

**ERZURUM İLİ PATATES TARLALARINDAN
İZOLE EDİLEN BİTKİ PATOJENİ *Streptomyces*
TÜRLERİNİN TANISI VE KARAKTERİZASYONU**

Kenan KARAGÖZ

**Doktora Tezi
Bitki Koruma Ana Bilim Dalı
Doç. Dr. Recep KOTAN**

**2013
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ERZURUM İLİ PATATES TARLALARINDAN İZOLE EDİLEN
BİTKİ PATOJENİ *Streptomyces* TÜRLERİNİN TANISI VE
KARAKTERİZASYONU

Kenan KARAGÖZ

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

ERZURUM
2013

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

Erzurum İli Patates Tarlalarından İzole Edilen Bitki Patojeni *Streptomyces* Türlerinin Tanısı ve Karakterizasyonu

Doç. Dr. Recep KOTAN danışmanlığında, **Kenan KARAGÖZ** tarafından hazırlanan bu çalışma 11/06/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Bitki Koruma** Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Yeşim AYSAN

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Erol YILDIRIM

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Hidayet BOSTAN

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Recep KOTAN

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum



Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: 2012/ 231

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

ÖZET

Doktora Tezi

ERZURUM İLİ PATATES TARLALARINDAN İZOLE EDİLEN BİTKİ PATOJENİ *Streptomyces* TÜRLERİNİN TANISI VE KARAKTERİZOSYONU

Kenan KARAGÖZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Recep KOTAN

Bu çalışmada; Erzurum ili patates üretim alanlarında adi uyuz hastalığına neden olan *Streptomyces* türlerinin tanısı ve karakterizasyonu hedeflenmiştir. Uyuz belirtileri taşıyan patates yumrularından izolasyonlar yapılmış ve *Actinomyces* benzeri koloni yapısı sergileyen strainler kültüre alınmıştır. Bu strainler arasından patojenite testleri pozitif olarak değerlendirilenler klasik (spor zinciri şekli ve rengi, toksik maddelere duyarlılık, melanin ve çözünebilir pigment üretimi) ve moleküler metotlarla (Polimeraz Zincir Reaksiyonu=PCR) tanılanmıştır. Mikrobiyal tanı sistemi (MIS) kullanılarak izolatların yağ asidi metil ester profilleri belirlenmiş ve patojenite bölgelerindeki hedef genlerin (TxtAB, Nec1, TomA) varlığı araştırılmıştır.

Araştırma sonucunda; toplam 114 fitopatojen *Streptomyces* straini elde edilmiştir. Bunlardan 47'si *Streptomyces scabiei*, 15'i *Streptomyces bottropensis*, 8'i *Streptomyces stelliscabiei*, 5'i *Streptomyces setonii*, 4'ü *Streptomyces eupopascabiei*, 4'ü *Streptomyces violaceus*, 3'ü *Streptomyces puniscabiei*, 2'si *Streptomyces luridiscabiei* ve 2'si de *Streptomyces intermedius* olarak tanılanmıştır. Geri kalan 24 strainin ise tür seviyesinde tanısı yapılamamıştır. MIS ve PCR metotları ile tüm strainler cins düzeyinde *Streptomyces* olarak tanılanmıştır. Ayrıca *S. scabiei*, *S. bottropensis*, *S. stelliscabiei* ve *S. europaeiscabiei* strainlerinin tür düzeyinde tanıları PCR ile de desteklenmiştir. *S. stelliscabiei*, *S. bottropensis*, *S. europaeiscabiei*, *S. violaceus*, *S. setonii*, *S. puniscabiei*, *S. luridiscabiei* ve *S. intermedius* türlerinin Türkiye için; tanılanan tüm türlerin ise Doğu Anadolu Bölgesi için patates bitkisinde yeni kayıt olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, yapılan analizler strainlerin patojenite bölgelerinde TxtAB operonu, Nec1 ve TomA genlerini sırasıyla %90, %94 ve %95 oranında ihtiva ettiğini göstermiştir. Ancak, bu genlerden bir veya birkaçı açısından noksanlık gösterebilen strainlerin de var olduğu tespit edilmiştir.

2013, 116 sayfa

Anahtar Kelimeler: Erzurum, Patates uyuzu, *Streptomyces*, MIS, PCR

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PLANT PATHOGENIC *Streptomyces* SPECIES FROM POTATO FIELDS IN ERZURUM PROVINCE

Kenan KARAGÖZ

Atatürk University
Natural Sciences Institute
Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Recep KOTAN

In this study, the identification and characterization of plant pathogenic *Streptomyces* species, which cause scab lesions in potato production areas of Erzurum province, was aimed. Isolations made from potato tubers with symptoms of scabies, and *Actinomycetes*-resembling bacterial colonies were cultivated. The strains with positive pathogenicity reaction were identified according to classical (spore chain and color, susceptibility to toxins, melanin and soluble pigment production) and molecular methods (polymerase chain reaction=PCR). Fatty acid methyl ester profiles of the isolates were identified using microbial identification system (MIS) and presence of target genes (TxtAB, Nec1, TomA) were investigated in pathogenicity island (PAI).

As a result of the research; a total of 114 phytopathogen *Streptomyces* strains were obtained. Of these; 47 strains were determined as *Streptomyces scabiei*, 15 as *Streptomyces bottropensis*, 8 as *Streptomyces stelliscabiei*, 5 as *Streptomyces setonii*, 4 as *Streptomyces eupopascabiei*, 4 as *Streptomyces violaceus*, 3 as *Streptomyces puniscabiei*, 2 as *Streptomyces luridiscabiei*, and 2 as *Streptomyces intermedius*. The remaining 24 strains could not be identified at species level. All strains were identified as *Streptomyces* at genus level by MIS and PCR methods. Moreover, species level identifications of *S. scabiei*, *S. bottropensis*, *S. stelliscabiei* and *S. europaeiscabiei* strains were supported with PCR. *S. stelliscabiei*, *S. bottropensis*, *S. europaeiscabiei*, *S. violaceus*, *S. setonii*, *S. puniscabiei*, *S. luridiscabiei* and *S. intermedius* species are first records on potato for Turkey and, all identified strains are first records on potato for Eastern Anatolia Region. In addition, the analyzes showed the existence of TxtAB operon and Nec1 and TomA genes in pathogenicity island at rates of 90%, 94% and 95%, respectively. However, it was also determined that some strains lacked one or more of these genes.

