

## ***Bacillus* Cinsi Bakterilerde Antimikrobiyal Aktivite ve Antibiyotik Üretimi<sup>1</sup>**

**Miraç Yılmaz<sup>2</sup> , Yavuz Beyatlı<sup>3</sup>**

### **Antimikrobiyal Maddelerin Önemi**

Antimikrobiyal maddeler, çok az yoğunlukta dahi mikroorganizma gelişimini engelleyen, biyolojik kökenli, ikincil metabolitlerdir. Bunlar, mikroorganizmanın çoğalmasını engelleyici “bakteriostatik” veya “fungustatik” olabildikleri gibi; mikroorganizmanın ölümüne sebep olan “bakterisit” ve “fungisit” gibi maddeler de olabilirler. Mikroorganizmalar tarafından üretilen, düşük moleküler ağırlıklı, organik doğal ürünler olan antimikrobiyaller, seçici toksisiteye sahip olduklarından, çok düşük konsantrasyonlarda bile mikroorganizmaya zararlı olup, makroorganizmaya zarar vermezler (1, 2).

Antibiyotiklerin, dünyadaki yaygın kullanımı, enfeksiyon hastalıklarının tedavisindeki en önemli sorun olan, antibiyotiklere dirençli mikroorganizma enfeksiyonlarını ortaya çıkarmaktadır. Son on yılda, eski antibakteriyel ve antifungal ilaçlara karşı, bir çok ikili antibiyotik dirençli mikroorganizma, klinik olarak izole edilmiş ve bunlarla tek yönlü etkili antibiyotiklerin mücadelesinin kolay olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle, sürekli olarak, etki alanı geniş ve güçlü antibiyotikler üreten, yeni mikroorganizma tiplerinin araştırılması önem kazanmıştır (2). Ancak, mikroorganizmalardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin çoğu hayvan deneylerini geçememekte, sadece birkaç tanesi tıbbi olarak faydalı bulunarak ticari olarak üretilmektedir (3). Gerçekten de, özellikle son yıllarda, uluslararası ilaç endüstrisinin araştırma-geliştirme çalışmaları her yıl arttığı halde, yeni keşfedilen ve patenti alınan ilaç sayısında ciddi bir düşüş olduğu bildirilmektedir (4, 5). Bu nedenle, birçok *Bacillus* türünün sahip olduğu biyokontrol aktivitesi, ilaç endüstrisi için önem taşımaktadır.

---

<sup>1</sup>Bu çalışma Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Prof. Dr. Yavuz Beyatlı danışmanlığı altında Miraç Yılmaz tarafından yapılan ve 2003 yılında tamamlanan “Topraktan İzole Edilen *Bacillus* Cinsi Bakterilerin Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi, Plazmid DNA ve Protein Profillerinin İncelenmesi” adlı Doktora tezinden derlenmiştir.

<sup>2</sup>Dr. Öğr. Grv., Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Bölümü Biyoloji Eğitimi AbD, Beytepe, Ankara. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [mirac@hacettepe.edu.tr](mailto:mirac@hacettepe.edu.tr)

<sup>3</sup>Prof. Dr., Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ankara.

## Antimikrobiyal Madde Üreten Mikroorganizmalar

Günümüzde tedavi amacıyla, kolayca kullanılan antimikrobiyal maddelerin, antibiyotik adı altında tıp hizmetine sunulduğu yenidir, ancak tabiattaki antimikrobiyal madde oluşumu, şüphesiz canlılar tarihi kadar eskidir. Alexander Fleming'in 1929'da, stafilokokların üremesini engellediğini tespit ettiği *Penicillium notatum*, bu faaliyetini milyonlarca yıldan beri sürdürmekte idi. Oysa, maddenin endüstriyel uygulamaları ve dolayısı ile antibiyotiklerin tedavide kullanılışı 1940'lardan sonra başlamış ve hızla gelişmiştir. 1950'lerde Streptomisin, Kloramfenikol ve Tetrasiklinlerin izolasyonlarını, bu ve benzeri antibiyotiklerin klinik kullanımındaki artış takip etmiştir. Gerçekten de, yeni antibiyotiklerin keşfi ve yarı sentetik antibiyotik üretimi, tıbbi tedavi olanaklarını önemli oranda zenginleştirmiştir (1, 6, 7).

50 yıldan fazla zamandır, bakteri ve fungus enfeksiyonlarına karşı kullanılmakta olan antibiyotikler, bunların yanı sıra antitümör ajanları, bağışıklık baskılayıcı ajanlar, hipokolesterolemik ajanlar, enzim inhibitörleri ve antiparazitik ajanlar olarak da kullanılmaktadırlar (2).

Şimdiye değin bilinen 12.000 antimikrobiyalın %55'i, filamentli bakteriler olan Actinomycetes 'lerin *Streptomyces* cinsinden, %11'i diğer Actinomycetes 'lerden, %12'si filamentli olmayan bakterilerden ve %22'si filamentli funguslardan elde edilmektedir (2).

1990'larda mikroorganizmalardan yılda 200-300 yeni biyoaktif ürün elde edilirken, 1997'de bu rakamın 500 olduğu bildirilmektedir (2). Buna rağmen, sürekli olarak yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi beklenmekte ve bu sebeple de *Streptomyces*, *Bacillus* ve *Penicillium* gibi birkaç cinse ait türler antimikrobiyal madde üretme yetenekleri bakımından sürekli incelenmektedirler.

Araştırmacılar, 1980'li yıllarla birlikte, ekstrem çevrelerde optimum gelişme gösteren mikroorganizmalara ilgi göstermeye başlamışlardır. Özellikle alkalofilik mikroorganizmalarla ilgili araştırmalar, son 20 yıldır geniş ilgi alanı oluşturmuştur. Bunlar arasında yer alan alkalofilik *Bacillus* türleri, antibiyotik üretme kapasitesi yönünden en çok incelenen organizmalar arasına girmiştir. (3, 8).

Günümüzde, genetik mühendisliği teknikleri ile yeni antimikrobiyallerin üretilmesinin mümkün olabileceği düşünülse de, şu anda bunun için kullanılan başlıca yol "eleme" yöntemidir. Bu yöntemde mikrobiyolog, farmakolog, biyokimyager, moleküler biyolog, doktor, veteriner gibi bilim adamları birlikte çalışmaktadırlar. Eleme sonucunda ilk olarak, antimikrobiyal madde ürettiği belirlenen izolatların ürettiği antibiyotiklerin yeni olup olmadığı kontrol edilerek, mikroorganizmanın yeni bir antibiyotiği ürettiği belirlendikten sonra, bu antibiyotik büyük miktarlarda üretilip saflaştırılarak, hayvanlar üzerinde toksisite ve terapötik aktivite yönünden test edilmektedir (3).

