibiyotik Diskler									
	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
TA58/*Bacillus simplex/Brevibacillus choshinensis*	34	37	25	28	23	31	30	27	27	30
TCA13/*Bacillus cereus/thuringiensis/ mycoides*	23	31	18	*	17	25	27	23	21	130
TA10/ *Bacillus clausii*	28	40	24	26	17	20	44	31	42	22
TB27/*Bacillus sporothermodurans*	26	32	36	48	18	20	38	40	40	40
TC9/ *Bacillus clausii*	42	50	32	56	14	9	Etkili	40	Etkili	26
TCA2/*Bacillus megaterium*	24	29	23	22	18	22	29	22	22	32
TCA8/ *Bacillus firmus*	46	44	34	50	27	34	30	34	56	29
TCA10/ *Bacillus smithii*	32	46	27	32	16	32	32	34	38	30
TA57/*Oligella ureolytica*	15	*	-	-	11	14	11	13	10	23
TC32/ *Oligella ureolytica*	33	14	-	-	18	28	26	33	20	46
A10/*Lysinibacillus sphaericus/ Lysinibacillus fusiformis*	15	*	-	-	10	12	7	13	12	17
TBA1/*Lysinibacillus sphaericus/Lysinibacillus fusisormis*	34	37	25	38	24	24	34	33	26	30
TC34/*Lysinibacillus sphaericus/ Lysinnibacillus fusisormis*	20	-	-	-	12	12	10	25	23	35
SC37/*Lysinibacillus fusiformis/sphaericus/ Geobacillus*	27	40	29	25	12	12	-	34	52	15

Tablo 4.24. (devam): Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

	Antibiyotik Diskler									
Test Mikroorganizmaları	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
TA38/*Geobacillus stearothermophilus*	11	*	7	11	8	9	12	10	10	13
TC8/*Geobacillus thermoleovorans*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TC72/*Alicyclobacillus acidoterresis/acidocaltarius*	32	40	28	17	26	35	28	20	20	30
SC47/*Alicyclobacillus acidoterrestris/acidocaldarius*	26	66	36	20	20	26	30	34	36	40
SC5/*Rahnella aquatilis*	18	13	-	-	14	19	21	15	16	26
TC39/*Alloiococcus otitis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B21/*Enterobacter cloacae complex/kobei/hormaechei/ludwigii*	27	-	-	-	17	10	27	18	14	40
A9/*Dermacoccus nishinmiyaensis/ Kytococcus sedentarius*	21	8	8	7	15	20	18	12	36	17
B4/*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella elegans*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B20/*Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius/ Granulicatella elegans/Kocuria rosea*	-	-	-	-	-	25	40	18	26	26
SB24/*Dermacoccus nishinomiyaensis/Kytococcus sedentarius*	25	-	8	-	-	*	25	11	18	35

Tablo 4.24. (devam): Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

	Antibiyotik Diskler									
Test Mikroorganizmaları	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
TA30 /*Dermacoccus nishinomiyaensis/Kytococcus sedentarius/Granulicatella adiacens*	40	44	32	42	22	34	36	36	50	40
TA56/*Dermacoccus nishinomiyaensis/Kytococcus sedentarius/Granulicatella elegans*	28	19	15	-	-	7	15	20	42	32
TC48/*Dermacoccus nishinomiyaensis/Kytococcus sedentarius*	23	25	*	14	10	13	25	30	46	25
A1/ *Aeromonas salmonicida*	38	15	16	-	-	10	14	20	35	28
B14/ *Aeromonas salmonicida/ Brevundimonas diminuta/vesicularis*	20	8	-	-	14	11	20	14	29	46
SB21 / *Serratia fonticola*	30	*	*	-	21	28	32	23	18	48
SC46/ *Serratia fonticola*	27	14	7	-	17	23	28	18	13	36
SB14/*Erysipelothrix rhusiopathiae*	30	28	-	-	36	16	22	20	30	42
SC21/*Erysipelothrix rhusiopathiae*	26	-	-	15	19	24	20	19	24	35
TB67/*Erysipelothrix rhusiopathiae*	42	35	21	42	21	29	26	32	32	40
B8/*Staphylococcus haemolyticus*	26	20	20	13	26	18	32	26	24	30
TCA3/ *Staphylococcus lentus*	33	26	23	32	23	28	30	26	25	25

Tablo 4.24. (devam): Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

Test Mikroorganizmaları	Antibiyotik Diskler									
	Piperasilin	Eritromisin	Vankomisin	Ampisillin	Neomisin	Gentamisin	Kloramfenikol	Tetrasiklin	Rifampisin	Ofloksasin
TCA6/ *Aerococcus viridans*	38	29	20	38	19	25	26	27	37	25
TA68/*Abiotrophia defactiva/Gamella morbillorum*	33	15	19	31	*	15	22	10	30	25
TC41/*Abiotrophia defactiva/Gamella morbillorum/Rothia dentocariosa*	29	19	11	25	22	29	31	25	23	37
B18/*Methylobacterium spp/ Francisella tularensis/ Oligella ureolytica*	30	24	34	27	21	26	32	28	30	17
SC27/*Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris*	40	40	34	44	22	38	40	40	65	48

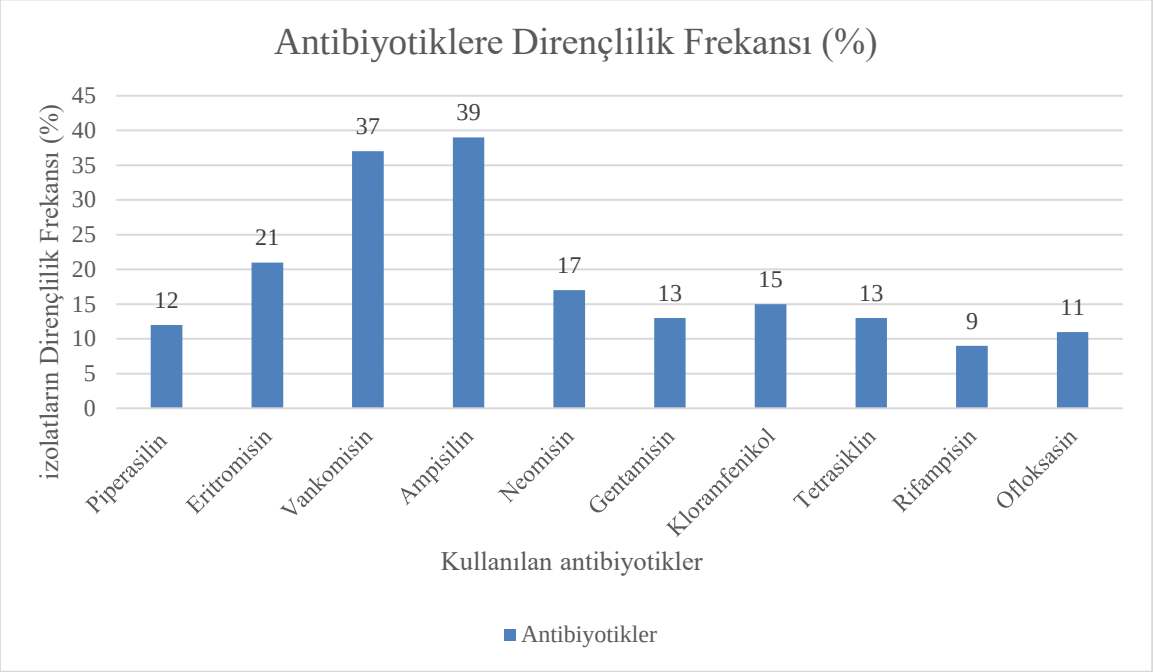
- Zon çapları mm cinsinden ölçülmüştür.

*: inhibisyon zonu (-) iken bakteri yarı üreme zonu (+) alan gözlenmesi

-: inhibisyon zonu (-)

Etkili: inhibison zonu şüpheli (+) (Zayıf üreme özelliğine sahip bakterilerde inhibisyon gözlemlenmesine rağmen zon ölçümü gerçekleştirilemediği durumları ifade etmektedir).

İzolatların antibiyotik direnç profilleri incelendiğinde % 38,61 oranı ile en fazla sayıda bakterinin direnç gösterdiği antibiyotiğin ampisilin, en az sayıda bakterinin direnç gösterdiği antibiyotiğin ise % 8,91 oranı ile rifampisin olduğu görülmektedir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Mağara izolatlarının antibiyotiklere karşı dirençlilik frekansı.

Mağaraya ait bakterilerin % 7.07' sinin ise 10 antibiyotiğin hepsine karşı dirençli olduğu sonucuna varılmıştır. Şekil 4.9' de antibiyotik duyarlılık testinin uygulandığı Petri kaplarından bazı fotoğraflar verilmiştir.



Şekil 4.9: Bazı suşların çeşitli antibiyotiklere karşı oluşturdukları direnç veya duyarlılık zonlarının yer aldığı Petri kapları.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mağaralarda jeomikrobiyoloji çalışmaları; mağara yapı oluşumları ve mikroorganizma ilişkilerinin, mağaraya ait mikrobiyal ekolojinin veya spesifik mağara mikroorganizmalarına ait özelliklerin incelenmesi gibi farklı konuları hedef alıyor olsa da, yer altı boşluklarında yapılan her araştırma en başta gerekli giysi donanımı ve deneyimli bir mağara araştırma ekibini zorunlu kılmaktadır. Öte yandan örnek alma ve mağara gezisi esnasında doğal yapıların zarar görmemesi de araştırmacıların mağaradan gelebilecek tehlikelere karşı alması gereken önlemler kadar önem taşımaktadır. Turistik veya keşfedilmemiş bir mağarada, mikrobiyolojik örnekleme guano veya mağara oluşumları üzerinde, su, hava, sediment, toprak örnekleri veya mağara duvarlarındaki yazılar/resimler üzerinde gerçekleşip, elde edilen örnekler çeşitli mikroorganizmaları izole etmek için kullanılmaktadır (Barton ve Jurado, 2007, Cañaveras ve diğ., 2001; Man ve diğ., 2015).