2013, 116 pages

Keywords: Erzurum, Scab disease, *Streptomyces*, MIS, PCR, PAI

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasını titizlikle takip eden, maddi manevi hiçbir desteği esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Recep KOTAN'a, tez izleme komitesinde yer alarak katkılarıyla çalışmamı yönlendiren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk Algur ve Sayın Prof. Dr. Erol Yıldırım'a teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca fikirleri ve becerileri ile hep yanımda olan, değerli dostum ve mesai arkadaşım Sayın Arş. Gör. Fatih DADAŞOĞLU'na, yine çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen abim Sayın Yrd. Doç. Dr. Yalçın KARAGÖZ'e, daima ilgisini ve desteğini gördüğüm değerli hocam Sayın Doç. Dr. Neslihan DİKBAŞ'a, katkılarından dolayı kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN ve Sayın Prof. Dr. Hidayet BOSTAN'a, burada isimlerini sayamadığım, birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum, aynı zamanda çok şey öğrendiğim değerli hocalarıma ve arkadaşlarıma, hayatımın her döneminde seçimlerimi yargılamadan bana destek olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Kenan KARAGÖZ

Mayıs 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	33
3.1. Materyal.....	33
3.1.1. Yararlanılan cihazlar	33
3.1.2. Kullanılan besi yerleri ve çözeltilerin hazırlanışı.....	34
3.2. Yöntem	39
3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması	39
3.2.2. İzolasyon	39
3.2.3. Patojenite testi	40
3.2.4. Morfolojik testler.....	40
3.2.5. Biyokimyasal testler	41
3.2.6. Strainlerin MIS sistemi ile yağ asit profillerinin belirlenmesi	43
3.2.7. Strainlerin kullandığı karbon kaynaklarının belirlenmesi	45
3.2.8. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	46
3.2.9. İstatistik analiz.....	48
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	50
4.1. İzolasyon Sonuçları	50
4.2. Patojenite Test Sonuçları.....	51
4.3. Bakteriyel Strainlerin Yağ Asidi Metil Esterleri Analizi Sonuçları.....	52
4.4. Morfolojik ve Biyokimyasal Test Sonuçları	57
4.5. Patojen Strainlerin Kullanabildiği Karbon Kaynakları	75
4.6. 16S rDNA PCR Sonuçları	78

4.7. Spesifik PCR Sonuçları	79
4.8. Patojen Strainlerin Patojenite Karakteristikleri	86
4.8.1. Patojen Strainlerin Nec1 Patojenite Geni Test Sonuçları.....	86
4.8.2. Patojen Strainlerin TomA Patojenite Geni Test Sonuçları.....	86
4.8.3. Patojen Strainlerin TxtAB Operonu Test Sonuçları	89
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	92
KAYNAKLAR	108
ÖZGEÇMİŞ	117

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
bp	Baz çifti
CaCO ₃	Kalsiyum karbonat
Cm	Santimetre
dH ₂ O	Distil su
Dk	Dakika
G	Gram
HCl	Hidroklorik asit
IU	Penisilin ünitesi
Kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan bakteri sayısı
L	Litre
MBO	Modifiye Bennet Agar
Mg	Miligram
MIS	Mikrobiyal tanı sistemi
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mol	Mol
NA	Nutrient agar
NaClO	Sodyum hipoklorit
ng	Nanogram
OMA	Yulaf Unu Agar
PYI	Pepton Iron Agar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
rpm	Santriüj dönüş hızı
Sa	Saat
SA	Su Agarı
sdH ₂ O	Steril ve distil su
sH ₂ O	Steril su
Sn	Saniye
TSA	Tyrypticase Soy Agar

TSB	Tyrypticase Soy Broth
TYR	Tyrosine Agar
V	Volt
YME	Yeast malt Extract Agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Farklı tipte uyuz belirtileri	50
Şekil 4.2. Negatif ve pozitif patojenite sonucu	52
Şekil 4.3. Spiral ve rektiflexous tipte spor zincirleri	71
Şekil 4.4. Grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9 strainlerinin YME agar besi yeri üzerindeki görünüşü	72
Şekil 4.5. Grup 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18,19, 20 ve 21 strainlerinin YME agar besi yeri üzerindeki görünüşü	73
Şekil 4.6. PYI agar üzerinde melanin üretimi	74
Şekil 4.7. KS542 ve KS474 nolu strainlerin YME besiyerinde ürettikleri, kırmızı ve mavi renkte çözünebilir pigmentler	74
Şekil 4.8. Bazı strainlere ait 16S rDNA PCR sonuçları	78
Şekil 4.9. <i>S. scabiei</i> strainlerine ait spesifik PCR sonuçları (A).....	79
Şekil 4.10. <i>S. scabiei</i> strainlerine ait spesifik PCR sonuçları (B)	80
Şekil 4.11. <i>S. scabiei</i> strainlerine ait spesifik PCR sonuçları (C)	80
Şekil 4.12 <i>S. scabiei</i> ve <i>S. europaeiscabiei</i> strainlerine ait spesifik PCR sonuçları	81
Şekil 4.13. <i>S. stelliscabiei</i> strainlerine ait spesifik PCR sonuçları	82
Şekil 4.14. <i>S. bottropensis</i> strainlerine ait spesifik PCR sonuçları	82
Şekil 4.15. Nec-1 patojenite genine ait PCR sonuçları	87
Şekil 4.16. TomA patojenite genine ait PCR sonuçları	88
Şekil 4.17. TxtAB operonuna ait PCR sonuçları	90