## ***Bacillus* 'larda Antimikrobiyal Madde Üretimi**

Genel habitatları toprak olan, sporlu *Bacillus* 'ların neden antimikrobiyal madde ürettikleri bilinmemekle beraber, habitatlarındaki rekabete karşı antibiyotiklerin sağladığı antagonistik etki sayesinde bazı besin avantajlarına sahip oldukları sanılmaktadır. Ancak bunun yanı sıra, sporulasyon veya çimlenme ile ilişkili olan, hormon veya sinyal moleküllerinin antibiyotik aktiviteye neden olabileceği de söylenmektedir (7).

Mikroorganizmalarda sporulasyon ve ikincil metabolit üretimi arasındaki ilişki biyokimyasal ve genetik yollarla araştırılmaktadır. Basillerde, spor oluşumun polipeptid antibiyotik üretimi ile doğrudan veya dolaylı olarak ilgisi tespit edilmiştir. Sporulasyon sırasında serin proteazları oluşumunun antibiyotik üretimi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Birçok araştırma, peptid antibiyotikler üreten *Bacillus* suşlarında sporulasyon sırasında meydana gelen fizyolojik değişikliklerin, antibiyotik üretimini düzenlediğini göstermektedir (9). Moleküler genetik çalışmalar, *Bacillus* 'larda bazı peptid antibiyotik biyosentez genlerinin, endospor oluşumu olayını aktive eden operonda yer aldığını göstermektedir (10).

*Bacillus* türlerinin, geç logaritmik faz veya erken sabit fazda ikincil metabolit olarak antibiyotik üretme kapasitesinde olduğu ve sporulasyon olayı başladığında, antimikrobiyal üretimine de başladıkları bilinmektedir (7, 11, 12). *Bacillus* hücreleri kültürü, büyümenin durgun fazının başlangıcında besin maddelerini daha fazla tüketirler. Bu aşamada sporulasyondaki fonksiyonların düzenlenmesi, gelişme yeteneği, hücre dışı parçalayıcı enzimler ve antimikrobiyaller uyarılırlar. Bu çeşit olaylar *Bacillus* hücrelerinin beslenme stresine karışık cevapları olarak yansır ve çevresel değişikliklere hızlı uyum gösterir. Antimikrobiyal madde üretimi, sınırlı kaynakları olan bir çevrede yaşayan organizma için rekabet şansını arttıran önemli etkidir. Çalışmalar, özel metabolitlerin, çevresel uyarıları cevaplamada, bakteri popülasyonunu harekete geçiren hücre içi sinyaller olarak hizmet edebileceğini göstermiştir (13).

Araştırmalarda, antimikrobiyal aktivitenin ve üretilen maddelerin profillerinin, kültür şartlarına göre değişebileceği bildirilmiştir. Öyle ki, örneğin Bacitracin antibiyotiğini üreten *B. licheniformis* 'in besiyerine glukoz yerine süt asidi konulursa, bu bakteri kültürünün Bacitracin yerine Licheniformis antibiyotiğini sentezleyebildiği belirtilmiştir (14).

Yapılan çalışmalarda bazı *Bacillus* suşlarının antibiyotik aktivitesinin pH ve besiyerindeki besin maddelerine bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir (15). Milner ve arkadaşları (12), *Bacillus cereus* UW85 kültürünün, Gln, Arg, Met, Phe, ile aminoasitlerini içeren besiyerinde, Zwittermicin A üretimini arttırdığını bildirmişlerdir. Perez ve arkadaşları (16) ise, *Bacillus subtilis* MIR 15'de antibiyotiklerin üretiminin kültürasyon sıcaklığı ile çeşitlilik gösterebileceğini belirtmişlerdir.

Antimikrobiyal maddelerin sentezlenebilmeleri için 30 veya daha fazla enzimatik adıma gerek duyulur (7). *Bacillus* 'da peptid antibiyotiklerin

biyosentezi için, ribozomal ve ribozomal olmayan iki sentez yolu vardır. *Bacillus* türleri, tişablon mekanizma adı verilen ve çoklu enzim kompleksiyle gerçekleştirilen ribosomal olmayan sentez yolu ile, linear ve siklik peptid antibiyotikler üretir. Gramicidin S, Tyrocidin, Bacitracin ve Surfactin'in biyosentezi ribozomal olmayan sentez için iyi birer örnektir. Buna karşılık, yine bir peptid antibiyotiği olan subtilin, gen kodludur ve ribosomal olarak sentez edilir (10).

*Bacillus* 'lar, genellikle peptid yapılı antimikrobiyaller (10, 17) üretmekle birlikte, bunların yanı sıra biyosurfaktant (18), polyene (19), aminoglikozid (20) ve fosfolipid yapıda (21) antimikrobiyaller de üretmektedirler.

*Bacillus* türlerinin oluşturduğu antimikrobiyallerin yapıları farklı olduğu gibi etki mekanizmaları da birbirinden farklı olabilir. Öyle ki, hücre duvarı sentezini bozan ya da hücre membranına zarar veren etkileri olan antimikrobiyallerin yanı sıra protein sentezini engelleyen (19) antimikrobiyaller de sentezlenmektedir. Örneğin; Patel ve arkadaşları (19), *Bacillus subtilis* 'in bir suşunun ürettiği, protein sentezine etki eden polyene yapısında Bacillaene adı verilen bir antimikrobiyalin, *E. coli* 'de denendiğini ve prokaryotik protein sentezini engellediğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, polyene bir antimikrobiyal olan Bacillaene'nin ökaryotik protein sentezine engel olmadığını da bildirmişlerdir.

## ***Bacillus* 'larda Antimikrobiyal Aktivite**

*Bacillus* cinsi bakteriler, geniş metabolik aktiviteye sahip oluşu, izolasyonunun kolaylığı, üretiminde kompleks besi ortamına ihtiyaç duymaması ve kısa sürede gelişimi vb. nedenlerden dolayı araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (22, 23). Yapılan araştırmalarda *Bacillus* cinsinin antimikrobiyal madde üretim potansiyelinin yüksek olduğu, antibiyotik üretimiyle biyoteknoloji endüstrisine katkı sağlayabildikleri bildirilmiştir (3, 24).

