

**MİKROBİYEL BİYOÇEŞİTLİLİĞİN KORUNMASI VE
KARAKTERİZASYONU: BİR KÜLTÜR KOLEKSİYONU
MODELİ OLUŞTURULMASI**

**PRESERVATION AND CHARACTERISATION OF
MICROBIAL BIODIVERSITY: ESTABLISHING A
CULTURE COLLECTION MODEL**

NEJAT FURKAN ÇAĞLAR

PROF. DR REMZİYE YILMAZ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2025

Bütün olumsuzluklara ve her Őeye rağmen vazgeçmeyenlere...

ÖZET

MİKROBİYEL BİYOÇEŞİTLİLİĞİN KORUNMASI VE KARAKTERİZASYONU: BİR KÜLTÜR KOLEKSİYONU MODELİ OLUŞTURULMASI

Nejat Furkan ÇAĞLAR

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Remziye YILMAZ

Eylül 2025, 260 sayfa

Mikrobiyel kültür koleksiyonları; gıda güvenliği, biyoteknoloji, endüstriyel mikrobiyoloji ve araştırma faaliyetleri için kritik bir altyapıdır. Bunlar biyolojik çeşitliliğin korunması ve sürdürülebilir kullanımı açısından büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışması, daha önceki çalışmalarda yerel mikrobiyel kaynaklardan elde edilen ve tanımlaması yapılan maya ve bakteri suşlarının karakterizasyonu, liyofilizasyon ile uzun süreli korunması ve elde edilen tüm verilerin ulusal–uluslararası erişime açık, standartlara uygun bir dijital altyapı ile yönetilmesini hedeflemiştir. Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu (HUFCC) bünyesinde yürütülmüş ve koleksiyonun hem bilimsel hem de teknik açıdan sürdürülebilirliğini sağlamak için kapsamlı bir yöntem seti geliştirilmiş ve model olarak sunulmuştur.

Koleksiyonda yer alan maya ve bakteri suşları uygun besiyerlerinde canlandırılmış, morfolojik (makroskobik ve mikroskobik incelemeler) ve biyokimyasal (glukoz fermentasyonu, katalaz testi) testlerle değerlendirilmiştir. Mayalarda yalnızca ITS gen bölgesi bu çalışma kapsamında çift yönlü PCR ile sekanslanmış; LSU ve RPB2 gibi diğer gen bölgelerine ait veriler önceki çalışmalardan sağlanmıştır. Bakterilerde ise 16S rRNA gen bölgesi çift yönlü PCR ile çoğaltılmış ve NCBI BLAST analizleriyle tür düzeyinde

tanımlama yapılmıştır. Tanımlanamayan veya belirsiz eşleşme veren suşlarda yeniden sekanslama ve tür-spesifik doğrulama testleri uygulanmıştır.

Toplamda 85 suş (59 maya, 26 bakteri) koleksiyona yeniden tanımlama testleri ile kazandırılmıştır. Maya türlerinde *Saccharomyces cerevisiae* (38 suş), *Metschnikowia pulcherrima* (8 suş), *Wickerhamomyces anomalus* (2 suş), *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (2 suş) *Priceomyces carsonii* (3 suş), *Naganishia uzbekistanensis* (3 suş) ve *Hanseniaspora uvarum*, *Solicoccozyma aerea*, *Yarrowia lipolytica* türlerine ait birer suş olarak yer almıştır. Maya suşlarında 4 adet *Saccharomyces cerevisiae* ve 1 adet *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* olmak üzere 5 adet suş referans olarak yer almaktadır. Bakteri türlerinde *Enterococcus faecalis* (12 suş), *Enterococcus faecium* (3 suş) ve *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Levilactibacillus brevis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactobacillus helveticus* türlerine ait birer suş yer almıştır. Bakteri türleri arasında ST-BODY-1 kodlu, *Streptococcus thermophilus*, LB-12 kodlu *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, nu-trish® LA-5® kodlu *Lactobacillus acidophilus* ve HN019 kodlu (HOWARU Bifido) *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* suşlarının yanında bu çalışmada dizi analizi yapılan *Lacticaseibacillus rhamnosus* suşu olmak üzere 5 adet referans suş yer almaktadır.

HUFCC’de gerçekleştirilen genetik polimorfizm analizleri, koleksiyonda yer alan maya ve bakteri suşlarında türler arası ve tür içi genetik çeşitlilik düzeylerini ayrıntılı biçimde ortaya koymuştur. Maya suşlarının çoğu Ascomycota (n=30), geri kalan kısmı ise Basidiomycota (n=4) şubesinde yer almıştır. Filogenetik analiz sonuçları, türler arası ilişkileri yüksek doğrulukla yansıtmış; ITS bölgesine ait dizilerle elde edilmiş verilerin değerlendirilmesi sonucu *Saccharomyces cerevisiae* (n=16) ve *Priceomyces carsonii* (n=3) kısa dal uzunlukları ve yüksek bootstrap değerleriyle genetik olarak homojen bir yapı sergilediği görülmüştür. Genetik polimorfizm analizinde *S. cerevisiae*’nin LSU D1/D2 bölgesi yüksek ayırım gücü ($S = 50$, $Hd = 0,857$, $\pi = 0,07916$; p-mesafe = 0,000–0,370) ile öne çıkarken, ITS bölgesi daha sınırlı varyasyon sunmuştur.

Metschnikowia pulcherrima (n=8) filogenetik ve genetik polimorfizm analizi sonucunda yüksek haplotip çeşitliliği ($Hd = 1,000$), indel varyasyonu ve tür içi çeşitlilikle dikkat çekmiş; *Wickerhamomyces anomalus* (n=2) ise tür içi genetik çeşitlilik potansiyeli taşımıştır. *Naganishia uzbekistanensis*, *Hanseniaspora uvarum* ve *Solicoccozyma aerea*,

yüksek uyumlu filogenetik konumları ve özel fenotipik-genetik profilleri ile dikkat çekmektedir.

Bakteri suşlarında, tüm suşlar Bacillota şubesi, Bacilli sınıfı ve Lactobacillales takımı içinde yer almıştır. Bu takım altında üç farklı aile (*Lactobacillaceae*, *Enterococcaceae* ve *Streptococcaceae*) ve yedi tür temsil edilmektedir. Filogenetik analizde *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* yüksek bootstrap ($>0,90$) ve kısa dal uzunluklarıyla tür içi homojenlik sergilemiştir. Polimorfizm verilerinde *E. faecalis* sınırlı haplotip çeşitliliği ($H_d = 0,318$, $\pi = 0,00078$) ve düşük p-mesafeler göstermiş; *E. faecium* ise özdeş 16S rRNA dizileri ile homojen bir yapı sergilemiştir. Buna karşılık *Pediococcus pentosaceus* ve *Levilactibacillus brevis* referanslara kıyasla anlamlı genetik farklılık taşımış; özellikle *Pediococcus pentosaceus* uzun dal uzunluğu ile belirgin ayrışma göstermiştir. *Lactococcus lactis* ise veri setindeki en yüksek genetik uzaklıklardan birine sahip olup potansiyel varyant olasılığı taşımaktadır.

Genel olarak, LSU bölgesi özellikle *S. cerevisiae*'da yüksek çözünürlük sağlamış; ITS bölgesi mayaların çoğunda sınırlı varyasyon sunarken, 16S rRNA bölgesi bakterilerde düşük varyasyonla birlikte taksonomik doğruluğu korumuştur. Bu sonuçlar, koleksiyondaki türlerin hem filogenetik hem de genetik polimorfizm düzeylerinin belirlenmesinde çok bölgeli yaklaşımın önemini ortaya koymuştur.

Maya ve bakteri suşlarında gerçekleştirilen liyofilizasyon işlemleri sonucunda elde edilen bulgulara göre maya suşlarında liyofilizasyon öncesi canlı hücre sayıları 7,11–8,08 log kob/mL aralığında değişmiş, ortalama değer 7,72 log kob/mL olarak hesaplanmıştır. Liyofilizasyon sonrasında canlılık belirgin şekilde azalmış (ortalama 7,38 log kob/mL), 30 günlük depolama süresi sonunda ise ortalama değer 7,45 log kob/mL olarak korunmuştur. Bu sonuçlar, liyofilizasyonun maya suşlarında canlılık üzerinde önemli bir kayba yol açtığını, ancak depolama koşullarında canlılığın genel olarak stabil kaldığını göstermektedir. Bakteri suşlarında 30 günlük depolama sonrasında canlı hücre sayıları 8,86–9,69 log kob/mL, ortalama değer 8,72 log kob/mL ve standart sapma 0,25 log kob/ml olarak hesaplanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada koleksiyonda yer alan 59 maya suşundan 55'ine ve 26 bakteri suşundan 25'ine ait toplamda 80 suşa ait liyofilize kültür elde edilmiştir.

Çalışmanın en önemli çıktılarından biri, koleksiyonun tüm fenotipik, genotipik ve saklama verilerinin yönetimi için geliştirilen MySQL tabanlı ilişkisel veri tabanı ve PHP destekli web platformudur. Bu sistem; filtrelenebilir, aranabilir ve indirilebilir suş belgeleri, meta veri ve analiz sonuçlarının pencerelerde görüntülenmesi, PDF formatında standart referans materyal belgeleri, BLAST–MEGA–iTOL gibi biyoinformatik araç entegrasyonları ve güçlü güvenlik altyapısıyla donatılmıştır. Veri tabanı, Visual Studio Code, XAMPP, phpMyAdmin, DBeaver ve FTP tabanlı yönetim araçları kullanılarak geliştirilmiş; düzenli yedekleme ve HTTPS güvenlik protokolleri ile korunmaktadır.

HUFCC, 4 Temmuz 2025 itibarıyla, WDCM No: 1325 ile *World Data Centre for Microorganisms* ağına kaydedilmiş ve böylece uluslararası veri paylaşım ağına dahil olmuştur. Bu kayıt, koleksiyonun küresel görünürlüğüne artırmış ve Türkiye'nin mikrobiyel kültür koleksiyonları alanındaki iş birliği kapasitesine stratejik katkı sağlamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile yerel mikrobiyel biyoçeşitliliğin korunması, fenotipik–moleküler düzeyde tanımlanması, liyofilizasyon ile uzun süreli saklanması ve tüm bu verilerin standartlaştırılarak ulusal–uluslararası erişime sunulması ve bu konuda laboratuvar ölçekli bir kültür koleksiyonu modeli oluşturulması sağlanmıştır. Bu modelin, Türkiye'nin küresel mikrobiyel kültür koleksiyonu ağı içindeki görünürlüğüne artırarak bilimsel ve teknolojik iş birliklerini güçlendirmesi beklenmektedir. HUFCC web platformu hufcc.hacettepe.edu.tr adresinden erişime açıktır.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyel biyoçeşitlilik, kültür koleksiyonu, mikrobiyel koruma, moleküler tanımlama, dijital veri yönetimi

ABSTRACT

PRESERVATION AND CHARACTERISATION OF MICROBIAL BIODIVERSITY: ESTABLISHING A CULTURE COLLECTION MODEL

Nejat Furkan ÇAĞLAR

Master of Science , Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Remziye YILMAZ

September 2025 , 260 pages

Microbial culture collections constitute critical infrastructure for food safety, biotechnology, industrial microbiology, and research activities. They play a key role in the conservation and sustainable utilization of biological diversity. This thesis aimed at the characterization of yeast and bacterial strains previously isolated and identified from local microbial resources, their long-term preservation through lyophilization, and the management of all resulting data within a standardized digital infrastructure that is accessible at both national and international levels. The study was conducted within the framework of the Hacettepe University Food Engineering Department FoodOmics Laboratory Culture Collection (HUFCC), Hacettepe University, where a comprehensive methodological framework was developed and presented as a model to ensure the scientific and technical sustainability of the collection.

The yeast and bacterial strains included in the collection were revived in appropriate culture media and subsequently subjected to morphological assessments (macroscopic and microscopic examinations) as well as biochemical assays (glucose fermentation, catalase test). For yeasts, only the ITS gene region was sequenced within the scope of this study using bidirectional PCR, whereas sequence data for other gene regions such as LSU

and RPB2 were obtained from previous research. In the case of bacteria, the 16S rRNA gene region was amplified by bidirectional PCR and subjected to NCBI BLAST analyses for species-level identification. Strains that remained unidentified or produced ambiguous matches were further validated through resequencing and species-specific confirmation tests.

In total, 85 strains (59 yeasts and 26 bacteria) were incorporated into the collection through re-identification tests. Among the yeast species, the collection comprised *Saccharomyces cerevisiae* (38 strains), *Metschnikowia pulcherrima* (8 strains), *Wickerhamomyces anomalus* (2 strains), *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (2 strains), *Priceomyces carsonii* (3 strains), *Naganishia uzbekistanensis* (3 strains), and one strain each of *Hanseniaspora uvarum*, *Solicoccozyma aeria*, and *Yarrowia lipolytica*. The yeast strains included five reference isolates, namely four strains of *Saccharomyces cerevisiae* and one strain of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*.

Within the bacterial species, *Enterococcus faecalis* (12 strains) and *Enterococcus faecium* (3 strains) were represented, together with one strain each of *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Levilactibacillus brevis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, and *Lactobacillus helveticus*. Among the bacterial species, five reference strains were included: *Streptococcus thermophilus* (ST-BODY-1), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB-12), *Lactobacillus acidophilus* (nu-trish® LA-5®), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (HN019, HOWARU Bifido), and the *Lacticaseibacillus rhamnosus* strain sequenced in this study.

Genetic polymorphism analyses conducted within HUFCC revealed detailed patterns of both interspecific and intraspecific genetic diversity among the yeast and bacterial strains in the collection. The majority of yeast strains belonged to the phylum *Ascomycota* (n = 30), while the remaining strains were classified within *Basidiomycota* (n = 4). Phylogenetic analysis accurately reflected interspecific relationships; evaluation of ITS region sequences demonstrated that *Saccharomyces cerevisiae* (n = 16) and *Priceomyces carsonii* (n = 3) exhibited genetically homogeneous structures, characterized by short branch lengths and high bootstrap support values. In the genetic polymorphism analysis, the LSU D1/D2 region of *S. cerevisiae* displayed high discriminatory power (S = 50, Hd

= 0.857, π = 0.07916; p-distance = 0.000–0.370), whereas the ITS region provided a more limited degree of variation.

As a result of phylogenetic and genetic polymorphism analyses, *Metschnikowia pulcherrima* (n = 8) was characterized by high haplotype diversity (H_d = 1.000), indel variation, and remarkable intraspecific diversity. *Wickerhamomyces anomalus* (n = 2) also exhibited potential for intraspecific genetic diversity. *Naganishia uzbekistanensis*, *Hanseniaspora uvarum*, and *Solicoccozyma aerea* were distinguished by their highly consistent phylogenetic placements and unique phenotypic–genetic profiles.

In bacterial strains, all strains were classified within the phylum *Bacillota*, class *Bacilli*, and order *Lactobacillales*. Within this order, three different families (*Lactobacillaceae*, *Enterococcaceae*, and *Streptococcaceae*) and seven species were represented. In the phylogenetic analysis, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* exhibited intraspecific homogeneity, supported by high bootstrap values (>0.90) and short branch lengths. Polymorphism data revealed that *E. faecalis* displayed limited haplotype diversity (H_d = 0.318, π = 0.00078) and low p-distances, whereas *E. faecium* showed a homogeneous structure with identical 16S rRNA sequences. By contrast, *Pediococcus pentosaceus* and *Levilactibacillus brevis* exhibited significant genetic divergence compared to reference strains, with *P. pentosaceus* showing distinct separation due to its long branch length. *Lactococcus lactis* demonstrated one of the highest genetic distances within the dataset, suggesting the potential presence of a variant.

Overall, the LSU region provided high resolution particularly for *S. cerevisiae*, whereas the ITS region exhibited limited variation in most yeasts. In bacteria, the 16S rRNA region displayed low variation while maintaining taxonomic accuracy. These findings highlight the importance of a multi-locus approach in elucidating both phylogenetic relationships and genetic polymorphism levels of the strains within the collection.

According to the findings obtained from the lyophilization experiments performed on yeast and bacterial strains, the viable cell counts of yeast strains prior to lyophilization ranged between 7.11 and 8.08 log CFU/mL, with an average value of 7.72 log CFU/mL. Following lyophilization, cell viability showed a pronounced decline (average 7.38 log CFU/mL), whereas after 30 days of storage, the mean value was maintained at 7.45 log CFU/mL. These results indicate that lyophilization caused a significant loss of viability in yeast strains; however, viability remained generally stable under storage conditions. In

bacterial strains, viable cell counts after 30 days of storage ranged from 8.86 to 9.69 log CFU/mL, with an average of 8.72 log CFU/mL and a standard deviation of 0.25 log CFU/mL.

As a result, in this study, lyophilized cultures were successfully obtained for 55 out of 59 yeast strains and 25 out of 26 bacterial strains, corresponding to a total of 80 strains preserved in the collection.

One of the most significant outputs of this study is the development of a MySQL-based relational database and PHP-supported web platform for the management of all phenotypic, genotypic, and preservation data of the collection. This system provides filterable, searchable, and downloadable strain documents; display of metadata and analysis results; standardized reference material documents in PDF format; integration with bioinformatics tools such as BLAST, MEGA, and iTOL; and a robust security infrastructure. The database was developed using Visual Studio Code, XAMPP, phpMyAdmin, DBeaver, and FTP-based management tools, and is protected through regular backups and HTTPS security protocols.

As of July 4, 2025, HUFCC has been registered in the *World Data Centre for Microorganisms* (WDCM) network under the accession number WDCM No: 1325, thereby becoming part of the international data-sharing infrastructure. This registration has enhanced the global visibility of the collection and provided a strategic contribution to Türkiye's capacity for collaboration in the field of microbial culture collections.

In conclusion, this study ensured the conservation of local microbial biodiversity, its characterization at both phenotypic and molecular levels, its long-term preservation through lyophilization, and the standardization and dissemination of all related data via national and international access. Furthermore, a laboratory-scale culture collection model was established. This model is expected to enhance Turkey's visibility within the global network of microbial culture collections and to strengthen scientific and technological collaborations. The HUFCC web platform is publicly accessible at hufcc.hacettepe.edu.tr.

Keywords: Microbial biodiversity, culture collection, microbial preservation, molecular identification, digital data management

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimin başlarında beni dinleyip bu yolda bana destek olan, bu konuda çalışma şansını verip bana inanan ve güvenen, normalden uzun süren ve çeşitli problemlerin yaşandığı yüksek lisans sürecinde anlayışı, yol göstericiliğiyle bu noktaya gelmemdeki payını ifade edemeyeceğim danışmanım Sayın Prof Dr. Remziye YILMAZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütüldüğü Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ve Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü ile tez çalışmasını FHD-2024-21308 numaralı proje ile destekleyen Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Tez jüri üyeleri Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ali TOPCU ve Sayın Doç. Dr. Özge KAHRAMAN ILIKAN'a değerli değerlendirme ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez sürecinde, mikrobiyoloji uygulamalarında laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan Uz. Meltem YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Çalışmamın biyoinformatik analiz kısmındaki destekleri için BMLabosis BM Lab. Sist. Ltd. Şti. firmasına ve Humen CEBBARI'ye ve liyofilizasyon işleminde destekleri için Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜNİTEK)'e teşekkür ederim.

FoodOmics Laboratuvarı'nın kültür koleksiyonunun bugünkü haline gelmesinde katkıları bulunan Mithat KURBAN, Sena ÇAKIR, İpek Ceren YEŞİLDAĞ ve Beyza SAYMAN'a; tez çalışmam süresince bana yardımcı olan ve kültür koleksiyonumuza katkı sağlayan laboratuvardaki çalışma arkadaşlarım Elif Bircan MUYANLI, Zeynep Görkem CERİT, Alara KANICI ve Asude ÇELİK'e teşekkür ederim. Bu işin bu noktaya gelmesinde onların desteği benim için çok kıymetli.

Bu uzun ve zorlu yüksek lisans sürecinde destekleri, varlıklarıyla yanımda olan ve devam etmem konusunda paha biçilemez desteklerinden ötürü babam Hasan Basri ÇAĞLAR, annem Selma ÇAĞLAR, abim Yiğit Ozan ÇAĞLAR, ablam Kübra ŞAHİN ÇAĞLAR ve kendisi aramıza katılalı bir yıl olmasa da hayatımda önemli bir yeri olan minik yeğenim Gökçe ÇAĞLAR'a teşekkür ederim.

Nejat Furkan ÇAĞLAR Eylül 2025, Ankara

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	xi
İÇİNDEKİLER.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
SİMGELER VE KISALTMALAR	xxii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Biyolojik Kaynak Merkezleri.....	7
2.1.1. Mikrobiyel Kültür Koleksiyonları: Tarihçe ve Genel Çerçeve	7
2.1.2. Dünya’da Mikrobiyel Kültür Koleksiyonlarıyla ilgili Yapılanmalar.....	10
2.1.3. Türkiye’de Kültür Koleksiyonları	15
2.1.4. Mikrobiyel Kültür Koleksiyonu Kurmanın Zorlukları.....	16
2.2. Mikrobiyel Karakterizasyon ve Taksonomi	18
2.2.1. Mikrobiyel Karakterizasyon ve Taksonomi için Tarihsel Perspektif.....	18
2.2.2. Mikrobiyel Karakterizasyon Yöntemleri	18
2.2.2.1 Klasik Fenotipik–Kemotaksonomik Testler.....	18
2.2.2.2 MALDI-TOF MS	19
2.2.2.3 Moleküler Barkodlama.....	19
2.2.2.4 Filogenetik Analiz	19
2.2.2.5. Genomik Yöntemler	21
2.2.2.6 Genetik Polimorfizm	22
2.2.3 HUFCC Suşlarının Güncel Taksonomik Statüsü	23
2.2.3.1 Maya Suşları.....	24
2.2.3.2 Bakteri Suşları	26
2.3. Mikrobiyel Çeşitliliği Koruma Metodolojileri	28

2.3.1. Mikrobiyel Kùltùrlerde Pasajlama.....	28
2.3.2. Kısa ve Uzun Süreli Muhafaza Yöntemleri	29
2.3.2. Kùltür Koleksiyonlarında Tercih Edilen Muhafaza Yöntemleri	31
2.3.3. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)	31
2.3.3.1. Kullanılan Koruyucu Bileşenlerin Etki Mekanizması	34
2.3.3.2. Dondurarak Kurutmada Kalite Kontrol	36
2.4. Veri Tabanı ve Sùrdürülebilir Model İnşası	37
2.4.1. Veri Tabanları ve Veri Paylaşımı	38
2.4.2. Mikrobiyel Veri Ekosisteminin Kurulması: Temel Unsurlar	39
2.4.3. Dünya Geneline Veri Tabanları	41
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	44
3.1. Materyal.....	44
3.1.1. Kullanılan Mikroorganizmalar	44
3.1.2. Besiyerleri ve Dilüsyon Sıvısının Hazırlanması	49
3.1.3. Kimyasallar ve Sarf Malzemeler	50
3.1.4. Koruyucu (Liyoprotektan) Çözeltilerin Hazırlanması	51
3.2. Metot.....	51
3.2.1. Stok Kùltürlerin Canlandırılması ve Temel Karakterizasyon Uygulamaları.....	51
3.2.2. DNA Dizi Analizi	55
3.2.2.1. Maya ve Bakteri Suşlarından DNA İzolasyonu.....	55
3.2.2.2. PCR Amplifikasyonu.....	57
3.2.2.3. Jel Elektroforezi ile Görüntüleme.....	59
3.2.2.4. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması	59
3.2.2.5. Dizi Analizi.....	59
3.2.3. Biyoinformatik Analizler.....	60
3.2.3.1. Dizi Kalite Kontrolü ve Konsensüs Dizi Oluşturulması.....	60
3.2.3.2. BLAST Analizi ile Tür Tayini.....	61
3.2.3.3. Filogenetik Ağaçların Oluşturulması.....	61
3.2.3.4. Genetik Polimorfizm Analizi.....	62
3.2.3.5. Konsensüs Dizi Temelli DNA Barkodlarının Oluşturulması	62
3.2.4. Liyofilizasyon Uygulamaları	62

3.2.4.1. Maya Suşlarında Liyofilizasyon Süreci	65
3.2.4.2. Bakteri Suşlarında Liyofilizasyon Süreci.....	66
3.2.4.3. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon).....	66
3.2.4.4. Liyofilize Kültürlerin Kek Morfolojisi ve Saflık Açısından Kalite Kontrolü	
67	
3.2.5. Veri Tabanı Geliştirme	69
3.2.5.1. Verilerin Sınıflandırılması ve Hazırlanması.....	69
3.2.5.2. Dijital Formatlama ve Kodlama	70
3.2.5.3. Yazılım Altyapısı ve Platform Seçimi.....	70
3.2.5.4. Mikrobiyel Biyolojik Kaynak Merkezi (mBKM) Entegrasyonu ve	
Sürdürülebilirlik	71
3.2.6. İstatistiksel Analiz	71
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	73
4.1. Stok Kültürlerin Canlandırılması ve Temel Karakterizasyon Uygulamaları	73
4.2. DNA Dizi Analizi.....	89
4.2.1. Maya ve Bakteri Suşlarından DNA İzolasyonu	89
4.2.2. PCR Amplifikasyonu ve Jel Elektroforeziyle Görüntüleme	91
4.3. Biyoinformatik Analizler	93
4.3.1. Dizi Kalite Kontrolü ve Konsensüs Dizi Oluşturulması	93
4.3.2. BLAST Analizi ile Tür Tayini	94
4.3.2.1. Maya Suşları BLAST Analizi Sonuçları	94
4.3.2.2. Bakteri Suşları BLAST Analizi Sonuçları	100
4.3.3. Filogenetik Ağaçların Oluşturulması	106
4.3.4. Genetik Polimorfizm Analizi	115
4.3.5. Konsensüs Dizi Temelli DNA Barkodlarının Oluşturulması.....	129
4.4. Liyofilizasyon Uygulamaları.....	134
4.4.1. Maya ve Bakteri Suşlarında Liyofilizasyon Süreci.....	134
4.4.2. Liyofilize Kültürlerin Kek Morfolojisi ve Saflık Açısından Kalite Kontrolü.	138
4.5. Veri Tabanı Geliştirme	142
4.5.1. Verilerin Sınıflandırılması ve Hazırlanması.....	143

4.5.2. Dijital Formatlama ve Kodlama	147
4.5.3. Yazılım Altyapısı ve Platform Seçimi	157
4.5.4. Mikrobiyel Kaynak Merkezi Entegrasyonu ve Sürdürülebilirlik	165
5. YORUM.....	166
6. KAYNAKLAR	172
EKLER.....	186
EK 1.1 Maya Suşlarına ait DNA İzolasyon Kalite Verileri.....	186
EK 1.2 Bakteri Suşlarına ait DNA İzolasyon Kalite Verileri	187
EK 1.3. – Maya Suşlarına ait Dizi Verileri.....	188
EK 1.4. –Bakteri Suşlarına ait Dizi Verileri	199
EK 1.5. – Maya Suşları Filogenetik Analiz Ham Veri Dosyası	214
EK 1.6 - Bakteri Suşları Filogenetik Analiz Ham Veri Dosyası	214
EK 1.7 – SNP P-Matrisinin Çizimine Ait Örnek Python Kodu.....	215
EK 1.8 – DNA Barkod Görseli Çizimine Ait Örnek Python Kodu	216
EK 2. Web Sitesi Hazırlanmasında Kullanılan Kodlama Altyapısı	217
EK 2.1. footer.php.....	217
EK 2.2. nav.php	217
EK 2.3. header.php	218
EK 2.4. bacteria-collection.php	220
EK 2.5. yeast-collection.php.....	223
EK 2.6. searchStrain.php	225
EK 2.7. getStrainsDetails.php.....	227
EK 2.8. presentations.php	228
EK 2.9. contact.php.....	231
EK 2.10. thesis.php.....	232
EK 2.11. location.php	234
EK 2.12. staff.php.....	236
EK 2.13. bioinformatics.php.....	238
EK 2.14. identifications.php	241
EK 2.15. contract-research.php.....	241
EK 2.16. services.php	242
EK 2.17. publications.php.....	245

EK 2.18. contact.css	247
EK 2.19. index.php.....	248
EK 2.20. about.php.....	249
EK 2.21. aboutstyle.css	251
EK 2.22. aboutscript.js	254
EK 2.23. HUFCC Veri Tabanında Yer Alan Verilerle İlgili csv Dosyası	254
EK 3.1. Maya Suşları Liyofilizasyon Sonuçları Ham Veri.....	257
EK 3.2. Bakteri Suşları Liyofilizasyon Sonuçları Ham Veri	258
EK 4 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Tür düzeyinde mikrobiyel tanımlama sürecinin akış şeması.....	6
Şekil 2.1. Mikrobiyel kültür koleksiyonlarının kurulması ve sürdürülebilirliği için kategori ve gereklilikler: (A) Mikrobiyel kültürlerin karakterizasyonu ve özgünlük doğrulaması; (B) Protokollerin oluşturulması; (C) Bilgi ve kaynakların yaygınlaştırılması; (D) Politika ve standartlar [25, 32]	8
Şekil 2.2. mBKM 'lerde izolatların eldesinden uygulamaya kadar değer yaratma zinciri [31].....	9
Şekil 2.3. Güncel WDCM verilerine göre dünyada en çok suş bulunduran 10 ülke [17]	15
Şekil 2.4. Kültür koleksiyonu kurulmasında 6 temel gereklilik [5, 18].....	17
Şekil 2.5. Bakteri ve funguslarda Sanger dizilemede kullanılan gen bölgeleri (a) Bakterilerde yer alan 16S rRNA bölgesi; (b) Funguslarda yer alan ITS bölgesi [58, 59].....	22
Şekil 2.6. Taksonominin kültür koleksiyonlarındaki rolü [25, 26, 66].....	23
Şekil 2.7. Pasajlama metodolojisi	29
Şekil 2.8. Mikrobiyel çeşitliliği koruma yöntemleri [20]	30
Şekil 2.9. Dondurarak kurutma işleminde gerçekleşen farklı aşamalar [84]	32
Şekil 2.10. Mikrobiyel veri ekosistemi oluşturmada temel ilkeler [18, 25-29]	39
Şekil 3.1. DNA dizi analiz iş akış şeması	55
Şekil 3.2. Biyoinformatik analizlere yönelik genel iş akış diyagramı	60
Şekil 3.3. Örnek DNA barkodu görseli.....	62
Şekil 3.4. Maya suşlarının liyofilizasyonuna yönelik iş akış şeması.....	63
Şekil 3.5. Bakteri suşlarının liyofilizasyonuna yönelik iş akış şeması	64
Şekil 3.6. Liyofilize kültürlerin kek morfolojisine ilişkin örnek görseller	67
Şekil 3.7. HUFCC veri tabanı geliştirme süreci iş akış şeması	69
Şekil 4.1 Maya suşlarının ITS1 ve ITS4 primerleri ile çoğaltılan PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi. DNA boyut standardı (100–3000 bp); NTC: Negatif kontrol.	91
Şekil 4.2. Bakteri suşlarının 27F ve 1492R primerleriyle çoğaltılmış ve 16S gen bölgesi varlığını gösteren PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi.	92
Şekil 4.3. Ham dizi kalite kontrolü (Finch TV programı)	93

Şekil 4.4. Elde edilen iki yönlü dizilerin hizalanması ve konsensüs dizinin eldesi (MultAlin)	94
Şekil 4.5. HUFCC’de yer alan NCBI’a kayıtlı maya suşlarının ITS gen bölgesi için filogenetik ağaç oluşumu ve tür bazında renk kodlamaları [51, 181]	108
Şekil 4.6. HUFCC’de yer alan bakteri suşlarının 16S RNA gen bölgesi için filogenetik ağaç oluşumu ve tür bazında renk kodlamaları [51, 181]	112
Şekil 4.7. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> türüne ait 22 suşun LSU bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir).....	121
Şekil 4.8. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> türüne ait 16 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.).....	122
Şekil 4.8’de verilen 16 farklı <i>Saccharomyces cerevisiae</i> suşu arasında ITS bölgesine dayalı SNP p-mesafe değerleri görselleştirilmiştir. Her bir hücrede yer alan p-mesafe değeri, iki suş arasında gözlenen nükleotid bazlı farklılık oranını ifade etmektedir.	122
Şekil 4.9. <i>Metschnikowia pulcherrima</i> türüne ait 8 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.).....	124
Şekil 4.10. <i>Priceomyces carsonii</i> türüne ait 3 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.).....	125
Şekil 4.11. <i>Naganishia uzbekistanensis</i> türüne ait 3 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.).....	126
Şekil 4.12. <i>Enterococcus faecalis</i> türüne ait 3 suşun 16S rRNA bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.).....	127
Şekil 4.13. <i>Enterococcus faecium</i> türüne ait 3 suşun 16S rRNA bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.).....	128
Şekil 4.14. Tür düzeyinde oluşturulan DNA barkod görselleri.....	132
Şekil 4.15. Liyofilize kültürlerin kek morfolojilerine göre sınıflandırılması	140

Şekil 4.16. Liyofilize kültürlerde gözlemlenen kek morfolojisi tiplerinin oransal dağılımı	141
Şekil 4.17 HUFCC’de veri üretimi, kürasyon ve yayın sürecine yönelik iş akış şeması	144
Şekil 4.18. HUFCC veri tabanı standart referans materyal belgesi örneği.....	146
Şekil 4.19. HUFCC web platformu [24, 29]	158
Şekil 4.20. HUFCC veri tabanı ERD diyagramı.....	159
Şekil 4.21. HUFCC suş arama sayfası pop-up ekranı örneği	160
Şekil 4.22. HUFCC web altyapısının istemci-sunucu temelli veri akışı ve veri madenciliği yaklaşımıyla işleyen genel sistem mimarisi [29, 192]	162
Şekil 4.23. HUFCC’nin WDCM portalındaki bilgi sayfası.....	165

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. İlgili ISO standartları.....	12
Çizelge 2.2. Kıtalara, ülkelere ve bölgelere göre WDCM'ye kayıt istatistikleri	14
Çizelge 2.3. WDCM'ye kayıtlı türkiye'de yer alan kültür koleksiyonları [17]	16
Çizelge 2.4. HUFCC'de yer alan maya suşlarının taksonomik sınıflandırılması [74].....	25
Çizelge 2.5. HUFCC'de yer alan bakteri suşlarının taksonomik sınıflandırılması [74] .	27
Çizelge 2.6. Koruma yöntemleri ve koruma süresi [22]	30
Çizelge 2.7. Dünya genelinde kültür koleksiyonlarının tercih ettiği koruma yöntemleri CP= kriyokoruma (gliserol stok), FD= dondurarak kurutma [20]	31
Çizelge 3.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan HUFCC'de yer alan maya suşları ...	44
Çizelge 3.2. Tez çalışması kapsamında kullanılan HUFCC'de yer alan bakteri suşları .	48
Çizelge 3.3. Maya suşlarında PCR amplifikasyonunda kullanılan primer dizileri	57
Çizelge 3.4. Maya suşlarına ait PCR reaksiyon karışımı ve konsantrasyonları	57
Çizelge 3.5. Maya suşlarına uygulanan PCR programı.....	58
Çizelge 3.6. Bakteri suşlarında PCR amplifikasyonunda kullanılan primer dizileri.....	58
Çizelge 3.7. Bakteri suşlarına ait PCR reaksiyon karışımı ve konsantrasyonları	58
Çizelge 3.8. Bakteri suşlarına uygulanan PCR programı	58
Çizelge 3.9. BLAST analizinde kullanılan temel istatistiksel parametreler.....	61
Çizelge 3.10. Maya türlerine ait inkübasyon süreleri (28°C, 230 rpm)	65
Çizelge 3.11. HUFCC'de yer alan suşlara ait tanımlayıcı kimlik bilgileri ve kodlama sistemi.....	70
Çizelge 4.1. Tez çalışması kapsamında canlandırılan ve morfolojik analizleri yapılan HUF kodlu maya suşları.....	74
Çizelge 4.2. Tez çalışması kapsamında canlandırılan ve morfolojik analiz ve biyokimyasal testleri yapılan HUF kodlu bakteri suşları	84
Çizelge 4.3. Maya suşlarının ITS bölgesi BLAST analizi sonuçları	95
Çizelge 4.4. BLAST sonuçlarını yorumlama kriterleri ve sayısal verileri (Maya sonuçları)	97
Çizelge 4.5. Bakteri suşlarının 16S rRNA BLAST Sonuçları	100
Çizelge 4.6. Çizelge 4.5'te verilen BLAST sonuçlarını yorumlama kriterleri ve ve sayısal verileri	102

Çizelge 4.7. NCBI veri tabanına kaydedilen maya suşları ve erişim numaraları (n=54)	
.....	104
Çizelge 4.8. NCBI veri tabanına kaydedilen bakteri suşları ve erişim numaraları (n=21)	
.....	106
Çizelge 4.9. HUFCC’de yer alan maya ve bakteri suşlarına ait genetik polimorfizm analizi sonuçları.....	117
Çizelge 4.10. Maya ve bakteri suşlarında liyofilizasyon öncesi, sonrası ve depolama sonrası canlı hücre sayılarının istatistiksel özetleri.....	136
Çizelge 4.11. HUFCC web tabanlı sistemi: bileşenler, işlevler ve teknik özellikler [29]	
.....	156

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
bp	Baz çifti (base pair)
kb	Kilobaz
L	Litre
M	Molar
mM	Milimolar
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
kob	Koloni Oluşturma Birimi

Kısaltmalar

ABS	Erişim ve Yararların Paylaşımı
API	Uygulama Programlama Arayüzü
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BacDive	Bakteriyel Çeşitlilik Metaveritabanı
BLAST	Temel Yerel Benzerlik Arama Aracı
CCINFO	Dünya Kültür Koleksiyonları Bilgi Sistemi
CCU	Merkezi Koordinasyon Birimi
KOB	Koloni Oluşturma Birimi
CP	Kriyokoruma
CRM	Sertifikalı Referans Materyal
DNAsp	DNA Dizi Polimorfizmi Analiz Yazılımı
DSMZ	Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Alman Koleksiyonu
ECCO	Avrupa Kültür Koleksiyonları Organizasyonu
ERD	Varlık-İlişki Diyagramı
FAIR	Bulunabilir, Erişilebilir, Birlikte Çalışabilir, Yeniden Kullanılabilir

FD	Dondurarak Kurutma
FigTree	Filogenetik Ağaç Görüntüleyici Yazılım
GCM	Mikroorganizmaların Küresel Kataloğu
GTDB	Genom Temelli Taksonomi Veritabanı
iTOL	Etkileşimli Filogenetik Ağaç Görselleştirme Aracı
ISO	Uluslararası Standardizasyon Örgütü
ITS	Ara Transkripsiyon Bölgesi
LIMS	Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi
LPSN	Nomenklatürde Geçerli Prokaryot İsimleri Listesi
LSU	Büyük Ribozomal Alt Birim (Large Subunit)
MEGA	Moleküler Evrimsel Genetik Analiz Yazılımı
MIRRI	Mikrobiyel Kaynak Araştırma Altyapısı
mBKM	Mikrobiyel Biyolojik Kaynak Merkezi
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
TSE	Türk Standardları Enstitüsü
WDCM	Dünya Kültür Koleksiyonları Veri Merkezi

1.GİRİŞ

Doğal kaynakların hızla tüketilmesi ve küresel iklim değişikliği, toprak bozulumu ile çevre kirliliğine bağlı olarak ortaya çıkan çevresel sorunlar; tarımsal ürünlerin sürdürülebilir üretimini ve insan sağlığını ciddi şekilde tehdit etmektedir. Bu bağlamda, günümüzde karşı karşıya kalınan büyük ölçekli sorunların çözümünde mikroorganizmalar temel kaynaklardan biri olarak değerlendirilmelidir. Son elli yıl içerisinde mikroorganizmalar; sağlık, tarım, gıda işleme ve atık yönetimi gibi alanlardaki temel problemlerin çözümünde etkin bir şekilde kullanılmış ve bu alanlarda çeşitli uygulamalar geliştirilmiştir [1].

Biyoçeşitlilik, insan toplumunun hayatta kalması ve gelişiminin temel taşı olup ekolojik medeniyet düzeyinin önemli göstergelerinden biridir. Ulusal bir strateji olarak biyoçeşitliliğin korunması, insan sağlığı ve refahı ile doğrudan ilişkilidir [2].

Biyoçeşitliliğin korunması, yalnızca ekosistem dengesi açısından değil, aynı zamanda gıda güvenliği, sürdürülebilir tarım ve biyoteknolojik yenilikler için de stratejik bir öneme sahiptir. Bu bağlamda, Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi (CBD), biyoçeşitliliğin hem doğal ortamında (*in situ*) hem de doğal ortamı dışında (*ex situ*) korunmasının gerekliliğini vurgulamaktadır. Sözleşme, Biyolojik Kaynak Merkezleri (BKM)'ni, biyoçeşitliliğin *ex situ* koruyucuları arasında öncelikli yapılar olarak tanımlamaktadır. CBD'ye göre biyolojik kaynaklar; genetik kaynaklar, organizmalar veya bunların herhangi bir parçası, popülasyonlar ya da ekosistemlerin, insanlık açısından güncel veya potansiyel değere sahip diğer biyotik bileşenleri kapsamaktadır [3, 4].

BKM'ler, kültürlenebilir organizma koleksiyonlarını (mikroorganizmalar, bitki, hayvan ve insan hücreleri gibi), bunların çoğaltılabilir parçalarını (örneğin genomlar, plazmidler, virüsler, cDNA'lar), yaşayan ancak henüz kültürlenemeyen organizma hücre ve dokularını, ayrıca bu biyolojik materyallerle ilgili moleküler, fizyolojik ve yapısal veriler ile biyoinformatik bilgileri içeren veri tabanlarını barındırır [3, 4]. Bu yönüyle BKM'ler, yalnızca biyolojik materyallerin muhafaza edildiği pasif depolama alanları değil; aynı zamanda bu materyallerin doğrulama, standardizasyon ve uluslararası mevzuata uygun olarak araştırmacılara sunulmasını sağlayan aktif bilimsel merkezlerdir.

Biyolojik Kaynak Merkezleri, kapsamlı bir araştırma ve hizmet altyapısını temsil ederken; bu altyapının önemli bileşenlerinden biri olan kültür koleksiyonları, özellikle mikroorganizmalar başta olmak üzere koruma altına alınan biyoçeşitliliğin somut bir ifadesidir. Başka bir deyişle, kültür koleksiyonları BKM'lerin mikrobiyel çeşitliliğe odaklanan ve bu çeşitliliğin uzun vadeli korunmasını sağlayan alt sistemleridir.

Mikrobiyel kültür koleksiyonları, viral arşivler, herbaryumlar, botanik bahçeleri, hayvanat bahçeleri ve bitki-hayvan genetik kaynak bankaları, biyoçeşitliliğin *ex situ* korunmasında kritik rol üstlenmektedir. Bu koleksiyonlar, sağlık, çevre, tarım ve sanayi gibi farklı alanlarda bilimsel ve teknolojik gelişmeleri destekleyen değerli kaynaklardır [5].

Kültür koleksiyonları, canlı mikroorganizmaların uzun vadeli korunmasını ve araştırma amacıyla erişime sunulmasını sağlayarak biyolojik çeşitliliğin sürdürülebilir kullanımında stratejik bir rol üstlenir. Bu koleksiyonlar, ticari ürün geliştirme ve biyoteknolojik yeniliklerde genetik kaynak olarak da değerlendirilebilir.

Biyolojik çeşitliliğin korunması, sürdürülebilir kullanımı ve genetik kaynaklardan elde edilen faydaların adil paylaşımı, 1993 yılında yürürlüğe giren Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi (CBD) ile uluslararası ölçekte güvence altına alınmıştır. Ancak, sözleşmede erişim ve iş birliği süreçlerine dair ayrıntılı hükümler bulunmadığından, 2002'de kabul edilen Bonn Rehberi ile ön bilgilendirilmiş onam ve karşılıklı mutabakata dayalı şartlar kavramları tanımlanarak Erişim ve Faydaların Paylaşımı (ABS) sisteminin ilk çerçevesi oluşturulmuştur. Bu sistem, genetik kaynakların kullanımına ilişkin hakların netleştirilmesi ve elde edilen faydaların adil biçimde paylaşılması açısından önemli bir adım olmuştur. 2014'te yürürlüğe giren Nagoya Protokolü, ABS konusundaki uluslararası düzenlemeleri daha ileriye taşıyarak teknoloji transferi, fayda paylaşımı ilkeleri, ulusal mevzuata uyum ve yerel otoriteler üzerinden yürütülecek izin süreçlerini kapsamlı şekilde tanımlamıştır [6].

Avrupa genelinde bu alandaki en önemli yapılanmalardan biri, 2018'de ERIC statüsü için başvuran MIRRI (Microbial Resource Research Infrastructure)'dir. On Avrupa ülkesinden 50'den fazla mikrobiyel Biyolojik Kaynak Merkezi, kültür

koleksiyonu ve araştırma enstitüsünü tek çatı altında toplamayı hedefleyen bu yapı; yönetsel işlevleri yürüten Merkezi Koordinasyon Birimi (CCU) ve ülke koşullarına göre şekillenen Ulusal Düğümler (NN) ile faaliyet göstermektedir [7, 8]. Avrupa'daki bir diğer önemli ağ ise, üyeleri arasında bilgi paylaşımı, ortak projeler ve standart geliştirme konularında iş birliği sağlayan ECCO (European Culture Collections' Organisation)'dur. ECCO, kültür koleksiyonlarının uluslararası standartlara uyumunu teşvik ederek hem bilimsel hem de endüstriyel uygulamalarda güvenilirlik ve görünürlük kazandırmaktadır [9].

Kültür koleksiyonlarının etkin ve güvenilir şekilde işletilebilmesi için uluslararası standartlara uyum kritik öneme sahiptir. ISO 9001 (Kalite Yönetim Sistemi), ISO 20387 (Biyobankacılık: Genel Gereksinimler), ISO 24088-1 (Mikroorganizmaların Biobankacılığı – Bakteri/Arke) ve ISO 21710 (Veri Yönetimi) gibi standartlar; kalite güvencesinden veri bütünlüğüne, saklama ve geri kazanım koşullarından biyoemniyete kadar geniş bir çerçevede koleksiyon yönetimine rehberlik etmektedir [10-15].

Dünya genelinde öncü örnekler arasında yer alan DSMZ (Almanya) ve ATCC (ABD), on binlerce bakteri, mantar, hücre dizisi ve DNA örneğini yüksek standartlarda muhafaza etmekte ve uluslararası araştırma topluluklarına sunmaktadır. WDCM (World Data Centre for Microorganisms) verilerine göre, 2025 yılı itibarıyla 80 ülke ve bölgeden toplam 866 kültür koleksiyonu kayıtlıdır ve bu koleksiyonlar 4,12 milyon mikrobiyel suş barındırmaktadır. En fazla suş bulunduran ülkeler arasında Çin, Japonya, ABD, Kore ve Almanya ilk sıralarda yer almaktadır [16, 17].

Türkiye'de ise WDCM veritabanına kayıtlı 17 kültür koleksiyonu bulunmaktadır. Bu koleksiyonlar üniversiteler, araştırma merkezleri ve ulusal tip kültür koleksiyonları bünyesinde faaliyet göstermekte olup, bakteri, aktinomiset, mikroalg ve hücre kültürleri gibi farklı mikrobiyel gruplara odaklanmaktadır. Toplam kayıtlı suş sayısı yaklaşık 10.400'dür [17].

Mikrobiyel kültür koleksiyonları, biyogüvenlik, veri yönetimi, yasal uyumluluk (Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi, Nagoya Protokolü), kalite yönetim sistemleri (ör. ISO 9001, ISO 24088-1), FAIR veri ilkelerine uygun dijital altyapı, nitelikli personel, teknik kapasite ve finansal sürdürülebilirlik gibi çok boyutlu

gereklikleri karşılayan araştırma altyapılarıdır. Bu altyapıların etkin ve sürdürülebilir biçimde işletilebilmesi için kurumsal yapı (uzun vadeli destek taahhüdü olan kamu/özel kurum çatısı), amaç ve strateji (hizmet kapsamı ve hedeflerle uyumlu planlama), finansman (güvenilir ve sürdürülebilir kaynaklar), altyapı ve donanım (kalite kontrol ve araştırma için gerekli laboratuvar alanı ve ekipman), koleksiyon içeriği (yerel genetik kaynakların ve biyogüvenlik kurallarının gözetilmesi) ve personel (koruma, taksonomi, kalite kontrol gibi alanlarda yetkin, sürekli eğitilmiş kadro) olmak üzere altı temel unsurun karşılanması gereklidir. Ancak küçük ölçekli koleksiyonlar, sınırlı personel ve bütçe nedeniyle akreditasyon, ekipman kalibrasyonu, çevresel izleme ve yöntem doğrulama gibi süreçleri uygulamakta zorlanmakta; sürdürülebilir büyüme ve gelir artışı ancak dış fon desteği ve etkin kalite yönetim sistemlerinin hayata geçirilmesiyle mümkün olmaktadır [5, 6, 18, 19].

Mikrobiyel çeşitliliğin korunmasında üç temel strateji uygulanmaktadır [20]: yerinde koruma (*in situ*), mikroorganizmaların doğal ekosistemlerinde sürdürülebilir biçimde varlığını korumasını sağlar ve CBD tarafından en uygun yöntem olarak tanımlanır [21]; dış ortamda koruma (*ex situ*), mikroorganizmaların kültür koleksiyonlarında yapay koşullarda depolanması ve çoğaltılması yoluyla gerçekleştirilir; fabrika içi koruma (*in factory*) ise endüstriyel üretim süreçlerinde biyoteknolojik öneme sahip suşların sürekli hazır bulundurulmasını hedefler.

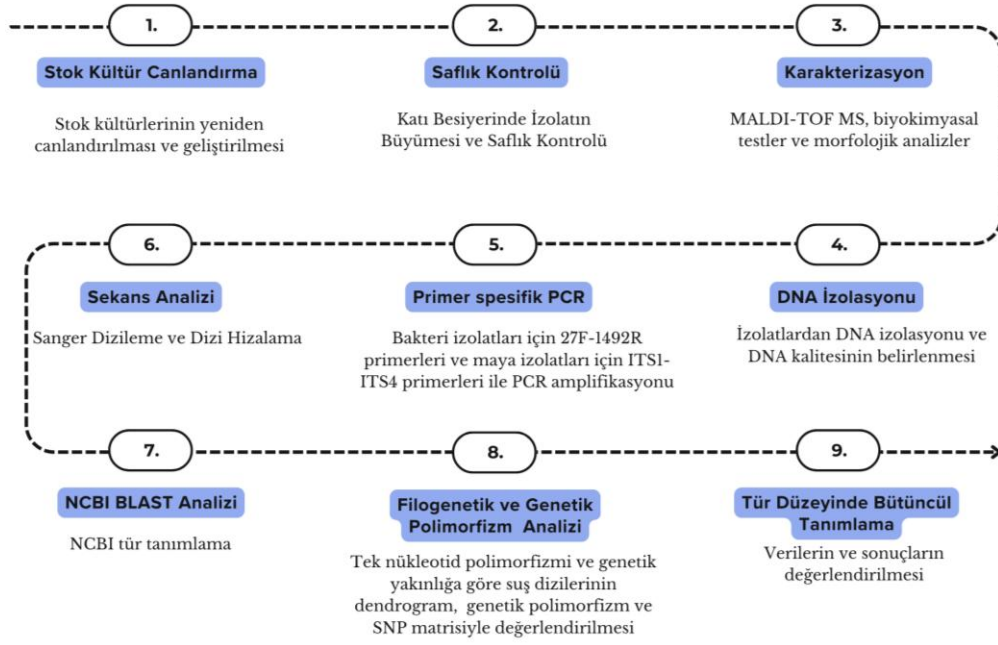
Kültür koleksiyonlarında uzun süreli muhafaza için en yaygın yöntemler arasında dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve kriyojenik koruma (gliserol stok) yer alır. Liyofilizasyon, suşların fenotipik ve genetik özelliklerini koruyarak 15 yıl ve üzeri süreyle saklanmasına olanak tanırken; gliserol stok yöntemi, -80 °C’de buz kristallerinin hücre zarına verdiği hasarı azaltarak yüksek canlılık oranı sağlar. Bu yöntemlerde kullanılan koruyucu bileşenlerin (kriyoprotektanlar, stabilizatörler vb.) seçimi ile canlılık, saflık ve genetik stabilite gibi kalite kontrol parametreleri, uzun vadeli başarı ve güvenilirlik açısından kritik öneme sahiptir. Dünya genelinde ATCC, DSMZ, LMG gibi önde gelen kültür koleksiyonları bu yaklaşımları standart olarak uygulamaktadır [20, 22].

Mikrobiyel kültür koleksiyonlarının yönetiminde veri tabanları, artık yalnızca kayıt tutma araçları değil; sürdürülebilirlik, izlenebilirlik ve iş birliğinin temel

bileşenleridir. Genomik sekanslama ve çok katmanlı “omik” yaklaşımlarının yaygınlaşmasıyla veri hacmi eksponansiyel olarak artmakta; bu durum veri kaybı, maliyetli tekrar deneyler ve sistemler arası uyumsuzluk gibi sorunları beraberinde getirmektedir. ISO/TC 276’nın 2024’te yayımladığı standart, mBKM’lerde asgari veri alanları, doğrulama akışları ve yayın formatlarını tanımlayarak altyapılar arasında birlikte çalışabilirliği, veri izlenebilirliğini ve hem insan hem de makine tarafından okunabilir rapor üretimini hedeflemektedir [23, 24].

Bu kapsamda, mikrobiyel veri ekosistemi; sekiz temel unsurdan oluşan bütünleşik bir yapıdır. Dijital katalog ihtiyacı, araştırmacılara taksonomi, izolasyon kaynağı ve fonksiyonel özellikler gibi bilgileri tek noktadan sunarak veri erişimini kolaylaştırır. Dijitalleşme açığı, dünya genelinde koleksiyonların yarısından fazlasında hâlâ eksik olan çevrimiçi katalogların önemini ortaya koyar. FAIR ilkeleri (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable), verinin standart formatlarda bulunabilir, erişilebilir, uyumlu ve yeniden kullanılabilir olmasını sağlar. LIMS yönetimi, numune kabulünden raporlamaya kadar tüm sürecin dijital izlenebilirliğini sunar. Veri madenciliği, koleksiyon verilerinden istatistiksel ve yapay zekâ destekli analizlerle anlamlı sonuçlar çıkarılmasına imkân verir. Verilerin toplanması ve küratörlük, bilgilerin standart formlarla eksiksiz ve doğrulanmış şekilde kaydedilmesini sağlar. Veri tabanı tasarımı ve mimarisi, ilişkisel ve belge tabanlı yapıların birlikte kullanılmasıyla güvenli ve ölçeklenebilir bir altyapı sunar. Web arayüzü ise kullanıcı dostu tasarımıyla verinin arama, filtreleme ve görselleştirme işlemlerini kolaylaştırır [7, 18, 25-29].

Mikrobiyel kültür koleksiyonu oluşturulmasında tür düzeyinde bütüncül tanımlama aşaması, stok kültürlerin canlandırılmasıyla başlayıp saflaştırma, fenotipik ve moleküler karakterizasyon, DNA izolasyonu, primer spesifik PCR, dizi analizi, BLAST sorgulaması ve filogenetik–polimorfizm değerlendirmeleri ile tamamlanmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında, tür düzeyinde tanımlamada tercih edilen iş akışı Şekil 1.1’de verilmiştir.



Şekil 1.1. Tür düzeyinde mikrobiyel tanımlama sürecinin akış şeması

Şekil 1.1.'de deneysel tasarımı verilen çalışmanın amacı, Türkiye'nin zengin mikrobiyel biyoçeşitliliğini laboratuvar ölçeğinde sürdürülebilir bir kültür koleksiyonu ve bütünleşmiş dijital veri tabanı aracılığıyla koruyarak, standardize edilmiş, erişilebilir ve uluslararası ölçekte tanınırlığı olan bir model geliştirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Biyolojik Kaynak Merkezleri

Biyolojik kaynakların korunmasının önemi, Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi (CBD) kapsamında vurgulanmakta olup bu sözleşme Biyolojik Kaynak Merkezleri (BKM)'nin, biyoçeşitliliğin *ex situ* (doğal ortamı dışında) koruyucuları olarak önemine dikkat çekmektedir. CBD'ye göre biyolojik kaynaklar; genetik kaynaklar, organizmalar veya bunların herhangi bir parçası, popülasyonlar ya da ekosistemlerin, insanlık açısından güncel veya potansiyel değere sahip diğer herhangi bir biyotik bileşeni şeklinde tanımlanmaktadır. BKM'ler, kültürlenebilir organizma koleksiyonlarını (yaşamın dört alanı: mikroorganizmalar, bitki, hayvan ve insan hücreleri), bunların çoğaltılabilir kısımlarını (örneğin genomlar, plazmidler, virüsler, cDNA'lar), yaşayan ancak henüz kültürlenemeyen organizma hücrelerini ve dokularını ve ayrıca bu koleksiyonlarla ilgili moleküler, fizyolojik ve yapısal bilgileri ve ilgili biyoenformatikleri içeren veri tabanlarını içerir [3, 4].

Mikrobiyel kültür koleksiyonları, viral arşivler, herbaryumlar, botanik bahçeleri, hayvanat bahçeleri ve *ex situ* bitki ve hayvan genetik kaynak koleksiyonları, biyoçeşitliliğin korunmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca, biyolojik çeşitliliğin korunmasına önemli ölçüde katkıda bulunan ve sağlık, çevre, tarım işletmeleriyle sanayi gibi çeşitli sektörler için kıymetli varlıklar olarak hizmet veren vazgeçilmezdir [5]. Bunun yanı sıra sıralanan çeşitli araştırma alanlarında faaliyet gösterirler; biyoçeşitlilik çalışmaları, yeni biyomoleküllerin keşfi, ekosistem işleyişi ve restorasyonu, biyosensör geliştirme, petrol rezervuarlarından verim artırımı, bitki ve toprak sağlığının iyileştirilmesi, insan sağlığı gibi [1].

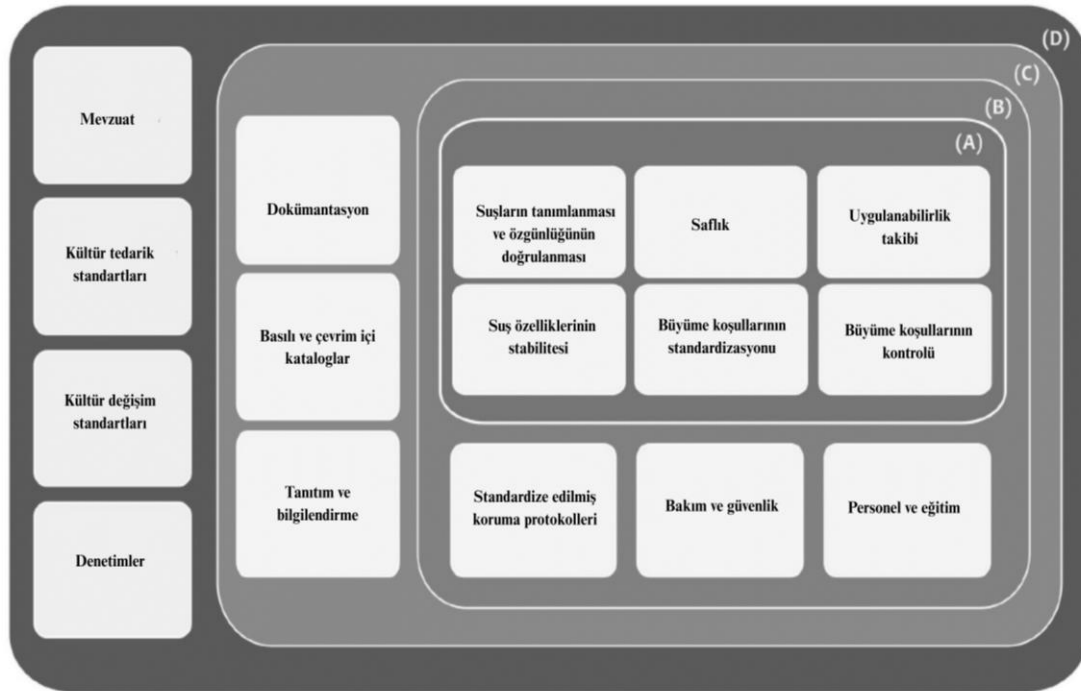
2.1.1. Mikrobiyel Kültür Koleksiyonları: Tarihçe ve Genel Çerçeve

Mikrobiyel çeşitliliğin keşfi ve kontrollü koşullarda korunması, modern mikrobiyolojinin doğuşuna öncülük eden en büyük bilimsel atılımlardan biri olmuştur. Bu atılımın temelleri, 19. yüzyılın sonlarında mikrobiyel saf kültür izolasyon tekniklerinin geliştirilmesiyle atılmıştır. 1878 yılında Britanyalı cerrah Joseph Lister ve 1881 yılında Alman hekim ve mikrobiyolog Robert Koch, saf kültürlerin elde edilmesine yönelik ilk tanımlamaları yaparak mikrobiyel çalışmalarda yeni bir dönemi başlatmışlardır. Bu

gelişmelerin arkasında, mikroorganizmalar üzerine yaptığı çığır açıcı çalışmalarla tanınan Fransız kimyager Louis Pasteur'ün katkıları da büyük rol oynamıştır [30].

Bu bilimsel birikimin üzerine inşa edilen ilk mikrobiyel kültür koleksiyonu, 1890 yılında Prag Alman Üniversitesi'nde Profesör Král tarafından kurulmuş; ilk suş kataloğu ise 1900 yılında yayımlanmıştır. Bu koleksiyon, sadece mikrobiyel suşların korunmasını değil, aynı zamanda araştırma ve endüstriyel kullanım için erişilebilir hale getirilmesini sağlayarak günümüz kültür koleksiyonlarının temelini oluşturmuştur [31].

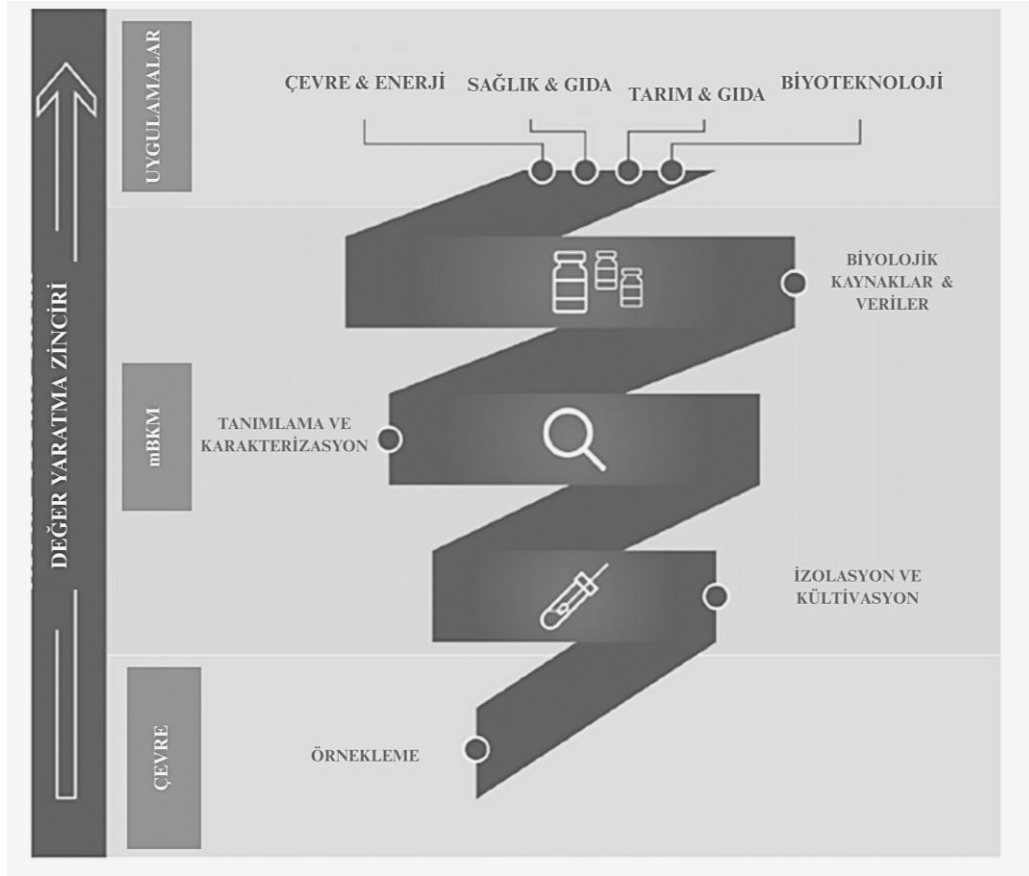
Mikrobiyel kültür koleksiyonları tarafından sunulan tüm hizmetlerin kalitesinin korunması ve yaygınlaştırılmasının sağlanmasına yönelik belirli gereklilikler dört kategoride Şekil 2.1.'de verilmiştir [25].



Şekil 2.1. Mikrobiyel kültür koleksiyonlarının kurulması ve sürdürülebilirliği için kategori ve gereklilikler: (A) Mikrobiyel kültürlerin karakterizasyonu ve özgünlük doğrulanması; (B) Protokollerin oluşturulması; (C) Bilgi ve kaynakların yaygınlaştırılması; (D) Politika ve standartlar [25, 32]

Uluslararası bir Kalite Yönetim Sistemi'ne (KYS) uygun çalışan ve Ekonomik Kalkınma ve İş birliği Örgütü (OECD) tarafından yayımlanan Biyolojik Kaynakların Korunmasına Yönelik En İyi Uygulama Rehberleri'ni takip eden kültür koleksiyonları (KK'ler), mikrobiyel Biyolojik Kaynak Merkezi (mBKM) statüsü kazanmaktadır.

Biyolojik Kaynak Merkezleri (BKM), biyolojik materyallerin ve bu materyallere ilişkin bilgilerin korunması, yönetimi ve araştırmacılara ulaştırılması amacıyla oluşturulan kurumsal yapılardır. Bu merkezler; mikroorganizmalar, bitki-hayvan-insan hücreleri, genomlar, plazmitler, virüsler, cDNA'lar gibi kültürlenebilir ve kültürlenemeyen biyolojik materyallerin yanı sıra, bu kaynaklara ilişkin moleküler ve biyoinformatik verileri de içeren geniş kapsamlı koleksiyonlardır. Şekil 2.2.'de hizmet kapsamını değer yaratma zinciri bağlamında ele alan akış şeması verilmiştir [31] .



Şekil 2.2. mBKM 'lerde izolatların eldesinden uygulamaya kadar değer yaratma zinciri [31]

1999 Tokyo Çalıştayı'nda geliştirilen BKM kavram, klasik kültür koleksiyonlarının ötesine geçerek, modern yaşam bilimleri ve biyoteknoloji altyapısının temel bir bileşeni hâline gelmiştir. Ancak, bu merkezlerin yalnızca çok azı bakteriyel, fungal, bitkisel ve hayvansal hücreler dahil olmak üzere geniş çeşitlilikte organizmaya erişim sağlayabilmektedir.

BKM'lerin karşılaştığı başlıca zorluklar arasında; genomik gelişmelerin hızına ayak uydurma, biyoçeşitliliği koruma çabaları, kalite güvencesi gereklilikleri, finansal

sürdürülebilirlik ve biyolojik kaynaklara erişimdeki yasal/etik kısıtlamalar yer almaktadır.

Sonuç olarak, biyolojik kaynaklara yönelik artan küresel talep karşısında, BKM'lerin sayısı ve kalitesinin artırılması, yaşam bilimlerindeki araştırma ve inovasyon süreçleri için kritik öneme sahiptir [31].

Araştırma çıktılarının tüm bilim camiasına açık hâle getirilmesi hedefi doğrultusunda, kültür koleksiyonları ve biyolojik kültür merkezleri, bilimsel materyal temini açısından birer Açık Bilim merkezleri olarak değerlendirilebilir [18]. Bu bağlamda, söz konusu yapılar yalnızca kaynak sağlayıcı değil, aynı zamanda yasal uygunluğun güvencesini sağlayan yapılardır. Çünkü dağıtım yapılan mikrobiyel suşların, Nagoya Protokolü gibi uluslararası düzenlemelere ve evrensel biyogüvenlik ve biyoemniyet protokollerine uygun olması zorunludur.

Bu biyolojik materyallere erişimin sağlanması; yeni çalışmaların teşvik edilmesi, bilimsel keşiflerin kolaylaştırılması ve deneysel sonuçların doğrulanabilirliğinin ve tekrarlanabilirliğinin güvence altına alınması anlamına gelmektedir. Kamuya açık kültür koleksiyonlarında depolanan suşlarla ilişkili yayınların artan atıf sayıları, biyolojik materyallere erişimin bilimsel yetkinliklerin gelişimi üzerindeki olumlu etkisini açıkça göstermektedir [17].

Sonuç olarak, kültür koleksiyonları ve mBKM'ler, mikrobiyel çeşitliliğin korunması, biyoteknolojik araştırmaların desteklenmesi ve sürdürülebilir bir biyoekonominin inşasında gelecekte daha da kritik rol oynayacak merkezlerdir [18].

2.1.2. Dünya'da Mikrobiyel Kültür Koleksiyonlarıyla ilgili Yapılanmalar

Kültür koleksiyonlarına dayalı iş birlikleri, canlı mikroorganizmaların kullanılması nedeniyle diğer iş birliklerinden ayrılır. Bu kültürler, ticari ürün geliştirme ya da patent başvurularında genetik kaynak olarak kullanılabilir. Bu bağlamda Budapeşte Antlaşması, mikroorganizmaların patent süreçlerinde uluslararası düzeyde tanınmasını ve depolama hakkının sahibinin fikri mülkiyet haklarının korunmasını sağlayan ilk yapılanmadır.

1993 yılında yürürlüğe giren Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi (CBD), biyolojik çeşitliliğin korunmasını, sürdürülebilir kullanımını ve genetik kaynaklardan elde edilen faydaların adil paylaşımını hedefleyen önemli bir kilometre taşıdır. Ancak, iş birliği süreçlerine ilişkin detaylar sözleşmede açıkça belirtilmemiştir.

Bu eksikliği gidermek üzere 2002’de kabul edilen Bonn Rehberi, ön bilgilendirilmiş onam (PIC) ve karşılıklı mutabakata dayalı şartlar (MAT) kavramlarını tanımlayarak, Erişim ve Faydaların Paylaşımı (ABS) sisteminin ilk çerçevesini oluşturmuştur. Parasal ve parasal olmayan faydaların paylaşımı da bu belgede ilk kez vurgulanmıştır.

Nagoya Protokolü, 2014 yılında kabul edilerek ABS konusundaki uluslararası düzenlemeleri daha da ileri taşımıştır. Protokol, ulusal temas noktaları üzerinden süreçlerin başlatılmasını, yerel mevzuata uygunluğu, teknoloji transferini ve fayda paylaşımı ilkelerini kapsamlı şekilde tanımlamaktadır.

Nagoya Protokolü’nün kabulünden sonra, araştırmacıların genetik kaynakları kullanırken yasal sorumluluklarını bilmeleri daha da önemli hâle gelmiştir [6].

Avrupa geneli bir yapılanmaya örnek olarak, Kasım 2018’de, MIRRI (Microbial Resource Research Infrastructure), mikrobiyel Biyolojik Kaynak Merkezlerini (mBKM) tek bir yasal çatı altında birleştirmek amacıyla Avrupa Birliği destekli bir Avrupa Araştırma Altyapısı Konsorsiyumu (ERIC) statüsü için başvuruda bulunması verilebilir. Bu yeni yapı, mutabakat zaptı imzalamış on Avrupa ülkesinden (Belçika, Fransa, Yunanistan, İtalya, Letonya, Polonya, Portekiz, Rusya, İspanya ve Hollanda) oluşmaktadır. Kurucu üyeler arasında Belçika, Fransa, Letonya, Portekiz ve İspanya yer alırken; Yunanistan, İtalya, Hollanda ve Polonya aday üye, Romanya ise gözlemci ülke konumundadır.

MIRRI-ERIC, bu ülkelerde faaliyet gösteren 50’den fazla mikrobiyel alanlı Biyolojik Kaynak Merkezi (mBRC), kültür koleksiyonu ve araştırma enstitüsünü bir araya getirmektedir. Yapılanma kapsamında, yönetsel işlevleri yürütecek olan Merkezi Koordinasyon Birimi (CCU) için mali desteğin üye ülkeler tarafından sağlanması beklenmektedir. Ayrıca her ülkenin, kendi ulusal araştırma topluluğuna hizmet vermek amacıyla birer Ulusal Düğüm (NN) kurması öngörülmektedir. CCU’nun işlevleri Avrupa düzeyinde açık biçimde tanımlanmışken, NN’ler esnek yapısıyla her ülkenin koşullarına göre şekillenebilmektedir [7, 8].

Dünya genelinde kültür koleksiyonu kurulması ve yönetimiyle ilgili ISO standartları Çizelge 2.1.’te verilmiştir.

Çizelge 2.1. İlgili ISO standartları

Standart	Kültür Koleksiyonlarıyla Doğrudan İlgisi	Kaynaklar
ISO 9001 – Kalite Yönetim Sistemi	Koleksiyon genelinde talep ve saklama süreçleri, risk temelli düşünme ve sürekli iyileştirme çerçevesi oluşturur; pek çok KK, ISO 9001’i “şemsiye” KYS olarak uygular.	[10]
ISO 20387 – Biyobankacılık: Genel Gereksinimler	Mikrobiyel materyal ve veri bütünlüğü, tarafsızlık ve yetkinlik için akreditasyon kılavuzu; KK’lerin mBKM statüsü kazanması için temel referanstır.	[11]
ISO 24088-1 Mikroorganizmaların Biobankacılığı (Bakteri/Arke)	ISO 20387’ye ek olarak bakteriler ve arkeler için saklama, geri kazanım ve biyoemniyet koşullarını tanımlar; tip suşların korunması ve güvenli dağıtımı için özel prosedürler sunar.	[11]
ISO 21710 – Veri Yönetimi (Mikrobiyel Kaynak Merkezleri)	Suş meta-verisinin tutarlı formatta tutulması, yayınlanması ve kalite kontrol akışlarını tanımlar; WDCM entegrasyonunu kolaylaştırır.	[24]
ISO 17034 – Referans Materyal Üreticileri	Tip suş veya DNA standardı üreten KK’lerin “sertifikalı referans materyal” sunabilmesi için teknik yeterlilik çerçevesi oluşturur.	[12]
ISO 21899 – İşlem Yöntemi Doğrulaması (Biyobankalar)	Saklama/işleme protokollerinin “amaç-uygun” olduğunu kanıtlama (örn. kriyoprotektan optimizasyonu) – validasyon & verifikasyon adımları içerir.	[13]
ISO/IEC 17025 – Laboratuvar Yeterliliği	KK bünyesindeki tanımlama veya kalite kontrol laboratuvarlarının (16S/ITS sekanslama, MALDI-TOF, biyokimya) analitik doğruluğunu belgeler.	[12]
ISO 14001 & 14004 – Çevre Yönetimi & Rehberi	Sıvı azot, enerji tüketimi, atık nutrient agar vb. çevresel etkilerin yönetimini standardize eder; 14004 uygulama tekniklerini detaylandırır.	[14]
ISO 19011 – Yönetim Sistemleri Denetim Rehberi	ISO 9001/20387/14001 bütünleşmiş KYS denetimlerini planlamak ve denetçi yetkinliği sağlamak için genel bilgiler içerir.	[15]

Dünya genelinde bazı kültür koleksiyonu yapılanmalarıyla ilgili örnekler aşağıda verilmiştir. DSMZ (Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültürü Koleksiyonu) ve ATCC (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu), dünya çapında en kapsamlı biyolojik kaynak merkezleri arasında yer almaktadır.

DSMZ, yaklaşık 85.000 biyolojik materyal içeren koleksiyonunda; 38.300 bakteri, 9.100 mantar suşu, 930 insan ve hayvan hücre dizisi, 910 bitki virüsü ve antiserumu, 1.200 bakteriyofaj ve 21.000 bakteri genomik DNA örneğini barındırmaktadır. Koleksiyona kabul edilen tüm materyaller kapsamlı kalite kontrollerinden geçirilmekte, fizyolojik ve moleküler düzeyde karakterize edilmekte ve ayrıntılı tanımlayıcı bilgilerle birlikte sunulmaktadır.İlgili kataloğa <https://www.dsmz.de/collection/> adresinden ulaşılabilir.

ATCC, 1925 yılında geleneksel bir kültür koleksiyonu olarak kurulmuş; bugün ISO standartlarıyla desteklenen bir kalite yönetim sistemiyle, yaşam bilimleri ve biyoteknoloji alanında önemli bir biyolojik kaynak merkezine dönüşmüştür. Dünyanın en geniş ve çeşitli insan ve hayvan hücre ürünleri koleksiyonuna sahip olan ATCC; mikrobiyel kültürler, moleküler araçlar ve biyolojik materyaller sunmanın yanı sıra, kültürlenme, kimlik doğrulama, türev geliştirme, yeterlilik testi ve materyal saklama gibi hizmetler de vermektedir. Kataloğa <https://www.atcc.org/> adresinden erişilebilir.

Brezilya'da yer alan kültür koleksiyonlarında altyapı, finansman ve insan kaynağı eksiklikler gibi temel sorunlar ulusal yapılanma önünde en büyük engeller olarak yer almaktadır. Brezilya'daki mikrobiyel koleksiyonların %58,34'ü 1000'den az suş içeren küçük ölçekli koleksiyonlar, %29,76'sı 1000–5000 arası, %9,5'i ise 5.000–50.000 arası suş içeren büyük ölçekli koleksiyonlar olarak sınıflandırılmaktadır. Güneydoğu bölgesinde yer alan bir koleksiyon ise 50.000'in üzerinde suş barındırmaktadır. Bu koleksiyonların %66,67'sinde koruma yöntemi olarak -80 °C'de kriyokoruma kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı koleksiyonlar, alt kültürlenme (%45,2), yağ içinde (%26,8) ve Castellani yöntemine dayalı olarak suda (%33,9) depolama gibi klasik yöntemleri tercih etmektedir [5].

Günümüzde Kore'de yer alan ve WDCM'de kayıtlı olan 27 mikrobiyel kültür koleksiyonu bulunmaktadır. Bu sayı ile Kore Cumhuriyeti, mikrobiyel suş sayısı bakımından dünya genelinde ilk on ülke arasında yer almaktadır. Bu koleksiyonlar farklı kurum ve kuruluşlarca desteklenmektedir. Kore'nin sahip olduğu kayda değer koleksiyon ve suş sayısına rağmen, bugüne dek bu koleksiyonları bir araya getiren resmî veya gayriresmî bir organizasyon yapılandırılmamıştır. Bu eksikliği gidermek amacıyla, Kore hükümeti 2021 yılında biyolojik kaynakların ve ilişkili verilerin daha etkin şekilde yönetilmesi için çok bakanlıklı bir proje başlatmıştır. Kore Cumhuriyeti'nde ilk kez ulusal düzeyde bir iş birliği ağı oluşturmak amacıyla, Temmuz 2023'te altı farklı bakanlığa bağlı dokuz ulusal kültür koleksiyonunun temsilcileri bir araya gelmiştir [33].

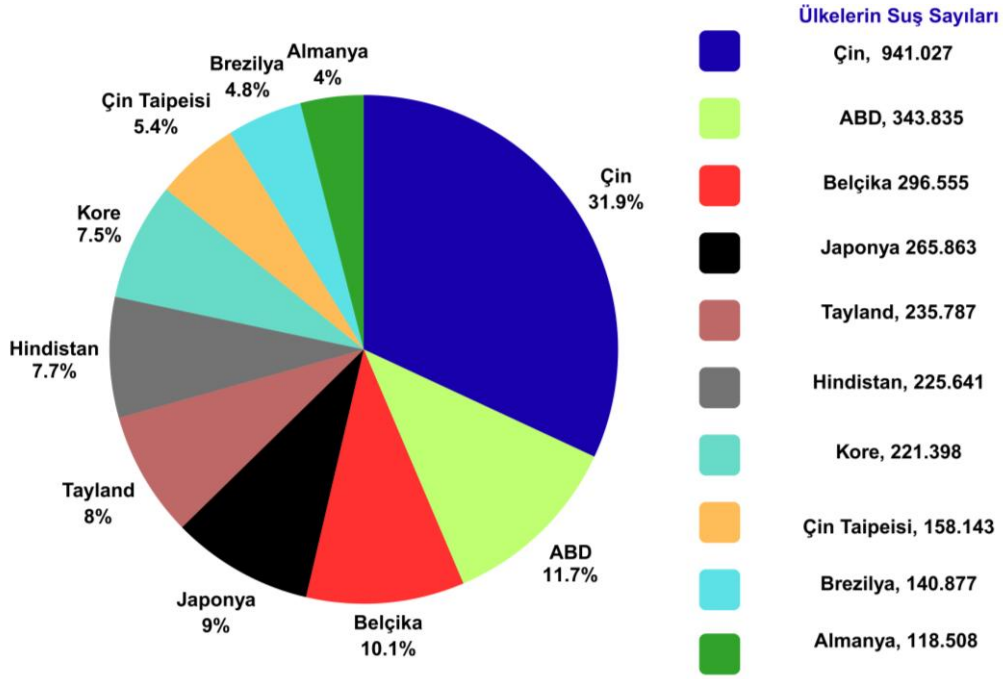
VKM Fungal Koleksiyonu (Tüm Rusya Mikroorganizma Koleksiyonu, Rusya), 1955 yılında kurulmuş olup fungal kültürlerin korunması ve depolanması konusunda uzun yıllara dayanan bir deneyime sahiptir. Filamentöz mantarlardan oluşan koleksiyon, hâlihazırda yaklaşık 5.000 suş içermektedir. VKM'de 40 yılı aşkın süredir muhafaza edilen 3.800'den fazla suş için kullanılan farklı koruma yöntemleri, özel olarak tasarlanmış bir veritabanı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu veritabanında, koruma

protokolleri, depolama koşulları, güvenilir saklama süresine ilişkin hesaplamalar, özel üreme gereksinimleri ve konuya ilişkin diğer bilgiler yer almaktadır. Bu bölümde sunulan veriler söz konusu veritabanından elde edilmiştir. Ayrıca, her bir suşa ait koruma yöntemlerine ilişkin bilgiler VKM kataloğunda (<http://www.vkm.ru/Catalogue.htm>) ilgili veri sayfasında da erişime açıktır [34].

