

Isolation, identification and current taxonomy of acetic acid bacteriaİlkin YÜCEL ŞENGÜN^{*1}, Gülден KILIÇ¹¹ Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, 35100, Bornova, Izmir, Turkey**Abstract**

The acetic acid bacteria (AAB) are a group of microorganisms that are enormously important in both food industry and biotechnological applications. Taxonomy of AAB has been changed over the years. Though, only two genera were previously known as *Acetobacter* and *Gluconobacter* in AAB, 19 genera are described in this group with developing identification methods at the present time. They are represented by the following genera: *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Ameyamaea*, *Asaia*, *Bombella*, *Commensalibacter*, *Endobacter*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Granulibacter*, *Komagataeibacter*, *Kozakia*, *Neoasaia*, *Neokomagataea*, *Nguyenibacter*, *Saccharibacter*, *Swaminathania*, *Swingsia* and *Tanticharoenia*. There are a number of media used for the isolation of AAB that are widely found in nature, and isolated bacteria by means of these media can be defined based on modern taxonomic principles. The unculturable species included in this group has been caused to identification difficulties over many years. However, in recent years, these restrictions could be removed to some extent with the use of culture-independent methods. In this review study, information on the current taxonomy of AAB is presented together with the interpretation of new isolation and identification methods of the group.

Key words: acetic acid bacteria, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, taxonomy, molecular identification

----- * -----

Asetik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlaması ve güncel taksonomisi**Özet**

Asetik asit bakterileri, hem gıda endüstrisinde hem de biyoteknolojik bazı uygulamalarda önemli bir mikroorganizma grubudur. Asetik asit bakterilerinin taksonomisi yıllar içerisinde büyük bir değişim göstermiştir. Önceleri *Acetobacter* ve *Gluconobacter* olarak sadece iki cins bilinmesine karşın, gelişen tanımlama yöntemleri ile birlikte şu an tanımlanmış toplam 19 AAB'si cinsi bulunmaktadır. Bu grup içerisinde yer alan cinsler *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Ameyamaea*, *Asaia*, *Bombella*, *Commensalibacter*, *Endobacter*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Granulibacter*, *Komagataeibacter*, *Kozakia*, *Neoasaia*, *Neokomagataea*, *Nguyenibacter*, *Saccharibacter*, *Swaminathania*, *Swingsia* ve *Tanticharoenia* olarak adlandırılmıştır. Doğada yaygın şekilde bulunan AAB'lerinin izolasyonunda kullanılan birçok besi ortamı bulunmakta, bu ortamlar sayesinde izole edilen bakteriler modern taksonomik prensiplere dayalı olarak tanımlanabilmektedir. Bu grup içerisinde yer alan birçok türün kültüre edilemeyen özellikte olması, uzun yıllar boyunca AAB'lerinin çoğu türünün tanımlanamamasına neden olmuş, ancak son yıllarda geliştirilen kültüre dayalı olmayan yöntemlerin kullanımı ile birlikte bu kısıtlamalar belli ölçüde ortadan kaldırılabilmiştir. Bu derleme çalışmasında AAB'lerinin güncel sınıflandırmasına ilişkin bilgiler, yeni izolasyon ve tanımlama yöntemleri ile birlikte değerlendirilerek sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: asetik asit bakterileri, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, taksonomi, moleküler tanımlama**1. Giriş**

Asetik asit bakterileri (AAB) doğada, şeker ve alkol oranı yüksek ortamlarda yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır. Özellikle sıcak ve nemli iklimlerde, farklı tür meyve ve çiçeklerde bulunan bu grup, böceklerle

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902323113028; Fax.: +902323427592; E-mail: ilkin.sengun@ege.edu.tr

© 2008 All rights reserved / Tüm hakları saklıdır

BioDiCon. 532-0316

simbiyotik ilişki kurmakta ve bitkilerle temas halinde bulunan böcekler tarafından çevreye yayılmaktadır. AAB'lerinin taksonomisi son yıllarda kullanılan tekniklerin gelişimine bağlı olarak önemli derecede değişim göstermiştir. Günümüzde *Acetobacter* ve *Gluconobacter* cinsleri başta olmak üzere toplam 19 cins tanımlanmış durumdadır (Sengun, 2015).

AAB'leri gıda, tekstil, medikal ve inşaat endüstrisinde bazı özel ürünlerin üretiminde yer almaktadır (Mamlouk ve Gullo, 2013; Valera vd., 2015). Bu bakteri grubu oksijen varlığında etanol, şeker ve şeker alkollerini, asetik asit, glukonik asit ve indol-3-asetik asit gibi organik asitlere oksitler ve bu nedenle de sirke üretiminden sorumlu grup olarak bilinirler (Wang vd., 2015). Sirke, etanolden AAB'leri tarafından üretilen ve ortamdaki asetik asitin biyolojik formunun ilk kez araştırıldığı sulu asetik asit çözeltidir. Önceki araştırmacılar sirke üretimi sırasında yüzeyde toplanan ve canlı mikroorganizmalardan oluşan tabakayı 'sirke anası' olarak tanımlamışlardır. AAB'leri sirke dışında hurma şarabı, kakao tozu ve kombucha gibi gıdaların üretiminde de yer almaktadırlar. AAB'lerini endüstriyel açıdan değerli kılan diğer özellikleri ise dihidroksi aseton, glukonik asit, sorboz ve selüloz üretebilme yetenekleridir. AAB'leri farklı ürünlerin üretiminden sorumlu grup olarak bilinmelerine karşın aynı zamanda şarap, bira, meyve suyu gibi bazı gıdalarda bozulmalara neden olabilmektedirler (Bartowsky ve Henschke, 2008). Son yıllarda bakteriyel tanımlama amaçlı geliştirilen yöntemlerin kullanımı ile birlikte AAB'lerinin taksonomisinde büyük bir değişiklik meydana gelmiştir. Bu derleme çalışmasının amacı, yeni tanımlanan türlerle içeriği tamamen değişen AAB'leri ile ilgili genel özellikler, izolasyon ortamları, klasik/moleküler tanımlama yöntemleri ve güncel sınıflandırmaya yönelik bilgileri değerlendirmektir.