Etkin ve ucuz antibiyotiklerin gelişimi için yapılan araştırmalar, *Bacillus* cinsinin birkaç antibiyotiği ürettiğini göstermektedir (16). Bazı *Bacillus* türleri Bacitracin, Polymyxin ve Subtilin gibi peptid antibiyotikler üretmektedirler. Bunların yanı sıra siklik lipoproteinlerden olan İturin ve Zwittermicin gibi antibiyotikler ise birçok mantar ve mayanın neden olduğu hastalıklarla mücadelede kullanılmaktadır (22).

Yapılan çalışmalarda, *Bacillus* cinsinin genellikle farklı mekanizmalarla sentez edilen, birkaç hücre dışı peptid antibiyotiği ürettiği ve bu antibiyotiklerin de daha çok Gram pozitif bakterilere etkili olduğu; buna karşılık Gram negatiflere etkili olan geniş spektrumlu ve antifungal antibiyotik üretiminin az olduğu belirtilmektedir (3, 8, 16, 25).

Bitki hastalıklarının kontrolünde kullanılan kimyasal insektisit ve pestisitlerin yarattığı çevre kirliliği ve patojen dirençliliği, patojene özgü doğal bakteriyel antagonist ajanlarla biyolojik kontrol sağlamanın önemini ortaya çıkarmıştır. *Bacillus* bakterileri bu açıdan ciddi potansiyele sahiptirler ve bitki hastalıklarını

baskılayan bir çok antibiyotikler üretirler (26, 27, 28, 29). Bunun yanı sıra, balık üretim merkezlerindeki ciddi ticari kayıplara karşı da, *Bacillus* 'ların oluşturduğu antibiyotiklerden yararlanılabileceği belirtilmektedir. (30).

Antibiyotik üreten *Bacillus* türleri arasında *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus brevis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus cereus* gibi türler yer almaktadır. (8, 16, 25, 31, 32)

Son zamanlarda *Bacillus* 'ların, antibiyotikleri nedeniyle probiyotik türler arasında yer aldığı da bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada, probiyotik *B. subtilis* 3 suşunun Enterobacteriaceae ailesinin bazı türlerine karşı antagonistik etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Özellikle, *B. subtilis* 3'den elde edilen ve Amicoumacin A ve Nonamicoumacin adı verilen antibiyotiklerin kronik gastrit ve ülser hastalığına sebep olan *Helicobacter pylori* üzerine aktif olması, oldukça önemli bir sonuç olarak değerlendirilmektedir (33).

*Bacillus* türleri, antibakteriyel ajan olarak kullanılmalarının yanı sıra, antifungal (12, 15, 34, 35), antiviral (36, 37) anti-amöbitik (11, 38, 39) ve anti-Mycoplasma (40) ajanı olarak da kullanılabilen, geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler.

## ***Bacillus* 'ların Antibakteriyel Aktivitesi**

*Bacillus* suşları tarafından üretilen antimikrobiyallerin çoğu Gram pozitif bakteri ve funguslara karşı aktiftir. Bununla beraber Gram negatif bakterilere karşı duyarlı bir kaç peptid antimikrobiyal de üretebilirler (16). *Bacillus* suşlarının antibakteriyel aktivite gösterdiği Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler arasında *Yersinia enterocolitica*, ve *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus* (41, 42) *E. coli* (16, 42), *Pseudomonas aeruginosa* (16) ve *Micrococcus luteus* (8) gibi patojen bakterilerin olduğu bildirilmiştir.

Birçok bitki hastalığında biyolojik kontrol aracı olarak kullanılabilen *Bacillus* 'lardan, balık üretim merkezlerindeki ciddi ticari kayıplara karşı da, yararlanılabileceğinin belirtildiği bir araştırmada, *Bacillus* NM 12 suşunun *Vibrio vulnificus* bakterisine karşı aktif olduğu rapor edilmiştir (30).

Bu antagonistik etkiler, üretilen bir çok ikincil metabolit aracılığıyla sağlanmaktadır. Wilson ve arkadaşları (43), *B. subtilis* ATCC 39320'den aerobik ve anaerobik organizmalara karşı antibakteriyel etkide bulunabilen, Difficidin ve Oxydifficidin antibiyotiklerini izole ettiklerini bildirmişler; Zweerink ve Edison (44) ise, bu antibiyotiklerin *E. coli* 'de protein sentezi inhibitörü olarak görev aldığını rapor etmişlerdir. *Bacillus* suşlarından elde edilen yeni bir peptid antimikrobiyal olan mersacidinin ise, methicillin dirençli *Staphylococcus* 'lar başta olmak üzere bazı Gram pozitif bakterilere karşı aktif olduğu bildirilmiştir (41).

Polymixinler, Gatavalin, Jolipeptin, BN 109 ile LI-F gibi peptid antibiyotik üreticisi olarak bilinen *B. polymyxa* 'nın, mikrobiyal fitopatojenlerin büyümesini

engelleyen, Gavaserin ve Saltavalin adlı iki yeni peptid antibiyotiği de ürettiği bildirilmiştir (45).

*B. subtilis* ATCC 21332'in ürettiği ve en güçlü biyosurfaktanlardan biri olduğu bilinen Surfactin'in, yüzey tansiyonunu 72'den 27,9 mN/m değerine düşürdüğü bildirilmektedir (18). Antitumoral, antiviral ve anti-Mycoplasma ajanı olarak kullanılabileceği belirtilen (40). Surfactin'e ek olarak, *B. licheniformis* 'in oluşturduğu Lichenysin A, BL-86 ve *B. brevis* ve *B. polymyxa* tarafından oluşturulan biyosurfaktanlar olan, Gramicidinler ile polymixinler'in de dikkate değer yüzey aktif özellikleri olan moleküller olduğu rapor edilmiştir (18).

*Bacillus aurantinus* tarafından üretilen, Aurantin A ve B'nin, yeni bir polyketid antibiyotik kompleksi olup, özellikle anaerob, gram pozitif bakterilere karşı etki gösterdikleri bildirilmektedir (46).

*B. circulans* J2154'den elde edilen lipopeptid antibakteriyeller olan circulocinlerin Gram pozitif bakterilere ve Piperacillin dirençli *Streptococ* 'lar ile Vancomycin dirençli *Enterococ* 'lara karşı etkin olduğu tespit edilmiştir (47).

*Bacillus cereus* UW 85'in ürettiği ve biyolojik kontrol aracı olarak kullanılabilen Zwittermicin A'nın, özellikle Gram negatif bakterilerden *Agrobacterium*, *Pseudomonas* ve *Erwinia* bakterilerine karşı etkin olduğu bilinmektedir (27).