Dünya Mikrobiyel Veri Merkezi (World Data Centre for Microorganisms, WDCM/CCINFO) verilerine göre, günümüzde 80 ülke ve bölgeden toplam 866 kültür koleksiyonu kayıt altına alınmıştır. Bu koleksiyonlar, toplamda 4.120.390 mikrobiyel suş içermektedir. Şekil 2.3'te 23.07.2025 tarihi itibarıyla WDCM'de yer alan en çok suş bulunduran ilk on ülkeye ait istatistikler verilmiştir. Çizelge 2.2. ise mikrobiyel kültür koleksiyonlarının ve barındırdıkları suşların kıtalara göre dağılımını 23.07.2025 tarihli verileriyle göstermektedir [16].

Çizelge 2.2. Kıtalar, ülkelere ve bölgelere göre WDCM'ye kayıt istatistikleri

Kıta	Kültür Koleksiyonları Sayısı (adet)	Kültür Sayısı (adet)	Ülke & Bölge (adet)
Afrika	27	21,548	9
Amerika	218	625,355	11
Asya	21	2,238,751	21
Avrupa	279	1,244,644	34
Okyanusya	42	127,304	4



Şekil 2.3. Güncel WDCM verilerine göre dünyada en çok suş bulunduran 10 ülke [17]

2.1.3. Türkiye’de Kültür Koleksiyonları

Türkiye’de WDCM veritabanına kayıtlı 19 kültür koleksiyonu, üniversitelerden araştırma merkezlerine ve ulusal tip kültür koleksiyonlarına kadar geniş bir temsil sunmaktadır. Çizelge 2.3, her bir koleksiyonun kısaltmasını, WDCM numarasını ve adını listelenerek, farklı mikroorganizma grupları (bakteri, aktinomiset, mikroalg ve hücre kültürleri) üzerine uzmanlaşan enstitüleri gösterilmektedir.

Çizelge 2.3. WDCM'ye kayıtlı türkiye'de yer alan kültür koleksiyonları [17]

Kısaltma	WDCM No	Koleksiyon Adı	Suş Sayısı
RSKK	WDCM 1317	Refik Saydam Kültür Koleksiyonu	1030
RSKK	WDCM 828	Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu-RSKK	876
ACCBS	WDCM 1290	Adana Bacillus Suşları Kültür Koleksiyonu	120
ABSCC	WDCM 1288	Adana Bacillus Suşları Kültür Koleksiyonu	120
ACTINOC	WDCM 952	Ege Üniversitesi Aktinomisit Kültür Koleksiyonu	1156
ASYA	WDCM 1267	Antarktika Mikroalg Araştırmaları	120
EGE-MACC	WDCM 845	Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonu	43
EUCC	WDCM 1202	Erciyes Üniversitesi Kültür Koleksiyonu	1341
HUFCC	WDCM 1325	Hacettepe Üniversitesi FoodOmics Kültür Koleksiyonu	85
HUKUK	WDCM 756	Hayvan Hücreleri Kültür Koleksiyonu	89
KUKENS	WDCM 101	Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi	1250
MAKU-MACC	WDCM 1256	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üni. Mikroalg Kültür Koleksiyonu	85
MCAS	WDCM 1276	Su Bilimleri Mikroalg Koleksiyonu	187
MRC	WDCM 800	TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Kültür Koleksiyonu	2053
MU	WDCM 833	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Mikrobiyel Koleksiyonu	357
PUFECC	WDCM 1019	Pamukkale Üniversitesi Gıda Müh. Kültür Koleksiyonu	250
Soley	WDCM 979	Mikroalg Kültür Koleksiyonu	-
SUFAKM	WDCM 981	SUFAK Bakteri Koleksiyonu	245
TMCC	WDCM 1319	Türkiye Mikrobiyel Kültür Koleksiyonu *	1010
Türkiye'de Mikrobiyel Kültür Koleksiyonlarında Yer Alan Kayıtlı Suş Sayısı			10400

*Yıldız Teknik Üniversitesi'ne ait kültür koleksiyonudur

2.1.4. Mikrobiyel Kültür Koleksiyonu Kurmanın Zorlukları

Günümüzde mikrobiyel kültür koleksiyonları, yalnızca mikroorganizmaların korunup dağıtıldığı yapılar olmanın ötesine geçerek; biyogüvenlikten veri yönetimine, yasal uyumluluktan teknolojik gelişmelere kadar çok boyutlu sorumluluklar üstlenmektedir. Bu yapılar, ulusal ve uluslararası mevzuata uyum sağlama (ör. Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi ve Nagoya Protokolü), kalite yönetim sistemlerinin entegrasyonu, FAIR veri ilkelerine uygun dijital altyapıların kurulumu, nitelikli personel ve teknik kapasitenin sürekli geliştirilmesi, paydaş ihtiyaçlarına cevap verebilecek güncel uygulamaların yürütülmesi ve uzun vadeli finansal sürdürülebilirliğin sağlanması gibi zorluklarla karşı karşıyadır. Bu çok katmanlı ihtiyaçlara etkili şekilde yanıt verebilmek için, bir kültür

koleksiyonunun kurulması ve sürdürülebilir biçimde işletilmesi altı temel gereklilik üzerine inşa edilmelidir. Bu gereklilikler Şekil 2.4.'te verilmiştir [6, 18].



Şekil 2.4. Kültür koleksiyonu kurulmasında 6 temel gereklilik [5, 18]

Kültür koleksiyonları kamu ya da özel sektöre ait olabilir ve basit işletmelerden ISO 9001 gibi akredite kalite yönetim sistemlerine kadar farklı seviyelerde çalışabilir. Minho Üniversitesi Mikoteka Koleksiyonu (MUM), ISO 9001 uyumlu KYS'yi benimseyerek küçük ölçeğine rağmen yeni suş başvuruları ve projelerle büyümeye devam etmektedir; bu konuda nitelikli personelin katkısı büyüktür. Belgelendirme için etkin bir KYS'in varlığı, süreç uyumluluğunun kanıtlanması ve kritik risk noktalarına yönelik önleyici tedbirler şartken; akreditasyon, ekipman kalibrasyonu, çevresel izleme, yöntem doğrulama ve tarafsız teknik yeterlilik gibi ek yükümlülükler getirmektedir. Küçük koleksiyonlar; personel eksikliği ve finansal kısıtlar nedeniyle bu gereklilikleri yerine getirmekte zorlandığı için büyüme ve gelir artışı ancak dış fon desteği ve akreditasyonun tamamlanmasıyla mümkün hale gelebilir [19].

2.2. Mikrobiyel Karakterizasyon ve Taksonomi

2.2.1. Mikrobiyel Karakterizasyon ve Taksonomi için Tarihsel Perspektif

Mikrobiyel karakterizasyon ve taksonomi için tarihsel perspektif aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

- 1676, Antonie van Leeuwenhoek: “Animalculum” adıyla ilk mikroorganizma gözlemlerini Royal Society’ye raporlayarak modern mikrobiyolojinin temellerini atmıştır [35].
- 1753–1758, Carl Linnaeus: Species Plantarum ve Systema Naturae’da ikili adlandırma sistemini geliştirerek biyolojik sınıflandırmanın temelini oluşturmuştur [36].
- 1828, Christian G. Ehrenberg: “*Bacterium*” cins adını tanıtmıştır; daha sonra bu gruptaki organizmalar farklı çubuk bakteri cinslerine ayrılmıştır. Resmi taksonomide 1950’lerde geçerliliğini kaybetmiştir [37].
- 1870 Ferdinand Cohn: Bakteriyolojinin sistematığı, çubuk, kok, spiral ve ipliksi formlarla ve *Bacillus* sporlarını tanımlamasıyla şekillenmiştir [38].
- 1883, Emil C. Hansen: Carlsberg Laboratuvarı’nda saf maya izolasyonunu gerçekleştirdi; *Saccharomyces cerevisiae* ve *S. carlsbergensis* tür kavramlarını netleştirerek endüstriyel mikrobiyolojiyle taksonomiye birleştirilmiştir [39].
- 1923–günümüz, Bergey’s Manual: 1923’te Determinative Bacteriology ile başlayan; 1984–1989’da Systematic Bacteriology ciltleri, 2001–2012’de ikinci baskı ve 2015’ten itibaren dijital “Systematics of Archaea and Bacteria” olarak güncellenen seri, 16S rRNA, ANI ve GTDB tabanlı filogenomik verilerle prokaryot taksonomisinin başvuru kaynağıdır. Son değerlendirmelerde (2023–2025), genom merkezli yöntemlerin tür sınırlarını yeniden tanımladığı vurgulanmaktadır [40].

2.2.2. Mikrobiyel Karakterizasyon Yöntemleri

2.2.2.1 Klasik Fenotipik–Kemotaksonomik Testler

Mikroskobik incelemede hücrelerin şekli (kok, basil, spiral), dizilişi ve Gram boyama özellikleri, makroskobik incelemede ise koloni rengi, şekli ve kenar düzeni değerlendirilir. Biyokimyasal testler kapsamında glukoz fermentasyonunda saf kültür

glukozlu besiyerinde inkübe edilerek gaz üretimi (Durham tüpü) ve asit oluşumu (pH indikatörü ile) izlenirken, katalaz testi %3 H₂O₂ damlatılan kolonide kabarcık oluşumu üzerinden pozitifliği gösterir. Ayrıca GC-FID ile hücre duvarı ve membran yağ asitleri, metil esterlerine dönüştürülüp kromatografide ayrılarak elde edilen FAME profilleri referans kütüphanelerine göre tanımlanır [41, 42].

2.2.2.2 MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS (Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon & Zaman-uçuş Kütle Spektrometrisi), mikrobiyel peptidlerin önce matriks yardımıyla iyonize edilip ardından kütle-yük (m/z) oranlarına göre ayrılmasına dayanır. Elde edilen spektrumlar, kapsamlı referans kütüphaneleriyle karşılaştırılarak mikroorganizmaların genellikle türe dek hızlı ve güvenilir biçimde tanımlanmasını sağlar. Bu yöntem, geleneksel biyokimyasal testler veya DNA dizileme gereksinimini ortadan kaldırır ve kültür elde edildikten sonra dakikalar içinde sonuç verir [43].

2.2.2.3 Moleküler Barkodlama

Moleküler barkodlama, tür tanımını genetik imza düzeyine taşıyarak kısa, standart DNA bölgesi dizilerinden yararlanır. Bu yöntemle, örnekten izole edilen DNA'ya özgü primerler uygulanıp bölge dizilendikten sonra referans kütüphaneleriyle eşleştirilerek hızlı ve güvenilir tür tayini yapılır. Tür düzeyinde oluşturulan konsensüs diziler, aynı türe ait bireyler arasındaki varyasyonu değerlendirerek referans bankalarında tutarlı bir imza sağlar; bu sayede yanlış eşleşmeler azalır ve tanımlama güvenilirliği artar. Mikrobiyel ekoloji, epidemiyoloji ve biyogüvenlik çalışmalarında, yüksek verimli örnek takibi ve yeni suş keşifleri için ideal bir araçtır [44-47] .

2.2.2.4 Filogenetik Analiz

Güncel filogenetik analiz çalışmaları üç basit adımda değerlendirilebilir :

- Çoklu dizi hizalama,
- En uygun modelle güvenilir ağaç çizimi
- Sağlam destek ölçüleriyle anlaşılır görselleştirme.

Aşağıdaki her adımda en çok kullanılan yazılımları ve temel kavramları özetlenmektedir.

Çoklu Dizi Hizalama ve Kontrolü

Filogenetik analizlerin doğruluğu, homolog pozisyonları koruyan güvenilir çoklu dizi hizalamalarına bağlıdır. Bu amaçla geliştirilen MAFFT (v7), on binlerce diziye kısa sürede hizalayabilmektedir. Alternatif olarak, MUSCLE v5 da ortalama olarak yüksek doğrulukta hizalamalar sunmaktadır [48, 49].

Hizalamanın yalnızca teknik olarak oluşturulması değil, aynı zamanda kalitesinin değerlendirilmesi de önemlidir. Guidance2, her pozisyon için hizalama güven skorları üreterek düşük güven düzeyine sahip bölgelerin filtrelenmesine olanak tanır. Böylece, filogenetik ağaç oluşturulmasında doğruluğu ve biyolojik temsili artırılmış olur [50].

Ağaç Oluşturulması (MEGA / RAXML / IQ-TREE)

Ağaç oluşturma işlemi, veri setinin boyutuna ve ihtiyaca göre farklı araçlarla yürütülür. MEGA 11'in grafiksel arayüzü, küçük (≤ 200 dizi) eğitim veri setlerinde tek tıklamayla Neighbor-Joining (NJ) ve Maximum Likelihood (ML) yöntemlerini karşılaştırmaya imkân tanır; NJ mesafe matrisine dayandığı için çok hızlıdır, ancak model parametrelerini hesaba katmadığından sonuçlardaki sapmalara dikkat etmek gerekir. ML yöntemleri ise modellerin sunduğu parametreleri kullanarak dal uzunluğu hatalarını minimize eder ve MEGA içinde NNI veya SPR optimizasyon seçenekleri ile hem nükleotid hem de protein verilerinde yaygın tercih oluşturur. Veri seti büyüdükçe grafiksel ML analizleri hesap yükü nedeniyle zorluk çıkarır; bu aşamada RAXML-NG v1.2 ve IQ-TREE 2.3 devreye girer. RAXML-NG, çok çekirdekli paralel işlem ile hız kazancı sağlarken, IQ-TREE'nin ModelFinder modülü (-m MFP) AIC ve BIC kriterleriyle ≥ 200 ikame modelini otomatik değerlendirerek yanlış model seçimine bağlı topoloji sapmalarını en aza indirir. Analizlere başlangıç olarak sıklıkla Jukes–Cantor (JC) veya Kimura 2P (K2P) gibi basit modeller uygulanır; elde edilen ağaçlar daha sonra GTR gibi ModelFinder tarafından seçilen karmaşık modellerle güncellenerek güvenilirlik ve biyolojik tutarlılık artırılır [51-53].

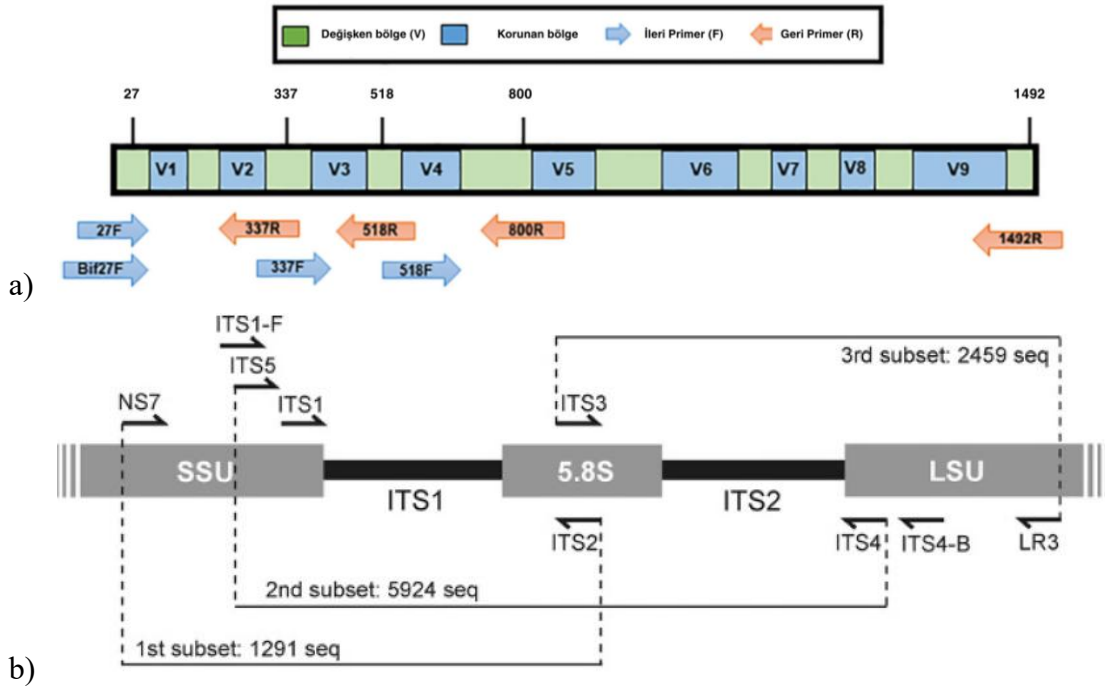
Ağaç Güven Ölçütleri ve Görselleştirme (FigTree / iTOL)

Ağaç görselleştirme hem sonuçların daha hızlı yorumlanmasını sağlar. FigTree, yerel bir uygulama olarak kullanıcıya kökleme, dal genişlikleri, etiketler ve ölçek çizgileri üzerinde tam kontrol sunar; ağaç figürleri PDF veya SVG olarak dışa aktarılabilir ve yayına hazır şekilde düzenlenebilir. iTOL ise web tabanlı etkileşimli bir platformdur;

renkli/aralık tabanlı dataset'ler, ısı haritaları ve meta-veri katmanları ekleyerek büyük ağaç kümelerini dinamik olarak işleyebilir ve paylaşımı kolaylaştırır. Görselleştirme, dal uzunluklarının (substitutions/site) evrimsel hız farklılıklarını nicelendirmenin yanı sıra, bootstrap destek değerlerinin anlamlı eşiklerle (%70 güvenilir, %95 çok güçlü) vurgulanmasını sağlar; bu sayede analiz güveni ve biyolojik yorum netliği artar [51, 54].

2.2.2.5. Genomik Yöntemler

Sanger dizileme tabanlı bakteri ve fungus tanımlamalarında bakteriyel analizlerde yaygın olarak kullanılan evrensel 16S rRNA primer çiftlerine 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' ve 1492R 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3 örnek olarak verilebilir. Analizde çoğaltılan bölgede, korunumlu bölgeler (conserved regions) evrensel primerlerin hedeflenmesine imkân tanırken, V1–V9 olarak adlandırılan dokuz hiper değişken bölge (V-regions) taksonomik çözünürlüğü artırır. Fungus toplulukları için ise ITS1 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' ve -ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' gibi internal transcribed spacer (ITS) bölgesine özgü evrensel primerler tercih edilir; ITS bölgesi, iki hiper değişken segment (ITS1, ITS2) ile bunları ayıran 5.8S rRNA geninden oluşur ve türler arasında yüksek varyasyon sunarak güvenilir DNA barkodlama imkânı sağlar Şekil 2.5'te bakteri ve funguslar için tercih edilen gen bölgeleri ve kullanılan primerler gösterilmiştir. Tür düzeyinde tanımlamaların güçlendirilmesi amacıyla çoklu gen bölgesi dizileme kullanılabilir. Bu bağlamda, laktik asit bakterilerinde (LAB) 16S rRNA genine ek olarak *rpoA* ile *hsp60*, *recA*, *pheS*, *rpoB*, *gyrB* ve *tuf* genleri, tür ve alt tür düzeyinde tanımlama ile filogenetik çözünürlüğü artıran önemli belirteçler olarak kullanılmaktadır [55]. Bununla birlikte prokaryotların filogenetik konumunu değerlendirmek için en sık kullanılan yöntem, 16S rRNA gen dizisinin karşılaştırılmasıdır [56]. Sonuç olarak, 16S rRNA gen dizilemesi, bakteri filogenetiği, tür düzeyi taksonomik tanımlama ve güncel mikrobiyom çalışmaları için yaygın biçimde kullanılan bir yaklaşımdır [57].



Şekil 2.5. Bakteri ve funguslarda Sanger dizilemede kullanılan gen bölgeleri (a) Bakterilerde yer alan 16S rRNA bölgesi; (b) Funguslarda yer alan ITS bölgesi [58, 59]

Sanger dizileme sonucunda elde edilen yüksek kalitedeki diziler, tür tanımlamalarını destekleyecek şekilde NCBI BLAST gibi veritabanlarında sorgulanır. BLAST algoritması, referans veritabanındaki homolog dizilerle benzerlik skorları (% identity, e-value) üzerinden en uygun eşleşmeyi belirler ve örneğin muhtemel türü veya yakın akrabalarını rapor eder. Bu sayede hem bakteriyel hem de fungal örneklerin moleküler tanımlaması, korunumlu bölge primer tasarımının hassasiyeti ve hiperdeğişken bölgelerin taksonomik ayırt ediciliği sayesinde klasik fenotipik yöntemlere kıyasla daha hassas ve geniş kapsamlı bir yaklaşımla gerçekleştirilir [60-62].

2.2.2.6 Genetik Polimorfizm

Popülasyon genetiğinde haplotip sayısı (h), bir popülasyondaki benzersiz dizi dizilimlerinin (haplotiplerin) toplamını ifade eder ve genetik çeşitliliğin doğrudan bir göstergesidir. Haplotip çeşitliliği (Hd) ise bu haplotiplerin popülasyona ne ölçüde yayılmış olduğunu ölçer; 0 ile 1 arasında değişir ve 1'e yaklaştıkça bireylerin farklı haplotiplere sahip olma olasılığı artar [63]. Nükleotit çeşitliliği (π), popülasyondaki tüm birey çiftleri arasındaki ortalama nükleotit farklılık sayısını (substitutions/site) verir ve gen havuzunun ne kadar zengin olduğunu gösterir; düşük π değerleri genetik darboğaz

veya küçük etkili popülasyon büyüklüğüyle ilişkilendirilir [64]. DNAsp yazılım paketi, bu temel parametreler yanı sıra Segregating sites (S), Tajima's D, Fu's Fs gibi nötralite testlerini de hesaplayarak popülasyonun evrimsel geçmişine dair ipuçları sunar. SNP bazlı çalışmalar için oluşturulan SNP matrisi, her bireydeki her pozisyonun alel durumunu gösterir; bu matris hem haplotip tanımlama hem de daha ileri yapısal analizler için girdi oluşturmaktadır [65] .

2.2.3 HUFCC Suşlarının Güncel Taksonomik Statüsü

Genomik başta olmak üzere farklı yöntemlerle mikroorganizmaların taksonomisindeki değişiklikler Şekil 2.6.'da verilen 6 temel başlığa bağlı olarak kültür koleksiyonlarının yapısını etkilemektedir [7].



Şekil 2.6. Taksonominin kültür koleksiyonlarındaki rolü [25, 26, 66]

HUFCC koleksiyonundaki maya ve laktik asit bakterisi suşlarının taksonomisi, 2020'den itibaren bugünkü halini almıştır. Sonraki bölümlerde maya ve bakteri suşlarının güncel taksonomik durumu ve sınıflandırılması verilmiştir.

2.2.3.1 Maya Suşları

HUFCC’de yer alan maya suşlarına ait taksonomik sınıflandırma Çizelge 2.4.’te verilmiştir. Taksonomik değerlendirme özeti, tür bazında verilmiştir [67].

- *Saccharomyces cerevisiae* – Tür adı 19. yüzyıldan beri korunur; güncel çalışmalar yalnızca bira-ve şarap kökenli alt-kladları tanımlar. – Bu kararlı ad, *Saccharomycetes* → *Saccharomycetaceae* hattıyla uyumludur.
- *Metschnikowia pulcherrima* – Eski tür adı *Candida/Torulopsis pulcherrima* olup tür hâlen *Metschnikowia* cinsinde geçerlidir; yakın akraba *M. fructicola* 2001’de ayrılmıştır [68].
- *Wickerhamomyces anomalus* – 2008’de *Pichia anomala*’dan *Wickerhamomyces* cinsine taşınmıştır; 2024 tarihindeki inceleme bu konumu doğrulamıştır [69].
- *Priceomyces carsonii* – 2010’da *Pichia carsonii* basioniminden *Priceomyces* cinsine transfer edilmiştir [70].
- *Naganishia uzbekistanensis* – *Cryptococcus uzbekistanensis* türü 2015–2020 arasında çok-lokus filogenisiyle *Naganishia* kladına taşınmıştır [71].
- *Solicoccozyma aerea* – ITS, TEF-1α ve RPB1 gen bölgelerinin çoklu lokus filogenetik analizleri, *Cryptococcus aerius*’un *Tremellomycetes*’te ayrı bir klada yer aldığını göstererek türü *Solicoccozyma* cinsine taşımıştır [72].
- *Hanseniaspora uvarum* – Anamorfu *Kloeckera apiculata* olup 2021’de “uvarum kompleksi” sınırları netleştirilmiş, tür adı değişmemiştir [73].

Çizelge 2.4. HUFCC’de yer alan maya suşlarının taksonomik sınıflandırılması [74]

Suş Adı	Alan (Domain)	Şube (Phylum)	Sınıf (Class)	Takım (Order)	Aile (Family)	Cins (Genus)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Eukaryota	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Eukaryota	Ascomycota	Pichiomyces	Seriales	<i>Metschnikowiaceae</i>	<i>Metschnikowia</i>
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Eukaryota	Ascomycota	Saccharomycetes	Phaffomycetales	<i>Wickerhamomycetaceae</i>	<i>Wickerhamomyces</i>
<i>Priceomyces carsonii</i>	Eukaryota	Ascomycota	Pichiomyces	Seriales	<i>Debaryomycetaceae</i>	<i>Priceomyces</i>
<i>Naganishia uzbekistanensis</i>	Eukaryota	Basidiomycota	Tremellomycetes	Filobasidiales	<i>Filobasidiaceae</i>	<i>Naganishia</i>
<i>Solicoccozyma aerea</i>	Eukaryota	Basidiomycota	Tremellomycetes	Filobasidiales	<i>Piskurozymaceae</i>	<i>Solicoccozyma</i>
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Eukaryota	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycodales	<i>Saccharomycodaceae</i>	<i>Hanseniaspora</i>
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Eukaryota	Ascomycota	Dipodascomycetes	Dipodascales	Dipodascales incertae sedis	<i>Yarrowia</i>

2.2.3.2 Bakteri Suşları

HUFCC’de yer alan bakteri suşlarına ait taksonomik sınıflandırma Çizelge 2.5.’te verilmiştir. Taksonomik değerlendirme özeti, tür bazında verilmiştir [75-78].

- *Limosilactobacillus fermentum* – 2020 revizyonu ile *Lactobacillus fermentum* tür adı *Limosilactobacillus* cinsiyle güncellenmiştir.
- *Lacticaseibacillus rhamnosus* – *Lactobacillus rhamnosus*, yeni oluşturulan *Lacticaseibacillus* cinsine taşınmıştır.
- *Lacticaseibacillus paracasei* – Aynı revizyon kapsamında *Lactobacillus paracasei*, *Lacticaseibacillus* cinsi altına alınmış ve bu nomenklatür değişikliği resmen onaylanmıştır.
- *Levilactobacillus brevis* – *Lactobacillus brevis*, 2020'deki taksonomik yeniden yapılandırmada *Levilactobacillus* cinsine aktarılmıştır.
- *Lactobacillus helveticus* – Genomik analizler sonucunda, *Lactobacillus helveticus*’un mevcut *Lactobacillus* cinsi içinde kalması uygun görülmüş; adı değiştirilmemiştir.
- *Pediococcus pentosaceus* – Tür adı değişmemiştir ve güncel *BacDive*–DSMZ veritabanında 09 Aralık 2024 tarihiyle LPSN güncellemesi yer almaktadır; birden çok tip suş erişimi listelenmiş, ancak nomenklatürde bir değişiklik yapılmamıştır [79].
- *Lactococcus lactis* – 1985’te *Streptococcus lactis*’ten ayrı cins olarak tanımlanmış; bu konum 2023 GTDB sürümüyle teyit edilmiştir [80].
- *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* – Her ikisi de 1984’te “grup D streptokoklar”dan *Enterococcus* cinsine taşınmış; 2023 filogenomik analizleri bu yerleşimi desteklemiştir [80].

Çizelge 2.5. HUFCC’de yer alan bakteri suşlarının taksonomik sınıflandırılması [74]

Suş Adı	Alan (Domain)	Şube (Phylum)	Sınıf (Class)	Takım (Order)	Aile (Family)	Cins (Genus)
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Limosilactobacillus</i>
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lacticaseibacillus</i>
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lacticaseibacillus</i>
<i>Levilactobacillus brevis</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Levilactobacillus</i>
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Pediococcus</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i> <i>subsp. lactis</i>	Bacteria	Actinomycetota	Actinomycetes	Bifidobacteriales	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Bacteria	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>

2.3. Mikrobiyel Çeşitliliği Koruma Metodolojileri

Mikrobiyel çeşitliliğin korunması için üç temel strateji uygulanmaktadır. Bunlar aşağıda sıralanmaktadır [20]:

Yerinde koruma (*in situ*), mikrobiyel popülasyonların doğal ekosistem ve habitatlarında korunmasını ifade eder ve Çevresel Biyoçeşitlilik Sözleşmesi (CBD) tarafından da en uygun yöntem olarak tanımlanmıştır. Bu metodoloji, türlerin doğal ortamlarında sürdürülebilir biçimde varlığını sürdürmesini sağlar [21].

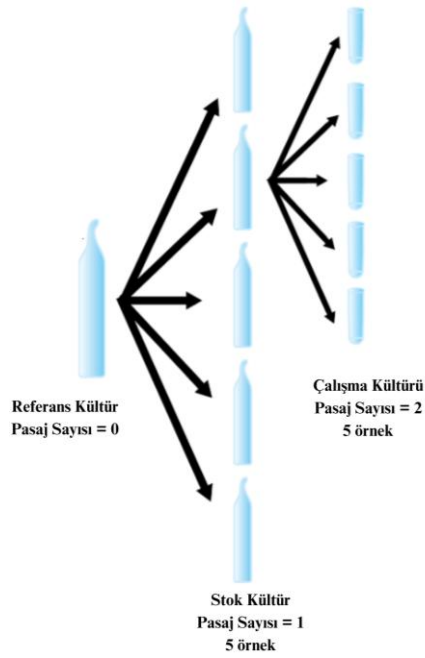
Dış ortamda koruma (*ex situ*) ise mikroorganizmaların suni koşullar altında depolanması ve kültür koleksiyonlarında çoğaltılması yoluyla gerçekleştirilen çalışmaları kapsar. Ex situ koruma, dünya genelinde kültür koleksiyonlarının temel çalışma metodolojilerinden olmuş ve suşların genetik çeşitliliğini yapay ortamda sürdürmeye olanak tanımıştır. Bu yöntem hem bu koleksiyonların değerini artırır hem de ekosistemlerden izole edilen önemli mikrobiyel türlerin uzun ömürlü korunmasını sağlar.

Fabrika içi koruma (*in factory*) ise tarımsal ve endüstriyel işletmelerin kendi üretim süreçleri içinde uyguladığı ara bir koruma biçimidir. Bu yaklaşım, özellikle agro-endüstriyel sektörün kullandığı, üretim hattında veya üretim tesisinde biyoteknolojik olarak önemli suşların sürekli hazır tutulmasını amaçlar.

2.3.1. Mikrobiyel Kültürlerde Pasajlama

Canlı bir kültürden alınan mikroorganizmaların taze ortama aktarılması ve burada yeniden çoğaltılması işlemi pasajlama olarak tanımlanır. Alt kültürleme pasajlama olarak kabul edilir. Pasaj sayısı yükseldikçe fenotipik varyasyon, genetik sürüklenme ve kontaminasyon riski artar; bu nedenle laboratuvarlarda referans kültürlerden beşten fazla pasaj uzaklıktaki çalışma kültürlerinin kullanılması önerilmez. Pasajlamaya yönelik örnek uygulama Şekil 2.7.'de verilmiştir.

Sertifikalı referans materyali temin edildiğinde laboratuvar maliyetleri düşürmek amacıyla bu suştan doğrudan inokulum süspansiyonları hazırlanabilir. Bununla birlikte, ileride tekrar kullanılabilir bir referans stoğu oluşturmak için ilk olarak temin edilen CRM (Sertifikalı Referans Materyal)'den uygun bir yöntemle referans stok hazırlanmalıdır.

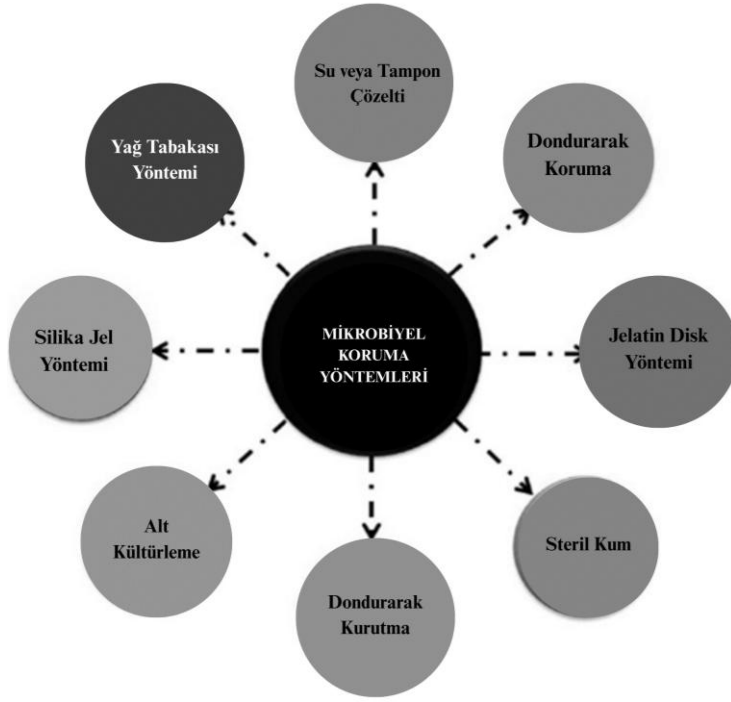


Şekil 2.7. Pasajlama metodolojisi

Laboratuvarlar genellikle bir defa inokulum süspansiyonu hazırlamak yerine, önce referans stoktan stok kültür oluşturup ondan çalışma kültürleri alt kültürlemeyi tercih eder; bu nedenle temin edilecek CRM (Sertifikalı Referans Materyal) 'in orijinal referans kültürden 1–2 pasaj uzak olması, çalışma kültürünün en fazla beş pasajda kalmasını sağlayarak USP (Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi) kriterine uymayı tercih etmektedir [81, 82].

2.3.2. Kısa ve Uzun Süreli Muhafaza Yöntemleri

Mikrobiyel çeşitliliğin korunması, her ne kadar temel stratejiler (*in situ*, *ex situ*, *in factory*) benzer olsa da farklı tür ve suşların morfolojik ile fizyolojik özelliklerine bağlı olarak çeşitli koruma yöntemleri kullanılmaktadır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan sekiz yöntem hem laboratuvar hem de büyük kültür koleksiyon merkezlerinde kullanılır ve her birinin kendine özgü avantajları ile sınırlamaları vardır. Şekil 2.8.'de bu yöntemler verilmiştir [20].



Şekil 2.8. Mikrobiyel çeşitliliği koruma yöntemleri [20]

Mikrobiyel kültürlerin korunmasında dondurarak kurutmanın (liyofilizasyon) yanı sıra pek çok alternatif yöntem de kullanılmaktadır. Bu yöntemler ve koruma süresi Çizelge 2.6.'da verilmiştir. Kısa süreli ve düzenli kullanım için agar plakları ve saplama kültürleri (4 °C) yaygın tercih edilir; agar plakları kalitatif incelemeler için idealken, stab kültürler örnek taşıma kolaylığı sağlar. Derin dondurma (–20 °C ila –80 °C) ise gliserol veya DMSO gibi kriyoprotektanlarla birlikte uygulandığında hücre içi buz kristallerinin zararını en aza indirir. Mineral yağ altında yatık agarda yer alan kültürlerinin depolanması, oksidatif stresi azaltarak suşların canlılığını korur; silika jel veya steril kum gibi katı destek malzemeleri ise nem dengesini kontrol ederek kültürlerin stabilitesini uzatır. Ayrıca tampon çözeltiler ve steril su, geçici canlı tutma ve suş transferleri sırasında etkili çözümler sunar. Bu yöntemlerin seçimi, suşun biyolojik özelliklerine, kullanım amacına ve tesis altyapısına bağlı olarak değişkenlik gösterir [22].

Çizelge 2.6. Koruma yöntemleri ve koruma süresi [22]

Koruma Yöntemi	Sıcaklık (°C)	Süre (yaklaşık)
Agar plakları	4	4–6 hafta
Saplama kültürleri	4	3 hafta –1 yıl
Standart dondurucu	–20	1–3 yıl
Ultra düşük sıcaklık dondurucusu	–80	1–10 yıl
Dondurarak kurutma	≤ 4	> 15 yıl

2.3.2. Kùltür Koleksiyonlarında Tercih Edilen Muhafaza Yöntemleri

Uluslararası kùltür koleksiyonlarında, bakteriyel ve fungal suşların uzun süreli stabilitesini ve metabolik özelliklerini korumak için öncelikle dondurarak kurutma yöntemi tercih edilmektedir. Bunun yanında, kriyojenik korumada gliserol stokları suşların -80°C 'de dondurularak korunmasında altın standart olarak kabul edilir; gliserol, hücre zarlarını stabil tutarak buz kristallerinin yol açtığı hasarını azaltmaktadır. Bu iki yöntem, kùltür koleksiyonlarında fenotipik değışim ve genetik sürüklenme riskini en aza indirmek için kritik öneme sahiptir; çalışmalar, her iki yaklaşımın da yüksek canlılık ve biyolojik çeşitliliğin korunmasında etkin olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca dünya genelinde bu yöntemi kullanan kùltür koleksiyonları Çizelge 2.7.'de verilmiştir.

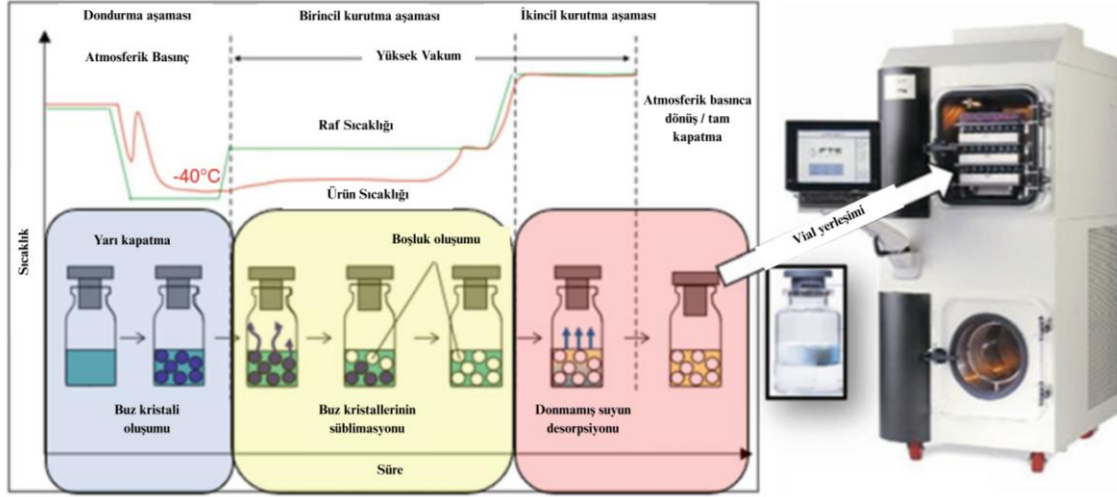
Çizelge 2.7. Dünya genelinde kùltür koleksiyonlarının tercih ettiği koruma yöntemleri
CP= kriyokoruma (gliserol stok), FD= dondurarak kurutma [20]

No.	Kùltür Koleksiyonu	Kısaltma	Yöntem	Ülke
1	Amerikan Tıp Kùltür Koleksiyonu	ATCC	CP / FD	ABD
2	Alman Mikroorganizma ve Hücre Kùltürü Koleksiyonu	DSMZ	CP / FD	Almanya
3	Belçika Koordineli Mikroorganizma Koleksiyonları / LMG Bakteri Koleksiyonu	LMG	CP / FD	Belçika
4	Ulusal Tıp Kùltür Koleksiyonu	NCTC	CP / FD	Birleşik Krallık
5	Enfeksiyon Araştırmaları Merkezi Koleksiyonu	CCRI	CP / FD	Kanada
6	Çek Mikroorganizma Koleksiyonu	CCM	CP / FD	Çekya
7	Hollanda Bakteri Kùltür Koleksiyonu	NCCB	CP / FD	Hollanda
8	Pasteur Enstitüsü Koleksiyonu	CIP	CP / FD	Fransa
9	Mikrobiyel Tıp Kùltür Koleksiyonu ve Gen Bankası	MTCC	CP / FD	Hindistan
10	Avustralya Mikroorganizma Koleksiyonu	ACM	CP / FD	Avustralya
11	Japon Mikroorganizma Koleksiyonu	JCM	CP / FD	Japonya
12	Göteborg Üniversitesi Kùltür Koleksiyonu	CCUG	CP / FD	İsveç

2.3.3. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)

Gıda maddelerinin korunmasında kullanılan dondurarak kurutmanın kökeni tarih öncesi çağlara kadar uzanır; Aztekler ve Eskimolar'ın bu amaçla uygulamalar gerçekleştirdiği bilinmektedir. 1880'lerin sonlarında yöntem laboratuvar ölçeğinde kullanılmaya başlanmış, temel ilkeleri bu dönemde ortaya konmuştur. Ancak endüstriyel ölçekte uygulanması, 1930'lara dek vakum ve soğutma teknolojilerindeki gelişmelerin heterojen antibiyotikler ile kan ürünlerinin işlenmesi ihtiyacıyla kesişmesi sonucu mümkün hâle gelmiş; bu sayede üretim amaçlı liyofilizatörler geliştirilmiş ve liyofilizasyon, o tarihten

itibaren hem gıda hem de ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır [83]. Şekil 2.9.'da dondurarak kurutmanın temel adımları ve raflı bir liyofilizatör yer almaktadır.



Şekil 2.9. Dondurarak kurutma işleminde gerçekleşen farklı aşamalar [84]

Dondurma Aşaması

Liyofilizasyonda ilk adım, örneğin katılaşmasını sağlamak üzere süpersoğutma yoluyla çekirdeklenmenin (nükleasyon) başlatılmasıdır. Sıcaklık çözeltinin donma noktasının altına düştükçe, termodinamik olarak elverişli buz çekirdeklerinin oluşma olasılığı artar. Bu çekirdekler büyüyerek makroskobik buz kristallerine dönüşür. Yüksek süpersoğutma (düşük nükleasyon sıcaklığı) homojen nükleasyonu destekleyip çok sayıda küçük kristal oluştururken, düşük süpersoğutma (yüksek nükleasyon sıcaklığı) daha az sayıda, fakat büyük kristaller meydana getirir. Küçük kristaller, primer kurutmada daha dirençli kuru katman oluşturup süreci uzatırken; ikincil kurutmada daha hızlı desorpsiyon sağlar. Büyük kristaller ise ters etki yaparak primer kurutmayı kısaltır, ikinciliği uzatır. Ayrıca şişe içi sıcaklık heterojenlikleri, parti içi değişkenliklere yol açabileceğinden, dondurma hızı ve homojenliği sistematik olarak kontrol edilmelidir [85].

Birincil Kurutma Aşaması

Liyofilizasyon döngüsünün en uzun ve kritik aşamasıdır ve donmuş sudan (buz) doğrudan gaz fazına geçişin (süblimasyon) gerçekleştirilmesiyle gerçekleşir. Süblimasyonun sürücü kuvveti, buz yüzeyinin doymuş buhar basıncı ile kondenser sıcaklığı arasındaki

farktır; bu da daha düşük örnek ve daha yüksek kondenser sıcaklığı ile sağlanır. Sublimasyon için gerekli gizli ısı üç yolla sağlanır: raflardan gelen radyasyon, vial duvarı aracılığıyla iletim ve vakumdaki ince gaz tabakasıyla konveksiyon. Örnek sıcaklığı, cam geçiş sıcaklığı (T_g) altında tutulmazsa “pasta” yapısı çöker, gözenekler bozulur ve yeniden çözünme süresi uzar. İşlem boyunca sistem basıncı buzun doymuş buhar basıncının altında tutulmalı; daha düşük basınç sublimasyon hızını artırırken konvektif ısı akışını azaltarak süreci yavaşlatabilir. Mekanik modelleri ve küresel duyarlılık analizleri sayesinde dinamik proses tasarımı yapılabilir. Raf sıcaklığı ve oda basıncı kritik proses parametreleri, vial geometrisi ve dolum derinliği ise kritik materyal özellikleri olarak tanımlanır. Bu parametrelerin sistematik risk değerlendirmesi, biyomalzeme veya hücre içeren formulasyonlarda birincil kurutmada çökme ve kalite kusurlarının azaltılmasını sağlar [85].

İkincil Kurutma Aşaması

Örnekte kalan donmamış suyun uzaklaştırılmasını amaçlar ve buzun birincil kurutmada yok edilmesi nedeniyle bu aşamada sıcaklık artışı (genellikle ≤ 1 °C/dk hızında) yapılarak çökme riski minimize edilir. Özellikle amorf formülasyonlarda donmamış su oranı %20–50’yi bulabildiğinden, ikincil kurutmada kalan su içeriği hedefi genellikle %0,5–3 aralığındadır; ancak bazı biyolojik örnekler için daha yüksek artık su oranı gerekebilir. İkincil kurutmada sıcaklık yükseltme hızı ve vakum seviyesi kritik proses parametreleri (CPP), artık su içeriği ise kritik materyal özelliği (CMA) olarak tanımlanır. Süreç tamamlandıktan sonra vialer genellikle aseptik ortamda kapatılır ve depolama sıcaklığı, örneğin camsı geçiş sıcaklığının altında tutulmalıdır; depolama koşullarındaki nem ve sıcaklık CPP, artık su içeriği ve camsı geçiş sıcaklığı ise CMA olarak göz önünde bulundurulur [86].

Dondurarak Kurutmada Mühendislik Perspektifi: Isı ve Kütle Transferi

Liyofilizasyon sürecinin temelinde, vakum altında buzun süblimleşmesiyle açığa çıkan buharın uzaklaştırılması arasında kritik bir ısı–kütle transferi dengesi vardır. Süblimasyonu sürdürmek için ürüne yeniden yapılandırma sırasında oluşan soğumayı telafi edecek miktarda ısı enerjisi verilmelidir; aynı anda açığa çıkan su buharının uzaklaştırılması, örnekten çekilen ısı miktarıyla dengelenmelidir.

Bu denge sağlanamazsa, örnek sıcaklığı ya düşerek kurutma verimliliğini azaltır ya da yükselerek erime ve çökme riskini artırır. Erken sublimasyon evrelerinde kuru tabakanın buhar akışına direnci düşük olduğundan denge korunması kolaydır; ancak kuru tabaka derinleştikçe buhar direnci artar ve örnek sıcaklığı yükselerek yapısal bozulmaya yol açabilir. Bu durumda, süreç sıcaklığını düşürmek kurutma hızını yavaşlatıp çevrim süresini uzatsa da ürün kalitesini korumak için gerekli olabilir [83].

2.3.3.1. Kullanılan Koruyucu Bileşenlerin Etki Mekanizması

Dondurarak kurutma işleminde tercih edilen koruyucu bileşenler ürün türüne, yapısına ve kullanım amacına göre değişmektedir. Mikrobiyel suşların liyofilizasyonunda sıkça kullanılan yağsız süt tozunun yanında, maya suşlarının hücre duvarında da bulunan ve koruyucu özellik kazandıran trehaloz ve sükroz gibi indirgen olmayan disakkaritler ve yapıda homojenizasyon sağlamak için düşük derişimli NaCl kullanılır. Aşağıda, HUFCC liyofilizasyon protokollerinde kullanılan dört ana bileşenin mekanizmaları özetlenmiştir [87, 88].

Trehaloz (*α -D-glukopiranozil α -D-glukopiranozid*), glukozdan oluşan indirgen olmayan bir disakkarittir ve liyofilizasyon (dondurarak kurutma) sürecinde hücresel düzeyde çok yönlü koruma sağlayan en etkili bileşiklerden biridir. Özellikle *Saccharomyces cerevisiae* gibi anhidrobiyotik kapasiteye sahip mikroorganizmalar için, trehalozun sitoplazmada birikimi hem kuruma hem de oksidatif stres gibi çevresel etkilere karşı temel bir savunma mekanizması olarak tanımlanmıştır.

Trehalozun bu koruyucu etkisi, literatürde, su yer değiştirme hipotezi ve vitrifikasyon hipotezi olmak üzere iki farklı durumla açıklanmaktadır. Su yer değiştirme hipotezine göre, trehaloz dehidrasyon sırasında su moleküllerinin yerine geçerek proteinler ve fosfolipitlerle hidrojen bağları kurar. Bu etkileşimler sayesinde proteinlerin doğal katlanmış yapısı korunur, protein agregasyonu engellenir ve hücre zarlarının bütünlüğü ile sıvılaşma özellikleri muhafaza edilir.

Vitrifikasyon hipotezine göre ise trehaloz, düşük su aktivitesi koşullarında camsı bir matris oluşturma kapasitesine sahiptir. Bu cam fazı, serbest radikal oluşumunu baskılayarak oksidatif hasarı sınırlar ve zararlı reaksiyonların hızını viskoz yapısı sayesinde yavaşlatır.

Trehalozun, diğer şekerlere (örneğin sükroz ve laktoz) kıyasla en önemli avantajı, yüksek su bağlama kapasitesidir. Bu özellik, buz kristali oluşumunu engelleyerek hücre bütünlüğünün korunmasına katkı sağlar. Ayrıca, trehalozun düşük tatlılık derecesi (%45

sükroz tatlılığında), kokusuz ve renksiz oluşu gibi fiziksel özellikleri; işleme sırasında Maillard tepkimeleri gibi istenmeyen reaksiyonların önlenmesine de yardımcı olur.

Trehalozun kurumanın neden olduğu çoklu streslere karşı etkin bir koruma sağlaması nedeniyle, *S. cerevisiae*'nin uzun süreli saklanmasıyla yönelik uzay biyolojisi uygulamalarında da stratejik olarak kullanılmaktadır. Nitekim BioSentinel uzay misyonu kapsamında, kullanılacak *S. cerevisiae* suşlarının hazırlanmasında, hücrelerin stasyoner faza ulaştırıldığı uzun süreli sıvı kültür büyüme protokolü benimsenmiştir. Bu yaklaşım, hücre içi trehaloz birikimini artırarak liyofilizasyon sonrası hayatta kalımı ve biyolojik işlevselliği optimize etmeyi amaçlamaktadır [89-92].

Sükroz, dehidrasyon sırasında su moleküllerinin yerini alarak protein ve fosfolipitlerle güçlü hidrojen bağları kurar; bu etkileşimler makromoleküllerin doğal konformasyonunu korur ve agregasyonu engeller. Böylece kritik katlanmış yapılar liyofilizasyonun getirdiği mekanik ve termal strese rağmen stabil kalır. Ayrıca sükroz, düşük su aktivitesi koşullarında camsı (vitreus) bir matris oluşturma kapasitesine sahiptir; bu cam faz, moleküler mobilitayı kısıtlayarak serbest radikal oluşumunu baskılar ve oksidatif hasar ile zararlı reaksiyon hızlarını yavaşlatır. Soğuma sırasında artan sükroz viskozitesi su moleküllerinin difüzyonunu zorlaştırarak buz kristallerinin büyümesini ve faz ayrışmasını engeller; böylece hem hücre içi hem de hücre dışı buz kristalizasyonu minimize edilmektedir [93-95].

Yağsız süt tozu, laktoz (indirgeyici disakkarit) ve kazein ile whey proteinlerini içeren kompleks bir bileşimdir. Bu bileşenler, liyofilizasyon sırasında düşük su aktivitesi koşullarında amorf camsı bir matris oluşturarak membran ve protein yapılarının stabilitesini korur. Protein bileşenleri, hücre duvarı ile sitoplazma arasındaki yakın teması destekler; böylece dondurma ve kurutma aşamalarında oluşabilecek mekanik ve oksidatif hasarlar minimize edilir. DSMZ'de bakteri liyofilizasyonu için koruyucu ortam olarak %10 yağsız süt tozu önerilmektedir. Benzer şekilde, ATCC Mycology Culture Guide, maya ve mantar kültürlerinin liyofilize edilmesi öncesinde %20 (a/h) çözeltisi olarak yağsız süt tozu kullanımını tavsiye eder. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, %5–10 (w/h) yağsız süt tozu içeren formülasyonların, dondurma sırasında buz kristallerinin büyümesini engellediği ve çözünme sonrası homojen bir süspansiyon sağladığı gösterilmiştir [96-98].

NaCl, liyofilizasyon öncesi matrise eklendiğinde partiküller arası hidrojen bağlarının oluşumunu bloke ederek kuruduktan sonra süspansiyonun homojen biçimde yeniden dağılmasını sağlar. Vakum altında kurutma sırasında Na^+ iyonları, partikül yüzeylerindeki karboksilat ve hidroksil gruplarıyla elektrostatik etkileşim kurarak ara yüzey hidrojen bağlarını zayıflatır ve geri dönüşümsüz agregasyonu engeller. Gözenekli bir matris meydana getirerek rehidrasyon sonrası hızlı ve eşit dağılım sağlar; NaCl varlığı ise bu gözeneklerin düzenli oluşumunu destekleyerek süspansiyon homojenliğini daha da güçlendirir [99].

2.3.3.2. Dondurarak Kurutmada Kalite Kontrol

Dondurarak kurutma işleminin temel hedefi; son ürünün stabilite, kalite ve ticari üretilebilirlik kriterlerini karşılamaktır. Ürün formülasyon ve proses, protein gibi aktif maddelerin donma, kurutma ve yeniden çözülme aşamalarındaki streslere dayanmasını sağlayacak şekilde tasarlanmalıdır. Başarılı bir ürün; düşük artık nem, hızlı yeniden çözünme ve uygulama kolaylığı sunmalı, cihazlarla uyumlu ve çökme/eritme belirtisi olmadan farmasötik açıdan kabul edilebilir görünmelidir. Toplam döngü süresinin 4–5 günü geçmemesi ve kolay ölçeklenebilirlik de kritik kalite kontrole kriterlerindendir [100].

Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

DSC, bir numunenin ısı akışını izleyerek cam geçişi, kristalleşme ve erime gibi kritik termal olayları belirler. Primer kurutmada, DSC ile tayin edilen T_g değeri, ürün sıcaklığının bu eşik seviyenin üstüne çıkmaması için sınır oluşturur; böylece hem kurutma süresi kısalır hem de yapısal çökme riski engellenir [99].

Nem İçeriği Kontrolü

Dondurarak kurutma sonrası kalıntı nem miktarı, ürün stabilitesini doğrudan etkiler; beklenen kalıntı nem miktarı %0.5–2 olarak kabul edilir. Nem miktarı, Karl Fischer titrasyonu veya gravimetrik yöntemlerle tayin edilerek sekonder kurutma sonlandırma kriteri olarak kullanılır. Aşırı nem, mikrobiyel büyüme ve kimyasal bozunmaya; aşırı kurutma ise protein denatürasyonuna yol açtığı için, nem kontrolü hem biyolojik aktiviteyi hem de yapısal bütünlüğü korumada önemli bir faktördür [20].

Camsı Geçiş Sıcaklığı

Camsı geçiş sıcaklığı (T_g), kuru, amorf bir maddenin katı ve gevrek halden daha esnek ve lastiksi hale geldiği sıcaklık aralığını tanımlar; bu noktada malzeme mekanik olarak yumuşamaya başlar, liyofilize ürünlerdeyse, donmuş ve konsantre çözeltinin cam faz geçişi (T_g'), buz kristallerinin erimeden korunabileceği en yüksek işlem sıcaklığını belirler; bu nedenle primer kurutmada raf sıcaklığı T_g' değerinin birkaç derece altında tutulur [20].

Dondurarak Kurutma Mikroskopisi (DKM)

Formülasyon bileşenlerinin donma ve liyofilizasyon süreçleri sırasında polarize ışık mikroskobu altında fiziksel davranışlarının doğrudan gözlenebilmesini sağlayan teknik sayesinde, liyofilizasyonun kritik parametreleri; çökme sıcaklığı (collapse temperature), kristalleşme sıcaklığı (crystallization temperature), optimal tavlama (annealing) sıcaklığı ve süresi ile ötektik erime sıcaklığı (eutectic melting temperature) belirlenebilir. Özellikle farmasötik ve biyofarmasötik formülasyon geliştirme çalışmalarında, ürün stabilitesinin ve raf ömrünün iyileştirilmesi amacıyla sıkça başvurulan analitik tekniklerden biridir [101].

2.4. Veri Tabanı ve Sürdürülebilir Model İnşası

Mikrobiyel kültür koleksiyonlarını yönetmede veri tabanları, günümüzde yalnızca kayıt tutma araçları değil; aynı zamanda sürdürülebilirlik ve iş birliğinin omurgasıdır. Dünya çapında koleksiyonlar tarafından üretilen verinin hacmi, genomik sekanslama ve çok katmanlı “omics” analizlerinin yaygınlaşmasıyla eksponansiyel bir artış göstermektedir. Bu hızlı büyüme;

- Veri kaybı riskini,
- Tekrarlanan deneylerin maliyetini,
- Farklı sistemler arasındaki entegrasyon zorluklarını

gün yüzüne çıkarmaktadır. Örneğin, BacDive ve GCM/gcType gibi özelleşmiş platformlar bu açıkları büyük ölçüde kapatmış olsa da tablolama yapıları, meta-veri alanları ve doğrulama akışlarının merkezler arasında farklılık göstermesi, gerçek zamanlı veri alışverişini hâlâ kısıtlamaktadır.

ISO/TC 276'nın 2024 tarihli yayınladığı yeni standart, mikrobiyel biyolojik kaynak merkezlerinde bulunması gereken asgari veri alanları, kimlik doğrulama akışları ve yayın formatları tanımlayarak bu soruna cevap aramaktadır. Bu standartla birlikte:

- Standartlaştırılmış meta-veri setleri, farklı altyapıların birbiriyle uyumlu ve karşılıklı olarak çalışabilir hale gelmesi,
- Doğrulanmış akışlar ile verinin kaynaktan kullanıcıya kadar kesintisiz izlenebilmesi,
- Yayın formatları ile hem insan hem de makine okunabilir raporların üretilmesi hedeflenmektedir [23, 24].

2.4.1. Veri Tabanları ve Veri Paylaşımı

Veri yönetimi, mikrobiyel Biyolojik Kaynak Merkezleri (mBKM'ler) için işletme ve iş birliğinin temelini oluşturur. Bu merkezlerde kullanılan altyapılar birbirinden oldukça farklıdır; bu heterojenlik, veri türleri arasında uyumluluk ve standartlaşma eksikliğine yol açar.

Ana bilgi grupları

1. Kaynak Bilgisi: Suş tanımlama, moleküler ve fiziko-kimyasal karakterizasyon
2. Geçmiş Verisi: İzolasyon kaynağı, elde edilme süreçleri
3. Yönetimsel Bilgiler: Alikot sayısı, depolama koşulları

Bu veri tabanları hem kurum içi izlenebilirlik hem de araştırmacı, endüstri ve diğer kullanıcılar için çevrimiçi erişim ve indirilebilir kataloglar aracılığıyla paylaşım imkânı sunacak şekilde yapılandırılır. Ancak altyapılar arasındaki tutarsızlık, veri paylaşımını ve ortak standartların uygulanmasını zorlaştırmakta; bu nedenle mBKM'lerde kapsamlı ve iyi uyarlanmış veri paylaşım politikaları ve teknik protokoller kritik öneme sahiptir [7].

2.4.2. Mikrobiyel Veri Ekosisteminin Kurulması: Temel Unsurlar

Mikrobiyel kültür koleksiyonlarında toplanan verilerin etkili şekilde işlenmesi, saklanması ve paylaşılması, güvenilir bir veri ekosisteminin temelini oluşturur. Bu sistem yalnızca veri kayıtlarını değil; dijital katalogların oluşturulması, standartlara uyum, analiz altyapıları ve kullanıcı erişimi gibi çok boyutlu bileşenleri de kapsar. Bu bölümde, koleksiyon verilerinin dijital dönüşüm sürecinde öne çıkan temel yapı taşları sade bir şekilde ele alınmaktadır. İlgili ilkeler Şekil 2.10.'da verilmiştir.



Şekil 2.10. Mikrobiyel veri ekosistemi oluşturmada temel ilkeler [18, 25-29]

Dijital Katalog İhtiyacı

İnternet tabanlı veritabanları taksonomi, izolasyon kaynağı, evrimsel konum, metabolik-fonksiyonel özellikler ve ekolojik ilişkiler gibi beş ana bilgi kümesini araştırmacılara tek noktadan sunarak suş transferini kolaylaştırır [18].

Dijitalleşme Açığı

Dünya çapında kültür koleksiyonlarının yalnızca %53'ünde korunan suşları kapsayan dijital katalog bulunuyor; bu da veri güncelleme ve doğrulama süreçlerinin, koleksiyonların başlıca dikkat etmesi gereken noktalar olarak öne çıktığını göstermektedir [7].

FAIR ilkeleri

FAIR ilkeleri, dijital verilerin kolay bulunur (Findable), erişilebilir (Accessible), uyumlu (Interoperable) ve yeniden kullanılabilir (Reusable) olmasını amaçlar. Bunu sağlamak için yaşam bilimlerinde farklı standart formlar kullanılır, her kayda kalıcı bir kimlik verilir ve açık lisans bilgisi eklenir. ISO 21710:2020 ise bu ilkeleri pratiğe dökerek mikrobiyel kaynak merkezlerinde tutulması gereken asgari veri alanlarını ve basit bir kalite kontrol akışını tanımlar; böylece tüm merkezler aynı dili konuşur [27].

LIMS yönetimi: örnekten veritabanına kesintisiz izlenebilirlik

Bir Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi (LIMS), numune kabulünden son rapora kadar tüm adımları dijital olarak takip eder. Rol bazlı erişim (kimin neyi görebileceği) ve sürüm kontrollü kayıtlar sayesinde hem güvenlik hem de geri-dönüp kontrol edebilme imkânı sağlanır. Mikrobiyolojiye özel çözümler kontaminasyon riskini düşürür, seri testleri otomatik puanlar ve denetim izlerini saklar. Uygulama örnekleri, LIMS kurulan bir ulusal laboratuvarda elle yapılan hataları %30 azaltırken rapor hazırlama süresini de yarıya indirmiştir. Yeni trend, yapay zekâyı LIMS'e bağlayarak anomali tespiti ve “önce hangi örnek işlenmeli?” sorusuna akıllı önceliklendirme sunmaktır [28].

Veri madenciliği: koleksiyon hazinesinden anlam çıkarmak

BacDive gibi kapsamlı veritabanlarında yüz binlerce suş ve binlerce özellik alanı saklanır. Bu düzenli veriler, istatistiksel analizler ve yapay zekâ modelleri için altın madeni gibidir. Örneğin, gen-fenotip eşleşmesine odaklanan grafik sinir ağları (GNN'ler) kontaminantları erken tahmin edebilir veya yeni enzim adaylarını hızlıca filtreleyebilir. FAIR uyumlu meta-veri sayesinde farklı koleksiyonlardan gelen kayıtlar ortak terimlerle birleşir; böylece modeller çok daha büyük ve zengin öğrenme setleriyle eğitilir, sonuçların güvenilirliği artar [23, 29].

Verilerin Toplanması ve Küratörlük

Her yeni örnek, tek sayfalık standart bir formla kaydedilir; kaynak, kimlik ve depolama koşulları eksiksiz yazılır. Çift kontrol ve basit yazım denetimleri (ör. otomatik tür adı eşleştirme) hataları en aza indirir. Örneklerle kalıcı tanımlayıcı (DOI / Handle) verilir ve yılda en az bir kez küratörlerce güncellenerek dış veritabanlarıyla (NCBI vb.) senkron tutulur [29].

Veri Tabanı Tasarımı ve Mimarisi

Veriler iki katmanda saklanır: *kimlik bilgileri* güvenli ilişkisel tabanda, *genom dosyaları* esnek belge tabanında tutulur. Üç katmanlı mimari (Veri — API — Sunum) hem yedeklemeyi hem de diğer portallarla bağlantıyı kolaylaştırır. ISO 21710'daki “asgari alanlar” ve basit kalite-kontrol tabloları, her merkezin aynı dili konuşmasını sağlar. Ölçeklenme ihtiyacı doğduğunda sistem yapısına sorunsuz taşınabilir [26].

Web Arayüzü

Mobil uyumlu ve erişilebilir tasarım, araştırmacıya hızlı arama, filtreleme ve grafiksel özetler (filogenetik ağaç, istatistik panosu) sunar. Açık API dokümantasyonu sayesinde veriler kolayca indirilebilir veya kodla çekilebilir. Rol bazlı giriş, HTTPS ve tek kullanımlık indirme bağlantıları veriyi korurken, düzenli geri bildirim oturumları arayüzü sürekli iyileştirir. Böylece ziyaretçi hem verinin nasıl toplandığını anlar hem de sorusuna net cevap bulur.

Web sayfasının temel yapısı HTML (HyperText Markup Language) ile oluşturulur. Sayfadaki başlıklar, metin kutuları, butonlar ve veri tabloları gibi tüm içerik bileşenleri HTML etiketleriyle tanımlanır. Görsel düzenlemeler ve kullanıcı deneyimi ise CSS (Cascading Style Sheets) ile sağlanır. CSS, sayfaya renk, yazı tipi, boşluklar ve mobil uyumluluk gibi özellikler kazandırır.

Bu yapının dinamik hale gelmesini sağlayan ise PHP (Hypertext Preprocessor) dilidir. PHP, sunucu tarafında çalışarak kullanıcıdan gelen arama, filtreleme veya form bilgilerini işler; veritabanına bağlanarak ilgili suşları çeker ve sonuçları HTML aracılığıyla ekrana yansıtır.

Bu üç teknoloji bir araya geldiğinde, araştırmacılar aradıkları mikrobiyel verilere kolayca erişebilir, sayfa içinde filtreleme ve detay görüntüleme gibi işlevleri sorunsuz şekilde kullanabilir. Kullanıcı dostu ve erişilebilir bir sistem için bu yapıların uyumlu çalışması büyük önem taşır [29].

2.4.3. Dünya Geneline Veri Tabanları

Mikrobiyel kültür koleksiyonlarının dijital dönüşümünde, küresel ölçekte geliştirilen ve sürdürülen veri tabanları kritik rol oynamaktadır. Bu platformlar yalnızca biyolojik çeşitliliğin belgelenmesini sağlamakla kalmaz, aynı zamanda taksonomik doğrulama,

örnek paylaşımı ve bilimsel araştırmalarda veri temelli iş birliğini kolaylaştırır. Veri hacminin artmasıyla birlikte, bu sistemlerin standartlaşmış veri alanları, açık erişim ilkeleri ve bütünleşmiş analiz araçları sunması giderek daha büyük önem kazanmıştır.

Aşağıda, mikrobiyel kültür koleksiyonları alanında öne çıkan üç önemli uluslararası veri tabanı ve bunların güncel özellikleri özetlenmektedir:

BacDive (DSMZ)

BacDive, 111 000'den fazla bakteri ve arke suşuna ait fenotipik, ekolojik ve moleküler metaveriyi barındıran en büyük standartlaştırılmış bakteri çeşitliliği metaveri tabanı olarak ELIXIR “Core Data Resource” listesinde yer alır. 2025 Nucleic Acids Research (NAR) sürümünde 14 658 yeni suş eklenmiş ve veri atamaları DOI sistemiyle ilişkilendirilerek TAXplorer üzerinden taksonomi-temelli gezinti kolaylaştırılmıştır [23].

WDCM-CCINFO

World Data Centre for Microorganisms (WDCM) altında yer alan Culture Collection Information Worldwide (CCINFO), 3 000+ koleksiyonun meta-verisini (yaklaşık 1,9 milyon suş) tek katalogda birleştirir; her koleksiyonu küresel katalog numarası (WDCM ID) ile tanımlar. 2024 ECCO toplantısında, CCINFO üzerine inşa edilen ve “FAIR Matching Tool” ilkelerine uygun örnek-koleksiyon eşleştirmesi yapan beta modül tanıtılmıştır [102].

GCM / gcType Platformu

Çin Bilimler Akademisi tarafından kontrol edilen Global Catalogue of Microorganisms (GCM) ve genom odaklı ikizi gcType, birlikte 23 000+ tip genomu ile dünyadaki tür tanımlayıcı referans setinin omurgasını oluşturur. 2024'te gerçekleştirilen platform birleştirme ile nomenklatür kontrol motoru otomatik hâle getirilmiş, bütünleşmiş “genom tarayıcı” modülü yüksek çözünürlüklü karşılaştırma eklemiştir [24].

Bu çalışmanın temel amacı, laboratuvar ölçeğinde yapılandırılmış bir mikrobiyel kültür koleksiyonu ve buna entegre edilmiş dijital veri tabanı sistemi kurarak, Türkiye’de bu alandaki dağınıklığı giderecek ve laboratuvar ölçeğinde örnek teşkil edecek sürdürülebilir bir model oluşturmaktır. Çalışma, ayrıca mevcut mikrobiyel biyoçeşitliliğin korunması ile elde edilen verilerin standartlaştırılmış, erişilebilir ve uzun vadeli kullanımına açık bir yapıda sunulmasını hedeflemektedir.

Deneyisel düzeyde, kültürlerin uzun süreli korunmasına olanak sağlayan liyofilizasyon süreci kritik bir bileşen olarak ele alınmış; yerel suşların bu prosese yanıtları değerlendirilerek kültür koleksiyonunun sürekliliği güvence altına alınmıştır. Bu kapsamda elde edilen liyofilize kültürler hem laboratuvar içi sürdürülebilirliği sağlamakta hem de dış paydaşlara yönelik hizmet potansiyeli taşımaktadır.

Ayrıca, koleksiyonda yer alan mikroorganizmaların tür düzeyinde karakterizasyonu, literatürde yaygın olarak kullanılan fenotipik ve moleküler yöntemlerle gerçekleştirilerek, laboratuvar düzeyinde mikrobiyel biyoçeşitliliğine dair özgün bir veri üretimi sağlanmıştır. Bu bağlamda çalışma, benzer ölçekli araştırmalara metodolojik ve teknik açıdan rehberlik etme niteliği taşımaktadır.

Türkiye'nin sahip olduğu zengin mikrobiyel çeşitliliğe karşın, kültür koleksiyonlarının standardizasyonu, uluslararası tanınırlığı ve dijital temsiliyetinde mevcut olan yapısal eksiklikler dikkate alındığında; bu çalışmayla oluşturulan sistemin, mikrobiyel biyolojik kaynak merkezi olma yönünde atılmış öncü bir adım olduğu değerlendirilebilir. Nihai hedef, kurulan altyapının uluslararası otoritelerle entegre edilmesi ve Türkiye'nin küresel mikrobiyel kültür ağı içindeki görünürlüğünün artırılmasıdır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Mikroorganizmalar

Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'nda (HUFCC) bulunan, önceki çalışmalarda tanımlanmış [103, 104] ve -20°C'de gliserol stoklarında muhafaza edilen 83 maya suşu kullanılmıştır. Maya suşlarına ait bilgiler Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan HUFCC'de yer alan maya suşları

No	Suş Kodu (HUF)	Suş adı	Kaynak	NCBI Erişim Kodu
1	16M1C0002	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	ATCC/Ticari Suş	OQ876808
2	16M1C0003	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ticari Suş	OQ912898
3	16M1C0004	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Şarapçılık (Chr. Hansen)	-
4	16M3H11104	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	Çankırı, Üzüm	OQ876794
5	16M1C0001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> RSKK 08022	RSK/Instant Kuru Maya	OQ876785
6	16M0T10001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ticari Yaş Maya	OQ876784
7	16M2K10004	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	OQ912899
8	16M2K10006	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	OQ876786
9	16M2K10007	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	OQ876787
10	16M3B11017	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırıkkale, Üzüm	OQ876788
11	16M3B11021	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırıkkale, Üzüm	OQ876789
12	16M3C11032	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırşehir, Üzüm	OQ876790
13	16M3C11033	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırşehir, Üzüm	OQ876791

14	16M3G11088	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Eskişehir, Üzüm	OQ876792
15	16M3H11101	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Çankırı, Üzüm	OQ876793
16	17M3C31063	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırşehir, Üzüm	OQ876795
17	17M3C31065	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırşehir, Üzüm	OQ876796
18	17M3C31066	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırşehir, Üzüm	OQ876797
19	17M3D31086	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Nevşehir, Üzüm	OQ876798
20	17M3D31088	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Nevşehir, Üzüm	OQ876799
21	17M3D31089	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Nevşehir, Üzüm	OQ876800
22	17M3E21112	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Aksaray, Üzüm	OQ876801
23	17M3E21113	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Aksaray, Üzüm	OQ876802
24	17M3E21114	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Aksaray, Üzüm	OQ876803
25	17M3F21122	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ankara, Üzüm	OQ876804
26	17M3F21126	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ankara, Üzüm	OQ876805
27	17M3F21134	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ankara, Toprak	OQ876806
28	17M3F31136	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ankara, Üzüm	OQ876807
29	17M3H21208	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Karaman, Üzüm	-
30	18M3B21008	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırıkkale, Üzüm	-
31	18M3B21010	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırıkkale, Toprak	-
32	18M3C21001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırşehir, Üzüm	-
33	18M3C21010	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kırşehir, Toprak	-
34	18M3D21001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Nevşehir, Üzüm	-
35	18M3E21007	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Aksaray, Üzüm	-
36	18M3F21012	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ankara, Üzüm	-
37	18M3G21009	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Eskişehir, Üzüm	-
38	18M3J21008	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sivas, Üzüm	-
39	18M3K21007	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Konya, Üzüm	-

40	18M3L21008	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Yozgat, Üzüm	-
41	22B1C0001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	Biocodex	-
42	16M3A11002	<i>Metschnikowia rubicola</i>	Kayseri, Üzüm	-
43	16M3B11020	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Kırıkkale, Üzüm	-
44	16M3B11023	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Kırıkkale, Üzüm	-
45	16M3C11034	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Kırşehir, Üzüm	-
46	16M3D11049	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Nevşehir, Üzüm	-
47	16M3D11052	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Nevşehir, Üzüm	-
48	16M3G11089	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Eskişehir, Üzüm	-
49	17M3C21050	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Kırşehir, Üzüm	-
50	17M3C31064	<i>Metschnikowia rubicola</i>	Kırşehir, Üzüm	-
51	17M3D31090	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Nevşehir, Üzüm	-
52	17M3E21115	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Aksaray, Üzüm	-
53	17M3E22117	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Aksaray, Toprak	-
54	17M3F21123	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Ankara, Üzüm	-
55	17M3F21125	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Ankara, Üzüm	-
56	17M3F21127	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Ankara, Üzüm	-
57	17M3F31135	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Ankara, Üzüm	-
58	17M3G31152	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Eskişehir, Üzüm	-
59	17M3H21174	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Çankırı, Üzüm	-
60	17M3H21175	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Çankırı, Üzüm	-
61	17M3H22179	<i>Saccharomyces</i> cinsi	Çankırı, Toprak	-
62	17M3H21200	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Karaman, Üzüm	-
63	17M3H21212	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Karaman, Üzüm	-
64	16M3B11016	<i>Metschnikowia</i> cinsi	Kırıkkale, Üzüm	-
65	17M3D32092	<i>Naganishia</i> cinsi	Nevşehir, Toprak	-

66	17M3D32093	<i>Naganishia cinsi</i>	Nevşehir, Toprak	-
67	17M3D32096	<i>Naganishia cinsi</i>	Nevşehir, Toprak	-
68	17M3E21110	<i>Naganishia cinsi</i>	Aksaray, Üzüm	-
69	17M3F21128	<i>Naganishia cinsi</i>	Ankara, Toprak	-
70	17M3H22218	<i>Naganishia cinsi</i>	Karaman, Toprak	-
71	16M2K10003	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	-
72	16M2K10009	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	-
73	16M2K10010	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	-
74	16M3A11003	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	Kayseri, Üzüm	-
75	17M3F31139	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Ankara, Üzüm	-
76	17M3F32141	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Ankara, Toprak	-
77	17M3H21173	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	Çankırı, Üzüm	-
78	17M3A21001	<i>Pichia kudriavzevii</i>	Kayseri, Üzüm	-
79	17M3A31013	<i>Pichia cinsi</i>	Kayseri, Üzüm	-
80	17M3A32019	<i>Pichia kudriavzevii</i>	Kayseri, Toprak	-
81	16M3A12012	<i>Solicoccozyma aerea</i>	Kayseri, Toprak	-
82	17M3D31087	<i>Cryptococcus cinsi</i>	Nevşehir, Üzüm	-
83	16M2K10011	<i>Yarrowia lipolytica</i>	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	-

Çalışmada ayrıca, HUFCC koleksiyonunda yer alan ve önceki çalışmalarda tanımlanmış [105] suşların da yer aldığı 26 farklı bakteri suşu da kullanılmıştır. Bu suşlar, -20°C'de gliserol stoklarında muhafaza edilmiştir. Bakteri suşlarına ilişkin bilgiler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Tez çalışması kapsamında kullanılan HUFCC’de yer alan bakteri suşları

No	Suş Kodu (HUF)	Suş adı	Kaynak
1	19ZN1R1001	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Çiğ Süt
2	19ZN1R1002	<i>Lactobacillus delbruecki</i>	Çiğ Süt
3	18ZN4R1011	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Teleme
4	18ZN5R1018	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Beyaz Peynir
5	19ZN1M1001	<i>Lactococcus lactis</i>	Çiğ Süt
6	19ZN2M1012	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Starter Kültür Eklenmiş Süt
7	19ZN2M1013	<i>Lactococcus lactis</i>	Starter Kültür Eklenmiş Süt
8	19ZN4M1027	<i>Lactococcus lactis</i>	Teleme
9	19ZN6M1035	<i>Lactococcus lactis</i>	Tanker Yüzeyi
10	19ZN7M1039	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Tekne Yüzeyi
11	19ZN7M1043	<i>Lactococcus lactis</i>	Tekne Yüzeyi
12	19ZN10M1058	<i>Lactococcus lactis</i>	Cendere Bezi Yüzeyi
13	18ZN5R2031	<i>Lactobacillus crispatus</i>	Beyaz Peynir
14	18ZN1M1002	<i>Lactococcus lactis</i>	Çiğ Süt
15	22BDT2034	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Probiyotik Yoğurt Starter Kültürü
16	19ZN1R1013	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> LGG	Novonesis
17	18ZN2R1004	<i>Levilactobacillus brevis</i>	Starter Kültür Eklenmiş Süt
18	19ZN3R1008	<i>Lactobacillus delbruecki</i>	Pıhtı
19	18ZN9R2019	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Kesme Teli Yüzeyi
20	18ZN3R2029	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Pıhtı
21	19ZN3R1010	<i>Lactobacillus delbruecki</i>	Pıhtı
22	19ZN5R1017	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Beyaz Peynir
23	ST-BODY-1*	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Novonesis
24	LB-12*	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Novonesis
25	nu-trish® LA-5®*	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Novonesis
26	HN019 (HOWARU Bifido)*	<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	Danisco

*Çizelge 3.2.’de 23-26. sırada yer alan dört suş, 12.02.2025 tarihinde liyofilize formda temin edildiği için, çalışmada herhangi bir analize dâhil edilmemiştir.

3.1.2 Besiyerleri ve Dilüsyon Sıvısının Hazırlanması

Maya suşlarına ait kültürlerde canlılık tayini için YPD agar (15 g/L Agar, 20 g/L bakteriyolojik pepton, 20 g/L glikoz, 10 g/L maya ekstraktı, Condalab, İspanya, Ürün Kodu: 1546) kullanılmıştır. Besiyeri, 65.0 g/L olacak şekilde hazırlanmış, damıtık suda çözündürülerek 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavlanmıştır (Nüve, Ankara, Türkiye; OT 23S). Soğutularak petri kutularına (MK.03.043-3K LAB) 15 ml'lik hacimlerde dökülmüştür. Hazırlanan ortam kehribar renkli, hafif mat görünümlü olup 25°C'de pH'sı $6,5 \pm 0,2$ olarak ölçülmüştür.

YPD broth (10 g/L dekstrozu, 20 g/L pepton, 10 g/L maya ekstraktı; Condalab, İspanya Ürün Kodu: 1547) stok kültürlerin aktivasyonu için kullanılmıştır. Besiyeri 50,0 g/ L olacak şekilde hazırlanmış, damıtık suda çözündürülerek tüplere (Ürün Kodu: 077.03.001, ISOLAB, Türkiye) ve santrifüj tüplerine (Ürün kodu: E1450-0100-1, StarLab GmbH, Almanya) uygun hacimlerde dağıtılmış ve aynı şekilde otoklavlanmıştır. Hazırlanmış besiyeri kehribar, hafif mat renkli olup 25°C'de pH'sı $6,5 \pm 0,2$ 'dir.