2. Asetik asit bakterileri

2.1. Asetik asit bakterilerinin genel özellikleri ve sınıflandırması

AAB'leri Gram negatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, aerobik, spor oluşturmayan, elipsoidal ve çubuk şeklinde, hareketli (*Acetobacter* türlerinde peritrik flagella, *Gluconobacter* türlerinde polar flagella bulunur) veya hareketsiz, hücreleri tekli, çift ya da zincir şeklinde olan mikroorganizmalardır. AAB'lerinde hücreler 0,4-1,0 mm genişliğinde ve 0,8-4,5 mm uzunluğundadır. Bu grubun gelişme sıcaklıkları 5-45 °C arasında, optimum gelişme sıcaklığı ise 25-30 °C arasında değişim gösterirken, bazı türleri termotolerant özellik de gösterebilmektedir. AAB'leri pH 5,0-6,5 değerlerinde optimum gelişim gösterirler, ancak düşük pH (3-4) değerinde de gelişebilmektedirler (Sengun ve Karabiyikli, 2011). Bu gruba ait genel özellikler Tablo 1'de özetlenmiştir.

AAB'lerinin bazı türleri nitrojen tutucu özellik gösterebilmekte olup bu türler şeker kamışı, kahve, pirinç, çay, ananas ve mango meyvesi bitkilerinde, muz bitkisinin kökünde ve tahıllarda simbiyotik olarak bulunmaktadır. AAB'leri farklı ortamlara hızlıca adapte olabilen ve diğer mikroorganizmalarla başarılı bir şekilde rekabet edebilen mikroorganizmalardır. AAB'lerinin yüksek rekabet gücü şu özelliklere dayandırılmaktadır;

- Şekerden asit üretimi,
- Düşük pH değerine karşı direnç,
- Hücre dışı polisakkarit üretimi,
- Kültüre edilemeyen formda olması
- Düşük pH değerine direnç ve asit üretimi, mikroorganizmalarda bulunan nadir özelliklerdendir. AAB'lerinin en iyi bilinen ürünü olan asetik asitin % 0,5'lik konsantrasyonu, rekabetçi mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etki gösterirken, AAB'leri bu konsantrasyondaki asitlik değerlerinde canlılıklarını devam ettirirler (Conner ve Kotrola, 1995; Trček ve Barja, 2015).

Bazı AAB türleri ananasta renkli bozulmaya (pink disease), elma ve armutlarda çürümeye neden olmaktadır. Bunun dışında AAB'leri içecek sektöründe, özellikle hijyenik uygulamalar doğru yapılmadığında ürünlerde sirkemsi kötü tat, bulanıklık ve yapışkanlık oluşumuna neden olmaktadır. Uygun sıcaklık ve oksijen varlığında mikrokonsantrasyonlarda etanolün oksitlenmesiyle bozulma süreci başlayabilir. AAB'lerinin *Acetobacter* ve *Gluconobacter* cinsleri şarap ve bira gibi ürünlerde de bozulma etmeni olarak rol almaktadır (Raspor ve Goranovic, 2008). Bunun dışında bazı AAB'lerinin insanlarda fırsatçı patojen olarak bulunabileceği bildirilmektedir (Alauzet vd., 2010).

Bazı AAB türleri ananasta renkli bozulmaya (pink disease), elma ve armutlarda çürümeye neden olmaktadır. Bunun dışında AAB'leri içecek sektöründe, özellikle hijyenik uygulamalar doğru yapılmadığında ürünlerde sirkemsi kötü tat, bulanıklık ve yapışkanlık oluşumuna neden olmaktadır. Uygun sıcaklık ve oksijen varlığında mikrokonsantrasyonlarda etanolün oksitlenmesiyle bozulma süreci başlayabilir. AAB'lerinin *Acetobacter* ve *Gluconobacter* cinsleri şarap ve bira gibi ürünlerde de bozulma etmeni olarak rol almaktadır (Raspor ve Goranovic, 2008). Bunun dışında bazı AAB'lerinin insanlarda fırsatçı patojen olarak bulunabileceği bildirilmektedir (Alauzet vd., 2010).

2.2 Asetik asit bakterilerinin sınıflandırması

AAB'leri *Acetobacteriaceae* familyasına ait olup, bu grupta tanımlanmış toplam 19 cins bulunmaktadır: *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Ameyamaea*, *Asaia*, *Bombella*, *Commensalibacter*, *Endobacter*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Granulibacter*, *Komagataeibacter*, *Kozakia*, *Neoasaia*, *Neokomagataea*, *Nguyenibacter*, *Saccharibacter*, *Swaminathania*, *Swingsia* ve *Tanticharoenia* (Sengun, 2015; Trček ve Barja, 2015). Son yıllarda AAB'nin taksonomisinde önemli değişiklikler olmuş, *Acetobacter* ve *Gluconobacter* cinsinde yer alan bazı türler farklı cinslerde yer alacak şekilde yeniden sınıflandırılmıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Asetik asit bakterilerinin ayırt edici özellikleri