*Bacillus polymyxa* KT-8 suşunun kültür sıvısından izole edilen Fusaricidin A, B, C ve D'nin, *Staphylococcus aureus* FDA 209 ve *Micrococcus luteus* IFO 3333 gibi Gram pozitif bakterilere karşı aktif olduğu (48, 49); *Bacillus subtilis* tarafından üretilen Bacillomycin L'nin ise Gram negatiflere karşı etkin olduğu bildirilmiştir (50, 51).

Yapılan bir çalışmada, *B. licheniformis* A12 ve M-4 suşlarından izole edilen amoebicinin (A12-A, A12-B, m4-A, m4-B ve m4-C), *Bacillus megaterium*, *Corynebacterium glutamicum* ve *Sarcina* gibi bakterilere karşı aktif olduğu bildirilmektedir (17).

## **Bacillus 'ların Antifungal Aktivitesi**

*Bacillus subtilis* ATCC 6633 suşu, antifungal peptid antibiyotik potansiyeli içeren, Mycosubtilin üreticisi olarak teşhis edilmiştir (32). Bunun yanı sıra *B. subtilis* 'in özellikle bitki hastalıklarına neden olan *Fusarium oxysporum*'un büyümesini engelleyici Surfactin ve İturin A gibi antimikrobiyaller ürettiği bilinmektedir (26, 28, 52).

Leifert ve arkadaşları (15), *B. subtilis* CL27 ve *B. pumilus* CL45 suşlarının *Botrytis cinerea* 'ya karşı antifungal etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Araştırmacılar tarafından, *B. subtilis* 168 tarafından üretilen yeni bir fosfolipid antimikrobiyal olan Bacilysocin'in, özellikle bazı funguslara karşı aktif olduğu (21); *B. subtilis* FR-2 tarafından üretilen yeni iturin-grup antifungal olan

Bacillopeptinlerin ise, *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu kök çürüklüğü hastalığına karşı aktif olduğunu (35) bildirilmiştir.

Bunların yanı sıra, *B. subtilis* tarafından sentez edilen lipopeptid yapıdaki Plipastatin A ve B'nin (53), peptid antibiyotik potansiyeli içeren Mycosubtilin'in (32), ve Bacillopeptin A, B, C'nin (50) antifungal antibiyotikler olduğunu rapor edilmektedir.

Shibazaki ve arkadaşları (54) ise, YI-03709B kodlu bir *Bacillus* suşundan izole ettikleri ve YM-47522 olarak niteledikleri yeni bir antimikrobiyalın *Rhodotorula acuta*, *Pichia angusta*, *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* gibi funguslara karşı aktif olduğunu bildirmişlerdir.

Tarım kültürü ile ilgili olarak yapılan çalışmalar sonucunda, *Bacillus cereus* UW85 bakterisinin, tütün, salatalık ve yerfıstığı gibi bitkilerde fungusların neden olduğu hastalıkları baskıladığı (47) ve Kanosamine adı verilen bir antibiyotik bitki patojenik *Oomycet* 'ler ve funguslar üzerine etki ettiği (29) görülmüştür. Yine *B. cereus* UW85'in ürettiği Zwittermicin A ve Antibiotic B'nin *Phytophthora medicaginis* fungusunun neden olduğu hastalığı baskıladığı bildirilmektedir (12, 27, 28, 47).

*Bacillus polymyxa* KT-8 suşunun kültür sıvısından izole edilen Fusaricidin A, B, C ve D'nin *Fusarium oxysporum* mantarının neden olduğu kök çürüklüğü hastalığına karşı etkili olduğu; özellikle Fusaricidin B'nin *Candida albicans* TFO 1594 ve *Saccharomyces cerevisia* HUT 7099 mayalarına karşı aktivitesinin bulunduğu da yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (56).

Bapat ve Shah (57), *B. brevis* 'in bezelye gibi bitkilerde solmaya sebep olan, *Fusarium oxysporum* f. sp.udum etkenli, fusarial hastalıklara karşı etkin biyokontrol ajanı olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, *B. licheniformis* A12 ve M-4 suşlarından izole edilen amöbösinlerin (A12-A, A12-B, m4-A, m4-B ve m4-C), *Saccharomyces heterogenicus* ve *Cryptococcus neoformans* gibi mayalar ve *Aspergillus niger*, *Microsporium canis*, *Mucor plumbeus*, *Trichophyton mentagrophytes* gibi mantarlara karşı da aktif olduğu bildirilmektedir (17).

Araştırmalarda, *B. licheniformis* A12'nin sporlu kültüründen saflaştırılan hidrofilik peptid antibiyotik olan A12-C'nin, *Microsporium canis*, *Mucor mucedo*, *Mucor plumbeus*, *Sporothrix schenckii* ve *Trichophyton mentagrophytes* gibi funguslara (38); *B. licheniformis* M-4 tarafından üretilen hidrofilik peptid antibiyotik olan Fungicin M4'ün ise yine *Microsporium canis*, *Mucor mucedo*, *Mucor plumbeus*, gibi funguslara karşı aktif olduğu bildirilmiştir (34).

## **Bacillus 'ların Antiviral Aktivitesi**

*B. subtilis* tarafından üretilen bir lipopeptid ve biosurfaktan olan Surfactin'in farklı virüsler üzerinde (SFV, HSV-1, SHV-1, VSV, SIV, FCV EMCV gibi) geniş antiviral aktivitesinin olduğu bildirilmektedir. Virüs lipid membranı ve kapsidi

üzerinde yıkıcı etkileri bulunan Surfactin'in, biyoteknolojik ve farmakolojik ürünlerin virüsten korunma uygulamalarında kullanılabileceği belirtilmektedir. Surfactin'in yanı sıra Cyclosporin A ve Gramicidinlerin de antiviral etkilerinin varlığından bahsedilmektedir (36)

### ***Bacillus* 'ların Antiamöbositik Aktivitesi**

Bazı araştırmacılar, *B. licheniformis* A12 ve M-4 suşlarından izole edilen amöbositinlerin (A12-A, A12-B, m4-A, m4-B ve m4-C), insan patojeni olan *Naegleria fowleri* amibinin hücre membranının yapısını bozarak antiamöbik etki oluşturduğunu bildirmektedirler. (11, 38, 39)

### ***Bacillus* 'ların Bakteriyosin Aktivitesi**

Bakteriyosinler, *E. coli* ve *Pseudomonas* gibi Gram negatif bakterilerin yanı sıra, laktik asit bakterileri, stafilokoklar ve basilluslar gibi Gram pozitif bakteriler tarafından da sentezlenebilen; dar spektrumlu ve letal etkileri olan, düşük molekül ağırlığına sahip proteinlerdir (58). Antimikrobiyal peptidler olan bakteriyosinler ile ilgili çalışmalar, genellikle laktik asit bakterilerinde ve *E. coli* 'de yoğunlaşmış olmasına rağmen, son yıllarda *Bacillus* bakteriyosinleri de dikkat çekmektedir (59).