Mağarada mikrobiyolojik örnekleme için, çalışmanın amacına yönelik doğru bölgelerin seçilmesi sonuçlar açısından büyük önem taşımaktadır. Mağara ortamında yeryüzünden mağara içine ulaşan sular, hayvanlar veya insanlar vasıtasıyla ulaşmış mikroorganizmalar bulunabilmektedir. Ancak yalnızca mağaranın özgün habitatında yaşayan mikroorganizmaları tanımlama amacı taşıyan çalışmalarda su örnekleri, sarkıt gibi mağara yapılarından damlayan oluşum sularından ve/veya durgun halde bulunan su birikintilerinden steril şişeler aracılığı ile alınmalıdır. Toprak örnekleri ve yüzey örnekleri de yine mağaracıların geçiş ve yürüme yolları yerine en az kontaminasyona maruz kaldığı düşünülen bölgelerden, yarasaların yaşadığı ve guanolardan uzak kalan alanlardan tercih edilmelidir. Bu doğrultuda Parsık Mağarası' nda gerçekleştirilen örnekleme mağara habitatına özgü mikroorganizmaları hedefleyecek en uygun bölgeler seçilerek uygulanmış ve her bölgeden en az iki tekrarlı olacak şekilde yüzey, su ve toprak örnekleri alınmıştır (Groth ve diğ., 1999). Örnek alınan yerlerde, dış kaynaklı bir kontaminasyonun varlığına, özellikle *Serratia* ve en çok da *Pseudomonas* türlerinin çok miktarda izole edilmesi önemli bir gösterge olmaktadır (Jurado ve diğ., 2010). Bu bakteri türlerinin karstik sularda ve mağara habitatında baskın tür olarak bulunması özellikle guano veya böcek feçesinden kaynaklı bir kirlenmeye işaret etmektedir (Janda, 2001; Kampfer ve diğ., 2008). Ek olarak mağaralarda genellikle en çok izole edilen filumlardan Proteobacteria' nın çok miktarda elde edilmesi, mağaraya insan kaynaklı organik materyal girişinin fazlalığı hakkında fikir vermektedir (Ikner ve diğ., 2007). Bu bilgiler ışığında Parsık Mağarası yüzey

örneklerinden izole edilen bakterilerin tür analizlerinde bu iki mikroorganizmaya rastlanmaması ve toprak örneklerinde de net olarak *Serratia* veya *Pseudomonas* türünün tespit edilmemesi, yanlızca su örneklerinde oldukça düşük miktarda 104 su izolatının % 3,84' ünün *Pseudomonas flourescens* ve % 1,92' sinin *Serratica fonticola* olduğunun tespit edilmesi ortamın doğru seçildiği hakkında önemli bir veri oluşturmaktadır. Tüm mağara genelinde üç farklı filum belirlenirken (Actinobacteria, Proteobacteria, Firmicutes) yeryüzü kaynaklı kirlenmeye paralel olarak artış gösteren Proteobacteria filumu su (% 21) örneklerinde en fazla izole edilen ikinci filum olurken, yüzey (% 10) ve toprak (% 17) örneklerinde en çok izole edilen üçüncü filum olarak tespit edilmiştir. Yüzey ve suda yüksek oranda Actinobacteria, toprakta sırasıyla Firmicutes ve Actinobacteria' nın daha yüksek oranda belirlenmiş olması, amaca yönelik, yani mağara habitatına özgün bakterilerin daha yüksek oranda izole edildiğini düşündürmektedir.

Mağaralarda mikroorganizmalarla çalışmak, bir mağaraya ait mikrobiyal biyoçeşitliliğin araştırılmasından sağlık, biyoteknoloji, sanayi gibi pek çok farklı alanda fayda sağlayacak yeni verilerin elde edilmesi için büyük bir potansiyel taşımaktadır. Kültür metotlarını temel alan bu çalışmada 371 bakteri izole edilmiş, bununla birlikte 295 izolatın biyokimyasal profili Vitek 2 Compact cihazı ile incelenmiştir. Kültürden bağımsız yapılan çalışmalarda biyoçeşitlilik ve mikrorganizmaların genetik özelliklerine dair daha net bilgiler ediniliyor olsa da mikroorganizmaların özgün metabolik karakterlerini tanımlamak, mağara mikroorganizmalarının optimal üreme ve gelişme ihtiyaçlarını belirlemek ve buna bağlı özelliklerinden faydalanabilmek açısından kültüre dayalı çalışmalar büyük önem taşımaktadır (Bastian ve diğ., 2009).

Bakterilerin kültüre edilmesi konusunda uygun koşullarla ilgili Tomova ve diğ. (2013) tarafından yapılan çalışmada, mağara bakterilerinin inkübasyonu için en uygun sıcaklık değerlendirilmiştir. 4, 10, 20, 28 ve 40 ^{o}C sıcaklıklardaki inkübasyonlarda elde edilen sonuçlar izole edilen bakterin % 69' unun 20-30 ^{o}C sıcaklıkları arasında ürediğini göstermiştir.

Psikrofilik veya psikrotrofik bakterilerin düşük sıcaklıklarda gelişim gösterebildiği ve mağaralara özgü (yerli) tüm bakterilerin psikrotrofik olup 20 ^{o}C ve üstünde rahatlıkla ürediği bilinmektedir (Gounot 1994; Magresin ve Miteva, 2011). Bu sebeple örneklemenin yapıldığı sırada yaklaşık 10 ^{o}C' lik Parsık Mağara' sında yaşamını sürdüren bakterilerin izolasyonunda

mezofilik ve psikrofilik üreme sıcaklıklarının kesiştiği 20 ^{o}C' lik inkübasyon sıcaklığı tercih edilmiştir.

Çalışmada Parsık Mağarası su ve toprak örneklerine ait kültüre edilebilen aerobik heterotrofik bakteri sayısı R2A ve TWA besiyerleri kullanılarak tespit edilmiştir. Sayım için kullanılan besiyerleri besin miktarı bakımından verimsiz içeriğe sahiptir. Bu besiyerleri, yine besince fakir nitelik taşıyan mağaralar için benzer bir ortam oluşturabildiği düşüncesiyle oligotrofik bakterilerin izolasyonu için de potansiyel uygun ortam koşullarını oluşturmuştur. Bu nedenle R2A ve TWA besiyerleri sayım amaçlarının yanı sıra az besinle veya uzun süren inkübasyon sonucu üreyen bakteriler için seçici misyonda kullanılmıştır (Janssen ve diğ., 2002; Bussmann ve diğ., 2001). Velikonja ve diğ. tarafından 2014 yılında yapılan çalışmada, çeşitli besiyerlerinin (SEA, TWA, SCA, TSA vb.) bakteri sayımı için ne ölçüde verim sağladığı kıyaslanmıştır. TWA ile ilgili hem izolasyon hem de sayım için etkili sonuçlar ortaya konmuş, çalışılan besiyerleri içinde en yüksek sayım yapılabilen besiyeri TWA olarak belirlenmiştir. R2A ve TWA' dan elde edilen sayım sonuçlarını kıyaslayabildiğimiz bu çalışmada gerçekleştirilen kültürel sayımlarda, R2A besiyerlerinde daha fazla ve yüksek sayıda bakteri kolonisi tespit edilmiştir. İstatistik olarak ise, uygulanan Kruskal-Wallis testinde p değeri 0,091675 olarak bulunmuş, R2A ve TWA üzerinde üreyen bakteri sayıları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Su ve toprak örneklerindeki bakteri yükü ölü/canlı sayım yöntemi ile de incelenmiş, tüm bölgelerde elde edilen toplam canlı bakteri sayısı kültüre dayalı sayım yöntemi ile hesaplanan sonuçlara kıyasla daha yüksek sayıda tespit edilmiştir. Yapılan Kruskal Wallis testi ile iki sayım yönteminden elde edilen canlı bakteri sayıları istatistik olarak değerlendirilmiş ve hesaplamalar arası anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Bunun sebebi kültüre edilemeyen pek çok sayıda bakteri türünün bulunmasıdır. Bilindiği gibi bugün kültüre edilebilen mikroorganizmalar, var olduğu bilinenlerin yalnızca %1' i kadarıdır (Winogradsky, 1949). Bakterilerin kültüre edilememesine dair nedenler net olarak ortaya çıkarılamamıştır (Bloomfield ve diğ., 1998; Begosian ve diğ., 2000; Oliver, 1995; Whitesides ve Oliver, 1997). Bu konuda başlıca gösterilen ilk sorunun besiyerlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Doğru besin kaynaklarını içermeyen veya bakterilerin üremesi için gereken iz miktarda besine sahip olmayan besiyerleri, dolayısıyla mikroorganizmalar için doğru besiyerlerinin belirlenememiş olması, yeterli üreme koşullarını oluşturamadığı için izolasyonda başarısızlığa veya türler