Karakteristik	A.	Ac.	Am.	As.	B.	C.	E.	G.	Ga.	Gr.	K.	Ko.	N.	Ne.	Ng.	S.	Sa.	Sw.	T.
<i>Asit üretimi:</i>																			
L-arabinoz	d	+	te	+	te	te	te	+	d	te	te	+	+	te	te	te	+	+	te
D-arabinoz	-	d	te	+	-	-	te	+	-	te	te	d	z	te	te	z/-	-	te	d
D-ksiloz	d	+	te	+	-	+	+	+	d	-	te	+	+	+	te	z	+	d	d
L-rhamnoz	-	-	te	d	te	-	te	-	-	te	te	-	z	te	te	te	-	-	te
D-glukoz	d	+	te	+	+	+	te	+	+	z	te	+	+	te	te	+	+	+	te
D-galaktoz	d	+	te	+	+	-	te	+	+	+	te	+	+	te	te	d	+	+	te
D-mannoz	d	+	te	+	z	-	te	+	d	te	te	+	+	te	te	z/+	+	+	te
D-fruktoz	-	-	te	+	+	te	te	+	+	te	te	-	+	+	te	z	d	d	te
L-sorboz	-	te	te	+	-	te	te	+	d	te	te	-	-	-	te	-	-	te	te
Melibioz	-	d	te	+	-	-	te	+	-	te	te	+	+	d	te	+	+	te	te
Sakkaroz	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	te	d	+	+	te	z/+	+	te	d
Rafinoz	-	-	te	-	-	te	te	-	-	+	te	-	+	-	z	z	-	te	z
D-mannitol	d	-	-	d	+	te	te	+	z/+	-	-	-	z	-	-	+	+	-	-
D-sorbitol	-	-	-	d	-	te	te	+	-	-	-	-	+	-	-	z/-	-	+	-
Dulsitol	-	-	-	d	te	-	-	-	-	-	te	-	z	-	-	z/-	-	z	-
Gliserol	d	d	z	+	-	+	+	+	+	z/-	te	+	+	-	-	z/-	-	+	+
Etanol	+	+	+	-	-	te	te	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
Asetat'ın CO ₂ ve H ₂ O'ya ok.	+	+	+	z/+	-	te	-	-	+	z	+	z	-	-	+	-	-	z	-
Laktat'ı CO ₂ ve H ₂ O'ya ok.	+	z/-	z	z/+	-	te	-	-	d	+	+	z	-	-	-	-	z	z	-
<i>Gelişme:</i>																			
%0,35 asetik asitte	+	+	+	-	te	te	te	te	+	+	+	+	+	-	z	-	+	-	+
%1 KNO ₃ 'da	-	+	-	-	te	te	te	-	-	te	+	-	-	-	-	+	te	+	-
Metanolde	z	+	z	-	te	te	-	-	-	+	te	-	-	te	te	te	-	-	-
Mannitol agarda	d	z	+	+	te	+	+	+	d	z	+	+	+	+	+	+	-	+	d
%30'luk D-glukozda	d	d	-	+	+	te	te	d	d	te	te	-	+	+	z	+	+	te	+
<i>Ürettiği maddeler:</i>																			
EtOH'den asetik asit	+	+	+	z/-	-	te	+	+	+	z	+	+	+	-	-	z/+	z	+	d
Selüloz	-	-	te	-	te	te	te	-	d	te	d	-	te	te	te	te	-	te	te
Levan benzeri mukoza	d	-	-	-	te	te	te	-	-	te	-	+	-	-	+	-	-	te	-
Kahverengi pigment (s.ç)	-	-	-	-	-	-	te	d	d	te	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Gliserolden ketogenez	d	z/-	z	z/-	te	te	te	+	d	z/-	+	+	z	-	-	+	-	+	+
Hareketlilik-flagella	Hs/ per	Hs/ per	po/ per	Hs/ per	Hs	Hs	po	Hs/ po	Hs/ per	Hs	Hs	Hs	Hs	Hs	per	Hs	Hs	per	Hs
Majör ubikinon	Q-9	Q-10	Q-10	Q-10	te	te	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10
GC içeriği (%)	52-64	62-63	66.0	59-61	59.4	37	60.3	54-64	56-67	59	62.5	56-57	63.1	56.8	69.4	46-47	52-53	57-60	65.6

A.: *Acetobacter*, Ac.: *Acidomonas*, Am.: *Ameyamaea*, As.: *Asaia*, B.: *Bombella*, C.: *Commensalibacter*, E.: *Endobacter*, Ga.: *Gluconacetobacter*, Gr.: *Granulibacter*, G.: *Gluconobacter*, Ko.: *Kozakia*, K.: *Komagataeibacter*, N.: *Neosaia*, Ne.: *Neokomagataea*, Ng.: *Nguyenibacter*, Sa.: *Saccharibacter*, S. *Swingsia*, Sw. *Swaminathania*, T. *Tanticharoenia*, d: değişken, te: tespit edilmemiştir, z: zayıf, Hs: hareketsiz, per: peritrik, po: polar, Hs/per: Harekesiz veya peritrik flagella, +: pozitif, -: negatif, ok.: oksidasyon, s.ç.: suda çözünen. Tablonun hazırlanmasında Sengun ve Karabiyikli (2011) ve Mamlouk ve Gullo (2013) temel olarak alınmış ve Roh vd., 2008 (*Commensalibacter*), Yamada vd., 2012b (*Komagataeibacter*), Malimast vd., 2013 (*Swingsia*), Ramirez-Bahena vd., 2013 (*Endobacter*), Vu vd., 2013 (*Nguyenibacter*), Li vd., 2015 (*Bombella*),’den yararlanılarak geliştirilmiştir.

Bununla birlikte AAB’lerinin mevcut taksonomik durumunun değişmeye devam edeceği düşünülmektedir. Bu grup içerisinde en fazla türe sahip cins, 26 tür ile *Acetobacter* cinsinde bulunmaktadır. EMBL/GenBank/DBJ gibi veri tabanlarına bakıldığında, çok sayıda AAB türünün kültüre edilemeyen özellikte olduğu görülmektedir. Bununla birlikte izolasyon ve tanımlama tekniklerinin her geçen gün hızla gelişmesi, yeni AAB türlerinin tanımlanmasına imkan sağlamaktadır (Trček ve Barja, 2015). Modern taksonomik prensiplerle tanımlanmış ilk AAB’si, 16S rRNA gen dizisine göre tanımlanmıştır. 1992 yılından günümüze kadar geçen süreçte 70’den fazla AAB türü tanımlanmış, bunlardan 25 adedi *Gluconoacetobacter* cinsine ait türler olarak belirlenmiş, ancak daha sonra bu cinse ait 14 adet türün, flagella, 2,5-

diketo-D-glukoz ve suda çözülebilir kahverengi pigment içermediği, ayrıca γ -pyrone bileşiği ürettiği belirlenmiş ve bu fenotipik özelliklere sahip türler *Komagataibacter* grubu içinde yeniden sınıflandırılmıştır (Yamada vd., 2012a, b). 1998 yılından itibaren her yıl (2003 hariç) en az bir yeni AAB türü tanımlanmıştır. Bu veriler Jean P. Euzéby tarafından <http://www.bacterio.net> adresinde “List of Prokaryotic Names” adı altında toplanmıştır. AAB’lerinin güncel taksonomisini içeren bu siteler önemli kaynaklardır (Trček ve Barja, 2015).