Bakteriyosin oluşturan suşlar, kendi oluşturdukları bakteriyosinlere karşı dirençlidirler. Aynı türden olan diğer suşlar ise bunların bakteriyosinlerinden etkilenir. Etkileri dar olmakla beraber, bir çok Gram pozitif ve negatif bakteri ve funguslara karşı etkinlik gösterirler (58).

Ribozomal olarak sentez edilen antimikrobiyal polipeptidler olan bakteriyosinler, üretici bakterinin yakın ilişkili olduğu suşları engeller ve bu özelliğe sahip olan bakteri diğer suşlara karşı seçici bir avantaj sağlar (58).

Bakterilerde bakteriyosin şekillenmesi için, özel bakteriyosin genlerinin bulunması gerekir. Bunlar, bakteriyosin sentezini spesifiye eden özel genler olup, bir kısmı kromozomal olmasına karşın, bir kısmı da ekstra kromozomal karakter taşımaktadır (58). Gram pozitif bakteriler tarafından oluşturulan bakteriyosinlerin bir çoğunun plazmid DNA genlerinde kodlandığını belirtmektedir (60).

Bakteriyosinler birkaç şekilde, hedef bakteriyi etkileyerek lize ve inhibe ederler. Hücre duvarı ve membranında kanallar oluşturan bakteriyosinler, iyonların giriş-çıkışını ve hücre zarının geçirgenliğini artırırlar. Böylece hücrelerden dışarı çıkan iyonlar, aynı zamanda enzimlerin kofaktörleri olduğundan enzim aktiviteleri engellenir. Hücre içine giren bakteriyosinler, DNaz ve RNaz olarak da etkinlik göstererek, hücredeki DNA ve RNA'nın fonksiyonunu engelleyebilirler (58, 60).



Araştırmacılar, *Bacillus* bakteriyosinlerinin sentezinin, logaritmik fazın ortalarında başlayıp, erken durgun fazda en yüksek seviyeye ulaştığını, fakat durgun fazda azaldığını bildirmişlerdir (61, 62).

*Bacillus* 'lardan elde edilen bakteriyosinlerin yapılarının birbirinden farklı olabildiği, örneğin; aminoasit ve DNA yapısı analiz edilen tek *Bacillus* bakteriyosini olan Subtilin'in lantibiotikler sınıfında, Subtilosin'in siklik bakteriyosinler sınıfında, Coagulinin ise Pediocin benzeri bakteriyosinler arasında yer aldığı bildirilmektedir (63).

Botrycidin, Alirin (59), Sublancin 168 (64), Subtilin ve Subtilisin üreten *B. subtilis* (65); Tochicin (62) ve Thuricin üreten *B. thuringiensis* (65); Megacin üreten *B. megaterium* (65); Thermocovorin üreten *B. thermoleovorans* (65); Cerein üreten *B. cereus* (61); Coagulin üreten *B. coagulans* (63), Polyfermentacin üreten *B. polyfermenticus* (66) ve farklı bakteriyosinler üreten *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis* (63) gibi *Bacillus* türleri vardır.

Araştırmacılar, *B. thuringiensis* tarafından oluşturulan thuricin, *B. megaterium* tarafından oluşturulan Megacin (67), ve *B. coagulans* tarafından oluşturulan Coagulin (63) bakteriyosinlerinin plazmid DNA ilişkili olduklarını bildirmişlerdir. *Bacillus* türleri suşları tarafından üretilen bakteriyosinlerin özellikle Gram pozitif bakterilere karşı aktif olduğu Gram negatiflere etki etmediği bildirilmektedir (59, 68).

Favret ve Yousten (67), *B. thuringiensis* HD-2 suşundan elde ettikleri Thuricin, diğer *B. thuringiensis* suşları ile bazı Gram pozitif türlere karşı aktif olduğunu tespit etmişler ve plazmid DNA'nın kaybından sonra Thuricin aktivitesinin de kaybolduğunu, dolayısıyla bakteriyosinin plazmid kökenli olduğunu bildirmişlerdir.

Paik ve arkadaşları (62), *B. thuringiensis* subs. *tochigiensis* HD868 suşundan saflaştırdıkları Tochicin bakteriyosininin 20 tipik *B. thuringiensis* suşu ve bir *B. cereus* suşuna karşı aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Büyüme ve bakteriyosin üretimi arasındaki ilişkiyi araştıran bilimadamları, Tochicin aktivitesinin logaritmik fazın ortalarında başlayıp, erken durgun fazda en yüksek seviyeye ulaştığını, fakat durgun fazda azaldığını bildirmişlerdir.

Naclerio ve arkadaşları (61), *B. cereus* suşundan durgun faz döneminde elde ettikleri Cerein bakteriyosininin, diğer *B. cereus* suşlarına karşı aktivite gösterdiğini ve 9 kDa moleküler ağırlığa sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Oscariz ve arkadaşları (68), yine bir *B. cereus* suşundan elde ettikleri Cerein 7 bakteriyosininin, diğer *B. cereus* suşlarına olduğu kadar *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Lactococcus lactis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Streptococcus bovis* gibi bir çok Gram pozitif bakteriye karşı da aktif olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, *B. subtilis* tarafından oluşturulan Bacillocin 22 adı verilen bir bakteriyosinin, *B. cereus* 'un yanı sıra *Listeria monocytogenes*

bakterisine de etki gösterdiği tespit edilmiştir. Gıda patojeni olan bu iki türe karşı aktivitesi tespit edilen Bacillocin 22'nin gıdalarda antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir. (59)

Le Marrec ve arkadaşları (63), *B. coagulans* I<sub>4</sub>'den elde ettikleri plazmid bağlantılı ve Pediocin benzeri Coagulin bakteriyosinine, genelde *Bacillus* türlerinde pek rastlanmadığını ve bunun laktik asit bakterileri dışındaki bakterilerden ilk eldesi olduğunu bildirmişlerdir.

## **Bacillus 'lardan Elde Edilen Antibiyotikler**

Yapılan araştırmaların sonuçları itibariyle gittikçe önem kazanan *Bacillus* 'ların ürettiği ve tıbbi tedavide kullanılan polypeptid antibiyotikler arasında, Bacitrasin, Gramicidin S, Polimiksinler ve Tyrotracidin sayılmaktadır (8, 16, 25, 31).