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Erzurum İli merkez ve ilçelere ait patates üretim değerleri.....	2
Çizelge 3.1. Kullanılan primerlere ait bazı özellikler	49
Çizelge 4.1. Patojen strainlerin maksimum, minimum ve ortalama yağ asidi metil ester içerikleri	56
Çizelge 4.2. Patojen strainlere ait bilgiler.....	58
Çizelge 4.3. Patojen strainlerin kullabildiği ISP şekerleri	76
Çizelge 4.4. Streptomyces strainlerinin farklı metotlara göre tanı sonuçlar.....	83
Çizelge 4.5. Strainlerin sahip olduğu patojenite genleri	91
Çizelge 5.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler yolu ile tanısı yapılan 9 türe ait özellikler	98

1. GİRİŞ

Türkiye bitkisel ürün yelpazesinin önemli elemanlarından biri olan patates (*Solanum tuberosum* L.); anavatanı Güney Amerika'nın And Dağları olan ve en az 8000 yıldır yetiştiriciliği yapılan bir bitkidir. Sistematik olarak *Plantae* alemi, *Magnoliophyta* şubesi, *Magnoliopsida* sınıfı, *Solanales* takımı, *Solanaceae* familyası ve *Solanum* cinsi içinde yer almaktadır (Anonymous 2012).

Peru'dan Avrupa'ya 16. yüzyılda getirilmiş ve buradan diğer kıtalara yayılmış olan patates, günümüzde 100'den fazla ülkede üretilmekte, üretim miktarı açısından buğday, mısır ve pirinçten sonra dördüncü sırayı almaktadır (Rowe 1993). Belki de bu yüzden bazı araştırmacılar tarafından patatesin dünya genelinde baş gösteren kıtlık tehlikesi riskini azaltabileceği düşünülmüştür (Agrios 1997). İnsan beslenmesinde önemli bir enerji ve vitamin kaynağı olarak taze olarak tüketiminin yanı sıra, dondurularak, kurutulularak ve konserve şeklinde de tüketimi yapılan patates, aynı zamanda cips ve patates nişastası üretimi açısından da önemli bir hammadde durumundadır (Valkonen 2004; Rowe 1993).

Patates ülkemize 100-150 yıl önce Kafkasya üzerinden gelmiş olup; 2011 yılı verilerine göre, ekiliş alanının 1.428.849 dekar ve üretiminin ise 4.613.071 ton olduğu belirtilmiştir (Anonim 2011). Türkiye'nin önemli patates alanlarından birisi de 37.204 dekar arazi üzerinde 85.640 tonluk üretimi ile Erzurum İli'dir (Anonim 2011). Erzurum İli'nde patates üretimi ilçeler bazında değerlendirildiğinde; en çok üretimin 21.500 dekar arazi üzerinde, 53.700 ton ile Pasinler, en az üretimin ise 50 dekar arazi üzerinde 120 tonluk üretimi ile Olur ilçelerinde yapılmaktadır. TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) tarafından yayınlanan 2011 yılı verileri; Aşkale, Çat, Tekman, Karaçoban ve Karayazı İlçeleri'ni kapsamamıştır. İlçelere ait 2011 yılı üretim ve verim değerleri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Erzurum İli merkez ve ilçelere ait patates üretim değerleri (Anonim 2011)

	Üretim alanı (dk)	Üretim miktarı (ton)	Verim (kg/dk)		Üretim alanı (dk)	Üretim miktarı (ton)	Verim (kg/dk)
Pasinler	21500	53750	2,50	İspir	100	200	2,00
Merkez	4859	10234	2,10	Pazaryolu	60	111	1,85
Narman	2750	5500	2,00	Hınıs	56	112	2,20
Oltu	2400	4800	2,00	Olur	50	120	2,40
Şenkaya	2160	4536	2,10	Aşkale	-	-	-
Tortum	1420	2840	2,00	Çat	-	-	-
Köprüköy	519	908	1,75	Karayazı	-	-	-
Horasan	310	465	1,50	Karaçoban	-	-	-
Uzundere	120	2264	2,20	Tekman	-	-	-

*-: Üretim değeri bilinmemektedir

Tarımsal üretimin, kitlelerin hayatının devamındaki yadsınamaz rolü, üreticiler ve tüketiciler açısından kalite ve verimin artması çalışmalarının itici gücü durumundadır. Bu güç tüm dünyadaki bilim adamlarını tarımsal üretim açısından istenmeyen her türlü biyotik ve abiyotik faktörün etkisini minimize etmeye yönlendirmektedir.

Olumsuz çevre koşulları (don, dolu, rüzgar, kuraklık vs.) veya patojenik mikroorganizmaların (fungus, bakteri, virüs, viroid, fitoplazma vs.) saldırısına maruz kalan bitkilerin normal hayatsal faaliyetlerindeki bozulma ve buna bağlı olarak meydana gelen, doğrudan veya dolaylı zararlanmalar bitki hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Bu durum tarım ürünlerinde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olmakta, önlem alınmadığı takdirde ürün kayıpları %65'ler dolayına ulaşabilmektedir (Agrios 1997).

Bu kayıplar içerisinde bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıklar önemli bir yere sahiptir. Günümüzde tarım ürünlerinde görülen verim ve kalite kayıplarının en önemli sebeplerinden birisi bitki hastalıklarıdır. Food and Agriculture Organization (FAO) tarafından yayınlanan 1993 yılı istatistiklerine göre, her yıl dünya tarım ürünlerinin en az %12'lik bir bölümü (tarla ve depo şartlarında) patojen mikroorganizmaların neden olduğu bitki hastalıklarından dolayı kaybedilmekte; bu oran az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde daha da fazla olmaktadır.