Tablo 2. Asetik asit bakterilerine ait güncel sınıflandırma (*Tablonun hazırlanmasında Sengun ve Karabiyikli (2011) ve Trček ve Barja (2015) ile birlikte Iino vd., 2012a (*A. okinawensis*, *A. papayae*, *A. persici*, *Ga. kakiaceti*), Iino vd., 2012b (*Ga. kakiaceti*), Tazato vd., 2012 (*Ga. asukensis*, *Ga. tumulicola*), Nishijima vd., 2013 (*Ga. aggeris*, *Ga. takamatsuzukensis*, *Ga. tumulisoli*), Spitaels vd., 2014 (*A. lambici*), Pitiwittayakul vd., 2015 (*A. thailandicus*), Vu vd., 2015 (*T. aidae*)’den yararlanılmıştır.)

Cins Adları	Tür Adları
<i>Acetobacter</i>	<i>A. aceti</i> , <i>A. cerevisiae</i> , <i>A. cibirongensis</i> , <i>A. estunensis</i> , <i>A. fabarum</i> , <i>A. farinalis</i> , <i>A. ghanensis</i> , <i>A. indonesiensis</i> , <i>A. lambici</i> , <i>A. lovaniensis</i> , <i>A. malorum</i> , <i>A. nitrogenifigens</i> , <i>A. oeni</i> , <i>A. okinawensis</i> , <i>A. orientalis</i> , <i>A. orleanensis</i> , <i>A. papayae</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>A. peroxydans</i> , <i>A. persici</i> , <i>A. pomorum</i> , <i>A. senegalensis</i> , <i>A. sicerae</i> , <i>A. syzygii</i> , <i>A. tropicalis</i> , <i>A. thailandicus</i>
<i>Acidomonas</i>	<i>Ac. methanolica</i>
<i>Ameyamaea</i>	<i>Am. chiangmaiensis</i>
<i>Asaia</i>	<i>As. astilbis</i> , <i>As. bogorensis</i> , <i>As. krungthepensis</i> , <i>As. lannaensis</i> , <i>As. siamensis</i> , <i>As. spathodeae</i> , <i>As. platycodi</i> , <i>As. prunellae</i>
<i>Bombella</i>	<i>B. intestini</i>
<i>Commensalibacter</i>	<i>C. intestini</i>
<i>Endobacter</i>	<i>E. medicaginis</i>
<i>Gluconacetobacter</i>	<i>Ga. aggeris</i> , <i>Ga. asukensis</i> , <i>Ga. azotocaptans</i> , <i>Ga. diazotrophicus</i> , <i>Ga. entanii</i> , <i>Ga. johannae</i> , <i>Ga. liquefaciens</i> , <i>Ga. sacchari</i> , <i>Ga. takamatsuzukensis</i> , <i>Ga. tumulicola</i> , <i>Ga. tumulisoli</i>
<i>Gluconobacter</i>	<i>G. albidus</i> , <i>G. cerevisiae</i> , <i>G. cerinus</i> , <i>G. frateurii</i> , <i>G. japonicus</i> , <i>G. kanchanaburiensis</i> , <i>G. kondonii</i> , <i>G. nephelii</i> , <i>G. oxydans</i> , <i>G. roseus</i> , <i>G. sphaericus</i> , <i>G. thailandicus</i> , <i>G. uchimurae</i> , <i>G. wancherniae</i>
<i>Granulibacter</i>	<i>Gr. bethesdensis</i>
<i>Komagataeibacter</i>	<i>K. europaeus</i> , <i>K. hansenii</i> , <i>K. intermedius</i> , <i>K. kakiaceti</i> , <i>K. kombuchae</i> , <i>K. maltaceti</i> , <i>K. medellinensis</i> , <i>K. nataicola</i> , <i>K. oboediens</i> , <i>K. rhaeticus</i> , <i>K. saccharivorans</i> , <i>K. sucrofermentans</i> , <i>K. swingsii</i> , <i>K. xylinus</i>
<i>Kozakia</i>	<i>Ko. baliensis</i>
<i>Neoasaia</i>	<i>N. chiangmaiensis</i>
<i>Neokomagataea</i>	<i>Ne. tanensis</i> , <i>Ne. thailandica</i>
<i>Nguyenibacter</i>	<i>Ng. vanlangensis</i>
<i>Saccharibacter</i>	<i>Sa. floricola</i>
<i>Swaminathania</i>	<i>Sw. salitolerans</i>
<i>Swingsia</i>	<i>S. samuiensis</i>
<i>Tanticharoenia</i>	<i>T. sakaeratensis</i> , <i>T. aidae</i>

2.3. Asetik asit bakterilerinin izolasyonu ve tanımlanması

AAB'leri bazı biyoteknolojik proseslerde ve endüstriyel ürünlerin üretiminde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yararlı uygulamaların yanı sıra AAB'leri şarap, bira, meyve suyu gibi ürünlerde bozulmalara neden olabilmektedir (Moore vd., 2002; Timke vd., 2004; Bartowsky ve Henschke, 2008; Kregiel, 2013). Dolayısıyla endüstriyel proseslerin mikrobiyolojik takibi ve bu işlemlerin hızlı metotlar kullanılarak yürütülmesi büyük önem taşımakta ve bu nedenle de AAB türleri için doğru ve aynı zamanda da hızlı tanımlama yapabilmek adına yeni yöntemler geliştirilmektedir (Alauzet vd., 2010; Trček ve Barja, 2015). Baena-Ruano ve arkadaşları (2006) tarafından toplam canlı ve cansız AAB'lerini belirlemek üzere hem Neubauer lamına hem de epiflorasans boyama tekniği ile uygulanan direk sayım yöntemine alternatif olabilecek hızlı bir metod geliştirilmiştir. Bu metotların avantajları şu şekilde rapor edilmiştir;

- i) Güvenilir ve hızlıdır,
- ii) Örnek hazırlığı kolaydır,
- iii) Canlı bakteriler yeşil ölü bakteriler kırmızı renkte göründüklerinden kolayca ayırt edilebilirler,
- iv) BackLight boyama zemine florasın oluşumuna neden olmaz (Sengun ve Karabiyikli, 2011).