### **Bacitracin**

Tracy 1 suşundan, 1949 yılında izole edilen Bacitracin'in biyosentezi için, *Bacillus subtilis* kullanılır. *Bacillus licheniformis* tarafından da sentez edildiği bildirilmiştir (48, 49, 69). Makrosiklik, dodecapeptid antibiyotiklerdendir ve hücre duvarı sentezinin ikinci devresinde, fosforillenmiş lipid taşıyıcının geri döngüsünü engelleyip, peptidoglikanın polimerizasyonunu inhibe ederler (31, 70, 71).

Bazı Gram pozitif, Gram negatif kok ve basillere karşı etkili olan Bacitracin, *Enterobacter* 'ler ve *Pseudomonas* 'lara karşı etkisiz olmasına karşın, A grubu beta-hemolitik *streptokoklar* bu antibiyotiğe çok duyarlıdır. Öyle ki, bu bakterilerin identifikasyonunda Bacitracin'e duyarlılık aranır (31, 71).

Ağızdan alındığında absorbe olmayan Bacitracin'in, çok toksik olduğu bu nedenle tedavi de sistemik olarak kullanılamayıp, deri ve mukoza enfeksiyonlarında lokal olarak kullanıldığı bildirilmektedir (31, 70, 71).

### **Polimiksinler**

*Bacillus cluster* ve özellikle *Bacillus polymyxa* kullanılarak elde edilen bazik, polipeptid antibiyotiklerden olan polimiksinler, A, B, C, D, E olarak 5 çeşit içerdiği ve Polymxin E'nin, Kolistin adıyla da bilindiği belirtilmektedir. Katyonik surfaktanlar gibi etki eden ve hücre zarının yapısını bozan polimiksinlerin, tedavide daha çok B1 ve B2 karışımı olan B kompleksinin ve E tipinin kullanıldığı bildirilmektedir (6, 14, 70).

Gram pozitif bakterilere ve anaeroblara etkisiz olan polimiksinlerin, Gram negatiflere, özellikle *Pseudomonas aeruginosa* 'ya karşı çok etkili olduğu; aerosol, merhem ve irrigasyon sıvıları şeklinde lokal uygulamalarda kullanılabileceği bildirilmiştir (70).

## Tyrottricin

İlk defa 1939 yılında, *Bacillus brevis* kültüründen elde edilen eski bir antibiyotik olan Tyrottricin'in, Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı bakteriosit etki gösterdiği (6, 14); ancak zehirli olduğundan sadece çok güçlü antiseptik olarak kullanılabildiği bildirilmektedir (14).

## Gramicidin

*Bacillus brevis* 'den elde edilen siklik dodekapeptid antibiyotik olan Gramicidin'in A, B, C, D olmak üzere 4 formu vardır ve özellikle Gramicidin C, cerrahide yaraların temizlenmesinde ve jinekolojide kullanılır (6, 14). Yapılan araştırmalarda antibiyotiğin, Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı etkili olduğu bildirilmektedir (14, 72).

## Yararlanılan Kaynaklar

1. Schlegel, H., 1992, Produktion Sekundärer Metabolite, Allgemeine Mikrobiologie, Georg-Thieme Verlag s. 362-371.
2. Demain, A. L., 1999, Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms, Appl. Microbiol. Biotechnol., 52, 455-463.
3. Eltem, R., Uçar, F., 1998, Bir soda gölü olan Denizli Acıgöl'den izole edilmiş 23 *Bacillus* suşunun antimikrobiyal aktivite spektrumlarının saptanması, KÜKEM Dergisi, 21, 1, s. 57-64.
4. Pollack, A., 2002, Drug research yields a decreasing return, The New York Times, April 20.
5. Tamer, M., 2002, İlaç devleri yeni ilaç keşfedemiyor, Milliyet, Nisan 23.
6. Sarışeker, N., 1983, Fermentasyon Yolu ile Antibiyotik Üretimi, Endüstriyel Mikrobiyoloji, editör E. T. Çetin, İstanbul Üniversitesi Vakfı, 280-304.
7. <http://www.textbookofbacteriology.net/antimicrobial.html>
8. Perez, C., Suarez, C., Castro, G: R., 1993, Antimicrobial Activity Determined in Strains of *Bacillus circulans* Cluster, Folia Microbiol. 38, 1, 25-28.
9. Nam, D. H. and Ryu, D. D. Y., 1985, Relationship between butirosin biosynthesis and sporulation in *Bacillus circulans*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 27, 5, 798-801.
10. Marahiel, M. A., 1992, Molekular biologie und regulationmechanismen der antibiotika produktion in *Bacillus*, Naturwissenschaften, 79, 202-212.
11. Galvez, A., Maqueda, M., Cordovilla, P., Martinez-Bueno, M., Lebbadi, M., Valdivia, E., 1994, Characterization and biological activity against *Naegleria fowleri* of amonebicins produced by *Bacillus licheniformis* D-13, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 38, 6, 1314-1319.
12. Milner, J. L., Raffel, S.J., Lethbridge, B. J., Handelsman, J., 1995, Culture conditions that influence accumulation of zwittermicin a by *Bacillus cereus* UW85, Applied Microbiology and Biotechnology, 43, 4, 685-691.