Enterokok ve laktokok cinsi bakterileri suşlarına ait kültürlerde canlılık tayini için M17 agar (5 g/L Soya unundan pepton; 2,5 g/L etten pepton; 2,5 g/L kazeinden pepton; 2,5 g/L maya ekstraktı, 5,0 g/L et ekstraktı; 5,0 g/L laktoz monohidrat; 0,5 g/L askorbik asit; 19,0 g/L sodyum β gliserofosfat; 0,25 g/L magnezyum sülfat; 12,75 g/L agar; Ürün Kodu :1.15108.0500, Merck, Almanya) tercih edilmiştir. Besiyeri, 55.0 g/L olacak şekilde hazırlanmış, damıtık suda çözündürülmüş ve aynı süre ve sıcaklıkta otoklavlanmıştır. Uygun sıcaklıkta (45-50°C) getirilerek 15 ml'lik hacimlerde petri kutularına (MK.03.043-3K LAB) aktarılmıştır. Hazırlanan besiyeri kahverengi renkte olup 25°C'de pH'sı 7,0 - 7,4 'tür.

M17 Broth (5.0 g/L Soya unundan pepton; 2.5 g/L etten pepton; 2.5 g/L kazeinden pepton; 2.5 g/L maya ekstraktı, 5.0 g/L et ekstraktı; 5.0 g/L laktoz monohidrat; 0.5 g/L askorbik asit; 19.0 g/L sodyum β -gliserofosfat; magnezyum sülfat; Ürün Kodu : 1150290500, Merck, Almanya), enterokok ve laktokok cinsi bakterilere ait stok kültürlerin kültivasyonu için seçilmiştir. Hazırlanan besiyeri 42,5 g/ L olacak şekilde damıtık suda çözündürülerek deney tüplerine (Ürün Kodu: 077.03.001, ISOLAB, Türkiye) ve santrifüj tüplerine (Ürün kodu: E1450-0100-1, StarLab GmbH, Almanya) uygun hacimlerde dağıtılmış ve aynı şekilde otoklavlanmıştır. Hazırlanan besiyeri kehribar, hafif mat görünümlü olup 25°C'de pH'sı 7,1- 7,3 olarak ölçülmüştür.

Laktobasil cinsi bakteri suşlarına ait kültürlerde canlılık tayini için MRS Agar (10 g/L bakteriyolojik agar, 10 g/L bakteriyolojik pepton, 20 g/L dekstroza, 2 g/L dipotasyum fosfat, 0,2 g/L magnezyum sülfat, 0,05 g/L mangan sülfat, 8 g/L sığır eti ekstraktı, 5 g/L sodyum asetat, 1 g/L tween 80, 4 g/L maya özütü, 2 g/L amonyum sitrat; Condalab, İspanya ,Ürün Kodu: 1043) tercih edilmiştir. Besiyeri, 62,0 g/L olacak şekilde hazırlanmış, damıtık suda çözündürülerek otoklavda sterilize edilmiştir. Ardından 45-50°C'ye soğutularak petri kutularına (MK.03.043-3K LAB) 15'er ml dökülmüştür. Hazırlanan besiyeri kehribar, hafif mat renkli olup 25°C'de pH'sı $6,2 \pm 0,2$ 'dir.

Laktobasil cinsi mikroorganizmaların geliştirilmesinde anaerobik jar (2,5 L hacimdeki kavanoz, Oxoid) ve Anaerocult (Ürün Kodu: 1138290001, Merck, Almanya), standart boydaki belirli hacimde anaerob ortam sağlamak için kullanılan kâğıt poşet içinde kimyasal madde karışımı kullanılmıştır. Laktobasil cinsi bakterilere ait stok kültürlerin kültivasyonu için sıvı besiyeri, MRS Broth (10,0 g/L bakteriyolojik pepton, 2,0 g/L dipotasyum fosfat, 20,0 g/L dekstroza: magnezyum sülfat: 0,05 g/L mangan sülfat: 8,0 g/L et ekstraktı: 5,0 g/L sodyum asetat: 1,0 g/L Tween 80: 4,0 g/L maya ekstraktı: 2,0 g/L amonyum sitrat; Condalab, İspanya, Ürün Kodu : 1215) ile hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri, 52,25 g/L olacak şekilde hazırlanmış, damıtık suda çözündürülerek deney tüplerine (Ürün Kodu: 077.03.001, ISOLAB, Türkiye) ve santrifüj tüplerine (Ürün kodu: E1450-0100-1, StarLab GmbH, Almanya) uygun hacimde dağıtıldıktan sonra otoklavlanmıştır. Hazırlanan besiyeri açık kehribar rengine olup 25°C'de pH'sı $6,2 \pm 0,2$ 'dir.

TS EN ISO 6887-1 ve TS EN ISO 7218 standartlarına uygun olarak %0,85 (w/v) NaCl dilüsyon sıvısı, her litreye 8,5 g sodyum klorür eklenerek hazırlanmıştır ve sıvı 9 ml'lik alikotlar hâlinde tüplere dağıtıldıktan sonra otoklavlanmıştır [106, 107].

3.1.3. Kimyasallar ve Sarf Malzemeler

Katalaz testi için %34,5–36,5 (a/h) hidrojen peroksit (18312 - Sigma Aldrich), yüzey sterilizasyonu ve gram boyama işlemleri için %99,9 saflıktaki etanol (920.026 - ISOLAB) kullanılmıştır. Maya suşlarının boyanmasında metilen mavisi; bakteri suşlarının Gram boyanmasında kristal viyole, Gram iyot ve safranin boyaları tercih edilmiştir.

Stok kültürlerin -20°C'de muhafazasında OR-Bank 01 (OR-BAK) bakteriyel saklama tüpleri ve mikrosantrifüj tüpleri (S1620-2700 Star Lab) kullanılmıştır. Morfolojik analizler için lamalar (075.05.001 - ISOLAB) ve tek kullanımlık steril petriler

(MK.03.043 - 3K LAB) kullanılmıştır. Glukoz fermantasyon testleri için Durham tüpleri, deney tüpleri ve 15 ml'lik konik santrifüj tüpleri (078.02.001 - ISOLAB) kullanılmıştır.

DNA izolasyonları için GeneMATRIX Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (E3580-01 - EURx) tercih edilmiştir. 16S ve ITS bölge analizlerinde PCR Buffer MgCl₂ (Fermentas), dNTP mix (Fermentas), Taq DNA Polimeraz (FIREPol®, Solis Biodyne, Estonya) ve primerler (BM Labosis) kullanılmıştır.

3.1.4 Koruyucu (Liyoprotektan) Çözeltilerin Hazırlanması

Maya suşları için Bond ve ark. [108] tarafından kullanılan formül temel alınarak modifiye edilmiş bir koruyucu çözelti hazırlanmıştır. %10 (a/h) trehaloz dihidrat (BD21784-100g, BLDpharm, Çin) ve %10 (w/v) yağsız süt tozundan (Ürün Kodu: 0230, Condalab, İspanya) oluşan çözelti, 100 ml toplam hacim olacak şekilde hazırlanmıştır.

Bakteri suşları için Fonseca ve ark. [109] tarafından bildirilen bileşim esas alınarak modifiye edilmiş ve %10 (w/v) süktroz (SUC507, BioShop, Canada) ve %10 (w/v) yağsız süt tozu içeren çözelti hazırlanmıştır. Her iki çözelti de 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır [110].

3.2. Metot

3.2.1 Stok Kültürlerin Canlandırılması ve Temel Karakterizasyon Uygulamaları

Çizelge 3.1'de yer alan maya suşları, YPD broth (Condalab, ürün kodu: 1547) besiyerine inoküle edilerek canlandırılmıştır. Canlandırma işlemi, etüvde (Memmert, Almanya; Ürün kodu: DIN 12880-kl) 28°C'de 24–48 saat inkübasyon ile gerçekleştirilmiş, sıvı besiyerinde türbiditenin gözlemlenmesiyle tamamlanmıştır. Ardından, suşlar öze yardımıyla tek koloni izolasyonu yöntemiyle [111, 112] YPD agar (Condalab, Ürün kodu: 1546) içeren tek kullanımlık steril Petrilere (MK.03.043-3k lab) ekilmiştir. 28°C'de 72 saatlik inkübasyon sonunda saf koloni gelişimi gözlemlenen kültürler, yatık agar [113, 114] şeklinde hazırlanmış polipropilen vida kapaklı şeffaf santrifüj tüplerine (ISOLAB, Ürün kodu: 078.02.001) öze yardımıyla aktarılmış ve 28°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu saf kültürlerle aşağıda belirtilen makroskobik ve mikroskobik analizler uygulanmıştır.

Yatık agarda gelişim gösteren saf kültürler, üç paralel olarak kültür saklama tüplerine (OR-BANK 01, Or-Bak) öze yardımıyla alınarak -20°C'de muhafaza edilmiştir. Ayrıca, yatık agar kültürleri +4°C'de kısa süreli saklama amacıyla korunmuştur.

Çizelge 3.2’de verilen bakteri suşlarından *Lactobacillus* cinsleri MRS broth (Condalab, Ürün kodu: 1215), *Laktokok* ve *Enterokok* cinsleri ise M17 broth (Merck, Ürün kodu: 1.15029) içeren sıvı ortamlarda canlandırılmıştır. Canlandırma işlemleri, etüvde (Nüve, EN400) 37°C’de 24 saat inkübasyon sonrası türbidite gözlemiyle tamamlanmıştır.

Laktobasil suşları, MRS agar (Condalab, ürün kodu: 1043) içeren steril Petri kutularına tek koloni düşürme yöntemiyle ekilmiştir. 37°C’de anaerob koşullarda 48 saat inkübasyon sonucunda gelişen saf koloniler, yatık agar olarak hazırlanmış tüplere öze yardımıyla alınarak 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir.

Laktokok ve *Streptokok* cinsleri, M17 agar (Merck, Ürün kodu: 115108) içeren steril Petri kutularına inoküle edilmiştir. Bu suşlar, 37°C’de aerob koşullarda 48 saat inkübe edilmiş, ardından gelişen saf koloniler yatık agar ortamlarına aktarılmıştır.

Tüm bakteri stokları, üç paralel olacak şekilde Or-Bank 01 (Or-Bak) tüplerine aktarılmış ve -20°C’de muhafaza edilmiştir.

a) Morfolojik Analiz

Mikroskobik Morfoloji

Basit Boyama Yöntemi

Maya suşlarının mikroskobik morfolojileri, basit ışık mikroskobunda (100x immersiyon objektifi) basit boyama yöntemi ile incelenmiştir. Uygulanan yöntem aşağıda belirtilmiştir [111, 115].

- Temiz bir lam üzerine piset yardımıyla bir damla damıtık su damlatılmıştır.
- Katı besiyerinde gelişen 18–24 saatlik genç kültürlerden bir öze örnek alınmış, damıtık suya karıştırılarak lam yüzeyine yayılmıştır.
- Lam kuruyana kadar beklenmiş ve ardından alevden geçirilerek fikse edilmiştir.
- Lam üzerine metilen mavisi damlatılmış, 1 dakika bekletilmiş ve ardından damıtık suyla yıkanmıştır.
- Kuruyan preparat üzerine immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta 100x objektif ile incelenmiştir.

Gram Boyama Yöntemi

Bakteri suşlarının mikroskopik morfolojileri, gram boyama yöntemiyle 100x immersiyon objektifli ışık mikroskopunda incelenmiştir. Yöntem aşağıda açıklanmıştır [111, 116]:

- Temiz bir lam üzerine bir damla damıtık su eklenmiştir.
- 18–24 saatlik kültürlerden alınan bir öze örnek, suya karıştırılıp lam üzerine yayılmıştır.
- Kuruduktan sonra lam alevden geçirilerek fikse edilmiştir.
- Kristal viyole 1 dakika uygulanmış ve damıtık suyla yıkanmıştır.
- Ardından lügol solüsyonu 1 dakika uygulanıp yıkanmıştır.
- %96'lık etanol 15 saniye uygulanmış, ardından hızla uzaklaştırılıp suyla durulanmıştır.
- Safranin 30 saniye uygulanmış ve yıkanmıştır.
- Kuruyan lam üzerine immersiyon yağı damlatılarak 100x objektifte incelenmiştir.
- Gram-pozitif bakteriler menekşe moru, Gram-negatif bakteriler ise kırmızı renkte gözlenmiştir.

Mayalarda mikroskopik değerlendirmede:

- Hücre şekli ve büyüklüğü (yuvarlak, oval, silindirik)
- Üreme şekli (tomurcuklanma, bölünme, eşeyli üreme)

kriterleri göz önünde bulundurulmuştur.

Bakterilerde ise aşağıdaki hücre şekilleri ve diziliş özellikleri esas alınmıştır:

- Şekiller: kok, çubuk, virgül, spiral, helikal
- Diziliş: monokok, diplokok, streptokok, stafilokok, tetrat, sarsinae, difteroid

Bu morfolojik değerlendirme, Gram boyama sonuçlarıyla desteklenmiştir [42, 115].

Makroskobik Morfoloji

Selektif besiyerlerinde gelişen maya ve bakteri kolonileri; şekil ve görünüm, büyüklük (çap), renk (pigment üretimi), koku ve yapı (kuru, ıslak, viskoz vb.) gibi kriterler açısından incelenmiştir [42, 111].

b) Temel Biyokimyasal Testler

Suşların karakterizasyonuna yönelik olarak, bu çalışmada katalaz aktivitesi ve glukoz fermantasyon kapasitesi belirlenmiştir. Bu testler, tür düzeyinde ayırt edici biyokimyasal özelliklerin ortaya konulması ve kültür koleksiyonu veri tabanına tanımlayıcı veri sağlanması açısından önem taşımaktadır.

Katalaz Testi

Bakteri suşlarının katalaz aktivitesi, hücre içi hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalayan katalaz enziminin varlığı ile belirlenmiştir. Bu test, özellikle Gram-pozitif koklar arasında ayırım yapmada temel yöntemlerden biridir [117, 118]:

- Taze kültürden bir öze dolusu örnek lam üzerindeki damıtık suya süspansiyon edilmiştir.
- Hücre süspansiyonunun üzerine bir öze dolusu %30'luk H_2O_2 çözeltisi (Sigma-Aldrich) eklenmiş ve karıştırılmıştır.
- Hava kabarcıklarının oluşması pozitif reaksiyon, kabarcık oluşmaması ise negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

Glukoz Fermantasyon Testi

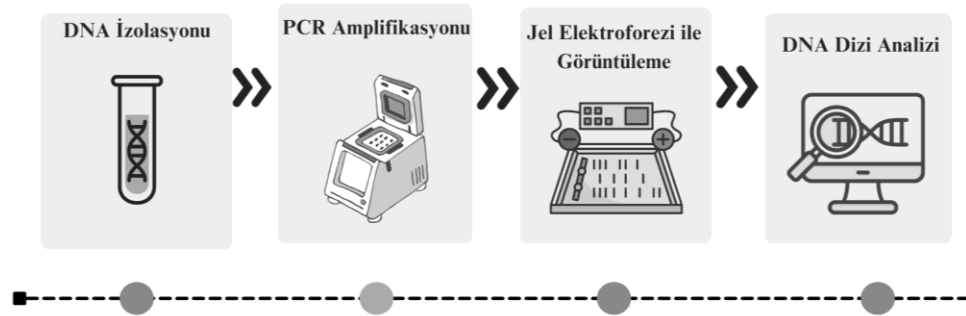
Suşların karbonhidrat kullanım profiline dair bilgi edinmek amacıyla glukoz fermantasyon testi uygulanmıştır. Bu test, aynı zamanda mikroorganizmaların metabolik kapasitelerinin değerlendirilmesinde de önemlidir [111, 119] :

- 250 mL besiyeri için: 2,5 g tripton, 1,25 g NaCl, 2,5 g glukoz ve 2,5 mL %0,4 bromtimol mavisi hazırlanmış ve saf su ile 250 mL'ye tamamlanmıştır.
- Ortamın pH'sı, 0,1 N NaOH ile renk mavileşene kadar titre edilerek ayarlanmıştır.
- Her bir deney tüpüne 5 mL besiyeri ve bir adet Durham tüpü yerleştirilmiştir.
- Ortam otoklavda sterilize edilmiştir.
- Tüp başına 0,1 mL sıvı kültür inoküle edilmiştir.
- 37°C'de 5 gün inkübasyon uygulanmıştır.

Asit oluşumu ortam renginin sarıya dönmesiyle, gaz oluşumu ise Durham tüpünde gaz kabarcığı birikimi ile değerlendirilmiştir. Asit oluşumu gözlemlendiğinde test pozitif olarak kaydedilmiş, gaz varlığı ise ayrıca belirtilmiştir.

3.2.2. DNA Dizi Analizi

Bu çalışmada, maya ve bakteri suşlarının tür düzeyinde tanımlanması amacıyla DNA izolasyonu, PCR amplifikasyonu, jel elektroforezi, PCR ürünlerinin saflaştırılması ve dizi analizi adımlarını içeren moleküler bir analiz yaklaşımı uygulanmıştır. Genel özet Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. DNA dizi analiz iş akış şeması

3.2.2.1. Maya ve Bakteri Suşlarından DNA İzolasyonu

Maya ve bakteri suşlarından genomik DNA, GeneMATRIX Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURx, E3580, Polonya) kullanılarak izole edilmiştir. İzolasyon işleminde, maya ve bakteriler için farklı liziz koşulları uygulanmıştır:

Maya suşları için;

Yaklaşık 1 ml hacimdeki kültürden maya hücreleri santrifüjlenerek pellet elde edilmiştir. Maya pelleti 300 µl tampon Lyse BG içinde süspanse edilmiştir. 11 000 x g'de 1 dakika santrifüjlenir, süpernatantı atılır ve maya peleti 250 µl tampon Lyse BG içinde yeniden süspanse edilir ve pipetlenerek iyice karıştırılmıştır. Süspanse edilen örneğe 2 µl RNaz A eklenir. İyice karıştırın ve 60°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.

Bakteri suşları için;

Yaklaşık 1 mL hacmindeki bakteri kültürü santrifüjlenerek hücre pelletleri elde edilmiştir. Pellet, 300 µL Lyse BG tamponu içerisinde yeniden süspanse edilmiştir.

Ardından süspansiyona 50 µL BL tamponu ve 2 µL RNaz A eklenmiş, pipetleme veya tüpün hafifçe ters çevrilmesi yoluyla homojenizasyon sağlanmıştır. Numuneler, 37 °C’de 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir.

DNA izolasyonu aşaması

1. İnkübasyonun ardından 15 µl Proteinase K eklenip 3 saniye vortekslenmiştir.
2. Karışım 55°C'de 30 dakika inkübe edilirken tüp birkaç kere karıştırılmıştır.
3. Tüpe 350 µl Buffer Sol BG eklenir ve vorteks ile 3 saniye karıştırılmıştır.
4. 55°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir.
5. İnkübasyonun ardından tüp vorteks yardımıyla 15 saniye karıştırılmıştır.
6. Karışım 11,000 devirde 2 dakika santrifüjlenip 600 µl süpernatant spin kolona alınmıştır.
7. Spin kolon 11,000 devirde 1 dakika santrifüjlenmiş ardından toplama tüpündeki süzöntü uzaklaştırılmıştır.
8. Spin kolon aynı toplama tüpüne yerleştirilerek tekrar 11,000 devirde 1 dakika santrifüjlenip toplama tüpündeki süzöntü uzaklaştırılmıştır. Ardından spin kolon alıcı tüpe yerleştirilmiştir.
9. Spin kolona 450 µl Wash BGX buffer eklenip 11,000 devirde 1 dakika santrifüj edilmiştir.
10. Spin kolon çıkarılarak süzöntü dökülüp daha sonra spin kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
11. Spin kolona tekrar 450 µl Wash BGX buffer eklenip 11,000 devirde 1 dakika santrifüj edilmiştir.
12. Spin kolon çıkarılarak süzöntü dökülüp daha sonra spin kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
13. Wash BGX buffer'ın tüm kalıntılarını gidermek için tüp 11,000 devirde 1 dakika daha santrifüj edilmiştir.
14. Spin kolon toplama tüpünden çıkarılarak yeni bir alıcı tüpe yerleştirilmiştir. Spin kolona DNA'nın membrandan ayrılma etkinliğini arttırmak için 80°C'ye ısıtılan 50 µl Elution buffer eklenmiştir.
15. Spin kolon ve alıcı tüp oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilmiştir.

16. Daha sonra 11,000 devirde 1 dakika santrifüj edilerek genomik DNA alıcı tüpte toplanmıştır.
17. Spin kolon alıcı tüpten çıkarılarak alıcı tüpün ağzı kapatılıp ekstraksiyonu tamamlanan DNA -18°C'de saklanmıştır.
18. Her bir örnekten ekstrakte edilen genomik DNA'ların konsantrasyon ve saflık kontrolleri spektrofotometre ile yapılmıştır. Bu aşamada küçük hacimli spektrofotometre NanoDrop One Microvolume (Thermo Scientific, ND-ONE-W) cihazının kullanılması amaçlanmıştır.

3.2.2.2. PCR Amplifikasyonu

PCR amplifikasyonu hem maya hem de bakteri suşlarında tür tanımlamaya yönelik gen bölgelerini hedeflemiştir.

Mayalarda, internal transcribed spacer (ITS) bölgesine özgü ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılmıştır ve Çizelge 3.3.'te verilmiştir. PCR karışımı bileşenleri ve konsantrasyonları Çizelge 3.4'te verilmiştir [115, 120]. Yaklaşık 700 bp'lik bir bölge amplifiye edilmiştir. PCR reaksiyonu FIREPol® DNA Polymerase (Solis Biodyne, Estonya) ile gerçekleştirilmiş ve PCR programı Çizelge 3.5'te sunulmuştur.

Çizelge 3.3. Maya suşlarında PCR amplifikasyonunda kullanılan primer dizileri

Bölge ve Primerlerin Adı	Sekans (5'-3')
ITS 1 ileri yönlü	5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'
ITS 4 geri yönlü	5'TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'

Çizelge 3.4. Maya suşlarına ait PCR reaksiyon karışımı ve konsantrasyonları

Bileşen	Stok Konsantrasyonu	Reaksiyon Konsantrasyonu
PCR Buffer	10X	1X
MgCl ₂	25mM	1,5 mM
dNTP mix	20 mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R. Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polymerase	5U/ µl	2 U
PCR grade su ile 35 µl'ye tamamlanır.		

Çizelge 3.5. Maya suşlarına uygulanan PCR programı

İşlem	Sıcaklık	Süre	Döngü
İlk Denatürasyon	95°C	5 dakika	1
Denatürasyon	95°C	45 saniye	40
Tavlama	57°C	45 saniye	40
Uzama	72°C	60 saniye	40
Son Uzama	72°C	5 dakika	1

Bakterilerde, 16S rRNA genine özgü 27F ve 1492R primerleri kullanılarak [121, 122] yaklaşık 1470 bp'lik bölge çoğaltılmıştır, kullanılan primerler Çizelge 3.6'da verilmiştir. Reaksiyon bileşenleri Çizelge 3.7'de, döngü parametreleriye Çizelge 3.8'de sunulmuştur.

Çizelge 3.6. Bakteri suşlarında PCR amplifikasyonunda kullanılan primer dizileri

Bölge ve Primerlerin Adı	Sekans (5'-3')
16S Ribozomal RNA	
27F	5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3'
1492R	5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3'

Çizelge 3.7. Bakteri suşlarına ait PCR reaksiyon karışımı ve konsantrasyonları

Bileşen	Stok Konsantrasyonu	Reaksiyon Konsantrasyonu
PCR Buffer	10X	1X
MgCl ₂	25mM	1,5 mM
dNTP mix	20 mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R. Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polymerase	5U/ µl	2 U
PCR grade su ile 35 µl'ye tamamlanır.		

Çizelge 3.8. Bakteri suşlarına uygulanan PCR programı

İşlem	Sıcaklık	Süre	Döngü
İlk Denatürasyon	95°C	5 dakika	1
Denatürasyon	95°C	45 saniye	40
Tavlama	57°C	45 saniye	40
Uzama	72°C	60 saniye	40
Son Uzaman	72°C	5 dakika	1

Tüm PCR işlemleri, PCR Supercycler (Kyrattec) termal döngü cihazında yürütülmüştür.

3.2.2.3. Jel Elektroforezi ile Görüntüleme

PCR ürünlerinin doğrulaması için %1,5 agaroz jel elektroforezi uygulanmıştır. Jel, 1x TAE tamponu içinde hazırlanmış ve etidyum bromür (0,5 µg/mL) ile boyanmıştır. Yükleme öncesinde PCR ürünleri DNA marker (100–300 bp) ve BioShop yükleme boyası ile karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez, 100 V'da 90 dakika sürdürülmüş ve görüntüleme 312 nm UV ışık altında (Vilber Loumat, Fransa) gerçekleştirilmiştir [122, 123].

3.2.2.4. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

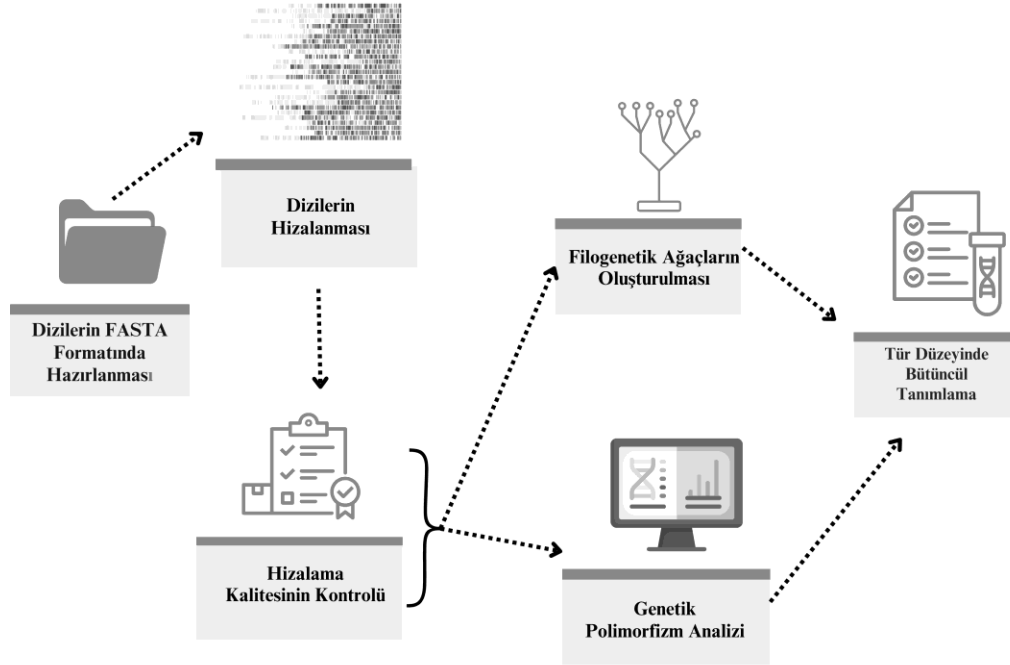
Amplifiye edilen DNA ürünleri, MAGBIO HighPrep™ PCR Clean-up System (AC-60005) ile saflaştırılmıştır. Saflaştırma işlemi manyetik boncuk temelli bir sistemle yürütülmüş; PCR ürünleri %80 etanol ile iki kez yıkanmış, ardından elüsyon tamponu (Tris-HCl pH 8.0 veya TE) ile çözülerek eluat temiz bir tüpe aktarılmıştır. Saflaştırılmış ürünler, dizi analizi için saklanmıştır [124].

3.2.2.5. Dizi Analizi

Saflaştırılan PCR ürünleri, Macrogen (Hollanda) laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger DNA sekans cihazı ve BigDye Terminator v3.1 kiti ile dizilenmiştir. ITS1–ITS4 (maya) ve 27F–1492R (bakteri) primerleriyle elde edilen okuma sonuçları, BioEdit yazılımında CAP Contig Assembly algoritması kullanılarak birleştirilmiş ve konsensus diziler oluşturulmuştur. Sekans hizmeti, örneklerin soğuk zincir koşullarında taşınması sağlanarak gerçekleştirilmiştir. Bu hizmet alımı süreci, BMLabosis BM Lab. Sist. Ltd. Şti. aracılığıyla yürütülmüştür [115, 122].

3.2.3. Biyoinformatik Analizler

Bu çalışmada, HUFCC koleksiyonunda yer alan maya ve bakteri suşlarının tür düzeyinde tanımlanması ve tür içi genetik varyasyonlarının belirlenmesi amacıyla çeşitli biyoinformatik analizler uygulanmıştır. Genel analiz iş akışı Şekil 3.2’de sunulmaktadır.



Şekil 3.2. Biyoinformatik analizlere yönelik genel iş akış diyagramı

3.2.3.1. Dizi Kalite Kontrolü ve Konsensüs Dizi Oluşturulması

Sanger sekanslama ile elde edilen ham diziler, FinchTV (Digital World Biology) yazılımı ile kalite açısından değerlendirilmiştir. Pik şekli, sinyal yoğunluğu ve arka plan gürültüsüne göre düşük kaliteli bölgeler elenmiş; ileri (forward) ve geri (reverse) diziler hizalanarak çift yönlü (konsensüs) diziler oluşturulmuştur. Oluşturulan diziler, MultAlin (INRAE, Toulouse) aracılığıyla hizalanarak doğrulanmıştır. Bu aşama, BLAST analizi ve diğer filogenetik analizler için yüksek kaliteli dizilerin elde edilmesini sağlamıştır [125]

3.2.3.2. BLAST Analizi ile Tür Tayini

Konsensüs diziler, NCBI veri tabanında BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) aracılığıyla analiz edilmiştir. Her bir dizi için maksimum skor, toplam skor, % sorgu kapsama oranı, benzerlik yüzdesi, E-değeri gibi istatistiksel parametreler Çizelge 3.9’da verilmiştir [125, 126].

Çizelge 3.9. BLAST analizinde kullanılan temel istatistiksel parametreler

İstatistiksel Değer	Açıklama
Maksimum Skor	Sorgu ve referans dizisi arasındaki en yüksek puanlı hizalamanın skorudur; hizalamanın kalitesini gösterir.
Toplam Skor	Tüm yüksek puanlı segmentlerin (HSP) skorlarının toplamıdır; toplam benzerliği ifade eder.
% Sorgu Kapsamı	Sorgu dizisinin referansla ne kadarının örtüştüğünü yüzde olarak belirtir.
Tanımlama Yüzdesi	Hizalanan bölgede özdeş olan bazların oranıdır.
Beklenen Değer (E-value)	Elde edilen skorun rastgele oluşma olasılığıdır; daha düşük değer daha anlamlı eşleşme demektir.

3.2.3.3. Filogenetik Ağaçların Oluşturulması

Tür düzeyinde doğrulanan diziler, FASTA formatında üç kümeye (maya ITS, bakteri 16S) ayrılmıştır. Bu diziler, MAFFT yazılımı ile hizalanmış, hizalama güvenilirliği GUIDANCE2 ile değerlendirilmiş ve hizalamalardaki aşırı boşluk ve kaymış bölgeleri gidermek amacıyla TrimAl (v1.4) kullanılarak %50 boşluk eşiğiyle (-gt 0.5) trim işlemi uygulanmış, hizalanmış diziler, MEGA 11 programına aktarılmış ve en uygun ikame modeli Bayesian Information Criterion (BIC) ile belirlenmiştir. Komşu birleştirme (NJ) yöntemiyle 1000 bootstrap tekrarı kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuş ve iTOL’da bootstrap değerleri ile dal uzunlukları belirginleştirilmiş, tür adları türe özgü renklerle kodlanarak okunabilirlik artırılmıştır [51, 68, 127, 128].

3.2.3.4. Genetik Polimorfizm Analizi

Saccharomyces cerevisiae, *Metschnikowia pulcherrima*, *Priceomyces carsonii*, *Naganishia uzbekistanensis*, *Wickerhamomyces anomalus* ile *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türleri için genetik çeşitlilik analizleri yürütülmüştür.

Çoklu diziler MUSCLE ile hizalanmış, ardından DnaSP v5.10 yazılımı ile haplotip sayısı (H), segregasyon bölgeleri, haplotip çeşitliliği (Hd) ve nükleotid çeşitliliği (π) hesaplanmıştır [65, 129-131]. Genetik uzaklık matrisi MEGA 11 yazılımında (p-distance) oluşturulmuştur. Hizalanmış dizilerden türetilen SNP (Tek Nükleotit Polimorfizmi) tabanlı p-distance matrisi oluşturulmuş ve Python ortamında matris şeklinde görselleştirilmiştir.

3.2.3.5. Konsensüs Dizi Temelli DNA Barkodlarının Oluşturulması

Tür düzeyinde temsil edici konsensüs diziler, MUSCLE v5 ile hizalanmış ve UGENE yazılımı ile %70 benzerlik eşiği kullanılarak tek bir temsilci dizi elde edilmiştir.

Bu diziler, Python 3.11 ve Matplotlib 3.8 kullanılarak barkod formatında görselleştirilmiş; nükleotidler farklı renklerle kodlanarak barkodlar 300 dpi çözünürlükte şeffaf PNG formatında dışa aktarılmıştır [45, 46]. Örnek DNA barkodu görseli Şekil 3.3.'te verilmiştir.

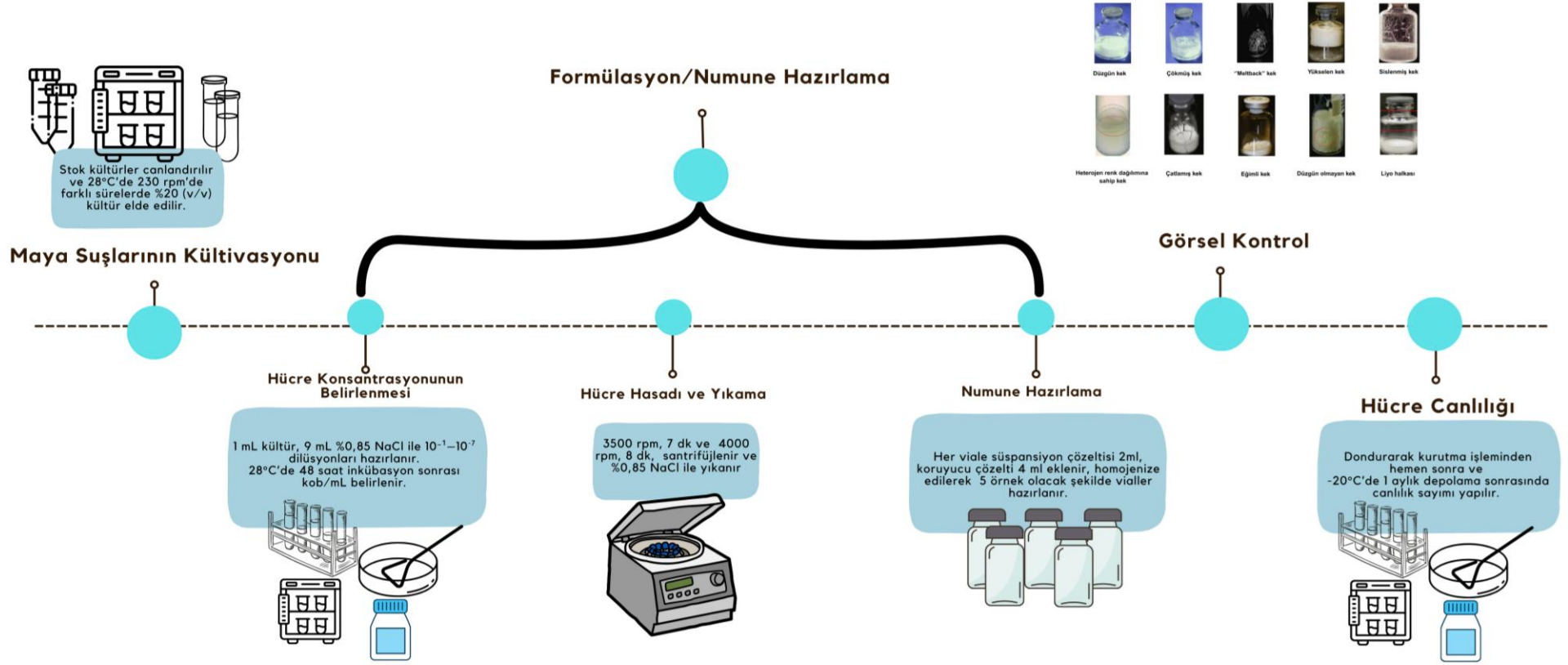


Şekil 3.3. Örnek DNA barkodu görseli

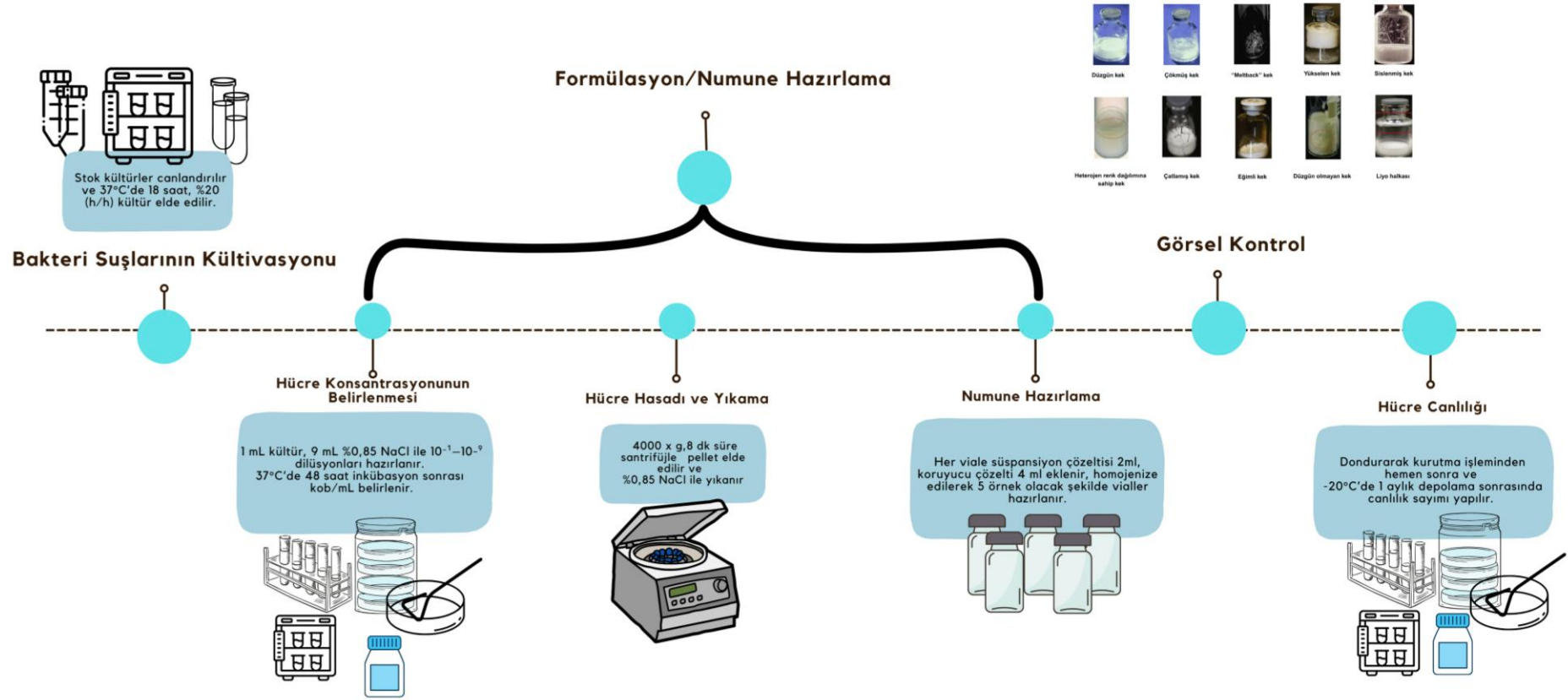
(renk kodlamaları: ■ A ■ T ■ G ■ C ■ N)

3.2.4. Liyofilizasyon Uygulamaları

Bu bölümde, maya ve bakteri suşlarının liyofilizasyon süreçleri, formülasyon hazırlığı, dondurarak kurutma işlemleri ve toplam canlı hücre analizleri detaylandırılmıştır. Genel iş akış diyagramları Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te sunulmuştur.



Şekil 3.4. Maya suşlarının liyofilizasyonuna yönelik iş akış şeması



Şekil 3.5. Bakteri suşlarının liyofilizasyonuna yönelik iş akış şeması

3.2.4.1. Maya Suşlarında Liyofilizasyon Süreci

a) Kültivasyon: Tez kapsamında seçilen maya suşları, HUFCC’de kriyo-boncuklu stoklardan alınarak YPD Broth ortamına inoküle edilmiştir. Kullanılan deney prosesinde Chin ve arkadaşlarının [87] *Saccharomyces cerevisiae* suşları için kullandığı yöntem modifiye edilerek 28°C’de 210 rpm’de çalkalamalı inkübatörde %20 (h/h) konsantrasyonunda (Bioevopeak ICB-S200B, Çin) 20 saat inkübe edilmiştir. Diğer maya türleri için kullanılan inkübasyon süreleri Çizelge 3.10’da verilmiştir.

Çizelge 3.10. Maya türlerine ait inkübasyon süreleri (28°C, 230 rpm)

Tür Adı	İnkübasyon Süresi	Kaynak
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	40 saat	[132]
<i>Naganishia uzbekistanensis</i>	65 saat	[133]
<i>Priceomyces carsonii</i>	40 saat	[134]
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	24 saat	[135]
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	48 saat	[136]
<i>Solicoccozyma aeria</i>	65 saat	[137]
<i>Yarrowia lipolytica</i>	40 saat	[138]

b) Hücre Konsantrasyonu ve Hasadı: Bu aşama, Bond ve arkadaşları [108], Guowei ve arkadaşları [139] ile Soyoung ve arkadaşları [140] tarafından kullanılan yöntemlerin modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Kültürlerin hücre yoğunluğu, seri seyreltme (10^{-1} ’den 10^{-6} ’ya kadar) ve yüzeye yayma yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Sayımı yapılabilir nitelikteki koloniler (20–200 kob) değerlendirmeye alınmıştır [95]. Ardından, kültürler iki aşamalı santrifüj işlemi uygulanmıştır. İlk aşamada 3500 rpm’de 7 dakika santrifüj (Nüve, Ankara/Türkiye, NF-800) edilerek pellet oluşturulmuş, ardından bu pellet 6 ml %0,85’lik NaCl çözeltisi ile yıkanmış ve ikinci aşamada 4000 rpm’de 8 dakika santrifüj edilerek tekrar pellet elde edilmiştir.

c) Formülasyon ve Koruyucu Ekleme: Maya suşları için Bond ve arkadaşlarının [108] kullandığı koruyucu bileşen formülü esas alınıp modifiye edilmiştir. Elde edilen pellete 2 ml % 0.85 NaCl çözeltisi eklenerek süspanse edilmiştir. Homojenize edildikten sonra, 1:1 (v/v) oranında %10 (w/v) trehaloz dihidrat (BLDpharm, Çin, Ürün Kodu: BD21784-100g, CAS 6138-23-4) ve %10 (w/v) yağsız süt (Condalab, Spain, Ürün Kodu: 0230, CAS 999999-99-4) yer alan koruyucu çözelti, 1:2 (v/v) oranında eklenip homojenize edilmiştir [88]. 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Liyofilize kültür süspansiyonu, 5 ml’lik kriyoviallere (Microcult Türkiye, Ürün Kodu:233050) 2 ml’lik eşit hacimde 5’er örnek hazırlanacak şekilde dağıtılmıştır.

3.2.4.2. Bakteri Suşlarında Liyofilizasyon Süreci

a) Kültivasyon: Tez kapsamında seçilen bakteri suşları, HUFCC’de kriyo-boncuklu stoklardan alınarak, laktobasiller için MRS Broth, diğer cinsler için M17 Broth içeren ortamlara inoküle edilmiştir. Takip edilen deney prosesinde, Bodzen ve arkadaşlarının kullandığı metot [141] modifiye edilerek %20 (h/h) oranında kültür hazırlanarak 37°C’de 20 saat inkübe edilmiştir.

b)Hücre Konsantrasyonu ve Hasadı: Bu çalışmada, Soyoung ve arkadaşlarının [140] kullandığı yöntem, aşağıdaki şekilde modifiye edilerek uygulanmıştır. Öncelikle kültürler 10^{-1} ’den 10^{-7} ’ye kadar seri seyreltilerek yüzeye yayma yöntemiyle 37 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 20–200 koloni arası sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır[95]. Daha sonra kültürler iki ardışık turda, her turda $4000 \times g$, 10 dk olacak şekilde santrifüj edilmiştir. İlk turda elde edilen pellet , ikinci tur öncesi 6 mL %0,85 NaCl ile yıkanıp tekrar $4000 \times g$, 10 dk santrifüj edilerek tekrar pellet elde edilmiştir [141].

c)Formülasyon ve Koruyucu Ekleme: Santrifüj sonucu elde edilen pellet, 2 ml % 0.85 NaCl çözeltisi eklenerek süspanse edilip homojenize edilmiştir. Ardından 1:1 (v/v) oranında %10 (a/h) süzkroz (Ultra Pure, BioShop, Canada, Ürün Kodu: SUC507, CAS 57-50-1) ve %10 (a/h) yağsız süt tozu (Condalab, Spain, Ürün Kodu: 0230, CAS 999999-99-4) içeren koruyucu çözelti, 1:2 (v/v) oranında eklenip tekrar homojen hale getirilmiştir [95]. Ardından 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Liyofilize kültür süspansiyonu, 5 ml’lik kriyoviallere (Microcult Türkiye, Ürün Kodu:233050) 2 ml’lik hacimlerde 5’er örnek hazırlanacak şekilde eklenmiştir.

3.2.4.3. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)

Hazırlanan kültür süspansiyonları -80°C’de 18 saat dondurulmuş, ardından Faithful FSF 18N 60C cihazında -50°C ve örnek hacmine göre değişen basınç koşullarında (0.15 mbar gibi) 42 saat boyunca dondurarak kurutma işlemi uygulanmıştır [110].Dondurarak kurutma işlemi, ilgili cihazın bulunduğu HÜNİTEK (Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi)’ten hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.4. Liyofilize Kùltürlerin Kek Morfolojisi ve Saflık Açısından Kalite Kontrolü

a) Liyofilize Kùltürlerin Saflık Açısından Kalite Kontrolü

Liyofilize kùltürlerin mikrobiyel çeşitliliğin korunmasındaki temel koşullardan biri, kùltürlerin saf (kontaminasyondan arındırılmış) olmasıdır. Bu nedenle, her suşa ait hazırlanmış liyofilize kùltür örneklerinden biri kullanılarak saflık kontrolü gerçekleştirilmiştir. Kontrol amacıyla kùltürler uygun besiyerlerine ekilmiş ve önceki aşamalarda belirtilen inkübasyon koşullarında çoğaltılmıştır. İnkübasyon sonunda koloni morfolojileri değerlendirilmiş ve kontaminasyon varlığı açısından incelenmiştir. Böylece kùltürlerin saf olarak depolandığı doğrulanmıştır.

b) Liyofilize Kùltürlerin Morfolojik Değerlendirmesi

Üretilen liyofilize kùltürler, literatürde tanımlanan morfolojik kriterlere göre değerlendirilmiştir. Bu kriterler arasında: kek büzülmesi, çatlama, buğulanma, volkan, kabuk oluşumu, camsı damlacıklar, renk ve doku değişimleri yer almaktadır [95, 142, 143]. Değerlendirmeye ilişkin örnek görseller Şekil 3.6’da sunulmuştur.



Şekil 3.6. Liyofilize kùltürlerin kek morfolojisine ilişkin örnek görseller

c) Liyofilize Kùltürlerin Toplam Canlı Hücre Sayımı

Liyofilize maya ve bakteri kùltürleri aşağıda verilen yöntemlerle canlı hücre sayımına tabi tutulmuştur [87, 110, 139, 144, 145].

Maya Kùltürlerinde Canlılık Analizi: Liyofilize maya kùltürleri, dondurarak kurutmadan sonra ve -20°C’de 30 gün saklandıktan sonra canlılık sayımına tabi tutulmuştur. İlgili yöntem aşağıda verilmiştir.

Aseptik koşullarda vialin kapağı açılarak. 5 ml steril YPD sıvı besiyeri içeren tek bir test tüpünden steril bir 0,75 mL çekilip doğrudan pelet üzerine yavaşça eklenmiştir. 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra süspansiyon oluşturmak için pipetleme yapılmıştır. Süspansiyon, aseptik olarak steril YPD sıvı besiyeri içeren test tüpüne geri aktarılmıştır. Kùltür vorteksle homojenize edilmiştir. Test tüpü oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra maya kùltüründen 1 ml alınarak 10⁻¹’den 10⁻⁵’a kadar seri dilüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan ve 10⁻⁵’ten YPD agara 2 paralelli yüzeye yayma yöntemiyle canlılık analizi yapılmıştır. Petrilerde 20-200 koloni arası tespit edilen sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır. Sonuç kob/ml olarak verilmiştir. Canlılık hücre sayımı sırasında makroskobik morfoloji ve saflık kontrolü yapılmıştır. Liyofilizasyondan önceki canlılık değeri (kob/ml) , liyofilizasyondan sonra elde edilen ve -20°C’de 30 günlük depolama sonrasında elde edilen canlılık değeriyle Denklem 1 kullanılarak kıyaslanmıştır. Liyofilizasyondan sonra ve 30 gün süreyle -20°C’de depolama sonrası yapılan sayımlar Denklem 1 ile kullanılarak canlı kalma oranı hesaplanmıştır.

$$\text{Canlı Kalma Oranı (\%)} = \frac{(\text{Liyofilizasyon sonrası canlı hücre sayısı (kob/mL)})}{(\text{Liyofilizasyon öncesi canlı hücre sayısı (kob/mL)})} \times 100$$

(Denklem 1)

Bakteri Kùltürlerinde Canlılık Analizi: Laktobasil cinsi bakteriler için MRS Agar ve MRS sıvı besiyeri, diğer bakteriler için M17 Agar ve M17 sıvı besiyeri kullanılmıştır. Verilen metotta agar ve sıvı besiyeri olarak genel ifadelerle belirtilmiştir. Yukarıdaki metoda benzer bir akış takip edilmiştir. Farklılıklar, dilüsyonların 10⁻¹’den 10⁻⁷’ye kadar hazırlanması ve yüzeye yayma yönteminde 10⁻⁷ dilüsyonu kullanılması şeklindedir.

3.2.5. Veri Tabanı Geliştirme

Mikrobiyel kültür koleksiyonlarının verilerinin sistematik olarak saklanması, erişimi ve yönetimi, veri bütünlüğünün korunması ve araştırma süreçlerinin hızlandırılması açısından kritik öneme sahiptir. Bu doğrultuda, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu (HUFCC) kapsamında, laboratuvar ölçekli suş verilerinin dijital ortamda yönetilebilmesini sağlamak amacıyla, uluslararası kabul görmüş veri sistemleri (ATCC, DSMZ, Westerdijk Institute) örnek alınarak merkezi, kullanıcı dostu ve işlevsel bir web tabanlı mikrobiyel veri tabanı geliştirilmiştir [146].

Bu çalışmada izole edilen mikroorganizmalara ait tüm fenotipik ve moleküler karakterizasyon verileri, sürdürülebilir bir biyolojik kaynak yönetimi amacıyla yapılandırılmış bir veri tabanına aktarılmıştır. Geliştirilen veri tabanı hem kültür koleksiyonunun dijital arşivlenmesi hem de ileri analizlerde kullanılacak güvenilir referans verilerin oluşturulması açısından önemli bir altyapı sunmaktadır. Bu kapsamda gerçekleştirilen işlemler, Şekil 3.7’de genel iş akışı olarak sunulmuştur



Şekil 3.7. HUFCC veri tabanı geliştirme süreci iş akış şeması

3.2.5.1. Verilerin Sınıflandırılması ve Hazırlanması

Veri tabanına aktarılmadan önce her suşa ait bilgiler, kaynak , izole edildiği ortam, morfolojik özellikler (koloni morfolojisi, basit boyama ve Gram boyama sonuçları), biyokimyasal testler (katalaz aktivitesi, şeker fermentasyonu), proteomik (MALDI-TOF MS) , genomik (16S rRNA ve ITS sekansları) ve biyoinformatik (BLAST sonuçları, genetik polimorfizm, filogenetik analiz vb.) gibi kategorilere ayrılarak sınıflandırılmıştır.

Her bir parametre için standart veri giriş şablonları oluşturulmuş, eksik veya uyumsuz veri girişleri düzenlenmiştir.

3.2.5.2. Dijital Formatlama ve Kodlama

Suşlara ait veriler, tablo formatında (csv uzantılı dosya) yapılandırılmış olup her satır bir suşu, her sütun ise belirli bir fenotipik, genotipik ve karakteristik özelliği temsil etmektedir. Daha önceki çalışmalarda oluşturulan [103, 105] iki farklı kodlama sistemi olarak Çizelge 3.11.'de verilen kodlama sistemi benzersiz bir anahtar olarak tanımlanmış ve tüm veriler bu anahtarlar aracılığıyla ilişkilendirilmiştir. Moleküler tanımlama sonuçları barkod görseli formatında arşivlenirken, fenotipik veriler sayısal veya sınıflandırılmış kategorik veri biçiminde düzenlenmiştir. Renkli barkod görselleri gibi destekleyici grafik materyaller, veri tabanı içerisine görsel belge olarak entegre edilmiştir.

HU	F	17	N	3	A	1	0	0	1
Hacettepe Üniversitesi	FoodOmics Laboratuvarı	İzolasyon Yılı	İzolasyonu Yapan Kişi	Grup	Bölge, Ürün Türü	Alt Grup	Suş numarası		
HU	F	17	N	M17-M MRS-R	Petri Numarası	0	0	1	
Hacettepe Üniversitesi	FoodOmics Laboratuvarı	İzolasyon Yılı	İzolasyonu Yapan Kişi	Besiyeri	Alt Kaynak	Suş numarası			

Çizelge 3.11. HUFCC’de yer alan suşlara ait tanımlayıcı kimlik bilgileri ve kodlama sistemi

3.2.5.3. Yazılım Altyapısı ve Platform Seçimi

Veri tabanının yazılım altyapısının oluşturulması, öncelikle Microsoft Excel üzerinde standart başlıklarla (suş_kodu, tür, izolasyon_tarihi, örnek_kaynağı, dizi_bilgisi vb.) oluşturulan bir CSV dosyası prototipiyle başlatılmıştır. Ham veriler temizlendikten ve tekrar eden kayıtlar elendikten sonra, ilişkisel modelin taslağı Entity-Relationship (ER) diyagramı temel alınarak çıkarılmış; MySQL’e aktarılan tablolar, suş meta-verileri, deneysel ölçümler, barkod dizileri ve BLAST sonuçları gibi modüller halinde normalizasyon kurallarına uygun şekilde yapılandırılmıştır. Web sitesinin temeli ise tüm sayfalarda ortak kullanılan header, footer ve nav gibi bileşenlerin her sayfaya ait kodda

yer aldığı HTML kodları hazırlanmış, daha sonra kolay yönetilebilir ve dinamik bir alt yapı için PHP kodları hazırlanmıştır. PHP betikleri aracılığıyla MySQL entegrasyonu sağlanmış; suş sorgulama, filtreleme ve PDF formatındaki referans materyal indirme gibi temel işlevler gerçek zamanlı veri tabanı erişimi üzerinden sunulmaktadır. Kod altyapısı, ChatGPT destekli yapay zekâ modeli kullanılarak optimize edilmiş ve otomasyon süreçleri iyileştirilmiştir. Geliştirilen bu sistem, manuel kayıt yöntemlerinin neden olduğu zaman kaybı ve hata risklerini ortadan kaldırarak; araştırmacıların veriye hızlı, güvenli ve organize bir şekilde ulaşmasını sağlamaktadır. HUFCC veri tabanına <https://hufcc.hacettepe.edu.tr> adresinden erişim mümkündür [7, 26, 29].

3.2.5.4. Mikrobiyel Biyolojik Kaynak Merkezi (mBKM) Entegrasyonu ve Sürdürülebilirlik

Geliştirilen veri tabanı, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu (HUFCC)’nin mikrobiyel biyolojik kaynak merkezi olma hedefi doğrultusunda, ileride ulusal ve uluslararası koleksiyonlarla entegre olabilecek şekilde yapılandırılmıştır. Bu sistem, koleksiyon yönetimi, dijital arşivleme, araştırma çıktılarının takibi ve potansiyel iş birlikleri için altyapı sunacaktır. Ayrıca, standartlara uygun etiketleme ve veri erişimi yoluyla akademik, endüstriyel ve kamu paydaşlarının kullanımı için sürdürülebilir bir kaynak olarak planlanmıştır.

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Tez kapsamında elde edilen veriler, deneysel ve biyoinformatik analizlerle değerlendirilmiştir. Liyofilizasyon sürecine ait canlılık verileri (öncesi, sonrası ve 30 günlük depolama) IBM SPSS Statistics v.23.0 yazılımında temel tanımlama analizleri gerçekleştirilerek, tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart sapma, minimum–maksimum, varyasyon katsayısı) hesaplanmıştır.

Liyofilize kùltürlerin morfolojisi, liyofilizasyon sonrası elde edilen örnekler üzerinden değeriendirilmiş; her morfolojik tipin oranı hesaplanarak grafikte görselleştirilmiştir. Koleksiyonda yer alan maya ve bakteri suşlarının tür düzeyinde ve türler arası moleküler karakterizasyonu için çeşitli biyoinformatik araçlar kullanılmıştır. Dizi hizalamalarının kalitesi Guidance2 ile kontrol edilmiş, hizalamalar MUSCLE ve MAFFT algoritmalarıyla yapılmıştır. Filogenetik analizler MEGA11 yazılımında gerçekleştirilmiş, genetik çeşitlilik parametreleri DNAsp ile hesaplanmıştır ortamında yürütölmüş, SNP matrisleri ve görseller Python betikleriyle hazırlanmıştır.

Bu analizler sonucunda, liyofilizasyonun canlılık üzerindeki etkileri ile kùltür koleksiyonunun moleküler düzeyde çeşitliliği sistematik şekilde ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular, koleksiyonun güvenilirliği ve sürdürölebilirliği açısından bilimsel dayanak oluşturmuştur.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Stok Kültürlerin Canlandırılması ve Temel Karakterizasyon Uygulamaları

Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'nda (HUFCC) bulunan, -20°C'deki gliserol stoklarda muhafaza edilen ve önceki çalışmalarda tanımlaması [103, 105] yapılan 83 adet maya suşu, YPD Broth sıvı besiyerinde 28°C ve 24-48 saat inkübe edilmiş ve ardından canlandırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Canlandırma işlemi tamamlanan suşlar, YPD Agar katı besiyerine tek koloni düşürme tekniğiyle inoküle edilmiştir [111, 112]. Katı besiyerinde saf koloni gelişimi ardından koloni morfolojisi belirlenmiştir [42, 115]. Saf koloniler YPD Agar içeren yatık agara inoküle edilmiş ve 28°C'de 24 saat inkübasyonun ardından bir tüp basit boyama tekniğiyle mikroskopik morfolojisi belirlemek amacıyla kullanılmıştır [111, 114, 115]. Ayrıca 2 adet yatık agarda yer alan saf kültür +4°C'de muhafaza edilmiştir. Bundan başka bir adet yatık agarda yeterli gelişim gösteren suşlara ait saf kültürler, üç paralel şekilde bakteri saklama tüplerine (Or-Bank 01 - OR-BAK) inokülasyonu gerçekleştirilmiş ve -20°C'de muhafaza edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan maya suşlarına ait suş kodları, makroskopik ve mikroskopik morfoloji bilgileri Çizelge 4.1.'de yer almaktadır.

Çizelge 4.1. Tez çalışması kapsamında canlandırılan ve morfolojik analizleri yapılan HUF kodlu maya suşları

Suşa Ait Bilgiler		Canlandırma (YPD Broth, 28°C, 24-48 saat)	Saflık Kontrolü (YPD Agar, 28°C, 72 saat)	Morfolojik Analiz	
Suş Kodu (HUF)	Suş Adı			Makroskobik Morfoloji (YPD Agar, 28°C'de 72 saat sonunda yeknesak kolonilerin tespiti)	Mikroskobik Morfoloji (100x mercek, immersiyon yağıyla basit boyama yöntemiyle)
16M0T10001	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, mukoid, düzgün kenarlı,büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M1C0001	<i>S.cerevisiae</i> RSK 08022	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzensiz kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M1C0002	<i>S.cerevisiae</i> ATCC 9763	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M1C0003	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M1C0004	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzensiz kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M2K10004	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M2K10006	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M2K10007	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3B11017	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma

16M3B11021	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3C11032	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3C11033	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3G11088	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3H11101	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3H11104	<i>S. cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzlü, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3C31063	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3C31065	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, konveks, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3C31066	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3D31086	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3D31088	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3E21112	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3E21113	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3F21122	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3F21126	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, yarı saydam, pürüzlü, oval koloni	Basil şeklinde
17M3F21134	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma

17M3F31136	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok, çok yönlü tomurcuklanma
17M3H21208	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3B21008	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, yarı saydam, pürüzsüz, büyük koloni	Basil şeklinde
18M3B21010	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, yarı saydam, pürüzlü, oval koloni	Basil şeklinde
18M3C21001	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3C21010	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, mukoid, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3D21001	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3E21007	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, şeffaf, pürüzlü, küçük koloni	Basil şeklinde
18M3F21012	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3G21009	<i>S.cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, konveks, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3J21008	<i>S. cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, konveks, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3K21007	<i>S. cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, konveks, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
18M3L21008	<i>S. cerevisiae</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
22B1C0001	<i>S. cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma

16M3A11002	<i>Metschnikowia rubicola</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3B11020	<i>Metschnikowia cinsi</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzlü kenarlı,küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3B11023	<i>Metschnikowia cinsi</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3C11034	<i>Metschnikowia cinsi</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzlü kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3D11049	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3D11052	<i>Metschnikowia cinsi</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3G11089	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3C21050	<i>Metschnikowia cinsi</i>	48 saat	+	Beyaz-krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3C31064	<i>Metschnikowia rubicola</i>	24 saat	+	Beyaz-krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3D31090	<i>Metschnikowia cinsi</i>	24 saat	+	Beyaz, pürüzsüz, parlak ve ortası hafif kabarık, büyük koloni	Oval-kok, iki yönlü tomurcuklanma, limon benzeri
17M3E21115	<i>Metschnikowia cinsi</i>	48 saat	+	Krem renkli,yarı saydam, pürüzsüz, konveks, düzgün kenarlı, küçük koloni	Basil şeklinde
17M3E22117	<i>Metschnikowia chrysoperlae</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3F21123	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma

17M3F21125	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, yarı saydam, düzgün kenarlı, büyük koloni	Basil şeklinde
17M3F21127	<i>Metschnikowia</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3F31135	<i>Metschnikowia</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3G31152	<i>Metschnikowia</i> cinsi	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3H21174	<i>Metschnikowia</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, küçük koloni	Basil şeklinde
17M3H21175	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3H22179	<i>Saccharomyces</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, opak, düzgün kenarlı, büyük koloni	Basil şeklinde
17M3H21200	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3H21212	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3B11016	<i>Metschnikowia</i> cinsi	24 saat	+	Beyaz-turuncu renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3D32092	<i>Naganishia</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3D32093	<i>Naganishia</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Stafilokok şeklinde
17M3D32096	<i>Naganishia</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Kok şeklinde
17M3E21110	<i>Naganishia</i> cinsi	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3F21128	<i>Naganishia albida</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma

17M3H22218	<i>Naganishia cinsi</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M2K10003	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M2K10009	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	48 saat	+	Süt beyazı, kuru, donuk ve opak bir yüzeye sahip koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M2K10010	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	48 saat	+	Süt beyazı, kuru, donuk ve opak bir yüzeye sahip koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M3A11003	<i>Hanseniaspora cinsi</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3F31139	<i>Hanseniaspora cinsi</i>	24 saat	+	Beyaz-kremsi, pürüzsüz, parlak ve ortası hafif kabarık koloni	Oval-kok, iki yönlü tomurcuklanma, limon benzeri
17M3F32141	<i>Hanseniaspora cinsi</i>	24 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3H21173	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	48 saat	+	Beyaz renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Kok şeklinde
17M3A21001	<i>Pichia kudriavzevii</i>	48 saat	+	Krem renkli, yarı saydam, opak, pürüzlü, küçük koloni	Basil şeklinde
17M3A31013	<i>Pichia cinsi</i>	48 saat	+	Beyaz renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, küçük koloni	Kok şeklinde
17M3A32019	<i>Pichia kudriavzevii</i>	48 saat	+	Krem renkli, yarı saydam, pürüzlü, küçük koloni	Basil şeklinde
16M3A12012	<i>Solicoccozyma aerea</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
17M3D31087	<i>Cryptococcus cinsi</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzsüz, mukoid, düzgün kenarlı, büyük koloni	Oval-kok , çok yönlü tomurcuklanma
16M2K10011	<i>Yarrowia lipolytica</i>	48 saat	+	Krem renkli, parlak, pürüzlü, limon şeklinde, büyük koloni	Basil şeklinde

Çalışılan suşlar arasında *S. cerevisiae* suşlarının makroskopik morfolojileri parlak, düzgün kenarlı şeklinde bir profile sahipken [147, 148], mikroskopik morfolojileriye çok yönlü tomurcuklanma davranışı gösteren oval hücreler olmalıdır [147, 149]. Bu doğrultuda Çizelge 4.1.'de yer alan *S.cerevisiae* ve *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşlarının makroskopik morfolojileri incelendiğinde, mukoid koloni morfolojisi gözlenen HUF16M0T10001 kodlu suş ve beyaz-turuncu renkli koloni morfolojisi gözlenen HUF16M3B11021 kodlu suş ve basil şeklinde mikroskopik morfoloji gözlenen HUF17M3F21126, HUF18M3B21008, HUF18M3B21010 ve HUF18M3E21007 kodlu suşların yukarıda belirtildiği gibi *S.cerevisiae* morfolojisine uyumlu olmadığı; HUF17M3C31065, HUF18M3G21009, HUF18M3J21008 ve HUF18M3K21007 suşlarının krem renkli, parlak, pürüzsüz, konveks, düzgün kenarlı şeklinde, HUF17M3F21126, HUF18M3B21010, HUF18M3B21008 krem renkli, yarı saydam, pürüzlü şeklinde, HUF18M3E21007 ise krem renkli, parlak, şeffaf, pürüzsüz ve diğer incelenen suşlara kıyasla koloni yarıçapının görece daha küçük olduğu gözlenmiştir. Canlandırılmayan HUF17M3D31089 ve HUF17M3E21114 kodlu suşlara ait morfolojik veriler elde edilememiştir. Diğer suşların ise makroskopik morfolojilerinin literatürde belirtilen genel profile uygun olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında *Metschnikowia* cinsi suşların tipik makroskopik morfolojisi kırmızı/kahverengi/turuncu renkte küçük koloniler şeklinde olabilirken; mikroskopik olarak çok yönlü tomurcuklanma davranışı gösteren oval hücreler şeklinde küresel/eliptik şekilde literatürde yer almaktadır [150]. Bu doğrultuda Çizelge 4.1.'de yer alan *Metschnikowia* cinsi mayalar incelendiğinde; HUF16M3D11049, HUF16M3D11052, HUF16M3G11089, HUF17M3C21050, HUF17M3C31064, HUF17M3D31090, HUF17M3F21123, HUF17M3F31135, HUF17M3G31152, HUF17M3H21200, HUF17M3F21127 kodlu suşlarda krem renkli parlak koloni morfolojisi [147] ve HUF17M3E21115, HUF17M3F21125, HUF17M3H21174, HUF17M3H22179 kodlu suşlarda basil mikroskopik morfolojisi gözlendiği için *Metschnikowia* morfolojisine uyumlu olmadığı HUF16M3A11002, HUF16M3B11020, HUF16M3B11023, HUF16M3C11034, HUF17M3E22117, HUF17M3H21175, HUF17M3H21212 ve HUF16M3B11016 suşlarının beyaz-turuncu (pigment üretimi) renkli, parlak, düzgün kenarlı, tipik maya morfolojisine kıyasla küçük koloni yarıçapına sahip beklenen morfolojide olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında *Naganishia* cinsi suşların tipik makroskobik morfolojisi pürüzsüz ve krem renkli koloniler şeklindeyken [151], mikroskobik morfolojisi olarak küresel-oval hücreler şeklindedir [152]. Bu doğrultuda tez kapsamında yer alan *Naganishia* cinsi mayalar incelendiğinde HUF17M3D32093, HUF17M3D32096 suşlarının diğer incelenen suşlara kıyasla daha küçük koloni oluşturduğu için *Naganishia* morfolojisine uyumlu olmadığı; HUF17M3D32092, HUF17M3E21110, HUF17M3F21128, HUF17M3H22218 suşları krem renkli, parlak, pürüzsüz, büyük koloni şeklinde beklenen morfolojide olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında *Wickerhamomyces anomalus* suşlarının tipik makroskobik morfolojisi, süt beyazı, kuru, donuk ve opak bir profile sahipken [153], mikroskobik morfolojisi çok yönlü tomurcuklanma gösteren oval hücreler olmalıdır [154]. Bu doğrultuda tez kapsamında yer alan *W. anomalus* suşları incelendiğinde HUF16M2K10009 kodlu suşun krem renkli parlak koloni morfolojisinde gözlemlendiği için uyumlu olmadığı; HUF16M2K10009, HUF16M2K10010 suşlarının ise tipik morfolojiyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında *Hanseniaspora* cinsi suşların tipik makroskobik morfolojisi, beyaz ila krem, pürüzsüz, parlak ve ortası hafif kabarık koloni şeklindeyken [155], mikroskobik morfolojileri iki yönlü tomurcuklanma gösteren, apikülat (limon şekilli) hücrelerdir [147]. Bu doğrultuda tez kapsamında yer alan *Hanseniaspora* suşları incelendiğinde; HUF16M3A11003 ve HUF17M3F32141 kodlu suşların krem renkli parlak koloni morfolojisinde olduğu için, HUF17M3H21173 suşunun ise kok şeklinde mikroskobik morfoloji gözlemlendiği için uyumlu olmadığı; HUF17M3F31139 kodlu suşun ise tipik morfolojiyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında *Pichia* cinsi suşların tipik makroskobik morfolojisi, koloniler beyaz veya krem renginde, donuk ve genellikle düzensiz şekildeyken, mikroskobik morfolojileri oval, elipsoidal veya silindirik olarak görünür ve çok taraflı tomurcuklanma gösteren hücreler şeklindedir [147]. Makroskobik morfolojilerin değerlendirilmesi sonucu, HUF17M3A21001 suşunun krem renkli, yarı saydam, küçük koloni, HUF17M3A31013 suşunun beyaz renkli, parlak, düzgün kenarlı, küçük koloni ve HUF17M3A32019 suşunun ise krem renkli, yarı saydam, parlak, küçük koloni şeklinde olduğu ve tipik morfolojiyle benzer özellikler gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında *Cryptococcus* cinsi suşların tipik makroskopik morfolojisi, pürüzsüz koloniler şeklindeyken, mikroskopik morfolojileri küremsi ila oval şeklinde tomurcuklanma gösteren maya benzeri hücreler şeklinde olmalıdır [156]. Bu doğrultuda tez kapsamında yer alan HUF16M3A12012 ve HUF17M3D31087 kodlu suşların tipik morfolojiyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan suşlar arasında *Yarrowia lipolytica* suşunun tipik makroskopik morfolojisi, kremi beyaz renkli koloniler ve parlak veya mat, buruşuk özellikte olabilen koloniler şeklinde tanımlanırken mikroskopik morfolojisi çok yönlü tomurcuklanma gösteren ya da büyüme ortamı koşullarına göre farklı morfolojiler (basil gibi) gösteren hücreler şeklinde olabilir. Bu doğrultuda tez kapsamında yer alan HUF16M2K10011 suşunun tipik morfolojiye uygun olduğu tespit edilmiştir [157, 158].

Sonuç olarak, HUF17M3D31089 ve HUF17M3E21114 kodlu suşlar canlandırılmadığı; HUF17M3D32093, HUF17M3D32096 ve HUF17M3A1013 kodlu suşlar ise morfolojik uyumsuzluk gösterdiği için dizi analizine dâhil edilmemiştir. Buna karşılık, yatık agarda yeterli gelişim gösteren ve üç paralel şeklinde gliserol stokta saklanan toplam 78 maya suşu sonraki aşamalara alınmıştır.

Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonun'da (HUFCC) bulunan, -20°C'deki gliserol stoklarda muhafaza edilen ve önceki çalışmalarda [105] tanımlamaları yapılan 22 adet bakteri suşu ve saf kültürleri elde edilmiş ancak tanımlamaları önceki çalışmalarda yapılmamış 15 izolatla çalışılmıştır. Bakteri suşlarından laktobasiller MRS broth; laktokok ve streptokoklar ise M17 sıvı besiyerine ekilerek 37°C'de 24 saat inkübasyonu ile canlandırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Canlandırma işlemi tamamlanan suşlar, katı besiyerine tek koloni düşürme tekniğiyle inoküle edilmiştir [111, 112]. Katı besiyerinde saf koloni gelişimi gözlemlendiğinde koloni morfolojisi belirlenmiş [42] ve saflık kontrolünün ardından katı besiyeri içeren yatık agarlara inoküle edilmiştir. Yatık agarda 37°C'de 24 saat sonunda yeterli gelişim gösteren bakteri suşlarına ait saf kültürler, üç paralel şeklinde bakteri saklama tüplerine inoküle edilmiş ve -20°C'de muhafaza edilmiştir. Petri kutusunda yer alan kültürler +4°C'de muhafaza edilmek üzere saklanmıştır. Bakteri suşlarına yönelik glukoz fermantasyon testi [111, 119] ve katalaz testi [117] yapılmıştır. Bu doğrultuda çalışılan suşlara ait suş

kodları, makroskopik ve mikroskopik morfoloji bilgileri, glukoz fermantasyon ve katalaz testi sonuçları Çizelge 4.2.'de yer almaktadır.

Çizelge 4.2. Tez çalışması kapsamında canlandırılan ve morfolojik analiz ve biyokimyasal testleri yapılan HUF kodlu bakteri suşları

Suş Bilgileri		Canlandırma (MRS/ M17 Broth, 37°C, 24-48 saat)	Saflık Kontrolü (MRS/ M17 Agar, 37°C, 48 saat)	Morfolojik Analiz		Biyokimyasal Testler		
Suş Kodu (HUF)	Suş Adı			Makroskobik Morfoloji	Mikroskobik Morfoloji	Glukoz Fermantasyon Testi		Katalaz Testi
						Asit Oluşumu	Gaz Oluşumu	
19ZN1R1001	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, basil şeklinde hücreler	-	-	-
19ZN1R1002	<i>Lactobacillus delbruecki</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam, düz, küçük koloniler	Gram pozitif, basil şeklinde hücreler	+	-	-
18ZN4R1011	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, basil şeklinde hücreler	+	-	-
18ZN5R1018	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN1M1001	<i>Lactococcus lactis</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif,kok şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN2M1012	<i>Streptococcus thermophilus</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	-	-	-
19ZN2M1013	<i>Lactococcus lactis</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN4M1027	<i>Lactococcus lactis</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kokobasil şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN6M1035	<i>Lactococcus lactis</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN7M1043	<i>Lactococcus lactis</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN10M1058	<i>Lactococcus lactis</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	-	-	-

19ZN7M1039	<i>Streptococcus thermophilus</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
18ZN5R2031	<i>Lactobacillus crispatus</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kokobasil şeklinde hücreler	+	-	-
18ZN1M1002	<i>Lactococcus lactis</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	-	-	-
22BDT2034	<i>Streptococcus thermophilus</i>	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN1R1013	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> LGG	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, basil şeklinde hücreler	+	-	-
18ZN2R1004	<i>Levilactobacillus brevis</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, basil şeklinde hücreler	-	-	-
19ZN3R1008	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	24 saat	+	Beyaz, yarı saydam, düz, küçük koloniler	Gram pozitif, basil şeklinde hücreler	+	-	-
18ZN9R2019	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	24 saat	+	Beyaz, parlak, düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	-	-	-
18ZN3R2029	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, basil şeklinde hücreler	-	-	-
19ZN3R1010	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	24 saat	+	Beyaz, parlak, konveks, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
19ZN5R1017	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	24 saat	+	Beyaz,parlak,konveks, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	+	-	-
24N4K4001	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4002	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4003	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4004	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND

24N4K4005	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4006	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4007	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4008	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4009	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4011	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4012	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4013	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4014	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4015	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND
24N4K4016	*	24 saat	+	Beyaz,yarı saydam,düz, küçük koloniler	Gram pozitif, kok şeklinde hücreler	ND	ND	ND

*, ND: 24NK4001-16 kodlu izolatların saf kültürleri elde edilmiş ancak tanımlamaları önceki çalışmalarda yapılmamış olması nedeniyle daha ileri aşamalarda moleküler yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Bu izolatlar sürece daha geç dahil edildikleri için glukoz fermentasyon ve katalaz testleri uygulanmamıştır.

Çizelge 4.2.'de yer alan suşlar, laktik asit bakterileri (LAB) grubunun temel cinsleri arasında bulunduğu için bundan sonraki kısımda grup ismiyle belirtilecektir [159]. LAB bakteri suşlarının makroskobik morfolojileri beyaz veya krem, dairesel şekilli, düzgün kenarlı ve/veya konveks şeklinde bir profile sahip olmalıdır [160, 161]. Bu doğrultuda çalışılan suşlar arasında 19ZN1R1001 kodlu suşun beyaz, yarı saydam, düzgün kenarlı, görece küçük koloniler şeklinde; 18ZN5R1018 suşunun beyazımsı, düzgün kenarlı koloniler şeklinde; 19ZN1R1002, 19ZN1M1001 suşlarının beyazımsı, düz, görece küçük koloniler şeklinde; 19ZN2M1013, 19ZN4M1027 suşlarının beyaz, konveks, düzgün olmayan kenarlı koloniler şeklinde; 19ZN6M1035 suşunun beyaz, yarı saydam, düzgün olmayan koloniler şeklinde; 18ZN4R1011, 22BDT2034, 18ZN2R1004, 19ZN3R1008, 18ZN9R2019, 19ZN1R1013 suş kodlu suşların, beyaz, düz, görece küçük koloniler şeklinde; 19ZN2M1012, 19ZN7M1039, 19ZN3R1010, 19ZN5R1017 kodlu suşların, beyaz, konveks, görece küçük koloniler şeklinde morfolojiye sahip olduğu; 19ZN7M1043 suşunun beyaz, düzgün kenarlı olmayan, küçük koloniler şeklinde; 19ZN10M1058, 18ZN5R2031 suşunun beyaz, yarı saydam, düzgün kenarlı, küçük koloniler şeklinde; 18ZN1M1002 suşunun beyaz, yarı saydam, düzgün kenarlı koloniler şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde LAB bakteri suşlarının mikroskobik morfolojileri gram pozitif karakter gösteren kok ve basil hücreler şeklinde karakterize edilir [159, 162]. Suşlara dair elde edilen mikroskobik morfolojiler incelendiğinde, 19ZN4M1027, 18ZN5R2031, suşlarının kokobasil şeklinde olduğu; 18ZN2R1004, 18ZN3R2029, 19ZN1R1001, 19ZN1R1002, 19ZN1R1013, 19ZN3R1008, suşlarının basil şeklinde olduğu; 18ZN1M1002, 18ZN4R1011, 18ZN5R1018, 18ZN9R2019, 19ZN1M1001, 19ZN2M1012, 19ZN2M1013, 19ZN3R1010, 19ZN5R1017, 19ZN6M1035, 19ZN7M1039, 19ZN7M1043, 19ZN10M1058 ve 22BDT2034 suşlarının ise kok şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan LAB bakterilerin gram pozitif karakterde olduğu tespit edilmiştir.

Morfolojik değerlendirme ve literatür verilerinin değerlendirilmesi sonucu, 19ZN4M1027, 18ZN9R2019, 19ZN3R1010, 19ZN5R1017 kodlu LAB bakterilerinin beklenen mikroskobik morfolojide olmadığı tespit edilmiştir.

LAB fermantasyon yeteneği açısından, glukozu fermente edebilir ama gaz üretme özelliği olmayan, katalaz negatif karakterde bakteriler şeklinde olmalıdır [163, 164] Çalışmada yer alan laktik asit bakterilerinin 19ZN1R1002, 18ZN4R1011, 18ZN5R1018,

19ZN1M1001, 19ZN2M1013, 19ZN4M1027, 19ZN6M1035, 19ZN7M1039, 19ZN7M1043, 18ZN5R2031, 22BDT2034, 19ZN1R1013, 19ZN3R1008, 19ZN3R1010, 19ZN5R1017 kodlu suşların glukoz fermente ederek asit ürettiği ; diğer suşların fermente edemediği ve asit üretmediği tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan LAB bakterilerinin tamamının katalaz negatif özellikte olduğu tespit edilmiştir [159].

Daha önceki çalışmalarda tanımlanmamış olan 24NK4001-16 kodlu izolatların mikroskopik incelemesinde, gram pozitif ve kok morfolojisinde hücreler gözlemlenmiş ve görüntüde hücre morfolojisi bakımından yeknesaklık olması nedeni ile bu kültürler saf kültür oldukları yönünde karar verilmiştir. Makroskopik olarak ise beyaz, yarı saydam, düz yüzeyli ve küçük boyutlu koloniler oluşturdıkları belirlenmiştir. 24NK4001-16 kodlu izolatların saf kültürleri elde edilmiş ancak tanımlamaları önceki çalışmalarda yapılmamış olması nedeniyle ileri aşamalarda moleküler yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Bu izolatlar sürece daha geç dahil edildikleri için glukoz fermentasyon ve katalaz testleri uygulanmamıştır.