Yapılan araştırmalar, bitki hastalıklarına %60–75 oranında fungus ve bakteriler, %10–15 oranında virüs ve viroidler, %10 oranında ise diğer patojenler ve çevresel faktörlerin sebep olduğunu göstermektedir (Agrios 1997). Çoğu kültür bitkisi gibi patates de fungal, bakteriyel ve viral hastalıkların etkisine maruz kalmaktadır. Bakteri ve benzeri hastalıklar açısından değerlendirildiğinde, patates bitkisinin karabacak, bakteriyel solgunluk, uyuz, halka çürüklüğü, stolbur ve zebra lekesi gibi hastalıklardan zarar görebildiği bildirilmiştir (Han *et al.* 2005; Gudmestad and Secor 2007; Saygılı vd 2008).

Bunlardan karabacak veya yumuşak çürüklük hastalığı etmenlerinin *Pectobacterium caratovororum* subsp. *atroseptica* (*Erwinia caratovora* subsp. *atroseptica*), *Pectobacterium caratovororum* subsp. *caratovororum* (*Erwinia caratovora* subsp. *caratovora*) ve *Dickeya* sp. (*Erwinia chrysantemi*) olduğu bildirilmiştir. Bunlardan özellikle tropik ve subtropik bölgelerde krizantem, domates, ayçiçeği ve patateslerde solgunluk ve gövde çürüklüğüne neden olan *E. chrysantemi*'nin Ege ve Akdeniz Bölgelerinde seralarda domates gövde çürüklüğüne neden olduğu da bildirilmiştir (Aysan *et al.* 2005). Benlioğlu (1991) tarafından Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde yürütülen bir çalışmada *P. caratovora* subsp. *caratovora*'nın neden olduğu çürük yumru yüzdesi %0,49-1,25 arasında değişirken, bulaşma oranı ise %3,99 ila 8,97 arasında değişiklik göstermiştir. *P. caratovororum* subsp. *atroseptica* sadece patatesten hastalık oluşturmakla beraber son yıllarda yapılan çalışmalarda biber ve domateste de çürüklüğe neden olduğu bildirilmiştir (Malathrakis and Goumas 1987; Stommel *et al.* 1996). *P. caratovororum* subsp. *caratovororum* ise dünyanın hemen her yerinde yaygın

olarak bulunan ve çok fazla sayıda konukçuda çürüklüğe neden olabilen bir bakteridir (Saygılı vd 2008). Bir diğer hastalık etmeni ise patatesin yanı sıra muz, tütün ve domateste de hastalık yapabilen *Ralstonia solanacearum*'dur. Patateslerde iletim demetlerinde çürüme, solgunluk, yumrulara bakteriyel akıntı, nekroz gibi semptomlara neden olan etmen ülkemizde 1995 yılında Nevşehir'de kısıtlı bir alanda görülmüş ve buradan eradike edilmiştir (Özakman ve ark. 1998). Daha sonra Balıkesir Ayvalık'ta ve Çanakkale'de bazı yabancı otlar üzerinde tespit edilmiştir (Ustun *et al.* 2008; Ustun *et al.* 2007a; Ustun *et al.* 2007b).

Patateslerde görülen diğer bir bakteriyel hastalık, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*'un neden olduğu bakteriyel halka çürüklüğüdür. Bu hastalık etmeni tüm dünyada karantinaya tabi olup, doğal olarak yalnızca patates bitkisini hastalandırmaktadır. Ancak suni inokulasyon yolu ile farklı *Solanum* ve *Lycopersicon* türlerinde de belirti oluşturduğu bildirilmiştir. Etmen, patates yapraklarında solma, içe doğru kıvrılma ve yer yer nekrotik lekeler gibi belirtiler sergilerken, yumruların iletim demetleri halkasında sarı-krem renkli peynirimsi görünümlere neden olur. Saygılı ve arkadaşları (2008) Türkiye'de hastalığın ilk kayıtlarının 1947 ve 1962 tarihli çalışmalarda verildiğini, fakat aslında etmenin var olmadığını belirtmişlerdir. Ancak Altundağ (2008) ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada etmene Kayseri İlin'de rastlandığı rapor edilmiştir.

Patateslerde zarara neden olan önemli bir patojen grubu da stolbur hastalığı etmeni olarak bilinen fitoplazmalardır (*Phytoplasma* spp.). Bitkilerin iletim demetlerine arız olan fitoplazmalar obligat parazit organizmalardır ve kültüre alınamazlar. Patates yapraklarında renk değişimi, kıvrılmalar ve deformasyonlara neden olurlar. Türkiye'de fitoplazmaların domates ve patateslerde önemli ürün kayıplarına neden olduğu, bunun yanı sıra fitoplazma kaynaklı patates zararının özellikle Doğu Anadolu Bölgesin'de ciddi problem teşkil ettiği bildirilmiştir (Saygılı vd 2008). Yine patates bitkisinde zarar neden olan hastalıklarından biri de *Candidatus liberibacter solanacearum*'un neden olduğu zebra lekesi (zebra-chip) hastalığıdır. Ancak bu hastalığın ilk olarak görüldüğü Meksika'nın yanı sıra, Amerika Birleşik Devletleri, Yeni Zelanda, Honduras gibi

ülkelerde varlığı bilinmekle beraber (Gudmestad and Secor 2007), Türkiye’de varlığına dair herhangi bir kayıt bulunmamaktadır.

Patates bitkisinde zarara neden olan en önemli hastalıklardan birisi de adi uyuz hastalığıdır. Etmeni başta *Streptomyces scabiei* olmak üzere birçok *Streptomyces* türü olan hastalık, yumru kalitesinin bozulmasına ve pazar değerinin düşmesine de neden olmaktadır. Ayrıca neden oldukları yaralar fungus, nematod ve bakteriler için giriş kapısı teşkil etmektedir (Karahan 2006).