13. Marahiel, M. A., Nakano, M. M. and Zuber, P., 1993, Regulation of peptide antibiotic production in *Bacillus*, *Molecular Microbiology*, 7, 5, 6331-636.
14. Tunç, K., 1995, *Biyoteknoloji*, Gazi Üniversitesi İletişim Fakültesi Basımevi, Ankara, s. 80-86
15. Leifert, C., Li, H., Chidburee, S., Hampson, S., Workman, S., Sigee, D., Epton, H. A. S., Harbour A., 1995, Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45, *Journal of Applied Microbiology* 78, 2, 97-108.
16. Perez, C., Suarez, C., Castro, G: R., 1992, Production of antimicrobials by *Bacillus subtilis* MIR 15, *Journal of Biotechnology*, 26, 331-336.
17. Galvez, A., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M., Lebbadi, M:, Valdivia, E., 1993b, Isolation and physico-chemical characterisation of an antifungal and antibacterial peptide produced by *Bacillus licheniformis* A-12, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 39, 438-442.
18. Desai, J. D. and Banat, I. M., 1997, Microbial production of surfactants and their commercial potential, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61,1, 47-64.
19. Patel, P. S., Huang, S., Fisher, S., Pirnik, D., Aklonis, C., Dean, L., Meyers, E., Fernandes, P., Mayerl, F., 1995, *Bacillaene*, a novel inhibitor of procaryotic protein synthesis produced by *Bacillus subtilis*: production, taxonomy, isolation, physico-chemical characterization and biological activity, *Journal of Antibiotics*, 48, 9, 997-1003.
20. Ota, Y., Tamegai, H., Kudo, F., Kuriki, H., Koike-Tageshita, A., eguchi, T., Kakinuma, K., 2000, Butirosin-biosynthetic gene cluster from *Bacillus circulans*, *Journal of Antibiotics*, 53, 10, 1158-1167.
21. Tamehiro, N., Okamoto-Hosoya, Y., Okamoto, S., Ubukata, M., Hamada, M., Naganawa, H. and Ochi, K., 2002, Bacilysocin, a novel phospholipid antibiotic produced by *Bacillus subtilis*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 168, 46, 2, 315-320.
22. Rosovitz, M., J., Voskuil, M., I., Chambliss, G., H., 1998, *Bacillus*, Topley and Wilson's *Microbiology and Microbial Infections, Systematic Bacteriology*, by edited L. Collier, A. Balows and M. Sussman, Oxford University Press, Ninth Edition, Volume 2, New York.
23. Wipat, A., Harwood, C. R., 1999, The *Bacillus subtilis* genome sequence: the molecular blueprint of a soil bacterium, *FEMS Microbiology Ecology*, 28, 1-9.
24. Cash, P., 1998, Characterisation of bacterial proteomes by two-dimensional electrophoresis, *Analytica Chimica Acta*, 372, 121-145.
25. Morikawa, M., Ito, M., Imanaka, T., 1992, Isolation of a new surfactin producer *Bacillus pumilus* A-1, and cloning and nucleotide sequence of the regulator gene, psf-1, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 74, 5, 255-261.
26. Hiraoka, H., Asaka, O., Ano, T. and Shoda, M:, 1992, Characterization of *Bacillus subtilis* RB14, coproducer of peptide antibiotics iturin a and surfactin, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 38, 635-640.
27. Silo-Suh, L. A., Lethbridge, B. J., Raffel, S. J., He, H., Clardy, J., Handelsman, J., 1994, Biological Activities of two fungistatic Antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85, *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 6, 2023-2030.
28. Stabb, E. V., Jacobson, Lynn, M. and Handelsman, J., 1994, Zwittermicin A-Producing strains of *Bacillus cereus* from diverse soils, *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 122, 4404-4412.

29. Milner, J.L., silo-suh, L., Lee, L. C., He, H., Clardy, J. and Handelsman, J., 1996, Production of kanosamine by *Bacillus cereus* UW85, Applied and Environmental Microbiology, 62, 8, 3061-3065.
30. Sugita, H., Hirose, Y., Matsuo, N., Deguchi, Y., 1998, Production of the antibacterial substance by *Bacillus* sp. strain Nm 12, an intestinal bacterium of Japanese coastal fish, Aquaculture, 165, 269-280.
31. Drablos, F., Nicholson, D., Ronning, M., 1999, EXAFS study of zinc coordination in Bacitracin A, Biochimica et Biophysica Acta, 1431, 433-442.
32. Duitman, E. H., Hamoen, L., Rembold, M., Venema, G., 1999, The mycosubtilin synthetase of *Bacillus subtilis* ATCC6633: A multifunctional hybrid between a peptide synthetase, an aminotransferase, and a fatty acid synthase, Genetics, 96, 23, 13294-13299.
33. Pinchuk, I. V., Bressollier, P., Verneuil, B., Fenet, B., Sorokulova, I. B., megraud, F. and Urdaci, M., 2001, In vitro Anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45, 11, 3156-3161.
34. Lebbadi, M., Galvez, A., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M., Valdivia, E., 1994b, Fungicin M4: a narrow spectrum peptide antibiotic from *Bacillus licheniformis* M-4, Journal of Applied Microbiology, 77, 1, 49-53.
35. Kajimura, Y., Sugiyama, M., Kaneda, M., 1995, Bacillopeptins, new cyclic lipopeptide antibiotics from *Bacillus subtilis* FR-2, Journal of Antibiotics, 48, 10, 1095-1103.
36. Vollenbroich, D., Özel, M., Vater, J., Kamp, R. M. and Pault, G., 1997, Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from *Bacillus subtilis*, Biologicals, 25, 289-297.
37. Steller, S., Vollenbroich, D., Leenders, F., Stein, T., Conrad, B., Hofemeisterr, J., Jaques, P., Thonart, P. and Vater, J., 1998, Structural and functional organization of the fengycin synthase multianzyme system from *Bacillus subtilis* b213 and A1/3, Chemistry & Biology, 6,1, 31-41.
38. Galvez, A., Valdivia, E., Gonzalez-Segura, A., Lebbadi, M., Martinez-Bueno, M., Maqueda, M., 1993a, Purification, characterization and lytic activity against *Naegleria fowleri* of two amonebicins produced by *Bacillus licheniformis* A-12, Applied and Environmental Microbiology, 59, 5, 1480-1486.
39. Lebbadi, M., Galvez, A., Valdivia, E., Martinez-Bueno, M., Maqueda, M., 1994a, Purification of amoebolytic substances from *Bacillus licheniformis* M-4, Arch. Microbiol., 162, 98-102.
40. Peypoux, F., Bonmatin, J. M., Wallach, J., 1999, Recent trends in the biochemistry of surfactin, Applied Microbiology and Biotechnology, 51, 5, 553-563.
41. Chatterjee, S., Chatterjee, D. K., Jani, R. H., Blumbach, J., Ganguli, B. N., Klesel, N., Limbert, M., Seibert, G., 1992, Mersacidin, a new antibiotic from *Bacillus*. In vitro and in vivo antibacterial activity, The Journal of Antibiotics, 45, 6, 839-845.
42. Aslım, B., Sağlam, N., Beyatlı, Y., 2002, Determination of some properties of *Bacillus* isolated from soil, Turkish Journal of Biology, 26, 41-48.
43. Wilson, K. E., Flor, J. E., Schwartz, R. E., Joshua, H., Smith, J. L., Pelak, B. A., Liesch, J. M. and Hensens, O. D., 1987, Difficidin and Oxydifficidin: Novel broad spectrum antibacterial antibiotics produced by *Bacillus subtilis*, J. Antibiotics, XL, 12, 1682-1690.