açısından çeşitliliğin az olduğu bir izolasyona sebep olabilmektedir. Burada bakterilerin tercih edeceği ürünlerin ve kaynakların farklılık gösterebileceği ve her türün kendine özgü gereksinimlere ihtiyaç duyacağı unutulmamalıdır (Amann ve diğ., 1995). Özellikle mağara ortamlarında bu kültüre edilememe problemi daha yüksek düzeyde görülmektedir. Bunun sebebi aşina olunan atmosfer ortamında bulunmayan mikroorganizmaların enerjiyi, yaşadığı ve yeryüzünden farklı koşullardaki özel mağara atmosferinden veya bağlı olduğu mağara yüzeylerinden sağlamasıdır (Barton ve diğ., 2004; Chelius ve Moore, 2004; Spilde ve diğ., 2005). Bu adaptasyon ise belki de onlara özgü besiyerlerinin henüz var olmaması nedeniyle izole edilmelerini engelleyen bir faktör olarak gösterilmektedir. Bu konuda özelikle zengin besin içerikli besiyerleri yerine bakterilerin daha iyi uyum sağlayacağı düşünülen düşük besin içeriğine sahip besiyerlerinden daha fazla verim alınacağı bilinmektedir. Bununla ilgili olarak, mikroorganizmaların mağara gibi besince fakir bir ortamdan daha fazla besin içeriği ile dolu zengin bir besiyeri ortamına getirildiklerinde, sadece besin fazlalığına adapte olamamaları ve buna bağlı ozmotik basınç değişimden dolayı ölebileceği tespit edilmiştir (Koch, 1997).

Her mağaranın bakteri habitatı o mağaraya özgü olmakla birlikte mağaralarda yapılan kültür temelli mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda çoğunlukla izole edilen bakteriler Proteobacteria, Actinobacteria ve Firmicutes grupları olarak belirlenmiştir (Barton ve Jurado, 2007; Jurado ve diğ., 2010; Zhou ve diğ., 2007). Zhou ve diğ. (2007), Avustralya, Çin, İspanya ve ABD mağaralarını karşılaştırarak, İspanya ve Çin mağaralarında en baskın filumun Proteobacteria olduğunu belirlemiştir. Tez çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler, bu çalışmalarla örtüşür niteliktedir. Öte yandan yüzey örneklerine ait 29 bakteri izolatı Vitek 2 biyokimyasal analiz cihazı ile değerlendirilmiş ve 9 farklı tür tespit edilmiştir. Sudan izole edilen 104 bakteriye ait analizde farklı tür sayısı 24 iken, 162 toprak izolatı içinde 42 farklı tür adı ortaya çıkarılmıştır. Tüm yüzey izolatları içinde % 38 oranla, su örneklerinden izole edilen bakteriler içinde ise % 35 oranla en fazla rastlanan filum Actinobacteria olarak belirlenmiştir. Tüm toprak örneklerinde % 33 oranla en fazla rastlanan filum ise Firmicutes olarak tespit edilmiştir.

Ek olarak (toprak/su ve yüzey) örneklere ait tüm farklı noktalarda bir diğerinden izole edilmeyen farklı bakteri türleri elde edilmiştir. Toprak örnekleri içinde en fazla *Lysinibacillus* (% 11,65) cinsi bakterilere rastlanırken, yüzey örnekleri (% 13,79) ve su örneklerine (% 14,42) ait izolatlar içinde en fazla Actinomycetes sınıfından *Kocuria* cinsi bakteriler izole edilmiştir.

Slovenya' da gerçekleşen bir mağara çalışmasında, mağara gümüşlerinden; *Aerococcus, Kocuria, Bacillus, Rhodococcus, Micrococcus, Streptomyces, Pseudomonas, Agrococcus, Artrobacter, Sphingomonas, Bosea, Paenibacillus, Lysobacter, Oerskovia* cinsi bakteriler izole edilmiştir (Velikonja ve diğ., 2014). Altamira ve Tito Bustillo mağaralarında gerçekleşen çalışmada ise speleothemler, mağaraya ait yüzey oluşumları ve mağara duvarlarındaki çizimler incelenmiş; *Arthrobacter, Acinetobacter, Amycolatopsis, Aeromonas, Bacillus, Chromobacterium, Brevibacterium, Chryseomonas, Kocuria, Enterobacter, Microbacterium, Erwinia, Nocardia, Janthinobacterium, Nocardioides, Kingella, Paenibacillus, Pseudomonas, Rhodococcus, Serratia, Saccharothrix, Xanthomonas, Staphylococcus, Streptomyces* cinsinden bakteriler elde edilmiştir (Cañaveras ve diğ., 2001). Parsık Mağarası yüzey örneklerinden izole edilen bakteriler incelendiğinde benzer şekilde; *Kocuria, Bacillus, Staphylococcus* cinsi bakteriler ortaya çıkarılırken, bu çalışmalardan farklı olarak *Micrococcus*, *Lysinibacillus,* ve *Dermacoccus*, cinslerine ait bakteri türleri de tespit edilmiştir.

Adetutu ve diğ. 2012' de turistik geziye açık bir mağara olan Naracoorte Mağarası sedimentleri üzerinde bakteriyel biyoçeşitliliği araştırdıkları çalışmada elde ettikleri mikroorganizmalar, turistik girişi bulunmayan Stick Tomato ve Alexandra mağaralarından izole ettikleri bakteriler ile kıyaslanmıştır. Kültür bazlı analizler sonucu *Bacillus* hem turistik hem de turistik olmayan mağaralardaki izolasyonlarda en çok elde edilen cins olarak tespit edilmiştir.

Parsık Mağarası' nda topraktan izole edilen bakteriler su ve yüzeyden farklı ve ağırlıklı olarak Firmicutes filumundan bakteri türlerini içermektedir. Sıklıkla *Bacillus* ve *Bacillus* ile yakın cinsler tespit edilmiştir. Farklı çalışmalarda bu türlerin özellikle tarım ve bitkisel hastalıklarla mücadele konusunda etkili olabildikleri gözlemlenmiştir. Örneğin en çok izole edilen *Lysinibacillus sphaericus* türünün insektisit olarak kullanıldığı (Hu ve diğ., 2008), *Lysinibacillus fusiformis* bakterilerinin ise Ginseng bitkisinin büyümesini teşvik ettiği bilinmektedir (Vendan ve diğ., 2010). *Bacillus megaterium*' un antifungal metabolitler ürettiği (Chakraborty ve diğ., 2006), *B. thuringiensis*' in ise güçlü bir biyopestisit olduğu tespit edilmiştir (Boucias ve Pendland, 1998).

Parsık Mağarası' na ait biyokimyasal tür analizi mağara genelinde en fazla izole edilen ve antibiyotik, antimetabolit, antitümor ajan gibi biyoaktif bileşenler ürettiği bilinen Actinobacteria filumu, bugün bilinen biyoaktif mikrobiyal bileşenlerin yaklaşık % 45' inin elde edildiği bakterilerden oluşmaktadır (Goodfellow ve diğ., 2010). Mağaralarda yapılan

çalışmalarda mağara yüzey ve yapıları üzerinden sıklıkla Actinomycetes izole edildiği belirtilmiştir. Farklı mağara çalışmalarında ISP4, SCA, GAA, AIA gibi besiyerleri ile hedefe uygun izolasyonlar gerçekleştirilmiştir (Velikonja diğ., 2014; Yücel, 2007) Ayrıca 2005' de Hamaki ve diğ. tarafından yapılan çalışma, SEA besiyeri ile yeni Actinomycetes sınıfının izole edildiğini göstermiştir. Bu sebeple yüzeyden alınan örneklerde bu mikroorganizma grubunu hedef alacak şekilde SEA, ISP4, AIA, SCA besiyerleri tercih edilmiştir. İzolasyon hedefine uygun biçimde yüzey örneklerine ait bakteri suşlarından elde edilen tür analiz sonuçları içinde en yüksek oranın Actinobacteria (%40) filumuna ait olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda *Kocuria* cinsi en sık karşılaşılan Actinomycet olarak belirlenirken, Parsık Mağarası' ndan izole edilen *Kocuria* türlerinin *K. rosea, K. rhizophila, K. varians* ve *K. kristinae* olduğu ortaya çıkarılmıştır. Gram (+) bu Actinomycetes türleri içinde *K. kristinae* fakültatif anaerop olma özelliği ile diğer türlerden farklı bir özellik sergilemektedir. Öte yandan yapılan çalışmalar, *K. rosea*' nın proteolitik bir enzim olan keratinaz enzimini üretme yeteneğinde olduğunu ve hayvan tüylerinde oldukça fazla olduğu bilinen keratin proteinini yıkıcı özellikte bir mikroorganizma olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu sayede tüylerdeki keratini parçalayan *K. rosea'* dan keratinaz enzimi elde edilmektedir (Coello ve Vidal, 2001). Uygulanan biyokimyasal tür analizi sonunda tanımlanamayan bakteriler de (% 23) tespit edilmiştir. Bu bakterilerin Vitek 2 Compact cihazına ait veritababında bulunmayan türler olabileceği veya sistematikte yer almayan daha önce keşfi yapılmamış türlerden olabileceği, bu sebeple tanımlanamadığı düşünülmektedir.