Karahan (2006) tarafından bildirildiğine göre lezyonlu yumrular depoya kaldırıldığında çürümektedir. Bu nedenle üreticiler, hastalık belirtileri taşıyan yumruları tarlada bırakmaktadırlar. Hastalıklı yumruların tarlada bırakılması daha sonraki yıllar için toprakta inokulum kaynağı oluşturmakta ve bir sonraki yıl hastalığın daha yoğun olarak ortaya çıkmasına sebebiyet vermektedir. Ayrıca hastalıkla bulaşık yumrular tarlada bırakıldığından, üretici ekonomik olarak kayba uğramaktadır.

Patateste patojen olan *Streptomyces* türlerinin çoğu pancar, turp, şalgam, yer fıstığı, tatlı patates ve havuç gibi bitkilerde de patojendir. Ayrıca bazı tek ve çift çenekli bitkilerin fidelerine zarar verebilmektedir. Patojenlerin belirti oluşturabilmesi için bitkinin yaralanmasına gerek yoktur. Belirtilerin; genel olarak yara bulunan bölgelerde görülmesine rağmen, patojen lentisellerden de bitkiye giriş yapabilmektedir. Yine belirtiler kök boğazı ve stolonlar üzerinde de görülebilmektedir (Wanner 2009).

Farklı tipte hastalık belirtilerine neden olabilen etmenler genel olarak yumru üzerinde ağımsı, mantarimsı, çukur veya kabarık lezyonlara sebebiyet vermektedir. Patojenlerin sergiledikleri lezyon tipinin; bitki çeşidi, enfeksiyon zamanı, patojenin virulanslığı ve çevresel faktörlerin etkisi altında olduğu bilinmektedir (Wanner 2011). Yine belirtilerin hastalığa neden olan *Streptomyces* türüne bağlı olarak da değişiklik gösterdiği daha önce yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Örneğin; *S. scabiei*’nin tipik kabarık uyuz simptomu sergilediği, yine *Streptomyces acidiscabies* ve *Streptomyces europaeiscabiei* türlerinin de tipik uyuz simptomu sergileyen türler olduğu, bunun yanı sıra diğer patojen

türlerin ise genel olarak ağımsı, mantarimsı ve çukur gibi farklı lezyon tipleri sergileyebildiği bildirilmiştir (Stead and Wale 2004).

Sistematik olarak *Streptomyces* türleri; *Bacteria* alemi, *Actinobacteria* şubesi, *Actinobacteria* sınıfı, *Actinomycetales* takımı, *Streptomycetaceae* familyası, *Streptomyces* cinsi içinde yer almaktadırlar (Anonymous 2012), Patates yumrusuna stoma veya lentiseller yolu ile giriş yapabilirler. Gerek toprak ve gerekse tohum kaynaklı olabilen etmenler, çevresel şartlar ve inokulum miktarına bağlı olarak enfeksiyon şiddetini artırabilirler (Stead and Wale 2004).

Patojen *Streptomyces*'lerin özellikle toprakta rekabet açısından etkin olduğu bilinmektedir. İşte bu toprakta yaşama yetenekleri inokulumun bir yıldan diğerine aktarılmasında ana etken olarak rol oynamaktadır (Loria *et al.* 1997). Yeni türlerin farklı coğrafik alanlara yayılması ise bulaşık yumrular vasıtasıyla olmaktadır.

Hastalığın coğrafi yayılışına bakıldığında; birçok etmenin farklı bölgelerde rapor edildiği görülmektedir. Amerika, Japonya, Kore, Kanada, Finlandiya, Danimarka, Fransa, İngiltere, Hollanda ve Rusya bunlardan bazılarıdır (Lambert and Loria 1989a; Goyer-Faucher and Beaulieu 1996; Kreuze *et al.* 1999; Bouchek-Mechiche *et al.* 2000; Park *et al.* 2003; Lethonen *et al.* 2004). Türkiye'de ise Bremer'in 1948 yılında yaptığı makroskopik gözlemlerden beri hastalığın varlığı bilinmektedir (Karahana 2006).

Hastalığın mücadelesinde genel olarak dayanıklı çeşitlerin tercih edilmesi, temiz tohumluk kullanılması, toprak pH'sının düşürülmesi, ekim nöbeti, boğaz doldurma işleminin ardından birer hafta ara ile sulama yapılması ve kimyasal kullanımı önerilmektedir.

Şüphesiz en önemli mücadele yöntemlerinden birisi dayanıklı çeşit kullanımıdır. Bu konuda farklı patates çeşitlerinin adi uyuz hastalığına karşı değişen seviyelerde direnç gösterdiği bildirilmiş ve bu yüzden de dayanıklı çeşit kullanımının hastalığın önlenmesinde büyük öneme sahip olduğu ifade edilmiştir (Stead ve Wale 2004). Ancak

çoğu dirençli çeşidin, ticari olarak önem arz etmediği ve tamamen dayanıklı bir çeşit olmayıp, bazılarının hastalığa karşı yüksek direnç gösterdiği bilinmektedir (Zadina *et al.* 1975). Ayrıca farklı patates çeşitlerinin sahip oldukları direnç seviyesinin, *Streptomyces* türü veya straini, toprağın nem içeriği ve pH'sına bağlı olarak da varyasyon gösterebileceği bildirilmiştir (Haynes *et al.* 1997).

Mücadelede temiz üretim materyali kullanılması da önem arz eden hususlardan birisidir. Bazı araştırmacılara göre (Pavlista 1996) yumru üzerindeki inokulumun toprakta var olan inokulumu nazaran daha etkin bir kaynak olması kuvvetle muhtemeldir (Lapwood *et al.* 1973). Ayrıca enfekteli yumruların, yeni uyuz formlarının taşınması ve daha virulent strainlerin oluşmasında etkin rol oynadığı düşünülmektedir (Loria 2001). İşte bu yüzden bulaşık yumruların üretimde kullanılmaması tavsiye edilmiştir.