44. Zweerink, M. M. and Edison, A., 1987, Difficidin and Oxydifficidin: novel broad spectrum antibacterial antibiotics produced by *Bacillus subtilis*, J. Antibiotics, XL, 12, 1692-1691.
45. Pichard, B., Larue, J., Thouvenot, D., 1995, Gavaserin and saltavalin, new peptide antibiotics produced by *Bacillus polymyxa*, FEMS Microbiology Letters, 133, 215-218.
46. Nakagawa, A., Konda, Y., Hatano, A., Omura, S., 1988, Structure and biosynthesis of novel antibiotics, Aurantinins A, and B by *Bacillus aurantinus*, J. Org. Chem., 53, 2660-2661.
47. He, H., Shen, B., Korshalla, J., Carter, G., T., 2001, Circulosins, new bacterial lipopeptides from *Bacillus circulans*, J2124, Tetrahedron, 57, 1189-1195.
48. Laland, S. G., Zimmer, T., 1984, Synthesis of peptid antibiotics by the thiotemplate mechanism, Biologically Active Principles of Natural Products, edited by W. Voelter and D. G. Daves, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
49. Hughes, M. N., Poole, R. K., 1989, Manganese transport in Bacteria, Ions and Microorganisms, Metals and Micro-organisms, Chapman and Hall, London.
50. Kajimura, Y. and Kaneda, M., 1996, Fusaricidin A, a new depsipeptide antibiotic produced by *Bacillus polymyxa* KT-8 : Taxonomy, fermentation, isolation, structure elucidation and biological activity, J. Antibiotics, 49,2, 129-135.
51. Schreiber, L. R., Gregory, G.F., Krause, C. R., Ichida, J. M., 1998, Production, partial purification, and antimicrobial activity of a novel antibiotic produced by a *Bacillus subtilis* isolate from *Ulmus americana*, Can. J. Bot., 66, 2338-2346.
52. Ohno, A., Ano, T., Shoda, M., 1996, Use of soybean curd residue, okara, for the solid state substrate in the production of a lipopeptide antibiotic, iturin A, by *Bacillus subtilis* NB22, Process Biochemistry, 31, 8, 801-806.
53. Volpon, L., Besson, F., Lancelin, J. 2000, NMR structure of antibiotics plipastatins A and B from *Bacillus subtilis* inhibitors of phospholipase A<sub>2</sub>, FEBS Letters, 485, 76-80.
54. Shibazaki, M., Sugawara, T., nagai, K., Shimizu, Yamaguchi, H. and Suzuki, K., 1996, YM-47522, A novel antifungal antibiotic produced by *Bacillus* sp. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological properties, The Journal of Antibiotics, 49, 4, 340-344.
55. Handelsman, J., Raffel, S., Mester, E. H., Wunderlich, L. and Grau, C. R., 1990, Biological control of damping-off of alfalfa seedling with *Bacillus cereus* UW85, Applied and Environmental Microbiology, 56, 3, 713-718.
56. Kajimura, Y. and Kaneda, M., 1997, Fusaricidins B, C and D, new depsipeptide antibiotic produced by *Bacillus polymyxa* KT-8 : Isolation, structure elucidation and biological activity, J. Antibiotics, 50, 3, 220-228.
57. Bapat S. and Shah A. K., 2000, Biological control of fusarial wilt of pigeon pea by *Bacillus brevis*, Canadian Journal of Microbiology, 46, 125-132.
58. Arda, M., 2000, Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınları, Ankara.
59. Zheng, G. and Slavik, M. F., 1999, Isolation, partial purification and characterisation of a Bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus subtilis* strain, Letters in App. Microbiol., 28, 363-367.
60. Jack, W. R., Tagg, J. R. and Ray, B., 1995, Bacteriocins of gram-positive bacteria, Microbiological Reviews, 59, 2, 171-200.

61. Naclerio, G., Ricca, E., Sacco, M. and De Felice, M., 1993, Antimicrobial activity of a newly identified bacteriocin of *Bacillus cereus*, Applied and Environmental Microbiology, 59, 12, 4313-4316.
62. Paik, S., H., Bae, S. S., Park, S. H., Pan, J. G., 1997, Identification and partial characterization of tochicin, a bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp. tochiensis, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 19, 4, 294-298.
63. Le Marrec, C., Hyronimus, B., Bressollier, P., Verneuil, B. and Urdaci, M. C., 2000, Biochemical and genetic characterization of coagulin, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin by *Bacillus coagulans* I<sup>4</sup>, Applied and Environmental Microbiology, 66, 12, 5213-5220.
64. Paik, S., H., Chakicherla, A., Hansen, J. N., 1998, Identification and characterization of the structural and transporter genes for, and the chemical and biological properties of, sublancin 168, a novel lantibiotic produced by *Bacillus subtilis* 168, The Journal of Biological Chemistry, 273, 36, 23134-23142.
65. Cherif, A., Ouzari, H., Daffonchio, D., Cherif, H., Ben Salama, K., Hassen, A., Jaoua, S. and Boudabous, A., 2001, Thuricin 7: a novel bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* BMG1.7, a new strain isolated from soil, Letters in Applied Microbiology, 32, 243-247.
66. Lee, K. H., Jun, K. D., Kim, W.S. and Paik, H. D., 2001, Partial characterization of polyfermentacin SCD, a newly identified bacteriocin of *Bacillus polyfermenticus*, Letters in Applied Microbiology, 32, 146-151.
67. Favret M. E. and Yousten, A.A., 1989, Thuricin: the bacteriocin by a *Bacillus thuringiensis*, Journal of Invertebrate Pathology, 53, 206-216.
68. Oscariz, J. C., Lasa, I., Pisabarro, A., G., 1999, Detection and characterization of cerin 7, a new bacteriocin produced by *Bacillus cereus* with a broad spectrum of activity, FEMS Microbiology Letters, 178, 337-341.
69. Azevedo, E. C., Rios, E. M., Fukushima, K., Campos-Takaki, G. M., 1993, Bacitracin Production by a new strain of *Bacillus subtilis*, Applied of Biochemical and Biotechnology., 42, 1-6.
70. Yüce, K., 1988, Antibiyotiklerin Etkileri, Antibiyotikler ve İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Prensipleri, Bilgehan Basımevi, İzmir.
71. Yücel, A., Tabak, F., Öztürk, R., Mert, A., 1998, Günümüzde Antimikrobik Tedavi, İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği Yayını, No 12, İstanbul.
72. Agathos, S. N., Demain, A. L., 1988, The In Vivo Longevity of Antibiotic Synthetases, Horizons of Biochemical Engineering, edited by S. Aiba, Oxford University Press, Oxford.