Çalışmada Vitek 2 Compact cihazı ile tür tayininin yanı sıra enzimatik reaksiyonlara dair sonuçlar da elde edilmiştir. Cihazın Gram (+), Gram (-) ve Gram (+) sporlu bakterilere karşı test ettiği biyokimyasal reaksiyonlar incelendiğinde üç grup içinde en fazla bakteri tarafından üretilen enzimin tirozin arilamidaz olduğu görülmektedir. Öte yandan Gram (+)' ler içinde en fazla gözlemlenen enzimler alanin aminoasidini parçalayan alanin arilamidaz, lösin aminoasidini parçalayan lösin arilamidaz, tirozin aminoasidini parçalayabilen tirozin arilamidaz ve arjinin aminoasidini parçalayan arjinin arilamidaz olurken, Gram (-) bakteriler içinde L-prolinde bulunan arilamid bağını parçalayan L-prolin arilamidaz, tirozin arilamidaz, L-prolidenil, ala-phe-pro-arilamidaz olduğu tespit edilmiştir. Gram (+) sporlu bakteriler içinde en sık rastlanan enzimler, fenilalanin arilamidaz, lösin arilamidaz, alanin arilamidaz ve tirozin arilamidaz olarak belirlenmiştir. İncelenen biyokimyasal test sonuçları bakterilerin

gerçekleştirdiği reaksiyonlara dair bilgi verirken, bir diğer yandan da bakterilerin ait olduğu ortamın organik bileşenlerinin ayrışması ve dönüşümü hakkında yorum yapmayı kolaylaştırmaktadır. Parsık Mağara izolatlarına ait enzimatik reaksiyonlar aminopeptitaz aktivitesinin yüksek olduğuna dair bilgi vermektedir. Özellikle çok sayıda bakterinin üretme yeteneğinde olduğu tirozin arilamidaz, lösin arilamidaz gibi enzimlerin genellikle ortamdaki besinleri yakalamak amacıyla ekstrasellüler olarak açığa çıkarıldığı bilinmektedir (Graycar, 1999). Ek olarak proteolitik aktivite kadar yüksek oranda gözlemlenmemesine rağmen lipolitik aktivite gösteren ve karbonhidrat parçalayabilir niteliklere sahip bakteriler de tespit edilmiştir. Heterotrofik bakterilerin enzimatik özelliklerinin geridönüşüm, biyoçözünürlük gibi alanlarda kıymetli rol oynadığı bilinmektedir (Münster ve De Haan, 1998). Parsık Mağara izolatlarında sıklıkla tespit edilen proteolitik enzimler, bazı tedavilerde, deterjanlarda, gıda sektöründe, dericilikte ve tekstilde kullanılmaktadır (Kudrya ve Simonenko, 1994; Andersen 1998; Showell 1999; Neklyudov et al. 2000). Yine mikroorganizmalara ait enzimlerin biyodegredasyon özelliği de, bu enzimlere sahip mikroorganizmaların kozmetik, tekstil ve gıda sektörlerinde kullanılabilecek nitelikte olduğunu göstermektedir (Cabeza et al., 2011). Pek çok biyoteknolojik ve medikal alanda fayda sağlayan enzim gibi mikrobiyal ürünler için mağaraların önemli araştırma ortamları olduğu bilinmektedir (Lee ve diğ., 2012). Mağara bakterilerinden elde edilen enzimlerle ilgili sınırlı sayıda çalışma hidrolitik enzim üretimine işaret etmekte olup, tespit edilen enzimlere alanin aminopeptitaz ve fosfataz örnek olarak gösterilebilmektedir (Martinez ve diğ., 2011). Ek olarak Tomova ve diğ. (2013) tarafından yapılan çalışmada Magura Mağara yüzey bakterilerindeki, ürenin karbondioksit ve amonyağa hidrolizini katalize eden ve azot döngüsünde rol oynayan üreaz enzim aktivitesi, benzer ve ender şekilde Parsık Mağarası bakterilerinde de tespit edilmiştir.

Genel olarak çeşitli ürünler ve işlevlerde kullanılan enzimlerin normal şartlarda 30 ^{o}C ve üstünde işlevselliğe ulaştığı bilinmektedir. Ancak mağara ve derin okyanuslar gibi soğuk yerlerden izole edilen mikroorganizma enzimlerinin bir diğer önemi de soğukta aktive olabilmeleridir. Bu özellik deterjan, çeşitli çözücüler, arındırıcılarda kullanabilecek biyoteknolojik bir potansiyel taşırken, gıda sektöründe ve hatta tekstil gibi farklı alanlarda kullanım olanağı sunarak enerji kayıplarının önüne geçilmesine yardımcı olup, ekonomiye de katkı sağlar (Russell, 1998; Gerday ve diğ., 2000; Cabeza ve diğ., 2011).

Mağaraların besince fakir zorlu koşulları sayesinde mikroorganizmaların kazanmış olacağı özellikler mağara mikroorganizmaları üzerinde çalışmayı cazip hale getirmektedir. Kısıtlı besin maddesi, mikroorganizmaların hayatta kalabilmek için rekabet etmeye gereksinim duymalarına bu nedenle de birbirlerine karşı çeşitli enzimler ve antimikrobiyal maddeler üretmelerine neden olmaktadır (Barton, 2006). Ek olarak soğuk ortam koşullarına adapte olmuş mikroorganizmalardan yeni antimikrobiyal maddelerin elde edilebileceği fikri mağara ortamlarını değerli kılmaktadır (Sanchez ve diğ., 2009). Bazı çalışmalar genelde karstik mağaralardan elde edilen bakterilere ait antimikrobiyal aktivite bulgularının nadir olduğunu ve bu aktiviteyi gösteren bakterilerin sıklıkla Actinomycetes sınıfından olduğunu ortaya çıkarmıştır (Yücel ve Yamaç, 2010). Ancak farklı olarak Proteobacteria, Firmicutes ve Bacterioides filumlarının mağaralarda keşfinin, temelde onların antimikrobiyal ve biyoaktif maddelere sahip olma potansiyelleri açısınan değer taşıdığı düşünülmektedir (Tomova ve diğ., 2013). Ek olarak mağaraya özgü habitatta yer alan, geniş spektrumlu etkisi bulunan biyoaktif bileşenlere, antifungal ve antibakteriyel maddelere sahip mikroorganizmaların bu ekstrem ortamlarda oldukça yaygın olarak bulunduğu da bildirilmiştir (Jiang ve diğ., 2015). Gram (+) patojenlerden *Bacillus cereus, B. subtilis, Enterococcus faecalis, Mycobacterium phlei, Paenibacillus larvae, Staphylococcus aureus ve Staphylococcus epidermidis*' i inhibe edici özelllikte mağara bakterileri belirlenirken, Gram (-) *Acinetobacter baumanii, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Xanthomonas oryzae* gibi patojenlere karşı inaktive edici antimikrobiyal maddelere sahip mikroorganizmalar da tespit edilmiştir (Axenov-Gribanov ve diğ., 2016; Rule ve diğ., 2013; Jiang ve diğ., 2015; Galvez ve diğ., 1993; Nakaew ve diğ., 2012; Tomova ve diğ., 2013). Öte yandan *Candida albicans* gibi hastalık sebebi mantarlara ve kanser hücrelerine karşı da inaktive edici özellik gösteren mağara bakterileri belirlenmiştir (Axenov-Gribanov ve diğ., 2016; Lee ve diğ., 2000; Herold ve diğ., 2005; Nakaew ve diğ., 2009b). Bulgaristan, Magura Mağarası' nda gerçekleştirilen bir çalışmada, mağaradan izole edilen bakterilerin yaklaşık %50' sinin *P. aeruginosa*' nın üremesi üzerinde inhibe edici özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Tomova ve diğ., 2013). Yine aynı çalışmada *B. subtilis, Xanthamonas oryzae* ve *Rhodotorula mucilaginosa* standart bakterilerinin üremesi üzerinde olumsuz etki gösteren mağara izolatları belirlenmiştir. Türkiye' de 19 farklı mağaradan Actinomycetes izolasyonu yapılan bir çalışmada ise MRSA ve VRE klinik suşlarını inhibe eden mağara bakterileri belirlenmiştir (Yücel ve Yamaç, 2010). Çalışmamızda mağara mikroorganizmalarının mikrobiyal aktiviteleri ile ilgili uygulanan deneyde, *C. albicans*,

S. aureus, *S. epidermidis*, VRE ve *P. aeruginosa* üzerinde inhibisyon zonları oluşturan mağara izolatları tespit edilmiştir. Gram (-) bir bakteri olan *P. aeruginosa*' ya karşı antimikrobiyal etki gösteren TA44 ve TA12 suşları çalışma için ayırt edici bir özellik taşımaktadır. Bunun sebebi Gram (-) bakterilerin pek çok antibiyotiğe karşı dirençli olduğu bilgisidir. Mağara mikroorganizmalarının antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılan çalışmaların çok azı Gram (-) bakterilere karşı aktif bir mağara izolatı bulunduğunu belirten sonuçlar içermektedir. Bu çalışmalardan biri Tayland' da bulunan Mungkorn-tong Mağarası' nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada hem Gram (-) ve Gram (+) bakterilere hem de mantarlara karşı antimikrobiyal etki gösteren mağara izolatları tespit edilmiştir. Fakat Kore' de bir altın madeninde, Kanada' da bulunan Helmcken Falls Mağarası' nda ve İspanya' da Murciélagos Mağarası' nda gerçekleşen araştırmalarda ise elde edilen izolatlar içinde Gram (-) patojen bakterilere karşı etkili bir suş tespit edilememiştir (Galvez ve diğ., 1993; Lee ve diğ., 2000; Rule ve diğ., 2013). Yine pek çok farklı çalışmada test edilen mağara izolatları içinde Gram (-) bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal bir etki gösteren bakteri belirlenememiştir (Nakaew ve diğ., 2009a; Nakaew ve diğ, 2009b; Ningthoujam ve diğ., 2009).