Diğer bir mücadele yöntemi olarak değerlendirilen ürün rotasyonunun, adi uyuz hastalığı üzerinde pozitif veya negatif etkisini destekleyecek kuvvetli kanıtlar bulunmama ile birlikte, bu konuda araştırmacıların sundukları verilerin de çelişkiler ihtiva ettiği görülmektedir. Önceki vejetasyon döneminde yetişen ürünün çok önemli olmadığı, inokulum yoğunluğunu toprak tipinin tayin ettiği (Vruggink 1976), bunun yanı sıra bakla ve pirincin ardından, patates tarımı yapıldığında hastalık şiddetinin sırasıyla azalabileceği veya artabileceği daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Stead and Wale 2004).

Kültürel işlemlerin hastalığı engelleyecek veya etkisini azaltacak şekilde yapılması da önem arz etmektedir. Örneğin; erken hasat yoluyla ürünün, patojenin daha etkin olduğu sıcak dönemden kurtarılması bunlardan biridir (Waterer 2002).

Toprak pH'sının ayarlanması da önerilen mücadele yöntemlerinden biri olarak göze çarpmaktadır. Ancak burada patojenin türü büyük önem arz etmektedir. *S. scabiei*'nin, 5,0-5,2 ve altındaki pH seviyelerinde gelişimi oldukça sınırlanmakta, ancak bu pH seviyelerini tolere edebilen *S.acidiscabies* ve *S.turgidiscabies* gibi türlerin varlığı da bilinmektedir (Stead and Wale 2004).

Bir başka mücadele yöntemi olarak, uygulanması halinde yıllar arasında enfekteli yumru sayısında azalmaya neden olan solarizasyon önerilmektedir (Stead ve Wale 2004).

Biyolojik mücadele yöntemi de adi uyuz hastalığının mücadelesinde kullanılabilir. Çin'de *S. scabiei*'nin neden olduğu adi uyuzun, hastalığın baskılandığı topraklardan izole edilmiş *Streptomyces* strainleri kullanılarak engellenmesi bunun en güzel örneklerinden biri olarak göze çarpmaktadır. Ayrıca çalışmanın laboratuvar, sera ve tarla koşullarında olumlu sonuçlar verdiği de bildirilmiştir (Liu *et al.* 1997).

Adi uyuz hastalığı ile mücadelede kullanılacak bir diğer yöntem de kimyasal kullanımıdır. Geniş yelpazeye sahip bir kimyasal grubu enfekteli yumruların dezenfeksiyonunda kullanılabilir. Civa tuzları (Lawpood 1973), bakır sülfat (Keinath and Loria 1989), borik asit (Maheshwari and Saini 1994) etkinlikleri kanıtlanmış olmasına rağmen çevre ve insan sağlığına olumsuz etkilerinden dolayı kullanımlarına izin verilmemektedir. Öte yandan maneb, mancozeb, fluazinam, flusulphamide ve fenpiclonil gibi organik bileşiklerin hastalığın kontrolüne katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Stead and Wale 2004).

Gram pozitif ve filamentli bakteriler olan *Streptomyces* türlerinin, G+C içerikleri (%69 \pm 79) olup, vejetatif hifleri ile dallanmış miselyumlar meydana getirebilmekte ve bunların yanı sıra çok sayıda sekonder metabolit üretebilmektedirler. Bu cinse mensup olan bakterilerin tanıları da farklı yöntemlerle yapılabilmektedir. Bunların başında özellikle morfolojik ve biyokimyasal (spor zinciri şekli ve rengi, melanin ve çözünebilir pigment üretimi, toksik maddelere duyarlılık) özellikleri yoluyla yapılan klasik tanı gelmektedir. Yine modern moleküler metotlar da (MIS, BIOLOG, PCR, kütle spektroskopisi, sekans ve protein profillemeye teknikleri, serolojiye dayalı teknikler) *Streptomyces* türlerinin tanısında kullanılabilir (Kampfer 2003).

Zaman içerisinde bu cinse mensup olan bakterilerin tanısı ve taksonomisinde çok sayıda problem yaşandığı bilinmektedir (Kampfer 2003). Özellikle ürettikleri sekonder metabolitlerin keşfinden sonra, farklı gayelerle çok sayıda *Streptomyces* türünün tanılanması, çoğunlukla sinonim türlerin yeni kayıtlar olarak sunulmasına yol açmıştır. Özellikle gözleme dayalı, analiz hassasiyeti ile doğrudan bağlantılı olan morfolojik ve biyokimyasal testlerin, bu cinse mensup bakterilerin tanısında vazgeçilemez kıstaslar olması ve bazı kayıtlar için tip türlerin muhafaza edilememesi de tanıda yaşanan zorlukların sebepleri arasında gösterilebilir. Ancak gelişen teknoloji ışığında, kullanıma dahil edilen yeni teknikler sorunların çözümünde önemli aşamalar kaydedilmesini sağlamıştır.