Sonuç olarak yatık agarda yeterli gelişim gösteren ve üç paralel şeklinde saklanan 22 adet LAB bakteri suşu ve saf kültürleri elde edilmiş ancak tanımlamaları önceki çalışmalarda yapılmamış 15 izolat sonraki aşamalara dahil edilmiştir. Çizelge 3.2.'de 22-25. sırada yer alan referans suşlar 12.02.2025 tarihinde temin edildiği ve zaten referans kültür olmaları bakımından ileri analize tabi tutulamamıştır. Kültür koleksiyonuna referans suş olarak eklenmiş olup ilerleyen çalışmalarda kullanmak üzere saklanmıştır.

4.2. DNA Dizi Analizi

Bu çalışma kapsamında, önceki aşamalarda stok kültürleri canlandırılan ve temel karakterizasyon uygulamaları yapılan suşlar, DNA dizi analizine alınmıştır. İlerleyen bölümlerde bu suşlara ait analiz sonuçları yer almaktadır.

Önceki aşamalarda canlandırılan, morfolojik analizleri ve biyokimyasal testleri tamamlanan 22 laktik asit bakterisi ile, tanımlamaları önceki çalışmalarda yapılmamış 15 izolat bu aşamaya dâhil edilmiştir. Belirtilen 15 izolat, analize daha geç dâhil edildiğinden, bu suşlara ait DNA izolasyon kalitesi ve jel elektroforez verileri ilerleyen bölümlerde sunulmamıştır.

Önceki çalışmalarda [104] NCBI veri tabanına LSU dizileri kaydedilen suşlar genek olarak bu aşamaya dahil edilmeyip direkt kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir ancak önceki aşamada morfolojik olarak uyumsuz olduğu tespit edilen 16M0T10001, 16M3B11021, 17M3F21126, 17M3D32093, 17M3D32096 ve 17M3A1013 kodlu suşlar ile önceki aşamada canlandırılmayan 17M3D31089 ve 17M3E21114 kodlu suşlar kültür koleksiyonu dışında bırakılmıştır. NCBI’ a kayıtlı daha önce doğrulanmış dizilere sahip olan 16M1C0002, 16M1C0003 ve 16M3H11104 kodlu suşlar dizi analiz sürecinin güvenilirliğini teyit etmek ve yöntemsel sapmaları tespit edebilmek amacıyla referans olarak kullanılmıştır. Bu nedenle çalışmanın başında yer alan NCBI’ a LSU dizileri kayıtlı 27 maya suşundan 19’ u kültür koleksiyonuna direkt dahil edilmiştir. Özetle önceki aşamalarda canlandırılan, morfolojik analizleri yapılan ve yatık agarda yeterli gelişim gösteren toplam 56 maya suşu ise bu çalışmada kullanılmıştır.

4.2.1. Maya ve Bakteri Suşlarından DNA İzolasyonu

Bakteri ve maya suşlarının DNA izolasyonu EURX markasına ait GeneMATRIX Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURx, Polonya, ürün kodu: E3580) ve ilgili protokol izlenerek gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA konsantrasyon miktarı (ng/µl) ve 260 ile 280 nm’deki OD oranı (A260/280) Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında iki teknik tekrarla gerçekleştirilmiş ve iki ölçüm ortalaması alınarak verilmiştir.

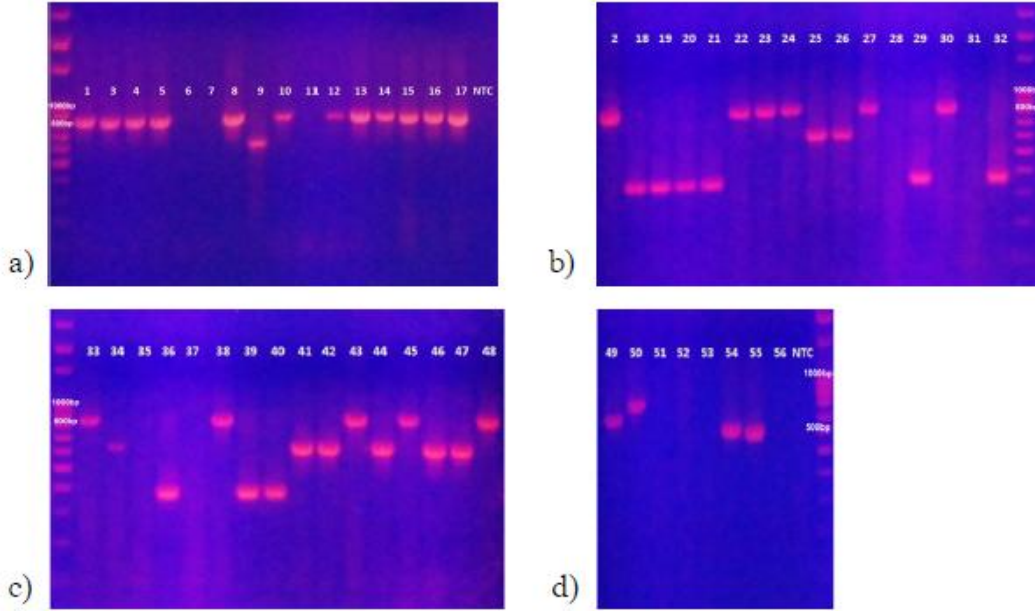
Maya suşlarına ait DNA’ nın saflığını ve miktarını belirten izolasyon kalite verileri EK 1.1. ’de verilmiştir. DNA izolasyonuna dâhil edilen 56 suşun ortalama nükleik asit

derişimi $\approx 25,0 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ 'dir. Değerler $2,20 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ ile $44,65 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ arasında dağılım göstermiştir. Örneklerin standart sapması $6,78 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, buna karşılık varyans $45,90 (\text{ng } \mu\text{l}^{-1})^2$ olarak bulunmuştur. Bu dağılım, temel olarak $20\text{--}35 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ bandında yoğunlaşan ancak $2\text{--}15 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ aralığında az sayıda düşük ve $40 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ üzerindeki yüksek ölçümlerden kaynaklanan geniş bir yayılım sergilemiştir. Aynı örneklerin saflık göstergesi olarak kullanılan A_{260}/A_{280} oranlarının ortalaması $\approx 2,01$ 'dir; bu değer saf DNA için kabul edilen $1,8\text{--}2,0$ aralığıyla uyumlu olduğu görülmüştür. Oranlar $1,70$ ile $2,30$ arasında değişmiştir. Örneklerin standart sapması $0,14$, varyans ise $0,0198$ olarak hesaplanmıştır. Düşük ($\leq 1,80$) veya yüksek ($\geq 2,20$) değerler sınırlı sayıdadır ve genel dağılımın kenarlarını oluşturup büyük çoğunluk $1,90\text{--}2,10$ bandında yoğunlaşmıştır.

Bakteri suşlarına ait DNA'nın saflığını ve miktarını belirten izolasyon kalite verileri EK 1.2.'de verilmiştir. Bu ikinci kümeye ait 20 suşun ortalama DNA derişimi $\approx 31,5 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ 'dir. Ölçümler $22,15 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ ile $44,75 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ arasında dağılmıştır. Örnekler arası değişkenliği gösteren standart sapma $7,65 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, buna karşılık varyans $\approx 58,5 (\text{ng } \mu\text{l}^{-1})^2$ 'dir. Değerlerin büyük bölümü $24\text{--}42 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ bandında toplanmakta, $22 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ 'ye yakın az sayıda düşük ve $44 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ civarında yüksek ölçümler dağılımın uçlarını oluşturmuştur. Aynı numunelerin saflık göstergesi olarak kullanılan A_{260}/A_{280} oranlarının ortalaması $\approx 1,92$ 'dir. Oranlar $1,75$ ile $2,08$ arasında değişmiş; böylece aralık $\approx 0,33$ birim olmuştur. Standart sapma $0,068$, varyans ise $\approx 0,0047$ 'dir. Ölçümlerin çoğu $1,89\text{--}1,99$ bandında yoğunlaşmıştır. DNA'ya RNA karışımını düşündürebilecek $2,08$ 'lik tek bir yüksek değer ve olası protein/fenolik kontaminasyona işaret eden $1,75$ 'lik tek bir düşük değer dağılımın kenarlarını oluşturmuştur [165, 166].

4.2.2. PCR Amplifikasyonu ve Jel Elektroforeziyle Görüntüleme

Maya suşlarının PCR amplifikasyonu ile çoğaltılan ITS bölgesinin miktarının değerlendirilmesi için yapılan jel elektroforez işleminin görüntüleri Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1 Maya suşlarının ITS1 ve ITS4 primerleri ile çoğaltılan PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi. DNA boyut standardı (100–3000 bp); NTC: Negatif kontrol.

(a) Hat 1–HUF16M1C0002, Hat 2–HUF16M1C0003, Hat 3–HUF16M1C0004, Hat 4–HUF16M3H11104, Hat 5–HUF17M3H21208, Hat 6–HUF18M3B21008, Hat 7–HUF18M3B21010, Hat 8–HUF18M3C21001, Hat 9–HUF18M3C21010, Hat 10–HUF18M3D21001, Hat 11–HUF18M3E21007, Hat 12–HUF18M3F21012, Hat 13–HUF18M3G21009, Hat 14–HUF18M3J21008, Hat 15–HUF18M3K21007, Hat 16–HUF18M3L21008, Hat 17–HUF22B1C0001;

(b) Hat 18–HUF16M3A11002, Hat 19–HUF16M3B11020, Hat 20–HUF16M3B11023, Hat 21–HUF16M3C11034, Hat 22–HUF16M3D11049, Hat 23–HUF16M3D11052, Hat 24–HUF16M3G11089, Hat 25–HUF17M3C21050, Hat 26–HUF17M3C31064, Hat 27–HUF17M3D31090, Hat 28–HUF17M3E21115, Hat 29–HUF17M3E221127, Hat 30–HUF17M3F21123, Hat 31–HUF17M3F21125, Hat 32–HUF17M3F21127;

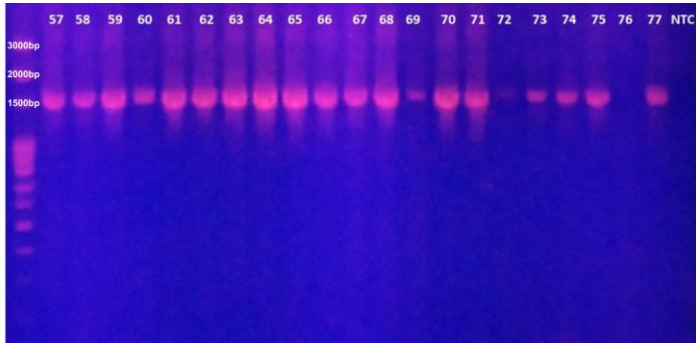
(c) Hat 33–HUF17M3F31135, Hat 34–HUF17M3G31152, Hat 35–HUF17M3H21174, Hat 36–HUF17M3H21175, Hat 37–HUF17M3H22179, Hat 38–HUF17M3H21200, Hat 39–HUF17M3H21212, Hat 40–HUF16M3B11016, Hat 41–HUF17M3D32092, Hat 42–HUF17M3E21110, Hat 43–HUF17M3F21128, Hat 44–HUF17M3H22218, Hat 45–HUF16M2K10003, Hat 46–HUF16M2K10009, Hat 47–HUF16M2K10010, Hat 48–HUF16M3A11003;

(d) Hat 49–HUF17M3F31139, Hat 50–HUF17M3F32141, Hat 51–HUF17M3H21173, Hat 52–HUF17M3A21001, Hat 53–HUF17M3A32019, Hat 54–HUF16M3A12012, Hat 55–HUF17M3D31087, Hat 56–HUF16M2K10011.

Maya suşlarının ITS1 ve ITS4 primerleriyle gerçekleştirilen ve ITS bölgesini hedefleyen PCR amplifikasyonunda farklı büyüklükte PCR ürünleri elde edilmiştir [167, 168]. Buna rağmen farklı hatlarda yer alan HUF18M3B21008, HUF18M3B21010,

HUF18M3E21007, HUF17M3E21115, HUF17M3F21125, HUF17M3H21174, HUF17M3H22179, HUF17M3H21173, HUF17M3A21001, HUF17M3A32019, HUF16M2K10011 suşlarında herhangi bir PCR ürünü elde edilememiştir. Bu suşlar için ilerleyen tarihte DNA izolasyonu ve PCR işlemleri tekrar edilmiştir.

Bakteri suşlarının PCR amplifikasyonu ile çoğaltılan ITS bölgesinin miktarının değerlendirilmesi için yapılan jel elektroforez işleminin görüntüleri Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Bakteri suşlarının 27F ve 1492R primerleriyle çoğaltılmış ve 16S gen bölgesi varlığını gösteren PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi.

DNA boyut standardı (100-3000 bp), NTC (Negatif Kontrol)

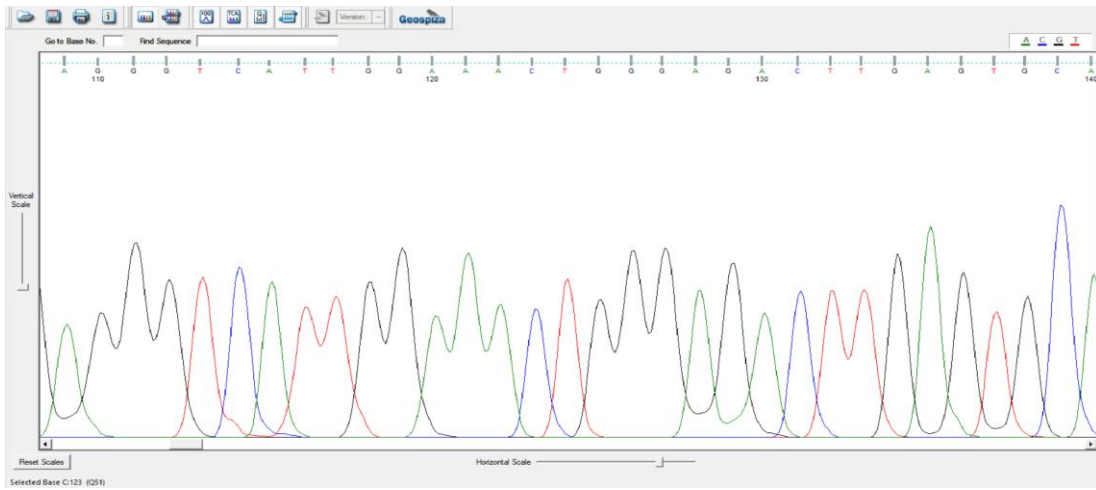
Hat 57-HUF19ZN1R1001, Hat 58-HUF19ZN1R1002, Hat 59-HUF18ZN4R1011, Hat 60-HUF18ZN5R1018, Hat 61-HUF19ZN1M1001, Hat 62-HUF19ZN2M1012, Hat 63-HUF19ZN2M1013, Hat 64-HUF19ZN4M1027, Hat 65-HUF19ZN6M1035, Hat 66-HUF19ZN7M1039, Hat 67-HUF19ZN7M1043, Hat 68-HUF19ZN10M1058, Hat 69-HUF18ZN5R2031, Hat 70-HUF18ZN1M1002, Hat 71-HUF22BDT2034, Hat 72-HUF19ZN1R1013, Hat 73-HUF18ZN2R1004, Hat 74-HUF19ZN3R1008, Hat 75-HUF18ZN9R2019, Hat 76-HUF19ZN3R1010, Hat 77-HUF19ZN5R1017.

Bakteri suşlarının 27F ve 1492R primerleriyle gerçekleştirilen ve 16S bölgesini hedefleyen PCR amplifikasyonunda yaklaşık olarak 1500 bp büyüklüğünde PCR ürünü elde edilmesi beklenmektedir [122, 162]. Bu doğrultuda Hat 76'da yer alan HUF19ZN3R1010 suşuna ait herhangi bir bp büyüklükte PCR ürünü elde edilemediği görülmüştür. Diğer bakteri suşlarına ait yeterli büyüklükte PCR ürünü elde edildiği tespit edilmiştir. Saflaştırılan PCR ürünlerine ait DNA dizileri, MacroGen (Hollanda) laboratuvarında dizi analizine tabi tutulmuştur.

4.3. Biyoinformatik Analizler

4.3.1. Dizi Kalite Kontrolü ve Konsensüs Dizi Oluşturulması

Sanger sekanslama ile elde edilen ham diziler, FinchTV (Digital World Biology) yazılımı ile kalite açısından değerlendirilmiştir. Örnek kalite kontrolüyle ilgili görsel Şekil 4.3.'te verilmiştir. Piklere spesifik olan kalite verileri, piklerin dağılımı gibi faktörler değerlendirmede etkili olmuştur; pik şekli, sinyal yoğunluğu ve arka plan gürültüsüne göre düşük kaliteli bölgeler elenmiştir [169]. İleri ve geri yönlü olmak üzere her suşa ait 2 farklı dizi verisi elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Ham dizi kalite kontrolü (Finch TV programı)

Bu diziler, MultAlin (INRAE, Toulouse) aracıyla hizalanarak konsensüs dizi oluşturulmuştur. İlgili görsel Şekil 4.4.'te verilmiştir. Bu aşama, BLAST analizi ve diğer filogenetik analizler için yüksek kaliteli dizilerin elde edilmesini sağlamıştır [169, 170].

1	GGAAACAGGT GCTAATACG TATAACAAT AAAACCGCAT GGTTTTGATT TGAAGGCCG TTTCGGGTGT CGTGATGGA TGGACCCCG GTCCATTAC TAGTTGGTA GGTAAAGGCT CACCAAGGCC	130
Forward		
Reverse	CGCAGGCGG TTCTTAAGT C--TGATGT AAAGCCCCG GCTCAACG- ---GGAGG GTCAATGGA- -AATGGGAG	
Consensus	caaAGGCGG TTTCggaaGT C..TGATGga aaaaCCCCCG GcgCAacaG.gGgaGa GgcAacGga. .AaCAaGac	
131	ACGATGCATA GCCGACCTGA GAGGTGATC GGCCACATTG GGACTGAGAC ACGGCCCAAA CTCCTACGGG AGGCAGAGT AGGGAATCTT CGGCAATGGA CGAAAGCTGT ACCGAGCAAC GCCGCGTAG	260
Forward		
Reverse	AC-TTGAGT- GCAGAGAG- GAGAGTGGAA TTCCATGT-6 TAGCGGTGAA ATG--CGTAG ATATATGGAG GAACACCACT GGCAGAGCG GCTCTCTGT CTGTAA-CTG AC---GCTGA GGCTCGAAG	
Consensus	AC..aTgaat. GCaGAcacG. GAGaGTGaaa ggCCaAt.6 gaacGgaGaa AcG..CaaAa aTacaacGag aacCACAGT agcGAAGcGg cGcAaATGaa CgaAa..CTG AC...GCaAa GcGCGGaAG	
261	TGAAGAAGT TTTCGGATCG TAAACTCTG TTGTAAAGA AGAACAAGGA TGAGAG-TAA CTGTTTCATCC CTTGACGGTA TCTAACCAAA AA-GCCACGG CTAACACGT --GCCAGCAG CCGCGGTAAT	390
Forward		
Reverse	CGTGGGGAGC AAACAGGATT AGATACCTTG GTAGTCCAG CGGTAAACGA TGAGTGTCTAA GTGTT----- --GGAGGGTT TCCGCCCTTC AGTGTGAG CTAACGATT AAGCACTCG CCGTGGGAGT	
Consensus	cGaaGaaGc aaaCaGaagc aaaaACCTTG gTAgTaaAca acaaaaACGA TGAGag.TAA cTGTT..... .gGAcGGTa TCcaacCaAa Aa.GCcaCaG CTAACgaagT ..GCaagCaG CCGCGGhaT	
391	ACGTAGG--T GGCAAGGTT GTCCGATT ATTGGGCGTA AAGCGAGCG AGGCGT--T TCTTAAGTCT GATGTAAAG CCCCAGGCTC AACCGGGAG GGTCAATTGGA AACTGGGAGA CTGAGTGCA	520
Forward		
Reverse	ACGACCGCAA GGTTTGAACT CAAGAATT GACGG---- -GGCCGAC AAGCGGTGGA GCATGTGTT TAATTGAAG CAACGCGAAG AACCTTACCA GGTCTTGACA TCCT----- -TTGACCACT	
Consensus	ACGaCG..a GGcaaaact caaaGGAaTT aacGGG.... .aGcCaGCaC AaGCGT..a gCaTaaGcT gAagTgaAG CaaCccGaac AACGggacaa GGTCaTgacA aaCT..... -TTGAccaCa	
521	GAAGAGGAGA GTGGAATTCC ATGTGTAGG --GTGAATG CGTAGATATA TGGAGGAACA CCACTGGCGA AGCGGCT-- -CTCTGTCT GTAACAGCAG CTGAGGCTCG AAAGCGTGG GAGCAACAG	650
Forward		
Reverse	TTAGAG-ATA GAGCTTCCCC TTCCGGGGCA AAGTACAGG TGGTGCATGG TTGTCTGAC CTGCTGTCT GAGATGTTGG GTTAAGTCCC GCAACGAGCG CAACCCCTAT TGTAGTTGC CATCATTCAG	
Consensus	gaAGag.Aga GaGcaaccCC aTcGgaGca ..GTGaAGg cGgaGaaaga TgGacGaaaa CcaGTGcGa aaGagGcT... .cTaaGcCc GcAACgaacG Caaacctag aaagaGTGc cAgCAaaCAG	
651	GATTAGATAC CTGTGATC CACGCCGTAA ACGATGAGT CTAAGTGTG GAGGTTTCC GCCCTTCACT GCTGACGTA AC----GCAT TAAGCACTCC GCC-TGGGA GTACGAC--- -CGAAGTGT	780
Forward		
Reverse	TTAGAG-ATA GAGCTTCCCC TTCCGGGGCA AAGTACAGG TGGTGCATGG TTGTCTGAC CTGCTGTCT GAGATGTTGG GTTAAGTCCC GCAACGAGCG CAACCCCTAT TGTAGTTGC CATCATTCAG	
Consensus	..TTaGacAC cCTaGcAaga Ca.GCCGgaa ACaAacAGa cgaAGggggG GAgGacGTca aacCaTCA.T GCCcCagaTa AC....GCaA aAacacGcC aCa.TGGGaA GTACaA.... .cGCaAaGTC	
781	GAACTCAAA GGAATTGAC GGGGCCGCA CAAGCGGTG AGCATGTGT TTAATCGAA -GCAACGG	851
Forward		
Reverse	CGAGGGCTAA GCTAATCTCT TAAAGTTCT CTCAGTTGCG ATTGAGGCT GCAACTCGCC TGCATGAAC C	
Consensus	GaaAcGCaA GcaAaTcaG gaaacGcCa CaaacggcG AgcacGcT gCAACTCGaa .GCAacaaG. .	

Şekil 4.4. Elde edilen iki yönlü dizilerin hizalanması ve konsensüs dizinin eldesi (MultAlin)

4.3.2. BLAST Analizi ile Tür Tayini

Önceki aşamada Sanger dizileme yöntemiyle elde edilen ve gerekli düzenlemeleri yapılmış olan dizi verileri, NCBI BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) platformu üzerinden, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> adresinde yer alan “Nucleotide BLAST” aracı kullanılarak uluslararası veri tabanlarıyla karşılaştırılmıştır. Bu analizler sonucunda maya ve bakteri suşlarının moleküler verileri kullanarak tür düzeyinde tanımlanmasına yönelik bulgular elde edilmiştir.

4.3.2.1. Maya Suşları BLAST Analizi Sonuçları

ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak gerçekleştirilen çift yönlü PCR amplifikasyonu sonucunda yeterli dizi verisi elde edilmiş ve bu veriler, BLAST analizi ile NCBI veri tabanı ile karşılaştırılmıştır. Bazı suşlar için rastgele örnekleme yöntemi ile dizi analizi tekrar gerçekleştirilmiştir [171]. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3.’te sunulmuştur. İlgili dizi verileri EK 1.3.’te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Maya suşlarının ITS bölgesi BLAST analizi sonuçları

Suş Kodu (HUF)	Bilinen Tanımlama Sonucu	BLAST Sonucu Tür Tanımlaması	BLAST Sonucu Tanımlama Yüzdesi
16M1C0002	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.67
16M1C0003	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.05
16M1C0004	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.88
16M3H11104	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%97.62
22B1C0001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.88
17M3H21208	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ND	ND
18M3B21008	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ND	ND
18M3B21010	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ND	ND
18M3C21001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.81
18M3C21010	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Naganishia albida</i> <i>Naganishia uzbekistanensis</i>	%100
18M3D21001	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.39
18M3E21007	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ND	ND
18M3F21012	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.27
18M3G21009	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%100
18M3J21008	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.46
18M3K21007	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.88
18M3L21008	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.17
16M3A11002	<i>Metschnikowia rubicola</i>	<i>Metschnikowia sinensis</i> <i>Metschnikowia chrysoperlae</i> <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%99.18
16M3B11020	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%99.47 %99.21
16M3B11023	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%98.10 %99.00
16M3C11034	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%98.68 %98.63
16M3D11049	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%100

16M3D11052	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%100 %100
16M3G11089	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%99.61
17M3C21050	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Priceomyces carsonii</i>	%99.68 %100
17M3C31064	<i>Metschnikowia rubicola</i>	<i>Priceomyces carsonii</i>	%99.84
17M3D31090	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Hanseniaspora. uvarum</i>	%100
17M3E21115	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Priceomyces carsonii</i>	%100
17M3E22117	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%100
17M3F21123	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%100
17M3F21125	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	ND	ND
17M3F21127	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Priceomyces carsonii</i>	%99.82
17M3F31135	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%98.35 %100
17M3G31152	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Priceomyces carsonii</i>	% 99.84
17M3H21174	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	ND	ND
17M3H21175	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%97.37 %99.54
17M3H22179	<i>Saccharomyces cinsi</i>	ND	ND
17M3H21200	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.83
17M3H21212	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%100 %100
16M3B11016	<i>Metschnikowia cinsi</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	%99.60 %100
17M3D32092	<i>Naganishia cinsi</i>	<i>Naganishia albida</i> <i>Naganishia uzbekistanensis</i>	%99.68
17M3E21110	<i>Naganishia cinsi</i>	<i>Naganishia uzbekistanensis</i>	%99.68
17M3F21128	<i>Naganishia cinsi</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%98.73
17M3H22218	<i>Naganishia cinsi</i>	<i>Naganishia uzbekistanensis</i>	%99.21
16M2K10003	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%99.88
16M2K10009	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	%100
16M2K10010	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	%100
16M3A11003	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%98.76
17M3F31139	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	%99.85
17M3F32141	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	%100
17M3H21173	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	ND	ND
17M3A21001	<i>Pichia kudriavzevii</i>	ND	ND
17M3A32019	<i>Pichia kudriavzevii</i>	ND	ND

16M3A12012	<i>Solicoccozyma aeria</i>	<i>Solicoccozyma aeria</i>	%99.69
17M3D31087	<i>Cryptococcus cinsi</i>	<i>Naganishia uzbekistanensis</i>	%99.52
16M2K10011	<i>Yarrowia lipolytica</i>	ND	ND

ND: Sonuç alınamamıştır. ; *Bazı suşlar için rastgele örnekleme yöntemi ile dizi analizi iki kez gerçekleştirilmiş ve elde edilen her iki sonuç alt alta gösterilmiştir.

Çizelge 4.3.'te verilen ITS bölgesi BLAST sonuçlarının istatistik özeti için yorumlama kriterleri ve istatistik değerleri Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. BLAST sonuçlarını yorumlama kriterleri ve sayısal verileri (Maya sonuçları)

Kategori	Tanım	Adet (%)
Yüksek Güvenli Tekil Tanımlama	Dizi eşleşmesinde, %99 ve üzeri kimlik oranına sahip, tek türle eşleşen ve tür düzeyinde net tanımlama sağlayan sonuçlardır.	30 suş (≈%53,57)
Doğrulayıcı Yeniden Sekanslama ile Onaylı	Rastgele seçilen örneklerde, ilk tanımlamaların doğruluğunu kontrol etmek amacıyla yapılan yeniden sekanslama sonucunda elde edilen onaylı eşleşmelerdir.	9 suş (%16,07)
Yüksek Kimlikli Çoklu Hit / Belirsiz	BLAST analizinde %99 ve üzeri kimlik oranı ile birden fazla türle eşleşme görülen, bu nedenle kesin tür düzeyinde tanımlama yapılamayan durumlardır.	3 suş (%5,36)
Düşük Güvenli Tanımlama	Dizi eşleşmesinin %99'un altında kaldığı, tür düzeyinde yeterli güvenlikte tanımlama yapılamayan eşleşmelerdir.	3 suş (≈%5,36)
Veri yok	Dizi verisi elde edilmesine rağmen BLAST analizinde geçerli bir eşleşme sonucu alınamayan, yani tanımlama yapılamayan örnekleri ifade eder.	11 suş (%19,64)

- Birçok *Saccharomyces cerevisiae* ve *Metschnikowia pulcherrima* suşu, BLAST analiz sonuçlarına göre %98–100 oranında ITS bölgesi eşleşmesi göstermiştir. Fungal DNA barcoding standartlarında tür ayrımı için ITS baz sıralaması benzerliği $\geq$ %99 eşik değeri kabul edilmektedir [172].
- İlk dizi analizi sonucunda HUF17M3D31090 kodlu *Saccharomyces cerevisiae* (%95,97) olarak tanımlanan suş, tür düzeyinde kabul edilen %98 eşik değerinin altında kaldığı için güvenli bulunmamıştır. Aynı örneğin ikinci analizinde *Hanseniaspora uvarum* türüyle %100 eşleşme sağlanmasına rağmen sonuçlar arasında uzlaşma oluşmadığı için bu suş kültür koleksiyonuna dahil edilmemiştir.

- HUF16M3A11002 suşu ilk dizi analizi *Metschnikowia pulcherrima* ile %97,68 oranında eşleşme göstermiş olup ikinci analizde birden fazla *Metschnikowia* türü ile yüksek oranda eşleşme tespit edildiğinden, tür düzeyinde net bir tanımlama yapılamadığı için kültür koleksiyonuna dahil edilmemiştir.
- HUF17M3F21127 suşu ise ilk dizi analizi sonucu %100 *M. pulcherrima*, ikinci sonuç %99.82 *P. carsonii* olarak elde edilmesine rağmen daha önceki çalışmadaki [103] MALDI-TOF MS sonucuyla uzlaşma olduğu için ikinci sonuç kabul edilerek kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir.
- HUF17M3G31152 suşu ilk dizi analizinde %99.84 *P. carsonii*, ikincisinde ise PCR ürünü elde edilemediğinden kültür koleksiyonuna dahil edilmemiştir.
- HUF17M3C31064 suşu, elde edilen BLAST sonucu, elde edilen verilerle konsensüs oluşturmadığı için kültür koleksiyonuna dahil edilmemiştir.
- Çoklu yüksek benzerlikli eşleşme gösteren HUF18M3C21010 ve 17M3D32002 kodlu suşlar *Naganishia albida* ile *N. uzbekistanensis* gibi yakın türlerle %99–100 oranıyla eşleşmiştir. Bu durum, ITS bölgesindeki intragenomik varyasyon veya sınırlı referans veri eksikliğinden kaynaklanabilir. Buna bağlı olarak, ilk kez yapılan tür tayininde tekil gen bölgelerine yönelik BLAST skorlarına bağlı kalmak yeterli olmayabilir; bu durumda D1/D2 (LSU), TEF1 α , RPB1 gibi ek marker'lar ve gerekiyorsa filogenetik analizler tercih edilebilir [62].
- Düşük benzerlik oranı gösteren HUF16M3H11104, HUF17M3F21128 ve HUF16M3A11033 kodlu suşlar ITS bazında tür tanımlama eşik değerinin (%98–99) altındadır. Genel kabul, tür ayrımı için ITS dizilim benzerliğinin $\geq$ %99 veya bazı çalışmalarda $\geq$ %98,5 olması gerektiği yönündedir [126]. Düşük benzerlik oranına rağmen morfolojik verilerin uyum göstermesi nedeniyle kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir.
- Bazı suşlarda dizi analizinde sonuç alınmamış olması (11/56 suş $\approx$ %19,64) ise çalışmanın teknik sınırlamalarını ortaya koymaktadır. PCR verimi düşüklüğü, düşük kaliteli DNA izolasyonu veya saflaştırma aşamasındaki hatalar dizi kalitesini etkileyebilir [169].
- Bu suşlar arasında yer alan HUF16M2K10011 kodlu suş için laboratuvarı devam eden 5230066 nolu Ayçiçek Endüstrisi Yan Ürünlerinden Sürdürülebilir Mikrobiyel Yağ Üretimi başlıklı 1505 TÜBİTAK-TEYDEB projesinde gerçekleştirilen biyokimyasal test sonuçları, sözlü görüşme yoluyla temin

edilmiştir. Gliserol ve zeytinyağı içeren sentetik besiyerlerinde gelişimine bağlı bulgular doğrultusunda söz konusu suşun *Yarrowia lipolytica* olduğu teyit edilmiş ve bu nedenle kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir.

İncelenen 56 suş arasında ITS analizi sonucu $\geq \%99$ eşleşmeyle yüksek güvenli tekil tanımlama kategorisinde değerlendirilen ve kültür koleksiyonuna dahil edilen 10 suş (%17,9) “nadir tür” olarak tanımlanan taksonlara aittir. Bu bulgu; HUFCC’nin *S. cerevisiae* ve *M. pulcherrima* dışındaki, özellikle biyoteknolojik açıdan potansiyel taşıyan *Priceomyces carsonii*, *Naganishia uzbekistanensis*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Hanseniaspora uvarum* ve *Solicoccozyma aerea* türlerini içerdiğini göstermektedir. Literatürde çalışmada tanımlanan *Saccharomyces* olmayan mikroorganizmaların, fermentasyon çeşitliliği ve aroma profili iyileştirici etkileriyle öne çıktığı bildirilmiştir. Örneğin *W. anomalus*; yüksek antimikrobiyal aktivite, meyvemsi ester üretimi ve doğal fermantasyon süreçlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol üstlenir. Ayrıca *Priceomyces*, *Naganishia* gibi mayaların endüstriyel ve çevresel izolatlardan sıkça bildirildiği ve potansiyel fonksiyonel özellik taşıdığı çalışmalarda vurgulanmıştır [62, 173-175].

Sonuç olarak, önceki çalışmalarda [103] LSU dizileri NCBI veri tabanına kaydedilmiş olan 19 *Saccharomyces cerevisiae* suşu ile bu çalışmada dizi analizi sonucunda yüksek güvenli tekil tanımlama kategorisine giren 30 suş arasından 27, doğrulayıcı yeniden sekanslama ile onaylı kategorisine giren 9 suş, düşük güvenli tanımlama kategorisine giren fakat morfolojik verilerle uzlaşma oluşan 3 suş ve biyokimyasal testler ile tanımlanan *Yarrowia lipolytica* olmak üzere toplam 59 maya suşu HUFCC’ye dahil edilmiştir. Bu suşlar arasında 38 adet *S. cerevisiae* yer almakta olup, önceki çalışmalarda HRM analizi ile tayin edilen HUF16M3H11104 ve HUF22B1C0001 kodlu suşlar *S. cerevisiae* var. *boulardii* olarak belirlenmiştir [104, 176]. Koleksiyonda ayrıca *Metschnikowia pulcherrima* türüne ait 8, *Naganishia uzbekistanensis* ve *Priceomyces carsonii* türlerine ait 3, *Wickerhamomyces anomalus* türüne ait 2 ve *Hanseniaspora uvarum* ile *Solicoccozyma aerea* türlerine ait ayrı ayrı 1 adet suş bulunmaktadır.

4.3.2.2. Bakteri Suşları BLAST Analizi Sonuçları

Çift yönlü PCR amplifikasyonu, 27F ve 1492R primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirilmiş; elde edilen yüksek kaliteli dizi verileri, NCBI BLAST ‘Nucleotide’ aracı ile veri tabanında eşleştirmesi yapılmıştır. Bazı suşlar için rastgele örnekleme yöntemi ile dizi analizi tekrar gerçekleştirilmiştir [171]. Bu analizler sonucunda çalışmada kullanılan bakteri suşlarının tanımlama verileri Çizelge 4.5.’te sunulmuştur. Bakteri suşlarına ait dizi verileri EK 1.4.’te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Bakteri suşlarının 16S rRNA BLAST Sonuçları

Sayı	Suş Kodu (HUF)	Bilinen Tanımlama Sonucu	BLAST Sonucu Tür Tanımlaması	BLAST Sonucu Tanımlama Yüzdesi*
1	19ZN1R1001	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	% 99.93
2	19ZN1R1002	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus acidophilus/</i> <i>Lactobacillus gallinarum/</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	%99.93
3	18ZN4R1011	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	%100
4	18ZN5R1018	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	%99.90
5	19ZN1M1001	<i>Lactococcus lactis</i>	ND	ND
6	19ZN2M1012	<i>Streptococcus thermophilus</i>	ND	ND
7	19ZN2M1013	<i>Lactococcus lactis</i>	ND	ND
8	19ZN4M1027	<i>Lactococcus lactis</i>	ND	ND
9	19ZN6M1035	<i>Lactococcus lactis</i>	ND	ND
10	19ZN7M1043	<i>Lactococcus lactis</i>	ND	ND
11	19ZN10M1058	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	% 100
12	19ZN7M1039	<i>Streptococcus thermophilus</i>	ND	ND
13	18ZN5R2031	<i>Lactobacillus crispatus</i>	ND	ND
14	18ZN1M1002	<i>Lactococcus lactis</i>	ND	ND
15	22BDT2034	<i>Streptococcus thermophilus</i>	ND	ND
16	19ZN1R1013	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	%100
17	18ZN2R1004	<i>Levilactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>	%100
18	19ZN3R1008	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus gallinarum/</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	% 99.93
19	18ZN9R2019	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	ND	ND

20	18ZN3R2029	<i>Lactobacillus delbruecki</i>	<i>Lactobacillus gallinarum/Lactobacillus helveticus</i>	% 99.93
21	19ZN3R1010	<i>Lactobacillus delbruecki</i>	ND	ND
22	19ZN5R1017	<i>Lactobacillus delbruecki</i>	<i>Lactobacillus gallinarum/Lactobacillus helveticus</i>	% 100
23	24N4K4001	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%100
24	24N4K4002	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%100
25	24N4K4003	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	% 99.9
26	24N4K4004	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%100
27	24N4K4005	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%100
28	24N4K4006	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%100
29	24ZN7M4007	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%100 %100
30	24N4K4008	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99.7 % 99.93
31	24N4K4009	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99.71
32	24N4K4011	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99.91 % 100
33	24N4K4012	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99.90
34	24N4K4013	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	%100
35	24N4K4014	-	<i>Enterococcus faecium</i>	%100
36	24N4K4015	-	<i>Enterococcus faecium</i>	%100
37	24N4K4016	-	<i>Enterococcus faecium</i>	%100

* ND: Sonuç alınamamıştır. ; *Bazı suşlar için rastgele örnekleme yöntemi ile dizi analizi iki kez gerçekleştirilmiş ve elde edilen her iki sonuç alt alta gösterilmiştir.

Çizelge 4.5.'te verilen 16S rRNA bölgesi BLAST sonuçlarının istatistik özeti için yorumlama kriterleri ve istatistik değerleri Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Çizelge 4.5’te verilen BLAST sonuçlarını yorumlama kriterleri ve ve sayısal verileri

Kategori	Tanım	Adet (%)
Yüksek Güvenli Tekil Tanımlama	Dizi eşleşmesinde, %99 ve üzeri kimlik oranına sahip, tek türle eşleşen ve tür düzeyinde net tanımlama sağlayan sonuçlardır.	18 suş (% 48,65)
Doğrulamalı Yeniden Sekanslama ile Onaylı	Rastgele seçilen örneklerde, ilk tanımlamaların doğruluğunu kontrol etmek amacıyla yapılan yeniden sekanslama sonucunda elde edilen eşleşmelerdir.	3 suş (%8,11)
Yüksek Kimlikli Çoklu Hit / Belirsiz	BLAST analizinde %99 ve üzeri kimlik oranı ile birden fazla türle eşleşme görülen, bu nedenle kesin tür düzeyinde tanımlama yapılamayan durumlardır.	4 suş (%10,81)
Veri yok	Dizi verisi elde edilmesine rağmen BLAST analizinde geçerli bir eşleşme sonucu alınamayan, yani tanımlama yapılamayan örnekleri ifade eder.	12 suş (%32,43)

- Yüksek Güvenli Tekil Tanımlama kategorisine giren 18 suş (% 48,65) Çizelge 4.5’te verildiği şekilde dizi analizi sonucunda tür düzeyinde tanımlaması yapılmıştır. Daha önce tanımlaması yapılmayan ama dizi analizinde tanımlanan HUF24N4K4001, HUF24N4K4002, HUF24N4K4003, HUF24N4K4004, HUF24N4K4005, HUF24N4K4006, HUF24N4K4009, HUF24N4K4012 ve HUF24N4K4013 kodlu suşlar *Enterococcus faecalis* olarak, HUF24N4K4014, HUF24N4K4015, HUF24N4K4016 kodlu suşlar ise *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır. HUF19ZN1R1001, HUF18ZN4R1011, HUF18ZN5R1018, HUF19ZN10M1058 HUF19ZN1R1013 ve HUF18ZN2R1004 kodlu suşlar da dizi analizi sonucu daha önceki çalışmalarda [105] tanımlandığı şekilde tanımlanmıştır. Bu güven düzeyi, 16S rRNA tür tanımlamalarında sıklıkla önerilen $\geq$ %99–99,5 sınırlarıyla uyumludur. Bu sonuçlar hem deneyler arası tutarlılığı hem de koleksiyon standardı açısından güçlü bir referans teşkil etmektedir [177].
- Doğrulamalı yeniden sekanslama ile onaylı kategorisine giren (%8,11) , HUF24ZN7M4007, HUF24N4K4008, HUF24N4K4011 kodlu suşlar *Enterococcus faecalis* olarak tanımlanmıştır.

- Dizi analizi sonuçlarına göre HUF19ZN1R1002, HUF19ZN3R1008, HUF18ZN3R2029 ve HUF19ZN5R1017 kodlu suşlar yüksek kimlikli çoklu hit kategorisinde yer alarak %99'un üstünde benzerlikle birden fazla türle eşleşmiştir. Bu durum *Lactobacillus* cinsi içindeki yakın türler arasındaki 16S rDNA benzerliği veya referans veri eksikliğinden kaynaklanabilir. Bu bağlamda literatür, tür-özgü ya da multiplex PCR gibi hedef-seçici yaklaşımların doğrulama amacıyla kullanılması önerilir [178]. Bu suşlar arasında yer alan HUF18ZN3R2029 kodlu suş için laboratuvarında devam eden FUK-2024-21391 kodlu *Mikrobiyel Fermantasyon Yolu ile Multifonksiyonel Biyoaktif Peptit Ekstraktı Eldesi* başlıklı Hacettepe Üniversitesi BAP destekli katılımlı araştırma projesinde gerçekleştirilen tür spesifik qPCR sonuçları, sözlü görüşme yoluyla temin edilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda söz konusu suşun *Lactobacillus helveticus* olduğu teyit edilmiş ve bu nedenle kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir, tür adı netleştiği için yeni kodlaması HUF24ZN3R2030 olarak belirlenmiştir.
- Toplamda 12 suşun dizi analizinde sonuç alınmamış olması (%32,43) teknik sınırlamaları ortaya koymaktadır: PCR verimi düşüklüğü, düşük kaliteli DNA izolasyonu veya saflaştırma aşamasındaki hatalar dizi kalitesini etkileyebilir [169].
- Bu suşların dışında 12.02.2025 tarihinde liyofilize formda temin edilen ST-BODY-1 kodlu *Streptococcus thermophilus*, LB-12 kodlu *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, nu-trish® LA-5® kodlu *Lactobacillus acidophilus* ve HN019 kodlu *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* suşları dizi analizine tabii tutulmayıp referans suş olarak kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir.
- Özetlemek gerekirse yukarıda belirtilen referans suşların yanında birer suşla temsil edilen *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Levilactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactococcus lactis* ve *Lacticaseibacillus rhamnosus* LGG ve *Lactobacillus helveticus* üç suşla temsil edilen *Enterococcus faecium* ve on iki suşla temsil edilen *Enterococcus faecalis* suşları olmak üzere 26 bakteri suşu HUFCC'ye dahil edilmiştir.

Daha önceki çalışmalarda [104] NCBI'a LSU dizileri kaydedilen ve HUFCC'de yer alan 22 *Saccharomyces cerevisiae* haricinde bu tez çalışması kapsamında elde edilen BLAST

tarama sonuçlarının değerlendirilmesiyle HUFCC’de yer alacak toplamda 34 maya ve 21 bakteri suşuna ait dizi verileri, 30.06.2025 tarihinde NCBI GenBank veri tabanına başarıyla kaydedilmiştir ve 30.06.2025 tarihinde veri tabanında suşlara ait veriler yayınlanmıştır. Yayınlanan maya suşları Çizelge 4.7.’de ve LAB bakteri suşları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Bu kayıt süreci, aşağıdaki kalite ve doğruluk kriterlerine göre yürütülmüştür:

- BLAST tanımlama yüzdesi $\geq$ %99 olacak şekilde, tür düzeyinde yüksek güvenilirlik sağlayan diziler seçilmiştir. %98 ve altındaki eşleşmeler, tür düzeyinde yeterli doğruluk sağlamadığı gerekçesiyle hariç tutulmuştur.
- Tekil ve özgül eşleşme şartı aranmıştır. Diziler yalnızca tek bir tür ile anlamlı (yüksek skorlu ve düşük E-değerli) eşleşme göstermelidir. Birden fazla türle eşdeğer skor paylaşan, taksonomik olarak belirsizlik içeren diziler elenmiştir.
- Sekans kalitesi açısından uygunluk değerlendirilmiştir, homopolimer bölgeler (ör. uzun "T" veya "A" tekrarları) içeren, örnek dizi aşağıda verilmiştir:

“GGAGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGT
CGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGA
TAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACGAATGTTGNCTTA”

Çizelge 4.7. NCBI veri tabanına kaydedilen maya suşları ve erişim numaraları (n=54)

No.	Suş Kodu (HUF)	Erişim Numarası (NCBI)	Bölge/ Kayıt Tarihi
1	16M1C0002*	<u>PV819403</u>	ITS/ 30.06.2025
2	16M1C0003*	<u>PV819404</u>	ITS/ 30.06.2025
3	16M1C0004	<u>PV819393</u>	ITS/ 30.06.2025
4	16M2K10003	<u>PV819402</u>	ITS/ 30.06.2025
5	16M2K10009	<u>PV819423</u>	ITS/ 30.06.2025
6	16M2K10010	<u>PV819424</u>	ITS/ 30.06.2025
7	16M3A12012	<u>PV819426</u>	ITS/ 30.06.2025
8	16M3B11016	<u>PV819410</u>	ITS/ 30.06.2025
9	16M3B11020	<u>PV819411</u>	ITS/ 30.06.2025
10	16M3B11023	<u>PV819412</u>	ITS/ 30.06.2025
11	16M3C11034	<u>PV819413</u>	ITS/ 30.06.2025
12	16M3D11049	<u>PV819399</u>	ITS/ 30.06.2025
13	16M3D11052	<u>PV819400</u>	ITS/ 30.06.2025
14	16M3G11089	<u>PV819414</u>	ITS/ 30.06.2025
15	17M3C21050	<u>PV819420</u>	ITS/ 30.06.2025
16	17M3D31087	<u>PV819419</u>	ITS/ 30.06.2025
17	17M3E21110	<u>PV819417</u>	ITS/ 30.06.2025
18	17M3E21115	<u>PV819422</u>	ITS/ 30.06.2025
19	17M3E22117	<u>PV819416</u>	ITS/ 30.06.2025
20	17M3F21127	<u>PV819421</u>	ITS/ 30.06.2025

21	17M3F31139	<u>PV819425</u>	ITS/ 30.06.2025
22	17M3F31135	<u>PV819407</u>	ITS/ 30.06.2025
23	17M3F32141	<u>PV819408</u>	ITS/ 30.06.2025
24	17M3H21175	<u>PV819409</u>	ITS/ 30.06.2025
25	17M3H21200	<u>PV819401</u>	ITS/ 30.06.2025
26	17M3H21212	<u>PV819415</u>	ITS/ 30.06.2025
27	17M3H22218	<u>PV819418</u>	ITS/ 30.06.2025
28	18M3C21001	<u>PV819394</u>	ITS/ 30.06.2025
29	18M3D21001	<u>PV819396</u>	ITS/ 30.06.2025
30	18M3F21012	<u>PV819405</u>	ITS/ 30.06.2025
31	18M3J21008	<u>PV819406</u>	ITS/ 30.06.2025
32	18M3K21007	<u>PV819395</u>	ITS/ 30.06.2025
33	18M3L21008	<u>PV819397</u>	ITS/ 30.06.2025
34	22B1C0001	<u>PV819398</u>	ITS/ 30.06.2025
35	16M1C0001	<u>OQ876785</u>	LSU/ 02.05.2023
36	16M1C0002*	<u>OQ876808</u>	LSU/ 02.05.2023
37	16M1C0003*	<u>OQ912898</u>	LSU/ 07.05.2023
38	16M3H11104	<u>OQ876794</u>	LSU/ 02.05.2023
39	16M2K10004	<u>OQ912899</u>	LSU/ 07.05.2023
40	16M2K10006	<u>OQ876786</u>	LSU/ 02.05.2023
41	16M2K10007	<u>OQ876787</u>	LSU/ 02.05.2023
42	16M3B11017	<u>OQ876788</u>	LSU/ 02.05.2023
43	16M3C11032	<u>OQ876790</u>	LSU/ 02.05.2023
44	16M3C11033	<u>OQ876791</u>	LSU/ 02.05.2023
45	16M3G11088	<u>OQ876792</u>	LSU/ 02.05.2023
46	16M3H11101	<u>OQ876793</u>	LSU/ 02.05.2023
47	17M3C31063	<u>OQ876795</u>	LSU/ 02.05.2023
48	17M3C31065	<u>OQ876796</u>	LSU/ 02.05.2023
49	17M3C31066	<u>OQ876797</u>	LSU/ 02.05.2023
50	17M3D31086	<u>OQ876798</u>	LSU/ 02.05.2023
51	17M3D31088	<u>OQ876799</u>	LSU/ 02.05.2023
52	17M3E21112	<u>OQ876801</u>	LSU/ 02.05.2023
53	17M3E21113	<u>OQ876802</u>	LSU/ 02.05.2023
54	17M3F21122	<u>OQ876804</u>	LSU/ 02.05.2023
55	17M3F21134	<u>OQ876806</u>	LSU/ 02.05.2023
56	17M3F31136	<u>OQ876807</u>	LSU/ 02.05.2023

*Belirtilen suşlar bu çalışmada kontrol suşları olduğu için iki farklı tarihte farklı bölgelere ait dizileri NCBI'a kaydedilmiştir.

Çizelge 4.7.'de LSU bölgesine ait ve 02.05.2023 ile 07.05.2023 tarihlerinde NCBI'ye kaydedilen diziler, önceki çalışmalardan [104] aktarılmıştır. Bu dizilerin BLAST kimlik oranları %50–%90 aralığında olmakla birlikte, ilgili suşlara ait diğer fenotipik ve genomik verilerle bütüncül değerlendirme sonucunda tutarlılık gösterdiği için güvenilir kabul edilmiştir. ITS bölgesine ait veriler bu çalışma kapsamında elde edilmiştir. Çizelge 4.7.'de yer alan 54 suşun dışında, NCBI kayıt kriterlerine uymayan 4 *Saccharomyces cerevisiae* suşu ve ITS bölgesine ait dizi elde edilemeyen 1 *Yarrowia lipolytica* suşu da kültür koleksiyonunda yer almaktadır. Böylece koleksiyonda toplam 59 maya suşu bulunmaktadır.

Çizelge 4.8. NCBI veri tabanına kaydedilen bakteri suşları ve erişim numaraları (n=21)

No	Suş Kodu (HUF)	Erişim Numarası (NCBI)	Bölge/ Kayıt Tarihi
1	18ZN4R1011	<u>PV819455</u>	16S rRNA /30.06.2025
2	18ZN5R1018	<u>PV819456</u>	16S rRNA /30.06.2025
3	19ZN1R1001	<u>PV819457</u>	16S rRNA /30.06.2025
4	19ZN10M1058	<u>PV819458</u>	16S rRNA /30.06.2025
5	19ZN1R1013	<u>PV819459</u>	16S rRNA /30.06.2025
6	18ZN2R1004	<u>PV819460</u>	16S rRNA /30.06.2025
7	24N4K4001	<u>PV819461</u>	16S rRNA /30.06.2025
8	24N4K4002	<u>PV819462</u>	16S rRNA /30.06.2025
9	24N4K4003	<u>PV819463</u>	16S rRNA /30.06.2025
10	24N4K4004	<u>PV819464</u>	16S rRNA /30.06.2025
11	24N4K4005	<u>PV819465</u>	16S rRNA /30.06.2025
12	24N4K4006	<u>PV819466</u>	16S rRNA /30.06.2025
13	24ZN7M4007	<u>PV819467</u>	16S rRNA /30.06.2025
14	24N4K4008	<u>PV819468</u>	16S rRNA /30.06.2025
15	24N4K4009	<u>PV819469</u>	16S rRNA /30.06.2025
16	24N4K4011	<u>PV819470</u>	16S rRNA /30.06.2025
17	24N4K4012	<u>PV819471</u>	16S rRNA /30.06.2025
18	24N4K4013	<u>PV819472</u>	16S rRNA /30.06.2025
19	24N4K4014	<u>PV819473</u>	16S rRNA /30.06.2025
20	24N4K4015	<u>PV819474</u>	16S rRNA /30.06.2025
21	24N4K4016	<u>PV819475</u>	16S rRNA /30.06.2025

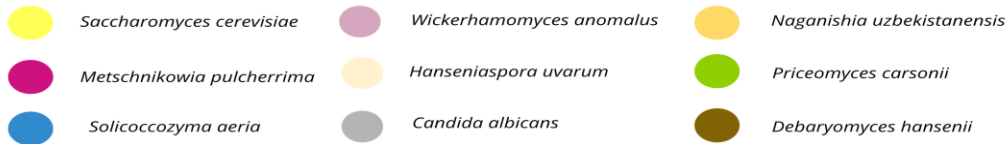
Çizelge 4.8’de yer alan, NCBI’ye 16S rRNA dizisi kayıtlı 21 laktik asit bakterisi suşuna ek olarak, tür-spesifik qPCR analizi ile *Lactobacillus helveticus* olduğu belirlenen HUF24ZN3R2030 kodlu suş ve 12.02.2025 tarihinde temin edilen dört referans suşu ile kültür koleksiyonunda toplam 26 bakteri suşu bulunmaktadır.

4.3.3. Filogenetik Ağaçların Oluşturulması

Bu bölümde, HUFCC kültür koleksiyonuna dâhil edilen ve NCBI veri tabanına kaydı yapılmış toplam 34 maya ve 21 bakteri suşuna ait dizi verileri kullanılarak gerçekleştirilen filogenetik analizlere yer verilmiştir. Amaç, ilgili mikroorganizmaların filogenetik konumlarını belirlemek ve tür düzeyindeki çeşitliliği evrimsel bağlamda görsel olarak sunmaktır. Bu kapsamda aynı tür içerisindeki genetik yakınlıkları yansıtan filogenetik ağaçlar oluşturulmuş ve ardından maya ve bakteri türlerinin taksonomik değerlendirmesine yer verilmiştir [74, 128, 179, 180].

a) Maya Suşları ITS Gen Bölgesi için Oluşturulan Filogenetik Ağaç

Bu çalışmada, HUFCC’de yer alan ve 30.06.2025 tarihinde NCBI’ya kaydedilen 34 maya suşu ile tür düzeyinde köklendirme amacıyla NCBI veritabanından seçilen referans suşlar; köklendirme için ise *Candida albicans* CBS 562 ve *Debaryomyces hansenii* JCM 1990 dış grup olarak kullanılmıştır. Filogenetik analiz, MEGA11’de Kimura 2 Parametre (K2P) modeli ve Neighbor-Joining yöntemiyle 1000 bootstrap tekrarı kullanılarak gerçekleştirilmiş, ağaç iTOL’da radyal filogram olarak görselleştirilmiştir [51] ve Şekil 4.5.’te verilmiştir. Ağaçta türler arası evrimsel yakınlıkların gösterimi dal uzunlukları ve destek değerleriyle birlikte verilmiştir. Dal uzunlukları ve bootstrap değerleriyle ilgili ham veriler EK.1.5’te verilmiştir.



Şekil 4.5. HUFCC’de yer alan NCBI’a kayıtlı maya suşlarının ITS gen bölgesi için filogenetik ağaç oluşumu ve tür bazında renk kodlamaları [51, 181]

Saccharomyces cerevisiae suşları, filogenetik ağaçta 16 suşla temsil edilmekte olup referans diziyle yüksek kök bootstrap değerine (0.99) sahiptir. Tür içi bootstrap aralığı 0.09–0.99 arasında değişmekte olup bu da bazı iç dallarda düşük destek oluştuğunu göstermektedir. Ancak ortalama dal uzunluğunun 0.0024 gibi çok düşük bir değerde olması diziler arası genetik mesafenin az olduğunu düşündürmektedir. Genel olarak koleksiyon içi genetik yapı oldukça homojendir.

Metschnikowia pulcherrima suşları, orta düzeyde tür içi çeşitlilik göstermektedir (bootstrap aralığı 0.37–0.86). Kök bootstrap değeri 0.86, dal uzunluğu ise ortalama 0.0040'tır. Bu değerler, özellikle pigment üretimi ve biyokontrol potansiyeli bakımından farklı alt hatlara sahip olabileceğini ve bu yönleriyle koleksiyonun fonksiyonel zenginlik taşıdığını göstermektedir.

Priceomyces carsonii suşları oldukça homojen bir yapı sergilemektedir. 3 suş arasında yüksek iç bootstrap (0.66–1.00) ve çok kısa ortalama dal uzunluğu (0.0014) gözlemlenmiştir. Bu durum, suşların neredeyse klonal yapıda olduğunu göstermektedir.

Naganishia uzbekistanensis türü, 3 suşla temsil edilmiştir. Bootstrap değerleri 0.50–1.00 arasında değişmektedir ve kök düğüm 1.00 desteklidir. Ortalama dal uzunluğu 0.0023 seviyesindedir. Ancak bazı iç düğümlerdeki düşük destek, bu cinsin ITS bölgesindeki farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Wickerhamomyces anomalus, iki suşla temsil edilmiştir ve yüksek kök desteği (1.00) ile tek iç düğümde 0.72 bootstrap gözlemlenmiştir. Ancak ortalama dal uzunluğu 0.0128 ile veri setinin en yükseğidir. Bu durum, tür içi derin ayrımların veya olası alt çizgilerin varlığına işaret etmektedir.

Hanseniaspora uvarum, koleksiyonda yalnızca bir suşla temsil edilmiştir. Kök bootstrap değeri 1.00, dal uzunluğu ise 0.0058 olarak hesaplanmıştır. Tek örnek olması nedeniyle tür içi çeşitlilik yorumu yapılamamakla birlikte, referansla tam uyum göstermesi bu suşun aroma profili araştırmaları için güvenilir bir model suş olabileceğini düşündürmektedir.

Solicozozyma aerea türü de tek suşla temsil edilmektedir. Kök bootstrap değeri 1.00 ve dal uzunluğu 0.0056'dır. Tür içi polimorfizm yorumu yapılamamakla birlikte, bu suşun potansiyel yeni enzim veya metabolit kaynağı olarak değerlendirilmesi mümkündür.

Koleksiyonda bulunan *Saccharomyces cerevisiae* ve *Priceomyces carsonii* suşları, tür içi yüksek genetik benzerlikleriyle dikkat çekmektedir. Özellikle kısa dal uzunlukları ve yüksek destek değerleri, bu türlerin koleksiyon içerisinde homojen filogenetik yapılar oluşturduğunu ve standardize edilmiş uygulamalarda öngörülebilir performans sergileyebileceğini göstermektedir [128, 179].

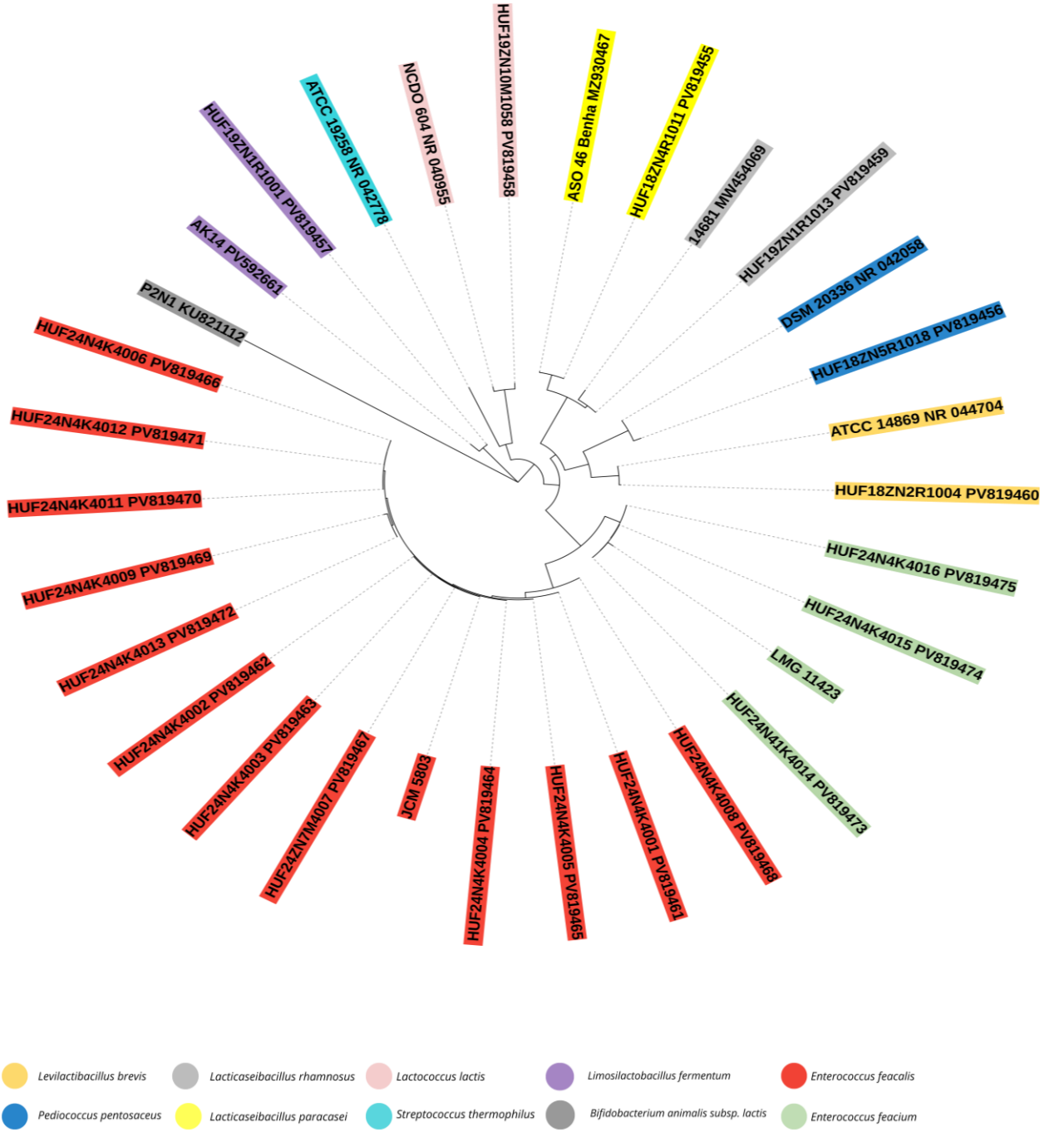
Metschnikowia pulcherrima ve *Wickerhamomyces anomalus* gibi türler, tür içi genetik ayrışmayı yansıtan dal uzunluklarıyla, koleksiyon içerisinde farklı fonksiyonel alt grupların varlığına işaret etmektedir. Bu durum, özellikle biyokontrol, pigment üretimi ve endüstriyel karakterizasyon gibi uygulama alanlarında koleksiyonun stratejik değerini artırmaktadır.

Sınırlı sayıda suşla temsil edilen *Naganishia uzbekistanensis*, *Hanseniaspora uvarum* ve *Solicoccozyma aerea*, filogenetik olarak referans dizileriyle yüksek düzeyde uyum göstermektedir. Bu türlerin sahip oldukları özel fenotipik ve genetik nitelikler sayesinde potansiyel model mikroorganizmalar olarak değerlendirilebileceği ve koleksiyonun biyolojik çeşitliliğine anlamlı katkı sağladığı düşünülmektedir.

Toplam 34 maya suşundan 30'u Ascomycota şubesinde, 4'ü Basidiomycota şubesinde sınıflanır; Basidiomycota üyeleri arasında *Solicoccozyma aerea* ve *Naganishia uzbekistanensis* bulunur. Ascomycota şubesini 16 suşla temsil eden *Saccharomyces cerevisiae* Saccharomycetales; 8 suşla temsil eden *Metschnikowia pulcherrima* ve 3 suşla temsil eden *Priceomyces carsonii* türü *Serinales*; 2 suşla temsil eden *Wickerhamomyces anomalus* türü *Phaffomycetales* ve tek suşla temsil eden *Hanseniaspora uvarum* suşu Saccharomycodales takımında yer almaktadır. Basidiomycota şubesini 3 suşla temsil eden *Naganishia uzbekistanensis* ve tek suşla temsil eden *Solicoccozyma aerea* Filobasidiales takımında yer almaktadır [74]. Taksonomik sınıflandırmanın detayları Çizelge 2.4'te verilmiştir. Sonuç olarak, HUFCC'de yer alan ve NCBI'a kaydedilmiş 34 maya suşu, türler arası literatürle ve taksonomiyle uyumlu sonuçlar vermiştir.

b) Bakteri Suşları 16S rRNA Gen Bölgesi için Oluşturulan Filogenetik Ağaç

Bu çalışmada, HUFCC koleksiyonunda yer alan 21 LAB bakteri suşu ve tür düzeyinde sınıflandırmayı desteklemek amacıyla NCBI GenBank veritabanından seçilen referans suşlara ait 16S rRNA gen dizileri kullanılarak filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir. Köklendirme amacıyla dış grup olarak *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* ve *Streptococcus thermophilus* ATCC 19258 suşu belirlenmiştir. Tüm diziler hizalama sonrası TrimAI ile kırpılarak düşük kaliteli ve boşluk içeren bölgeler elenmiş, analizler MEGA11 yazılımında Kimura 2-parametre (K2P) modeline dayalı Neighbor-Joining (NJ) yöntemiyle ve 1000 bootstrap tekrarıyla yapılmıştır. Elde edilen filogenetik ağaç iTOL platformu üzerinden [51] radyal filogram formatında görselleştirilmiş olup, Şekil 4.6'da sunulmuştur. Dal uzunlukları ve bootstrap değerleriyle ilgili ham veriler EK1.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. HUFCC’de yer alan bakteri suşlarının 16S RNA gen bölgesi için filogenetik ağaç oluşumu ve tür bazında renk kodlamaları [51, 181]

Lacticaseibacillus paracasei, tek suşla temsil edilmekte olup dal uzunluğu sıfırdır. Referans dizilerle tam örtüşmektedir. Tür içi çeşitlilik yorumu yapılamaz ancak doğrulama başarılıdır.

Lacticaseibacillus rhamnosus, koleksiyonda tek suşla temsil edilmiştir. Dal uzunluğu sıfırdır ve referansla birebir örtüşmektedir. Genetik yapı doğrulanmış, çeşitlilik yorumu yapılamamıştır.

Lactococcus lactis, bir suşla temsil edilmektedir. Dal uzunluğu 0.0057 olup bu değer oldukça yüksektir. Filogenetik olarak referansla kümelenmiş olsa da önemli bir genetik ayırım veya alt çizgiye işaret ettiği yorumu yapılabilir.

Levilactobacillus brevis, bir suşla temsil edilmektedir. Dal uzunluğu 0.0017 seviyesindedir. Referansla aynı dalda kümelenmiş ancak küçük bir evrimsel uzaklık söz konusudur. Bu suşun farklı çevresel koşullara uyum sağlamış bir varyant olabileceği değerlendirilmelidir.

Limosilactobacillus fermentum, koleksiyonda tek suşla temsil edilmektedir. Dal uzunluğu 0.0009 olup oldukça düşüktür. Referansla yüksek uyumlu olarak kümelenmiş, tür doğrulaması güvenilirdir.

Pediococcus pentosaceus, bir suşla temsil edilmektedir dal uzunluğu 0.0073 olup, veri setindeki en uzun değerlerden biridir. Bu durum referansla aynı türe ait olsa da, NCBI'dan seçilen referans suşa göre genetik olarak belirgin bir fark taşıdığını istatistiksel olarak göstermektedir.

Enterococcus faecalis, koleksiyonda 12 suşla temsil edilmektedir. Kök bootstrap değerleri yüksek (genellikle >0.90) olup, tür içi bootstrap aralığı 0.61–1.00 arasında değişmektedir. Ortalama dal uzunluğu 0.00027 olup varyasyon düşüktür. Bu durum, suşların neredeyse klonal bir yapı gösterdiğini ve genetik olarak oldukça benzer olduğunu ortaya koymaktadır.

Enterococcus faecium, 3 suşla temsil edilmekte olup referansla yüksek destekli kümelenme göstermiştir. Ortalama dal uzunluğu 0.00004 gibi çok düşük bir değerdir. Suşlar arası genetik farklılık minimaldir ve yüksek homojeniteye işaret etmektedir.

Analizlerde kullanılan diziler, HUFCC suşlarına ait temizlenmiş 16S rRNA bölgeleri ile NCBI'dan alınan doğrulanmış referanslardan oluşmaktadır. Dizi uzunluğu, hizalama kalitesi ve düşük boşluk oranı, tür düzeyinde karşılaştırma için yeterli veri sağlamıştır. *Enterococcus*, *Lactobacillaceae* ve *Pediococcus* gruplarında yüksek benzerlik gözlenmiş, tek nükleotid farklılıklarına bağlı olarak kısa dal uzunlukları oluşmuştur. 1000 bootstrap tekrarı ile elde edilen destek değerleri iç düğümlerde güvenilirlik sağlamıştır. Ancak, tek suşla temsil edilen türlerde çeşitlilik yorumları yapılamamıştır.

Filogenetik analiz sonuçları, HUFCC koleksiyonunun tür düzeyinde doğru yapılandığını ortaya koymaktadır. HUFCC suşları, referans dizileriyle tür bazında doğru şekilde kümelenmiş; özellikle *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşları yüksek destek değerleriyle monofiletik gruplar oluşturmuştur. Benzer şekilde, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* ve *Pediococcus pentosaceus* suşları da referanslarıyla aynı kollarda yer alarak taksonomik doğruluğu desteklemiştir. *Lactococcus lactis* suşunda gözlenen uzun dal uzunluğu ise potansiyel bir varyant veya sekans farklılığına işaret etmektedir. Özellikle çok sayıda suş içeren *E. faecalis* gibi türlerde düşük varyasyon, genetik homojenliği yansıtırken; *P. pentosaceus* suşunda tespit edilen uzun dal, referanslara kıyasla genetik düzeyde belirgin bir ayrışma olduğunu göstermektedir. Genel olarak klasik 16S rRNA barkodlama yöntemi, koleksiyonun sistematik bütünlüğünü doğrulamış ve ileri biyoteknolojik uygulamalara uygunluk potansiyelini ortaya koymuştur.

Toplam 21 bakteriyel suşun tamamı *Bacillota* şubesinde ve *Bacilli* sınıfında yer almakta olup taksonomik olarak *Lactobacillales* takımında sınıflandırılmaktadır. Bu takım altında üç farklı aile ve yedi tür temsil edilmektedir. *Lactobacillaceae* ailesi, koleksiyonda 5 suşla yer almakta olup *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Levilactobacillus brevis* ve *Pediococcus pentosaceus* türlerini içermektedir. *Enterococcaceae* ailesi 15 suşla temsil edilmekte olup *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türlerini kapsamaktadır. *Streptococcaceae* ailesi ise koleksiyonda 1 suşla yer almakta ve yalnızca *Lactococcus lactis* türünü içermektedir.

Bu dağılım, HUFCC koleksiyonundaki bakteriyel çeşitliliğin tamamının *Lactobacillales* takımına ait olduğunu ve farklı aileler üzerinden hem sistematik hem de fonksiyonel çeşitlilik sunduğunu göstermektedir. İlgili taksonomik sınıflandırmaya ait bilgiler Çizelge 2.5.'te verilmiştir.

Sonuç olarak, HUFCC'de yer alan 21 bakteriyel suş, referans dizilerle karşılaştırmalı olarak yürütülen filogenetik analiz sonucunda tür düzeyinde taksonomiyle uyumlu bir yapı sergilemiştir.

4.3.4. Genetik Polimorfizm Analizi

Bu bölümde, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'nda (HUFCC) yer alan maya ve bakteri suşlarının tür içi genetik çeşitliliğinin karakterizasyonu amaçlanmıştır. İlk aşamada, DNAsp yazılımı kullanılarak her bir türün dizileri üzerinden segregasyon siteleri (S), haplotip sayısı (H), haplotip çeşitliliği (Hd), nükleotit çeşitliliği (π) ve indel sayısı gibi temel genetik polimorfizm parametreleri hesaplanmıştır. Bu nicel çıktılar, koleksiyondaki türlerin varyasyon düzeylerine ilişkin ilk değerlendirmeyi sağlamıştır.

İkinci aşamada, MEGA11 yazılımıyla oluşturulan tür düzeyinde tek nükleotid polimorfizm (SNP) temelli genetik mesafe matrisi Python ortamında ısı haritası olarak görselleştirilmiş ve böylece suşlar arasındaki tür içi benzerlik ve uzaklık düzeyleri daha açık biçimde sunulmuştur. İlgili Python kodu EK 1.7'de verilmiştir.

Bu çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Priceomyces carsonii*, *Naganishia uzbekistanensis*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* türleri için genetik polimorfizm analizi yürütülmüştür. Öncelikle ilgili DNA dizileri MUSCLE algoritmasıyla hizalanmış, ardından DnaSP v5.10 kullanılarak çeşitli polimorfizm parametreleri hesaplanmıştır. Parametrelerle ilgili kısa açıklamalar aşağıda verilmiştir [64, 129]:

Segregasyon siteleri (S), bir dizide birden fazla allel (nükleotit) görülen konumların toplam sayısını gösterir. Yüksek S, o bölgedeki nokta mutasyonlarının (SNP) fazla olduğunu, düşük S ise polimorfizmin sınırlı olduğunu işaret eder.

Haplotip sayısı (H), incelenen tüm diziler arasında eşsiz diziler (haplotipler) olarak tanımlanan farklı dizi örüntülerinin sayısını belirtir. H ne kadar büyükse, bireyler arasında o kadar fazla benzersiz kombinasyon vardır.

Haplotip çeşitliliği (H_d), rastgele seçilen iki dizinin farklı bir haplotip taşıma olasılığını 0–1 arası bir değerde verir. $H_d = 0$ ise tüm diziler aynı haplotip; $H_d = 1$ ise her dizi farklı haplotipe sahip demektir.

Nükleotit çeşitliliği (π), popülasyondaki tüm çiftler arasındaki ortalama baz farkı oranını ölçer. Örneğin $\pi = 0,02$, dizilerin %2'si oranında baz değişimi içerdiğini gösterir. Hem SNP hem de küçük indel'leri kapsayan genel çeşitliliği yansıtır.

İndel siteleri (toplam), dizi hizalamasında gözlenen ekleme/silme olaylarının (indel) toplam sayısını belirtir. Bu yapısal farklılıklar, nokta mutasyonlarından bağımsız olarak genetik çeşitliliğe katkıda bulunur.

Ayrıca, hizalanmış verilerden oluşturulan SNP tabanlı p-distance matrisi MEGA11'de hesaplanmış ve Python ortamında görselleştirilmiştir. DNAsp kullanılarak hesaplanan genetik polimorfizm verileri Çizelge 4.9.'da verilmiştir. Ardından tür bazında analiz sonuçları değerlendirilmiştir [64, 129, 182].

Çizelge 4.9. HUFCC’de yer alan maya ve bakteri suşlarına ait genetik polimorfizm analizi sonuçları

Ölçüt / Tür	<i>S. cerevisiae</i> LSU (n = 22)	<i>S. cerevisiae</i> ITS (n = 16)	<i>M. pulcherrima</i> ITS (n = 8)	<i>N. uzbekistanensis</i> ITS (n = 3)	<i>P. carsonii</i> ITS (n = 3)	<i>W. anomalus</i> ITS (n = 2)	<i>E. faecalis</i> 16S rRNA (n = 12)	<i>E. faecium</i> 16S rRNA (n = 3)
Dizi uzunluğu (bp)	1 040	843	380	630	640	622	1 060	1 161
Segregasyon siteleri (S)	50	4	13	3	1	0	3	0
Haplotip sayısı (H)	10	5	8	3	2	1	3	1
Haplotip çeşitliliği (Hd)	0,857	0,708	1,000	1,000	0,667	0	0,318	0
Nükleotit çeşitliliği (π)	0,079	0,022	0,016	0,003	0,001	0	0,001	0
İndel siteleri (toplam)	87	0	166	6	82	37	0	0

Daha önceki çalışmalarda [104] NCBI'a LSU dizileri kaydedilmiş yirmi iki *Saccharomyces cerevisiae* suşunda, 1 040 baz çifti uzunluğundaki D1/D2 bölgesinde 50 segregasyon pozisyonu ($S = 50$) tespit edilerek kaydadeğer bir polimorfizm gözlenmiştir. Bu alandaki on farklı haplotip ($H = 10$) ve haplotip çeşitliliğinin $H_d = 0,857$ gibi yüksek bir değere ulaşması, popülasyondaki suşların %85'e yakın oranının özgün haplotipler taşıdığını; ayrıca ortalama nükleotit çeşitliliğinin $\pi = 0,07916$ olarak ölçülmesi, iki dizi arasındaki baz farkının %7–8'e varabileceğini göstermektedir. Öte yandan, 87 indel'in varlığı D1/D2'nin hiper-değişken bölgelerinde veya hizalama boşluklarında ek genetik işaretler yaratarak bu ayrışmayı daha da güçlendirdiği söylenebilir.

Saccharomyces cerevisiae'ye ait 843 bp uzunluğundaki ITS bölgesinde ($n=16$) yalnızca dört segregasyon pozisyonu ($S = 4$) belirlenmiştir. Ortalama nükleotit çeşitliliği $\pi = 0,02174$ olup bu iki rastgele dizi arasında yaklaşık %2,17 baz farkı olduğunu göstermektedir. Haplotip çeşitliliği $H_d = 0,708$ düzeyindedir; bu da suşların yaklaşık %71'inde farklı bir haplotip bulunduğunu göstermektedir. Bu bulgular, çalışmada kullanılan örnekler arasında görece sınırlı bir genetik çeşitlilik bulunduğuna işaret etmektedir. Ancak bu durum, ITS bölgesinin *S. cerevisiae* içinde yüksek derecede korunmuş bir bölge olmasıyla ve analiz edilen örneklerin köken özellikleriyle ilişkili olabilir. Ayrıca indel gözlenmemesi, bu bölgenin hizalanabilirliğinin ve uzunluk kararlılığının yüksek olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda ITS verileri, tür düzeyinde tanımlama için uygun olmakla birlikte, tür içi detaylı filogenetik yapıların çözümünde sınırlı ayırım gücüne sahip olabilir.

Metschnikowia pulcherrima'ya ait 380 bp uzunluğundaki ITS bölgesinde ($n = 8$) toplam 13 segregasyon pozisyonu ($S = 13$) belirlenmiştir; bu da yaklaşık her 29 baz çifti başına bir polimorfik konuma karşılık gelmektedir. Sekiz örneğin tamamında farklı haplotipler ($H = 8$) saptanmış ve haplotip çeşitliliği $H_d = 1,000$ olarak hesaplanmıştır. Ortalama nükleotit çeşitliliği $\pi = 0,01578$ olup, iki rastgele seçilmiş sekans arasındaki baz farkı yaklaşık %1,58 düzeyindedir. İndel analizi sonucunda, triallelic model (≥ 3 allel) kullanıldığında hiçbir pozisyonda çok allelli indel saptanmamıştır; bu da varyasyonların büyük oranda basit nükleotid değişikliklerinden (SNP) kaynaklandığını düşündürmektedir. Öte yandan, multiallelic model (≥ 2 allel) ile yapılan değerlendirmede 166 indel pozisyonu tespit edilmiş ve bu pozisyonlardan elde edilen sekiz farklı indel haplotipi ile yüksek düzeyde yapısal çeşitlilik

(InDel Hd = 1,000) gözlenmiştir. Bu sonuçlar, ITS bölgesinde gözlemlenen genetik çeşitliliğin hem nükleotid düzeyindeki SNP'lerden hem de yapısal düzeydeki indel polimorfizminden kaynaklandığını düşündürmektedir. Özellikle yüksek sayıda indel pozisyonu, ITS bölgesinin çok kopyalı yapısal tekrar bölgeleri içerebileceğine ve varyasyonun önemli bir kısmının bu yapılardan kaynaklanabileceğine işaret etmektedir. Ancak bu yorumların, sınırlı örneklem büyüklüğü (n=8) nedeniyle kontrollü bir şekilde değerlendirilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Naganishia uzbekistanensis suşlarının 630 bp'lik ITS bölgesinde (n = 3) S = 3, H = 3 ve Hd = 1,000 bulunmuştur. Ortalama nükleotit çeşitliliği $\pi = 0,00321$ (%0,32) olup, multiallelic modelde 6 indel pozisyonu (InDel Hd = 1,000) tespit edilmiştir. Bu veriler, her suşun farklı bir ITS profiline sahip olabileceğini düşündürse de, sınırlı örnek sayısı nedeniyle genelleme yapmak mümkün görünmemektedir.