AAB'lerinin izolasyonu amacıyla geliştirilen bir çok besiyeri bulunmasına rağmen, bu ortamlar tüm türlerin gelişimine imkan sağlayamamaktadır (Gullo vd., 2006). İçerik açısından karşılaştırıldıklarında bu besiyerlerinin benzer ancak farklı oranlarda etken madde içerdikleri görülmektedir (Tablo 3).

Tablo 3. AAB'lerinin izolasyonunda kullanılan besiyerleri ve içerikleri

Besiyeri	İçerik	Kaynak
Bromcresol Purple Agar	% 1 glukoz, % 1 maya ekstraktı, % 5 (% 0,04'lük) bromkresol moru, % 4 etanol, % 2 agar	Fu vd., 2013
Calcium Carbonate Agar	% 1 glukoz, %1 maya ekstraktı, % 2 CaCO ₃ , % 3 etanol, % 1,8 agar	Fu vd., 2013
Fermentation Broth	% 1 glukoz, %1 maya ekstraktı, % 0,05 KH ₂ PO ₄ , % 0,05 MgSO ₄ , % 6 etanol	Fu vd., 2013
Glucose Yeast Agar (GY)	% 1 maya ekstraktı, % 5 glukoz, % 2 agar	Mateo vd., 2014
Glucose Yeast Extract CaCO ₃ Medium (GYC)	% 5 D-glukoz, % 1 maya ekstraktı, % 1 etanol, % 0,05 bromkresol moru, % 1 CaCO ₃ , % 2 agar	Yetiman ve Kesmen, 2015
Glucose Yeast Extract CaCO ₃ Medium (GYC)	% 3 glukoz, % 0,5 maya ekstraktı, % 1 CaCO ₃ , % 3 etanol, % 1,5 agar	Lee vd., 2015
Glucose Yeast Extract CaCO ₃ Medium (GYC)	% 5 glukoz, % 1 maya ekstraktı, % 3 CaCO ₃ , % 2 agar	Mateo vd., 2014
Glucose Yeast Extract CaCO ₃ Medium (GYC)	% 10 glukoz, % 1 maya ekstraktı, % 2 CaCO ₃	Hidalgo vd., 2013
Glucose Yeast Extract CaCO ₃ Medium (GYC)	% 10 D-glukoz, % 0,5 maya ekstraktı, % 0,3 pepton, % 0,12 CaCO ₃ , % 0,12 agar	Carr ve Passmore, 1979
Glucose Yeast Medium(GY)	% 10 glukoz, % 1 maya ekstraktı	Hidalgo vd.,2013
Mannitol Yeast Extract Agar (MYP)	% 1 mannitol, % 1 maya ekstraktı, % 0,3 pepton, % 2 agar	Yetiman ve Kesmen, 2015
Malt Extract Agar (MYA)	% 1,5 arpa ekstraktı, % 0,5 maya ekstraktı, % 1,5 agar, 60 ml etanol	Gullo vd., 2006
Proliferation Broth	% 1 glukoz, % 1 maya ekstraktı, % 0,5 (% 0,02' lik) kristal viyole çözeltisi , 5mg/ml Nysfungin (5×10 ⁵ u), % 3 etanol	Fu vd., 2013
Reinforced AE-Medium (RAE)	% 4 D-glukoz, % 1 maya ekstraktı, % 1 pepton, % 0,15 sitrik asit, %2 etanol, % 0,38 Na ₂ HPO ₄ , % 1 ml glasiyal AcOH, % 1,5 agar	Zahoor vd., 2006
Simpler AE-Medium	% 0,5 glukoz, % 0,3 maya, % 0,4 pepton, % 0,9 agar, 3 ml etanol, 3ml glasiyal AcOH	Sokollek vd., 1998
Yeast Extract Calcium Carbonate Mannitol Agar (YCM)	% 2,5 mannitol, % 0,5 maya ekstraktı, % 1 CaCO ₃ , % 3 etanol, % 1,5 agar	Lee vd., 2015
Yeast Extract Peptone Mannitol Medium (YPM)	% 2,5 mannitol, % 0,5, maya ekstraktı, %0,3 pepton, % 1,2 agar	Gullo ve Giudici, 2008

Ekim yapılan petrielerde AAB'leri 30 °C'de 3-10 gün içerisinde gelişim göstererek tipik koloni oluşturlar ve genel olarak AAB'lerinin metabolik aktiviteleri katı besiyerinde koloni çevresinde halkasal temiz zon oluşumu şeklinde gözlemlenmektedir (Cleenwerck ve de Vos, 2008).

Uygun besi ortamı seçiminde, izolasyon yapılacak ortam büyük önem taşımaktadır. Örneğin, elma ve şarap sirkesinden izole edilecek AAB'leri için Reinforced AE-Medium (RAE Medium) uygun bir gelişme ortamı sağlarken daha yüksek oranda asetik asit içeren sirke çeşitlerinden (spirit vinegar) elde edilen izolatlar için AE Medium' un daha uygun olduğu bildirilmektedir (Sokollek vd., 1998). Ayrıca, balsamik sirke örneklerinden AAB'lerinin izolasyonu için Glucose Yeast Extract CaCO₃ Medium (GYC), AE, YPM Medium ve MYP Medium'un kullanımı önerilmektedir (Gullo vd., 2006; Mamlouk and Gullo, 2013).

İzolasyon amacı ile kullanılan besiyerleri canlı ancak kültüre edilemeyen (VNBC) türlerin belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Bununla birlikte ID32C, API 20 NE (bioMerieux) ve RapID NH (Remel) gibi minyatürize edilmiş fenotipik sistemler de AAB tanımlamasında kullanılmış ancak çok başarılı olmamıştır (Cleenwerck ve de Vos, 2008). Dolayısıyla AAB'lerinin kültüre edilebilme ve tanımlanmalarındaki bu zorlukların üstesinden gelebilmek üzere son yıllarda ağırlıklı olarak moleküler yaklaşımlardan yararlanılmaya başlanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Farklı kaynaklardan izole edilen AAB'lerinin tanımlamasında kullanılan moleküler yöntemler