Mikroorganizmalardan elde edilen ve yine mikroorganizmalardan kaynaklanan sorunların çözümünde onlara karşı kullanılan antibiyotikler, günümüzde yanlış ve artan kullanımlara paralel olarak etkisiz hale gelmektedir. Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı çeşitli şekillerde artan dirençleri yeni antibiyotiklerin keşfi ve mikroorganizmalardaki direnç mekanizmasının anlaşılması hakkındaki çalışmaları önemli hale getirmiştir (Knapp ve diğ., 2010).

Araştırmalar, antimikrobiyal maddeler üreten bakterilerin aynı zamanda ürettikleri bu ürünlere karşı antibiyotik direnç genlerine sahip olduğunu belirtmektedir (Cundliffe, 1989; Wright, 2007). Benzer şekilde, kültüre edilen mikroorganizmalara ait antibiyotik direnç seviyesinin, antibiyotik biyosentezi esnasında arttığı gözlemlenmiştir (Martin ve Demain, 1980). Doğal olarak bu dirence sahip bakterilerin yanı sıra, bakteriler biyofilm gibi fizyolojik bir koruma altında da dirençli hale gelebilmektedir (Hassan ve diğ., 2011). Antibiyotiklere direnci arttıran ya da geliştiren faktörlerden biri de yatay gen transferi ile plazmit ve benzeri direnç faktörlerinin mikroorganizmalar arası aktarılmasıdır (Wright, 2010). Karstik mağaralar, özellikle yüksek oranda antimikrobiyal madde üreten Actinomycetes bakımından zengin olması yönüyle önem taşıdığı kadar, bu ekstrem koşullara adapte olan bakterilerin sahip olduğu antibiyotik direncin

nasıl kazanıldığının ve direnç mekanizmalarının anlaşılabilmesi açısından da önemli araştırma ortamlardır.

Antibiyotik direnci konusunda mağara mikrobiyoloji çalışmalarında iki farklı görüş bulunmaktadır. Bunlardan ilki minimal antropojenik etki altında bulunan mağara mikroorganizmalarının antibiyotiklere karşı direnç özelliğinin bulunmadığı yönündedir. Thaller ve diğ. (2010) tarafından yapılan çalışma, bu tür dış kaynaklı kontaminasyona kapalı ortamlarda yaşayan karasal hayvanlardan izole edilen mikroorganizmaların direnç genlerine sahip olmadığını ortaya koymuştur. Buna göre mağara mikroorganizmalarının antibiyotik direncinin araştırılması mağaranın yeryüzünden ne denli izole olduğu hakkında fikir verir nitelikte görünürken, farklı bir görüş olarak, bu tür yeryüzünden izole doğal yer altı habitatlarında gerçekleştirilen bazı çalışmalarda antibiyotik direnci gösteren mikroorganizmalar tespit edilmiştir (Brown ve Balkwill, 2009; Bhullar ve diğ., 2012). Dolayısıyla mağara mikroorganizmalarında antibiyotik direnç özelliklerinin araştırılması yeni bilgilerin elde edilmesi ve antibiyotiklerle ilgili gelişmeler için önemli bir konudur.

Bu çalışmada 101 bakteriye antibiyotik duyarlılık testi uygulanmıştır. Yüzey, su ve toprak örneklerinin toplandığı 8 farklı noktadaki bakteriler Vitek 2 Compact tanımlama cihazı tarafından belirlenen farklı türler içinden seçilerek test edilmiştir. Farklı mağara çalışmalarında Gram (-) yüzey izolatlarında tetrasikline karşı direnç gösteren bir bakteri bulunamamıştır (Bhullar ve diğ., 2012; Kadavy ve diğ., 2000; Ricsnfeld ve diğ., 2004). Parsık mağarası su örneklerinden izole edilmiş SB5, SC23, SA12 kodlu Gram (-) bakterilerin tetrasikline dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ampisilin en fazla sayıda bakterinin direnç gösterdiği (% 34,82) antibiyotik olarak belirlenirken, % 8,91 oranı ile en az sayıda bakterinin direnç gösterdiği antibiyotiğin ise rifampisin olduğu gözlemlenmiştir. Seçili 10 antibiyotiğe de direnç gösteren SA4, SC4, SC14, B4 suşlarının, Actinomycetes sınıfı bakterileri olduğu tespit edilmiş, izolat TC8’ in ve TC39’ un da yine tüm antibiyotiklere direnç gösteren Bacilli sınıfından bakteriler olduğu ortaya çıkarılmıştır. Öte yandan farklı bölgelerden izole edilen aynı tür bakterilerin antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarında farklılıklar gözlemlenmiştir. Mağara mikroorganizmalarının ekstrem koşullarda hayatta kalabilmek için farklı mekanizmalar geliştirdiği bilgisi göz önüne alındığında, direnç konusunda her bakterinin genel ortam koşullarından bağımsız olarak farklı mekanizmalara sahip olduğu gözlemlenmiştir (Koch, 1997).

Sonuç olarak, ekstrem ortamlarda yaşayan mikroorganizma türlerini ve onların çevresel koşullardan dolaylı olarak edindikleri veya geliştirdikleri özellikleri keşfetmek pek çok bilimsel ve endüstriyel alanda katkı sağlayacak önemli potansiyele sahiptir. Ayrıca hem özgün bir mağaranın habitatını ortaya çıkarmak hem de mağara habitatlarına karşı bildirilen yargılara yeni bakış açıları kazandırmak açısından da önem taşımaktadır.

Bu tez çalışması Parsık Mağarası' nda gerçekleşen ilk mikrobiyolojik çalışma olma niteliğindedir. Mağaraya ait su, toprak ve yüzey oluşumlarından kültür yöntemlerine dayalı olarak izole edilen aerobik heterotrofik bakteriler Parsık Mağarası' na ait biyoçeşitliliğe dair bilgi vermektedir. Ek olarak izolatlara ait enzimatik reaksiyonlar, antimikrobiyal madde etkinliği ve antibiyotiklere dirençleri ile ilgili verilerin, mağara mikroorganizmalarıyla ilgili biyoteknolojik çalışmalar için önemli potansiyel taşıdığı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın devamında, test edilen substratlara verdikleri pozitif reaksiyonları tanımlanan ancak türleri tanımlanamayan izolatların (% 23) adlandırılması için ileri moleküler identifikasyon tekniklerinin kullanılması ve bu sayede bu mağaranın bakteri habitatının daha iyi ortaya çıkarılması planlanmaktadır. Ayrıca izole edilen bakterilerin sahip oldukları enzimatik ve antimikrobiyal özelliklerin biyoteknoloji alanında kullanılabilir hale getirilmesi için gerekli çalışmaların yapılması da hedeflenmektedir. Her biri kendi özel mikro ve makro yaşam habitatına sahip olan mağaralar sonsuz bilgi ve ürün potansiyeli taşımaktadır. Mağara mikrobiyolojisi çalışmalarının giderek arttığı günümüzde yapılan bu tez çalışması ile elde edilen veriler, bu konuda yapılması planlanan çalışmalara ışık tutucu niteliktedir.

KAYNAKLAR

Adetutu, E.M., Thorpe, K., Shahsavari, E., Bourne, S., Cao, X., Fard, R.M.N, Kirby, G. and Ball, A.S., 2012, Bacterial comunity survey of sediments at Naracoorte Caves, Australia, *International Journal of Speleology*, Tampa, FL (USA), ISSN 0392-6672, 41(2), 137-147.

Allemand, L. and Bahn, P.G., 2005, Best way to protect rock art is to leave it alone, *Nature*, 433, 800.

Amann, R.I., Ludwig, W., and Schleifer, K.H., 1995, Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation, *Microbiological reviews*, 59(1), 143-169.

Andersen, L.P., 1998, Method for dehairing of hides or skins by means of enzymes, *US Patent*, 5,834,299.

Axenov-Gribanov, D.V., Voytsekhovskaya, I.V., Tokovenko, B.T., Protasov, E.S., S.V., Gamaiunov, Rebets, Y.V., Luzhetskyy, A.N., Timofeyev, M.A., 2016, Actinobacteria isolated from an underground lake and moonmilk speleothem from the biggest conglomeratic karstic cave in Siberia as sources of novel biologically active compounds, *PLoS One*, (11), e0149216.

Barton, H.A., 2006, Introduction to cave microbiology: a review for the non-specialist, *Journal of cave and karst studies*, 68(2), 43-54.

Barton, H.A. and Jurado, V., 2007, What's up down there? Microbial diversity in caves, *Microbe*, (2), 132–138.

Barton, H.A.,and Northup, D.E., 2007, Geomicrobiology in cave environments: past, current and future perspectives, *Journal of Cave and Karst Studies*, 69(1), 163-178.

Barton, H.A., Taylor, M.R. and Pace, N.R., 2004, Molecular phylogenetic analysis of a bacterial community in an oligotrophic cave environment, *Geomicrobiology Journal*, 21(1), 11-20.

Barton, H.A., Taylor, N.M., Kreate, M.P., Springer, A.C., Oehrle, S.A. & Bertog J.L., 2007, The impact of host rock geochemistry on bacterial community structure in oligotrophic cave environments, *International Journal of Speleology*, (36), 93-104.