Priceomyces carsonii suşlarının 640 bp uzunluğundaki ITS bölgesinde (n = 3) yalnızca 1 segregasyon pozisyonu (S = 1) belirlenmiştir. Haplotip sayısı H = 2 ve haplotip çeşitliliği Hd = 0,667 olup, suşların yaklaşık üçte ikisinde farklı haplotiplerin bulunduğunu göstermektedir. Ortalama nükleotit çeşitliliği $\pi = 0,00078$ (%0,08) düzeyindedir. Ayrıca 82 indel pozisyonu tespit edilmiştir. Bu bulgular, *P. carsonii* suşları arasında sınırlı düzeyde nükleotid değişiklikleri görülse de, indel varyasyonlarının tür içi genetik çeşitliliğe katkı sağladığını göstermektedir. Ancak düşük segregasyon sayısı ve sınırlı örnek büyüklüğü, bu sonuçların genelleştirilmesini kısıtlamaktadır.

Wickerhamomyces anomalus'a ait 622 bp uzunluğundaki ITS dizisinde (n = 2) S = 0, H = 1, Hd = 0 ve $\pi = 0$ olarak hesaplanmıştır. Ancak 37 indel pozisyonu, bölgede sınırlı da olsa yapısal çeşitlilik bulunduğunu göstermektedir. Tek örneğe dayalı bu veriler genellenemez ancak indel profilleri potansiyel popülasyon içi ayrımlar için tamamlayıcı bilgi sağlayabilir.

Enterococcus faecalis'e ait 1.060 bp uzunluğundaki 16S rRNA dizilerinde (n = 12) S = 3, H = 3 ve Hd = 0,318 ile sınırlı bir haplotip çeşitliliği saptanmıştır. Ortalama nükleotit çeşitliliği $\pi = 0,00078$ olup, diziler arasında çok düşük baz farkı (%0,08'in altında) mevcuttur. İndel tespit edilmemiştir. Bu veriler, çalışmadaki *E. faecalis* suşları arasında 16S rRNA bölgesinin sınırlı intraspesifik ayırım sunduğunu göstermekte olup

daha hassas filogenetik çözümler için ek lokuslara ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.

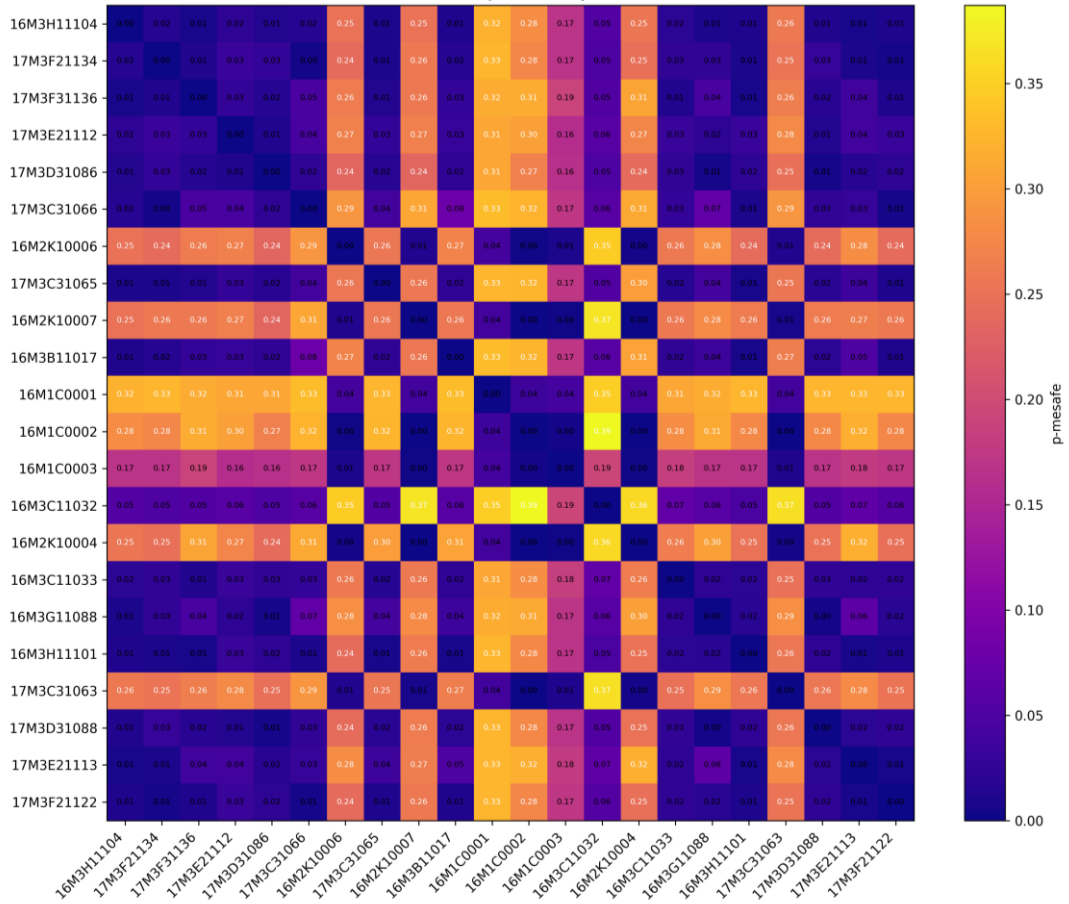
Enterococcus faecium suşlarına ait 1.161 bp uzunluğundaki 16S rRNA dizilerinde ($n = 3$) $S = 0$, $H = 1$, $H_d = 0$ ve $\pi = 0$ olarak hesaplanmıştır; indel varyasyonu da saptanmamıştır. Bu veriler, çalışmadaki suşların 16S rRNA bölgesinde yüksek düzeyde benzerlik gösterdiğini ve intraspesifik ayırım için bu markırın sınırlı bilgi sağladığını göstermektedir.

Tür Düzeyinde SNP Temelli Genetik Uzaklık Analizleri ve Isı Haritası

Bu bölümde, HUFCC koleksiyonunda tür düzeyinde temsil edilen suşlara ait SNP bazlı genetik uzaklık analizleri sunulmuştur. Her bir tür için MEGA11 yazılımı kullanılarak çiftler arası p-mesafeleri hesaplanmış ve elde edilen veriler Python ile ısı haritası (heatmap) formatında görselleştirilmiştir. Örnek Python kodu EK 1.7'de verilmiştir. Toplamda yedi farklı veri seti görselleştirilmiştir. Isı haritalarında, düşük p-mesafeleri koyu tonlarla (genetik yakınlık), yüksek p-mesafeleri ise sıcak tonlarla (genetik uzaklık) gösterilerek, tür içi genetik farklılıklar görsel olarak yorumlanabilir hale getirilmiştir. Koleksiyonda yalnızca bir ya da iki suşla temsil edilen türler bu analize dahil edilmemiştir [46, 181, 183].

Saccharomyces cerevisiae (LSU bölgesi, n = 22)

Daha önceki çalışmalarda tanımlanmış ve NCBI'a kaydedilmiş [103, 104] 22 farklı *Saccharomyces cerevisiae* suşu arasında LSU bölgesine dayalı SNP p-mesafe değerleri görselleştirilmiştir. İlgili şekil Şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait 22 suşun LSU bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir).

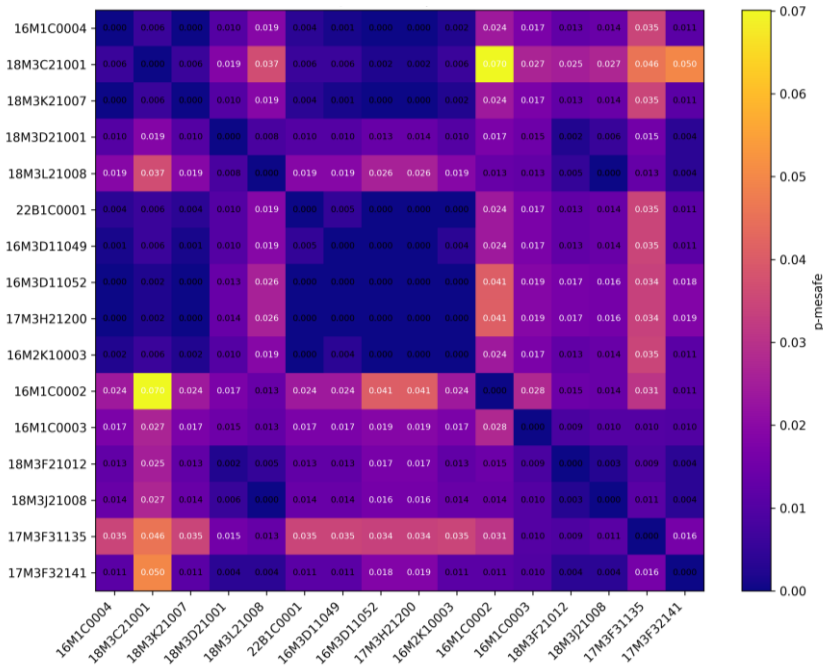
Analiz sonucunda p-mesafelerin 0.00 ile 0.37 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Bu geniş aralık, koleksiyon içerisindeki suşların genetik olarak oldukça farklılaşabildiğini ve belirgin bir tür içi çeşitlilik taşıdığını göstermektedir. Özellikle 16M3C11032, 16M2K10004 ve 16M2K10007 kodlu suşlar, birçok diğer suşla yüksek p-mesafeleri sergileyerek filogenetik olarak daha uzak bir konumda yer aldıklarını ortaya koymaktadır. Bu durum, söz konusu suşların ya farklı kökenlerden geldiğini ya da

potansiyel olarak genomik varyasyon taşıyan alt gruplara ait olduklarını düşündürmektedir.

Buna karşılık, 17M3F21134 ile 17M3F31136, ya da 17M3E21112 ile 17M3E21113 gibi bazı suş çiftleri, çok düşük p-mesafeleriyle (genellikle $p < 0.05$) birbirlerine oldukça yakın bir genetik yapı sergilemektedir. Bu durum, olası klonal ilişkiler veya aynı kaynaktan türeyen suşlar olabileceklerini düşündürmektedir.

Genel olarak bu ısı haritası, *S. cerevisiae* suşlarının LSU bölgesinde homojen bir popülasyon yapısına sahip olmadığını, aksine anlamlı düzeyde intraspesifik varyasyon barındırdığını göstermektedir. Bu da LSU bölgesinin, koleksiyon içi filogenetik ayrımların belirlenmesinde yüksek çözünürlüklü bir marker olarak etkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

Saccharomyces cerevisiae (ITS bölgesi, $n = 16$)



Şekil 4.8. *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait 16 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.)

Şekil 4.8’de verilen 16 farklı *Saccharomyces cerevisiae* suşu arasında ITS bölgesine dayalı SNP p-mesafe değerleri görselleştirilmiştir. Her bir hücrede yer alan p-mesafe değeri, iki suş arasında gözlenen nükleotid bazlı farklılık oranını ifade etmektedir.

Analiz sonucunda p-mesafelerin 0.000 ile 0.070 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Bu değerler, suşların büyük bir kısmının genetik olarak birbirine oldukça yakın olduğunu, ancak bazı çiftler arasında dikkat çekici farklılıkların bulunduğunu göstermektedir. Özellikle 16M1C0002, 18M3C21001 ve 17M3F31135 gibi bazı suşlar, diğer suşlarla daha yüksek p-mesafe değerleri sergileyerek genetik olarak daha ayrışmış bir profil ortaya koymaktadır. Örneğin, 16M1C0002'nin 18M3C21001 ile olan mesafesinin 0.070 gibi yüksek bir değerde olması, bu iki suşun popölasyon içi genel yapının dışında kaldığını düşündürmektedir.

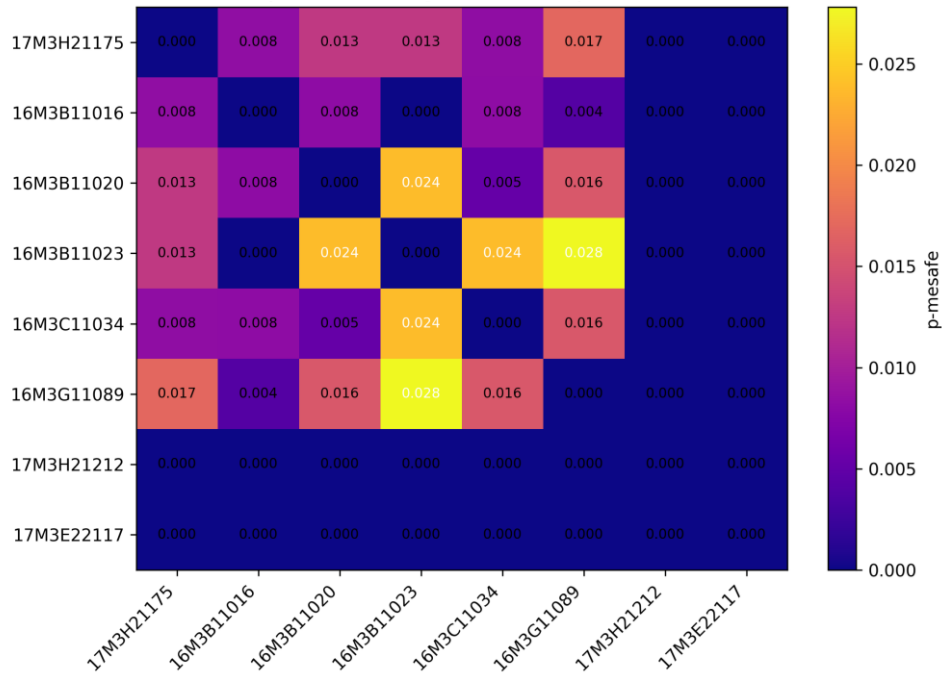
Öte yandan, 17M3F31135 ile 17M3F32141 arasındaki p-mesafesinin 0.000 olması, bu iki suşun klonal düzeyde benzerlik taşıdığını ve aynı kaynaktan ya da çok yakın bir genetik geçmişten türemiş olabileceklerini göstermektedir.

Bu sonuçlar, ITS bölgesinin *S. cerevisiae* türü içinde ölçölü bir varyasyon sunduğunu ve bazı suşları ayırt edebildiğini ortaya koymaktadır. Ancak genel dağılım, suşların büyük kısmının düşük p-mesafesiyle kümelendiğini ve bu bölgenin sınırlı ayırım gücüne sahip olduğunu da işaret etmektedir. Bu nedenle, daha derin popölasyon yapısı çözümlemeleri için ITS bölgesi tek başına yetersiz kalabilir.

Saccharomyces cerevisiae suşları arasında yapılan SNP p-mesafe analizleri, tür içi çeşitliliğin belirgin düzeyde olduğunu göstermektedir. Ancak bu çalışmada kullanılan ITS ve LSU bölgeleri, *S. cerevisiae*'nin probiyotik varyantı olarak kabul edilen *S. boulardii* ile ayırım yapılmasını doğrudan sağlayacak çözünürlükte değildir. Nitekim daha önce yayımlanan bir çalışmada, *S. boulardii* (Sb) ile bazı *S. cerevisiae* (Sc) suşları arasında genetik uzaklıkların ITS ve LSU gibi konvansiyonel bölgelerle yeterince ayırt edilemediği, ancak Sb'yi yakından ilişkili Sc suşlarından ayırt etmek için aril-alkol dehidrogenaz (*AAD15*) genini hedef alan kantitatif bir qPCR-HRM testi geliştirildiği görölmüştür [104, 176].

Bu nedenle, bu tezde yer alan LSU ve ITS temelli ısı haritaları, *S. boulardii* kökenli olabilecek suşların varlığına dair doğrudan bir belirleme sunmamakta; ancak genel tür içi varyasyonun görselleştirilmesine katkı sağlamaktadır.

Metschnikowia pulcherrima (ITS bölgesi, n = 8)

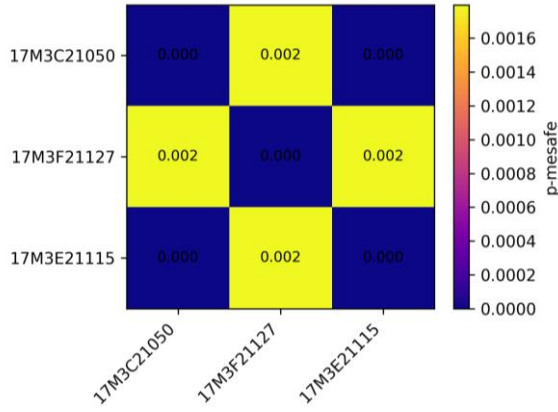


Şekil 4.9. *Metschnikowia pulcherrima* türüne ait 8 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.)

Şekil 4.9’da 8 farklı *Metschnikowia pulcherrima* suşu arasında ITS bölgesine dayalı olarak hesaplanan SNP p-mesafe değerleri görselleştirilmiştir. Analiz sonucunda p-mesafelerin 0.000 ile 0.028 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Bu değerler genel olarak düşük düzeyde genetik çeşitliliğe işaret etmekle birlikte, bazı suş çiftleri arasında diğerlerine kıyasla daha yüksek farklılıklar saptanmıştır. Örneğin, 16M3B11023 ile 16M3G11089 arasındaki 0.028’lik maksimum p-mesafesi, bu iki suş arasında görece bir SNP farklılığına işaret etmektedir. Buna karşın, bazı suş çiftleri (örneğin 17M3H21175, 17M3H21212 ve 17M3E22117) 0.000 p-mesafesi ile birbirine çok yakın ya da potansiyel olarak aynı kaynaktan gelmiş olabilir.

Genel olarak bakıldığında, *M. pulcherrima* suşları arasında ITS bölgesine dayalı tür içi varyasyonun sınırlı düzeyde olduğu, ancak bazı suşlar arasında farklılaşma gözlemlenebildiği anlaşılmaktadır. Bu da ITS bölgesinin, sınırlı sayıda suş için temel düzeyde ayırım yapılmasına olanak sağlayabileceğini düşündürmektedir.

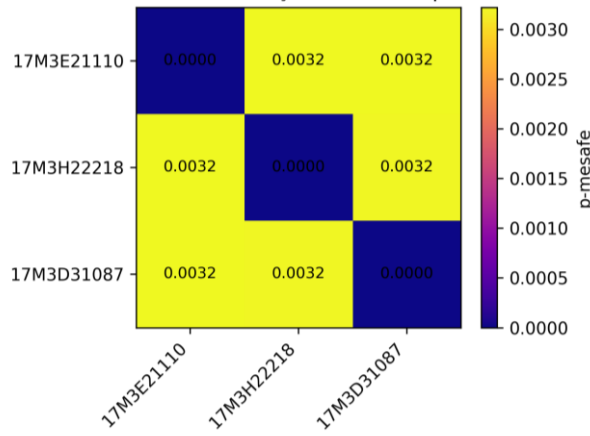
Priceomyces carsonii (ITS bölgesi, n = 3)



Şekil 4.10. *Priceomyces carsonii* türüne ait 3 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.)

Şekil 4.10’da 3 farklı *Priceomyces carsonii* suşu arasında ITS bölgesine dayalı olarak hesaplanan SNP p-mesafe değerleri görselleştirilmiştir. Analiz sonucunda p-mesafe değerlerinin yalnızca 0.002 olduğu ve oldukça dar bir varyasyon aralığında kaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, çalışmada değerlendirilen suşlar arasında ITS bölgesine göre sınırlı düzeyde SNP temelli farklılık bulunduğunu göstermektedir. Özellikle 17M3C21050 ile 17M3E21115 arasındaki mesafenin 0.000 olması, bu iki suşun genetik olarak çok yakın olabileceğine işaret etmektedir. Ancak değerlendirilen suş sayısının sınırlı olması nedeniyle, ITS bölgesinin *P. carsonii* türü içindeki genel çeşitliliği ne ölçüde yansıttığı konusunda temkinli olunmalıdır.

Naganishia uzbekistanensis (ITS bölgesi, n = 3)

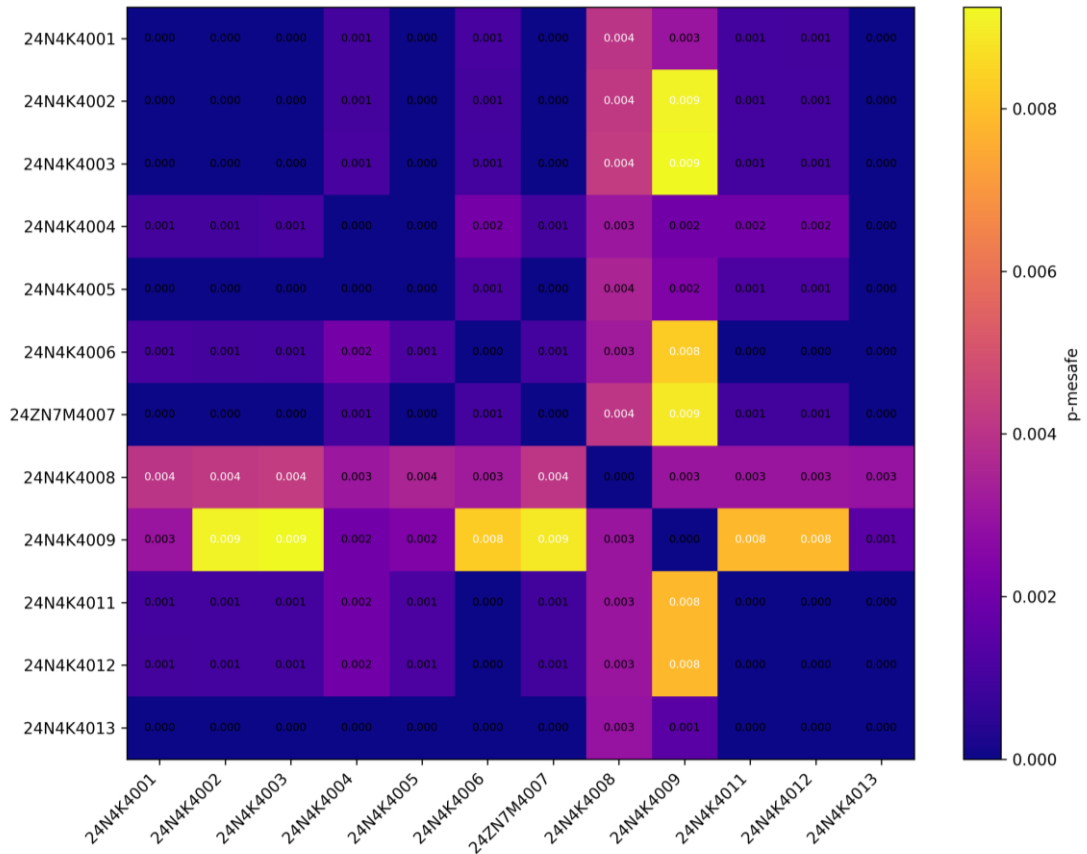


Şekil 4.11. *Naganishia uzbekistanensis* türüne ait 3 suşun ITS bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.)

Şekil 4.11’de , 3 farklı *Naganishia uzbekistanensis* suşu arasında ITS bölgesine dayalı olarak hesaplanan SNP p-mesafe değerleri görselleştirilmiştir. Her bir hücredeki p-mesafe değeri, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid bazlı farklılık oranını göstermektedir. Analiz sonucunda tüm suş çiftleri arasında p-mesafenin 0.0032 olarak hesaplandığı görülmüştür. Bu durum, çalışmada değerlendirilen örnekler arasında düşük düzeyde ve benzer oranlarda SNP temelli çeşitlilik bulunduğuna işaret etmektedir.

Örnek sayısının azlığı nedeniyle genelleme yapılması mümkün olmamakla birlikte, bu bulgular *N. uzbekistanensis* suşlarının ITS bölgesine göre büyük ölçüde benzerlik gösterdiğini göstermektedir.

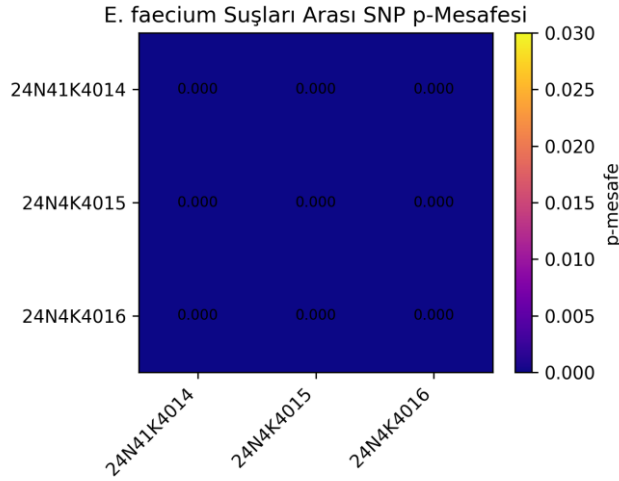
Enterococcus faecalis (16S rRNA bölgesi, n = 12)



Şekil 4.12. *Enterococcus faecalis* türüne ait 3 suşun 16S rRNA bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.)

Şekil 4.12’de, 12 farklı *Enterococcus faecalis* suşu arasında 16S rRNA bölgesine dayalı olarak hesaplanan SNP p-mesafe değerleri görselleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre p-mesafeler 0.000 ile 0.009 aralığında değişmektedir. Bu değerler, birçok suş arasında düşük düzeyde genetik farklılık bulunduğunu ve genel olarak benzerlik gösterdiklerini düşündürmektedir. Öte yandan, 24N4K4009 kodlu suşun bazı diğer suşlarla olan p-mesafesinin görece daha yüksek çıkması, bu örneğin farklı bir genetik profile sahip olabileceğine işaret etmektedir.

Enterococcus faecium (16S rRNA bölgesi, n = 3)



Şekil 4.13. *Enterococcus faecium* türüne ait 3 suşun 16S rRNA bölgesi üzerinden hesaplanan tür içi SNP p-mesafeleri ısı haritası (Her bir hücre, karşılaştırılan iki suş arasındaki nükleotid farklılık oranını (p-mesafe) temsil etmektedir.)

Analiz sonuçlarına göre p-mesafeler 0.000 düzeyinde bulunmuş, bu da karşılaştırılan tüm suşların nükleotid dizileri bakımından tamamen özdeş olduğunu göstermektedir. Bu bulgu, söz konusu suşlar arasında genetik çeşitliliğin bulunmadığını ve aynı genetik profile sahip olduklarını düşündürmektedir.

Bu çalışmada, HUFCC koleksiyonunda yer alan maya ve bakteri suşlarına ait farklı gen bölgeleri kullanılarak SNP p-mesafelerine dayalı genetik uzaklık analizleri gerçekleştirilmiş ve ısı haritaları aracılığıyla tür düzeyinde görselleştirilmiştir.

Bulgular, tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin hem organizmanın genetik yapısına hem de analiz edilen lokusun ayırım gücüne bağlı olarak değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymuştur. Örneğin, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarında LSU bölgesi anlamlı düzeyde varyasyon sunarken, ITS bölgesi daha düşük ancak sınırlı ayırım imkânı sağlamıştır. *Metschnikowia pulcherrima* suşlarında genel olarak düşük p-mesafeleri gözlenmiş olsa da bazı örnekler belirgin farklılıklar göstermiştir.

Az sayıda örnekle temsil edilen *Priceomyces carsonii* ve *Naganishia uzbekistanensis* gibi türlerde ITS bölgesi sınırlı çeşitlilik yansıtmıştır. *Enterococcus faecalis* suşlarında 16S rRNA temelli p-mesafelerin dar bir aralıkta kaldığı, ancak birkaç suşun görece olarak daha farklı bir yapıda olabileceği gözlemlenmiştir.

Enterococcus faecium suşlarında ise p-mesafelerin tüm karşılaştırmalarda 0.000 düzeyinde olduğu, bu nedenle analiz edilen suşların genetik olarak tamamen özdeş profiller sergilediği belirlenmiştir.

Genel olarak, analiz edilen lokuslar koleksiyondaki türlerin temel taksonomik doğruluğunu desteklemektedir. Bu analizler, koleksiyonun mevcut çeşitliliğinin değerlendirilmesine ve gelecekteki stratejik planlamalara katkı sağlayabilecek niteliktedir.

4.3.5. Konsensüs Dizi Temelli DNA Barkodlarının Oluşturulması

Mikrobiyel türlerin tanımlanmasında genetik belirteçlere dayalı yöntemlerin yaygınlaşması, DNA barkodlama tekniğini mikrobiyel sistematiğe önemli bir araç hâline getirmiştir. Bu bağlamda, çalışmada yer alan seçili mikroorganizmalara ait ITS, LSU ve 16S rRNA dizileri kullanılarak konsensüs diziler oluşturulmuştur. Konsensüs diziler, tür içi varyasyonlara rağmen korunan ve tanımlayıcı nitelikteki bölgelere odaklanılarak hesaplanan, her bir tür için temsili bir DNA dizisi sunar.

Bu amaçla her tür için hizalanmış nükleotid dizilerinden çoklu dizi hizalama yöntemi ile konsensüs diziler elde edilmiş ve bu dizilerden renk kodlu barkod görselleri türetilmiştir. Her bir nükleotid farklı bir renk ile gösterilerek karşılaştırmalı analizlerde hem görsel hem de fonksiyonel kolaylık sağlanması hedeflenmiştir. Kodlama Python dilinde özel olarak hazırlanmış bir algoritma ile gerçekleştirilmiş olup, her bir baz (A, T, G, C, N) için sabit renk kodları kullanılmıştır:

■ A ■ T ■ G ■ C ■ N

Aşağıdaki Şekil 4.14.'de verilen şekilde, her tür için oluşturulan konsensüs diziler ve bu dizilere karşılık gelen DNA barkod görselleri sunulmaktadır. Yer alan takson barkodları bu çalışmada elde edilen ve yeterli kalitede olan ve daha önceki çalışmalarda [104] elde edilen dizileri kapsamaktadır. Barkodların çizilmesi için kullanılan örnek Python kodu EK 1.8'de verilmiştir. Bu barkodlar hem genetik varyasyonların görselleştirilmesini kolaylaştırmakta hem de ileri düzey veri madenciliği yaklaşımları için bir temel sağlamaktadır.

<i>S.cerevisiae</i> (LSU n=22)	GTGAAGCGGCAAAAGCGGGCCGCGGTAGTCTGGAAGCGCAAGAGGGTGAACCCGTTCCAAGAGTCGAGTTGTT TGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATAGGCGAGAGACCGATAGCGAACTACA GTGATGGAAGATGAAAAGACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTACA GATTACTGGGCCAGCATCGGGAATGTACTTCAGATTATACCGTACTCCGCGAGGCTGCATAAGGATGCTGGCTA ATGGTTAGCGCCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATGCAGTGTGTTGGGAAAACCCATACGCGAATG AAAGTACG
Takson Barkodu	
<i>S.cerevisiae</i> (ITS n=22)	AACACAAACAATTTTATTATTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTGTAAGTGGAAATAAAATATTA ACTTTCAACAACGGATCTTTGGTTTCGCATCGATGAAGACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGA ATTCCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCCATTGCGCCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCA TTTCCTTTCAAACATTTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGA TGCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTACCAACTGCGGCTAATC
Takson Barkodu	
<i>M. pulcherrima</i> (n=8)	TCAATACCAATTAaaaaactttcaacaacggatctcttggttctcgcATCGATGAAGAACGCAGCGAATTGCGA TACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTCCCCAGGGCA TGCCTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGTTTTGGTCTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAAT AAG
Takson Barkodu	
<i>P. carsonii</i> (n=3)	CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTTTTGCCAGCGCTTAAGTGCAGCGGCGAAATAAAC CTTACACACAATGTTTTTTGTTATTACAGGAACTTTGCTTTGGCTTGTCTCTAGAAATAGAGTTGGGCCAAAGGT TTAAACTAACTTCAATTTATTTGAACTATTTTTCTTATTGAAATGTCACTTTGTTGATTAAATCAAAAAATCTTC AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAAT TGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTG AGCGTCATTTCTCTCTCAAACCTTAGGGTTTTGGTATTGAGTGATACTTTAGTCGAACTAGGCGTTTGCTTGAAAT GTATCGGCATGAGTGGTACTAGATTAGTGCTTCAGATTTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAATAGT CTGATGGCAAGTGTTTAGTAACTATGGCTCG
Takson Barkodu	

<i>N.uzbekistanensis</i> (n=3)	CTTCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGATTGAACGTCTGTTCGAGCTTGCTCACAGGCACATCATAT CCATAACACCTGTGCACCTTGTTCGGATGGCTTAGTGAAGACCGCAAGGTTGGAACCTATCCGTCTACTTTACATAAC AATTCTGTAACAAATTAGTCTTATTATAACATAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATG AAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTT GCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTTCATGAAAACCCTCAACCTTAGATTGGTTAAACCT TTCTTTGGCTTGGATTGGACGTTTGCCGATGATAAGTCGGCTCGTCTTAAAAGTAATAGCTGGATCTGTCTCGC GACATGGTTTGACTTGGCGTAATAAGTATTTTCGCTAAGGACATCTTCGGATGGCCGCGTTGCAAGACTAAAGAC CGCTTTCTAATCATTGATCTTCGGATTAATAATTCTTGACATCTGGCCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAAC TTAAGCATATCAATAGGGGGAGG
Takson Barkodu	
<i>Enterococcus faecalis</i> (n=12)	GCGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCG CATAACAGTTTATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGC ATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACAC TGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGA CCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTA GTAAGTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG TAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGC CCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGT GTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACAGTGCGGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTG AGGCTCGAAAGCGTGCGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT GTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGT TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAA CCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTTAGAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGCAAAGTGACAGG
Takson Barkodu	

<i>Enterococcus faecium</i> (n=3)	CGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAAAC CTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGTATAACAATCAAAACCGCATGGTTTTGA TTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCA CCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCT ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAG GTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACGGTATCTA ACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATT GGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGG AAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGA GGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAG GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGC AGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTT
Takson Barkodu	

Şekil 4.14. Tür düzeyinde oluşturulan DNA barkod görselleri

Tür düzeyinde temsil edici konsensüs diziler, MUSCLE v5 algoritması ile hizalanmış ve UGENE yazılımı kullanılarak %70 benzerlik eşiğiyle tek bir temsilci diziye indirgenmiştir. Bu diziler, Python 3.11 ve Matplotlib 3.8 ortamında her bir nükleotid bazına özgü renk kodlamasıyla barkod formatında görselleştirilmiş; 300 dpi çözünürlükte, şeffaf arka planlı PNG formatında dışa aktarılmıştır.

Bu yöntemle elde edilen barkod görselleri, sadece dizisel bilgilerin görselleştirilmesini değil, aynı zamanda mikrobiyel türler arası genetik varyasyonun morfolojik olarak yorumlanmasını da mümkün kılmaktadır. Bu çalışma, DNA barkodlarının dizisel tabanlı morfolojik analizlerde kullanılabilirliğini göstermiştir. HUFCC veri tabanında her suşa özgü olarak yer alan bu barkod görselleri hem tür düzeyindeki karakterizasyonu desteklemekte hem de genomik temelli varyasyonların görsel olarak karşılaştırılmasına olanak sunmaktadır. Bu yaklaşım, mikrobiyel kültür koleksiyonlarının yalnızca moleküler değil, aynı zamanda görsel düzeyde de tanımlanabilir bir morfolojik-genomik profil kazanmasına katkıda bulunmaktadır [47, 60].

4.4. Liyofilizasyon Uygulamaları

Uzun dönemli kültürlerin korunması ve mikrobiyel biyoçeşitliliğin sürdürülebilir yönetimi için, uluslararası mikrobiyel kültür koleksiyonları tarafından geçerli bir metot olarak kabul edilen [20] dondurarak kurutma (liyofilizasyon) işlemi, bu çalışmanın deneysel protokolünde en önemli bileşeni oluşturur [58, 88, 139]. Çalışmamızda numune hazırlığı FoodOmics Laboratuvarı'nda, dondurma ve kurutma aşamaları ise HÜNİTEK (Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi) tesislerinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada pelletler, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 18 saat ön dondurma işlemine tabi tutulmuş, ardından cihaz rafları $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanarak vakum altında (yaklaşık 0,15 mbar) 42 saat süresince süblimasyon yoluyla kurutma gerçekleştirilmiştir. Maya suşları için liyofilizasyon öncesi, sonrası ve 30 günlük -20°C 'de depolama sonrası, bakteri suşları için ise liyofilizasyon öncesi canlı hücre sayısı 10^8 kob/ml olacak şekilde davranılmış ve yalnızca 30 günlük -20°C 'de depolama sonrası yüzeye yayma yöntemi kullanılarak sayımı yapılabilir aralıkta (20–200 kob) sonuçlar alınmıştır [95] [184].

4.4.1. Maya ve Bakteri Suşlarında Liyofilizasyon Süreci

Bu çalışmada maya suşları, çalkalamalı inkübatör kullanılarak $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de ve 210 rpm'de inkübe edilmiş; *Saccharomyces cerevisiae* suşları için 20 saatlik standart inkübasyon süresi uygulanırken, *Saccharomyces* dışı türler için literatüre dayalı tür-spesifik süreler belirlenmiştir [87, 132-139]. Formülasyon aşamasında Bond ve arkadaşlarının kullandığı koruyucu sistem [108] esas alınmış; modifiye edilen süspansiyon ortamında %10 (a/h) trehaloz dihidrat ve %10 (a/h) yağsız süt 1:2 (h/h) oranında kültür süspansiyonuna eklenmiştir. Bu koruyucu sistemle hazırlanan maya süspansiyonları, liyofilizasyon öncesinde 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve ardından eşit hacimlerde kriyovial tüplere dağıtılmıştır.

Bu süreçte kültür koleksiyonunda yer alan 59 maya suşundan 55 suş için liyofilize kültür üretimi başarıyla tamamlanmıştır. Bunların dışında yer alan ve liyofilizasyondan sonra liyofilize saf kültür elde edilemeyen HUF16M3H11101 kodlu *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3E21115 ve HUF17M3F21127 kodlu *Priceomyces carsonii* ve HUF16M2K10011 kodlu *Yarrowia lipolytica* suşlarıdır.

Liyofilizasyonun canlılık üzerine etkisini ve uygulanan prosesin başarısını değerlendirmek amacıyla, rastgele örnekleme yöntemi ile suş seçimi yapılmış ve ölçüm zamanları belirlenmiştir. Bazı suşlar için canlılık sayımı doğrudan liyofilizasyon sonrasında, bazıları için ise 30 günlük depolama süresinin sonunda gerçekleştirilmiştir. Liyofilizasyon öncesi ve sonrası canlı hücre sayıları belirlenmiş olup, elde edilen sonuçlar EK 3.1’ de sunulmuştur. [171, 185].

Çalışma kapsamında LAB bakterileriyle yürütülen dondurarak kurutma işleminde farklı türlerin uzun süreli korunması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda bakteri suşları için literatürde kabul gören proses parametreleri ve koruyucu bileşenler kullanılmıştır. Bakteri suşları 37°C’de 20 saat inkübe edilmiş ardından dondurarak kurutma işlemi için numune hazırlığı yapılmıştır [141]. Elde edilen sonuçlar EK 3.2’ de sunulmuştur.

Formülasyon aşamasında literatürde kabul gören bir koruyucu bileşen kompozisyonu kullanılarak [109]. %10 (a/h) sükröz (Ultra Pure, BioShop, Canada, Ürün Kodu: SUC507, CAS 57-50-1) ve %10 (a/h) yağsız süt tozu (Condalab, Spain, Ürün Kodu: 0230, CAS 999999-99-4) konsantrasyonunda koruyucu bileşen hazırlanmıştır [95]. Pellet süspansiyonuna 1:2 (v/v) oranında eklendikten sonra 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Liyofilize kültür süspansiyonu, 5 ml’lik kriyoviallere (Microcult Türkiye, Ürün Kodu:233050) 2 ml’lik hacimlerde 5’er örnek hazırlanacak şekilde eklenmiştir. Daha sonra liyofilizasyon işlemine geçilmiştir.

Bu süreçte HUF19ZN1R1013 kodlu *Lacticaseibacillus rhamnosus* ve HUF18ZN2R1004 kodlu *Levilactobacillus brevis* suşları dışında toplamda 20 adet LAB bakteri suşu liyofilize kültür elde edilmiştir. Bakteri suşları için liyofilizasyon öncesi canlı hücre sayısı 10^8 kob/ml olacak şekilde davranılmış ve yalnızca 30 günlük -20°C’de depolama sonrası yüzeye yayma yöntemi kullanılarak sayımı yapılabilir aralıkta (20–200 kob) sonuçlar alınmıştır [171, 185]. Elde edilen sonuçlar EK 3.2’de verilmiştir. Çizelge 3.2.’de belirtilen 4 referans suş ve HUF19ZN1R1013 kodlu *Lacticaseibacillus rhamnosus* suşuna ait liyofilize kültürler ticari ana stoktan hazırlanmıştır.

Maya ve bakteri suşlarının liyofilizasyon sonuçlarıyla ilgili istatistik sonuçları Çizelge 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Maya ve bakteri suşlarında liyofilizasyon öncesi, sonrası ve depolama sonrası canlı hücre sayılarının istatistiksel özetleri

Parametre	n	Minimum (log kob/mL)	Maksimum (log kob/mL)	Ortalama (log kob/mL)	Medyan (log kob/mL)	Standart Sapma (log kob/mL)
Mayalar						
Liyofilizasyon Öncesi	14	7,11	8,08	7,72	7,70	0,28
Liyofilizasyon Sonrası	14	7,00	7,78	7,38	7,41	0,20
30 Günlük Depolama	14	6,66	7,95	7,45	7,44	0,39
Bakteriler						
30 Günlük Depolama	12	8,86	9,69	9,49	9,6	0,25

Çizelge 4.10’da maya ve bakteri suşlarına ait liyofilizasyon öncesi, sonrası ve 30 günlük depolama süreci sonunda elde edilen canlı hücre sayılarının logaritmik değerleri verilmiştir. Maya suşlarında liyofilizasyon öncesi canlı hücre sayıları 7,11–8,08 log kob/mL aralığında değişmiş ve ortalama değer 7,72 log kob/mL olarak hesaplanmıştır. Liyofilizasyon sonrasında canlılık 7,00–7,78 log kob/mL aralığında bulunmuş, ortalama değer 7,38 log kob/mL olmuştur. Otuz günlük depolama sonunda maya suşlarında canlılık 6,66–7,95 log kob/mL aralığında değişmiş ve ortalama değer 7,45 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Bakteri suşlarında ise 30 günlük depolama sonrasında canlı hücre sayıları 8,86–9,69 log kob/mL aralığında bulunmuş ve ortalama değer 9,49 log kob/mL olarak hesaplanmıştır.

Sonuç olarak, maya ve bakteri suşlarından elde edilen liyofilize kültürler özetlendiğinde; koleksiyonda yer alan 59 maya suşunun 55’i ve 26 bakteri suşunun 25’ü için liyofilize kültür hazırlanmıştır. Bu aşamada liyofilize kültürler, fenotipik ve genotipik özelliklerinin korunması için ikinci pasaj olarak hazırlanmıştır. Referans olarak temin edilen ürünler, zaten liyofilize formda oldukları için, viallere aktarılmış ve ayrıca orijinal ambalajlarıyla kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir. Sonuç olarak, HUFCC’de yer alan toplam 85 suşun 80’ine ait liyofilize kültür bulunmaktadır.

4.4.2. Liyofilize Kùltürlerin Kek Morfolojisi ve Saflık Açısından Kalite Kontrolü

Liyofilizasyon, optimize edilmesi gereken çok sayıda parametreye baēlı, oldukça hassas ve çok deēiřkenli bir kurutma yöntemidir. Bu çalışmada, mikrobiyel biyoçeřitliliēin uzun süreli korunmasını hedefleyen bir yaklaşım benimsendiēi için, yalnızca kurutma başarısı deēil, kùltürlerin canlılık durumları da büyük önem taşımaktadır. Liyofilizasyon sonrası canlılık deēerlendirmeleri bir önceki bölümde detaylı biçimde sunulmuştur [95, 139].

Bu bölümde ise, liyofilize edilmiş kùltürlerin kek morfolojileri incelenmiş ve elde edilen ürünler düzgün kek, düzgün olmayan kek, eēimli kek ve heterojen kek olmak üzere dört ana grupta sınıflandırılmıştır. Morfolojik sınıflandırma, yalnızca ürün estetiēi açısından deēil, aynı zamanda liyofilizasyon sürecindeki fiziksel ve termal deēiřkenlerin dolaylı bir yansıması olarak deēerlendirilmiřtir [142, 186, 187]. şekil 4.15'te liyofilize edilen suşların kek morfolojilerine göre sınıflandırılmaktadır.

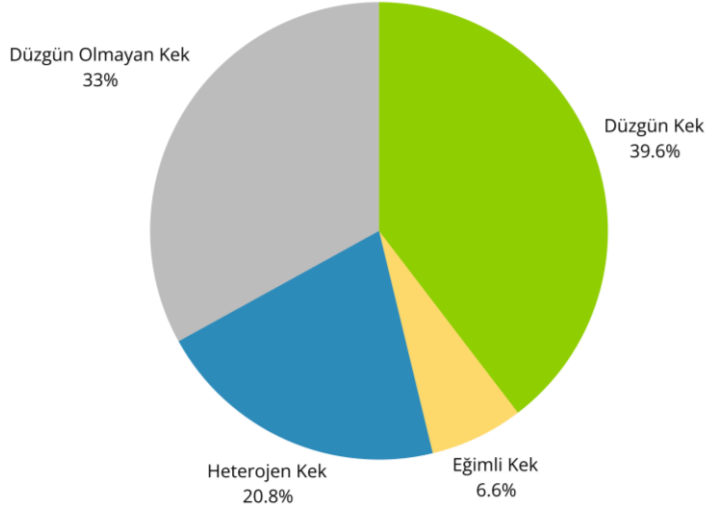
Ayrıca saflık kontrolü, kùltürlerin uzun süreli saklamaya alınmadan önce kontaminasyondan arı olduklarını doērulamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Biyolojik materyalin uzun dönemli saklanması yalnızca canlılık deēil, genetik ve mikrobiyolojik saflık da temel önceliklerdendir [42, 111]. Bu nedenle, her bir morfolojik grubun temsil ettiēi suşlar, liyofilizasyon sonrası katı besiyerine tek koloni düşürme yöntemiyle ayrıca saf kùltür olup olmadıkları yönünden kontrol edilmiştir. Liyofilizasyon sonrası saf kùltür olmadığı tespit edilen yalnızca 4 adet suş bulunmakta ve saf olmayan liyofilize HUF16M3H11101 kodlu *S.cerevisiae*, HUF17M3E21115 ve HUF17M3F21127 kodlu *P.carsonii* ve HUF16M2K10001 kodlu *Y.lipolytica* suşları kùltür koleksiyonuna yalnızca gliserol stok kùltür olarak dahil edilmiştir.

Kek Morfolojisi	Morfoloji Yorumu	Morfolojiyi Gösteren Suşlar
	Eğimli Kek	16M1C0003, 16M3H11104, 16M3B11017 18M3D21001, 17M3F32141, 17M3F21134
	Düzgün Kek	16M3B11017, 17M3F21128, 17M3F31136, 16M3C11032, 16M2K10003, 17M3C31065, 16M3G11088, 17M3E21112, 16M3D11049, 17M3C31063, 17M3C31066, 17M3D31088, 17M3E21113, 17M3F21122, 17M3F21123, 18M3C21001, 17M3F21134, 17M3H21175, 17M3E21110, 17M3H22218 , 17M3C21050, 16M2K10009, 16M2K10010, 17M3F31139, 18ZN4R1011, 18ZN5R1018 19ZN1R1001, 19ZN10M1058, 24ZN3R2030, 24N4K1001, 24N4K1003, 24N4K1004, 24N4K1005, 24N4K1006, 24N4K1007, 24N4K1009, 24N4K1013, 24N4K1014, 24N4K1015, 24N4K1016
	Heterojen Kek	16M1C0002, 16M1C0003, 16M1C0004, 16M2K10004, 16M2K10006, 18M3G21009, 16M1C0001, 16M2K10007, 16M3A11003, 16M3D11052, 18M3J21008, 18M3L21008, 17M3F32141, 18M3F21012, 17M3F21134, 17M3F31135, 16M3B11020, 16M3B11023, 16M3G11089, 16M3C11034, 17M3H21212

		
	Düzensün Olmayan Kek	16M1C0002, 16M1C0003, 16M1C0004, 16M2K10004, 16M2K10006, 18M3G21009, 16M1C0001, 22B1C0001, 16M3H11104, 16M2K10007, 16M3A11003, 16M3D11052, 18M3L21008, 18M3D21001, 17M3F32141, 18M3F21012, 17M3F21134, 17M3F31135, 18M3K21007, 17M3H21200, 16M3C11033, 16M3B11016, 16M3B11020, 16M3G11089, 16M3C11034, 17M3E22117, 17M3H21212, 17M3D31087, 16M3A12012, 24N4K1002, 24N4K1008, 24N4K1011, 24N4K1012

Şekil 4.15. Liyofilize kültürlerin kek morfolojilerine göre sınıflandırılması

Yapılan değerlendirme sonucunda, liyofilizasyon sonrası elde edilen kültür kekleri dört ana morfolojik gruba ayrılmıştır: düzgün kek, düzgün olmayan kek, heterojen kek ve eğimli kek. şekil 4.16.'da bu grupların yüzdesel dağılımı sunulmaktadır. şekil 4.15.'te verilen sınıflandırmaya yönelik şekil 4.16.'da grafik zeti verilmiştir.



şekil 4.16. Liyofilize kültürlerde gözlemlenen kek morfolojisi tiplerinin oransal dağılımı

Buna göre en yüksek oran, %39,6 ile düzgün kek kategorisine aittir. Bu, liyofilizasyon işleminin belirli bir oranda kontrollü ve tekrarlanabilir bir şekilde yrtlebildiğini göstermektedir. Buna karşın, %33 oranında düzgün olmayan kek morfolojisi ve %20,8 oranda ise heterojen kek morfolojisi gözlemlenmiştir; bu durum vial-içi veya vial-arası ısı aktarımı farkları gibi proses kaynaklı fiziksel varyasyonlara işaret edebilir. Eğimli kek ise %6,6 gibi daha düşük bir oranda görülmüş olup, bu durum genellikle vial–raf temasındaki düzensizliklere veya raf yerleşim pozisyonuna bağlı olarak gelişebilmektedir [142, 143].

4.5. Veri Tabanı Geliştirme

Bu çalışmada geliştirilen veri tabanı, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu (HUFCC) bünyesindeki mikroorganizmalara ait fenotipik ve moleküler karakterizasyon verilerinin güvenli, erişilebilir ve sürdürülebilir şekilde saklanması mümkün kılacaktır. Uluslararası kabul görmüş veri tabanı sistemleri (ATCC, DSMZ, Westerdijk Institute) temel alınarak oluşturulan bu web tabanlı platform, laboratuvar ölçeğinde dağınık halde bulunan suş verilerinin merkezi ve sistematik biçimde yönetilmesini sağlayacaktır.

Veri tabanı sayesinde, kültür koleksiyonuna ait tüm suşlar dijital olarak arşivlenmiş; kullanıcılar için hızlı erişim, karşılaştırma ve analiz imkânı sunan bir altyapı oluşturulmuştur. Ayrıca, bu yapı sayesinde hem araştırma süreçlerinin verimliliği artmış hem de veri bütünlüğü güvence altına alınmıştır. Bu dijital dönüşüm, kültür koleksiyonunun yalnızca mevcut ihtiyaçlara yanıt vermesini değil, aynı zamanda ileride yapılacak disiplinler arası çalışmalarda referans veri kaynağı olarak işlev görmesini de mümkün kılmaktadır.

Mikroorganizmalara ait temel bilgilerin yanı sıra, koleksiyonda yer alan her bir suşla ilişkili olarak daha önce yürütülmüş yüksek lisans/doktora tezleri, yayımlanmış bilimsel makaleler ile sunulmuş poster ve sözlü bildiriler de sistematik biçimde veri tabanına entegre edilmiştir. Bu bütüncül yaklaşım, ilgili suşların akademik ve endüstriyel bağlamda nasıl değerlendirildiğini ortaya koymakta; kullanıcıya potansiyel uygulama alanlarına dair fikir verici, güvenilir ve kaynak temelli bir katalog sunmaktadır. Böylelikle geliştirilen sistem, yalnızca bir veri depolama aracı olmanın ötesine geçerek, kültür koleksiyonunun aktif biçimde değerlendirilmesine imkân tanıyan fonksiyonel bir bilimsel altyapı haline gelmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, geliştirilen mikrobiyel veri tabanı hem bilimsel hem de kurumsal sürdürülebilirlik açısından önemli bir adım olarak öne çıkmakta; Türkiye’deki kültür koleksiyonlarının dijital dönüşümüne yönelik örnek teşkil edecek bütünlük bir model sunmaktadır [7, 29, 188, 189].

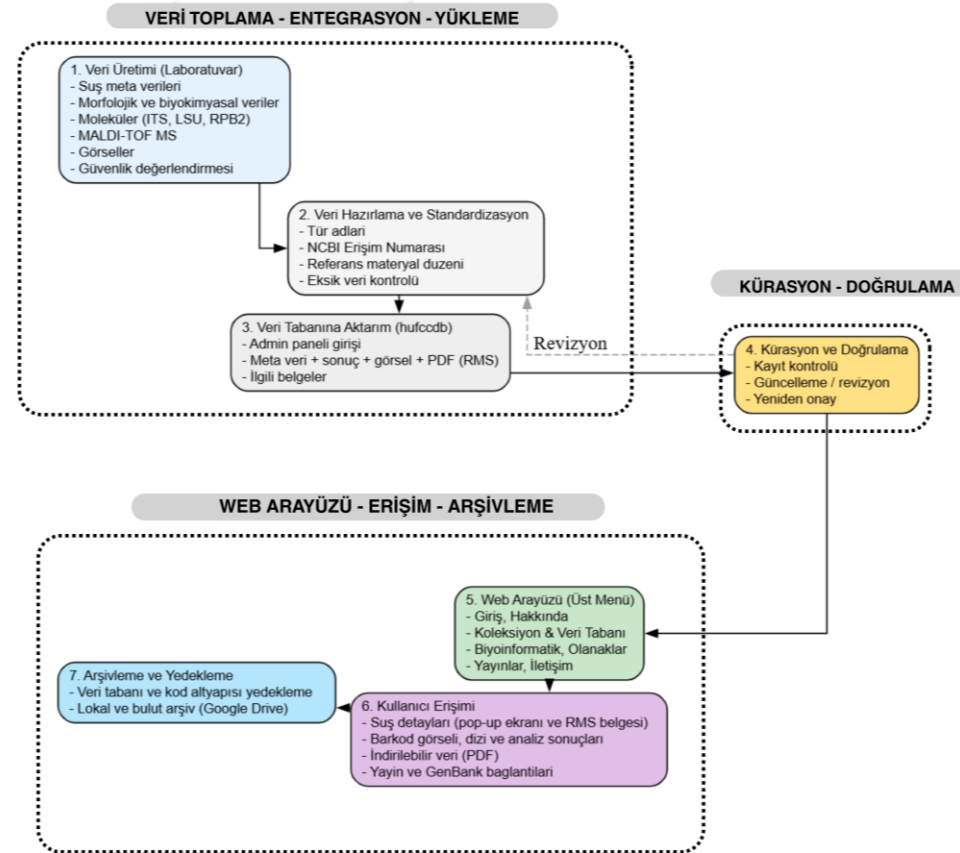
4.5.1. Verilerin Sınıflandırılması ve Hazırlanması

HUFCC'ye dâhil edilen her bir suş, yalnızca karakterizasyon amacıyla değil, aynı zamanda veri tabanına entegre edilmek üzere bağımsız ve bütüncül birer veri birimi olarak değerlendirilmiştir.

Her suşa ait veriler; morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler analiz sonuçlarına dayalı olarak sistematik biçimde sınıflandırılmış ve standart bir yapıya dönüştürülmüştür.

Veri hazırlama sürecinde koloni ve hücre morfolojisi, saklama koşulları, geçmiş deneysel işlemler ve varsa suşlara yönelik endüstriyel ve akademik kullanım öyküsü gibi çok sayıda parametre detaylı olarak belgelenmiştir. Elde edilen tüm bilgiler, içerik bütünlüğü ve veri standardizasyonu açısından küratörlük ilkeleri doğrultusunda kontrol edilerek dijital sisteme aktarılmıştır.

Hazırlanan veri setleri, belirlenen kalite ölçütlerine göre doğrulanmış ve veri tabanına uygun formatta sunuma hazır hâle getirilmiştir. Tüm suşlar, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı'nda HUFCC adı altında saklanmakta ve ilgili referans dosyalarıyla birlikte sistemde yedekli olarak korunmaktadır. Verilerin hazırlanması ve kürasyonu ile ilgili akış şeması Şekil 4.17'de verilmiştir ve Graphviz Online kullanılarak hazırlanmıştır [7, 24, 29].



Şekil 4.17 HUFCC’de veri üretimi, kürasyon ve yayın sürecine yönelik iş akış şeması

Şekil 4.17’de HUFCC veri akış sürecini ve bileşenlerini gösteren bir iş akış şeması yer almaktadır. Süreç üç ana aşamadan oluşmaktadır: Veri Toplama–Entegrasyon–Yükleme, Kütürasyon–Doğrulama ve Web Arayüzü–Erişim–Arşivleme. İlk aşamada, laboratuvarıda suşlara ait meta veriler, morfolojik ve biyokimyasal veriler, moleküler analizler (ITS, LSU, RPB2), MALDI-TOF MS çıktıları, görseller ve güvenlik değerkendirmeleri üretilir. Bu veriler, ikinci adımda tür adlarının belirlenmesi, NCBI erişim numaralarının eklenmesi, referans materyal düzeni ve eksik veri kontrolü ile standartlaştırılır. Üçüncü adımda veriler, HUFCC veri tabanına (hufccdb) meta veri, sonuç, görsel ve PDF formatında RMS belgeleriyle birlikte yüklenir. Kütürasyon–Doğrulama aşamasında kayıt kontrolü, güncelleme/revizyon ve yeniden onay işlemleri yapılır. Son aşamada, web arayüzü aracılığıyla koleksiyon verileri kullanıcı erişimine sunulur; suş detayları, barkod görselleri, dizi ve analiz sonuçları, indirilebilir veriler ve yayın bağlantıları paylaşılır. Ayrıca veri tabanı düzenli olarak arşivlenir ve yedeklenir.

Koleksiyona dâhil edilen her bir suş için; temel bilgiler, morfolojik ve diğerk tanımlama verileri, moleküler karakterizasyon sonuçları, saklama biçimi, NCBI erişim numarası ve işlem prosedürü gibi bilgileri içeren “Standart Referans Materyal Belgesi” hazırlanmıştır. Bu belgeler, suşlara ait verilerin bütüncül ve standart bir formatta sunulmasını sağlamakta; kullanıcıların ilgili bilgilere sistem üzerinden kolaylıkla erişmesine imkân tanımaktadır.

Ayrıca, her bir suş için tanımlayıcı ve ayırt edici nitelikte barkod görselleri Python yazılımıyla oluşturulmuş; bu barkodlar belgeye entegre edilerek görsel tanımlama desteklenmiştir. Barkod üretiminde kullanılan Python koduna EK 1.6’da verilmiştir. Örnek bir belge Şekil 4.18’de sunulmuştur [189, 190].



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ

FoodOmics Laboratuvar Kültür Koleksiyonu

hufcc.hacettepe.edu.tr

foodomicslab@hacettepe.edu.tr

STANDART REFERANS MATERYAL BELGESİ

Suş Adı	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>
Suş Kodu	HUF17M3E22117
Diğer Koleksiyon Numarası	
NCBI Erişim Numarası	PV819416*
Kültür Formu	Liyofilize kültür, gliserol stok
Referanstan Pasaj Sayısı	2
Güvenlik değerlendirmesi	BSL 1 (ATCC'ye göre), "1" sınıflandırma (TRBA'ya göre)

Moleküler ve Tanımlama Özellikleri		
Parametreler	Sonuçlar	Referans
MALDI-TOF MS	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	[1]
Mikroskopik Morfoloji	Oval şekilli, çok yönlü tomurcuklanma	[2]
Makroskopik Morfoloji	Beyazdan turuncuya, parlak, pürüzsüz, kenarları düzgün, küçük koloni	[2]
Sanger Dizileme		
ITS gen dizileme	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> *	[2]
LSU gen dizileme	<i>Saccharomycete</i>	[1]
RBP2 gen dizileme	<i>Metschnikowia rubicola</i>	[1]

İşlem prosedürü

- Liyofilize vial'ler, rutin kullanım için -20 °C'de nem geçirmez ikincil bir kap içerisinde dik konumda saklanmalı; uzun süreli yedekleme amacıyla ise -80 °C'de ikincil bir set bulundurulmalıdır.
- Canlandırma işlemi için, kapalı vial aseptik koşullarda oda sıcaklığına (≈ 22-25 °C) dengelenir ve dış yüzeyi %70 (v/v) etanol ile dekontamine edilir.
- Oda sıcaklığında sterilize edilmiş 0,75 mL iyileştirme besiyeri—mayalar için YPD, laktik asit bakterileri için ise MRS/M17—pellet üzerine ilave edilir; içerik nazıkçe çalkalanır ve karışım 5 dakika bekletilir.
- Elde edilen süspansiyon 5 mL taze besiyerine aktarılır, kısa süre homojenize edilir ve oda sıcaklığında ilave 30 dakika boyunca (düşük canlılık öngörülüyorsa ≥ 2 saat) inkübe edilir.
- Son aşamada, süspansiyondan birkaç damla ya da ondalık seri dilüsyonlar önerilen agar veya sıvı besiyerine inoküle edilir ve suşa özgü koşullarda inkübasyona bırakılır. Görülebilir büyüme genellikle bir ila iki gün içerisinde ortaya çıkar; ancak bu süre, suşun özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir [3].

"İşaretlenmiş dizileme sonucuna ait nükleotit dizisi NCBI veri tabanına kaydedilmiş olup, verilen DNA barkodu bu işaretli diziye karşılık gelmektedir."

Kaynaklar

- [1] M. Kurban, *Saccharomyces cerevisiae* DNA Barkodunun Belirlenmesi ve Bir Veri Tabanı Oluşturulması, Hacettepe Üniversitesi, 2019.
- [2] N. F. Çağlar, Mikrobiyel Biyoçeşitliliğin Korunması ve Karakterizasyonu: Bir Kültür Koleksiyonu Modelinin Oluşturulması, Hacettepe Üniversitesi, 2025.
- [3] ATCC Genel Bilgi: Mayaların Kullanım Prosedürü. <https://www.atcc.org/products/18824>

Şekil 4.18. HUFCC veri tabanı standart referans materyal belgesi örneği

4.5.2. Dijital Formatlama ve Kodlama

HUFCC’de yer alan suşlara ait veriler, .csv (Comma-Separated Values) uzantılı dosya formatında yapılandırılmış olup bu yapı sayesinde hem sade bir veri girişi sağlanmış hem de web tabanlı sistem tarafından kolaylıkla okunabilir bir veri akışı oluşturulmuştur. İlgili .csv dosyasında yer alan veriler EK.2.23’te verilmiştir. Her bir satır, koleksiyona dâhil edilen tekil bir suşu temsil etmekte; her bir sütun ise ilgili suşa ait belirli bir fenotipik, genotipik veya karakteristik özelliği tanımlamaktadır. Bu yapı hem veri tabanı entegrasyonunda hem de kullanıcı arayüzünde sistematik ve bütüncül bir erişim imkânı sunmuştur.

Sütunlar (Veri Kategorileri) CSV dosyasında yer alan her sütun, belirli bir veri kategorisini temsil etmektedir:

1. Strain_Name – Suşun tam bilimsel adıdır. Örneğin: *Metschnikowia pulcherrima*
2. Strain_Code_(HUF) – Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu (HUFCC) tarafından verilen özgün suş kodudur. Örnek: HUF17M3E22117
3. Other_Collection_Number – Aynı suşun farklı uluslararası kültür koleksiyonlarında kayıtlı olması durumunda ilgili koleksiyon kodudur (örneğin: ATCC, DSMZ, RSKK gibi).
4. NCBI_Accession_Number – Suşa ait NCBI (National Center for Biotechnology Information) verilerine erişim numarasıdır. Genetik doğrulama ve karşılaştırmalı analizler için referans sağlar. Örnek: PV819416
5. Culture_Form – Suşun saklama ve dağıtım biçimini tanımlar. Örnek: Lyophilized culture (liyofilize kültür).

Satırlar (Suş Bazlı Bilgi Birimleri) Veri dosyasında her bir satır, yukarıda belirtilen sütunlara karşılık gelen bilgilerle birlikte tek bir suşa ait detaylı kaydı temsil etmektedir. Aşağıda, örnek bir satırın içerdiği veriler sunulmuştur:

- Strain_Name: *Metschnikowia pulcherrima*
- Strain_Code_(HUF): HUF17M3E22117
- Other_Collection_Number: -
- NCBI_Accession_Number: PV819416

- Culture_Form: Lyophilized culture, glycerol stock

Aşağıda, PHP tabanlı sistemin temelini oluşturan kod yapıları ve bu kodların ne amaçla kullanıldığına dair açıklamalar yer almaktadır. Kodlar hem veri tabanı bağlantısının sağlanması hem de suşlara ait bilgilerin kullanıcı arayüzünde düzgün ve işlevsel biçimde sunulması amacıyla yapılandırılmıştır. Bu bölümde verilen bilgiler, sistemde kullanılan *header*, *nav*, *footer* gibi genel bileşenlerden, veri kartlarının dinamik biçimde oluşturulmasına kadar çeşitli modülleri kapsamaktadır. Web tabanlı sistemin oluşturulmasında kullanılan kodlar EK 2.'de verilmiştir.

Koleksiyon Verilerine Erişim

Arama İşlevi – searchStrain.php

Web arayüzü üzerinden koleksiyonda bulunan mikroorganizmalara ulaşmak isteyen kullanıcılar, arama kutusunu kullanarak ilgili suş adını veya HUF kodunu girebilmektedir. Bu işlem, sayfanın yeniden yüklenmesini gerektirmeden arka planda AJAX aracılığıyla searchStrain.php dosyasına yönlendirilir.

Bu dosya, kullanıcıdan gelen terimi alarak veri tabanında (hufccdb) Strain_Name ve Strain_Code_(HUF) sütunlarında eşleştirme yapar. Eşleşen kayıtlar; taksonomik ad, suş kodu ve varsa referans materyal belgesi PDF dosyasına ait bağlantı içeren bir tablo halinde kullanıcıya sunulur.

Arama işlemi:

- Küçük-büyük harf duyarsızdır.
- Maya ve bakteri kayıtları ID numarasına göre ayrıştırılır.
- Güvenli sorgu yapısı (prepared statement) kullanılarak çalışır.

Kullanıcı dostu bu yapı, hızlı ve güvenli bir sorgulama imkânı sunarak veri tabanında etkin gezinmeyi sağlar.

Detaylı Suş Bilgileri – getStrainDetails.php

Kullanıcı, listelenen suşlardan birine tıkladığında, sayfa içinde küçük bir pencere (modal) açılır. Bu pencereyi oluşturan içerik, getStrainDetails.php dosyası tarafından dinamik olarak üretilmektedir. Bu dosyanın işlevi, seçilen suşun benzersiz ID numarasını alarak veri tabanındaki tüm ilgili bilgileri çekmek ve bunları şık, tablolı biçimde sunmaktır.

Bu işlem şu adımları içerir:

1. ID Kontrolü: Geçerli bir ID girilmemişse, işlem durdurulur ve hata mesajı verilir.
2. Veri Tabanı Bağlantısı: Güvenli bağlantı kurulur, bağlantı hatalarında kullanıcıya genel mesaj gösterilir.
3. Veri Sorgulama: Belirtilen ID'ye ait tekil kayıt sorgulanır.
4. Alan Eşleştirme ve Filtreleme: Kullanıcıya gösterilmesi gerekmeyen teknik alanlar gizlenir. Diğer alanlar, okunabilir başlıklarla eşleştirilir. Örneğin:
 - Strain_Name → *Strain Name* (italik biçimde)
 - NCBI_Accession_Number → *NCBI Accession Number*
5. Tablo Biçimlendirme: HTML tablosu, Bootstrap uyumlu bir yapı ile biçimlendirilir; satır renkleri ve yazı stiliyle okunabilirlik artırılır.

Yapısal Katman: Ortak Sayfa Bileşenleri

Web sitesinin yapısal sürdürülebilirliği ve kurumsal bütünlüğü, tüm sayfalarda tekrar eden temel bileşenlerin ayrı dosyalar hâlinde hazırlanıp her sayfaya dinamik biçimde entegre edilmesiyle sağlanmıştır. Bu amaçla kullanılan header.php, nav.php ve footer.php adlı dosyalar, ilgili yapısal bölümlerin merkezi olarak yönetilmesini mümkün kılar. Böylece hem kod tekrarının önüne geçilmiş hem de güncellemelerin tek bir noktadan yapılması sağlanmıştır.

header.php — Üst Yapı Tanımlayıcı

Bu dosya, tüm sayfalarda ortak olan HTML <head> bileşenlerini ve üst görsel düzeni tanımlar. İçeriğinde şunlar yer alır:

- Sayfa başlığı (title), favicon, Google Fonts bağlantısı ve stil dosyalarının (.css) çağırılması,
- Sayfanın üst kısmında Hacettepe Üniversitesi logosu, koleksiyon başlığı ve laboratuvar ismiyle oluşturulan kurumsal tanıtım bloğu.

Bu yapı sayesinde tüm sayfalarda görsel ve teknik olarak bir örneklik sağlanmakta, kurumsal kimlik korunmaktadır.

nav.php — Navigasyon Menüsü

Bu dosya, web sitesinin ana gezinme çubuğunu tanımlayan yapıdır. Kullanıcıların site içerisinde hızlı ve kolay bir şekilde yönlendirilmesini sağlamak üzere sabit olarak her sayfaya entegre edilmiştir. Menü öğeleri görsel ikonlarla desteklenmiş ve kullanıcı deneyimi artırılmıştır.

- Home: Ana sayfaya dönüş sağlar.
- About: Koleksiyonun amacı, laboratuvar ve ekip hakkında bilgi verir.
- Collection & Databases: Maya ve bakteri koleksiyonlarına ait veritabanlarına erişim sunar.
- Bioinformatics: Genetik analiz ve biyoinformatik içeriklerin bulunduğu teknik sayfaları içerir.
- Facilities: Laboratuvar altyapısı ve olanakları hakkında bilgi sunar.
- Publications: Koleksiyonda yer alan suşlara ilişkin bilimsel yayınlara yer verir.
- Contact: İletişim ve ulaşım bilgilerini içerir.

Bu yapı, nav.php dosyasında tanımlanmış olup tüm sayfalara PHP include yöntemiyle eklenmiştir. Böylece yeni bir sayfa eklendiğinde veya menüde değişiklik gerektiğinde yalnızca nav.php dosyasının düzenlenmesi yeterlidir. Bu merkezi yapı, sitenin sürdürülebilirliğini ve bütünlüğünü sağlar. Menü ayrıca mobil uyumlu hâle getirilmiş olup farklı cihazlarda erişilebilirliği destekler.

footer.php — Alt Bilgi Alanı

Sayfanın en alt kısmında sabit olarak yer alan bu bileşen, aşağıdaki bilgileri barındırır:

- Fakülte ve bölüm ismi, iletişim bilgileri, telif ve kullanım hakları gibi sabit metinler,
- Harita bağlantısı, e-posta ya da diğer yönlendirmeler için bağlantılar.

Bu bileşen, sitenin kurumsal bütünlüğünü tamamlayıcı bir yapı sunmakta ve kullanıcıya güven veren bir son izlenim oluşturmaktadır.

Bu ortak yapısal katmanlar sayesinde, site yönetimi hem daha sürdürülebilir hâle getirilmiş hem de kullanıcı deneyimi açısından profesyonel bir görünüm elde edilmiştir.

Stil ve Etkileşim Katmanı (CSS – JS)

Bu katman, sitenin görsel bütünlüğünü ve kullanıcı deneyimini (UX) sağlayan özel CSS ve JavaScript dosyalarından oluşur. Her sayfaya özgü tasarım detayları ve etkileşimler bu katmanla yönetilir.

aboutstyle.css

about.php sayfasına özgü stil dosyasıdır. Sayaçlar, başlıklar ve içerik kutularının görünümünü belirler. Mobil uyum ve yazı tipi ayarları içerir.

contact.css

- *contact.php* sayfasında kullanılan kartların tasarımını tanımlar. Koyu mavi zemin, sarı ikonlar, yuvarlatılmış köşeler ve responsive yapı içerir.
- *locationstyle.css*
Harita ve konum bilgisinin düzenli görünümünü sağlar. Başlık hizalama ve kutu düzenlemeleri içerir.
- *aboutscript.js*:
Sayfa yüklendiğinde çalışan sayaç animasyonlarını yönetir. Küçük ama etkili bir görsel hareket sağlar.

Arayüz Katmanı: Ana Sayfalar ve İşlevsel Akış

Bu katman, kullanıcıların sistemle doğrudan etkileşim kurduğu tüm sayfalardan oluşur. Sayfalar; veriye erişim, görsel sunum, içerik bilgilendirmesi ve kullanıcı yönlendirmesi işlevleriyle hem bilgilendirici hem de sistematik olarak bütünleştiricidir.

index.php

Web sitesinin giriş ve yönlendirme sayfasıdır.

- Giriş paragrafı, butonlar ve açıklayıcı başlıklarla kullanıcıyı diğer sayfalara yönlendirir.
- Menü harici ilk erişim noktasıdır.

Kullanıcının ilk izlenimini oluşturur ve tüm sistemin "ana kapısı" işlevini görmektedir.

about.php

Laboratuvarın misyonu ve barındırdığı mikrobiyel zenginlik hakkında bilgi verir.

- Sayaç animasyonları ve görsel bileşenler aboutscript.js ile desteklenmiştir.
- Renk paleti ve tipografi aboutstyle.css ile tanımlanmıştır.

location.php

Laboratuvarın fiziksel adresinin ve konum bilgilerinin yer aldığı kısımdır. Google Maps entegrasyonu ile Açık adres, ulaşım bilgisi ve görselleştirilmiş harita içerir. Ziyaret veya numune gönderimi gibi fiziksel erişim ihtiyacını karşılamaya yöneliktir.

contact.php

İletişim bilgilerinin modern kart stilinde sunulduğu sayfadır. Telefon, e-posta, web ve fiziksel adres aynı kutuda gösterilir. Kurumsal ulaşılabilirliği estetik bir biçimde sunar.

services.php — Analiz ve Destek Hizmetleri

Laboratuvarın sunduğu mikrobiyolojik analiz, üretim ve danışmanlık hizmetlerinin listelendiği sayfadır.

- Dış paydaşların, araştırmacıların ve kurumların başvurabileceği hizmetler detaylıca tanımlanır.
- Sayfa, koleksiyonun yalnızca bilgi sağlayan değil, aktif hizmet sunan bir araştırma altyapısı olduğunu vurgular.

contract-research.php — Kurumsal İş Birliği Sayfası

Üniversite-sanayi iş birliklerine dair sözleşmeli araştırma modelinin tanıtıldığı sayfadır.

- Sunduğu açıklamalar statiktir, ancak ortak şablonlar üzerinden dahil edilmiştir.
- HUFCC'nin profesyonel dış iş birliklerine açık ve kurumsal yönünü belgelendirir.

staff.php — Laboratuvar Ekibi

HUFCC'de görevli araştırmacıların tanıtıldığı sayfadır.

- Bootstrap grid/kart yapısı ile kişi kartları sunulur.
- Her kartta isim, rol, iletişim bilgileri ve araştırma alanı gibi bilgiler bulunur.
- Sayfa, koleksiyonun arkasındaki bilimsel insan gücünü görünür kılarak güven oluşturur.

yeast-collection.php & bacteria-collection.php

- Koleksiyon veri tabanının kullanıcıya sunulan arayüzü, iki ayrı fakat yapısal olarak benzer arama sayfası üzerinden işlev görmektedir. Bu sayfalardan ilki, yeast-collection.php adıyla anılan ve veritabanındaki ID numarası 59 veya daha küçük olan maya suşlarını filtreleyen bir yapıdır. Diğeri ise bacteria-collection.php dosyasıdır ve ID numarası 60 veya üzeri olan laktik asit bakterilerini (LAB) listelemektedir.
- Her iki sayfa, arka planda searchStrain.php adlı PHP betiğiyle çalışmakta; bu dosya, JavaScript destekli AJAX çağrıları yoluyla çalıştırılarak, kullanıcı sorgularına hızlı ve sayfa yenilemesi olmadan cevap verebilen bir yapı sunmaktadır.
- Arama kutusuna girilen terim, HUF kodu ve taksonomik isim alanlarında küçük-büyük harf duyarsız biçimde taranarak filtrelenecek sonuçlar getirilir.
- Kullanıcı, sonuçlar tablosundan bir suşa tıkladığında, getStrainDetails.php dosyası devreye girerek ilgili suşa ait tüm detayları dinamik biçimde bir modal pencere içinde görüntüler. Bu yapı, Bootstrap CSS kütüphanesiyle responsive (mobil uyumlu) bir tasarımla bütünleştirilmiş; kullanıcı dostu ve şık bir arayüzle sunulmuştur. Ayrıca, sistemde CAT adında sabit bir kategori değişkeni kullanılarak maya ve bakteri sayfaları arasındaki filtreleme davranışları net biçimde ayrıştırılmıştır. Sonuç olarak, bu iki sayfa birlikte, koleksiyondaki hufcc.csv verisini kullanıcıya aratılabilir, filtrelenebilir ve etkileşimli bir formatta sunarak arayüz katmanının temel bileşenini oluşturmaktadır.

bioinformatics.php

Biyoinformatik analizde kullanılan programlara ve ilgili internet bağlantılarına yer verilen içerik sayfasıdır.

- BLAST, hizalama, model seçimi, filogenetik ağaç çizimi gibi başlıklara yer verir.
- İçerik MEGA, ITOL gibi araçlarla yapılan uygulamalar hakkında bilgilendirmeye yönelik hazırlanmıştır.

Bu sayfa, kültür koleksiyonunda yer alan suşların karakterizasyonunda kullanılan araçların tanıtımını hedefler ve bu konuda bir model oluşturur.

identification.php – Suş Tanımlama Sürecinin Bilimsel Altyapısı

Bu dosya, HUFCC koleksiyonuna dahil edilen mikroorganizmaların tanımlanma süreçlerini açıklayan bilgi ve yöntem katmanıdır. Kullanıcıya görsel olarak sunulan “Strains Identification Pipeline” infografiği ile tüm tanımlama süreci; kültürün yeniden canlandırılmasından suş düzeyinde tanımlamaya kadar adım adım takip edilebilecek biçimde gösterilmiştir. Bu yapı, web sitesi kullanıcılarının koleksiyondaki suşların nasıl tanımlandığını anlamalarına yardımcı olmakta ve koleksiyonun bilimsel geçerliliğini desteklemektedir.

Akademik Katkı ve Uygulama Çıktıları

Aşağıda yer alan üç kod sayfası, HUFCC’de yer alan suşların farklı endüstriyel, biyoteknolojik ve akademik alanlarda materyal olarak kullanıldığını belgelemektedir.

thesis.php

Bu dosya, HUFCC kültür koleksiyonunda yer alan suşların materyal olarak kullanıldığı yüksek lisans ve doktora tezlerini dinamik bir şekilde sunar. Amaç, koleksiyona ait mikroorganizmaların farklı uygulama alanlarındaki bilimsel katkılarını görünür kılmak ve referans teşkil etmektir.

- Her tez, kapak görseli, başlık ve “View Thesis” bağlantısıyla birlikte kart yapısında sunulmuştur.
- Görsel olarak dikkat çekici ve kullanıcı dostu bir arayüz sağlanmıştır. Kartlar responsive yapıdadır ve etkileşimlidir.
- Tez başlıkları İngilizce verilmiştir; akademik görünürlük amacıyla italik yazım kurallarına (ör. tür adları) dikkat edilmiştir.
- Her tez, HUFCC koleksiyonundaki suşların farklı alanlardaki (gıda fermentasyonu, biyoteknoloji vb.) kullanımlarını yansıtır.

presentations.php

HUFCC’de yer alan suşların materyal olarak kullanıldığı sözlü ve poster bildirilerini dinamik bir şekilde sunar. Amaç, koleksiyona ait mikroorganizmaların farklı uygulama alanlarındaki bilimsel katkılarını görünür kılmak ve referans teşkil etmektir.

- Sunumlar başlık, görsel ve bağlantı içeren kartlarla gösterilir.
- Responsive yapıda tasarlandığından mobil uyumludur.
- Koleksiyonun bilimsel iletişim ve paylaşım yönünü yansıtır.

publications.php

HUFCC’de yer alan suşlarla yapılan bilimsel makaleleri dinamik bir şekilde listeler. Amaç, koleksiyonun literatüre olan katkısını belgelemek ve araştırmacılar için referans kaynağı sunmaktır.