Yukarıda özetlenen bilgiler gözden geçirildiğinde fitopatojen *Streptomyces*'lerin yıllardır üzerinde çalışılan ve araştırmacıların ilgisini cezbe eden bakteriler olduğu anlaşılacaktır. Kanımızca Türkiye'de de bitki patojeni *Streptomyces* türlerine yönelik çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı da Erzurum İli patates üretim alanlarında var olan bitki patojeni *Streptomyces* türlerinin, klasik (spor yapıları, spor renkleri, karbon kaynaklarını kullanabilme, melanin ve çözünebilir pigment üretimi, toksik maddelere direç) ve moleküler (mikrobiyal tanı sistemi (MIS), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)) metotlarla tanısı, bunun yanı sıra patojenite özelliklerinin belirlenmesidir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Streptomyces, *Streptomycetaceae* familyasının tip cinsi olup Waksman ve Henrici (1943) tarafından tanımlanmıştır (Kampfer 2006). *Streptomyces*'ler vejetatif hifleri ile dallanmış miselyumlar meydana getirirler. Bu miselyumlar olgunlaştıklarında 3 veya daha fazla spor içeren, spor zincirlerini oluşturur. Bazı türler substrat miselyumları üzerinde kısa spor zincirleri barındırabilir. Bazı türler ise sklerotial, piknidial, sinnematal ve sporangial yapılar meydana getirebilirler. Sporları hareketli olmayıp, besi yerinde ayrık, yağlımsı, derimsi veya likenoid koloniler oluşturabilirler. Kolonilerin yüzeyi başlangıçta nispeten düzdür. Daha sonra havai miselyumların oluşmasıyla pudramsı, granüler veya kadifemsi bir görünüm oluşturabilirler (Kampfer 2003).

Gram pozitif ve aerobik bakteriler olan *Streptomyces*'ler yüksek G+C (%69±79) içeriğine sahiptirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 25-35°C, pH istekleri ise 6,5-8 arasında olmakla birlikte, termofilik ve psikrofilik türlerin varlığı da bilinmektedir. Katalaz reaksiyonları pozitif olup, genellikle nitrata nitrite indirgerler. Bunun yanı sıra cinsin birçok üyesi kazein, jelatin, hipoksantin ve hatta selüloz gibi polimerik substratları da indirgeyebilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca çok sayıda organik maddeyi metabolizmaları için karbon kaynağı olarak kullanabilirler (Williams *et al.* 1983; Kampfer *et al.* 1991; Korn-Wendisch and Kutzner 1992).

Streptomyces cinsinin üyeleri, sergiledikleri yaşam döngüsü, metabolizmaları, sahip oldukları farklı metabolitleri ile karmaşık bir hayat döngüsüne sahip, farklılaşmış organizmalardır (Kieser *et al.* 2000). Yine bu cins üyeleri vejetatif ve havai miselyumlarına renk veren çok sayıda pigment oluşumundan da sorumludurlar. Ayrıca renkli çözünebilir pigmentler de üretebildikleri bilinmektedir. Pigment üretimi özellikle besi yerinin kompozisyonu ve gelişme şartlarına bağlıdır.

Streptomyces cinsini önemli kılan özelliklerinden biri de ürettikleri biyolojik aktif moleküllerdir. Streptomisinin 60 yıl kadar önce keşfinin ardından, bu konuda yapılan

araştırmalar popülarite kazanarak hızlanmıştır. Zaman içinde *Streptomyces*'lerin düşük moleköl ağırlıklı ve kimyasal olarak farklılaşmış; antibakteriyel, antifungal, herbisidal, antiparazitik ve farklı şekillerde biyolojik aktiviteye sahip binlerce moleköl ürettikleri anlaşılmıştır. Örneğin; antibiyotik olarak değerlendirilen, eritromisin, neomisin, tetrasiklin, vankomisin, rifamisin ve kloramfenikol yine antifungal etkisi bilinen nistatin, ampotetrisin, natamisin ve anti-kanser aktiviteye sahip mikrostatin bu türlerin ürettiği sekonder metabolitlerdendir. Ayrıca toprakta bulunan birçok makro moleküle ait doğal döngünün gerçekteşebilmesi için gerekli olan bazı enzimler de *Streptomyces*'ler tarafından sağlanır (Kampfer 2003).

Cinsin bazı üyeleri bitki patojeni olarak da tarımsal ürünlere verdikleri zararlar göze çarpmaktadırlar. Çok sayıda kazık köklü bitkiye arız olabilen ancak özellikle patatesteki ekonomik zararı görülen *Streptomyces*'lerin adi uyuz hastalığına neden olduğu uzun süredir kabul görmektedir (Lambert and Loria 1989a; Lambert and Loria 1989b)

Dünyanın hemen her yerinde hastalığın var olduğu düşünölmekte (Saygılı vd 2008), değişik lokasyonlarda yapılan çalışmalar da bu yaklaşımı doğrulamaktadır. Farklı *Streptomyces* türleri başta Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada (Lambert and Loria 1989a; Lambert and Loria 1989b; Goyer *et al.* 1996; Wanner 2007; St-Onge *et al.* 2008; Jiang *et al.* 2012) olmak üzere Fransa (Bouček-Mechine *et al.* 2000), Japonya (Mijiyama *et al.* 1998), Kore (Park *et al.* 2003), Birleşik Krallık (Thwaites *et al.* 2009), Uruguay (Lapaz *et al.* 2012), Norveç (Dees *et al.* 2012), Almanya (Leiminger *et al.* 2012), İspanya ve Hollanda (Gonzalez *et al.* 2008), İran (Khodakaramian and Khodakaramian 2012), Cezayir (Bencheikh and Setti 2007), Finlandiya ve İsviçre (Lethonen *et al.* 2004)'de birçok çalışmada rapor edilmiştir. Ancak hastalığın keşfi çok daha erken dönemlere dayanmaktadır.

Kuzey Amerika, Avrupa ve Rusya'da Hastalığın varlığı 1920'lerden beri bilinmektedir. O zamanlar çok sayıda türün bu hastalığa neden olduğu ileri sürölmesine rağmen günümüzden bakıldığında tür tanımlamalarının doğru yapılar yapılmadığının belirlenmesine imkân yoktur (Stead and Wale 2004).