Barton, H.A., 2013, *Biospeleogenesis: Biogenetic Processes and Microbial Impact on Speleogenesis*, Treatise on Geomorphology, In: Frumkin, A. (ed.)., , Atlanta, GA, Elsevier, (in press).

Baskar, S., Baskar, R., Mauclaire, L. and McKenzie, J.A., 2006, Microbially induced calcite precipitation in culture experiments: Possible origin for stalactites in Sahastradhara caves, Dehradun, India, *Current* Science, 90(1), 58-64.

Bastian, F., Alabouvette, C. and Saiz-Jimenez, C., 2009, Bacteria and free-living amoeba in the Lascaux Cave, *Research in Microbiology*, (160) 38-40.

Begosian, G., Aardema, N.D., Bourneuf, E.V., Morris, P.J.L., and ONeil, J.P., 2000, Recovery of hydrogen peroxide-sensitive culturable cells of Vibrio vulnificus gives the appearance of resuscitation from a viable but nonculturable state, *J. Bacteriol.*, 182, 5070-5075.

Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Blanks, E.D., Johnson, M.D., Barton, H.A., Wright, G.D., 2012, Antibiotic Resistance Is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome, *PLoS one*, 7(4), e34953. doi:10.1371/journal.pone.0034953.

Bloomfield, S.F., Stewart, G.S.A.B., Dodd, C.E.R., Booth, I.R., and Power, E.G.M., 1998, The viable but nonculturable phenomenon explained?, *Microbiology*, 144, 1-3.

Bosak, T. and Newman, D.K., 2005, Microbial kinetic controls on calcite morphology in supersaturated solutions, *Journal of Sedimentary Research*, 75(2), 190-199.

Boucias, D.G. and Pendland, J.C., 1998, *Principles of insect pathology*. Kluwer Acad. Publ., Boston, USA, 537.

Brown, M.G., and Balkwill, D.L., 2009, Antibiotic resistance in bacteria isolated from the deep terrestrial subsurface, *Microbial Ecology*, 57(3), 484.

Bussmann, I., Philipp, B. And Schink, B., 2001, Factors influencing the cultuvability of lake water bacteria, *Journal of Microbiological Methods*, 47, 41-50.

Cabeza, M.S., Baca, F.L., Puntes, E.M., Loto, F., Baigorí, M.D. and Morata, V.I., 2011, Selection of psychrotolerant microorganisms producing cold-active pectinases for biotechnological processes at low temperature, *Food Technology & Biotechnology*, 49, 187-195.

Cañaveras, J.C., Sanchez-Moral, S., Soler, V. & Saiz-Jimenez, C., 2001, Microorganisms and microbially induced fabrics in cave walls, *Geomicrobiology Journal*, (18), 223-240.

Castanier, S., Le, Metayer-Levrel, G., Perthuisot, J-P., 1999, Ca-carbonates precipitation and limestone genesis-the microbiogeologist point of view, *Sediment Geol.*, 126, 9-23

Chakraborty, B.U. & Basnet, M., 2006, Plant growth promotion and induction of resistance in Camellia sinensis by Bacillus megaterium, *J Basic Microbiol*, (46), 186-195.

Chelius, M. K., and Moore, J.C., 2004, Molecular phylogenetic analysis of Archaea and Bacteria in Wind Cave, South Dakota, *Geomicrobiology Journal*, (21), 123-134.

Chen, Y., Wu, L., Boden, R., Hillebrand, A., Kumaresan, D., Moussard, H., et al., 2009, Life without light: microbial diversity and evidence of sulfur- and ammonium-based chemolithotrophy in Movile Cave. *ISME J*, (3), 1093–1104, doi: 10.1038/ismej.2009.57.

Coello, N. and Vidal, L., 2001, *Kocuria rosea as a new feather degrading bacteria*. Applied Microbiology, In: Durieux, A. and Simon, J.-P. (ed.), Chap. 5, Focus on Biotechnology. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 165–174.

Cundliffe, E., 1989, How antibiotic-producing organisms avoid suicide, *Annual Reviews in Microbiology*, 43(1), 207-233.

Curl, R.L., 1966, Cave conduit enlargement by natural convection., *Cave Notes*, 8(1), 2-6.

Dapkevicius, M.L.N.E., 2013, *Cave Biofilms and Their Potential for Novel Antibiotic Drug Discovery*, In: Cheeptham, N. (ed.), Cave Microbiomes: A Novel Resource for Drug Discovery, SpringerBriefs in Microbiology, 1, 85-108.

D'costa, V.M., McGrann, K.M., Hughes, D.W., and Wright, G.D., 2006, Sampling the antibiotic resistome, *Science*, 311(5759), 374-377.

Docampo, S., Trigo, M.M., Recio, M., Melgar, M., Garcia-Sanchez, J., Calderon-Ezquerro, M.C., Cabezudo, B., 2010, High incidence of Aspergillus and Penicillium spores in the atmosphere of the cave of Neija (Malaga, southern Spain), *Aerobiologia*, 26, 89-98.

Dupont, J., Jacquet, C., Dennetiere, B., Lacoste, S., Bousta, F., Orial, G., Cruaud, C., Couloux, A., Roquebert, M., 2007, Invasion of the French Paleolithic painted cave of Lascaux by members of the Fusarium solani species complex, *Mycologia*, 4(5), 26-533.

Eavis, A., 2009, An up to date report of cave exploration around the world, *Proceedings of 15th International Congress of Speology*, In: White, B. (ed.), Kerrville, Texas, 21-25.

Ehrlich, H.L., 1997, Microbes and metals, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48(6), 687-692.

Engel, A.S., 2011, *Karst microbial ecosystems*, Encyclopedia of Geobiology, Springer Encyclopedia of Earth Sciences (EESS, formerly Kluwer Edition), In: Reitner, J. and Thiel, V. (eds), Berlin, Germany, 521-531.

Engel, A.S., Megan, L., Porter, B.K., Kinkle, T.C., Kane, A., 2001, Ecological assessment and geological significance of microbial communities from Cesspool Cave, Virginia, *Geomicrobiology Journal*, 18(3), 259-274.

Engel, A.S., Meisinger, D.B., Porter, M.L., Payn, R.A., Schmid, M., Stern, L.A., et al., 2010, Linking phylogenetic and functional diversity to nutrient spiraling in microbialmats from Lower Kane Cave (USA), *Isme J*, (4), 98-110.

Engel, A.S., Stern, L.A. and Bennett, P.C., 2004, Microbial contributions to cave formation: New insights into sulfuricacid speleogenesis, *Geology*, 32(5), 369–372.

Fox, J.L., 2008, Some say Lascaux Cave paintings are in microbial "crisis" mode, *Microbe*, 3, 110-112.

Francisco, M.J. and Demain, L., 1980, Control of antibiotic biosynthesis, *Microbiological reviews*, 44(2), 230.

Gabriel, C.R. and Northup, D.E., 2013, Microbial ecology: caves as an extreme habitat. In Cave microbiomes: a novel resource for drug discovery, *Springer New York*, 85-108.

Galvez, A.M., Martinez-Bueno, M., Lebbadi, M., Valdivia, E., 1993, Isolation and physico-chemical characterization of an antifungal and antibacterial peptide produced by Bacillus licheniformis A12, *Appl Microbiol Biotechnol*, (39), 438-442.

Gerday, C., Aittaleb, M., Bentahir, M., Chessa, J.P., Claverie, P., Collins, T., D'Amico, S., Dumont, J., Garsoux, G., Georlette, D., Hoyoux, A., Lonhienne, T., Meuwis, M.A. and Feller, G., 2000, Cold-adapted enzymes: From fundamentals to biotechnology, *Trends in Biotechnology*, 18, 103-107.

Golubić, S., 1973, The relationship between blue-green algae and carbonate deposits, *The biology of blue-green algae*, 434-472.

Goodfellow, M., Fiedler, H.P., 2010, A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics, *Anton Leeuw*, (98), 119-142.

Gornitz, V., 2009. *Sea level change, post-glacial*, Paleoclimatology and Ancient Environments, In: Gornitz, V. (ed.), *Encyclopedia of*, Springer, Dordrecht, 887-892.

Gounot, A.M., 1994, Microbial oxidation and reduction of manganese: consequences in groundwater and applications, *FEMS Microbiology Reviews*, 14(4), 339-349.

Graycar, T.P., 1999, Proteolytic Cleavage, Reaction Mechanism, *Bioprocess Technology: Fermentation Biocatalysis and Bioseparation*, In: Flickinger, M.C. and Drew, S.W. (ed.), Wiley, New York, 2214-2222.

Groth, I., Vettermann, R., Schuetze, B., Schumann, P. and Saiz-Jimenez, C., 1999, Actinomycetes in Karstic caves of northern Spain (Altamira and Tito Bustillo), *Journal of Microbiological Methods*, (36), 115–122.

Groth, I. and Saiz-Jimenez, C., 1999, Actinomycetes in hypogean environments, *Geomicrobiology Journal*, (16), 1-8.

Hamaki, T., Suzuki, M., Fudou, R., Jojima, Y., Kajiura, T., Tabuchi, A., Sen, K., Shibai, H., 2005, Isolation of novel bacteria and Actinomycetes using soil-extract agar medium, *J Biosci Bioeng*, 99(5), 485–492.

Hammes, F., Boon, N., de Villiers, J., Verstraete W and Siciliano SD., 2003, Strain-Specific Ureolytic Microbial Calcium Carbonate Precipitation, *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4901-4909.

Hassan, A., Usman , J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A. and Iqbal, M., 2011, Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates, *Braz J Infect Dis*., 15, 305–311.