- Yayınlar; başlık ve bağlantı içeren kartlarla sunulur.
- Mobil uyumlu ve okunabilir yapıda tasarlanmıştır.
- Kültür koleksiyonun akademik çıktılarıyla ilişkilendirilmesini sağlar.

Yukarıda verilen bilgilerin bir özeti şeklinde HUFCC web sitesinin kodlama altyapısının genel özeti Çizelge 4.11.’de verilmiştir.

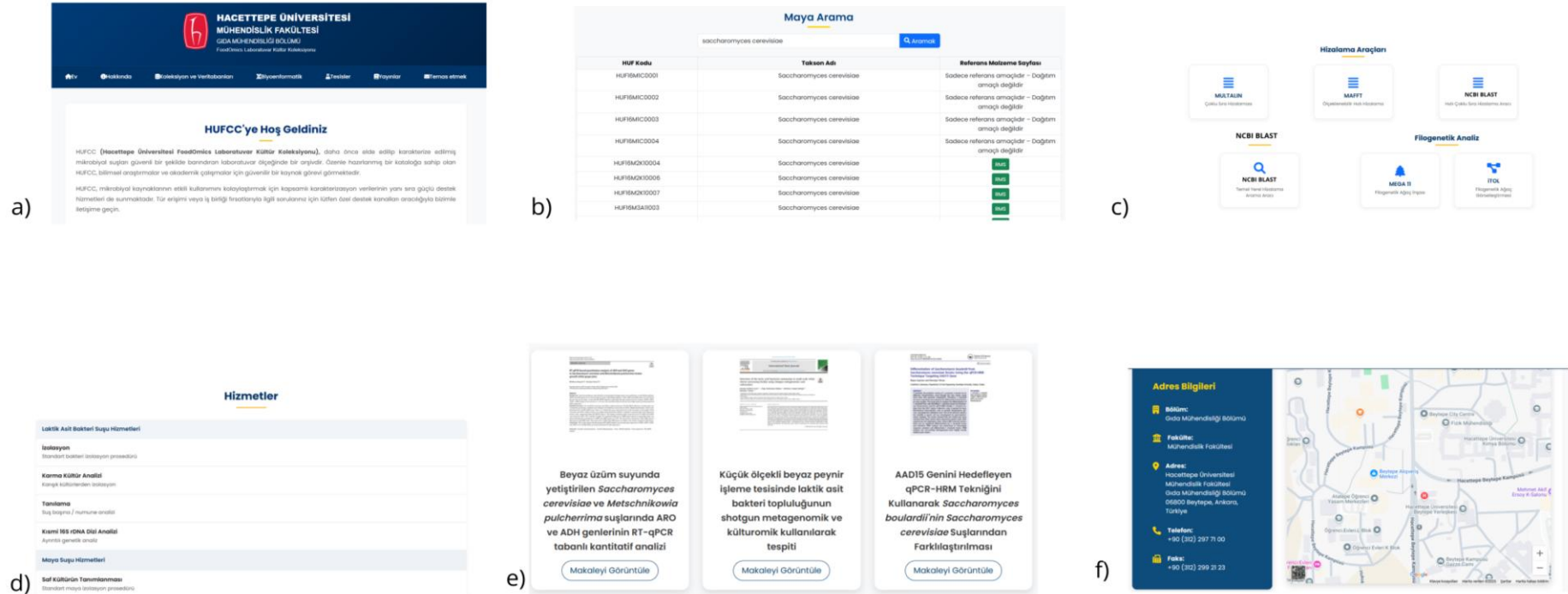
Çizelge 4.11. HUFCC web tabanlı sistemi: bileşenler, işlevler ve teknik özellikler [29]

Bileşen / Sayfa	Temel İşlev	Teknik Özellikler
CSV verisi	Suşlara ait verilerin yapısal olarak düzenlenmesi	Her satır bir suşu, sütunlar ise tanımlayıcı özellikleri temsil eder
searchStrain.php	Arama kutusuyla veri tabanında filtreli sorgu yapılması	AJAX destekli, büyük-küçük harf duyarsız, güvenli sorgu (prepared statement)
getStrainDetails.php	Suşlara ait detayların modal pencere ile gösterilmesi	ID ile kayıt sorgulanır, Bootstrap uyumlu HTML tablo ile sunum yapılır
Yapısal Bileşenler (header, nav, footer)	Sayfa bütünlüğü, kurumsal yapı ve merkezi güncelleme imkânı sağlar	PHP include yöntemiyle tüm sayfalara bütünleşmiş, responsive yapı
CSS / JS (Özel stil ve etkileşim dosyaları)	Sayfalara özel görsel tasarım ve animasyon sağlama	Mobil uyumlu (responsive), renk-tema ve hareket efektleri içerir
Ana Sayfalar (index, about, contact, location)	Tanıtım, iletişim, konum gibi temel bilgilendirme alanları	Google Maps, kart yapısı, sayaç animasyonları ile desteklenmiş görseller
Collection Sayfaları (yeast & bacteria)	Aranabilir ve filtrelenebilir maya / bakteri veri tabanı arayüzü	AJAX ile dinamik veri çekme, modal detay pencereleri, CAT filtresiyle ayırım
Hizmet / İş Birliği (services, contract-research)	Dış paydaşlara yönelik hizmetlerin tanıtımı	Statik açıklamalar, kurumsal iş birliği modeli
staff.php	Araştırmacı kadrosunun tanıtımı	Bootstrap kart yapısıyla sunulan kişi bilgileri
bioinformatics.php	Kullanılan genetik analiz yazılımlarının tanıtımı	BLAST, MEGA, ITOL gibi araçlara bağlantılar
identification.php	Suş tanımlama sürecinin bilimsel temellere dayalı anlatımı	“Identification Pipeline” infografiği ile desteklenmiş içerik

4.5.3. Yazılım Altyapısı ve Platform Seçimi

Bu çalışmada, HUFCC'ye ait verilerin dijitalleştirilmesi ve erişilebilir bir arayüzde sunulması amacıyla geliştirilen sistem hem yazılım tasarımı hem de kullanıcı deneyimi açısından bütüncül bir çözüm sunmuştur. Başlangıçta Microsoft Excel üzerinde yapılandırılan veri şeması, süreç içerisinde MySQL tabanlı ilişkisel veri tabanı yapısına dönüştürülmüş; PHP destekli web altyapısıyla entegre edilerek veri akışı sağlanmıştır. Kullanıcıların suş bilgilerine filtrelenebilir, aratılabilir ve indirilebilir formatlarda erişebilmesi; sistemin hem işlevselliğini hem de kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır. Gerçek zamanlı veri sunumu, veri doğruluğu ve erişim hızındaki iyileşmelerle birlikte; manuel yöntemlere kıyasla önemli ölçüde zaman tasarrufu ve hata azaltımı sağlanmıştır. Yazılım altyapısının barındırılması (hosting) ve veri tabanı erişimi için Hacettepe Üniversitesi'nin sunucu ve ağ kaynakları kullanılmış; böylece sistemin kurumsal güvenliği ve sürdürülebilirliği desteklenmiştir. Elde edilen bu dijital altyapı, yalnızca mevcut proje için değil, benzer kültür koleksiyonu girişimleri için de ölçeklenebilir ve sürdürülebilir bir model ortaya koymaktadır.

HUFCC platformunun teknik geliştirme sürecinde, kodlama dili olarak PHP tercih edilmiş ve tüm kodlama altyapısı Visual Studio Code editörü üzerinde yapılandırılmıştır. Veri tabanı entegrasyonu ilk etapta XAMPP ve phpMyAdmin üzerinden test edilmiş; daha sonra DBBeaver aracı aracılığıyla uzak veri tabanı bağlantısı kurulmuş ve *hufcc.csv* dosyasındaki suş bilgileri sistem veri tabanına aktarılmıştır. Sunucu bağlantısı ve dosya transferi işlemleri FileZilla programı ile gerçekleştirilmiş; web sayfası üzerinde gerekli bileşenlerin çalışabilirliği sağlanmıştır. HUFCC, Google Chrome, Mozilla Firefox ve Internet Explorer gibi yaygın tarayıcılarla uyumlu şekilde çalışmakta olup, responsive tasarımı sayesinde mobil cihazlarla da tam uyumluluk göstermektedir. Platforma <https://hufcc.hacettepe.edu.tr/> adresinden erişilebilmektedir. Web platformunun içeriği hakkında bazı görseller Şekil 4.19'da verilmiştir.



Şekil 4.19. HUFCC web platformu [24, 29]

(a) HUFCC ana sayfa ekran görüntüsü. Kullanıcıları karşılayan giriş paneli, laboratuvar kültür koleksiyonunun genel tanıtımı ve platformun amacına yönelik açıklamalar içermektedir; (b) Maya suşu arama ekranı. Takson adına göre filtreleme yapılarak ilgili suşlara ait HUF kodu, takson bilgisi ve referans materyal erişim bağlantıları sunulmaktadır; (c) Analiz araçları arayüzü. NCBI BLAST, MEGA11, DnaSP gibi genetik analiz yazılımlarına yönlendirme sağlayan simgesel menü tasarımı gösterilmektedir.; (d) Sunulan hizmetler menüsü. Laktik asit bakterisi izolasyonu, kültür tanımlama, DNA analizi gibi laboratuvar hizmetleri ve maya suşlarına yönelik işlemler sıralanmıştır.; (e) İlgili bilimsel yayınlar bölümü. Koleksiyonda yer alan suşların kullanıldığı çalışmalara dayanan akademik yayınlar, başlık ve özet görselleri ile sunulmaktadır.; (f) İletişim ve konum bilgileri paneli. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü FoodOmics Laboratuvarı'nın adresi, iletişim numaraları ve harita tabanlı konum bilgisi gösterilmektedir.

Veri tabanı yapısının kavramsal düzeyde kurgulanması sürecinde, HUFCC platformuna özgü bir Entity-Relationship Diagram (ERD) tasarımı oluşturulmuştur. ERD, sistemde yer alan tabloların birbirleriyle olan ilişkilerini ve içerdiği alanları görselleştirerek, veri tabanının mantıksal bütünlüğünü sağlamada kritik rol oynar. Şekil 4.20’de gösterilen Strain tablosu, HUFCC veri tabanının temel varlığıdır ve her bir mikrobiyel suşa ait tanımlayıcı bilgileri içerecek şekilde yapılandırılmıştır.

Strain	
PK	id : INT
	Strain_Name : VARCHAR
UQ	Strain_Code_(HUF) : VARCHAR
	Other_Collection_Number : VARCHAR
	NCBI_Accession_Number : VARCHAR
	Culture_Form : VARCHAR
	pdf_path : VARCHAR

Şekil 4.20. HUFCC veri tabanı ERD diyagramı

Söz konusu ERD diyagramı, koleksiyonda yer alan suşların işlendiği ve tanımlayıcı niteliklerinin saklandığı hufcc.csv dosyası temel alınarak oluşturulmuştur. Bu dosyada yer alan sütunlar analiz edilerek ilişkisel veri tabanı mimarisine dönüştürülmüş ve normalizasyon ilkelerine uygun biçimde modelleme gerçekleştirilmiştir [29, 191].

Strain tablosunda yer alan alanlar ve veri işlevleri aşağıdaki gibidir:

- id (PK): Her suş için sistem tarafından otomatik atanan birincil anahtardır (INT).
- Strain_Name: Suşun bilimsel (taksonomik) adını içerir; arama ve filtrelemede kullanılır.
- Strain_Code_(HUF) (UQ): HUFCC'ye özgü suş kodudur; tekrarına izin verilmez.
- Other_Collection_Number: Suş başka koleksiyonlarda yer aldıysa, ilgili numarayı belirtir.
- NCBI_Accession_Number: NCBI'de kayıtlı genetik dizilere ait erişim numarasını içerir.
- Culture_Form: Suşun fiziksel saklama biçimini tanımlar (örneğin liyofilize kültür).
- pdf_path: Suşla ilgili PDF formatındaki belgenin sistemdeki yolunu gösterir.

Şekil 4.21'de gösterilen pop-up arayüz ekranı, kullanıcıların HUFCC veri tabanında kayıtlı olan belirli bir suşa ilişkin temel bilgilere hızlıca erişmesini sağlayan dinamik bir modüldür. Sistem; arama kutusuna girilen taksonomik ad veya HUFCC koduna göre veri tabanında sorgulama yapmakta ve ilgili kayıtları Strain tablosundaki alanlara karşılık gelen içeriklerle birlikte bu pencerede sunmaktadır.

Suş Adı	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> ✕
HUFCC Kodu	HUF17M3E22117
Diğer Koleksiyon Numarası	
NCBI Erişim Numarası	PV819416
Kültür Formu	Liyofilize kültür ve gliserol stoğu

Şekil 4.21. HUFCC suş arama sayfası pop-up ekranı örneği

Görselde örnek olarak *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait, HUF16MIC0003 kodlu bir suşa ilişkin bilgiler yer almaktadır. Bu bilgiler; suşun bilimsel adı (Strain_Name), HUFCC içi tanımlayıcı kodu (Strain_Code_(HUF)), başka bir koleksiyondaki referans numarası (Other_Collection_Number), genetik veriye ait NCBI erişim numarası

(NCBI_Accession_Number) ve fiziksel saklama formu (Culture_Form) gibi veri tabanı alanlarından doğrudan çekilmektedir.

Bu yapı, Şekil 4.20’de gösterilen ERD diyagramındaki alanlarla birebir uyumludur ve veri tabanı ile web arayüzü arasındaki bütünlüğü somut şekilde yansıtmaktadır. Böylece kullanıcı, veri tabanındaki karmaşık yapıya doğrudan müdahale etmeksizin, önceden yapılandırılmış veri şeması sayesinde sade, anlaşılır ve anlık bilgiye erişim imkânı elde etmektedir.

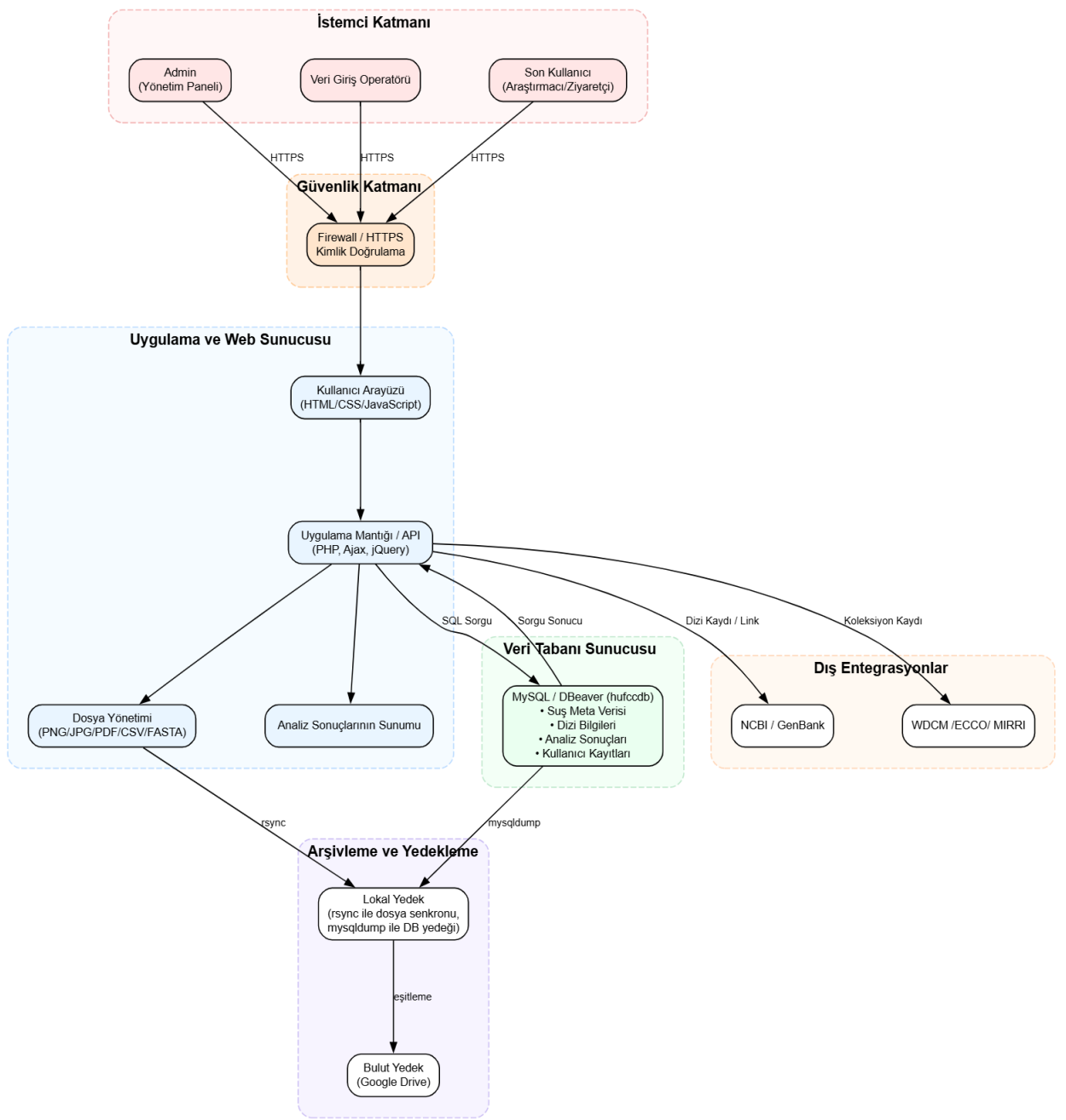
Şekil 4.22’de gösterilen genel mimari şema, veri tabanı destekli çevrim içi biyoinformatik platformların temel bileşenlerini ve istemci-sunucu etkileşimlerini özetlemektedir. Bu yapı, HUFCC dijital veri tabanının arka plan işleyişini modellemek açısından da oldukça benzer bir mantıkla çalışmaktadır.

Kullanıcı (yönetici, veri giriş operatörü veya son kullanıcı), istemci arayüzü üzerinden HTTP/HTTPS protokolü ile bir sorgu gönderdiğinde, bu istek web sunucusunda (Apache) karşılanır ve ilgili PHP modülleri tarafından işlenir. PHP betikleri aracılığıyla yapılandırılan sistem, gelen kullanıcı sorgusunu MySQL veri tabanına yönlendirir; ardından alınan yanıt, işlenmiş ve uygun formatta kullanıcıya geri sunulur.

HUFCC platformunda kullanılan bu yapı; veri girişi, suş sorgulama, filtreleme, PDF referans materyali görüntüleme gibi işlemlerin gerçek zamanlı ve güvenli bir şekilde yürütülmesini sağlar. Ayrıca, Şekil 4.22’deki örnekte de görüldüğü gibi, kullanıcı kimlik doğrulama işlemleri yalnızca veri giriş ve düzenleme yetkisine sahip olanlar için zorunlu tutulmuştur. HUFCC sistemi de benzer biçimde, yetkilendirilmiş kullanıcılar için veri güncelleme ve içerik yönetim izinleri ile sınırlandırılmıştır.

Kullanıcı arayüzü JavaScript, jQuery ve AJAX tabanlı olarak yapılandırılmış; HTML ile desteklenen arayüz katmanı sayesinde mobil ve masaüstü cihazlarda uyumlu, hızlı ve sezgisel bir deneyim sunulmuştur. Dosya sistemi tarafında PDF, CSV ve görsel formatların sunucuya güvenli şekilde aktarımı FileZilla ile sağlanmış; arka uçta Linux tabanlı sunucuda barındırılan PHP uygulamaları ile bütünlük oluşturulmuştur.

Bu bütünleşik yapı sayesinde hem veri güvenliği hem de sistem performansı optimize edilmiş; aynı zamanda uluslararası örneklerle uyumlu, sürdürülebilir bir web tabanlı mikrobiyel koleksiyon altyapısı inşa edilmiştir. İlgili Şekil 4.22’de verilmiştir.



Şekil 4.22. HUFCC web altyapısının istemci-sunucu temelli veri akışı ve veri madenciliği yaklaşımıyla işleyen genel sistem mimarisi [29, 192]

Şekil 4.22’de verilen sistem mimarisinin açıklaması aşağıda verilmiştir.

İstemci Katmanı

- Admin (Yönetici): Kayıt onayı, güncelleme, kullanıcı ve entegrasyon ayarları gibi tüm yönetim işlemlerini yapar.
- Veri Giriş Operatörü: Laboratuvar çıktıları (suş meta verisi, görsel, PDF/RMS, dizi dosyası vb.)’nı standart forma uygun biçimde yükler.
- Son Kullanıcı (Araştırmacı/Ziyaretçi): Arama yapar, suş detaylarını görüntüler, analiz sonuçlarını ve belgeleri indirir.
- Erişim yolu: Bilgisayar/tablet/telefon üzerinden HTTPS ile güvenli bağlantı kurar.

Güvenlik Katmanı

- Firewall/WAF: Sistemi dış saldırılara ve kötü niyetli isteklere karşı korur.
- HTTPS/TLS: Kullanıcı ile sunucu arasındaki tüm veri trafiğini şifreler.
- Kimlik doğrulama & yetkilendirme: Giriş (kullanıcı adı/şifre, gerekirse 2FA) ve rol tabanlı yetkiler (admin–operatör–ziyaretçi).
- Oturum ve kayıt (log): Erişim ve işlem günlükleri denetim izi için tutulur.

Uygulama ve Web Sunucusu

- Kullanıcı Arayüzü (HTML/CSS/JS): Arama, listeleme, suş kartı, indirme ve bağlantı ekranları.
- Uygulama Mantığı / API (PHP, Ajax/jQuery):
- İstekleri işler, veritabanına SQL sorguları gönderir, dosyaları çağırır.
- NCBI/WDCM gibi dış bağlantıları oluşturur.
- Dosya Yönetimi: Görseller (PNG/JPG), raporlar (PDF/RMS), tablolar (CSV), dizi dosyaları (FASTA/AB1) gibi içerikleri saklar ve sunar.

Analiz Sonuçlarının Sunumu

Laboratuvar/biyoinformatik ortamda önceden üretilmiş barkod görseli, tablo ve raporlar burada gösterilir ve indirilebilir.

Veri Tabanı Sunucusu (MySQL/DBeaver – hufccdb)

- İçerik: Suş meta verileri, dizi kayıtları (ITS/LSU/16S vb.), analiz sonuçları, kullanıcı & erişim kayıtları.
- İşleyiş: Uygulama mantığı veritabanına sorgu gönderir → sonuç döner → arayüzde gösterilir.
- Yönetim aracı: DBeaver vb. istemcilerle bakım/gözlem yapılabilir.
- Veri bütünlüğü: Zorunlu alanlar, yabancı anahtarlar ve standart kodlar (ör. HUF kodu, erişim numarası) korunur.

Dış Entegrasyonlar

- NCBI/GenBank: Dizilerin erişim numaralarına (accession) doğrudan bağlantı verilir (link-out).
- WDCM / ECCO / MIRRI: Koleksiyonun kurumsal kaydı ve standartlara uygun görünürlüğü sağlanır.
- Arşivleme ve Yedekleme (iki katmanlı güvence)

Lokal Yedek:

- rsync: Dosyaları senkronize eden araç; sadece değişen parçaları kopyaladığı için hızlı ve verimlidir.
- mysqldump: Veritabanını metin-tabanlı SQL yedeği olarak dışa aktarır.
- Bulut Yedek (Google Drive/S3): Lokal yedekler belirli aralıklarla eşitlenir; olası arıza/kayıpta geri yükleme yapılır.
- Geri dönüş planı: İhtiyaç halinde dosyalar rsync yedeğinden, veriler mysqldump dosyasından geri yüklenir.

Uçtan uca akışın kısa özeti

Kullanıcı HTTPS üzerinden istekte bulunur → Güvenlik katmanı doğrular → arayüz isteği uygulama mantığına iletir → Veritabanından veri ve dosya sistemi içeriği çekilir → Sayfa oluşturulur → NCBI/WDCM bağlantıları sunulur → Tüm veri ve dosyalar düzenli olarak lokal + buluta yedeklenir.

Bu maddelerle şeklin anlattığı mimari, güvenli erişim, düzenli veri saklama, uluslararası görünürlük ve sağlam yedekleme üzerine kurulu, web’de analiz çalıştırmadan analiz çıktılarının güvenilir sunumunu merkezine alan bir yapı olduğunu gösterir.

4.5.4. Mikrobiyel Kaynak Merkezi Entegrasyonu ve Sürdürülebilirlik

HUFCC bünyesinde geliştirilen dijital veri tabanı, yalnızca mevcut araştırma ihtiyaçlarına yanıt vermeyi değil; aynı zamanda koleksiyonun uzun vadeli sürdürülebilirliğini, kurumsal kapasitesinin artırılmasını ve ulusal-uluslararası düzeyde etkin bir kaynak haline getirilmesini hedeflemektedir. Bu sistem, HUFCC'nin mikrobiyel biyolojik kaynak merkezi (mBKM) olma hedefi doğrultusunda tasarlanmış; koleksiyon yönetimi, dijital arşivleme, veri etiketleme, araştırma çıktılarının bütüncül takibi ve dış paydaşlarla stratejik iş birlikleri kurulması için gerekli teknik ve organizasyonel altyapıyı sunmaktadır. Bu doğrultuda, HUFCC hem akademik hem de endüstriyel ve kamusal paydaşların erişimine açık, güvenilir ve sürdürülebilir bir kaynak olarak konumlanmıştır. Bu nedenle, 4 Temmuz 2025 tarihi itibarıyla HUFCC, Dünya Kültür Koleksiyonları Veri Merkezi'ne (WDCM) resmî olarak kaydettirilmiş ve “WDCM Registered Number: 1325” numarası ile tanımlanmıştır. Bu gelişme, koleksiyonun uluslararası alanda tanınırlığını güçlendirmekte; aynı zamanda bilgi paylaşımı, materyal değişimi ve ortak projeler gibi çok yönlü iş birliği fırsatlarını destekleyen bir ağın parçası olmasını sağlamaktadır. Aşağıda Şekil 4.23'te WDCM portalında HUFCC'nin bilgi ekranı verilmiştir [193]. İlgili sayfaya 28.8.2025'te erişilmiştir.



EvGözetAramakİstatistikler

Ev / WDCM 1325

1. Koleksiyon

Kayıtlı Numara	1325
Kısaltma	HUFCC
Ad Soyad	Hacettepe Üniversitesi FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu
Kurum	Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Ana sayfa	https://hufcc.hacettepe.edu.tr/
Katalog URL'si	https://hufcc.hacettepe.edu.tr/

Şekil 4.23. HUFCC'nin WDCM portalındaki bilgi sayfası

5. YORUM

Mikrobiyel kültür koleksiyonları; gıda güvenliği, biyoteknoloji, endüstriyel mikrobiyoloji ve araştırma faaliyetleri için temel bir altyapı olup, biyolojik çeşitliliğin korunması ve sürdürülebilir kullanımı açısından kritik öneme sahiptir. Kültür koleksiyonlarının sistematik olarak yönetilmesi ve ulusal/uluslararası standartlara uygun işletilmesi hem bilimsel güvenilirlik hem de endüstriyel uygulamalarda izlenebilirlik için zorunludur.

Türkiye’de, laboratuvar ölçeğinde yapılandırılmış ve standartlara uyumlu kültür koleksiyonlarının sayısı yetersizdir. Mevcut koleksiyonlarda uzun vadeli koruma yöntemleri, verilerin standartlaştırılması ve paydaşlara açık erişim gibi konularda eksikler bulunmaktadır. Uluslararası görünürlük ve küresel ağlara entegrasyon düzeyinin düşük olması, bilimsel etkileşim ve kaynak paylaşımını sınırlandırmaktadır.

Dünya genelinde de kültür koleksiyonu verilerinin dijital ortama aktarılması ve web tabanlı platformlar üzerinden paylaşılması, biyolojik kaynakların sürdürülebilir yönetimi ve araştırmalara entegrasyonu açısından geliştirilmesi gereken önemli bir alandır.

Bu kapsamda yapılan değerlendirmeler ile aşağıdaki sonuçlara varılmıştır:

- HUFCC koleksiyonundaki maya ve bakteri suşları, uygun besiyeri ve inkübasyon koşullarında canlandırılarak morfolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Mayalarda sekiz cinse ait suşların makro ve mikroskopik özellikleri literatürle karşılaştırılmış, uyumsuz veya canlandırılmayanlar elenmiş ve 78 suş sonraki aşamalara alınmıştır. Laktik asit bakterilerinde morfoloji, Gram boyama, glukoz fermantasyon ve katalaz testleri uygulanmıştır. Tanımlanmamış suşlar ise ileri moleküler analizlere dâhil edilmiştir. Bu aşamada 22 LAB suşu belirlenmiş, referans suşlar doğrudan eklenmiş ve doğrulanan tüm stoklar üçer paralel gliserol kültüründe uzun süreli saklamaya alınmıştır.
- Maya suşları içinde NCBI’ya daha önceki çalışmalarda [104] kaydedilmiş ve morfolojik değerlendirme sonucu *S.cerevisiae*’yla uyumsuz olduğu tespit edilen 3 suş çalışma kapsamına çıkartılmıştır. Kayıtlı olan 19 *S.cerevisiae* suşu dizi analizine dahil edilmemiştir. Geriye kalan 56 suşla dizi analizi

gerçekleştirilmiştir. Bakteri türleri için 22 suş ve 15 izolat dizi analizine dahil edilmiştir fakat izolatlar daha sonra dahil edildiği için DNA izolasyon ve jel elektroforezi verilerine yer verilmemiştir.

- Maya grubunda 56 ve bakteri grubunda 22 adet suş ve 15 adet izolatın DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'ların sonraki moleküler analizler için kalite açısından uygun olduğu saptanmıştır.
- DNA izolasyonu yapılan 56 maya suşunun ITS1–ITS4 primerleri ile çift yönlü PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen diziler NCBI veri tabanında BLAST analizi ile karşılaştırılmıştır. Suşların büyük kısmı, özellikle *Saccharomyces cerevisiae* ve *Metschnikowia pulcherrima*, %98–100 benzerlik oranı ile eşleşmiş; %99 ve üzeri benzerlik gösterenler “yüksek güvenli tekil tanımlama” kategorisine alınmıştır. Toplam 11 suшта (%19,64) BLAST sonucu elde edilememiş olup, bunun PCR verimi, DNA kalitesi veya saflaştırma hatalarından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Bu grupta yer alan HUF16M2K10011 suşu, biyokimyasal testlerle *Yarrowia lipolytica* olarak doğrulanmıştır. Çalışma sonunda, önceki NCBI kayıtlarıyla birlikte koleksiyona *Saccharomyces cerevisiae* (38 suş), *S. cerevisiae* var. *boulardii* (2 suş), *Metschnikowia pulcherrima* (8 suş), *Naganishia uzbekistanensis* (3 suş), *Priceomyces carsonii* (3 suş), *Wickerhamomyces anomalus* (2 suş), ayrıca *Hanseniaspora uvarum*, *Solicoccozyma aerea* ve *Yarrowia lipolytica* (1'er suş) olmak üzere toplam 59 maya suşu kazandırılmıştır. Bu set, yaygın türlerin yanı sıra biyoteknolojik açıdan önemli nadir türleri de içermektedir.

HUFCC'de yer alan bakteri suşlarının tür tayini amacıyla, 27F ve 1492R primer çifti kullanılarak çift yönlü PCR amplifikasyonu yapılmış, elde edilen diziler NCBI veri tabanında BLAST analizi ile karşılaştırılmıştır. Bazı suşlar rastgele örnekleme yöntemiyle ikinci kez dizilenerek ilk tanımlamaların doğruluğu kontrol edilmiştir.

- Toplam 37 bakteri suşunun BLAST analizi sonucunda, 18 suş (%48,65) %99 ve üzeri benzerlik oranı ile tek türle eşleşmiş ve tür düzeyinde net olarak tanımlanmıştır. Bu grupta, dizi analiziyle belirlenen *Enterococcus faecalis* (12 suş) ve *Enterococcus faecium* (3 suş) ile daha önceki tanımları doğrulanan *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactococcus lactis*, *Lactocaseibacillus rhamnosus* ve *Levilactobacillus brevis* türleri yer almaktadır. Üç suş (%8,11) doğrulayıcı

yeniden sekanslama sonucunda aynı türle eşleşmiş ve ilk tanımlamaları doğrulanmıştır (*E. faecalis*). Dört suş (%10,81) ise %99'un üzerinde benzerlik göstermesine rağmen birden fazla yakın türle eşleşmiş ve bu durumun *Lactobacillus* cinsinde türler arası yüksek 16S rDNA benzerliği veya referans eksikliğinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Bu grupta yer alan HUF18ZN3R2029 kodlu suş, tür-spesifik qPCR ile *Lactobacillus helveticus* olarak doğrulanmış ve HUF24ZN3R2030 kodlamasıyla koleksiyona dahil edilmiştir. On iki suş (%32,43) için ise PCR verim düşüklüğü veya DNA kalitesi gibi teknik nedenlerle BLAST sonucu elde edilememiştir.

- Koleksiyonda yer alan bakteri türleri; *Limosilactobacillus fermentum* (1 suş), *Lactocaseibacillus paracasei* (1 suş), *Levilactobacillus brevis* (1 suş), *Pediococcus pentosaceus* (1 suş), *Lactococcus lactis* (1 suş), *Lactocaseibacillus rhamnosus* (1 suş), *Lactobacillus helveticus* (1 suş), *Enterococcus faecium* (3 suş) ve *Enterococcus faecalis* (12 suş) olarak belirlenmiştir. Ayrıca, dizi analizine tabi tutulmadan referans olarak koleksiyona eklenen *Streptococcus thermophilus* (ST-BODY-1), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB-12), *Lactobacillus acidophilus* (nu-trish® LA-5®) ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (HN019) suşları bulunmaktadır. Böylece HUFCC'ye 26 bakteri suşu kazandırılmıştır. Maya suşlarıyla beraber toplamda 85 mikrobiyel suş, HUFCC'nin mikrobiyel biyoçeşitliliğini yansıtmaktadır.
- Bu çalışmada NCBI'a kaydedilen maya suşları (34 suş) – ITS bölgesine dayalı filogenetik analiz, türler arası ilişkileri yüksek doğrulukla ortaya koymuştur. Suşların çoğu Ascomycota (n=30) geri kalanıysa Basidiomycota (n=4) şubesinde yer almıştır.
- *S. cerevisiae* (n=16) ve *P. carsonii* (n=3) kısa dal uzunlukları ve yüksek bootstrap değerleriyle genetik olarak homojen bulunmuş, koleksiyon içinde öngörülebilir performans potansiyeli taşımaktadır.
- *M. pulcherrima* (n=8) ve *W. anomalus* (n=2) tür içi genetik çeşitlilik göstererek fonksiyonel alt gruplar barındırma olasılığı sergilemiştir.
- *N. uzbekistanensis*, *H. uvarum* ve *S. aerea* ise yüksek uyumlu, özel fenotipik-genetik profilleri ile model tür potansiyeli taşımaktadır.
- Bu çalışmada NCBI'a kaydedilen bakteri suşları (n=21) – 16S rRNA bölgesine dayalı filogenetik analiz, tüm suşların Bacillota şubesinde, Bacilli sınıfında ve

Lactobacillales takımı içinde yer aldığını doğrulamıştır. Bu takım altında *Lactobacillaceae*, *Enterococcaceae* ve *Streptococcaceae* olmak üzere üç farklı aile ve yedi tür temsil edilmektedir. *E. faecalis* ve *E. faecium*, yüksek bootstrap (>0.90) ve düşük dal uzunluklarıyla yüksek tür içi homojenlik sergilemiştir.

- *P. pentosaceus* ve *L. brevis* referanslara göre anlamlı genetik farklılık taşımış; özellikle *P. pentosaceus*, uzun dal uzunluğu ile belirgin ayrışma göstermiştir.
- *L. lactis*, veri setindeki en yüksek genetik uzaklıklardan birine sahip olup potansiyel varyant olasılığı taşımaktadır.

HUFCC koleksiyonu, hem genetik olarak homojen türleri (standart performans ve güvenilirlik için kritik) hem de fonksiyonel çeşitlilik potansiyeli yüksek türleri barındırmasıyla stratejik bir bilimsel ve uygulama değeri sunmaktadır.

- HUFCC’de yer alan ve NCBI’a kaydedilen maya ve bakteri suşlarında yapılan genetik polimorfizm ve p-mesafe analizleri, tür içi genetik çeşitliliğin türler arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. *Saccharomyces cerevisiae* suşlarında LSU D1/D2 bölgesi yüksek polimorfizm ($S = 50$, $H_d = 0,857$, $\pi = 0,07916$) ve geniş p-mesafe aralığı (0,00–0,37) ile anlamlı tür içi ayrışma sergilemiş, bazı suşlar filogenetik olarak uzak konumlanmıştır. ITS bölgesi ise sınırlı polimorfizm ($S = 4$, $H_d = 0,708$, $\pi = 0,02174$) ile temel ayrımı sağlamış ancak derin çözümlemede yetersiz kalmıştır.
- *Metschnikowia pulcherrima* suşları yüksek haplotip çeşitliliği ($H_d = 1,000$) ve indel varyasyonları ile dikkat çekmiş, *Priceomyces carsonii*’de varyasyon düşük (p-mesafe = 0,002) bulunmuştur. *Naganishia uzbekistanensis* suşları farklı haplotip profilleri taşımış ($H_d = 1,000$), ancak p-mesafe düşük kalmıştır. *Wickerhamomyces anomalus* için tek suş değerlendirilmiş ve indel profili belirlenmiştir.
- Bakterilerde *Enterococcus faecalis* sınırlı haplotip çeşitliliği ($H_d = 0,318$, $\pi = 0,00078$) ve düşük p-mesafe değerleri (0,000–0,009) ile homojen yapı sergilemiş; yalnızca bir suş nispeten uzak konumlanmıştır. *Enterococcus faecium* suşlarında ise 16S rRNA dizileri tamamen özdeş bulunmuştur.
- Genel olarak LSU bölgesi, özellikle *S. cerevisiae*’de tür içi çözünürlük sağlamış; ITS bölgesi çoğu maya türünde sınırlı çeşitlilik göstermiştir. Bakterilerde 16S rRNA düşük varyasyon sunmasına rağmen taksonomik doğruluk korunmuş ve tür içi genetik yapı hakkında önemli veriler elde edilmiştir.

Maya suşlarında liyofilizasyon öncesi canlı hücre sayıları 7,11–8,08 log kob/mL aralığında değişmiş, ortalama değer 7,72 log kob/mL ve medyan 7,70 log kob/mL olarak hesaplanmıştır. Liyofilizasyon sonrasında canlılık 7,00–7,78 log kob/mL aralığında bulunmuş, ortalama değer 7,38 log kob/mL'ye düşmüştür. Otuz günlük depolama sonunda ise canlı hücre sayıları 6,66–7,95 log kob/mL aralığında değişmiş, ortalama değer 7,45 log kob/mL ve medyan 7,44 log kob/mL olarak belirlenmiştir.

Otuz günlük depolama sonrasında rastgele seçilen 12 bakteri suşunda canlı hücre sayıları 8,86–9,69 log kob/mL aralığında değişmiştir. Ortalama değer 9,49 log kob/mL, medyan 9,6 log kob/mL ve standart sapma 0,25 log kob/mL olarak hesaplanmıştır.

Liyofilizasyon aşamasında, HUFCC'de yer alan 59 maya suşundan 55'i ile 26 bakteri suşundan 20'si liyofilize edilmiştir. Ayrıca, referans olarak temin edilen 5 suşun liyofilize kültürleri viallere aktarılarak koleksiyona dahil edilmiştir. Böylece, HUFCC'de toplam 80 suşa ait liyofilize kültür elde edilmiştir.

Liyofilizasyon sonrası saflık kontrolü, kültürlerin kontaminasyondan arî olduğunu doğrulamak amacıyla yapılmış; yalnızca dört suşun (HUF16M3H11101 – *S. cerevisiae*, HUF17M3E21115 ve HUF17M3F21127 – *P. carsonii*, HUF16M2K10001 – *Y. lipolytica*) saf olmadığı tespit edilmiştir. Bu suşlar koleksiyona yalnızca gliserol stok olarak dâhil edilmiştir. Morfolojik değerlendirmede, liyofilize kültür kekleri dört grupta sınıflandırılmıştır: düzgün kek (%39,6), düzgün olmayan kek (%33), heterojen kek (%20,8) ve eğimli kek (%6,6). En yüksek oranın düzgün kek olması, işlemin belirli ölçüde kontrollü ve tekrarlanabilir yürütüldüğünü gösterirken; düzgün olmayan ve heterojen kekler proses kaynaklı fiziksel varyasyonlara, eğimli kek ise genellikle vial–raf temasındaki düzensizliklere işaret etmektedir [42, 111, 142, 143].

HUFCC bünyesinde, koleksiyon verilerinin standart, erişilebilir ve sürdürülebilir şekilde yönetilmesi için MySQL tabanlı ilişkisel veri tabanı ve PHP destekli web platformu geliştirilmiştir. Web sitesine <https://hufcc.hacettepe.edu.tr> adresinden ulaşılabilir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması; Türkiye’de mikrobiyel biyoçeşitliliğin korunması, standartlara uygun olarak yönetilmesi ve ulusal–uluslararası erişime açık sürdürülebilir bir kültür koleksiyonu altyapısının geliştirilmesi açısından model olma niteliği taşımaktadır.

HUFCC bünyesinde fenotipik, biyokimyasal ve moleküler karakterizasyonu tamamlanmış 85 maya ve bakteri suşu, liyofilizasyon ve kriyojenik korumayla uzun süreli korunmuş, tür düzeyinde tanımlanarak MySQL tabanlı veri tabanı ve web platformu aracılığıyla erişime açılmıştır. Koleksiyon, hem endüstriyel uygulamalarda güvenilirlik sağlayan genetik olarak homojen türleri hem de araştırma ve ürün geliştirme potansiyeli yüksek genetik çeşitlilik barındıran türleri içermektedir.

Gelecek çalışmalarda, koleksiyon kapsamının artırılması ve tür çeşitliliğinin doğa ve gıda kaynaklarından elde edilecek yeni izolatlar ile farklı ekosistemlerden sağlanacak mikroorganizmalarla zenginleştirilmesi planlanmaktadır.

Yapılan çalışmalarla birlikte laboratuvar ölçeğinde sürdürülebilir bir kültür koleksiyonunun devamlılığının sağlanması ve ulusal-uluslararası iş birlikleri aracılığıyla küresel mikrobiyel kültür ağına katkı sunulması hedeflenmektedir. Koleksiyonun sürdürülebilirliği için gliserol stokları yılda bir, liyofilize kültürler iki yılda bir yenilenecek; biyoinformatik verilerle suş envanteri güncellenerek bakım maliyetleri kontrol altında tutulacaktır.

6. KAYNAKLAR

- [1] U. Anand *et al.*, "Current advances and research prospects for agricultural and industrial uses of microbial strains available in world collections," *Science of The Total Environment*, vol. 842, p. 156641, 2022/10/10/ 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156641>.
- [2] Q. Huang, Y. Kuang, H. Zhou, X. Li, and L. Yin, "Biodiversity Conservation in Xishuangbanna, China: Diversity Analysis of Traditional Knowledge Related to Biodiversity and Conservation Progress and Achievement Evaluation," *Diversity*, vol. 16, no. 5, p. 260, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/1424-2818/16/5/260>.
- [3] "OECD Best Practice Guidelines for BRCs," 2007.
- [4] D. Smith, K. McCluskey, and E. Stackebrandt, "Investment into the future of microbial resources: culture collection funding models and BRC business plans for biological resource centres," (in eng), *Springerplus*, vol. 3, p. 81, 2014, doi: 10.1186/2193-1801-3-81.
- [5] C. Glienke, D. A. L. Petters-Vandresen, A. d. S. S. Souto, L. Marinoni, and M. da Silva, "Microbiological Collections in Brazil: Current Status and Perspectives," *Diversity*, vol. 16, no. 2, p. 116, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/1424-2818/16/2/116>.
- [6] D. Van Hop, "Establishment and Management of Culture Collections of Microorganisms (mBRC): An Overview," in *Microbial Resource Conservation: Conventional to Modern Approaches*, S. K. Sharma and A. Varma Eds. Cham: Springer International Publishing, 2018, pp. 55-109.
- [7] L. De Vero *et al.*, "Preservation, Characterization and Exploitation of Microbial Biodiversity: The Perspective of the Italian Network of Culture Collections," *Microorganisms*, vol. 7, no. 12, p. 685, 2019. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/12/685>.
- [8] "Overview." <https://www.mirri.org/about/> (accessed 25.07.2025).
- [9] "European Culture Collections' Organisation (ECCO)." <https://www.eccosite.org/> (accessed 5.8.2025).
- [10] M. F. Simões, N. Dias, C. Santos, and N. Lima, "Establishment of a Quality Management System Based on ISO 9001 Standard in a Public Service Fungal Culture Collection," *Microorganisms*, vol. 4, no. 2, p. 21, 2016. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-2607/4/2/21>.
- [11] G. Dagher, "Quality matters: International standards for biobanking," *Cell Proliferation*, vol. 55, no. 8, p. e13282, 2022, doi: <https://doi.org/10.1111/cpr.13282>.
- [12] Anonim. "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories ISO/IEC 17025:2017." <https://www.iso.org/standard/66912.html> (accessed 23.07.2025)
- [13] Anonim. "Biotechnology — Biobanking — General requirements for the validation and verification of processing methods for biological material in biobanks." <https://www.iso.org/standard/72118.html> (accessed 23.07.2025).
- [14] "Environmental management systems — Requirements with guidance for use ISO 14001:2015." <https://www.iso.org/standard/60857.html> (accessed 23.07.2025).
- [15] "Guidelines for auditing management systems ISO 19011:2018." <https://www.iso.org/standard/70017.html> (accessed 23.07.2025).

- [16] Anonim. "Registration statistics by continent." ccinfo WDCM. <https://ccinfo.wdcm.org/statistics> (accessed 23.07.2025).
- [17] "WDCM Statistics." <https://ccinfo.wdcm.org/statistics> (accessed 23.07.2025).
- [18] M. Moretti *et al.*, "Treasures of Italian Microbial Culture Collections: An Overview of Preserved Biological Resources, Offered Services and Know-How, and Management," *Sustainability*, vol. 16, no. 9, p. 3777, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2071-1050/16/9/3777>.
- [19] M. A. Soares C., Carla Santos, Silva M. G., Lima N., "The challenges of a small culture collection toward accreditation," presented at the INTERNATIONAL CONFERENCE ON CULTURE COLLECTIONS, 2023.
- [20] S. K. Sharma *et al.*, "Microbial Genetic Resources: Status, Conservation, and Access and Benefit-Sharing Regulations," in *Microbial Resource Conservation: Conventional to Modern Approaches*, S. K. Sharma and A. Varma Eds. Cham: Springer International Publishing, 2018, pp. 1-33.
- [21] "Convention on biological diversity Article 2," in "CBD (Convention on Biological Diversity)," 1992.
- [22] D. Pil. "Storing Bacterial Samples for Optimal Viability." Thermo Fischer Scientific. (accessed 20.07.2025).
- [23] I. Schober *et al.*, "Bac Dive in 2025: the core database for prokaryotic strain data," *Nucleic acids research*, vol. 53, no. D1, pp. D748-D756, 2025.
- [24] G. Fan *et al.*, "GCM and gcType in 2024: comprehensive resources for microbial strains and genomic data," *Nucleic Acids Research*, 2024, doi: 10.1093/nar/gkae1057.
- [25] A. M. Díaz-Rodríguez *et al.*, "The Current and Future Role of Microbial Culture Collections in Food Security Worldwide," (in English), *Frontiers in Sustainable Food Systems*, Review vol. 4, 2021-January-14 2021, doi: 10.3389/fsufs.2020.614739.
- [26] S. de los Santos-Villalobos, A. M. Díaz-Rodríguez, M. F. Ávila-Mascareño, A. D. Martínez-Vidales, and F. I. Parra-Cota, "COLMENA: A Culture Collection of Native Microorganisms for Harnessing the Agro-Biotechnological Potential in Soils and Contributing to Food Security," *Diversity*, vol. 13, no. 8, p. 337, 2021. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/1424-2818/13/8/337>.
- [27] T. J. Jacobsson *et al.*, "An open-access database and analysis tool for perovskite solar cells based on the FAIR data principles," *Nature Energy*, vol. 7, no. 1, pp. 107-115, 2022.
- [28] K. Boyar, A. Pham, S. Swantek, G. Ward, and G. Herman, "Laboratory information management systems (LIMS)," in *Cannabis Laboratory Fundamentals*: Springer, 2021, pp. 131-151.
- [29] K. Bhattacharjee and S. R. Joshi, "NEMiD: a web-based curated microbial diversity database with geo-based plotting," *PloS One*, vol. 9, no. 4, p. e94088, 2014.
- [30] T. Lepenos, D. Sanoudou, A. Protogerou, K. Laios, G. Androutsos, and M. Karamamou, "Louis Pasteur (1822-1895), Ignaz Semmelweis (1818-1865), Joseph Lister (1827-1912) and the Link Between Their Works Toward the Development of Antisepsis: A Narrative Review," (in eng), *Cureus*, vol. 16, no. 6, p. e62543, Jun 2024, doi: 10.7759/cureus.62543.
- [31] N. Lima, "Preserving and utilizing microbial diversity for innovation and sustainability," *Microbiology*, vol. 171, no. 3, 2025, doi: <https://doi.org/10.1099/mic.0.001544>.

- [32] C. Kirchhelle and C. Kirchhelle, "Northern normal: Laboratory networks, microbial culture collections, and taxonomies of Power (1939–2000)," *Engaging Science, Technology, and Society*, vol. 10, no. 1–2, 2024.
- [33] Y. Kim *et al.*, "Strengthening the Korean Network of Microbial Culture Collections in the Microbiome Era," *Mycobiology*, vol. 52, no. 4, pp. 207-213, 2024/07/03 2024, doi: 10.1080/12298093.2024.2372917.
- [34] S. M. Ozerskaya, N. E. Ivanushkina, G. A. Kochkina, A. A. Danilogorskaya, I. P. Pinchuk, and A. N. Vasilenko, "Various Methods of Long-Term Preservation of Fungal Cultures in All-Russian Collection of Microorganisms (VKM)," in *Laboratory Protocols in Fungal Biology: Current Methods in Fungal Biology*, V. K. Gupta and M. Tuohy Eds. Cham: Springer International Publishing, 2022, pp. 1-67.
- [35] U. Kutschera, "Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723): Master of Fleas and Father of Microbiology," (in eng), *Microorganisms*, vol. 11, no. 8, Aug 2 2023, doi: 10.3390/microorganisms11081994.
- [36] E. Yucesan, "Carl von Linné: The Development of the Idea of Binomial Nomenclature," *Journal of Medical Biography*, vol. 32, no. 1, pp. 51-56, 2024, doi: 10.1177/09677720211065352.
- [37] M. Grote, "Microbes before microbiology: Christian Gottfried Ehrenberg and Berlin's infusoria," *Endeavour*, vol. 46, no. 1, p. 100815, 2022/03/01/ 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.endeavour.2022.100815>.
- [38] A. Arsov, N. Armenova, E. Gergov, K. Petrov, and P. Petrova, "Cloning Systems in *Bacillus*: Bioengineering of Metabolic Pathways for Valuable Recombinant Products," *Fermentation*, vol. 10, no. 1, p. 50, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/10/1/50>.
- [39] A. Walther, D. Ravasio, F. Qin, J. Wendland, and S. Meier, "Development of brewing science in (and since) the late 19th century: Molecular profiles of 110–130year old beers," *Food Chemistry*, vol. 183, pp. 227-234, 2015/09/15/ 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.051>.
- [40] D. H. Parks, M. Chuvochina, C. Rinke, A. J. Mussig, P.-A. Chaumeil, and P. Hugenholtz, "GTDB: an ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy," *Nucleic Acids Research*, vol. 50, no. D1, pp. D785-D794, 2021, doi: 10.1093/nar/gkab776.
- [41] S. Scortichini, M. C. Boarelli, S. Silvi, and D. Fiorini, "Development and validation of a GC-FID method for the analysis of short chain fatty acids in rat and human faeces and in fermentation fluids," *Journal of Chromatography B*, vol. 1143, p. 121972, 2020/04/15/ 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.121972>.
- [42] R. Yılmaz ,D. Kütük., N. N. Yazğan *Genel Mikrobiyoloji Laboratuvarı Uygulamaları*. Palme Yayınevi, 2024, p. 168.
- [43] A. Haider, M. Ringer, Z. Kotroczó, C. Mohácsi-Farkas, and T. Kocsis, "The Current Level of MALDI-TOF MS Applications in the Detection of Microorganisms: A Short Review of Benefits and Limitations," *Microbiology Research*, vol. 14, no. 1, pp. 80-90, 2023. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2036-7481/14/1/8>.
- [44] K. Sahlin, M. C. W. Lim, and S. Prost, "NGSpeciesID: DNA barcode and amplicon consensus generation from long-read sequencing data," (in eng), *Ecol Evol*, vol. 11, no. 3, pp. 1392-1398, Feb 2021, doi: 10.1002/ece3.7146.

- [45] Z. Jiang *et al.*, "Identification of *Apiaceae* using ITS, ITS2 and psba-trnH barcodes," *Molecular Biology Reports*, vol. 50, pp. 1-9, 11/03 2022, doi: 10.1007/s11033-022-07909-w.
- [46] R. C. Edgar, "Muscle5: High-accuracy alignment ensembles enable unbiased assessments of sequence homology and phylogeny," (in eng), *Nat Commun*, vol. 13, no. 1, p. 6968, Nov 15 2022, doi: 10.1038/s41467-022-34630-w.
- [47] M. Sipiczki, "When barcoding fails: Genome chimerization (admixing) and reticulation obscure phylogenetic and taxonomic relationships," *Molecular Ecology Resources*, vol. 22, no. 5, pp. 1762-1785, 2022, doi: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13586>.
- [48] M. Gu, X. Zhang, Z. Huang, D. Cao, X. Zhang, and P. A. Naik, "A multi-objective evolutionary algorithm for improving the iterative search of MAFFT," *Innovation and Emerging Technologies*, vol. 12, p. 2550024, 2025.
- [49] R. C. Edgar, "Muscle5: High-accuracy alignment ensembles enable unbiased assessments of sequence homology and phylogeny," *Nature communications*, vol. 13, no. 1, p. 6968, 2022.
- [50] "Guidance 2 = Sequence alignment confidence score." <https://guidance.tau.ac.il/> (accessed 5.7.2025).
- [51] I. Letunic and P. Bork, "Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool," *Nucleic Acids Research*, vol. 52, no. W1, pp. W78-W82, 2024, doi: 10.1093/nar/gkac268.
- [52] A. Togkousidis, O. M. Kozlov, J. Haag, D. Höhler, and A. Stamatakis, "Adaptive RAXML-NG: accelerating phylogenetic inference under maximum likelihood using dataset difficulty," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 40, no. 10, p. msad227, 2023.
- [53] T. K. Wong *et al.*, "IQ-TREE 3: Phylogenomic Inference Software using Complex Evolutionary Models," 2025.
- [54] G. Bianchini and P. Sánchez-Baracaldo, "TreeViewer: Flexible, modular software to visualise and manipulate phylogenetic trees," *Ecology and Evolution*, vol. 14, no. 2, p. e10873, 2024.
- [55] M. Legein, S. Wittouck, and S. Lebeer, "*Latilactobacillus fragifolii* sp. nov., isolated from leaves of a strawberry plant (*Fragaria x ananassa*)," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 72, no. 1, p. 005193, 2022.
- [56] J. Nunes Ramos, L. Veloso da Costa, V. Viana Vieira, and M. L. Lima Brandão, "Challenges in the Identification of Environmental Bacterial Isolates from a Pharmaceutical Industry Facility by 16S rRNA Gene Sequences," *DNA*, vol. 5, no. 3, p. 33, 2025. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2673-8856/5/3/33>.
- [57] H. B. Hassler *et al.*, "Phylogenies of the 16S rRNA gene and its hypervariable regions lack concordance with core genome phylogenies," *Microbiome*, vol. 10, no. 1, p. 104, 2022/07/08 2022, doi: 10.1186/s40168-022-01295-y.
- [58] H. B. Lee, D. H. Jeong, B. C. Cho, and J. S. Park, "Comparative analyses of eight primer sets commonly used to target the bacterial 16S rRNA gene for marine metabarcoding-based studies," (in English), *Frontiers in Marine Science*, Original Research vol. Volume 10 - 2023, 2023-October-09 2023, doi: 10.3389/fmars.2023.1199116.
- [59] A. Ohta, K. Nishi, K. Hirota, and Y. Matsuo, "Using nanopore sequencing to identify fungi from clinical samples with high phylogenetic resolution,"

- Scientific Reports*, vol. 13, no. 1, p. 9785, 2023/06/16 2023, doi: 10.1038/s41598-023-37016-0.
- [60] E. Bellemain, T. Carlsen, C. Brochmann, E. Coissac, P. Taberlet, and H. Kauserud, "ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases," *BMC Microbiology*, vol. 10, no. 1, p. 189, 2010/07/09 2010, doi: 10.1186/1471-2180-10-189.
 - [61] C. Park, S. B. Kim, S. H. Choi, and S. Kim, "Comparison of 16S rRNA Gene Based Microbial Profiling Using Five Next-Generation Sequencers and Various Primers," (in English), *Frontiers in Microbiology, Methods* vol. Volume 12 - 2021, 2021-October-14 2021, doi: 10.3389/fmicb.2021.715500.
 - [62] P. Leo *et al.*, "Genomic characterization and radiation tolerance of *Naganishia kalamii* sp. nov. and *Cystobasidium onofrii* sp. nov. from Mars 2020 mission assembly facilities," *IMA Fungus*, vol. 14, no. 1, p. 15, 2023/08/11 2023, doi: 10.1186/s43008-023-00119-4.
 - [63] K. M. Aung *et al.*, "Genomic landscape of the OsTPP7 gene in its haplotype diversity and association with anaerobic germination tolerance in rice," (in English), *Frontiers in Plant Science, Original Research* vol. Volume 14 - 2023, 2023-July-25 2023, doi: 10.3389/fpls.2023.1225445.
 - [64] A. Kumari *et al.*, "Genetic diversity and molecular evolution of the internal transcribed spacer regions (ITS1–5.8S–ITS2) of *Babesia vogeli*," *Infection, Genetics and Evolution*, vol. 125, p. 105686, 2024/11/01/ 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2024.105686>.
 - [65] K. B. Merseguet *et al.*, "Genetic diversity of medically important and emerging *Candida* species causing invasive infection," *BMC Infectious Diseases*, vol. 15, no. 1, p. 57, 2015/02/13 2015, doi: 10.1186/s12879-015-0793-3.
 - [66] M. T. Mahop, "The post Nagoya Protocol ABS regime in France: exploring the extent to which it upholds the obligations of the Protocol," in *Global Transformations in the Use of Biodiversity for Research and Development: Post Nagoya Protocol Implementation Amid Unresolved and Arising Issues*: Springer, 2022, pp. 463-490.
 - [67] I. Larini *et al.*, "Unlocking the potential of *Metschnikowia pulcherrima*: a dive into the genomic and safety characterization of four plant-associated strains," (in eng), *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 109, no. 1, p. 128, May 29 2025, doi: 10.1007/s00253-025-13515-0.
 - [68] M. Sipiczki, "Taxonomic Revision of the pulcherrima Clade of *Metschnikowia* (Fungi): Merger of Species," *Taxonomy*, vol. 2, no. 1, pp. 107-123, 2022. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2673-6500/2/1/9>.
 - [69] P. Ioannou, S. Baliou, and D. P. Kofteridis, "Fungemia by *Wickerhamomyces anomalus*—A Narrative Review," *Pathogens*, vol. 13, no. 3, p. 269, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-0817/13/3/269>.
 - [70] C. P. Kurtzman and M. Suzuki, "Phylogenetic analysis of ascomycete yeasts that form coenzyme Q-9 and the proposal of the new genera *Babjeviella*, *Meyerozyma*, *Millerozyma*, *Priceomyces*, and *Scheffersomyces*," *Mycoscience*, vol. 51, no. 1, pp. 2-14, 2010.
 - [71] "Naganishia uzbekistanensis NCBI Taxonomy." <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=104415> (accessed 17.7.2025).
 - [72] X. Z. Liu *et al.*, "Towards an integrated phylogenetic classification of the Tremellomycetes," *Studies in Mycology*, vol. 81, pp. 85-147, 2015/06/01/ 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.12.001>.

- [73] N. Čadež *et al.*, "*Hanseniaspora smithiae* sp. nov., a Novel Apiculate Yeast Species From Patagonian Forests That Lacks the Typical Genomic Domestication Signatures for Fermentative Environments," (in English), *Frontiers in Microbiology*, Original Research vol. Volume 12 - 2021, 2021-July-21 2021, doi: 10.3389/fmicb.2021.679894.
- [74] "NCBI, Taxonomy." <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy> (accessed 15.07.2025).
- [75] J. Zheng *et al.*, "A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 70, no. 4, pp. 2782-2858, 2020, doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>.
- [76] Ö. K. Ilikkan, Z. G. Cerit, M. C. Baloglu, and R. Yılmaz, "Microbial monitoring and Resistome analysis in white cheese production at a dairy plant: MALDI-TOF MS and shotgun metagenomics approaches," *Food Research International*, p. 117432, 2025.
- [77] Z. G. Cerit, M. C. Baloglu, and R. Yılmaz, "Evaluation of culturomics and shotgun metagenomic technologies in white cheese microbiota," 2021.
- [78] Z. G. Cerit, Ö. K. Ilikkan, M. C. Baloglu, and R. Yılmaz, "Detection of the lactic acid bacterial community in small scale white cheese processing facility using shotgun metagenomics and culturomics," *International Dairy Journal*, vol. 155, p. 105971, 2024.
- [79] "*Pediococcus pentosaceus* Taxonomy." <https://bacdiver.dsmz.de/strain/6390> (accessed 13.07.2025).
- [80] A. G. Elcheninov, K. S. Zayulina, A. A. Klyukina, M. K. Kremneva, I. V. Kublanov, and T. V. Kochetkova, "Metagenomic Insights into the Taxonomic and Functional Features of Traditional Fermented Milk Products from Russia," *Microorganisms*, vol. 12, no. 1, p. 16, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/1/16>.
- [81] "Reference Strains - How Many Passages are Too Many?," ATCC, 2022.
- [82] O. Han-Min, "Selection of bacterial strains in a testing microbiology laboratory for quality assurance purposes: ISO/IEC 17025:2017 standard point of view," *Accreditation and Quality Assurance*, vol. 30, no. 1, pp. 95-101, 2025/02/01 2025, doi: 10.1007/s00769-024-01615-9.
- [83] G. Adams, "The principles of freeze-drying," *Cryopreservation and freeze-drying protocols*, pp. 15-38, 2007.
- [84] F. Jameel, "Overview of Freeze Drying," in *Principles and Practices of Lyophilization in Product Development and Manufacturing*, F. Jameel Ed. Cham: Springer International Publishing, 2023, pp. 1-19.
- [85] S. R. Pardeshi *et al.*, "Process development and quality attributes for the freeze-drying process in pharmaceuticals, biopharmaceuticals and nanomedicine delivery: a state-of-the-art review," *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 9, no. 1, p. 99, 2023/11/07 2023, doi: 10.1186/s43094-023-00551-8.
- [86] A. Merivaara *et al.*, "Preservation of biomaterials and cells by freeze-drying: Change of paradigm," *Journal of Controlled Release*, vol. 336, pp. 480-498, 2021/08/10/ 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.06.042>.
- [87] Y.-W. Chin, S. Lee, H. H. Yu, S. J. Yang, and T.-W. Kim, "Combinatorial Effects of Protective Agents on Survival Rate of the Yeast Starter, *Saccharomyces cerevisiae* 88-4, after Freeze-Drying," *Microorganisms*, vol. 9,

- no. 3, p. 613, 2021. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/3/613>.
- [88] F. Fonseca, S. Cenard, and S. Passot, "Freeze-Drying of Lactic Acid Bacteria," in *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*, W. F. Wolters and H. Oldenhof Eds. New York, NY: Springer New York, 2015, pp. 477-488.
 - [89] R. S. S. Magalhães, B. Popova, G. H. Braus, T. F. Outeiro, and E. C. A. Eleutherio, "The trehalose protective mechanism during thermal stress in *Saccharomyces cerevisiae*: the roles of Ath1 and Agt1," *FEMS Yeast Research*, vol. 18, no. 6, 2018, doi: 10.1093/femsyr/foy066.
 - [90] R. F. Stefanello *et al.*, "Trehalose as a cryoprotectant in freeze-dried wheat sourdough production," *LWT*, vol. 89, pp. 510-517, 2018/03/01/ 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.011>.
 - [91] A. Murray, P. Kilbride, and M. I. Gibson, "Trehalose in cryopreservation. Applications, mechanisms and intracellular delivery opportunities," *RSC Medicinal Chemistry*, vol. 15, no. 9, pp. 2980-2995, 2024.
 - [92] S. R. Santa Maria, D. B. Marina, S. Massaro Tieze, L. C. Liddell, and S. Bhattacharya, "BioSentinel: long-term *Saccharomyces cerevisiae* preservation for a deep space biosensor mission," *Astrobiology*, vol. 23, no. 6, pp. 617-630, 2023.
 - [93] M. Zäh, C. Brandenbusch, S. Groël, G. Winter, and G. Sadowski, "Water Activity as an Indicator for Antibody Storage Stability in Lyophilized Formulations," (in eng), *Mol Pharm*, vol. 22, no. 2, pp. 918-926, Feb 3 2025, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.4c01106.
 - [94] J. A. Brom, R. G. Petrikis, and G. J. Pielak, "How Sugars Protect Dry Protein Structure," (in eng), *Biochemistry*, vol. 62, no. 5, pp. 1044-1052, Mar 7 2023, doi: 10.1021/acs.biochem.2c00692.
 - [95] N. Tyagi *et al.*, "The Impact of Formulation and Freeze Drying on the Properties and Performance of Freeze-Dried *Limosilactobacillus reuteri* R2LC," *Applied Microbiology*, vol. 3, no. 4, pp. 1370-1387, 2023. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2673-8007/3/4/92>.
 - [96] M. Kupletskaya and A. Netrusov, "Viability of Lyophilized Microorganisms after 50-Year Storage," *Microbiology*, vol. 80, 12/01 2011, doi: 10.1134/S0026261711060129.
 - [97] J. Wang, P. Wu, S. Dhital, A. Yu, and X. D. Chen, "Impact of Freezing and Freeze Drying on *Lactobacillus rhamnosus* GG Survival: Mechanisms of Cell Damage and the Role of Pre-Freezing Conditions and Cryoprotectants," *Foods*, vol. 14, no. 10, p. 1817, 2025. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2304-8158/14/10/1817>.
 - [98] "ATCC Mycology Culture Guide." <https://www.atcc.org/resources/culture-guides/mycology-culture-guide> (accessed 25.07.2025).
 - [99] X. Lu and M. J. Pikal, "Freeze-Drying of Mannitol–Trehalose–Sodium Chloride-Based Formulations: The Impact of Annealing on Dry Layer Resistance to Mass Transfer and Cake Structure," *Pharmaceutical Development and Technology*, vol. 9, no. 1, pp. 85-95, 2004/01/01 2004, doi: 10.1081/PDT-120027421.
 - [100] F. Jameel, "Concepts and Strategies in the Design of Formulations for Freeze Drying," in *Principles and Practices of Lyophilization in Product Development and Manufacturing*, F. Jameel Ed. Cham: Springer International Publishing, 2023, pp. 63-82.

- [101] F. Jameel, "Characterization and Determination of Freeze-Drying Properties of Frozen Formulations: Case Studies," in *Principles and Practices of Lyophilization in Product Development and Manufacturing*, F. Jameel Ed. Cham: Springer International Publishing, 2023, pp. 21-38.
- [102] Anonim. "World Data Centre for Microorganisms." <https://www.wdcm.org/> (accessed 04.08.2025).
- [103] M. Kurban, "Saccharomyces cerevisiae DNA Barkodunun Belirlenmesi ve Veri Tabanının Oluşturulması", Hacettepe University, 2019.
- [104] B. Sayman and R. Yılmaz, "Differentiation of *Saccharomyces boulardii* from *Saccharomyces cerevisiae* Strains Using the qPCR-HRM Technique Targeting AAD15 Gene," *Food Biotechnology*, vol. 38, no. 3, pp. 277-290, 2024.
- [105] Z. G. Cerit, "Beyaz Peynir Ve Süt İşleme Tesisinden İzole Edilen Mikrobiyotanın Karakterizasyonu," Hacettepe University, 2020.
- [106] *TS EN ISO 7218, Gıda zincirinin mikrobiyolojisi - Mikrobiyolojik analizler için genel şartlar ve rehber*, T. S. Enstitüsü, 2024.
- [107] *TS EN ISO 6887-1 , Besin zincirinin mikrobiyolojisi- Mikrobiyolojik muayene için deney numunelerinin, başlangıç suspansiyonunun ve ondalık seyreltilerin hazırlanması Bölüm 1: Deney numunelerinin başlangıç süspansiyonunun ve ondalık seyreltilerinin hazırlanması için genel kurallar*, T. S. Enstitüsü, 2017.
- [108] C. Bond, *Cryopreservation of Yeast Cultures* (Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols). Humana Press, 2007, pp. 109-117.
- [109] S. C. Fernanda Fonseca, Stéphanie Passot, *Freeze-Drying of Lactic Acid Bacteria* (Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols). Springer, 2015.
- [110] R. F. Stefanello *et al.*, "Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents," *Food Research International*, vol. 115, pp. 90-94, 2019/01/01/ 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.044>.
- [111] A. Temiz, *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Hatiboğlu Yayıncılık, 2016.
- [112] J. I. Nathan Rigel, *Laboratory Exercises in Microbiology*. McGraw-Hill, 2023.
- [113] X. Liang, T. Gong, J.-J. Chen, T.-J. Chen, J.-L. Yang, and P. Zhu, "Influence of Long-Term Agar-Slant Preservation at 4 °C on the Recombinant Enzyme Activity of Engineered Yeast," *Fermentation*, vol. 9, no. 2, p. 104, 2023. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/2/104>.
- [114] A. Jain, R. Jain, S. Jain, A. Jain, R. Jain, and S. Jain, "Preservation of microorganisms: Stabs, slants, lyophilization and cryopreservation," *Basic Techniques in Biochemistry, Microbiology and Molecular Biology: Principles and Techniques*, pp. 105-110, 2020.
- [115] L. M. Gerard, M. B. Corrado, C. V. Davies, C. A. Soldá, M. G. Dalzotto, and S. Esteche, "Isolation and identification of native yeasts from the spontaneous fermentation of grape musts," *Archives of Microbiology*, vol. 205, no. 9, p. 302, 2023/08/07 2023, doi: 10.1007/s00203-023-03646-1.
- [116] D. Madushanka, J. K. Vidanarachchi, S. Kodithuwakku, G. A. Nayanajith, S. Jayatilake, and H. Priyashantha, "Isolation and characterization of probiotic lactic acid bacteria from fermented traditional rice for potential applications in food and livestock production," *Applied food research*, vol. 5, no. 1, p. 100865, 2025.
- [117] Y. S. Ismail, C. Yulvizar, and B. Mazhitov, "Characterization of lactic acid bacteria from local cow's milk kefir," *IOP Conference Series: Earth and*

- Environmental Science*, vol. 130, no. 1, p. 012019, 2018/03/01 2018, doi: 10.1088/1755-1315/130/1/012019.
- [118] Khushboo, A. Karnwal, and T. Malik, "Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods," *Frontiers in microbiology*, vol. 14, p. 1170725, 2023.
 - [119] *Carbohydrate Fermentation Protocol* A. S. f. Microbiology, 01 November 2012
 - [120] M. Kurniawati, N. Nurliyani, W. Budhijanto, and W. Widodo, "Isolation and Identification of Lactose-Degrading Yeasts and Characterisation of Their Fermentation-Related Ability to Produce Ethanol," *Fermentation*, vol. 8, no. 4, p. 183, 2022. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/8/4/183>.
 - [121] E. E. Imade, S. E. Omonigho, O. O. Babalola, B. J. Enagbonma, O. N. Igiehon, and A. G. Ogofure, "Dataset of 16S ribosomal DNA sequence-based identification of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from fermented food samples," *Data in Brief*, vol. 52, p. 110021, 2024/02/01/ 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2023.110021>.
 - [122] S. Wahyuni *et al.*, "Identification and Genetic Diversity of Amylase Producing Lactic Acid Bacteria from Brown Rice (*Oryza nivara*) Wakawondu Cultivar Based on 16S rRNA Gene," *Fermentation*, vol. 8, no. 12, p. 691, 2022. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/8/12/691>.
 - [123] P. Wittmeier and S. Hummel, "Agarose Gel Electrophoresis to Assess PCR Product Yield: Comparison with Spectrophotometry, Fluorometry and qPCR," *BioTechniques*, vol. 72, no. 4, pp. 155-158, 2022/04/01 2022, doi: 10.2144/btn-2021-0094.
 - [124] S. Ghosh, "Metagenomic screening of cell wall hydrolases, their anti-fungal activities and potential role in wine fermentation " Doctor of Philosophy, Agricultural Science, Stellenbosch University 2015.
 - [125] Anonim. "Basic Local Alignment Search Tool." <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed 6.7.2025).
 - [126] D. Vu *et al.*, "DNA barcoding analysis of more than 9 000 yeast isolates contributes to quantitative thresholds for yeast species and genera delimitation," (in eng), *Stud Mycol*, vol. 85, pp. 91-105, Sep 2016, doi: 10.1016/j.simyco.2016.11.007.
 - [127] P. Kapli, Z. Yang, and M. J. Telford, "Phylogenetic tree building in the genomic age," *Nature Reviews Genetics*, vol. 21, no. 7, pp. 428-444, 2020/07/01 2020, doi: 10.1038/s41576-020-0233-0.
 - [128] Y. Zou *et al.*, "Common Methods for Phylogenetic Tree Construction and Their Implementation in R," *Bioengineering*, vol. 11, no. 5, p. 480, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2306-5354/11/5/480>.
 - [129] J. Beser, S. Botero-Kleiven, M. Lebbad, P. Hagblom, and V. Fernandez, "A limited number of ITS haplotypes defines the diversity of *Pneumocystis jirovecii* strains in Sweden," *Infection, Genetics and Evolution*, vol. 11, no. 5, pp. 948-954, 2011/07/01/ 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.03.004>.
 - [130] Z. Liu, M.-M. Wang, G.-S. Wang, A.-H. Li, Wangmu, and Q.-M. Wang, "*Hanseniaspora terricola* sp. nov., an ascomycetous yeast isolated from Tibet," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 71, no. 3, 2021, doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004741>.
 - [131] M. Domán, L. Makrai, and K. Bányaí, "Molecular Phylogenetic Analysis of *Candida krusei*," *Mycopathologia*, vol. 187, no. 4, pp. 333-343, 2022/08/01 2022, doi: 10.1007/s11046-022-00640-x.

- [132] D. Spadaro, A. A. Ciavarella, J. G. Lopez-Reyes, A. Garibaldi, and M. L. Gullino, "Effect of culture age, protectants, and initial cell concentration on viability of freeze-dried cells of *Metschnikowia pulcherrima*," (in eng), *Can J Microbiol*, vol. 56, no. 10, pp. 809-15, Oct 2010, doi: 10.1139/w10-068.
- [133] G. Martins-Silva *et al.*, "UV radiation triggers mycosporine-glutaminol-glucoside biosynthesis in *Naganishia friedmannii* FBU002, a non-pathogenic yeast," (in eng), *J Appl Microbiol*, vol. 136, no. 3, Mar 3 2025, doi: 10.1093/jambio/lxaf047.
- [134] A. P. Tzamourani, V. Taliadouros, I. Paraskevopoulos, and M. Dimopoulou, "Developing a novel selection method for alcoholic fermentation starters by exploring wine yeast microbiota from Greece," (in English), *Frontiers in Microbiology*, Original Research vol. Volume 14 - 2023, 2023-December-20 2023, doi: 10.3389/fmicb.2023.1301325.
- [135] Z.-H. Yu *et al.*, "Transcriptomic Analysis of Cell Stress Response in *Wickerhamomyces anomalus* H4 Under Octanoic Acid Stress," *Fermentation*, vol. 10, no. 11, p. 563, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/10/11/563>.
- [136] G. de Arruda Moura Pietrowski, M. Grochoski, G. F. Sartori, T. A. Gomes, G. Wosiacki, and A. Nogueira, "Viability of *Hanseniaspora uvarum* yeast preserved by lyophilization and cryopreservation," (in eng), *Yeast*, vol. 32, no. 8, pp. 559-65, Aug 2015, doi: 10.1002/yea.3079.
- [137] H. Ghanavati, I. Nahvi, and R. Roghanian, "Monitoring growth and lipid production of new isolated oleaginous yeast *Cryptococcus aerius* UIMC65 on glucose and xylose cultures," *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 19, no. 3, pp. 468-477, 2014/06/01 2014, doi: 10.1007/s12257-014-0007-7.
- [138] C. Pénicaud *et al.*, "Physiological and biochemical responses of *Yarrowia lipolytica* to dehydration induced by air-drying and freezing," *PloS one*, vol. 9, no. 10, p. e111138, 2014.
- [139] S. Guowei, X. Yang, C. Li, D. Huang, Z. Lei, and C. He, "Comprehensive optimization of composite cryoprotectant for *Saccharomyces boulardii* during freeze-drying and evaluation of its storage stability," *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, vol. 49, no. 9, pp. 846-857, 2019/10/21 2019, doi: 10.1080/10826068.2019.1630649.
- [140] Y. Soyoung *et al.*, "Determination of Optimized Growth Medium and Cryoprotective Additives to Enhance the Growth and Survival of *Lactobacillus salivarius*," (in eng), *J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 28, no. 5, pp. 718-731, 2018, doi: 10.4014/jmb.1801.01059.
- [141] A. Bodzen *et al.*, "Design of a new lyoprotectant increasing freeze-dried *Lactobacillus* strain survival to long-term storage," *BMC Biotechnology*, vol. 21, no. 1, p. 66, 2021/11/12 2021, doi: 10.1186/s12896-021-00726-2.
- [142] S. M. Patel *et al.*, "Lyophilized Drug Product Cake Appearance: What Is Acceptable?," in *Principles and Practices of Lyophilization in Product Development and Manufacturing*, F. Jameel Ed. Cham: Springer International Publishing, 2023, pp. 595-618.
- [143] J. Peiren, A. Hellemans, and P. De Vos, "Impact of the freeze-drying process on product appearance, residual moisture content, viability, and batch uniformity of freeze-dried bacterial cultures safeguarded at culture collections," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 100, no. 14, pp. 6239-6249, 2016/07/01 2016, doi: 10.1007/s00253-016-7359-1.

- [144] R. Jawan *et al.*, "Influence of type and concentration of lyoprotectants, storage temperature and storage duration on cell viability and antibacterial activity of freeze-dried lactic acid bacterium, *Lactococcus lactis* Gh1," *Drying Technology*, vol. 40, no. 9, pp. 1774-1790, 2022/07/12 2022, doi: 10.1080/07373937.2021.1874968.
- [145] "ATCC General Information Handling Procedure of Bacteria." <https://www.atcc.org/products/14931> (accessed 19.07.2025).
- [146] K. Boundy-Mills *et al.*, "Preserving US microbe collections sparks future discoveries," (in eng), *J Appl Microbiol*, vol. 129, no. 2, pp. 162-174, Aug 2020, doi: 10.1111/jam.14525.
- [147] K. C. Fugelsang, "Yeasts," in *Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures*, K. C. Fugelsang and C. G. Edwards Eds. Boston, MA: Springer US, 2007, pp. 3-28.
- [148] M. Moradi, M. Rohani, S. R. Fani, M. T. H. Mosavian, C. Probst, and P. Khodaygan, "Biocontrol potential of native yeast strains against *Aspergillus flavus* and aflatoxin production in pistachio," *Food Additives & Contaminants: Part A*, vol. 37, no. 11, pp. 1963-1973, 2020/11/01 2020, doi: 10.1080/19440049.2020.1811901.
- [149] K. Voordeckers *et al.*, "Identification of a complex genetic network underlying *Saccharomyces cerevisiae* colony morphology," *Molecular Microbiology*, vol. 86, no. 1, pp. 225-239, 2012, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2012.08192.x>.
- [150] A. Morata, I. Loira, C. Escott, J. M. del Fresno, M. A. Bañuelos, and J. A. Suárez-Lepe, "Applications of *Metschnikowia pulcherrima* in Wine Biotechnology," *Fermentation*, vol. 5, no. 3, p. 63, 2019. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/5/3/63>.
- [151] A. Kamari, A. Sepahvand, and R. Mohammadi, "Isolation and molecular characterization of *Cryptococcus* species isolated from pigeon nests and Eucalyptus trees," (in eng), *Curr Med Mycol*, vol. 3, no. 2, pp. 20-25, Jun 2017, doi: 10.29252/cmm.3.2.20.
- [152] Anonim. "*Cryptococcus albidus*." University of California, Davis. <https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/wine-microbiology/yeast-mold/cryptococcus-albidus> (accessed 26.07.2025).
- [153] Y. Ma *et al.*, "Isolation, Identification and Function of *Pichia anomala* AR2016 and Its Effects on the Growth and Health of Weaned Pigs," *Animals*, vol. 11, no. 4, p. 1179, 2021. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/4/1179>.
- [154] Anonim. "*Pichia anomala*." <https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/wine-microbiology/yeast-mold/pichia-anomala> (accessed 7.07.2025).
- [155] J. Aguiar-Cervera *et al.*, "Effect of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae* co-fermentations on aroma compound production in beer," *Food Microbiology*, vol. 123, p. 104585, 2024/10/01/ 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104585>.
- [156] D. Ellis. "*Cryptococcus*." <https://www.adelaide.edu.au/mycology/fungal-descriptions-and-antifungal-susceptibility/yeast-like-fungi/cryptococcus#cryptococcus-neoformans> (accessed 17.07.2025).
- [157] G. M. Heard and G. H. Fleet, "CANDIDA | *Yarrowia (Candida) lipolytica*," in *Encyclopedia of Food Microbiology*, R. K. Robinson Ed. Oxford: Elsevier, 1999, pp. 360-365.