Tanımlama Yöntemi	Tanımlanan AAB'leri	İzole Edildiği Kaynak	Kaynak
PCR (16S rDNA)	<i>T. aidae</i>	Şeker kamışı (Vietnam)	Vu vd., 2015
PCR (16S rDNA)	<i>A. aceti</i> , <i>A. pasteurianus</i>	Geleneksel Kore sirkesi (Kore)	Lee vd., 2015
PCR (16S rDNA)	<i>Ga. europaeus*</i> , <i>Ga. saccharivorans*</i>	Kefir (Türkiye)	Özdemir vd., 2015
PCR (16S rDNA)	<i>A. pasteurianus</i>	Hurma şarabı (Fildişi sahili)	Konate vd., 2014
PCR (16S rDNA)	<i>A. estunensis</i> , <i>A. orleonensis</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>A. pomorum</i> , <i>A. syzygii</i>	Kuru kayısı sirkesi (Çin)	Fu vd., 2013
PCR (16S RNA gene, 16S-23S RNA)	<i>A. malorum</i> , <i>Am. chiangmaiensis</i> , <i>As. lannaensis</i> , <i>As. siamensis</i> , <i>G. albidus</i> , <i>G. cerinus</i> , <i>G. frateurii</i> , <i>G. oxydans</i>	Üzüm (Güney Avustralya)	Mateo vd., 2014
PCR ((GTG)5-PCR fingerprint), 16S rDNA	<i>A. aceti</i> , <i>A. cibinongensis</i> , <i>A. indonesiensis</i> , <i>A. syzygii</i>	Geleneksel süt ürünleri (İran)	Haghshenas vd., 2015
PCR/DGGE	<i>A. aceti</i> , <i>A. polyoxogenes</i> , <i>G. oxydans</i> , <i>Ga. europaeus*</i>	Fermente içecekler (Hindistan)	Mamlouk and Gullo, 2013
PCR-DGGE (28S rRNA ve 16S rRNA)	<i>Ga. intermedius*</i>	Geleneksel kombucha (Vietnam)	Nguyen vd., 2015
PCR-DGGE (16S rRNA ve 26S rRNA)	<i>A. cerevisiae</i> , <i>A. nitrogenifigens</i> , <i>A. lovaniensis</i> , <i>G. xylinum*</i>	Kakao çekirdeği fermantasyonu (Fransa)	Hamdouche vd., 2015
PCR-DGGE (GTG)5-rep-PCR (16S rRNA, 16S-23S rRNA) (GTG)5-rep-PCR fingerprinting	<i>A. indonesiensis</i> , <i>A. ghanensis</i> , <i>A. okinawensis</i> , <i>A. persici</i> , <i>A. tropicalis</i> , <i>A. syzygii</i> , <i>As. krungthepensis</i> , <i>K. europaeus</i> , <i>K. intermedius</i> , <i>K. hansenii</i> , <i>K. nataicola</i> , <i>K. oboediens</i> , <i>K. saccharivorans</i> , <i>K. xylinus</i>	Geleneksel Türk sirkesi (Türkiye)	Yetiman ve Kesmen, 2015
ERIC-PCR ve (GTG)5-PCR	<i>A. cerevisiae</i> , <i>A. malorum</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>A. pomorum</i>	Yaban mersini şarabı (İspanya)	Hidalgo vd., 2013

Tablo 4. (devam ediyor)

LP-PCR (16S rRNA), PCR-DGGE (TaqMan-MGB ile) RT-PCR	<i>A. aceti</i> , <i>A. cerevisiae</i> , <i>A. malorum</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>Am. chiangmaiensis</i> , <i>As.</i> <i>bogorensis</i> , <i>As. krungthepensis</i> , <i>Ga. asukensis</i> , <i>Ga. azotocaptans</i> , <i>Ga. diazotrophicus</i> , <i>Ga. johanna</i> , <i>Ga. liquefaciens</i> , <i>G. oxydans</i> , <i>Ga. sacchari</i> , <i>K. europaeus</i> , <i>K. hansenii</i> , <i>K. nataicola</i> , <i>K. xylinus</i> , <i>T. sakaeratensis</i>	Çilek sirkesi biyofilmi (İspanya)	Valera vd., 2015
Rep-PCR (16S ve 26S rRNA)	<i>A. pasteurianus</i> , <i>A. lovaniensis</i> , <i>A. syzygii</i> , <i>Ga. saccharvorans</i> *	Kakao çekirdeği fermantasyonu (Afrika)	Visintin vd., 2015

*Yeni sınıflandırmada *Komagataeibacter* cinsine dahil edilmiştir.

Genel olarak AAB'lerinin moleküler düzeyde tanımlanması amacı ile en yaygın şekilde kullanılan yöntemler DNA-rRNA hibridizasyonu, DNA-DNA hibridizasyonu ve ribosomal RNA gen dizisidir (5S rRNA, 16S rRNA ve 23S rRNA). Bununla birlikte DGGE-PCR (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), TTGE-PCR (Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis), RFLP-PCR 16S rRNA ve 16S-23S ITS (Restriction Fragment Length Polymorphism of the 16S rRNA ve 16S-23S ITS regions), ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR), SS-PCR (Species-Specific-PCR), REP-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic-PCR) ve (GTG) 5-PCR gibi kültüre dayalı ve kültüre dayalı olmayan tekniklerin de AAB'lerinin genetik çeşitliliğini yüksek seviyede çözümlenebildiği kanıtlanmıştır. Son yıllarda alternatif moleküler tiplendirme metodlarından biri olan Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS), AAB'lerinin tanımlanmasında yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Bunun dışında AAB'lerinin farklı örneklerdeki seviyesini belirlemek amacıyla FISH (Fluorescence In Situ Hybridization), RT-PCR (Epi-fluorescence, Real-Time PCR), EMA-qPCR (Ethidium Monoazide in combination with quantitative PCR) gibi yöntemlerden de yararlanılmaktadır (Sengun, 2015). Sonuç olarak her ne kadar kültüre dayalı olmayan yöntemler tür bazında en doğru bilgiyi sağlıyor olsa da, klasik yöntemlerle kültürlerin izolasyon ve sürekliliğinin sağlanması büyük önem taşımakta ve bu nedenle AAB'lerinin tanımlanmasında fenotipik, kemotaksonomik ve genetik yöntemlerin bir arada kullanımının en doğru yaklaşım olduğu düşünülmektedir. Bu tip polifazik yaklaşımlar sayesinde, önceki yıllarda sınırlı sayıda türe sahip olduğu bilinen AAB'si grubunun, çok daha geniş bir çeşitliliğe sahip olduğu ortaya konulabilmiştir.