Herold, K., Gollmick, F.A., Groth, I., Roth, M., Menzel, K.D., Mollmann, U., Grafe, U., Hertweck, C., 2005, Cervimycin A-D: a polyketide glycoside complex from a cave bacterium can defeat vancomycin resistance, *Chemistry*, (11), 5523-5530.

Hose, L.D., Palmer, A.N., Palmer, M.V., Northup, D.E., Boston, P.J., Duchene, H.R., 2000, Microbiology and geochemistry in a hydrogen-sulphide-rich karst environment, *Chem Geol*, 169, 399-423.

Hu, X., Fan, W., Han, B., Liu, H., Zheng, D., Li, Q., ... and Yuan, Z., 2008, Complete Genome Sequence of the Mosquitocidal Bacterium Bacillus 43 sphaericus C3-41 and Comparison with Those of Closely Related Bacillus Species, *J Bacteriol*, 190, 2892–2902.

Iida, S., Taniguchi, H., Kageyama, A., Yazawa, K., Chibana, H., Murata, S., Nomura, F., Kroppenstedt, R.M. and Mikami, Y., 2005, Gordonia otitidis sp. nov., isolated from a patient with external otitis, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 1871-1876.

Ikner, L.A., Tommey, RS., Nolan, G., Neilson, J.W., Pryor, B.M. and Maier, R.M., 2007, Culturable microbial diversity and the impact of tourism in Kartchner Caverns, Arisona, *Microbial Ecology*, 53, 30-42.

Janda, J., 2001, *Gram negative bacteriasin the karst waters*, MSc thesis, Masaeyk University in Bmo.

Janssen, P.H., Yates, P.S., Grinton, B.E., Taylor, P.M. and Sait, M., 2002, Improved culturability of soil bacteria and isolation in püre culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria and Verrucomicrobia, *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 2392-2396.

Jiang, Z.K., Guo, L., Chen, C., Liu, S.W., Zhang, L., Dai, S.J., He, Q.Y., You, X.F., Hu, X.X., Tuo, L., Jiang, W., Sun, C.H., 2015, Xiakemycin A, a novel pyranonaphthoquinone antibiotic, produced by the Streptomyces sp. CC8-201 from the soil of a karst cave, *J Antibiot (Tokyo)*, (68), 771-774.

Jones, B., 1995, Processes associated with microbial biofilms in the twilight zone of caves: examples from the Cayman Islands, *J Sediment Res*, A65,552-560.

Jones, D.S., Albrecht, H.L., Dawson, K.S., Schaperdoth, I., Freeman, K.H., Pi, Y., et al., 2012, Community genomic analysis of an extremely acidophilic sulfur-oxidizing biofilm, *Isme J*, (6),158-170.

Jurado, V., Porca, E., Cuezva, S., Fernandez-Cortes, A., Sanches-Moral, S., Saiz-Jimenez, C., 2010, Fungal Outbreak in a Show Cave, *Science of the Total Environment*, 408, 3632-3638.

Kadavy, D.R., Hornby, J.M., Haverkost, T., Nickerson, K.W., 2000, Natural antibiotic resistance of bacteria isolated from larvae of the oil fly, Helaeomyia petrolei, *Appl Environ Microbiol*, 66, 4515-4619.

Kampfer, P., Nienhuser, A., Packroff, G., Wernicke, F., Mehling, A., Nixrof, K., Fiedler, S., Kolauch, C., Esser, M., 2008, Molecular identification of coliform bacteria isolated from drinking water reservoirs with traditional methods and the Colilert-18 system, *Int J Hyg Environ Health*, 211, 374-384, doi:10.1016/j.ijheh.2007.07.021.

Kiyuna, T., An, K., Sano, R.K.C., Miura, S., Sugiyama, J., 2008, Mycobiota of the Takamatsuzuka and Kitora Tumuli in Japan, focussing on the molecular phylogenetic diversity of Fusarium and Trichoderma, *Mycoscience*, 49, 298-311.

Knapp, C.W., Dolfing, J., Ehlert, P.A., Graham, D.W., 2010, Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940, *Environ Sci Technol*, 44: 580–587.

Koch, A.L., 1997, Microbial physiology and ecology of slow growth, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61(3), 305-318.

Korn-Wendish, F. and Kutzner, H.J., 1992, *The family Streptomycetaceae*, Prokaryotes, In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.H., Springer-Verlag, New York, 921-995.

Kudrya, V.A., Simonenko, I.A., 1994, Alkaline serine proteinase andlectin isolation from the culture fluid of Bacillus subtilis, *Appl Microbiol Biotechnol*, 41,505–509.

Lee, I.T., Liu, J.Y., Lin, C.H., Oyama, K.-I., Chen, C.Y., and Chen, C.H., 2012, Ionospheric plasma caves under the equatorial ionization anomaly, *Journal of Geophysical Research*, 117, A11309, doi:10.1029/2012JA017868.

Lee, S.D., Kim, E.S., Roe, J.H., Kim, J., Kang, S.O., Hah, Y.C., 2000, Saccharothrix violacea sp. nov., isolated from a gold mine cave, and Saccharothrix albidocapillata comb. nov, *Int J Syst Evol Microbiol*, (50), 1315- 1323.

Leveille, R.J., Fyfe, W.S. and Longstaffe, F.J., 2000, Geomicrobiology of carbonate-silicate microbialites from Hawaiian basaltic sea caves, *Chemical Geology.*, 169, 339-355.

Maden Tektik ve Arama Genel Müdürlüğü, http://www.mta.gov.tr/v3.0/arastirmalar/magara-envanteri, [son erişim tarihi: 30 Mart 2015].

Magresin, R. and Miteva, V., 2011, Diversity and ecology of psychrotrophilic microorganisms, *Research in microbiology*, 162, 346-361.

Man, B., Wang, H., Xiang, X., Wang, R., Yun, Y., Gong, L., 2015, Phylogenetic diversity of culturable fungi in the Heshang Cave, central China, *Front Microbiol*, (6), 1158.

Martin, J.F. and Demain, A.L., 1980, Control of antibiotic biosynthesis, *Microbiol. Rev.*, 44, 230-251.

Martinez, N.G., Sinsabaugh, R.L. and Northup, D.E., 2011, Human Impact on Extracellular Enzyme Activity within Carlsbad Cavern and Lechuguilla and Spider Caves in Carlsbad, *International Diversity in STEM Conference*, Caverns National Park, New Mexico. http://sacnas .confex.com/sacnas/2011/webprogram/Paper1801.html/

Mignard, S., and Flandrois, J.P., 2008, A seven-gene, multilocus, genus-wide approach to the phylogeny of mycobacteria using supertrees, *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(6), 1432-1441.

Münster, U. and De Haan, H., 1998, The role of microbial extracellular enzymes in the transformation of dissolved organic matter in humic waters. *Aquatic Humic Substances*, Springer, Berlin, Heidelberg, 199-257.

Nagai, K., Suzuki, K., Okada, G., 1998, Studies on the distribution of alkalophilic and alkali-tolerant soil fungi II: fungal flora in two limestone caves in Japan, *Mycoscience*, 39, 293-298.

Nakaew, N., Pathom-aree, W., Lumyong, L., 2009a, First record of the isolation, identification and biological activity of a new strain of Spirillospora albida from Thai Cave soil, *Actinomycetologica*, (23), 1-7.

Nakaew, N., Pathom-aree, W., Lumyong, S., 2009b, Generic diversity of rare actinomycetes from Thai Cave soils and their possible use as new bioactive compounds, *Actinomycetologica*, (23), 21-26.

Nakaew, N., Sungthong, R., Yokota, A., Lumyong, S., 2012, Nonomuraea monospora sp. nov., an actinomycete isolated from cave soil in Thailand, and emended description of the genus Nonomuraea, *Int J Syst Evol Microbiol*, (62), 3007-3012.

National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, *Approved standard*, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, (8th ed.), M2-A8.

Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N., Berdutina, A.V., 2000, Properties and uses of protein hydrolysates (review), *Appl Biochem Microbiol*, 36, 452–459.

Ningthoujam, D.S., Sanasam, S., Nimaichand, S., 2009, Screening of actinomycete isolates from niche habitats in Manipur for antibiotic activity, *Am J Biochem Biotechnol*, (5), 221-225.

Northup, D.E. and Lavoie, K.H., 2001, Geomicrobiology of Caves: A Review. *Geomicrobiology Journal*, (18), 199-222.

Northup, D.E., Barns, S.M., Yu LE, Spilde, M.N., Schelble, R.T., Dano, K.E., ... and Dahm, C.N., 2003, Diverse microbial communities inhabiting ferromanganese deposits in Lechuguilla and Spider Caves, *Environmental Microbiology*, 5(11), 1071-1086.

Oliver, J.D. and Bockian, R., 1995, In vivo resuscitation, and virulence towards mice, of viable but nonculturable cells of Vibrio vulnificus, *Appl. Environ. Microbiol*., 61, 2620-2623.

Onaga, L., 2001, Cashing in on nature's pharmacy, *EMBO Reports*, 2, 263-265.

Osborne, J.C., Rupprecht, C.E., Olson, J.G., Ksiazek, T.G., Rollin, P.E., Niezgoda, M., Goldsmith, C.S., An, U.S., Nichol, S.T., 2003, Isolation of Kaeng Khoi virus from dead Chaerephon plicata bats in Cambodia, *J Gen Virol*, 84, 2685-9.