- [158] A. Timoumi, S. E. Guillouet, C. Molina-Jouve, L. Fillaudeau, and N. Gorret, "Impacts of environmental conditions on product formation and morphology of *Yarrowia lipolytica*," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 102, no. 9, pp. 3831-3848, 2018/05/01 2018, doi: 10.1007/s00253-018-8870-3.
- [159] P. F. Fox, "Bacteria, Beneficial | Lactic Acid Bacteria: An Overview," in *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, J. W. Fuquay Ed. San Diego: Academic Press, 2011, pp. 401-402.
- [160] E. Ary, A. Dadrasnia, F. Ameen, S. Alwakeel, and S. Ismail, "Antimicrobial Screening of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Milk Buffalo (Dadih)," *International Journal of Scientific and Research Publications (IJSRP)*, vol. 11, pp. 70-80, 04/06 2021, doi: 10.29322/IJSRP.11.04.2021.p11209.
- [161] Y. Taye, T. Degu, H. Fesseha, and M. Mathewos, "Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Cow Milk and Milk Products," *The Scientific World Journal*, vol. 2021, no. 1, p. 4697445, 2021, doi: <https://doi.org/10.1155/2021/4697445>.
- [162] H. A. Dhameliya, S. N. Mesara, H. Mali, C. Shah, and R. B. Subramanian, "Biochemical and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria (LAB) Isolated from Fermented Pulses," *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, vol. 44, no. 5, pp. 1279-1286, 2020/10/01 2020, doi: 10.1007/s40995-020-00934-z.
- [163] Y. L. Aguirre-Garcia *et al.*, "Lactic Acid Fermentation in the Food Industry and Bio-Preservation of Food," *Fermentation*, vol. 10, no. 3, p. 168, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/10/3/168>.
- [164] M. S. Rahman, D. D. Emon, A. H. Nupur, M. A. R. Mazumder, A. Iqbal, and M. A. Alim, "Isolation and characterization of probiotic lactic acid bacteria from local yogurt and development of inulin-based synbiotic yogurt with the isolated bacteria," *Applied Food Research*, vol. 4, no. 2, p. 100457, 2024/12/01/ 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100457>.
- [165] Y. Zhang, Z. Song, and J. S. Schilling. *Evaluation of DNA Extraction Methods for Microbial Community Profiling in Deadwood Decomposition*. (2024). MicrobiologyOpen. [Online]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mbo3.70007>
- [166] T. Scientific. *Assessment of Nucleic Acid Purity*, Thermo Fisher Scientific, pp. 1,2.
- [167] S. Ghosh, "Metagenomic screening of cell wall hydrolases, their anti-fungal activities and potential role in wine fermentation," 2015.
- [168] S. I. Fujita, Y. Senda, S. Nakaguchi, and T. Hashimoto, "Multiplex PCR using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains," (in eng), *J Clin Microbiol*, vol. 39, no. 10, pp. 3617-22, Oct 2001, doi: 10.1128/jcm.39.10.3617-3622.2001.
- [169] M. B. S. Al-Shuhaib and H. O. Hashim, "Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis," *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, vol. 21, no. 1, p. 115, 2023/12/01/ 2023, doi: <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00587-6>.
- [170] Anonim. "Multiple sequence alignment." <http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/> (accessed 7.72025).
- [171] K. Ma and Q. Tu, "Random sampling associated with microbial profiling leads to overestimated stochasticity inference in community assembly," (in English), *Frontiers in Microbiology*, Original Research vol. Volume 13 - 2022, 2022-October-06 2022, doi: 10.3389/fmicb.2022.1011269.

- [172] P. K. Singh, S. Kathuria, K. Agarwal, S. N. Gaur, J. F. Meis, and A. Chowdhary, "Clinical Significance and Molecular Characterization of Nonsporulating Molds Isolated from the Respiratory Tracts of Bronchopulmonary Mycosis Patients with Special Reference to Basidiomycetes," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 51, no. 10, pp. 3331-3337, 2013, doi: doi:10.1128/jcm.01486-13.
- [173] A. Tzamourani, A. Evangelou, G. Ntourtoglou, G. Lytra, I. Paraskevopoulos, and M. Dimopoulou, "Effect of Non-*Saccharomyces* Species Monocultures on Alcoholic Fermentation Behavior and Aromatic Profile of Assyrtiko Wine," *Applied Sciences*, vol. 14, no. 4, p. 1522, 2024. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-3417/14/4/1522>.
- [174] S. Maicas and J. J. Mateo, "The Life of *Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* Yeasts in Drinking Wine," *Microorganisms*, vol. 11, no. 5, p. 1178, 2023. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/5/1178>.
- [175] E. B. Muyanli and R. Yilmaz, "RT-qPCR based quantitative analysis of ARO and ADH genes in *Saccharomyces cerevisiae* and *Metschnikowia pulcherrima* strains growth white grape juice," *Molecular Biology Reports*, vol. 51, no. 1, p. 547, 2024/04/20 2024, doi: 10.1007/s11033-024-09444-2.
- [176] T.-Y. Ting, W.-J. Lee, and H.-H. Goh, "Molecular Genetics and Probiotic Mechanisms of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*," *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2025/07/24 2025, doi: 10.1007/s12602-025-10634-y.
- [177] E. T. Adesemoye, A. I. Sanni, G. Spano, V. Capozzi, and M. Fragasso, "Lactic Acid Bacteria Diversity in Fermented Foods as Potential Bio-Resources Contributing to Alleviate Malnutrition in Developing Countries: Nigeria as a Case Study," *Fermentation*, vol. 11, no. 2, p. 103, 2025. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2311-5637/11/2/103>.
- [178] E. Kim, S.-M. Yang, B. Lim, S. H. Park, B. Rackerby, and H.-Y. Kim, "Design of PCR assays to specifically detect and identify 37 *Lactobacillus* species in a single 96 well plate," *BMC Microbiology*, vol. 20, no. 1, p. 96, 2020/04/15 2020, doi: 10.1186/s12866-020-01781-z.
- [179] L. A. Qvirist *et al.*, "Isolation, Identification and Characterization of Yeasts from Fermented Goat Milk of the Yaghnob Valley in Tajikistan," (in English), *Frontiers in Microbiology*, Original Research vol. 7, 2016-November-03 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01690.
- [180] A. J. Das, M. J. Das, T. Miyaji, and S. C. Deka, "Growth and metabolic characterization of four lactic acid bacteria species isolated from rice beer prepared in Assam, India," (in eng), *Access Microbiol*, vol. 1, no. 4, p. e000028, 2019, doi: 10.1099/acmi.0.000028.
- [181] K. Tamura, G. Stecher, and S. Kumar, "MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11," *Molecular biology and evolution*, vol. 38, no. 7, pp. 3022-3027, 2021.
- [182] K. B. Merseguel *et al.*, "Genetic diversity of medically important and emerging *Candida* species causing invasive infection," (in eng), *BMC Infect Dis*, vol. 15, p. 57, Feb 13 2015, doi: 10.1186/s12879-015-0793-3.
- [183] L. Carvalho, N. Fernandes, B. N. Silva, U. Gonzales-Barron, and V. Cadavez, "Molecular Identification and Phylogenetic Inference of Lactic Acid Bacteria Isolated from Goat's Raw Milk Cheese," *Biology and Life Sciences Forum*, vol. 26, no. 1, p. 39, 2023. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2673-9976/26/1/39>.

- [184] K. M. Martini, S. S. Boddu, I. Nemenman, and N. M. Vega, "Maximum likelihood estimators for colony-forming units," (in eng), *Microbiol Spectr*, vol. 12, no. 9, p. e0394623, Sep 3 2024, doi: 10.1128/spectrum.03946-23.
- [185] A. Gebeyehu, M. Taye, and R. Abebe, "Isolation, molecular detection and antimicrobial susceptibility profile of *Salmonella* from raw cow milk collected from dairy farms and households in southern Ethiopia," *BMC Microbiology*, vol. 22, no. 1, p. 84, 2022/03/31 2022, doi: 10.1186/s12866-022-02504-2.
- [186] D. G. Farfan Pajuelo, M. Carpio Mamani, G. J. Maraza Choque, D. M. Chachaque Callo, and C. J. Cáceda Quiroz, "Effect of Lyoprotective Agents on the Preservation of Survival of a *Bacillus cereus* Strain PBG in the Freeze-Drying Process," *Microorganisms*, vol. 11, no. 11, p. 2705, 2023. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/11/2705>.
- [187] N. Tyagi *et al.*, "The Impact of Formulation and Freeze Drying on the Properties and Performance of Freeze-Dried *Limosilactobacillus reuteri* R2LC," *Applied Microbiology*, vol. 3, no. 4, pp. 1370-1387doi: 10.3390/applmicrobiol3040092.
- [188] "Westerdijk FungalBio Diversity Institute." <https://wi.knaw.nl/> (accessed 6.7.2025).
- [189] Anonim. "ATCC, General Information." <https://www.atcc.org/> (accessed 2.7.2025).
- [190] "Technical Rules for Biological Agents (TRBA) - Alman Güvenlik Sınıflandırması." <https://www.baua.de/EN/Service/Technical-rules/TRBA/TRBA> (accessed 07.08.2025).
- [191] H. K. Al-Masree, "Extracting Entity Relationship Diagram (ERD) from relational database schema," *International Journal of Database Theory and Application*, vol. 8, no. 3, pp. 15-26, 2015.
- [192] F. Al-Hawari, "Software design patterns for data management features in web-based information systems," *Journal of King Saud University-Computer and Information Sciences*, vol. 34, no. 10, pp. 10028-10043, 2022.
- [193] "HUFCC WDCM Bilgi Ekranı." <https://ccinfo.wdcm.org/details?regnum=1325> (accessed 8.8.2025).

EKLER

EK 1.1 Maya Suşlarına ait DNA İzolasyon Kalite Verileri

Suş Kodu (HUF)	Nükleik Asit Miktarı (ng/µl)	A260/A280
16M1C0002	20,15	2,3
16M1C0003	30,75	1,98
16M1C0004	20,75	1,95
16M3H11104	20,55	2,3
17M3H21208	27,8	2,1
18M3B21008	30,2	1,92
18M3B21010	44,65	1,93
18M3C21001	30,65	2,0
18M3C21010	21,8	2,02
18M3D21001	20,45	2,0
18M3E21007	12,8	1,7
18M3F21012	20,2	2,2
18M3G21009	23,4	2,3
18M3J21008	21,8	2,3
18M3K21007	21,95	2,1
18M3L21008	23,95	2,2
22B1C0001	23,25	2,1
16M3A11002	23,65	2,0
16M3B11020	22,8	2,0
16M3B11023	24,15	2,0
16M3C11034	23,2	2,1
16M3D11049	23,1	1,95
16M3D11052	21,95	2,1
16M3G11089	22,55	2,0
17M3C21050	24,1	1,99
17M3C31064	23,25	2,00
17M3D31090	22,9	2,05
17M3E21115	29,65	1,88
17M3E22117	13,15	1,91
17M3F21123	2,2	2,1
17M3F21125	35,26	1,7
17M3F21127	27,6	1,98
17M3F31135	23,6	1,8
17M3G31152	21,95	2,1
17M3H21174	29,5	1,87
17M3H21175	22,15	1,88
17M3H22179	26,84	1,89
17M3H21200	22,6	2,01
17M3H21212	17,75	1,96
16M3B11016	23,85	2,02
17M3D32092	25,8	1,93
17M3E21110	23,25	2,2
17M3F21128	23,15	1,85
17M3H22218	23,45	2,1

16M2K10003	22,35	1,99
16M2K10009	33,9	1,98
16M2K10010	28,25	2,1
16M3A11003	22,5	2,0
17M3F31139	23,7	1,99
17M3F32141	29,35	1,7
17M3H21173	34,9	1,94
17M3A21001	38,5	1,83
17M3A32019	29,95	1,92
16M3A12012	28	2,01
17M3D31087	25,45	2,2
16M2K10011	44,15	1,88

EK 1.2 Bakteri Suşlarına ait DNA İzolasyon Kalite Verileri

Suş Kodu (HUF)	Nükleik Asit Miktarı (ng/µl)	A260/A280
19ZN1R1001	32,75	1,93
19ZN1R1002	23,35	1,99
18ZN4R1011	22,15	1,86
18ZN5R1018	22,3	2,0
19ZN1M1001	44,75	1,91
19ZN2M1012	40,3	1,92
19ZN2M1013	36,75	1,9
19ZN4M1027	30,6	1,89
19ZN6M1035	41,2	1,91
19ZN7M1039	34	1,93
19ZN7M1043	43,7	1,9
19ZN10M1058	30,35	1,9
18ZN5R2031	23,45	2,08
18ZN1M1002	24,6	1,91
22BDT2034	33,6	1,96
19ZN1R1013	26,95	1,75
18ZN2R1004	24,8	1,97
19ZN3R1008	24,1	1,94
18ZN9R2019	41,5	1,92
19ZN3R1010	29,75	1,81
19ZN5R1017	34,65	1,87

EK 1.3. – Maya Suşlarına ait Dizi Verileri

Suş Kodu Kodu (HUF)	1.Sekans Verisi	2.Sekans Verisi	ITS1-ITS4 primerleri ile yapılan Sanger Dizileme Sonuçları
16M1C0002	GAACGCCCATTTGCGCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTG AGGGTCATTTCCCTTTTCAAACCTTTTGGTTGGTAGGGAGTGATACTT TTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTT TTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAGTAC GGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTATACTGAG CGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAAAT GTTCTTAAAGTTGACCTCAAATCA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.67)
16M1C0003	GGGCCCCAGGGTAACAAACACAAACAATTTTATTATTTCATTAAT TTTTGTCAAAAACAAGAATTTTTGTAAGTGGAAATTTAAAAATATTA AAAACCTTTCAACAACGGATCTTTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAAC GCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCTGGAATC ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCAGGGGGC ATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTTTCAAACATTCTGTTTGGTAGT GAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTG GATGTTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTAT AATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTT TTT	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.05)
16M1C0004	CTTCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAAT TTTGAAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACT GGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAA GTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAAC GGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTATAGGACAATTAACCGTTTCAA TACAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTCTTTGGGCAT TCGAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTATCTA TTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGTAAGTGGAAATTTTA AAATATTAACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATG AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCTG GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCAGG GGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTA GTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGG ATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCA AGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTTATAC TGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAA CAATGTTCTTAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGA ACTTAAGCATATCATA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.88)
16M3H11104	TCGAGGTCAACTTTAAGAACATTGTTGCTAGACGCTCTCTTCTTAT CGATAACGTTCCAATACGCTCAGTATAAAAAAGATTAGCCGAGTTG	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

	GTAAAACCTAAAACGACCGTACTTTGCATTATACCTNCAAGCACGC AGAGAAAACCTCCTCTTTGTGAAAAAAAAAAAA		(%97.62)
22B1C0001	CCTTTCCGTAGGGTGACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAAT TTTGAAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTG GGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAAG TGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTCTTTCTTGCTATTCCAAACG GTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTATAGGACAATTAACCGTTTCAAT ACAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTCTTTGGGCATT CGAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTATCTAT TCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGTAACCTGGAAATTTA AAATATTAACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATG AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCGGT GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCAGG GGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTCTCTCTCAAACATTCTGTTGGTA GTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGCGCTTTTCATTGG ATGTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCA AGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTTATAC TGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAA CAATGTTCTTAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGA ACTTAAGCATATCAGTAA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.88)
18M3C21001	TTTGAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTG GGCAAGAAGACAAGAGATGGAAAAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAAG TGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTCTTTCTTGCTATTCCAAACG GTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTATAGGACAATTAACCGTTTCAA TACAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTCTTTGGGC ATTGAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTATCT ATTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGTAACCTGGAAATTTAAAA TATTAACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGA ACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCGGTGAAT CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCAGGGGGC ATGCCTGTTTGAGCGTCATTCTCTCAAACATTCTGTTGG	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.81)
18M3D21001	GGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTTATTTATTCATTAAAT TTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGTAACCTGGAAATTTAAAAATATTA AAAACCTTTCAACAACGGATCTTTTGGTTTTTCGCATCGATGAAGAACG CAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCGGTGAATCAT CGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCAGGGGGCATGC CTGTTTGAGCGTCATTCTTTTCAAACATTTTGTGTTGGTAGTGAGTGAT ACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGCGCTTTTCATTGGATGTTTTTTT TTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGT CGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTATACTGAGCGTATT GGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAATGTTCTTA AAGTTGACCTC	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.39)
18M3F21012	GTAACCTGGAAATTTTTAAATATTAACAACTTTCAACAACGGATCTTT TGGTTTTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGT GAATTGCAGAATTCGGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCCATTGCG	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.27)

	CCCCTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCTTTTC AAACATTTTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATT GCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTCTCTGCG TGCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTACCAACTGC GGCTAATCTTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAG AGAGCGTCTAGGGCGAACAATG		
18M3G21009	ATGGGAGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTA TAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTT TTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAG GCGAACAATGTTCTTAAAGTTGACCTCAAATCAGGTAGGA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%100)
18M3J21008	TCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTG CAGAATCCCGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCCCATTGCGCCCCTTG GTATTCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTTTCAAACAT TTTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCC TTTTCAATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGA GGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATC TTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGT CTAGGCGAACAATGTTCTTAAAGTTG	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.46)
18M3K21007	TTCCGTAGGGTGAACTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAATT TTGAAAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTG GGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAAG TGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTCTTTCTTGCTATTCCAAACGG TGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTATAGGACAATTAACCGTTTCAATA CAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTTCTTTGGGCATT GAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTATCTATT CATTAATTTTTGTCAAAAAACAAGAATTTTCGTAAGTGAATTTTAA AATATTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATG AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAAGATTCCTG GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCAGG GGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAACATTCTGTTGGTA GTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGG ATGTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCA AGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTTATAC TGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAA CAATGTTCTTAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGA ACTTAAGCATATCAATAA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.88)
18M3L21008	AACACAAACAATTTTATTTATTCATTAAATTTTGTCAAAAAACAAGAATT TTGTAAGTGGAAATTTTAAATATTTAAACCTTTCAACAACGGATTTT TGTTTTTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGT GAATTGCAGAATTCCGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCCATTGCG CCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTTTC AAACATTTTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATT GCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGT GCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGG	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.17)

	CTAATCTTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAAATGTTCTTAAAGTTGACCTCAAATC		
16M3D11049	CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAATTGAAAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAAGTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAACGGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTATAGGACAATTAACCGGTTCAATACAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTCTTTGGGCATTGAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTTATCTATTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGTAACCTGGAATTTTAAATATTA AAAA ACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCGGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTGGTATTCCAGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCAATTTCTCTCAAACATTCTGTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTTATAC TGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAAATGTTCTTAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGA ACTTAAGCATATCATA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%100)
16M3D11052	TTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAAGTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAACGGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTTATAGGACAATTAAAACCGTTTCAATACAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTTCTTTGGGCATTGAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACAACAATTTTATCTATTCAATTTTGTCAA AAACAAGAAATTTTCGTAACCTGGAATTTTAAATATTA AAAA ACTTTCAA CAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGC GATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCGGTGAATCATCGAATCTTTGA ACGCACATTGCGCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGC GTCATTTCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGA GTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTCCAAAGA GAGGTTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAA	AATTTTGAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTT TACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCTGC GCTTAAGTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTAT TCCAAACGGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTATAGGACAATTAAA ACCGTTTCAATACAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACT TTTTCTTTGGGCATTGAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACA CAACAATTTTATCTATTCAATTTTGTCAAAAACAAGAATT TTCGTAACCTGGAATTTTAAATATTA AAAA ACTTTCAACAACGGAT CTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACG TAATGTGAATTGCAGAATTCGGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA CATTGCGCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCA TTTCCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAG TTAACCTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAG AGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAA	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%100) (%100)
17M3F31135	CTTTTTTTTGGGCCATTGGGCCAATGGGGGCCAGGGGTAACAAACA CAAACAATTTTATTATTCAATTAATTTTGTCAAAAACAAGAATTTT GTAACCTGGAATTTTAAATATTA AAAA ACTTTCAACAACGGATCTTTG GTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGA ATTGCAGAATTCGGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCCCATTTGCGCC CCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCCTTTCAA ACAATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCT GGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGC TTGAGGTATAATGCAAGTGCGGTCTTATTAGGTTT	TCATTGGATGTTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTG AGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCT AATCTTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAG AGCGTCTAGGCGAACAAATGTTCTTA	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%98.35) (%100)
17M3H21200	GGCAAGTAGCATGAGAGCTTTTACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGG AGAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAAGTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTG	-	

	TAAGTTCTTTCTTGCTATTCCAAACGGTGAGAGATTCTGTGCTTTTG TTATAGGACAATTTAAACCGTTTCAATACAACACACTGTGGAGTTTCA TATCTTTGCAACTTTTCTTTGGGCATTTCGAGCAATCGGGGCCAGAG GTAACAAACACAAACAATTTTATCTATTCAATTTAAATTTTGTCAAAAA CAAGAATTTTCGTAACCTGGAAATTTTAAATATTTAAAACTTTCAACA ACGGATCTCTTGCTTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA TACGTAATGTGAATTGCAGAATCCGTGAATCATCGAATCTTTGAAC GCACATTGCGCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGT CATTTCTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGT TAAC TTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTCCAAAGAGA GGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCA		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.83)
17M3F21128	GGAGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAA TGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTA TACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCG AACGAATGTTGNCTTA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%98.73)
16M2K10003	TCCGTAGGGTGACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAATTTTG AAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTGGGC AAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCTGCGCTTAAGTGC GCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAACGGTGA GAGATTTCTGTGCTTTTGTATAGGACAATTTAAACCGTTTCAATACAAC ACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTCTTTGGGCATTTCGAGC AATCGGGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTTATCTATTCAAT AAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGTAACCTGGAAATTTTAAAT ATTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAG AACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCGGTGAA TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTGGTATTCCAGGGGG CATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTG AGTGATACTCTTTGGAGTTAACTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGAT GTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAG TACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTTTACTG AGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACA ATGTTCTTAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGAAC TTAAGCATATCATAA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%99.88)
16M3A11003	TTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAG TACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTATACTGA GCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACGA ATGTTCTTAAAGTT	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%98.76)
17M3F32141	CCCCTTGGTATTCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTTTC AAACCTTTTGTGGTAGTGAGTGATACTTTGGAGTTAACTTGAAATG CTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCT TGAGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTA ATCTTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGC GTCTAGGCGAACAATG	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%100)

17M3F21123	ND	GTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGTGAGGTATAATGCAAGTACGG TCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACG TTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAATG	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%100)
16M3B11016	CAATAACACAATTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCG CATCGATGAAGAAGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGAC CGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTCC CCAGGGCATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTT GGTCTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAATAAGTTTAGCC CCATTCTTCTCTC	TCAATAACACAATTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT CGCATCGATGAAGAAGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTT GCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGG GTATTTCCCGAGGGCATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACC TCCGGTTTGGTCTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAATAA GTTTTAGCCCCATTCTT	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%99.60) (%100)
16M3B11020	ACTCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAAATTGTTTTAC ACCCTTTTAGGCACAACTCTAAATCTTAACCGTCAATAACACAAT AAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAA CGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTG AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTTCCCGAGGGCATGCG TGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCTGCTTCGG CCTAATATCAACGGCGCTAGAATAAGTTTTAGCCCCATTCTTCTCCT CACCCTCGTAAGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGA GGA	TCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAAATTGTTTTAC ACCCTTTTAGGCACAACTTTAAATCTTAACCGTCAATAACACAAT TAAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAG AACGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATC ATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTTCCCGAGGGC ATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCTC GCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAATAAGTTTTAGCCCCATT CTTCTCCTCACCCTCGTAAGACTACCCGCTGAACCTAAGCAATCA ATAAGCGGAGGAA	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%99.47) (%99.21)
16M3B11023	TGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAAATATTTTTACACCCTTTTAGGC ACAACTTTAAATTTTAACCGTCAATAACACAATTAATAAACTTTCA ACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAAGCAGCGAATTG CGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACG CACATTGCGCCCCGGGGTATTTCCCGAGGGCATGCGTGGGTGAGCGAT ATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCTGCTTCGGCCTAATATCAAC GGCGCTAGAATAAGTTTTAGCCCCATTCTTTTCTCACCCTCGTAAG ACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGG	AACCGTCAATAACACAATTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTT GGTTCTCGCATCGATGAAGAAGCAGCGAATTGCGATACGTAATA TGACTTGCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC CCGGGTATTTCCCGAGGGCATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTC AAACCTCCGGTTTGGTCTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAG AATAAGTTTATGCCCCATTCTTTTCTCACCCTCGTAAGACTACC CGTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGA	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%98.10) (%99.00)
16M3C11034	CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAAATTGTTTTACAC CCTTTTAGGCACAACTCTAAATCTTAACCGTCAATAACTCAATTAA AAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAAGC CAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTAA CTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTTCCCGAGGGCATGCGTGG GTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCTGCTTCGGCCT AATATCAACGGCGCTAGAATAAGTTTTAGCCCCATTCTTTTCTCACC CCTCGTAAGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA A	CTGCGGAAGGATCATTAAAAATTGTTTTACACCCTTTTAGGCACAA ACTTTAAATCTTAACCGTCAATAACTCAATTAAAAAACTTTCAACA ACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAAGCAGCGAATTGC GATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACG CACATTGCGCCCCGGGGTATTTCCCGAGGGCATGCGTGGGTGAGCG ATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCTGCTTCGGCCTAATATC AACGGCGCTAGAATAAGTTTTAGCCCCATTCTTTTCTCACCCTC GTAAGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%98.68) (%98.63)
16M3G11089	ND	TCGTCAATAACACAATTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGT TCTCGCATCGATGAAGAAGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGA CTTGACAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG GGGTATTTCCCGAGGGCATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAA CCTCCGGTTTGGTCTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAAT AAGTTTAGCCCCAGCCTTTTCTCACCCTCGT	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%99.61)
17M3H21175	TTAATAAAAATTTCTAACAACCGGATCTCTTGGTTCTCGCATCCGATG AAGAAACGCAGCGGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTG AATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTTCCCGAG	TTCAATTACTCAATTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTC TCGCATCGATGAAGAAGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACT TGCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGG GTATTTCCCGAGGGCATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACC	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%97.37) (%99.54)

	GGCATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTC CTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAATAAGTTTAA	TCCGGTTTGGTCCTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAATAA GTTTAGCCCCATT	
17M3H21212	AAAAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAA CGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTG AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTCCCCAGGGCATGCG TGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCCTGCTTCGG CCTAATATCAACGGCGCTAGAATAAG	TCAATAACACAATTAACAACTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT CGCATCGATGAAGAACGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTT GCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGG GTATTCCCCAGGGCATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACC TCCGGTTTGGTCCTGCTTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAATAA GTTTTAGCCCC	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%100) (%100)
17M3E22117	CAATTAAAAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATG AAGAACGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAAT CATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTCCCCAGGGC ATGCGTGGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCCTGC TTCGGCCTAATATCAACGGCGCTAGAATAA	ND	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%100)
16M3A11002	AAACTTTACATTTTAATCTTCAAAAACACAATAAAAAAACTTTCA ACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA TTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTGAATCTTT GAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTCCCCAGGGCATGCGTGGG TGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCCTGCTTCGGC CTAATATCAACGGCGCTAGAATAAGTTTAGCCCCAAT	AAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAAC GCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATCATTGA ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGGTATTCCCCAGGGCATGCGT GGGTGAGCGATATTTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGTCCTGCTTCGGC CTAATATCAACGGCGCTAGAATAAGTTTAGCCCCCATTCCTTTCC TCACCCT	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%97.68) <i>Metschnikowia sinensis</i> <i>Metschnikowia chrysoperlae</i> <i>Metschnikowia pulcherrima</i> (%99.18)
17M3C31064	CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTTTGC CAGCGCTTAACCTGCGCGCGGAAATAAACCTTACACACAATGTTTTT GTTATTACAGGAACCTTTGCTTTGGCTTGTCTCTAGAAATAGAGTTGGG CCAAAGGTTTAACTAACTTCAATTTATTTGAATATTTTCTTATTGAA ATGTCATTTGTTGATTAAATCAAAAAATCTTCAAACTTTCAACAA CGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA TAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAAC GCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGT CATTCTCTCTCAAACCTTAGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGT CGAACTAGGCGTTTGGCTTGAATGTATCGGCATGAGTGGTACTAGAT TAGTGCTTCAGATTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAAT AGTCTGATGGCAAGTGTTTAGTAAGTATGGCTCGGCCTAACAACAA CAAACAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGGCTACCCGCTGAACCTTA AGCATATCAATAAGCGNNGGA	-	<i>Priceomyces carsonii</i> (%99.84)
17M3D31090	ATTTTTTTTTGGGCCCTTTGGGCCATTGGGGGCCAGGGGTAAACAA ACACAAACAATTTTATTTATTCATTAATTTTGTCAAAAACAAGA ATTTTGTAACTGGAAATTTTAAATATTAATAAACTTTCAACAACGG ATTTTT GGTTTTC	TTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAGATTGAATTATCATTGT TGCTCGAGTTCTTGTTTAGATCTTTTACAATAATGTGTATCTTTATTGA AGATGTGCGCTTAATTGCGCTGCTTCTTTAGAGTGTGCGAGTGAAAAGT AGTCTTGCTTGAATCTCAGTCAACGCTACACACATTGGAGTTTTTTTA CTTTAATTTAATCTTTCTGCTTTGAATCGAAAGGTTCAAGGCAAAAA ACAAACACAAACAATTTTATTTTATTATAATTTTAACTAAACCAA AATTCCTAACGGAAATTTTAAATAATTTTAACTTTCAACAACGGA TCTCTTGTTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAATTGCGATAAGT AATGTGAATTGCAGATACTCGTGAATCATTGAATTTTGAACGCACAT TGCGCCCTTGAGCATCTCAGGGGCATGCCTGTTTGAAGCGTCATTTC	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%95.97) <i>Hanseniaspora uvarum</i> (%100)

		TTCTCAAAGATAATTTATTATTTTTGGTTGTGGGCGATACTCAGGG TTAGCTTGAAATTGGAGACTGTTTCAGTCTTTTTTAATTCAACACTTA GCTTCTTTGGAGACGCTGTTCTCGCTGTGATGATTTATGGATTTATTC GTTTTACTTTACAAGGAAATGGTAACGTACCTTAGGCAAAGGGTTG CTTTAATATTCATCAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGATTACCCGC TGAACCTTAAGCATATCAATAA	
17M3E21110	TCTTCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGATTGAACGT CTGTCGAGCTTGCTCACAGGCACATCATATCCATAACACCTGTGCA CTTGTCGGATGGCTTAGTGAAGACCGCAAGGTTGGAACATATCCGTC TACTTTACATAACAATTCTGTAACAAATGTAGTCTTATTATAATAATA AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAAAACGC AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCAT CGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCAGGAGCATG CCTGTTTGAGTGTGATGAAAACCTCAACCTTAGATTGGTTAAAAACC TTTCTTTGGCTTGGATTTGGACGTTTGCCGATGATAAGTCGGCTCGTC TAAAAAGTAATAGCTGGATCTGTCTCGCGACATGTTTGACTTGGCGT AATAAGTATTTTCGCTAAGGACATCTTCGGATGGCCGCGTTGCAAGA CTAAAGACCGCTTTCTAATTCATTGATCTTCGGATTAATATTCTTGA CATCTGGCCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATA TCAATA AGGGGGAGG	-	<i>Naganishia uzbekistanensis</i> (%99.68)
17M3H22218	TCTTCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGATTGAACGTC TGTCGAGCTTGCTCACAGGCACATCATATCCATAACACCTGTGCACTT GTCGGATGGCTTAGTGAAGACCGCAAGGTTGGAACATATCCGCTCTACTT TACATAACAATTCTGTAACAAATATAGTCTTATTATAACATAATAAAAA CTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCG AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATC TTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTG AGTGTGATGAAAACCTCAACCTTAGATTGGTTAAACCTTTCTTTGGC TTGGATTTGGACGTTTGCCGATGATAAGTCGGCTCGTCTTAAAAAGTAA TAGCTGGATCTGTCTCGCGACATGGTTTGACTTGGCGTAATAAGTATTT CGCTAAGGACATCTTCGGATGGCCGCGTTGCAAGACTAAAGACCGCTT TCTAATCCATTGATCTTCGGATTAATATTCTTGACATCTGGCCTCAAAT CAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCCGGGAG GAA	-	<i>Naganishia uzbekistanensis</i> (%99.21)
17M3D31087	CCTTCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGATTGAACGT CTGTCGAGCTTGCTCACAGGCACATCATATCCATAACACCTGTGCA CTTGTCGGATGGCTTAGTGAAGACCGCAAGGTTGGAACATAT CCGCTCTACTTTACATAACAATTCTGTAACAAATGTAGTCTTATTATA ACATAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGAT GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTC AGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCC GAGGAGCATGCCTGTTGAGTGTGATGAAAACCTCAACCTTAGAT TGGTTAAAAACCTTTCTTTGGCTTGGATTTGGACGTTTGCCGATGA TAAGTCGGCTCGTCTTAAAAAGTAATAGCTGGATCTGTCTCGCGACA TGGTTGACTTGGCGTAATAAGTATTTTCGCTAAGGACATCTTCGGAT	-	<i>Naganishia uzbekistanensis</i> (%99.52)

	GGCCGCGTTGCAAGACTAAAGACCGCTTTCTAATCCATTGATCTT CGGATTAATATTCTTGACATCTGGCCTCAAATCAGGTAGGACTACC CGCTGAACCTTAAGCATATCAAT AGGCCGGGAGGAA			
18M3C21010	CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGATTGAACGTCTGT CGAGCTTGCTCACAGGCACATCATATCCATAAACACCTGTGCACTTGTC GGATGGCTTAGTGAAGACCGCAAGGTTGGAACATATCCGTCTACTTTAC ATAACAATTCTGTAACAAATGTAGTCTTATTATAACATAATAAACTT TCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA TGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT GAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGGAG TGTCATGAAAACCTCAACCTTAGATTGGTTAAAACCTTTCTTTGGCTT GGATTTGGACGTTTGCCGATGATAAGTCGGCTCGTCTTAAAAGTAATA GCTGGATCTGTCTCGCGACATGGTTTGACTTGGCGTAATAAGTATTT CGCTAAGGACATCTTCGGATGGCCGCGTTGCAAGACTAAAGACCGCTT TCTAATCCATTGATCTTCGGATTAATATTCTTGACATCTGGCCTCAAAT CAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAA GCGGAGGA	-	<i>Naganishia albidal</i> <i>Naganishia</i> <i>uzbekistanensis</i> (%100)	
17M3D32092	CCCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGATTGAACGTCT GTCGAGCTTGCTCACAGGCACATCATATCCATAAACACCTGTGCACTTG TCGGATGGCTTAGTGAAGACCGCAAGGTTGGAACATATCCGTCTACTTT ACATAACAATTCTGTAACAAATGTAGTCTTATTATAACATAATAAAAC TTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGA AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCT TTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGA GTGTCATGAAAACCTCAACCTTAGATTGGTTAAAACCTTTCTTTGGCT TGGATTTGGACGTTTGCCGATGATAAGTCGGCTCGTCTTAAAAGTAAT AGCTGGATCTGTCTCGCGACATGGTTTGACTTGGCGTAATAAGTATTTT GCTAAGGACATCTTCGGATGGCCGCGTTGCAAGACTAAAGACCGCTTT CTAATCCATTGATCTTCGGATTAATATTCTTGACATCTGGCCTCAAATC AGGTAGGACTACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAAT AAGGCCGAGG	-	<i>Naganishia albidal</i> <i>Naganishia</i> <i>uzbekistanensis</i> (%99.68)	
17M3C21050	CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTTGC CAGCGCTTAACTGCGCGGCGGAAATAAACCTTACACACAATGTTTTT GTTATTACAGGAACCTTTTGCTTTGGCTTGCTCTAGAAATAGAGTTGG CCAAAGGTTTAACTAACTTCAATTTATTTGAACATTTTCTTATTGAA ATGTCATTTGTTGATTAAATTCAAAAAATCTTCAAACTTTCAACAA CGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA TAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAAC GCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGT CATTTCTCTCTCAAACTTAGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGT CGAAGTACGGCGTTTGCTTGAAATGTATCGGCATGAGTGGTCTAGATT AGTGCTTCAGATTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAAT AGTCTGATGGCAAGTGTTTAGTAACTATGGCTCGGCCTAACAAACA CAAACAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGGCTACCCGCTGAACCTTA AGCATATCAATAAGCCGGAGGAA	TTCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTTG CCAGCGCTTAACTGCGCGGCGGAAATAAACCTTACACACAATGTTTTT GTTATTACAGGAACCTTTTGCTTTGGCTTGCTCTAGAAATAGAGTTGG GCCAAAGGTTTAACTAACTTCAATTTATTTGAACATTTTCTTATTG AAATGTCATTTGTTGATTAAATTCAAAAAATCTTCAAACTTTCAAC AACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG ATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAAC GCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTC ATTTCTCTCTCAAACTTAGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTC GAAGTACGGCGTTTGCTTGAAATGTATCGGCATGAGTGGTACTAGATT AGTGCTTCAGATTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAATA GTCTGATGGCAAGTGTTTAGTAACTATGGCTCGGCCTAACAAACA AACAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGGCTACCCGCTGAACCTTAAGC ATATCAATAAGCCGGAGGAA		<i>Priceomyces carsonii</i> (%99.68) (%100)
17M3F21127	AAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAG AACGCAGCGAATTGCGATACGTAATATGACTTGCAGACGTGAATC	TCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTTGCCAGCGC TTAACTGCGCGGCGGAAATAAACCTTACACACAATGTTTTTGTATTACAGGAA	<i>Metschnikowia</i> <i>pulcherrima</i>	

	ATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGGGTATTCCCCAGG GCATGCGTGGGTGAGCGATATTACTCTCAAACCTCCGGTTTGGT CCTGC	CTTTTGCTTTGGCTTGTCTCTAGAAATAGAGTTGGGCCAAAGGTTAACTAAC TTCAATTTATTTGAACTATTTTCTTATTGAAATGTCACCTTGTGATTAAATTC AAAAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTCGCATCGATGAAGA ACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGA ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTGAG CGTCATTCTCTCTCAAACCTTAGGGTTGGTATTGAGTGATACTTTAGTCGAA CTAGGCGTTTGCTTGAAATGTATCGGCATGAGTGGTACTAGATTAGTGCTTCAG ATTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAATAGTCTGATGGCAAGTGT TAGTAACATATGGCTCG	(%100) <i>Priceomyces carsonii</i> (%99.82)
17M3E21115	ND	TCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTTGGCAGCGCTTA ACTGCGCGGCGAAATAAACCTTACACACAATGTTTTTGTATTACAGGAACCTTTG CTTGGCTTGTCTCTAGAAATAGAGTTGGGCCAAAGGTTAACTAACTTCAATTTA TTTGAACATTTTTCTTATTGAAATGTCACCTTGTGATTAAATTCAAAAATCTTCA AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG CGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT GCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCTCTCAAACC TTAGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAACTAGGCGTTTGCTTGAAATGTA TCGGCATGAGTGGTACTAGATTAGTGCTTCAGATTTTCAATGTATTAGGTTTATCC AACTCGTTGAATAGTCTGATGGCAAGTGTTAGTAACTATGGCTCGGCCTAACAAAC AACAAACAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGGCTACCCGCTGAACCTTAAGCATATC AATAAGCCGGAGGAA	<i>Priceomyces carsonii</i> (%100)
17M3G31152	AAAAAGAATGCCGTAATGATCCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAA GGATCATTACAGTATTCTTTTTGCCAGCGCTTAACTGCGCGGCGA AATAAACCTTACACACAATGTTTTTGTATTACAGGAACCTTTTGC TTTGGCTTGTCTCTAGAAATAGAGTTGGGCCAAAGGTTAACTAAC TTCAATTTATTTGAACTATTTTCTTATTGAAATGTCACCTTGTGAT TAAATTCAAAAAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGT TCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATG AATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGC GCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCTC TCTCAAACCTTAGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAACT AGGCGTTTGCTTGAAATGTATCGGCATGAGTGGTACTAGATTAGTG CTTCAGATTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAATAGTCT GATGGCAAGTGTTAGTAACTATGGCTCGGCCTAACAAACAACAAA CAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGGCTACCCG CTGAACCTTAAGCATATCAATAAGNNNGAGGAA	ND	<i>Priceomyces carsonii</i> (%99.84)
17M3F31139	TCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAGATTGAATTATCATT GTTGCTCGAGTTCTTGTTTAGATCTTTTACAATAATGTGTATCTTTAT TGAAGATGTGCGCTTAATTGCGCTGCTTCTTAGAGTGTCGCAAGTGA AAGTAGTCTTGCTTGAATCTCAGTCAACGCTACACACATTGGAGTTT TTTACTTTAATTTAATTTCTTTCTGCTTTGAATCGAAAGGTTCAAGGCA AAAAACAAACACAAACAATTTTATTTTATTATAATTTTAACTA AACCAAAATTCCTAACGGAAATTTTAAAAATAATTTAACTTTTCA ACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAT TGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGATACTCGTGAATCATTGAATT	-	<i>Hanseniaspora uvarum</i> (%99.85)

	TTTGAACGCACATTGCGCCCTTGAGCATTCTCAGGGGCATGCCTG TTTGAGCGTCATTTCCTTCTCAAAAGATAATTTATTATTTTGGTT GTGGGCGATACTCAGGGTTAGCTTGAAATTGGAGACTGTTTCAGTCT TTTTTAATTCAACACTTAGCTTCTTTGGAGACGCTGTTCTCGCTGTGT GTATTTATGGATTTATTCGTTTACTTTACAAGGGAAATGGTAACGT ACCTTAGGCAA		
16M2K10009	TCTTCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATAGTATTCTATTG CCAGCGCTTAATTGCGCGGCGATAAACCTTACACACATTGTCTAGTT TTTTTGAACTTTGCTTTGGGTGGTGAGCCTGGCTTACTGCCCAAAGGT CTAAACACATTTTAAATGTTAAAACCTTAACCAATAGTCATGAAA ATTTTAAACAAAAATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTC TTGGTTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTATT GTGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGACATTGC ACCCTCTGGTATTCCAGAGGGTATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCT CTCAAACTTCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTGTCAAGGGTTAA CTTGAAATATTGACTTAGCAAGAGTGTACTAATAAGCAGTCTTTCTG AAATAATGTATTAGGTTCTTCCAACCTCGTTATATCAGCTAGGCAGGT TTAGAAGTATTTAGGCTCGGCTTAACAACAATAAACTAAAAGTTT GACCTCAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTTAAGCA	-	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> (%100)
16M2K10010	GCGGAAGGATCATTATAGTATTCTATTGCCAGCGCTTAATTGCGC GGCGATAAACCTTACACACATTGTCTAGTTTTTTGAACTTTGCTTT GGGTGGTGAGCCTGGCTTACTGCCCAAAGGTCTAAACACATTTTTT AATGTTAAAACCTTTAACCAATAGTCATGAAAATTTTAAACAAAA ATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTCGC AACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTATTGTGAATTGC AGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCACCTC TGGTATTCCAGAGGGTATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTCAA ACCTTCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTGTCAAGGGTTAACTTG AAATATTGACTTAGCAAGAGTGTACTAATAAGCAGTCTTTCTGAA ATAATGTATTAGGTTCTTCCAACCTCGTTATATCAGCTAGGCAGGT TTAGAAGTATTTAGGCTCGGCTTAACAACAATAAACTAAAAGTT TGACCTCAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTTAAGCATATCA ATAAGCCGGAGGA	-	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> (%100)
16M3A12012	CTTCCGTAAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAGTGAATTAACATG CTTGGTGTCTTCGCTTCGGCAAGGCCCTTGCTTAACTCACATCCCAACA CCTGTGAACGTGAAGGCGCATGACTAGGTTTCGCCAAGTCATCGTCTG CCCTTTTTAACAAACAATTAATGTAACAAACGTAGTCTTATTATAACCT AATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGCTCTCGCATCGATGAAGAA CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATTCAGTGAATC ATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCTTTGGTATTCCGAAGAGCAT GCCTGTTTGAGTGTGATGAAAATATCAACCTTGACTTGGGTTTGTGCT CTAGTCTCGGCTTGGAATTGGGTGCTTGCCGCTTAAACGAGCGGCTCA CCTTAAATGTATTAGCTGGATCTGTCTTTGAGACTTGGTTTGACTT GGCGTAATAAGTATTTTCGCTAAGGACATTCTTCGGAGTGGCCTCGTTT CTAGGACGCTTGTCCGCTTTC	-	<i>Solicoccozyma aerea</i> (%99.69)

	CAATACAAGTTCCACCTCGTGGACATGACTTTTTATTATCTGGCCTCAA ATCAGGTAGGACTACCCGC TGAACCTAAGCATATCAATA		
--	---	--	--

* “-“ ile belirtilenler rastgele örnelemeye dahil edilmediğini ifade etmektedir. “ND” ile ifade edilenler dizi analizinde yeterli sonuç elde edilemediğini ifade etmektedir.

EK 1.4. –Bakteri Suşlarına ait Dizi Verileri

Suş Kodu (HUF)	1.Sekans Verisi	2.Sekans verisi	27F-1492R primerleriyle yapılan Sanger dizileme sonuçları
19ZN1R1001	AGTCGAACGCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTG ATTTTGGTGCACACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTA ACCTGCCAGAAAGCGGGGACAAACATTTGGAACAGATGCTAATAC CGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAGATGGCTTC TCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGG GGTAATGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACT GATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAG GCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCA ACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGT TAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTAT TTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAT ACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTATTGGGCGTAAAGAGAGT GCAGGCGGTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGG AGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGAAGAGGGTAG TGGAAGTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAAC ACCAGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACT CGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCATG CCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGT GCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCA AGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGG AGCATGTGGTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCT TGACATCTTGCGCCAACCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTCGGGAAC GCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTAGCTCGTGTCTGTGAGAT GTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCC AGCATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGA GGAAGGTGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCTTATGACCTGGG	-	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> (% 99.93)

	CTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCG AGGGCAAGCAAATCTCTTAAACCGTTCTCAGTTCGGACTGCAGGC TGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCA GCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGT CACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTT TAGGAGGCCAG		
19ZN1R1013	ACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCA CAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAA GGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCA GAGTAAGTGTGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAGCCACG GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAG CGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTT TAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAAGTGATCGG AAACTGAAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAAGTCCATGT GTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACAGTGGCGA AGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCAT GGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAA ACGATGAATGCTAGGTGTT	-	<i>Lactaseibacillus rhamnosus</i> (%100)
18ZN4R1011	AGTTCTCGTTGATGATCGGTGCTTGCACCGAGATTCAACATGGAAC GAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCCTTAAG TGGGGGATAACATTTGGAACAGATGCTAATACCGCATAGATCC AAGAACCAGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGTATCGCTT TTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAAGTAATGGCTC ACCAAGCGCATGATACGTAGCCGAAGTGAAGGTTGATCGGCCAC ATTGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAG TAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC CGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTGG AGAAGAATGGTCGGCAGAGTAAGTGTGTCGGCGTGACGGTATCCA ACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA CGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGC GCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGA GGAAGCGCATCGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAC AGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAG AACACAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAG GCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG TCCATGCCGTAAACGATGAATGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCC CTTCAGTGCCCGAGCTACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACG ACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACA AGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGGAAGCAACGCAAGAACCTT ACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCT TCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGT CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATGAC TAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCA	-	<i>Lactaseibacillus paracasei</i> (%100)
18ZN5R1018	AACTTCCGTTAATTGATTATGACGTAAGTGTACTGATTGAGATTTA ACACGAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTG	-	

	CCCAGAAGTAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATAC CGTATAACAGAGAAAAACCGCATGGTTTTCTTTAAAAAGATGGCTCT GCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGGTGAG GTAAAGGCTCACCAAGGCAGTGATACGTAGCCGACCTGAG AGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTAC GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATG GAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTTCGGCTCGTAAAGCTCT GTTGTAAAGAAGAACGTGGGTAAGAGTAACTGTTTACCCAGTGAC GGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAG CGAGCGCAGGCGGTCTTTTAAGTCTAATGTGAAAGCCTTCGGCTCA ACCGAAGAAGTGCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAG GACAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGA AGAACACAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGCAACTGACGCTG AGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT CCATGCCGTAAACGATGATTACTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTT CAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCGCTGGGGAGTACGAC CGCAAGGTTGAAACTCAAAGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCG GTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAG GTCTTGACATCTTCTGACAGTTTAAGAGATTAGAGGTTCCCTTCGGG GACAGAATGACAGGTGGTGCATGG		<i>Pediococcus pentosaceus</i> (%99.90)
18ZN2R1004	TCGAACGAGCTTCCGTTGAATGACGTGCTTGCATGATTTCAACAAT GAAGCGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAATCTGCCC AGAAGCAGGGGATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGTAT AACAACAAAATCCGCATGGATTTGTTTGAAAGGTGGCTTCGGCTA TCACTTCTGGATGATCCCGCGGCGTATTAGTTAGTTGGTGAGGTA AAGGCCACCAAGACGATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTA ATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGG AGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGA GCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTTCGGCTCGTAAAACTCTGT TGTTAAAGAAGAACACCTTTGAGAGTAACTGTTCAAGGGTTGACGG TATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAA GCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTT AACCGGAGAAAGTGCATCGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAA GAGGACAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATAT ATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTAGTCTGTAAGTGA CGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACC CTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGT TTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGG GGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGA AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAG ACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTC AGCTCGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC CCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACT	-	<i>Levilactibacillus brevis</i> (%100)

19ZN10M1058	ACATGCAAGTTGAGCGCTGAAGGTTGGTACTTGTACCGACTGGATG AGCAGCGAACCGGTGAGTAAACGCGTGGGGAATCTGCCTTTGAGCGG GGGACAACATTTGGAACGAATGCTAATACCGCATAAAAACTTTAA ACACAAGTTTTAAGTTTGAAAGATGCAATTGCATCACTCAAAAGATG ATCCCGCGTTGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAGGCTCACCAGG CGATGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGAC TGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTT CGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCCGCTGAGTGAAG AAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGGTAGAGAAGAACGTTGGT GAGAGTGGAAAGCTCATCAAGTGACGGTAACACCCAGAAAGGGA CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTCCCAGC GTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGTGGTTATTA AGTCTGGTGTAAGGAGCAGTGGCTCAACCATTGTATGCATTGAAAA CTGGTAGACTTGAGTGCAGGAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAG CGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCGGTGGCGAAAGCG GCTCTCTGGCCTGTAACCTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGC AAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTG CTAGATGTAGGGAGCTATAAGTTCTCTGTATCGCAGCTAACGCAAT AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAG GAATTGACGGGGGCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC GAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATACTCGTGCTAT TCCTAGAGATAGGAAGTTCCTTCGGGACACGGGATACAGGTGGTGC ATGGTTGTCTGCTAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCA ACGAGCGCAACCCCTATTGTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTC TAACGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGT CAAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAAT GGATGGTACAACGAGTCGCGAGACAGTGATGTTTAGCTAATCTCTT AAAACCATTCCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGA AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATAC GTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGGGAGTTGGG AGTACCCGAAGTAGGTTGCCTAACCGCAAGGAGGGCGCTTCCTTA	-	%100 <i>Lactococcus lactis</i>
24N4K4001	GTGAGTAACACGTGGGTAACTACCCATCAGAGGGGGATAACA CTTGAAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCGCATG GCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCTGATGGATGG ACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAG GCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTG GGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGG GAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCG TGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAACTCTGTTGTAGAGAA GAACAAGGACGTTAGTAACTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACC AGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG TAGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGC AGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGG GAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGGCAGAAGAGGAGAG	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%100)

	TGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGA ACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGA GGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA GTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTCCG CCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGA GTACGACCGCAAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA GAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGA GCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTC GTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAG		
24N4K4002	TCCCGAGTGCCTGCACTCAATTGGAAAGAGGAGTGGCGGACGG GTGAGTAACACGTGGGTAACTACCCATCAGAGGGGGATAACA CTTGAAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCGCATG GCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACCC GCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCA CGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGAC TGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAAT CTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTG AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACA GGACGTTAGTAAGTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACAGAAA GCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGT GGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGG CGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGA GGGTCAATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGG AATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACAC CAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCT CGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC ACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCT TCAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTAC GACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC AAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCAAGAACCT TACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCC CTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTT	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%100)
24N4K4003	CGCTTCTTTCCTCCCGAGTGCTTGCCTCAATTGGAAAGAGGAG TGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTACCCATCAGAG GGGGATAACACTTGAAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTT ATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTG ATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGC TCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGG CCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCA GCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCA	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%99.90)

	ACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTT GTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAAGTGAACGTCCCGTGACGGT ATCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAA GCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAAGCCCCGGC TCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAG AAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT ATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGT GACGCTGAGGCTCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATA CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGG GTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCCT GGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGG GGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGC GAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTTAGAGATA GAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGG		
24N4K4004	GCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGG ATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCG CATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTTCGGGTGTGCTGATGGATGG ACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGC CACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACT GAGACACGCCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC GGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGA AGGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACG TTAGTAACTGAACGTCCCTGACGGTATCTAACCAGAAAAGCCACGG CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT GTCCGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGT CTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACT GGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGC GGTGAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGG CTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAAGCGTGGGGAGCA AACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGC TAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATT AAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAG GAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC GAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCAC TTTAGAGATAGAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTG CATGGTTGTCGTACGTCGTTGTCGTGAG	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%100)
24N4K4005	TGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCGCATGGCAT AAGAGTGAAAGGCGCTTTTCGGGTGTGCTGATGGATGGACCCGCGG TGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGC ATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACAC GGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATG GACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTC GGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAA	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%100)

	CTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTA CGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGA TTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGT GAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGA CTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAA TGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGG TCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGAT TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTT GGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTC CGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAAG CGAAGAA CCTTACCAGGTCTTGACATC		
24N4K4006	ACGCTTCTTTCTCCCGAGTGCTTGCACTCAATTGGAAAGAGGAGTG GCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTACCCATCAGAGGGGG ATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCG CATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTGCTGATGGATGG ACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGC CACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACT GAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT TCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCCGCTGAGTGAA GAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGA CGTTAGTAACTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCAC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG TTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAA GTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAA CTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAG CGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG GCTCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGC AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTG CTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATT AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAG GAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTT GAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCAC TCTA GAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGACA		<i>Enterococcus faecalis</i> (%100)
24ZN7M4007	TCGAACGCTTCTTTCTCCCGAGTGCTTGCACTCAATTGGAAAGA GGAGTGCGGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTACCCATCA GAGGGGGATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAG TTTATGCCGATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTGCTG TGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGG CTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGG CCACACTGGGACTGAGACACGCCCGAGACTCCTACGGGAGGCAG CAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAAC GCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTT AGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTGAACGTCCTCTGACGGTA TCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT	CGCTTCTTTCCTCCCGAGTGCTTGCACTCAATTGGAAAGAGGAGTG GCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTACCCATCAGAGGGGG ATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCC GCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTGCTGATGGAT GGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAA GGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA TCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGT GAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACA AGGACGTTAGTAACTGAACGTCCTCCCTGACGGTATCTAACCAGA AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGT	<i>Enterococcus faecalis</i> (%100) (%100)

	AATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGC GAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCA ACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGA GGAGAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATG GAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTGAC GCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCT GGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTT CCGCCCTTCAGTGTGTCAGCAAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGG GAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA GAACCTTACCAGGTC	GGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCG GTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGT CATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATT CCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGT GGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTGACGCTGAGGCTCGAAA GCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT AAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTG CAGCAAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGG TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGC ATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGA CATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCTTCGGGGACAAA GTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTG TGAGATGTT	
24N4K4008	AACACGTGGGTAACTACCCATCAGAGGGGGATAAACACTTGGA AACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCGCATGGCATAA GAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTGCTGATGGATGGACCCGCG GTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGA TGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGA GACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTT CGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGA AGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACA GGACGTTAGTAAGTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACCAGAAA GCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGT GGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGG CGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGA GGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGT GGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGA ACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTGACGCTGA GGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTA GTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCG CCCTTCAGTGCTGCAGCAAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGA GTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTGAAGCAACGCGAA GAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTTTAGAGATAG AGCTTTCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTC GTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTC	TCGAACGCTTCTTTCTCCCGAGTGCTTGCACTCAATTGGAAAAGAG GAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCCATCAGA GGGGGATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTT ATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCTGTA TGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTC ACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCAC ACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA GGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCG TGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAA GAACAAGGACGTTAGTAACTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACC AGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTA GGTGGCAAGCGTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAG GCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGA GGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGG AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACAC CAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTGACGCTGAGGCTC GAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG CCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGT GCTGCAGCAAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGC AAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTG GAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGT CTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCTTCGGGG ACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTA GATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTT GCCATCATTTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACC GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC TGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAGTCTGCTAGA CCGCGAGGTCATGCAAACTCTTAAAGCTTCTCTCAGTTCCGATTG CAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGC GGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACAC CGCCCGTCACACGAGAGTTGTAAACACCGAAGTCGGTGAGG TAACCTTTTGAGAGGCCAGCCG	<i>Enterococcus faecalis</i> (%99.70) (%99.93)

24N4K4009	TGCTCTGCACTCATTTGGAAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGT AACACGTGGGTAACTTACCCATCAGAGGGGGGATAACACTTGGAA ACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCGCATGGCATAAGA GTGAAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGC ATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCAT AGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACG GCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAAT GGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTT TTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAG TAACTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACCAAAAAGCCACGGCTA ACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTG TCCGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGT CTGATGTGAAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAA CTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGT AGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACAGTGCGCAAG GCGGCTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGG GAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGA TGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCA AACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCCGAAGGTTGA AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATG TGGTTAATTTGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACA TCCTTTGACCACTTTAGAGATAGAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAG TGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTACGCTCGTGTCTGAGATGTT GGGTAAAGTCCCGCAA	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%99.71)
24N4K4011	AGTCGAACGCTTCTTCTCCCGAGTGCTTGCACTCAATTGGAAAGA GGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTTACCCATCAG AGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTT ATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGAT GGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC CAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACT GGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGG AATCTTCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAG TGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACA AGGACGTAGTAACCTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACAGAAAAG CCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCA AGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTC TTAAGTCTGATGTGAAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTG GAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATG TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCA AGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAAGCGTGG GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT GAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAA CGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCCGAAGGTTGAAACT CAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT AATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTG ACCACTTAGAGATAGAGCTTTCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGT	TCGAACGCTTCTTCTCCCGAGTGCTTGCACTCAATTGGAAAGAG GAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTTACCCATCAGA GGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTT ATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGA TGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTC ACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCAC ACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA GGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCG TGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAA GAACAAGGACGTTAGTAACCTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAAC CAGAAAGCCACGCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT AGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCA GGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAAGCCCCGGCTCAACCGGGG AGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTG GAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACA CCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTC GAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG CCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGT CTGCAGCAAACGCAATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCCG AAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTG GAGCATGTGGTTAATTTGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGT CTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCTTCGGGG	<i>Enterococcus faecalis</i> (%99.91) (%100)

	GGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTAAAGTC CCGCAACGAGCGCAACCCCTATTGTTAGTTGCCATCATTTAGTTGGG CACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACGGAGGAAGGTGGGGAT GACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT ACAATGGGAAGTACAACGAGTCGCTAGACCGCGAGGTCATGCAAA TCTCTAAAGCTTCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTG CATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCCGGGTG AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAG TTTGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGC	ACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCG TGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTC	
24N4K4012	ACGCTTCTTTCTCCCGAGTGCTTGCACCTCAATTGGAAAGAGGAG TGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGG GGGATAACACTTGGAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTAT GCCGCATGGCATAAGAGTGAAAAGGCGCTTTTCGGGTGTCGCTGAT GGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTC ACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCA CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG TAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCC GCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGA GAAGAACAAGGACGTTAGTAACTGAACGTCCCTGACGGTATCT AACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT ACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGA GCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAAC CGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGG AGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG AGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGTACG CTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTG GTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTC CGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGG AGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGCGAAG AACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAG CTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTC AGCTCGTGCTGAGATGTTGGGT	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%99.90)
24N4K4013	GTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACAC TTGGAAACAGGTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGCCGCATGGC ATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACCC GCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCA CGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACT GAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT TCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGA AGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAA GGACGTTAGTAACTGAACGTCCCCTGACGGTATCTAACCAGAAA GCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTG GCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCG GTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACGGGGAGGG	-	<i>Enterococcus faecalis</i> (%100)

	TCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAA TTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACC AGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCG AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG		
24N41K4014	CGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGAAAAAGAGGAGT GGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCCATCAGAAGG GGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACAATCAAA ACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATG GATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC CAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACA TTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA GGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGC GTGAGTGAAAGAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGA AGAACAAGGATGAGAGTAACCTGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAAC CAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG TAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGC AGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGG GAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAG TGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGA ACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAG GCTCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGT CCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCC TTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTAC GACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACA AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCT TACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCC CCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTC GTGTCGTGAGATGTTGGGTTA	-	<i>Enterococcus faecium</i> (%100)
24N4K4015	CATGCAAGTCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCG GAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACT GCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCG TATAACAATCAAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCG GGTGTGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGA GGTAACGGCTACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGG GTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACG GGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGAC CGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAC TCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACCTGTTTCATCCCT TGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA GCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGG CGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCC CCGGCTCAACCGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGT GCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGT AGATATATGGAGGAACACCAAGTGCGCAAGGCGGCTCTCTGGTCT GTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT	-	<i>Enterococcus faecium</i> (%100)

	AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTT GGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACT CCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG ACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAAG CAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTT		
24N4K4016	TCGAACGCTTCTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAG GAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGA AGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACAATCAA AACC GCATGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGG ATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCA AGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGG GACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA TCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTG AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAG GATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACCGTATCTAACCGAAGGCC ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAG CGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTCTT AAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGA AACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGT AGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGG CGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGA GCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAG TGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCA TTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAA GGAATTGACGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCA CTCTAGAGATAGAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTG CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC AACGAGCGCAACCCCTTATTGTTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACT CTAGCAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACG TCA	-	<i>Enterococcus faecium</i> (%100)
19ZN1R1002	ACATGCAAGTCGAGCGAGCAGAACCAGCAGATTTACTTCGGTAATG ACGCTGGGGACGCGAGCGGCGGATGGGTGAGTAACACGTGGGGAA CCTGCCCCATAGTCTAGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACC GGATAATAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTATAAAAGGCGGCGTAA GCTGTCGCTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAG GTAACGGCTTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTG AACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAG GCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCA ACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGT TGGTGAAAGAAGGATAGAGGTAGTAAGTGGCCTTATTTGACGGTAA TCAACCAGAAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT ACGTAGTTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGC GCAGGCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGA GGAATTGCATCGGAAACTGTTTTCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGT	-	<i>Lactobacillus acidophilus/</i> <i>Lactobacillus gallinarum/</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> (%99.93)

	GGAATCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACA CCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTC GAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGC CGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGGAGGTTCCGCCTCTCAGTG CTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAA GGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGA GCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTT GACATCTAGTGCCATCCTAAGAGATTAGGAGTTCCTTCGGGGACG CTAAGACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATG TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTATTAGTTGCCAG CATTAAAGTTGGGCACTTTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGG AAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT ACACACGTGCTACAATGGGCAGTACAACGAGAAGCGAGCCTGCGA AGGCAAGCGAATCTCTGAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCT GCAACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAG AACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTC ACACCATGGAAGTCTGCAATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCTTCG GGAAGGAGGC		
19ZN3R1008	AGTCGAGCGAGCAGAACCAGCAGATTTACTTCGGTAATGACGCTGG GGACGCGAGCGCGGATGGGTGAGTAACACGTGGGGAACCTGCCC CATAGTCTAGGATACCACTTGGAACAGGTGCTAATACCGGATAAT AAAGCAGATCGCATGATCAGCTTATAAAAAGCGCGCGTAAGCTGTCG CTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGG CTTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGAACGGCC ACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGT AGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCG TGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTGGTGAAG AAGGATAGAGGTAGTAACCTGGCCTTTATTGACGGTAATCAACCAG AAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGT GGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGG AAGAATAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAATTGC ATCGGAACTGTTTTCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAACCTCC ATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGC GAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCAT GGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACG ATGAGTGCTAAGTGTTGGGAGGTTTCCGCCTCTCAGTGCTGCAGCTA ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAAC TCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTT TAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTAGT GCCATCCTAAGAGATTAGGAGTTCCCTTCGGGGACGCTAAGACAGG TGGTGCATGGCTGTCGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGT CCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTATTAGTTGCCAGCATTAAAGTTG GGCACTTTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG ATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG CTACAATGGGCAGTACAACGAGAAGCGAGCCTGCGAAGGCAAGCG AATCTCTGAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGAC		<i>Lactobacillus</i> <i>gallinarum</i> / <i>Lactobacillus</i> <i>helveticus</i> (99.93)

	TGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAACGCCGCGG TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCATGGA AGTCTGCAATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCTTCGGGAAGG		
19ZN5R1017	TGCAAGTCGAGCGAGCAGAAACCAGCAGATTTACTTCGGTAATGACG CTGGGGACGCGAGCGGCGGATGGGTGAGTAACACGTGGGGAACT GCCCCATAGTCTAGGATACCACTTGAAACAGGTGCTAATACCGGA TAATAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTATAAAAGGCGGCGTAAGCT GTCGCTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTA ACGGCTTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGAAC GGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCA GCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACG CCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTGG TGAAGAAGGATAGAGGTAGTAACCTGGCCTTTATTTGACGGTAATCA ACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG TAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCA GGCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGA ATTGCATCGGAAACTGTTTTCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA ACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCA GTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAA AGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGT AAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGGAGGTTTTCCGCCTCTCAGTGCTG CAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGT TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCA TGTGGTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGAC ATCTAGTGCCATCCTAAGAGATTAGGAGTTCCCTTCGGGGACGCTA AGACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGAGATGTTG GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTATTAGTTGCCAGCA TTAAGTTGGGCACTCTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAA GGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTAC ACACGTGCTACAATGGGCAGTACAACGAGAAGCGAGCCTGCGAAG GCAAGCGAATCTCTGAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGC AACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAA CGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCGCCCGTCAC ACCATGGAAGTCTGCAATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCTTCGGG AAGGA	-	<i>Lactobacillus gallinarum / Lactobacillus helveticus (% 100)</i>
18ZN3R2029	GCGGAGCGAGCAGAAACCAGCAGATTTACTTCGGTAATGACGCTGGG GACGCGAGCGGCGGATGGGTGAGTAACACGTGGGGAACTGCCCC ATAGTCTAGGATACCACTTGAAACAGGTGCTAATACCGGATAATA AAGCAGATCGCATGATCAGCTTATAAAAGGCGGCGTAAGCTGTCGC TATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGC TTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGAACGGCCA CATTTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTA GGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGT GAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTGGTGAAGA AGGATAGAGGTAGTAACCTGGCCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGA	-	<i>Lactobacillus gallinarum / Lactobacillus helveticus (% 99.93)</i>

AAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTG GCAAGCGTTGTCCGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGA AGAATAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAATTGCA TCGGAAACTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGAGGAGAGTGGAACCTCA TGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCG AAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATG GGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGA TGAGTGCTAAGTGTTGGGAGGTTTCCGCCTCTCAGTGCTGCAGCTAA CGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACT CAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT AATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCTAGTG CCATCCTAAGAGATTAGGAGTTCCCTTCGGGGACGCTAAGACAGGT GGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTC CCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGG GCACTTTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGA TGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT ACAATGGGCAGTACAACGAGAAGCGAGCCTGCGAAGGCAAGCGAA TCTCTGAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTG CACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAACGCCGCGGTG AATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCATGGAAG TCTGCAATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCTTCGGGAAGG		
--	--	--

* “-“ ile belirtilenler rastgele örneklemeye dahil edilmediğini ifade etmektedir.

EK 1.5. – Maya Suşları Filogenetik Analiz Ham Veri Dosyası

((((((((((((Saccharomyces_cerevisiae_22B1C0001_PV819398:0.00000000,Saccharomyces_cerevisiae_CBS_1171_NR_111007:0.00002850)0.5880:0.00001781,Saccharomyces_cerevisiae_16M2K10003_PV819402:0.00000000)0.5380:0.00001188,Saccharomyces_cerevisiae_16M3D11049_PV819399:0.00000000)0.4740:0.00000891,Saccharomyces_cerevisiae_18M3K21007_PV819395:0.00000000)0.4300:0.00000891,Saccharomyces_cerevisiae_16M1C0004_PV819393:0.00000000)0.6480:0.00108546,Saccharomyces_cerevisiae_17M3H21200_PV819401:0.00000000)0.2600:0.00116715,Saccharomyces_cerevisiae_16M3D11052_PV819400:0.00000000)0.5670:0.00652314,(Saccharomyces_cerevisiae_18M3D21001_PV819396:0.00116398,(Saccharomyces_cerevisiae_16M1C0003_PV819404:0.00025143,Saccharomyces_cerevisiae_17M3F31135_PV819407:0.02052821)0.5370:0.00458628,(Saccharomyces_cerevisiae_18M3J21008_PV819406:0.00000000,(Saccharomyces_cerevisiae_18M3L21008_PV819397:0.00000000,(Saccharomyces_cerevisiae_17M3F32141_PV819408:0.02981819,Saccharomyces_cerevisiae_16M1C0002_PV819403:0.00000000)0.9020:0.00629486)0.5480:0.00365096)0.4320:0.00416343)0.1220:0.00253302)0.0800:0.00275002)0.4700:0.00766538,Saccharomyces_cerevisiae_18M3F21012_PV819405:0.00000000)0.9780:0.06238899,Saccharomyces_cerevisiae_18M3C21001_PV819394:0.00000000)0.9970:0.12022709,(Hanseniaspora_uvarum_17M3F31139_PV819425:0.00000000,Hanseniaspora_uvarum_CBS_314_NR_130660:0.00245345)1.0000:0.26584857)0.9580:0.07837974,(((Wickerhamomyces_anomalus_16M2K10009_PV819423:0.00000000,Wickerhamomyces_anomalus_16M2K10010_PV819424:0.00000000)0.9040:0.01263837,Wickerhamomyces_anomalus_CP21_PP414202:0.04381950)1.0000:0.18477234,Candida_albicans_CBS_562_NR_125332:0.26853838)0.6430:0.03770637,(Debaryomyces_hansenii_JCM_1990_NR_120016:0.07279341,(Priceomyces_carsonii_17M3F21127_PV819421:0.00000000,(Priceomyces_carsonii_CBS_5463_KY104667:0.00000000,(Priceomyces_carsonii_17M3C21050_PV819420:0.00000000,Priceomyces_carsonii_17M3E21115_PV819422:0.00000000)0.5900:0.00207637)0.6740:0.00273240)0.9950:0.04467777)1.0000:0.10453511)0.7860:0.05663394)0.8650:0.09209711,Metschnikowia_pulcherrima_17M3E22117_PV819416:0.00000000)0.3230:0.01165212,(Metschnikowia_pulcherrima_17M3H21175_PV819409:0.00000000,(Metschnikowia_pulcherrima_16M3B11016_PV819410:0.00000000,(Metschnikowia_pulcherrima_16M3B11023_PV819412:0.00000000,(Metschnikowia_pulcherrima_16M3G11089_PV819414:0.01132055,(Metschnikowia_pulcherrima_7G16B1_PQ114452:0.00000000,(Metschnikowia_pulcherrima_16M3B11020_PV819411:0.00259799,Metschnikowia_pulcherrima_16M3C11034_PV819413:0.00386929)0.9690:0.02386065)0.9210:0.03358457)0.5360:0.02290236)0.6440:0.01665100)0.7000:0.02164879)0.7650:0.03756422)0.5880:0.02959325,(Solicoccozyma_aeria_16M3A12012_PV819426:0.00158012,Solicoccozyma_aeria_RUB027_JN942233:0.00050975)1.0000:0.19589176,(Naganishia_uzbekistanensis_MAB1_PP992043:0.00000000,(Naganishia_uzbekistanensis_17M3E21110_PV819417:0.00000000,(Naganishia_uzbekistanensis_17M3D31087_PV819419:0.00000000,Naganishia_uzbekistanensis_17M3H22218_PV819418:0.00456677)0.9870:0.00125083)0.9870:0.01672225)1.0000:0.31615991);

EK 1.6 - Bakteri Suşları Filogenetik Analiz Ham Veri Dosyası

((((((((((((Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4002_PV819462:0.00000000,Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4003_PV819463:0.00000982)0.5570:0.00001798,Enterococcus_faecalis_HUF24ZN7M4007_PV819467:0.00000000)0.6210:0.00011250,Enterococcus_faecalis_JCM_5803_NR_040789:0.00000000)0.3730:0.00027177,(Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4011_PV819470:0.00000000,(Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4006_PV819466:0.00002869,Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4012_PV819471:0.00000000)0.6190:0.00002117)0.6210:0.00065808)0.5760:0.00053826,Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4013_PV819472:0.00000000)0.5890:0.00135237,Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4004_PV819464:0.00000000)0.1830:0.00025126,(Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4009_PV819469:0.00287677,Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4008_PV819468:0.00017512)0.5700:0.00136608)0.3830:0.00189633,Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4001_PV819461:0.00000000)0.9770:0.00866381,Enterococcus_faecalis_HUF24N4K4005_PV819465:0.00000000)0.9980:0.01954016,(Enterococcus_faecium_LMG_11423_NR_042054:0.00153610,(Enterococcus_faecium_HUF24N4K4016_PV819475:0.00000000,(Enterococcus_faecium_HUF24N4K4014_PV819473:0.00022843,Enterococcus_faecium_HUF24N4K4015_PV819474:0.00000000)0.6490:0.00028003)0.6880:0.00033781)0.9890:0.01021340)0.1...,Streptococcus_thermophilus_ATCC_19258_NR_042778:0.05862856,(Lactococcus_lactis_HUF19ZN10M1058_PV819458:0.00000000,Lactococcus_lactis_NCDO_604_NR_040955:0.00000000)1.0000:0.06036073)0.9940:0.05479611)0.61

90:0.02299262,((Levilactobacillus_brevis_HUF18ZN2R1004_PV819460:0.00253735,Levilactobacillus_brevis_ATCC_14869:0.00000000)1.0000:0.02675311,(Pediococcus_pentosaceus_HUF18ZN5R1018_PV819456:0.00666313,Pediococcus_pentosaceus_DSM_20336_NR_042058:0.00000000)1.0000:0.04251074)0.9530:0.01820960)0.2370:0.00349917,(Lactocaseibacillus_rhamnosus_HUF19ZN1R1013_PV819459:0.00000000,(Lactocaseibacillus_rhamnosus_14681_MW454069:0.00860800,(Lactocaseibacillus_paracasei_HUF18ZN4R1011_PV819455:0.00000000,Lactocaseibacillus_paracasei_strain_ASO_46_Benha_MZ93_0467:0.00108487)0.9990:0.01498859)0.7150:0.00426996)0.9750:0.03384414)0.2820:0.00811451,(Limosilactobacillus_fermentum_HUF19ZN1R1001_PV819457:0.00350879,Limosilactobacillus_fermentum_AK14_PV592661:0.00396289)1.0000:0.05832835,Bifidobacterium_animalis_subsp._lactis_P2N1_KU82_1112:0.30167582);

EK 1.7 – SNP P-Matrisinin Çizimine Ait Örnek Python Kodu

```
import matplotlib
matplotlib.use("Agg")

import matplotlib.pyplot as plt
import pandas as pd
import numpy as np
# Suş etiketleri (kısaltılmış)
labels = [
    "17M3H21175", "16M3B11016", "16M3B11020", "16M3B11023",
    "16M3C11034", "16M3G11089", "17M3H21212", "17M3E22117"
]
# Alt üçgen (lower triangle) p-mesafe değerleri
lower_vals = [
    [],
    [0.0038916084],
    [0.0126050420, 0.0082191731],
    [0.0126050420, 0.0000000000, 0.0238365494],
    [0.0083565460, 0.0082191731, 0.0053144376, 0.0238365494],
    [0.0169735125, 0.0041208791, 0.0156453716, 0.0278145695, 0.0156453716],
    [0.0000000000, 0.0000000000, 0.0000000000, 0.0000000000, 0.0000000000,
    0.0000000000],
    [0.0000000000, 0.0000000000, 0.0000000000, 0.0000000000, 0.0000000000,
    0.0000000000, 0.0000000000]
]

# Simetrik matris oluşturma
n = len(labels)
dist_matrix = np.zeros((n, n))
for i in range(n):
    for j in range(i):
        dist_matrix[i, j] = lower_vals[i][j]
        dist_matrix[j, i] = dist_matrix[i, j]
df = pd.DataFrame(dist_matrix, index=labels, columns=labels)

# Isı haritası
fig, ax = plt.subplots(figsize=(8, 6))
cax = ax.imshow(df.values, aspect='auto', cmap='plasma')
# Etiketler
ax.set_xticks(range(n))
ax.set_yticks(range(n))
ax.set_xticklabels(labels, rotation=45, ha='right')
ax.set_yticklabels(labels)

# Hücre içi sayılar
for i in range(n):
```

```

for j in range(n):
    val = df.values[i, j]
    color = 'white' if val > 0.02 else 'black'
    ax.text(j, i, f"{val:.3f}", ha='center', va='center',
            color=color, fontsize=8)

fig.colorbar(cax, label='p-mesafe')
ax.set_title('M. pulcherrima Suşları Arası SNP p-Mesafesi')
plt.tight_layout()
plt.savefig("mpulcherrima_p_mesafe_heatmap.png", dpi=300)

```

EK 1.8 – DNA Barkod Görseli Çizimine Ait Örnek Python Kodu

```

import matplotlib
matplotlib.use('Agg')

import matplotlib.pyplot as plt

sequence = (
'CGCTTCTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACG"GGTGAGTA
ACACGTGGGTAACTGCCATCAGAAGGGGATAACACTTGGAAC"AGGTGCTAATACCGTA
TAACAATCAAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCG"CTTTCGGGTGTGCTGATGGATGG
ACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGG"TAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCG
ACCTGAGAGGGTGATCGGCCA"CATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGC
AGCAGTAGGGAATC"TTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAA
GAAGGTT"TTCCGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTT"C
ATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC"CGCGGTAAT
ACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGA"GCGCAGGCGGTTTCTTA
AGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGG"GTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAG
TGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCATGT"GTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAA
CACCAGTGGCGAAGGCGGCTC"TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGA
GCAAACAGGATTA"GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAG
GGTTT"CCGCCCTTCAAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGA"CCG
CAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGC"ATGTGGTTTATT
CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTT')
# Renk eşlemesi
color_map = {
    'A': (1.0, 0.0, 0.0), # Kırmızı
    'T': (0.0, 0.0, 1.0), # Mavi
    'G': (0.0, 0.6, 0.0), # Yeşil
    'C': (0.5, 0.0, 0.5), # Mor
    'N': (0.0, 0.0, 0.0) # Siyah
}

# Görsel boyutunu ayarla
fig, ax = plt.subplots(figsize=(len(sequence) / 15, 1))
# Her bazı çiz
for i, base in enumerate(sequence.upper()):
    ax.bar(i, 1, color=color_map.get(base, 'black'), edgecolor='none', width=1)
# Eksenleri kapat
ax.axis('off')
plt.tight_layout()
# PNG olarak kaydet
plt.savefig("FEACIUMBARKOD.png", dpi=300)
plt.close()

```

EK 2. Web Sitesi Hazırlanmasında Kullanılan Kodlama Altyapısı

EK 2.1. footer.php

```
<footer>
  <p>&copy; 2025 Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection - All Rights
  Reserved</p>
  <p>Hacettepe University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering</p>
  <p>
    <a href="contact.php"><i class="fas fa-envelope"></i> Contact Us</a>
    <a href="location.php"><i class="fas fa-map-marker-alt"></i> Location</a>
  </p>
</footer>
</body>
</html>
```