Kaynaklar

- Alauzet, C., Teyssier, C., Jumas-Bilak, E., Gouby, A., Chiron, R., Rabaud, C., Counil, F., Lozniewski, A., Marchandin, H. 2010. *Gluconobacter* as well as *Asaia* species, newly emerging opportunistic human pathogens among acetic acid bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*. 48/11: 3935-3942.
- Baena-Ruano, S., Jimenez-Ot, C., Santos-Duenas, I.M., Cantero-Moreno, D., Barja, F., Garcia-Garcia, I. 2006. Rapid method for total, viable and non-viable acetic acid bacteria determination during acetification process. *Process Biochemistry*. 41/5: 1160-1164.
- Bartowsky, E.J., Henschke, P.A. 2008. Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine-a review. *International Journal of Food Microbiology*. 125/1: 60-70.
- Camu, N., De Winter, T., Verbrugghe, K., Cleenwerck, I., Vandamme, P., Takrama, J.S., Vancanneyt, M., De Vuyst, L. 2007. Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Applied and Environmental Microbiology*. 73/6:1809-1824.
- Carr, J.G., Passmore, S.M. 1979. Methods for identifying acetic acid bacteria. In: *Identification methods for microbiologists*. (Eds) Skinner, F.A., Lovelock, D.W. Academic Press, UK. 33-47.
- Cleenwerck, I., de Vos, P. 2008. Polyphasic taxonomy of acetic acid bacteria: an overview of the currently applied methodology. *International Journal of Food Microbiology*. 125/1: 2-14.
- Conner, D.E., Kotrola, J.S. 1995. Growth and survival of *Escherichia coli* 0157:H7 under acidic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. 61/1: 382-385.
- Fu, L., Zhang, B., Zhang, F. 2013. Isolation and identification of acetic acid bacteria. 4 th International Conference on Food Engineering and Biotechnology, Urumqi. 50: 114-119.

- Gonzales, A. 2005. Application of molecular techniques for identification of acetic acid bacteria. PhD thesis, Universitat Rovira I Virgili, Tarragona, Spain.
- Gullo, M., Caggia, C., De Verò, L., Giudici, P. 2006. Characterization of acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. *International Journal of Food Microbiology*. 106/2: 209-212.
- Gullo, M., Giudici, P. 2008. Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *International Journal of Food Microbiology*. 125/1: 46-53.
- Haghshenas, B., Nami, Y., Abdullah, N., Radiah, D., Rosli, R., Barzegari, A., Khosroushahi, A.Y. 2015. Potentially probiotic acetic acid bacteria isolation and identification from traditional dairies microbiota. *International Journal of Food Science and Technology*. 50/4: 1056-1064.
- Hamdouche, Y., Guehi, T., Durand, N., Kedjebo, K.B.D., Montet, D., Meile, J.C. 2015. Dynamics of microbial ecology during cocoa fermentation and drying: Towards the identification of molecular markers. *Food Control*. 48: 117-122.
- Hidalgo, C., Garcia, D., Romero, J., Mas, A., Torija, M.J., Mateo, E. 2013. *Acetobacter* strains isolated during the acetification of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) wine. *Applied Microbiology*. 57/3: 227-232.
- Iino, T., Suzuki, R., Tanaka, N., Kosako, Y., Ohkuma, M., Komagata, K., Uchimura, T. 2012b. *Gluconacetobacter kakiaceti* sp. nov., an acetic acid bacterium isolated from a traditional Japanese fruit vinegar. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62: 1465-1469.
- Iino, T., Suzuki, R., Kosako, Y., Ohkuma, M., Komagata, K., Uchimura, T. 2012a. *Acetobacter okinawensis* sp. nov., *Acetobacter papayae* sp. nov., and *Acetobacter persicus* sp. nov.; novel acetic acid bacteria isolated from stems of sugarcane, fruits, and a flower in Japan. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 58/3: 235-243.
- Konate, M., Akpa, E.E., Koffi, I.B., Kra, K.A.S., Megnanou, R-M., Niamke, S.S. 2014. Isolation of thermotolerant and high acetic acid-producing *Acetobacter pasteurianus* from Ivorian palm wine. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 26/9: 773-785.
- Kregiel, D. 2013. Attachment of *Asaia lannensis* to materials commonly used in the beverage industry. *Food Control*. 32: 537-542.
- Lee, K.W., Shim, J.M., Kim, G.M., Shin, J-H., Kim, J.H. 2015. Isolation and Characterization of *Acetobacter* Species from a Traditionally Prepared Vinegar. *Microbiology and Biotechnology Letters*. 43/3: 219-226.
- Li, L., Praet, J., Borremans, W., Nunes, O.C., Manaia, C.L.M., Cleenwerck, I., Meeus, I., Smagghe, G., De Vuyst, L., Vandamme, P. 2015. *Bombella intestini* gen. nov., sp. nov., an acetic acid bacterium isolated from bumble bee crop. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*. 65: 267-273.
- Malimas, T., Chaipitakchonlatarn, W., Thi Lan Vu, H., Yukphan, P., Muramatsu, Y., Tanasupawat, S., Potacharoen, W., Nakagawa, Y., Tanticharoen, M., Yamada, Y. 2013. *Swingsia samuiensis* gen. nov., sp. nov., an osmotolerant acetic acid bacterium in the alpha-Proteobacteria. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 59: 375-384.
- Mamlouk, D., Gullo, M. 2013. Acetic acid bacteria: Physiology and carbon sources oxidation. *Indian Journal of Microbiology*. 53/4: 377-384.
- Mateo, E., Valera, M.J., Torija, M.J., Mas, A. 2014. Cellulose production and cellulose synthase gene detection in acetic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99/3: 1349-1361.
- Moore, J.E., Mc Calmont, M., Xu, J., Millar, B.C., Heaney, N. 2002. *Asaia* sp., an unusual spoilage organism of fruit-flavored bottled water. *Applied and Environmental Microbiology*. 68/8: 4130-4131.
- Nguyen, N.K., Nguyen, P.B., Nguyen, H.T., Le, P.H. 2015. Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. *LWT - Food Science and Technology*. 64/2: 1149-1155.
- Nishijima, M., Tazato, N., Handa, Y., Tomita, J., Kigawa, R., Sano, C., Sugiyama, J. 2013. *Gluconacetobacter tumulisoli* sp. nov., *Gluconacetobacter takamatsuzukensis* sp. nov. and *Gluconacetobacter aggeris* sp. nov., isolated from Takamatsuzuka Tumulus samples before and during the dismantling work in 2007. *International Journal of Systematic Evolutionary and Microbiology*. 63: 3981-3988.
- Özdemir, N., Kök Taş, T., Güzel-Seydim Z.B. 2015. Effect of *Gluconacetobacter* spp. on Kefir grain and Kefir quality. *Food Science and Biotechnology*. 24/1: 99-106.
- Pitiwittayakul, N., Yukphan, P., Chaipitakchonlatarn, W., Yamada, Y., Theeragool, G. 2015. *Acetobacter thailandicus* sp. nov., for a strain isolated in Thailand. *Annals of Microbiology* 65: 1855-1863.
- Ramirez-Bahena, M.H., Tejedor, C., Martín, I., Velázquez, E., Peix, A. 2013. *Endobacter medicaginis* gen. nov., sp. nov., isolated from alfalfa nodules in an acidic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63: 1760-1765.
- Raspor, P., Goranovic, D. 2008. Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*. 28/2: 101-124.
- Roh, S.W., Nam, Y.D., Chang, H.W., Kim, K.H., Kim, M.S., Ryu, J.H., Kim, S.H., Lee, W.J., Bae, J.W. 2008. Phylogenetic characterization of two novel commensal bacteria related to innate immune homeostasis in *Drosophila*. *Applied and Environmental Microbiology*. 74/20: 6171-6177.
- Sengun, I., Karabiyikli S. 2011. Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*. 22/5: 647-656.
- Sengun, I.Y. 2015. Acetic Acid Bacteria in Food Fermentations. In: *Fermented Foods: Part 1. Biochemistry and Biotechnology* (Eds) Montet, D., Ray, R.C. CRC Press. 91-111.