Ozansoy, C., Mengi, H., 2006, *Mağarabilim ve Mağaracılık*, Tübitak Yayınları.

Palmer, A.N., 1991, Origin and morphology of limestone caves, *Geol. Soc. Am. Bull.*, (103), 1–21.

Pincus, D. H., 2005, *Chapter 1 Microbial Identification using the Biomérieux VITEK® 2 System Biomérieux*, Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods, In: Miller, M.J. (ed.), Volume 1, Inc. Hazelwood, MO USA PDA/DHI, 1-32.

Rajput, Y., Biswas, J. and Rai, V., 2012, Potentiality test in antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of subterranean Streptomyces strains isolated from Kotumsar Cave of India, *Int J Biol Chem*, 6(2), 53-60.

Ricscnfeld, C.S., Goodman, R.M., Handelsman, J., 2004, Uncultured soil bacteria are reservoir of new antibiotic resistance genes, *Environ Microbiol*, 6, 981-989.

Riding, R., 1977, Calcified Plectonema (blue-green algae), a recent example of Girvanella from Aldabra Atoll, *Palaeontology*, 20(1), 33-46.

Riding, R., 2000, Microbial carbonates: the geological record of calcified bacterial-algal mats and biofilms, *Sedimentology*, 47, 179-214.

Ritchie, K.B., Schwarz, M., Mueller, J., Lapacek, V.A., Merselis, D., Walsh, C. J., and Luer, C.A., 2017, Survey of Antibiotic-producing Bacteria Associated with the Epidermal Mucus Layers of Rays and Skates, *Frontiers in microbiology*, 8, 1050.

Rodríguez-Nava, V., Zoropoguy, A., Laurent, F., Blaha, D., Couble, A., Mouniée, D. and Boiron, P., 2008, La nocardiose, une maladie en expansion, *Antibiotiques*, 10(3), 115-127.

Porter, M.L., Engel, A.S., Kane, T.C. and Kinkle, B.K., 2009, Productivity-diversity relationships from chemolithoautotrophically based sulfidic karst systems, *International Journal of Speleology*, 38(1), 27-40.

Rule, D., Cheeptham, N., 2013, The effects of UV light on the antimicrobial activities of cave actinimycetes, *Int J Speleol*, (42), 147-143.

Russell, N.J., 1998, Molecular adaptations in psychrophilic bacteria: potential for biotechnological applications, *Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology, Berlin: .Springer*, 61, 1-21.

Sand, W., 1997, Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates-a general mechanistic overview, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 40(2-4), 183-190.

Sanchez-Moral, S., Fernandez-Cortes, A., Cuezva, S., Canaveras, J.C. and Abella, R., 2009, Aerodynamics control of a cave with a high environmental stability by trace gases monitoring (Castañar de Íbor, Spain), *EGU General Assembly Conference Abstracts, April 2009*, 11, 5913.

Sarbu, S.M. and Lascu, C., 1997, Condensation corrosion in Movile cave, Romania, *Journal of Caves and Karst Studies*, 59(3), 99-102.

Sarbu, S.M., Kane, T.C., Kinke, B.K., 1996, A chemoautotrophically based cave ecosystem, *Science, (*272), 1953-1955.

Schaberiter-Gurtner, C., Saiz-Jimenez, C., Pinar, G., Lubitz, W. and Rölleke, S., 2002, Altamira cave Paleolithic paintings harbor partly unknown bacterial communities, *FEMS Microbiology Letters*, 211, 7-11.

Schwartz, T., Hoffmann, S., Obst, U., 2003, Formation of natural biofilms during chlorine dioxide and u.v. disinfection in a public drinking water distribution system, Journal of Applied Microbiology, 95, 591–601.

Shirling, E.B. and Gottlieb, D., 1968, Cooperative description of type cultures of Streptomyces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 18(2), 69-189.

Showell, M.S., 1999, *Enzymes, detergent*, Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation, In: Flickinger, M.C., Drew, S.W. (ed), vol 2. Wiley, New York, 958–971.

Signoretto, C., Lleò, M., Tafi, M.C., Canepari, P., 2000, Cell wall chemical composition of Enterococcus faecalis in the viable but nonculturable state. *App. Environ Microbiol*, (66), 1953-9.

Spilde, M.N., Boston, P.J., Northup, D. and Dichosa, A., 2005, Surface and subsurface manganese microbial environments, *Geological Society of America Abstracts with Programs*, 16-19 october 2005, In SPIE Annual Salt Lake City Meeting, 37(7), 267.

Thaller, M.C., Migliore, L., Marquez, C., Tapia, W., Cedeno, V. et al., 2010, Tracking acquired antibiotic resistance in commensal bacteria of Galapagos land iguanas: no man, no resistance, *PLoS One*, 5: e8989.

Tomova, I., Lazarkevich, I., Tomova, A., Kambourova, M., Vasileva-Tonkova, E., 2013, Diversity and biosynthetic potential of culturable aerobic heterotrophic bacteria isolated from Magura Cave, *Bulgaria Int J Speleol*, (42), 65-67.

Türkiye Arkeolojik Yerleşmeleri Projesiveri tabanları, "Mağara veritabanı", http://www.tayproject.org/TAYmaster.fm, [Son erişim tarihi: 29 Temmuz 2015].

Velikonja, B.H., Tkavc, R., Pašić, L., 2014, Diversity of cultivable bacteria involved in the formation of macroscopic microbial colonies (cave silver) on the walls of a cave in Slovenia, *Int J Speleol*, (43), 45- 56.

Vendan, R.T., Yu, Y.J., Lee, S.H. & Rhee, Y.H., 2010, Diversity of Endophytic Bacteria in Ginseng and their potential for plant growth promotion, *J Microbiol*, (48), 559–565.

Warthmann, R., Van Lith, Y., Vasconcelos, C., McKenzie, J.A. and Karpoff, A.M., 2000, Bacterially induced dolomite precipitation in anoxic culture experiments, *Geology*, 28(12), 1091-1094.

Warren, L.A., Maurice, P.A., Parmar, N. and Ferris, F.G. 2001, Microbially mediated calcium carbonate precipitation: implications for interpreting calcite precipitation and for solid-phase capture of inorganic contaminants, *Geomicrobiology Journal*, 18(1), 93-115.

Whitesides, M.D. and Oliver, J.D., 1997, Resuscitation of Vibrio vulnificus from the viable but nonculturable state, *Appl. Environ. Microbiol*., 64, 3025-3028.

Williams, S.T. and Cross, T., 1971, *Chapter XI actinomycetes*, Methods in Microbiol., in: Booth, Academic Press, C., 4, 295-334.

Winogradsky, S., 1949, Microbiologie du sol: problèmes et méthodes, *Paris: Masson*, 861.

Wright, G.D., 2007, The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity, *Nature Reviews Microbiology*, 5(3), 175.

Wright , G., 2010, Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic?, *Curr Opin Microbiol*, 13, 589–594.

Yamaç, M., 2003, Mağara Mikrobiyolojisi, *I. Mağara Ekosistemlerinin Türkiye'de Korunması ve Değerlendirilmesi Sempozyumu*, 6-7 Aralık 2003, Alanya-Antalya.

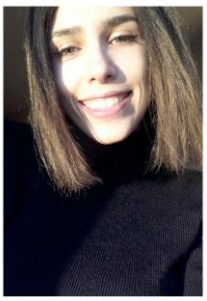
Yücel, S. ve Yamaç, M., 2010, Selection of Streptomyces isolates from Turkish karstic caves against antibiotic resistant microorganisms, *Pak J Pharm Sci*., 2010 Jan, 23(1), 1-6.

Yücel, S., 2007, *Mağaralardan Izole Edilen Aktinomiset Izolatlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Çalışmalar*, Yüksek lisans, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Zhou, J.P., Gu, Y.Q., Zou, C.S. and Mo, W.H., 2007, Phylogenetic Diversity of Bacteria in an Earth-Cave in Guizhou Province, Southwest of China, *The Journal of Microbiology*, 45(2), 105-112.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Begüm Çandıroğlu
Doğum Yeri	Üsküdar
Doğum Tarihi	25.04.1992
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
Telefon	534 426 48 63
E-Posta Adresi	begumcandiroglu@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen fakültesi
Bölümü	Biyoloji Bölümü
Mezuniyet Yılı	17.06.2014

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Makale ve Bildiriler

- Çandıroğlu, B., Doğruöz, G.N., 2017, Cave Ecosystems: Microbiological View, *European Journal of Biology*, 76, 36-42.
- Çandıroğlu, B., Doğruöz, G.N., 2017, Bacterial diversity and enzyme profile of Parsık cave, *4th International Conferance on Pure and Applied Sciences (Renewable Energy) ICPAS 2017*, November 23-25, 2017, Istanbul-Turkey.
- Doğruöz, G.N., Çandıroğlu, B., Altuğ, G., 2017, Culturable Bacterıal Dıversıty ın Kadıını Cave, Alanya-Turkey, *Microbiologia Balkanica 2017*,16-18 November, Sofia, Bulgaria.
- Çandıroğlu, B., Doğruöz, G.N., 2017, Profiling Bacterial Diversity on Moonmilk Speleothem Surfaces in cave, *4th International Conferance on Pure and Applied Sciences (Renewable Energy) ICPAS 2017*, November 23-25, 2017, Istanbul-Turkey.
- Çandıroğlu, B., Doğruöz, G.N., 2017, Conservation and Importance of Cave Ecosystem, *ECOLOGY 2017*, 11-13 May, Kayseri TURKEY.