EK 2.2. nav.php

```
<!-- nav.php -->
<?php
?>
<nav> <ul><li>
  <a href="index.php"><i class="fas fa-home"></i> Home</a>
</li> <li>
  <a href="#"><i class="fas fa-info-circle"></i> About</a>
</li>
  <ul>
    <li><a href="about.php">About Us</a></li>
    <li><a href="staff.php">Culture Collection Team</a></li>
    <li>
      <a href="#">Network</a>
      <ul> <li>
        <a href="https://food.hacettepe.edu.tr/en" target="_blank">
          HU Food Engineering
        </a>
      </li> <li>
        <a href="https://foodomicslab.hacettepe.edu.tr/en" target="_blank">
          FoodOmics Laboratory
        </a> </li> <li>
        <a href="https://foodbiotech.hacettepe.edu.tr/en" target="_blank">
          IFBBC
        </a> </li> </ul>
      </li>
    </ul>
    <li><a href="#"><i class="fas fa-database"></i> Collection & Databases</a>
    <ul>
      <li>
        <a href="yeast-collection.php">Yeast Collection</a>
        <a href="bacteria-collection.php">Lactic Acid Bacteria Collection</a>
      </li>
    </ul>
    <li><a href="bioinformatics.php"><i class="fas fa-dna"></i> Bioinformatics</a>
  </li>
  <li>
    <a href="#"><i class="fas fa-flask"></i> Facilities</a>
    <ul>
      <li><a href="identification.php">Identification</a></li>
      <li><a href="services.php">Services</a></li>
      <li><a href="contract-research.php">Contract Research</a></li>
    </ul>
  </li>
</ul>
```

```

        </ul>
        </li>
        <li>
            <a href="#"><i class="fas fa-book"></i> Publications</a>
            <ul>
                <li><a href="publications.php">Publications</a></li>
                <li><a href="presentations.php">Presentations</a></li>
                <li><a href="thesis.php">Thesis</a></li>
            </ul>
        </li>
        <li>
            <a href="#"><i class="fas fa-envelope"></i> Contact</a>
            <ul>
                <li><a href="contact.php">Contact</a></li>
                <li><a href="location.php">Location</a></li>
            </ul>
        </li>
    </ul>
</nav>

```

EK 2.3. header.php

```

<?php
/* header.php */

if (basename($_SERVER['SCRIPT_FILENAME']) === basename(__FILE__)) {
    header('X-Robots-Tag: noindex, nofollow, noarchive');
    header('HTTP/1.1 403 Forbidden');
    exit;
}
?>
<!DOCTYPE html>
<html lang="en">
<head>
    <meta charset="UTF-8">
    <meta name="viewport" content="width=device-width, initial-scale=1.0">

    <!-- ===== SEO ===== -->
    <title>
        <?= isset($pageTitle) ? htmlspecialchars($pageTitle, ENT_QUOTES, 'UTF-8') : 'HUFCC &ndash; Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection' ; ?>
    </title>

```

```

<?php
// Default meta description; can be overridden by $metaDescription
$defaultMetaDesc = 'HUFCC – Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection. A
laboratory-scale microbial culture collection supporting research, biotechnology, and education.';
$desc = isset($metaDescription) && $metaDescription !== " ? $metaDescription : $defaultMetaDesc;

// Dynamic canonical (HTTP/HTTPS + host + path)
$scheme = (!empty($_SERVER['HTTPS']) && $_SERVER['HTTPS'] !== 'off') ? 'https' : 'http';
$canonical = $scheme . '://' . $_SERVER['HTTP_HOST'] . parse_url($_SERVER['REQUEST_URI'],
PHP_URL_PATH);
?>
<meta name="description" content="<?= htmlspecialchars($desc, ENT_QUOTES, 'UTF-8'); ?>" />
<link rel="canonical" href="<?= htmlspecialchars($canonical, ENT_QUOTES, 'UTF-8'); ?>" />

<!-- Open Graph -->
<meta property="og:title" content="<?= isset($pageTitle) && $pageTitle !== " ?
htmlspecialchars($pageTitle) | HUFCC – Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection',
ENT_QUOTES, 'UTF-8') : 'HUFCC – Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection';
?>" />
<meta property="og:description" content="<?= htmlspecialchars($desc, ENT_QUOTES, 'UTF-8'); ?>" />
<meta property="og:url" content="<?= htmlspecialchars($canonical, ENT_QUOTES, 'UTF-8'); ?>" />
<meta property="og:type" content="website" />
<!-- ===== /SEO ===== -->

<!-- Fonts & Icons -->
<link
href="https://fonts.googleapis.com/css2?family=Poppins:wght@300;400;500;600;700;800&display=swa
p" rel="stylesheet">
<link rel="stylesheet" href="https://cdnjs.cloudflare.com/ajax/libs/font-awesome/6.0.0/css/all.min.css">

<!-- Project main stylesheet -->
<link rel="stylesheet" href="/style.css">

<!-- Project main stylesheet -->
<link rel="stylesheet" href="/style.css">

<!-- Header consistency patch (load LAST) -->
<style>
/* ===== HEADER (fix gradient) ===== */
header.site-header {
background-color:#003a73 !important;
background-image: linear-gradient(135deg,#004080 0%, #001f40 100%) !important;
color:#fff;
border-bottom:1px solid rgba(255,255,255,.08); }
header.site-header .hdr-wrap {
display:flex; align-items:center; gap:16px; padding:16px 24px; }
header.site-header .logo {
height:84px; width:auto; display:block; flex:0 0 auto;}
header.site-header :is(div,p) { margin:0; }
header.site-header .brand .uni {
font-family: 'Interstate', sans-serif;
font-weight: 900; /* Black */
font-size: 20pt;}
header.site-header .brand .faculty {
font-family: 'Interstate', sans-serif;
font-weight: 700; /* Bold */
font-size: 18pt;}
header.site-header .brand .dept {
font-family: 'Interstate', sans-serif;
font-weight: 400; /* Regular */
font-size: 13.5pt;}
header.site-header .brand .lab {
font-family: 'Interstate', sans-serif;
font-weight: 300; /* Light */
font-size: 12.5pt;}

```

```

.site-header + nav, .site-header + .menu-bar { margin-top:0; }
</style>
</head>
<body>
<!-- ===== HEADER ===== -->
<header class="site-header">
  <div class="hdr-wrap">
    
      <div class="uni">HACETTEPE UNIVERSITY</div>
      <div class="faculty">FACULTY OF ENGINEERING</div>
      <div class="dept">DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING</div>
      <div class="lab">FoodOmics Laboratory Culture Collection</div>
    </div>
  </div>
</header>
<!-- ===== -->
<?php /* Optional: include navigation file here: include 'nav.php'; */ ?>

```

EK 2.4. bacteria-collection.php

```

<?php /* bacteria-collection.php — LAB (id ≥ 60) */ ?>
<!DOCTYPE html>
<html lang="tr">
<head>
  <meta charset="UTF-8" />
  <meta name="viewport" content="width=device-width, initial-scale=1" />
  <title>Lactic Acid Bacteria Search</title>

  <!-- 1) Frameworkler (HER ZAMAN ÖNCE) -->
  <link href="https://cdn.jsdelivr.net/npm/bootstrap@5.3.0/dist/css/bootstrap.min.css" rel="stylesheet" />
  <link rel="stylesheet"
    href="https://cdnjs.cloudflare.com/ajax/libs/font-awesome/6.5.0/css/all.min.css"
    crossorigin="anonymous" referrerpolicy="no-referrer" />

  <!-- 2) Proje stylesheet'i (EN SON) -->
  <link rel="stylesheet" href="yeaststyle.css" />

<style>
  html, body { height: 100%; margin: 0; }
  body { min-height: 100vh; display: flex; flex-direction: column; }
  main { flex: 1 0 auto; }
  footer { flex-shrink: 0; }

  header { background: linear-gradient(135deg, #004080 0%, #001f40 100%); color: #fff; }
  header .header-text { display: flex; flex-direction: column; }
  header .header-text h1,
  header .header-text h2,
  header .header-text h3 {
    margin: 0; line-height: 1.15; color: #fff !important; display: block;
  }

  .search-title { font-size: 1.75rem; font-weight: 600; color: #004085; }
  .search-underline { width: 60px; height: 4px; background: #FFD500; margin: 0 auto 1rem; }

  .modal { display: none; position: fixed; inset: 0; z-index: 1050; background: rgba(0,0,0,.5); }
  .modal-box { background: #fff; border-radius: 8px; max-width: 640px; width: 92%; margin: 0 auto;
  position: relative; top: 50%; transform: translateY(-50%); padding: 20px; }

```

```

.close { position: absolute; top: 8px; right: 12px; font-size: 28px; font-weight: 700; color: #888;
cursor: pointer; }
.close:hover{ color: #000; }
#searchResults:empty { display: none; }
</style>
</head>
<body>
<?php include 'header.php'; ?>
<?php include 'nav.php'; ?>
<main>
<section class="py-4 d-flex flex-column justify-content-center align-items-center">
<div class="container text-center">

<h1 class="search-title mb-2">Lactic Acid Bacteria Search</h1>
<div class="search-underline"></div>
<form id="searchForm" onsubmit="event.preventDefault(); performSearch();" class="d-flex justify-
content-center mb-4">
<div class="input-group w-100" style="max-width:640px;">
<input id="searchInput" type="text" class="form-control"
placeholder="Enter strain name or HUF code" autocomplete="off" />
<button class="btn btn-primary" type="submit">
<i class="fas fa-search me-1"></i> Search
</button>
</div>
</form>
<div id="searchResults"></div>
</div>|
<!-- Modal -->
<div id="strainModal" class="modal" role="dialog" aria-modal="true" aria-
labelledby="strainModalTitle">
<div class="modal-box">
<span class="close" aria-label="Close">&times;</span>
<div id="modalContent"></div>
</div>
</div>
</section>
</main>

```

```

<?php include 'footer.php'; ?>

<script>
const CAT = 'bacteria'; // yalnız LAB (id ≥ 60)

// Boş terimde de isteği gönder; backend boş aramada id>59 için ilk kayıtları id ASC döndürüyor.
function performSearch(term){
  const inputEl = document.getElementById('searchInput');
  const out    = document.getElementById('searchResults');
  const q      = (typeof term === 'string') ? term : (inputEl.value || '').trim();

  out.innerHTML = '<p class="text-muted">Loading...</p>';

  fetch('searchStrain.php', {
    method: 'POST',
    headers: { 'Content-Type': 'application/x-www-form-urlencoded' },
    body: new URLSearchParams({ ajax: '1', cat: CAT, search: q })
  })
  .then(r => r.text())
  .then(html => out.innerHTML = html)
  .catch(e => out.innerHTML = '<div class="alert alert-danger">Search error: ${e}</div>');
}

function showStrainDetails(id) {

const modal = document.getElementById('strainModal');
const content = document.getElementById('modalContent');
content.innerHTML = 'Loading...';
modal.style.display = 'block';

  fetch('getStrainDetails.php?cat=${CAT}&id=${encodeURIComponent(id)}')
  .then(r => r.text())
  .then(html => content.innerHTML = html)
  .catch(e => content.innerHTML = '<div class="alert alert-danger">Error: ${e}</div>');
}

document.addEventListener('DOMContentLoaded', () => {
  // Sayfa ilk açıldığında boş arama ile LAB kayıtlarını getir (id>59, id ASC)
  performSearch("");

  // Sonuç tablosundaki detay tetikleyicisi
  document.getElementById('searchResults').addEventListener('click', (e) => {
    const cell = e.target.closest('.detail-trigger');
    if (!cell) return;
    const id = cell.closest('tr')?.dataset?.id;
    if (id) showStrainDetails(id);
  });

  // Modal kapatma
  document.querySelector('.close').onclick = () =>
    document.getElementById('strainModal').style.display = 'none';

  window.onclick = (e) => {
    if (e.target.id === 'strainModal') e.target.style.display = 'none';
  };
});
</script>
</body>
</html>

```

EK 2.5. yeast-collection.php

```
<?php /* yeast-collection.php */ ?>
<!DOCTYPE html>
<html lang="tr">
<head>
  <meta charset="UTF-8">
  <meta name="viewport" content="width=device-width, initial-scale=1" />
  <title>Yeast Search</title>
  <!-- 1) Frameworkler -->
  <link href="https://cdn.jsdelivr.net/npm/bootstrap@5.3.0/dist/css/bootstrap.min.css" rel="stylesheet">
  <link rel="stylesheet"
    href="https://cdnjs.cloudflare.com/ajax/libs/font-awesome/6.0.0/css/all.min.css"
                                integrity="sha512-
Fo3rlrZj/k7ujTXXRNp+Q9l4cQTx7L5E2vCqJxWpxO9vYU7S1V9qwsminvF8WlUjwy4zN0WwKZ5x
KHu1v8gVA=="
    crossorigin="anonymous" referrerpolicy="no-referrer"/>
  <link rel="stylesheet" href="yeaststyle.css">

  <style>
    html,body{height:100%;margin:0}
    body{display:flex;flex-direction:column;min-height:100vh}
    main{flex:1 0 auto}

    footer{flex-shrink:0}
    .search-title {font-size:1.75rem;font-weight:600;color:#004085}
    .search-underline {width:60px;height:4px;background:#FFD500;margin:0 auto 1rem}
    .modal {display:none;position:fixed;inset:0;z-index:9999;background:rgba(0,0,0,.5)}
    .modal-content {background:#fff;margin:8% auto;padding:20px;border-radius:5px;max-
width:600px;width:90%;position:relative}
    .close {position:absolute;top:10px;right:15px;font-size:28px;font-
weight:bold;color:#aaa;cursor:pointer}
    .close:hover {color:#000}
    .search-section{padding-bottom:0}
    .results-container:empty{display:none}
    header .header-text { display:flex; flex-direction:column; }
    header .header-text h1,
    header .header-text h2,
    header .header-text h3 {
      margin:0; line-height:1.2; color:#fff !important; display:block;
    }
  </style>
</head>
<body>
  <?php include 'header.php'; ?>
  <?php include 'nav.php'; ?>
  <main>
    <section class="search-section py-5">
      <div class="container text-center">
        <h1 class="search-title mb-2">Yeast Search</h1>
        <div class="search-underline"></div>
        <div class="d-flex justify-content-center">
          <form id="searchForm" onsubmit="event.preventDefault(); performSearch();" class="w-50">
            <div class="input-group">
              <input id="searchInput" type="text" class="form-control"
                placeholder="Enter strain name or HUF code">
            </div>
          </form>
        </div>
      </div>
    </section>
  </main>
</body>
</html>
```

```

<button type="submit" class="btn btn-primary">
  <i class="fas fa-search me-1"></i> Search
</button>
</div>
</form>
</div>
<div id="searchResults" class="results-container mt-4"></div>
</div>
<!-- Modal -->
<div id="strainModal" class="modal">
  <div class="modal-content">
    <span class="close">&times;</span>
    <div id="modalContent"></div>
  </div>
</div>
</section>
</main>
<?php include 'footer.php'; ?>
<script>
const CAT = 'yeast';
function performSearch(term){
  const inputEl = document.getElementById('searchInput');
  const out = document.getElementById('searchResults');
  const q = (typeof term === 'string') ? term : (inputEl.value || "").trim();
  out.innerHTML = '<p class="text-muted">Loading...</p>';
  fetch('searchStrain.php', {
    method:'POST',
    headers:{'Content-Type':'application/x-www-form-urlencoded'},

    body:new URLSearchParams({ajax:'1', cat:CAT, search:q})
  })
  .then(r=>r.text())
  .then(html=> out.innerHTML = html)
  .catch(e=> out.innerHTML = '<div class="alert alert-danger">Search error: ${e}</div>');}
function showStrainDetails(id){
  const modal = document.getElementById('strainModal');
  const content = document.getElementById('modalContent');
  content.innerHTML='Loading...';
  modal.style.display='block';

  fetch('getStrainDetails.php?cat=${CAT}&id=${encodeURIComponent(id)}')
  .then(r=>r.text())
  .then(html=> content.innerHTML = html)
  .catch(e=> content.innerHTML = '<div class="alert alert-danger">Error: ${e}</div>');}
document.addEventListener('DOMContentLoaded',()=>{

  document.getElementById('searchResults').addEventListener('click',e=>{
    const cell=e.target.closest('.detail-trigger');
    if(!cell) return;
    const id=cell.closest('tr')?.dataset?.id;
    if(id) showStrainDetails(id); });
  document.querySelector('.close').onclick=()=>
  document.getElementById('strainModal').style.display='none';
  window.onclick=e=>{ if(e.target.id==='strainModal') e.target.style.display='none'; });}
</script>
</body>
</html>

```

EK 2.6. searchStrain.php

```
<?php
searchStrain.php - Yeast | Bacteria birleşik arama (tek tablo)
DB : hufccdb - Host : mysql-lh.hacettepe.edu.tr:3306
POST: ajax=1 - search=<term|empty> - cat=yeast|bacteria
ini_set('display_errors', 1); // prod'da 0 yap
error_reporting(E_ALL);
ini_set('log_errors', 1);
/* 0 | Yalnız AJAX çağırısı */
if (($ _POST['ajax'] ?? '') !== '1') {
    exit('Direct access denied');}
/* 1 | Parametreler */
$cat = $ _POST['cat'] ?? 'yeast'; // varsayılan maya
// Tek tabloda (hufcc) maya-bakteri ayrımı id aralığı ile yapılıyor:
$idSQL = ($cat === 'bacteria') ? 'id > 59' // 60 ve sonrası LAB
        : 'id <= 59'; // ilk 59 kayıt maya
$search = trim($ _POST['search'] ?? ''); // boşsa TÜMÜ listelenecek
$db = new mysqli(
    'mysql-lh.hacettepe.edu.tr', // host
    'hufcc', // user
    'Tm$Ag#7eL9ki', // pass
    'hufccdb', // db
    3306);
if ($db->connect_error) {
    exit("<div class='alert alert-danger'>DB connection error: {$db->connect_error}</div>");}
$db->set_charset('utf8mb4');
if (!function_exists('ends_with_pdf')) {
    function ends_with_pdf(string $p): bool {
        return substr_compare($p, '.pdf', -4, 4, true) === 0; }
}
if ($search === '') {
    // TÜMÜ: sadece kategori filtresi, sabit ve doğal sıralama için id ASC
    $sql = "
        SELECT id,

            `Strain_Code` (HUF) AS code,
            `Strain_Name` AS name,
            `pdf_path` AS pdf
        FROM hufcc
        WHERE {$idSQL}
        ORDER BY id ASC
        LIMIT {$limit}";
    $stmt = $db->prepare($sql)
        ? exit("<div class='alert alert-danger'>Query prepare error: {$db->error}</div>"); else {
        // ARAMA: sütunu utf8mb4'e çevir + Türkçe collate ile LIKE yap
        $sql = "
            SELECT id,

                `Strain_Code` (HUF) AS code,
                `Strain_Name` AS name,
                `pdf_path` AS pdf
            FROM hufcc
            WHERE {$idSQL}
            AND (
                CONVERT(`Strain_Code` (HUF) USING utf8mb4) COLLATE utf8mb4_turkish_ci LIKE ?
                OR
                CONVERT(`Strain_Name` USING utf8mb4) COLLATE utf8mb4_turkish_ci LIKE ?
            )
            ORDER BY
                CONVERT(`Strain_Name` USING utf8mb4) COLLATE utf8mb4_turkish_ci,
                CONVERT(`Strain_Code` (HUF) USING utf8mb4) COLLATE utf8mb4_turkish_ci
            LIMIT {$limit}";
        $stmt = $db->prepare($sql)
            ? exit("<div class='alert alert-danger'>Query prepare error: {$db->error}</div>");
        $like = '%'.$search.'%';
        $stmt->bind_param('ss', $like, $like);}
    $stmt->execute();
    $res = $stmt->get_result();
    if ($res->num_rows === 0) {
        echo "<div class='alert alert-warning'>No records found.</div>";
        $stmt->close(); $db->close(); exit; }
    /* Bilgi satırı (görünen adet) - isteğe bağlı */
    $totalText = ($search === ''
```

```

? "<div class='alert alert-info py-2 mb-2'>Showing all <strong>{$res->num_rows}</strong>
".($cat=='yeast'?'yeast':'bacteria')." records.</div>"
: "<div class='alert alert-info py-2 mb-2'>Found <strong>{$res->num_rows}</strong> result(s) for
<em>" .htmlspecialchars($search, ENT_QUOTES, 'UTF-8')."</em></div>";
echo $totalText;
echo "<table class='table table-bordered table-hover table-sm mb-0'>
<thead class='table-light'>
<tr>
<th style='width:25%'>HUF Code</th>
<th>Taxon Name</th>
<th style='width:25%'>Reference Material Sheet</th>
</tr>
</thead><tbody>";
while ($r = $res->fetch_assoc()) {
    $id = (int)$r['id'];
    $code = htmlspecialchars($r['code'] ?? "", ENT_QUOTES, 'UTF-8');
    $name = htmlspecialchars($r['name'] ?? "", ENT_QUOTES, 'UTF-8');
    if (!empty($r['pdf']) && ends_with_pdf($r['pdf'])) {
        $pdfRel = ltrim($r['pdf'], '/'); // önde / varsa kaldır
        $rmsCol = "<a href='{ $pdfRel }' class='btn btn-sm btn-success' download>RMS</a>";
    } else {
        $rmsCol = 'Reference only – Not for distribution';
    }

    echo "<tr data-id='{ $id }' data-cat='{ $cat }'>
        <td class='detail-trigger' style='cursor:pointer'>{$code}</td>
        <td class='detail-trigger' style='cursor:pointer'>{$name}</td>
        <td>{$rmsCol}</td>
    </tr>";
}
echo "</tbody></table>";
$stmt->close();
$db->close();
?>

```

EK 2.7. getStrainsDetails.php

```
<?php
//
// getStrainDetails.php
// DB: hufccdb
// Tablo: hufcc
error_reporting(E_ALL);
ini_set('display_errors', 0); // prod'da 0; testte 1
ini_set('log_errors', 1);
header('Content-Type: text/html; charset=utf-8');
try {
    // 1 | ID doğrulama
    $id = filter_input(INPUT_GET, 'id', FILTER_VALIDATE_INT);
    if (!$id) {
        http_response_code(400);
        throw new RuntimeException('Geçersiz ID parametresi.');
```

// 2 | DB bağlantısı

```
$db = new mysqli(
    '172.16.12.12', // host
    'hufcc',       // user
    'Tm$Ag#7eL9ki', // password
    'hufccdb',     // database
    3306,          // port);
if ($db->connect_error) {
    http_response_code(500);
    throw new RuntimeException('DB bağlantı hatası: ' . $db->connect_error); }
$db->set_charset('utf8mb4');
$stmt = $db->prepare('SELECT * FROM hufcc WHERE id = ?');
if (!$stmt) {
    http_response_code(500);
    throw new RuntimeException('Sorgu hazırlama hatası: ' . $db->error); }
$stmt->bind_param('i', $id);
$stmt->execute();
$res = $stmt->get_result();
if ($res->num_rows == 0) {
    http_response_code(404);
    throw new RuntimeException('Kayıt bulunamadı.');
```

}

```
$row = $res->fetch_assoc();
$stmt->close();

$db->close();
$labels = [
    'Strain_Name'      => 'Strain Name',
    'Strain_Code_(HUF)' => 'HUFCC Code',
    'Other_Collection_Number' => 'Other Collection Number',
    'NCBI_Accession_Number' => 'NCBI Accession Number',
    'Culture_Form'     => 'Culture Form';
$hidden = ['id', 'pdf_path'];
echo <<<STYLE
```

```

<style>
.detail-modal-table th {
    background: #f5f7fa;
    font-weight: 600;
    width: 40%;
    white-space: nowrap;
    padding: 10px 18px; }
.detail-modal-table tr:nth-child(even) td {
    background: #fafbfc; }
.detail-modal-table em {
    font-style: italic; }
</style>
<div class="table-responsive">
    <table class="table table-bordered detail-modal-table mb-0">
        <tbody>
            STYLE;
        foreach ($row as $field => $value) {
            if (in_array($field, $hidden, true)) {
                continue }
            $label = $labels[$field] ?? ucwords(str_replace(['_', '-'], ' ', $field));
            if ($field === 'Strain_Name') {
                $cell = '<em>' . htmlspecialchars($value, ENT_QUOTES, 'UTF-8') . '</em>'; } else { $cell =
nl2br(htmlspecialchars($value, ENT_QUOTES, 'UTF-8')); } echo
" <tr><th>{$label}</th><td>{$cell}</td></tr>" echo ' </tbody></table></div>'; } catch
(RuntimeException $e) { echo '<div class="alert alert-danger">' . htmlspecialchars($e->getMessage(),
ENT_QUOTES, 'UTF-8') . '</div>'; } catch (Throwable $e) { http_response_code(500) echo '<div
class="alert alert-danger">Beklenmeyen bir hata oluştu.</div>'; }?>

```

EK 2.8. presentations.php

```

<?php
echo "<!-- DEBUG: ".date('H:i:s')."-->";
$pageTitle = 'Presentations';
include 'header.php';
include 'nav.php';
?>
<style>
.cards{
    display:grid;
    grid-template-columns:repeat(auto-fit,minmax(250px,1fr));
    gap:1.5rem;
    padding:48px 16px;
    max-width:1200px;
    margin:auto; }
.card{
    background:#fff;
    border-radius:12px;
    box-shadow:0 6px 14px rgba(0,0,0,.12);
    overflow:hidden;
    transition:transform .25s; }
.card:hover{transform:translateY(-4px)}
.card img{
    width:100%;
    height:180px;
    object-fit:cover;
    object-position:top;
    cursor:pointer;
    display:block; }
.card-body{padding:16px;text-align:center}
.card-body h6{margin-bottom:8px;font-size:1rem;font-weight:600}
.pres-type{font-size:.9rem;font-weight:500;color:#666}

```

```

.pres-loc {font-size:.8rem;color:#888;margin-top:4px;}
#modal-overlay{
  position:fixed;inset:0;
  background:rgba(0,0,0,.8);
  display:none;align-items:center;justify-content:center;
  z-index:1000;}}
#modal-overlay img{
  max-width:90%;max-height:90%;
  border-radius:12px;
  box-shadow:0 6px 14px rgba(0,0,0,.12); }
</style>
<?php
$articles = [
  [
    'title' => 'ADH2 and ADH5 Gene Expression Profiles and Technological Characteristics of Strains
of <i>Saccharomyces cerevisiae</i>',
    'type' => 'Oral Presentation',
    'thumb' => 'ebm-22.png',
    'large' => 'ebm-22.pdf',
    'location' => '22nd Biotechnology Congress with International Participation'
  ],
  [
    'title' => 'Determination of Quality Parameters in Soy-Based Fermented Products Produced Using
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Saccharomyces boulardii</i>',
    'type' => 'Oral Presentation',
    'thumb' => 'bs-22.png',
    'large' => 'bs-22.pdf',
    'location' => '22nd Biotechnology Congress with International Participation'
  ],
  [
    'title' => 'Use Of Real-Time PCR and High-Resolution Melting Analysis for the Identification and
Discrimination of <i>Saccharomyces boulardii</i> Strains by AAD15 and MAL11 Genes',
    'type' => 'Poster Presentation',
    'thumb' => 'bs-bio.png',
    'large' => 'bs-bio.pdf',
    'location' => '1st International Congress on Biotech Studies (ICBIOS)'
  ],
  [
    'title' => 'Analysis of Protein Secretion by Bakers Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i>',
    'type' => 'Oral Presentation',
    'thumb' => 'iy-bio.png',
    'large' => 'iy-bio.pdf',
    'location' => '1st International Congress on Biotech Studies (ICBIOS)'
  ],
  [
    'title' => 'Functional Characteristics of <i>Saccharomyces boulardii</i> Strains to Produce Soy-
Based Fermented Foods',
    'type' => 'Poster Presentation',
    'thumb' => 'BSPK.png',
    'large' => 'BSP.pdf',
    'location' => '2nd NIZO Plant Protein Functionality Conference'
  ],
  [
    'title' => 'GABA metabolism pathway genes response to heat stress in <i>Saccharomyces
cerevisiae</i>',
    'type' => 'Oral Presentation',
    'thumb' => 'ebm-gaba.png',
    'large' => 'ebm-gaba.pdf',
    'location' => '2nd International/12th National Food Engineering Congress'
  ]
]

```

```

],
[
    'title' => 'Synbiotic Ice Cream Production with Probiotic and Prebiotic',
    'type' => 'Poster Presentation',
    'thumb' => 'ebm-ice.png',
    'large' => 'ebm-ice.pdf',
    'location' => '2nd International/12th National Food Engineering Congress'
],
[
    'title' => 'Aromatic Amino Transferase I Gene (ARO8) in the <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Strains',
    'type' => 'Poster Presentation',
    'thumb' => 'ebm-202.png',
    'large' => 'ebm-202.pdf',
    'location' => '20th Biotechnology Congress with International Participation'
],
[
    'title' => 'Detection of SUC2 Gene by Real Time PCR in <i>Saccharomyces cerevisiae </i>',
    'type' => 'Poster Presentation',
    'thumb' => 'ebm-201.png',
    'large' => 'ebm-201.pdf',
    'location' => '20th Biotechnology Congress with International Participation'
],
[
    'title' => 'Culturomics: a new approach to identify the <i>Lactococcus</i> and <i>Enterococcus</i> species isolated from the dairy plant',
    'type' => 'Oral Presentation',
    'thumb' => 'zgc-20.png',
    'large' => 'zgc-20.pdf',
    'location' => '20th Biotechnology Congress with International Participation'
],
];

?>
<div class="cards">
<?php foreach ($articles as $a): ?>
    <div class="card">
        <?php
            $ext = strtolower(pathinfo($a['large'], PATHINFO_EXTENSION));

            /* Retina desteği: thumbs/foos@2x.png mevcutsa ekle */
            $src = htmlspecialchars($a['thumb']);
            $hidpi = preg_replace('/(\\w+)$/', '@2x$1', $a['thumb']);
            $srcset = (is_readable($hidpi) ? ' srcset="'.htmlspecialchars($hidpi).' 2x' : '');

            if ($ext === 'pdf') {
                echo '<a href="'.htmlspecialchars($a['large']).'" target="_blank">';
                echo "<img src=\"\$src\"$srcset alt=\"".htmlspecialchars(strip_tags($a['title'])).\">";
                echo '</a>';
            } else {
                echo "<img src=\"\$src\"$srcset alt=\"".htmlspecialchars(strip_tags($a['title'])).\" data-
modal=\"".htmlspecialchars($a['large']).\">";
            }
        ?>
        <div class="card-body">
            <h6><?php echo $a['title']; ?></h6>
            <p class="pres-type"><?php echo $a['type']; ?></p>
            <?php if (!empty($a['location'])): ?>
                <p class="pres-loc"><?php echo htmlspecialchars($a['location']); ?></p>
            <?php endif; ?>
        </div>
    </div>
</div>

```

```

<?php endforeach; ?>
</div>

<!-- --- Modal (PNG/JPG) --- -->
<div id="modal-overlay" onclick="closeModal()">
  <img id="modal-img" src="" alt="full view">
</div>

<script>
  // küçük resme tıklandığında modal aç
  document.querySelectorAll('[data-modal]').forEach(img => {
    img.addEventListener('click', e => {
      const big = e.currentTarget.dataset.modal;
      document.getElementById('modal-img').src = big;
      document.getElementById('modal-overlay').style.display = 'flex';
    });
  });
  function closeModal(){
    document.getElementById('modal-overlay').style.display = 'none';
    document.getElementById('modal-img').src = "";
  }
</script>

<?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.9. contact.php

```

<?php
  header('Content-Type: text/html; charset=utf-8');
  include 'header.php'; // <html><head> ... <body>
  include 'nav.php'; // menü
?>

<style>
.contact-section{
  background:#fff;
  padding:80px 0;
  font-family:'Poppins',sans-serif;}
.contact-wrapper{
  max-width:1200px;
  margin:0 auto;
  display:flex;
  gap:40px;
  flex-wrap:wrap;
  justify-content:center;}
.contact-card{
  background:#0d4c7b;
  color:#fff;
  border-radius:12px;
  padding:56px 64px;
  box-shadow:0 8px 24px rgba(0,0,0,.15);
  flex:0 0 420px;
  max-width:520px;      }
.card-title{
  font-size:2rem;
  font-weight:700;
  color:#ffd200;
  margin-bottom:48px;}
.info-item{
  display:flex;
  align-items:flex-start;
  gap:22px;
  margin-bottom:28px;

```

```

font-size:1.15rem;
line-height:1.55;}
.info-item i{
color:#ffd200;
font-size:1.5rem;
flex-shrink:0;}
.info-item p{
margin:0;}
.info-item:last-of-type{margin-bottom:0;}
@media (max-width:700px){
.contact-wrapper{gap:24px;}
.contact-card{flex:1 1 100%; text-align:center;}
.info-item{justify-content:center;text-align:left;}}
</style>
<main class="contact-section">
<div class="contact-wrapper">
<div class="contact-card">
<h3 class="card-title">Contact Information</h3>
<div class="info-item">
<i class="fas fa-map-marker-alt"></i>
<p>
Hacettepe University<br>
Faculty of Engineering<br>
Department of Food Engineering<br>
06800, Ankara, Türkiye
</p>
</div>
<div class="info-item">
<i class="fas fa-phone"></i>
<p>+90 (312) 297 71 06</p>
</div>
<div class="info-item">
<i class="fas fa-envelope"></i>
<p>foodomicslab@hacettepe.edu.tr</p>
</div>
<div class="info-item">
<i class="fas fa-clock"></i>
<i class="fas fa-clock"></i>
<p>Monday – Friday: 09:00 – 16:00</p>
</div>
</div><!-- /.contact-card -->
</div><!-- /.contact-wrapper -->
</main>
<?php include 'footer.php'; ?> <!-- </body></html> kapanır -->

```

EK 2.10. thesis.php

```

<?php
header('Content-Type: text/html; charset=UTF-8');
$pageTitle = 'Thesis';
include 'header.php';
include 'nav.php';
$thumbDir = "";
$largeDir = "";
$articles = [
[
'title' => 'Alternative Protein Production Using Fruit Juice Industry Waste',
'url' => 'https://openaccess.hacettepe.edu.tr/handle/11655/36011',
'thumb' => 'iytez.png',
'large' => 'iyabstract.png',
],
[

```

```

        'title' => 'Investigation of the Use of <i>Saccharomyces cerevisiae var. boulardii</i> in Soy-Based Fermented Food Production',
        'url' => 'https://openaccess.hacettepe.edu.tr/handle/11655/35914',
        'thumb' => 'bstez.png',
        'large' => 'bsabstract.png',
    ],
    [
        'title' => 'Transcriptional Response to Using Mixed Starter Culture During the Sequential Fermentation Involving <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Metschnikowia pulcherrima</i>',
        'url' => 'https://openaccess.hacettepe.edu.tr/handle/11655/27073',
        'thumb' => 'ebmtez.png',
        'large' => 'ebmabstract.png',
    ],
    [
        'title' => 'Microencapsulation of Some Probiotic Bacteria and Investigation of Their Use in Fruit Juice',
        'url' => 'https://openaccess.hacettepe.edu.tr/handle/11655/34214',
        'thumb' => 'sctez.png',
        'large' => 'scabstract.png',
    ],
    [
        'title' => 'Characterization of Microbiota Isolated from White Cheese and Milk Processing Facility',
        'url' => 'https://openaccess.hacettepe.edu.tr/handle/11655/22711',
        'thumb' => 'zgctez.png',
        'large' => 'zgcabstract.png',
    ],
    [
        'title' => 'Determination of the <i>Saccharomyces cerevisiae</i> DNA Barcode and Creating a Data Base',
        'url' => 'https://openaccess.hacettepe.edu.tr/handle/11655/9441',
        'thumb' => 'mkttez.png',
        'large' => 'mkabstract.png',
    ],
];
?>
<style>
.cards{display:grid;grid-template-columns:repeat(auto-fit,minmax(250px,1fr));
    gap:1.5rem;padding:48px 16px;max-width:1200px;margin:auto}
.card{background:#fff;border-radius:12px;box-shadow:0 6px 14px rgba(0,0,0,.12);

        overflow:hidden;transition:transform .25s}
.card:hover{transform:translateY(-4px)}
.card img{width:100%;cursor:pointer;display:block}
.card-body{padding:16px;text-align:center}
.card-body h6{margin-bottom:12px;font-size:1rem;font-weight:600}
.btn-link{display:inline-block;color:var(--blue-1,#003465);text-decoration:none;
        font-size:.9rem;border:1px solid var(--blue-1,#003465);padding:6px 14px;border-radius:20px;transition:.2s}
.btn-link:hover{background:var(--blue-1,#003465);color:#fff}
#modal-overlay{position:fixed;inset:0;background:rgba(0,0,0,.8);display:none;
        align-items:center;justify-content:center;z-index:1000}
#modal-overlay img{max-width:90%;max-height:90%;border-radius:12px;
        box-shadow:0 6px 14px rgba(0,0,0,.12)}
</style>

<div class="cards">
<?php foreach ($articles as $a):
    $thumb = $thumbDir . rawurlencode($a['thumb']);
    $large = $largeDir . rawurlencode($a['large']); ?>
<div class="card">
    "

```

```

data-modal="<?= $large ?>">
<div class="card-body">
  <h6><?= $a['title'] ?></h6>
  <a class="btn-link" href="<?= htmlspecialchars($a['url']) ?>" target="_blank" rel="noopener">
    View Thesis
  </a>
</div>
</div>
</div>
<?php endforeach; ?>
</div>
<div id="modal-overlay" onclick="closeModal()">
  <img id="modal-img" src="" alt="full view">
</div>
<script>
document.querySelectorAll('[data-modal]').forEach(img=>{
  img.addEventListener('click', e=>{
    document.getElementById('modal-img').src = e.currentTarget.dataset.modal;
    document.getElementById('modal-overlay').style.display = 'flex';
  });
});
function closeModal(){
  document.getElementById('modal-overlay').style.display = 'none';
  document.getElementById('modal-img').src = '';
}
</script>
<?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.11. location.php

```

<?php
// location.php – Hacettepe Food Engineering Konum Sayfası
header('Content-Type: text/html; charset=UTF-8'); //
$pageTitle = 'Location | Hacettepe University FoodOmics Laboratory';

include 'header.php'; // <head> etiketinde <meta charset="UTF-8"> bulunduğundan emin ol
include 'nav.php';
?>
<style>
.content{background:#fff;font-family:'Poppins',sans-serif}
.location-section h2{text-align:center;margin:0 0 48px;color:#003a6d}
.location-container{max-width:1200px;margin:0 auto;display:flex;gap:40px;flex-wrap:wrap;justify-content:center}
.address-details{background:#0d4c7b;color:#fff;border-radius:12px;padding:48px 56px;flex:0 0 380px;box-shadow:0 6px 18px rgba(0,0,0,.15)}
.address-details h3{font-size:1.5rem;color:#ffd200;margin-bottom:32px}
.address-details ul{list-style:none;padding:0;margin:0}
.address-details li{display:flex;gap:18px;margin-bottom:28px;font-size:1.05rem;line-height:1.5}
.address-details li i{color:#ffd200;font-size:1.4rem;flex-shrink:0;margin-top:3px}
.address-details li:last-of-type{margin-bottom:0}
.map-container{flex:1 1 520px;position:relative;padding-bottom:56.25%;height:0;border-radius:12px;overflow:hidden;box-shadow:0 6px 18px rgba(0,0,0,.15)}
.map-container iframe{position:absolute;top:0;left:0;width:100%;height:100%;border:0;display:block}
.map-button-container{text-align:center;margin:40px 0 64px}
.map-button{display:inline-flex;align-items:center;gap:10px;background:#ffd200;color:#003a6d;padding:14px 32px;border-radius:8px;font-weight:600;text-decoration:none;transition:filter .2s}
.map-button:hover{filter:brightness(.9)}
.transportation{max-width:900px;margin:0 auto 96px}
.transportation h3{font-size:1.6rem;color:#003a6d;margin-bottom:24px;text-align:center}

```

```

.transport-option{background:#f1f6ff;border-left:6px solid #003a6d;border-radius:8px;padding:24px
32px;margin-bottom:24px;box-shadow:0 4px 12px rgba(0,0,0,.07)}
.transport-option h4{margin:0 0 12px;font-size:1.2rem;color:#003a6d;display:flex;gap:10px;align-
items:center}
.transport-option p{margin:0;line-height:1.6}
@media(max-width:700px){
.address-details,.map-container{flex:1 1 100%}
.address-details{text-align:center}
.address-details li{justify-content:center;text-align:left}}
</style>
<main class="content">
<section class="location-section">
<h2>Location</h2>
<div class="location-container">
<!-- Adres -->
<div class="address-details">
<h3>Address Information</h3>
<ul>
<li><i class="fas fa-building"></i>
<div><strong>Department:</strong><br>Food Engineering Department</div></li>
<li><i class="fas fa-university"></i>
<div><strong>Faculty:</strong><br>Faculty of Engineering</div></li>
<li><i class="fas fa-map-marker-alt"></i>
<div><strong>Address:</strong><br>
Hacettepe University<br>
Faculty of Engineering<br>
Department of Food Engineering<br>
06800 Beytepe, Ankara, Turkey</div></li>
<li><i class="fas fa-phone"></i>
<div><strong>Phone:</strong><br>+90 (312) 297 71 00</div></li>
<li><i class="fas fa-fax"></i>
<div><strong>Fax:</strong><br>+90 (312) 299 21 23</div></li>
</ul>
</div>
<div class="map-container">
src="https://www.google.com/maps/embed?pb=!1m18!1m12!1m3!1d3060.5485259659874!2d32.733357
31526973!3d39.86863997943324!2m3!1f0!2f0!3f0!3m2!1i1024!2i768!4f13.1!3m3!1m2!1s0x14d347033
925c3a5%3A0x3b6c1ae4c8d82a89!2sHacettepe%20%C3%9Cniversitesi%20M%C3%BChendislik%20F
ak%C3%BCltesi!5e0!3m2!1str!2str!4v1674594823454!5m2!1str!2str"
allowfullscreen loading="lazy" referrerpolicy="no-referrer-when-downgrade"></iframe>
</div>
</div><!-- /.location-container -->
<div class="map-button-container">
<a class="map-button"
href="https://www.google.com/maps/place/Hacettepe+Üniversitesi+Gıda+Mühendisliği" target="_blank"
rel="noopener">
<i class="fas fa-map-marked-alt"></i> Open in Google Maps
</a>
</div>
<div class="transportation">
<h3>How to Reach Us</h3>
<div class="transport-option">
<h4><i class="fas fa-bus"></i> By Bus</h4>
<p>You may kindly get off at the Beytepe stop on Eskişehir Road. From the Beytepe Metro entrance,
we kindly recommend walking uphill and taking the university ring shuttle no. 130 to reach the
campus.</p>
</div>
<div class="transport-option">
<h4><i class="fas fa-subway"></i> By Metro</h4>

```

```

    <p>You may take the M2 Metro Line departing from Kızılay and get off at Beytepe Station. From the
    metro exit, kindly proceed to the nearby university ring shuttle stops to access the campus.</p>
  </div>
  <div class="transport-option">
    <h4><i class="fas fa-car"></i> By Car</h4>
    <p>You may drive along Eskişehir Road towards Beytepe and take the Beytepe Campus exit. Once
    inside the campus, you are kindly requested to follow the signs leading to the Department of Food
    Engineering.</p>
  </div>
</div>
</section>
</main>
<?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.12. staff.php

```

<?php
// staff.php — Culture Collection Team
header('Content-Type: text/html; charset=UTF-8'); //
$pageTitle = 'Culture Collection Team | Hacettepe University FoodOmics Laboratory';

include 'header.php'; // <head>
include 'nav.php'; // üst menü
?>
<style>
  main{min-height:calc(100vh - 400px);padding:2rem 0;background:#f8f9fa}
  .chart-title{text-align:center;margin:0 0 2rem;font:600 2rem 'Poppins',sans-serif,color:#004080;text-
  transform:uppercase}
  .chart-title:after{content:"";display:block;width:80px;height:3px;background:#FFD700;margin:1rem
  auto}
  .team-container{max-width:1200px;margin:0 auto;padding:2rem;background:#fff;border-
  radius:8px;box-shadow:0 2px 4px rgba(0,0,0,.05)}
  .hierarchy-level{margin-bottom:3rem;text-align:center}
  .hierarchy-level:last-child{margin-bottom:0}
  .level-title{color:#004080;font-size:1.5rem;margin-bottom:2rem;position:relative;display:inline-block}
  .level-title:after{content:"";position:absolute;bottom:-10px;left:50%;transform:translateX(-
  50%);width:50px;height:3px;background:#FFD700}
  .team-members{display:flex;justify-content:center;flex-wrap:wrap;gap:2rem}
  .team-member{flex:0 1 300px;background:#fff;border-radius:10px;padding:1.5rem;box-shadow:0 4px
  6px rgba(0,0,0,.1);transition:.3s}
  .team-member:hover{transform:translateY(-5px);box-shadow:0 6px 12px rgba(0,0,0,.15)}
  .team-member img{width:120px;height:120px;border-radius:50%;margin-bottom:1rem;border:3px
  solid #004080;object-fit:cover}
  .team-member h4{color:#004080;font-size:1.2rem;margin-bottom:.5rem}
  .team-member p{color:#666;font-size:.9rem;margin-bottom:.5rem}
</style>
<main>
  <div class="chart-title">Culture Collection Team</div>
  <div class="team-container">
    <!-- Head of Culture Collection -->
    <div class="hierarchy-level">
      <h3 class="level-title">Head of Culture Collection</h3>
      <div class="team-members">
        <div class="team-member">

```

```

        
        <h4>Professor Dr. Remziye Yılmaz</h4>
        <p><strong>Expertise:</strong> Collection Supervisor</p>
        <p><strong>ORCID ID:</strong> 0000-0003-2041-1205</p>
        <p><strong>Email:</strong> remziye@hacettepe.edu.tr</p>
    </div>
</div>
<div class="hierarchy-level">
    <h3 class="level-title">Team Members</h3>
    <div class="team-members">
        <div class="team-member">
            
            <h4>Nejat Furkan Çağlar</h4>
            <p><strong>Expertise:</strong> Scientific & Systems Architect</p>
            <p><strong>ORCID ID:</strong> 0000-0002-9662-2538</p>
            <p><strong>Email:</strong> nejatcaglar@hacettepe.edu.tr</p>
        </div>
        <div class="team-member">
            
            <h4>Elif Bircan Muyanlı</h4>
            <p><strong>Expertise:</strong> Yeast Characterization & Supply</p>
            <p><strong>ORCID ID:</strong> 0000-0001-5279-9131</p>
            <p><strong>Email:</strong> elif.bircan.ebm@gmail.com</p>
        </div>
        <div class="team-member">
            
            <h4>Zeynep Gökem Cerit</h4>
            <p><strong>Expertise:</strong> Bacteria Characterization & Supply</p>
            <p><strong>ORCID ID:</strong> 0000-0003-3955-9584</p>
            <p><strong>Email:</strong> zeynepcerit24@gmail.com</p>
        </div>
    </div>
</div>
<!-- Operations -->
<div class="hierarchy-level">
    <div class="team-members">
        <div class="team-member">
            
            <h4>Alara Kanıcı</h4>
            <p><strong>Expertise:</strong> System Operations Specialist</p>
            <p><strong>Part-Time Position</strong> </p>
            <p><strong>ORCID ID:</strong> 0009-0005-3628-2155</p>
            <p><strong>Email:</strong> alarakanici@hacettepe.edu.tr</p>
        </div>
        <div class="team-member">
            
            <h4>Asude Çelik</h4>
            <p><strong>Expertise:</strong> System Maintenance Specialist</p>
            <p><strong>Part-Time Position</strong> </p>
            <p><strong>ORCID ID:</strong> 0009-0006-3305-3047</p>
            <p><strong>Email:</strong> celikasude@outlook.com</p>
        </div>
    </div>
</div>
</div>
</div> <!-- /.team-container --></main> <?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.13. bioinformatics.php

```
<?php
$pageTitle = 'Bioinformatics';
include 'header.php'; // <head> ... <body>
include 'nav.php';    // üst menü
?>

<style>
:root{
  --brand-blue:#003366;
  --brand-gold:#ffb400;
  --accent:#0d6efd;
  --card-bg:#fff;
  --card-border:#e3e5e8;
  --shadow-sm:0 4px 12px rgba(0,0,0,.06);
  --shadow-lg:0 10px 22px rgba(0,0,0,.12);
  --radius:14px;
  --gap-lg:36px;
  --gap-sm:24px;
  --max-w:1300px;}
.tool-section{margin:3rem auto;padding:0 1rem;max-width:var(--max-w);}
.tool-section h3{
  font:700 1.35rem/1 'Poppins',sans-serif;
  color:var(--brand-blue);
  text-align:center;
  margin:0 auto 1.5rem;
  position:relative;}
.tool-section h3::after{
  content:"";display:block;width:70px;height:3px;
  background:var(--brand-gold);margin:.6rem auto 0;border-radius:2px;}
.tool-grid{
  display:grid;
  grid-template-columns:repeat(auto-fit,minmax(190px,1fr));
  gap:var(--gap-lg);
  justify-items:center;}.tool-card{
  background:var(--card-bg);
  border:1px solid var(--card-border);

  border-radius:var(--radius);
  box-shadow:var(--shadow-sm);
  width:100%;max-width:240px;min-height:170px;
  padding:1.6rem 1rem;text-align:center;
  display:flex;flex-direction:column;align-items:center;justify-content:center;
  text-decoration:none;color:inherit;
  transition:transform .25s cubic-bezier(.4,0,.2,1),box-shadow .25s;}
.tool-card:hover,
.tool-card:focus-visible{
  transform:translateY(-8px);
  box-shadow:var(--shadow-lg);
  outline:none;}
.tool-card i{font-size:2.25rem;color:var(--accent);margin-bottom:.75rem;}
.tool-card h5{
  font:600 1.075rem/1.25 'Poppins',sans-serif;
  color:var(--brand-blue);
  margin:0 0 .3rem;
```

```

text-wrap:balance;}
tool-card p{
font-size:.84rem;
line-height:1.45;
color:#555;
margin:0;
text-align:center;

<a href="http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/" target="_blank" rel="noopener" class="tool-card">
  <i class="fas fa-align-justify"></i>
  <h5>MULTALIN</h5>
  <p>Multiple Sequence Alignment</p>
</a>
<a href="https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html" target="_blank" rel="noopener"
class="tool-card">
  <i class="fas fa-align-justify"></i>
  <h5>MAFFT</h5>
  <p>Scalable Fast Alignment</p>
</a>
<a href="https://drive5.com/muscle/downloads_v3.html" target="_blank" rel="noopener" class="tool-
card">
  <i class="fas fa-align-justify"></i>
  <h5>MUSCLE</h5>
  <p>Fast Multiple Sequence Alignment Tool</p>
</a>
</div>
</section>
<!-- BLAST & PHYLOGENY (yan yana büyük ekran) -->
<section class="tool-section" style="display:grid;gap:var(--gap-lg);grid-template-columns:repeat(auto-
fit,minmax(300px,1fr));">
  <!-- NCBI BLAST -->
  <div aria-labelledby="blast-tools">

```

```

<h3 id="blast-tools">NCBI BLAST</h3>
<div class="tool-grid">
  <a href="https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi" target="_blank" rel="noopener" class="tool-card">
    <i class="fas fa-search"></i>
    <h5>BLAST</h5>
    <p>Basic Local Alignment Search Tool</p>
  </a>
</div>
</div>
<!-- Phylogenetic Analysis -->
<div aria-labelledby="phylo-tools">
  <h3 id="phylo-tools">Phylogenetic Analysis</h3>
  <div class="tool-grid">
    <a href="https://www.megasoftware.net/" target="_blank" rel="noopener" class="tool-card">
      <i class="fas fa-tree"></i>
      <h5>MEGA 11</h5>
      <p>Phylogenetic Tree Construction</p>
    </a>
    <a href="https://itol.embl.de/upload.cgi" target="_blank" rel="noopener" class="tool-card">
      <i class="fas fa-diagram-project"></i>
      <h5>iTOL</h5>
      <p>Phylogenetic Tree Visualization</p>
    </a>
  </div>
</div>
</section>
<section class="tool-section" aria-labelledby="pop-tools">
  <h3 id="pop-tools">Genetic Polymorphism & Population Structure Analysis</h3>
  <div class="tool-grid">
    <a href="https://www.ub.edu/dnasp/" target="_blank" rel="noopener" class="tool-card">
      <i class="fas fa-dna"></i>
      <h5>DNAsn</h5>
    </a>
    <a href="https://ugene.net" target="_blank" rel="noopener" class="tool-card">
      <i class="fas fa-vials"></i>
      <h5>UGENE</h5>
      <p>Sequence & Structure Analysis</p>
    </a>
    <a href="https://www.python.org" target="_blank" rel="noopener" class="tool-card">
      <i class="fab fa-python"></i>
      <h5>Python</h5>
      <p>Custom Scripts for Analysis</p>
    </a>
  </div>
</section>
<p style="font-size:.85rem;color:#555;margin-top:-1rem;">
  The toolkit presented above was implemented in 2025 during the establishment of the Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection (HUFCC).
</p>
</div>
<?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.14. identifications.php

```
<?php include 'header.php'; ?>
<?php include 'nav.php'; ?>
<!-- Identification Pipeline Image -->
<div class="content" style="text-align:center;">
  
  <!-- Professional Footnote -->
  <p style="font-size:.85rem;color:#555;margin-top:-1rem;">
    The identification pipeline presented above was implemented in&nbsp;2025 during the establishment of
    the Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection (HUFCC).</em>
  </p>
</div>
<?php include 'footer.php'; ?>
```

EK 2.15. contract-research.php

```
<?php
$pageTitle = 'Contract Research';
include 'header.php'; // <head> + açılış <body>
include 'nav.php';    // ana menü
?>
<style>
:root{
  --brand-blue:#003366;
  --brand-gold:#ffb400;
  --card-bg:#ffffff;
  --card-shadow:0 5px 16px rgba(0,0,0,.06);
  --radius:14px;
  --max-w:900px;}
.content > h2{
  font:800 1.9rem/1.25 'Poppins',sans-serif;
  color:var(--brand-blue);
  text-align:center;
  margin:0 0 2rem;
```

```

    position: relative; }
.content > h2::after {
    content: ""; display: block; width: 90px; height: 3px;
    background: var(--brand-gold);
    margin: .75rem auto 0; border-radius: 2px; }
.research-card {
    background: var(--card-bg);
    box-shadow: var(--card-shadow);
    border-radius: var(--radius);
    padding: 2rem 2.2rem;
    max-width: var(--max-w);
    margin: 0 auto 3rem;
    font: 400 1rem/1.6 'Poppins', sans-serif;
    color: #333; }
.research-card p { margin: 0 0 1rem; }
.research-card strong { color: var(--brand-blue); }
@media (max-width: 768px) {
    .research-card { padding: 1.5rem 1.4rem; } }
</style>
<div class="content">
    <h2>Contract Research</h2>
    <div class="research-card">
        <p>
            <strong>Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection (HUFCC)</strong>
            conducts various confidential research projects for clients, including identification of strains.
            It can ensure confidentiality from the first contact to the final report.
        </p>
        <p>
            For information on cooperation and services, you may reach us through the communication channels
            indicated in the contact section.
        </p>
    </div>
</div>
<?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.16. services.php

```

<?php
$pageTitle = 'Services';
include 'header.php'; // <head> + açılış <body>
include 'nav.php'; // üst menü
?>
<style>
:root {
    --brand-blue: #003366;
    --brand-gold: #ffb400;
    --table-border: #e1e4e8;
    --row-hover: #f6f8fa;
    --radius: 10px;
    --shadow: 0 3px 10px rgba(0,0,0,.05); }
.content > h2 {
    font: 800 1.8rem/1.2 'Poppins', sans-serif;
    color: var(--brand-blue);
    text-align: center;
    margin: 0 0 2rem;
    position: relative; }
.content > h2::after {
    content: ""; display: block; width: 80px; height: 3px;
    background: var(--brand-gold); margin: .75rem auto 0; border-radius: 2px; }

```

```

.services-table{
  overflow-x:auto;
  box-shadow:var(--shadow);
  border-radius:var(--radius);}
.services-table table{
  width:100%;border-collapse:separate;border-spacing:0;
  min-width:620px;
.services-table thead th,
.section-head{
  background:#f1f4f8;
  font:600 .95rem/1.4 'Poppins',sans-serif;
  color:var(--brand-blue);
  padding:.85rem 1rem;
  text-align:left;}
.section-head{
  background:#eef2f6;}
.services-table tbody td{
  padding:1rem;vertical-align:top;border-top:1px solid var(--table-border);}
.services-table tbody tr:hover td{
  background:var(--row-hover);}
.services-table .title{
  font:600 .95rem/1.3 'Poppins',sans-serif;color:#111;
  margin-bottom:.25rem;}
.services-table .desc{
  font:.85rem/1.4 'Poppins',sans-serif;color:#555;}
@media(max-width:768px){
  .content{padding:1rem;}}
</style>
<div class="content">
  <h2>Services</h2>
  <div class="services-table">
    <table>
      <thead>
        <tr><th>Lactic Acid Bacteria Strain Services</th></tr>
      </thead>
      <tbody>
        <tr>

```

```

        <td>
            <div class="title">Isolation</div>
            <div class="desc">Standard bacterial isolation procedure</div>
        </td>
    </tr>
    <tr>
        <td>
            <div class="title">Mixed Culture Analysis</div>
            <div class="desc">Isolation from mixed cultures</div>
        </td>
    </tr>
    <tr>
        <td>
            <div class="title">Identification</div>
            <div class="desc">Per strain / specimen analysis</div>
        </td>
    </tr>
    <tr>
        <td>
            <div class="title">Partial 16S rDNA Sequence Analysis</div>
            <div class="desc">Detailed genetic analysis</div>
        </td>
    </tr>
    <tr class="section-head"><td>Yeast Strain Services</td></tr>
    <tr>
        <td>
            <div class="title">Identification of Pure Culture</div>
            <div class="desc">Standard yeast isolation procedure</div>
        </td>
    </tr>
    <tr class="section-head"><td>Other Services</td></tr>
    <tr>
        <td>
            <div class="title">Consult</div>
            <div class="desc">
                Expert guidance on isolation and identification procedures for lactic acid bacteria and yeast strains.
            </div>
        </td>
    </tr>
    <tr>
        <td>
            <div class="title">Survey</div>
            <div class="desc">
                Assessment and feedback on your microbial analysis workflows.
            </div>
        </td>
    </tr>
    </tbody>
</table>
</div>
</div>
<?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.17. publications.php

```
<?php
$pageTitle = 'Publications';
include 'header.php';
include 'nav.php';
?>

<style>
.cards{display:grid;grid-template-columns:repeat(auto-fit,minmax(250px,1fr));
      gap:1.5rem;padding:48px 16px;max-width:1200px;margin:auto}
.card{background:#fff;border-radius:12px;box-shadow:0 6px 14px rgba(0,0,0,.12);
      overflow:hidden;transition:transform .25s}
.card:hover{transform:translateY(-4px)}
.card img{width:100%;cursor:pointer;display:block}
.card-body{padding:16px;text-align:center}
.card-body h6{margin-bottom:12px;font-size:1rem;font-weight:600}
.btn-link{display:inline-block;color:var(--blue-1,#003465);text-decoration:none;font-size:.9rem;
          border:1px solid var(--blue-1,#003465);padding:6px 14px;border-radius:20px;transition:.2s}
.btn-link:hover{background:var(--blue-1,#003465);color:#fff}

/* Modal overlay */
#modal-overlay{position:fixed;inset:0;background:rgba(0,0,0,.8);
               display:none;align-items:center;justify-content:center;z-index:1000;}
#modal-overlay img{max-width:90%;max-height:90%;border-radius:12px;
                  box-shadow:0 6px 14px rgba(0,0,0,.12)}
</style>

<?php
$articles = [
    [
        'title' => 'RT-qPCR based quantitative analysis of ARO and ADH genes in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Metschnikowia pulcherrima</i> strains grown in white grape juice',
        'doi' => '10.1007/s11033-024-09444-2',
        'thumb' => '1.png',
        'large' => '1.png'
    ],
    [

```

```

        'title' => 'Detection of the lactic acid bacterial community in small scale white cheese processing facility
using shotgun metagenomics and culturomics',
        'doi' => '10.1016/j.idairyj.2024.105971',
        'thumb' => '2.png',
        'large' => '2.png'
    ],
    [
        'title' => 'Differentiation of <i>Saccharomyces boulardii</i> from <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Strains Using the qPCR-HRM Technique Targeting AAD15 Gene',
        'doi' => '10.1080/08905436.2024.2382862',
        'thumb' => '4.png',
        'large' => '4.png'
    ],
    [
        'title' => 'Evaluation of Culturomics and Shotgun Metagenomic Technologies in White Cheese
Microbiota ',
        'doi' => '10.15237/gida.GD20136',
        'thumb' => '3.png',
        'large' => '3.png'
    ]
];
?>
<div class="cards">
<?php foreach($articles as $a): ?>
    <div class="card">
        " data-modal="<?=$a['large'] ?>">
        <div class="card-body">
            <h6><?=$a['title'] ?></h6>
            <a class="btn-link" href="https://doi.org/<?=$a['doi'] ?>" target="_blank">View Article</a>
        </div>
    </div>
<?php endforeach; ?>
</div>
<!-- Modal -->
<div id="modal-overlay" onclick="closeModal()">
    <img id="modal-img" src="" alt="full view">
</div>
<script>

document.querySelectorAll('[data-modal]').forEach(img=>{
    img.addEventListener('click',e=>{
        const big = e.currentTarget.dataset.modal;
        document.getElementById('modal-img').src = big;
        document.getElementById('modal-overlay').style.display = 'flex';
    });
});
// overlay'e tıklayınca kapat
function closeModal(){
    document.getElementById('modal-overlay').style.display = 'none';
    document.getElementById('modal-img').src = "";
}
</script>
<?php include 'footer.php'; ?>

```

EK 2.18. contact.css

```
.contact-section{
  background:linear-gradient(180deg,#003a6d 0%,#004d8d 100%);
  padding:80px 0;
  color:#fff;
  font-family:'Poppins',sans-serif; }
.contact-wrapper{
  max-width:960px;margin:0 auto;padding:0 24px; }
.contact-card{
  background:rgba(255,255,255,.08);
  border-radius:12px;
  padding:48px 56px;
  box-shadow:0 8px 24px rgba(0,0,0,.25); }
.card-title{
  font-size:2rem;font-weight:700;
  color:#ffd200;margin-bottom:40px;text-align:left; }
.info-item{
  display:flex;align-items:flex-start;gap:20px;
  margin-bottom:32px;font-size:1.15rem;line-height:1.5;}
.info-item i{color:#ffd200;font-size:1.5rem;flex-shrink:0;margin-top:4px;}
.info-item:last-of-type{margin-bottom:0;}

@media(max-width:600px){
  .contact-card{padding:32px 28px;}
  .card-title{font-size:1.5rem;}
  .info-item{font-size:1rem;gap:14px;}
  .info-item i{font-size:1.25rem;}}
```

EK 2.19. index.php

```
<?php include 'header.php'; ?>
<?php include 'nav.php'; ?>

<style>
.content h1 {
    font-size: 2rem;
    font-weight: 700;
    color: #002d72;
    text-align: center;
    margin-bottom: 1rem;
    position: relative; }
.content h1::after {
    content: "";
    display: block;
    width: 40px;
    height: 3px;
    background: #f1c40f;
    margin: 8px auto 0;}
</style>
<!-- İÇERİK -->
<div class="content">
    <!-- SEO odaklı H1 -->
    <h1>Welcome to HUFCC</h1>
    <p>
        The <strong>HUFCC (Hacettepe University FoodOmics Laboratory Culture Collection)</strong> is a
        laboratory-scale repository that securely houses microbial strains previously obtained and characterized.
        Featuring a carefully curated catalog, it serves as a dependable resource for scientific research and academic
        pursuits.
    </p>
    <p>
        HUFCC provides comprehensive characterization data along with robust support services to facilitate
        the effective utilization of its microbial resources. For inquiries regarding strain access or collaborative
        opportunities, please contact through dedicated support channels.
    </p>
</div>

<?php include 'footer.php'; ?>
```

EK 2.20. about.php

```
<?php
// about.php
// Değerler
$pageTitle = "About";
$yeastStrainCount = 59;
$bacteriaStrainCount = 26;
$services = [
    [
        "icon" => "fas fa-microscope",
        "title" => "Academic Research",
        "description" => "Supporting research and development in microbiology and biotechnology"
    ],
    [
        "icon" => "fas fa-industry",
        "title" => "Industrial Applications",
        "description" => "Partnerships and solutions for the food biotechnology industry"
    ],
    [
        "icon" => "fas fa-leaf",
        "title" => "Biodiversity Preservation",
        "description" => "Conservation of valuable microbial strains and biodiversity"
    ],
    [
        "icon" => "fas fa-graduation-cap",
        "title" => "Education",
        "description" => "Supporting educational activities and academic training"
    ],
    [
        "icon" => "fas fa-flask",
        "title" => "Starter Cultures",
        "description" => "Traditional food fermentation starter cultures development"
    ]
];
?>
<?php include 'header.php'; ?>
<?php include 'nav.php'; ?>
<main>
    <div class="content">
        <h2>About Culture Collection</h2>
        <link rel="stylesheet" href="aboutstyle.css">
        <p>HUFCC provides comprehensive services to support research, industry, and education in
microbiology and biotechnology.</p>
        <!-- Sayaç Banner -->
        <div class="strain-counter-banner">
            <i class="fas fa-vial"></i>
            <h3>Current Strain Count</h3>
            <div class="banner-counter-list">
                <div class="banner-counter-item">
                    <strong>Yeast Strains</strong>
                    <span class="banner-count-number" data-target="<?php echo $yeastStrainCount; ?>">0</span>
                </div>
                <div class="banner-counter-item">
                    <strong>Bacteria Strains</strong>
                    <span class="banner-count-number" data-target="<?php echo $bacteriaStrainCount; ?>">0</span>
                </div>
            </div>
        </div>
    </div>
```

```

</div>
<div class="services-grid">
  <!-- Grup 1: İlk 3 servis -->
  <div class="group-one">
    <?php for($i = 0; $i < 3; $i++): ?>
      <div class="service-card">
        <i class="<?php echo $services[$i]['icon']; ?>"></i>
        <h3><?php echo $services[$i]['title']; ?></h3>
        <p><?php echo $services[$i]['description']; ?></p>
      </div>
    <?php endfor; ?>
  </div>
  <!-- Grup 2: Son 2 servis -->
  <div class="group-two">
    <?php for($i = 3; $i < 5; $i++): ?>
      <div class="service-card">
        <i class="<?php echo $services[$i]['icon']; ?>"></i>
        <h3><?php echo $services[$i]['title']; ?></h3>
        <p><?php echo $services[$i]['description']; ?></p>
      </div>
    <?php endfor; ?>
  </div>
</div>
</main>
<?php include 'footer.php'; ?>
<script src="aboutsript.js"></script>

```

EK 2.21. aboutstyle.css

```
margin: 0;
padding: 0;
box-sizing: border-box;
font-family: "Poppins", sans-serif;}
body {
  background-color: #f5f6f8;
  color: #333;
  line-height: 1.6;}
h2, h3 {
  margin-bottom: 1rem;}
.content {
  max-width: 1200px;
  margin: 2rem auto;
  padding: 2rem;
  background-color: #fff;
  border-radius: 8px;
  box-shadow: 0 2px 4px rgba(0, 0, 0, 0.05); }
.content h2 {
  font-size: 2.2em;
  color: #004080;
  margin-bottom: 1.5rem;
  text-align: center;
  position: relative;}
.content h2:after {
  content: ";
  display: block;
  width: 60px;
  height: 3px;
  background-color: #ffd700;
  margin: 1rem auto;}
.content p {
  font-size: 1.1em;
  color: #555;
  line-height: 1.8;
  text-align: justify;
  margin-bottom: 1rem; }
.strain-counter-banner {
  width: 100%;
```

```

max-width: 900px;
margin: 2rem auto;
padding: 2rem 1rem;
background: linear-gradient(to right, #f3f7fc, #fcfcfa);
color: #333;
border-radius: 10px;
box-shadow: 0 4px 12px rgba(0, 0, 0, 0.05);
text-align: center;
position: relative;
overflow: hidden;}
.strain-counter-banner i {
  font-size: 3rem;
  margin-bottom: 0.8rem;
  color: #004080; }
.strain-counter-banner h3 {
  font-size: 1.8rem;
  margin-bottom: 1rem;
  font-weight: 600;}
.banner-counter-list {
  display: flex;
  justify-content: center;
  gap: 2rem;
  flex-wrap: wrap;
  margin-top: 1rem;}
.banner-counter-item {
  background-color: #fff;
  padding: 1rem 1.5rem;
  border-radius: 8px;
  border: 1px solid #eee;
  width: 150px;
  transition: transform 0.3s;
  display: flex;
  flex-direction: column;
  align-items: center;}
.banner-counter-item:hover {
  transform: translateY(-3px);
  box-shadow: 0 4px 12px rgba(0, 0, 0, 0.1);}
.banner-counter-item strong {

```

```

display: block;
margin-bottom: 0.5rem;
font-size: 1rem;
font-weight: 500;
color: #444;}
.banner-count-number {
font-size: 2rem;
font-weight: 700;
color: #004080;}
.services-grid {
display: flex;
flex-direction: column;
gap: 1.5rem;
margin: 2rem 0;}
.service-card {
background: #ffffff;
padding: 1.5rem;
border-radius: 8px;
border-left: 4px solid #004080;
box-shadow: 0 2px 4px rgba(0, 0, 0, 0.05);
transition: transform 0.3s ease, box-shadow 0.3s ease;
text-align: center;}
.service-card:hover {
transform: translateY(-5px);
box-shadow: 0 4px 15px rgba(0, 0, 0, 0.1); }
.service-card i {
color: #004080;
font-size: 1.5rem;
margin-bottom: 0.5rem;}
.service-card h3 {
color: #004080;
margin-bottom: 0.5rem;

```

```

font-size: 1.2rem;
font-weight: 500; }
.service-card p {
color: #555;
font-size: 1rem;
margin: 0;
line-height: 1.6;}
.group-one {
display: flex;
justify-content: center;
gap: 1.5rem;
flex-wrap: wrap }
.group-one .service-card {
width: 300px;}
.group-two {
display: flex;
justify-content: center;
gap: 1.5rem;
flex-wrap: wrap; }
.group-two .service-card {
width: 300px;}
@media (max-width: 768px) {
.banner-counter-list {
flex-direction: column;}
.banner-counter-item {
width: 200px;}
.group-one .service-card,
.group-two .service-card {
width: 100%;}}

```

EK 2.22. aboutscript.js

```
document.addEventListener('DOMContentLoaded', function() {
  const counters = document.querySelectorAll('.banner-count-number');
  counters.forEach(counter => {
    const target = parseInt(counter.getAttribute('data-target'));
    let count = 0;
    const duration = 2000; // 2 saniye
    const steps = 50;
    const increment = target / steps;
    const interval = duration / steps;
    const timer = setInterval(() => {
      count += increment;
      if (count >= target) {
        counter.textContent = target;
        clearInterval(timer);
      } else {
        counter.textContent = Math.round(count);
      }
    }, interval);
  });
});
```

EK 2.23. HUFCC Veri Tabanında Yer Alan Verilerle İlgili csv Dosyası

id,Strain_Name,Strain_Code_(HUF),Other_Collection_Number,NCBI_Accession_Number,Culture_Form,pdf_path

- 1,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M1C0001,RSKK 08022,OQ876785,Lyophilized culture and glycerol stock,Reference only – Not for distribution
- 2,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M1C0002,ATCC 9763,PV819403-OQ876808,Lyophilized culture and glycerol stock,Reference only – Not for distribution
- 3,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M1C0003,,PV819404-OQ912898,Lyophilized culture and glycerol stock,Reference only – Not for distribution
- 4,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M1C0004,,PV819393,Lyophilized culture and glycerol stock,Reference only – Not for distribution
- 5,Saccharomyces cerevisiae var. boulardii,HUF22B1C0001,CNCM I-745®,PV819398,Lyophilized culture and glycerol stock,Reference only – Not for distribution
- 6,Saccharomyces cerevisiae var. boulardii,HUF16M3H11104,,OQ876794,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M3H11104.pdf
- 7,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M2K10004,,OQ912899,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M2K10004.pdf
- 8,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M2K10006,,OQ876786,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M2K10006.pdf
- 9,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M2K10007,,OQ876787,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M2K10007.pdf
- 10,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M3A11003,, ,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M3A11003.pdf
- 11,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M3B11017,,OQ876788,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M3B11017.pdf
- 12,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M3C11032,,OQ876790,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M3C11032.pdf
- 13,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M3C11033,,OQ876791,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M3C11033.pdf
- 14,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M3D11049,,PV819399,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M3D11049.pdf
- 15,Saccharomyces cerevisiae,HUF16M3D11052,,PV819400,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF16M3D11052.pdf

16, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF16M3G11088,, OQ876792, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M3G11088.pdf

17, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF16M3H11101,, OQ876793, Glycerol stock, HUF16M3H11101.pdf

18, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF16M2K10003,, PV819402, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M2K10003.pdf

19, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3C31063,, OQ876795, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3C31063.pdf

20, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3C31065,, OQ876796, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3C31065.pdf

21, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3C31066,, OQ876797, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3C31066.pdf

22, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3D31086,, OQ876798, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3D31086.pdf

23, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3D31088,, OQ876799, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3D31088.pdf

24, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3E21112,, OQ876801, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3E21112.pdf

25, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3E21113,, OQ876802, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3E21113.pdf

26, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3F21122,, OQ876804, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F21122.pdf

27, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3F21123, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F21123.pdf

28, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3F21128,, , Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F21128.pdf

29, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3F21134,, OQ876806, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F21134.pdf

30, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3F31135,, PV819407, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F31135.pdf

31, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3F31136,, OQ876807, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F31136.pdf

32, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3F32141,, PV819408, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F32141.pdf

33, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF17M3H21200,, PV819401, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3H21200.pdf

34, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF18M3C21001,, PV819394, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18M3C21001.pdf

35, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF18M3D21001,, PV819396, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18M3D21001.pdf

36, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF18M3F21012,, PV819405, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18M3F21012.pdf

37, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF18M3G21009,, , Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18M3G21009.pdf

38, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF18M3J21008,, PV819406, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18M3J21008.pdf

39, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF18M3K21007,, PV819395, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18M3K21007.pdf

40, *Saccharomyces cerevisiae*, HUF18M3L21008,, PV819397, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18M3L21008.pdf

41, *Metschnikowia pulcherrima* , HUF16M3B11016,, PV819410, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M3B11016.pdf

42, *Metschnikowia pulcherrima* , HUF16M3B11020,, PV819411, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M3B11020.pdf

43, *Metschnikowia pulcherrima* , HUF16M3B11023,, PV819412, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M3B11023.pdf

44, *Metschnikowia pulcherrima* , HUF16M3C11034,, PV819413, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M3C11034.pdf

45, *Metschnikowia pulcherrima* , HUF16M3G11089,, PV819414, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M3G11089.pdf

46, *Metschnikowia pulcherrima* ,HUF17M3H21175,,PV819409, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3H21175.pdf

47, *Metschnikowia pulcherrima* ,HUF17M3H21212,,PV819415, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3H21212.pdf

48, *Metschnikowia pulcherrima* ,HUF17M3E22117,,PV819416, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3E22117.pdf

49, *Naganishia uzbekistanensis* ,HUF17M3E21110,,PV819417, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3E21110.pdf

50, *Naganishia uzbekistanensis* ,HUF17M3H22218,,PV819418, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3H22218.pdf

51, *Naganishia uzbekistanensis* ,HUF17M3D31087,,PV819419, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3D31087.pdf

52, *Priceomyces carsonii* ,HUF17M3C21050,,PV819420, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3C21050.pdf

53, *Priceomyces carsonii* ,HUF17M3F21127,,PV819421, Glycerol stock, HUF17M3F21127.pdf

54, *Priceomyces carsonii* ,HUF17M3E21115,,PV819422, Glycerol stock, HUF17M3E21115.pdf

55, *Wickerhamomyces anomalus* ,HUF16M2K10009,,PV819423, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M2K10009.pdf

56, *Wickerhamomyces anomalus* ,HUF16M2K10010,,PV819424, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M2K10010.pdf

57, *Hanseniaspora uvarum* ,HUF17M3F31139,,PV819425, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF17M3F31139.pdf

58, *Solicocozyma aeria*, HUF16M3A12012,,PV819426, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF16M3A12012.pdf

59, *Yarrowia lipolytica* ,HUF16M2K10011,, ,Glycerol stock, HUF16M2K10011.pdf

60, *Lactocaseibacillus rhamnosus*, HUF19ZN1R1013,,PV819459, Lyophilized culture and glycerol stock, Reference only – Not for distribution

61, *Streptococcus thermophilus*, „ST-BODY-1,, Lyophilized culture, Reference only – Not for distribution

62, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, „LB-12,, Lyophilized culture, Reference only – Not for distribution

63, *Lactobacillus acidophilus*, „nu-trish LA-5,, Lyophilized culture, Reference only – Not for distribution

64, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, „HN019,, Lyophilized culture, Reference only – Not for distribution

65, *Limosilactobacillus fermentum*, HUF19ZN1R1001,,PV819457, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF19ZN1R1001.pdf

66, *Lactocaseibacillus paracasei*, HUF18ZN4R1011,,PV819455, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18ZN4R1011.pdf

67, *Pediococcus pentosaceus*, HUF18ZN5R1018,,PV819456, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF18ZN5R1018.pdf

68, *Levilactobacillus brevis*, HUF18ZN2R1004,,PV819460, Glycerol stock, HUF18ZN2R1004.pdf

69, *Lactococcus lactis*, HUF19ZN10M1058,,PV819458, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF19ZN10M1058.pdf

70, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4001,,PV819461, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4001.pdf

71, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4002,,PV819462, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4002.pdf

72, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4003,,PV819463, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4003.pdf

73, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4004,,PV819464, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4004.pdf

74, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4005,,PV819465, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4005.pdf

75, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4006,,PV819466, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4006.pdf

76, *Enterococcus faecalis*, HUF24ZN7M4007,,PV819467, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24ZN7M4007.pdf

77, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4008,,PV819468, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4008.pdf

78, *Enterococcus faecalis*, HUF24N4K4009,,PV819469, Lyophilized culture and glycerol stock, HUF24N4K4009.pdf

79,Enterococcus feacalis,HUF24N4K4011,,PV819470,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF24N4K4011.pdf
80,Enterococcus feacalis,HUF24N4K4012,,PV819471,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF24N4K4012.pdf
81,Enterococcus feacalis,HUF24N4K4013,,PV819472,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF24N4K4013.pdf
82,Enterococcus feacium,HUF24N4K4014,,PV819473,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF24N4K4014.pdf
83,Enterococcus feacium,HUF24N4K4015,,PV819474,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF24N4K4015.pdf
84,Enterococcus feacium,HUF24N4K4016,,PV819475,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF24N4K4016.pdf
85,Lactobacillus helveticus,HUF24ZN3R2030,,Lyophilized culture and glycerol stock,HUF24ZN3R2030.pdf

EK 3.1. Maya Suşları Liyofilizasyon Sonuçları Ham Veri

Suş Kodu (HUF)	Suş Adı	Liyofilizasyon Öncesi Canlı Hücre Sayısı (10 ⁷ kob/ml)	Liyofilizasyon Sonrası Canlı Hücre Sayısı (10 ⁷ kob/ml)	30 Günlük Depolama Sonrası Canlı Hücre Sayısı (10 ⁷ kob/ml)
16M1C0002	<i>S. cerevisiae</i>	9,00	-	8,0
16M1C0004	<i>S. cerevisiae</i>	-	3,50	-
16M2K10004	<i>S. cerevisiae</i>	4,30	-	2,2
16M2K10006	<i>S. cerevisiae</i>	-	2,60	-
16M1C0001	<i>S. cerevisiae</i>	7,10	-	6,7
22B1C0001	<i>S. cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	11,00	-	9,0
16M3A11003	<i>S. cerevisiae</i>	-	2,40	-
18M3L21008	<i>S. cerevisiae</i>	-	1,50	-
18M3F21012	<i>S. cerevisiae</i>	3,80	2,00	1,8
18M3K21007	<i>S. cerevisiae</i>	5,00	-	2,5
17M3F21128	<i>S. cerevisiae</i>	-	2,80	-
16M3C11032	<i>S. cerevisiae</i>	5,00	-	1,2
16M2K10003	<i>S. cerevisiae</i>	12,00	6,00	4,6
16M3G11088	<i>S. cerevisiae</i>	5,00	-	5,0
16M3C11033	<i>S. cerevisiae</i>	-	3,00	-
17M3C31066	<i>S. cerevisiae</i>	-	2,30	-
17M3E21113	<i>S. cerevisiae</i>	7,10	-	1,6
16M3C11034	<i>M. pulcherrima</i>	11,00	-	7,00
17M3H21212	<i>M. pulcherrima</i>	-	2,50	-
17M3D31087	<i>N.uzbekistanensis</i>	3,80	3,00	3,00
17M3C21050	<i>P.carsoni</i>	-	3,00	-
17M3F31139	<i>H. uvarum</i>	2,00	1,10	1,02
16M3A12012	<i>S. aeria</i>	1,30	1,00	0,46

*“-“ şeklinde belirtilen yerlerde rastgele örnekleme sonucu ölçüm alınmadığı ifade edilmektedir.

EK 3.2. Bakteri Suşları Liyofilizasyon Sonuçları Ham Veri

Suş Kodu (HUF)	Suş Adı	30 Günlük Depolama Sonrası Canlı Hücre Sayısı (10⁸ kob/ml)
24ZN3R2030	<i>L. helveticus</i>	7,2
18ZN4R1011	<i>L. paracasei</i>	35
18ZN5R1018	<i>P. pentosaceus</i>	30
19ZN1R1001	<i>L. fermentum</i>	15
19ZN10M1058	<i>L. lactis</i>	23
24N4K1001	<i>E. feacalis</i>	40
24N4K1003	<i>E. feacalis</i>	50
24N4K1005	<i>E. feacalis</i>	44
24N4K1009	<i>E. feacalis</i>	45
24N4K1012	<i>E. feacalis</i>	41
24N4K1015	<i>E. feacium</i>	44
24N4K1016	<i>E. feacium</i>	40