- Sokollek, S.J., Hertel, C., Hammes, W.P. 1998. Cultivation and preservation of vinegar bacteria. *Journal of Biotechnology*. 60/3: 195-206.
- Spitaels, F., Li, L., Wieme, A., Balzarini, T., Cleenwerck, I., Van Landschoot, A., De Vuyst, L., Vandamme, P. 2014. *Acetobacter lambici* sp. nov., isolated from fermenting lambic beer. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64/4: 1083-1089.
- Tazato, N., Nishijima, M., Handa, Y., Kigawa, R., Sano, C., Sugiyama, J. 2012. *Gluconacetobacter tumulicola* sp. nov. and *Gluconacetobacter asukensis* sp. nov., isolated from the stone chamber interior of the Kitora Tumulus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62: 2032-2038.
- Timke, M., Wolking, D., Wang-Lieu, N.Q., Altendorf, K., Lipski, A. 2004. Microbial composition of biofilms in a brewery investigated by fatty acid analysis, fluorescence in situ hybridization and isolation techniques. *Applied and Environmental Microbiology*. 66: 100-107.
- Trček, J., Barja, F. 2015. Updates on quick identification of acetic acid bacteria with a focus on the 16S–23S rRNA gene internal transcribed spacer and the analysis of cell proteins by MALDI-TOF mass spectrometry. *International Journal of Food Microbiology*. 196: 137-144.
- Valera, M.J., Torija, M.J., Mas, A., Mateo, E. 2015. Acetic acid bacteria from biofilm of strawberry vinegar visualized by microscopy and detected by complementing culture-dependent and culture-independent techniques. *Food Microbiology*. 46: 452-462.
- Visintin, S., Alessandria, V., Valente, A., Dolci, P., Coccolin, L. 2015. Molecular identification and physiological characterization of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria isolated from heap and box cocoa bean fermentations in West Africa. *International Journal of Food Microbiology*. 216: 69-78.
- Vu, H.T.L., Malimas, T., Chaipitakchonlatarn, W., Bui, V.T.T., Yukphan, P., Bui, U.T.T., Muramatsu, Y., Sitdhipol, J., Tanasupawat, S., Duong, K.C., Nakagawa, Y., Pham, H.T., Yamada, Y. 2015. *Tanticharoenia aidae* sp. nov., for acetic acid bacteria isolated in Vietnam. *Annals of Microbiology*. 66/1: 417-423.
- Vu, H.T.L., Yukphan, P., Chaipitakchonlatarn, W., Malimas, T. et al. 2013. *Nguyenibacter vanlangensis* gen. nov., sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the α -Proteobacteria. *Journal of General and Applied Microbiology*. 59/2: 153-166.
- Wang, B., Shao, Y., Chen, F. 2015. Overview on mechanisms of acetic acid resistance in acetic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 31/2: 255-263.
- Yamada, Y., Yukphan, P., Vu, H.T.L., Muramatsu, Y., Ochaikul, D., Nakagawa, Y., 2012a. Subdivision of the genus *Gluconacetobacter*. *Annals of Microbiology*. 62/2: 849-859.
- Yamada, Y., Yukphan, P., Vu, H.T.L., Muramatsu, Y., Ochaikul, D., Tanasupawat, S., Nakagawa, Y., 2012b. Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae). *Journal of General and Applied Microbiology*. 58: 397-404.
- Yetiman, A.E., Kesmen, Z. 2015. Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular technique. *International Journal of Food Microbiology*. 204: 9-16.
- Yukphan, P., Malimas, T., Potacharoen, W., Tanasupawat, S., Tanticharoen, M., Yamada, Y. 2005. *Neoasaia chiangmaiensis* gen. nov., sp. nov., a novel osmotolerant acetic acid bacterium in the α -Proteobacteria. *Journal of General and Applied Microbiology*. 51: 301-311.
- Zahoor, T., Siddique, F., Farooq, U. 2006. Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacter aceti*) from indigenous sources. *British Food Journal*. 108/6: 429-439.

(Received for publication 15 February 2016; The date of publication 15 April 2016)