Stead ve Wale (2004) tarafından bildirildiğine göre; Bradbury (1986) tarafından kaleme alınan ‘Guide to Plant Pathogenic Bacteria’ adlı eserde 38 bitki patojeni *Streptomyces* türü olduğu belirtilmiş, bazılarında ait kanıtların yalnızca patojenite testlerine dayanmasına rağmen bunlardan 23 tanesinin patatestte patojen olduğu var sayılmıştır. Ancak bu listede patojen olduğu belirtilen türlerin çoğunun Sovyet Rusya (SSCB) orjinli olması, patojenlerin referans strainleri ya da tanımlamalarının elde edilememesi nedeni ile daha sonra oluşturulan Skerman’a (1989) ait ‘Approval List of Bacterial Names’ isimli eserde bu türlerin çoğu yer almamıştır. Buna karşın bazı türler (*S. scabiei*, *Streptomyces aureofaciens*, *Streptomyces clavifer*, *Streptomyces collinus*, *Streptomyces globisporus*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces intermedius*, *Streptomyces longisporus*, *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces sampsonii*, *Streptomyces setonii*, *Streptomyces tricolor* ve *Streptomyces violaceus*) kabul görmüştür (Stead and Wale 2004).

Taksonomideki karmaşa, cinsin büyüklüğüne ek olarak bazı teknik zorluklara bağlanmaktadır. Ancak teknolojik ilerlemelere paralel olarak patojenlerin tanısı ve doğru tanımlanmalarının yapılması da devam etmektedir. Stead ve Wale (2004) tarafından, patatestte patojen olduğu belirtilen 14 *Streptomyces* türü bildirilmiştir. Bunlar *S. scabiei* (Lambert and Loria 1989a), *S. acidiscabies* (Lambert and Loria 1989b), *S. aureofaciens* (Duggar 1948), *Streptomyces caviscabies* (Goyer-Faucher and Beaulieu 1996), *S. collinus* (Lindenbein 1952), *S. europaeiscabiei* (Bouček-Mechiche *et al.* 2000a,b), *S. intermedius* (Waksman 1953), *Streptomyces luridiscabiei*, *Streptomyces niveiscabiei*, *Streptomyces puniscabiei* (Park *et al.* 2003), *Streptomyces reticuliscabiei* (Bouček-Mechiche *et al.* 2000), *S. setonii* (Waksman 1953), *Streptomyces stelliscabiei* (Bouček-Mechiche *et al.* 2000a,b) ve *S. turgidiscabies* (Miyajima *et al.* 1999) türleridir.

Bull ve arkadaşları (2010) tarafından bildirilen fitopatogen bakteriler listesinde ise; *S. acidiscabies*, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces candidus*, *S. caviscabies*, *S. collinus*, *S. europaeiscabiei*, *S. intermedius*, *S. luridiscabiei*, *S. niveiscabiei*, *S. puniscabiei*, *S. reticuliscabiei*, *S. scabiei*, *S. setonii*, *S. steliiscabiei*, *S. turgidiscabies* ve

Streptomyces wedmorensis türleri yer almıştır. Yine farklı çalışmalarda *Streptomyces rochei* (Cullen and Lees 2007) ve *Streptomyces bottropensis* türlerine ait patojen strainlerin rapor edildiği bilinmektedir (St-Onge *et al.* 2008; Leiminger *et al.* 2012).

Patates adi uyuz hastalığına neden olan etmen ilk olarak 1890 yılında Amerika Birleşik Devletleri Connecticut'ta Thaxter tarafından izole edilmiştir. Thaxter, etmeni *Oospora scabies* olarak isimlendirmiş ve bu organizmayı gri spor zincirlerine sahip, melanin üreten bir organizma olarak karakterize etmiştir. Bu organizmaya ait, korunabilen bir tip kültür mevcut değildir. Tür daha sonra Güssow tarafından *Actinomyces scabies* olarak yeniden isimlendirilmiştir. 1961 Yılında Waksman, tür tanımını yeniden yapmış, türü *Streptomyces scabiei* olarak isimlendirmiştir. Ancak yanlışlıkla IMRU 3018 nolu strain neotip (muhafaza edilemeyen tip örneklerin yerine önerilen yeni örnekler) olarak önerilmiştir. Neotip seçiminin patojenite baz alınarak yapıldığı açıktır. Çünkü bu strain spiral spor zincirleri ve melanin üretiminden yoksundur. IMRU 3018 1960'lı yıllarda gerçekleştirilen International *Streptomyces* Project (ISP) kapsamında *S. scabiei*'yi temsil etmiştir. Daha sonra patateslerden izole edilmiş çok sayıda referans tür öne sürülmüş ve bu yüzden tür, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'de *incertae cedis* (taksonomik pozisyonu kesinleşmemiş) olarak yer almıştır. 1979 Yılında Elesaway ve Szabo bu durumu fark etmiş, türü yeniden değerlendirerek kabul edilebilir bir tip strain önermişlerdir (Lambert and Loria 1989a). Lambert ve Loria (1989a) türün isimlendirilmesini yeniden gündeme getirmiş, spiral spor zincirlerine sahip, melanin üreten bir straini, tip tür olarak önermişlerdir. Yapılan tanımlamaya göre *S. scabiei*'e ait tip tür, spiral spor zincirleri oluşturan, silindirik, pürüzsüz ve gri renkli sporlara sahiptir. Sporları 0,5 µm çapında ve 0,9-1,1 µm boyundadır. Pepton yeast iron agar (PYI) ve tyrosin agarda (TYR) melanin pigment üretmekte olup pH 5'in altında gelişmemektedir. Tip strain 20 µg/ml streptomisin ve 0,5 µg/ml kristal viyoleye karşı duyarlıdır. Ayrıca G+C içeriğinin %71 olduğu ve strainin 1984 yılında New York'ta izole edildiği belirtilmiştir.

Lambert ve Loria (1989b) tarafından isimlendirilen bir diğer türde *S. acidiscabies*'dir. Bilindiği üzere adi uyuz hastalığı 5,2 ve üzeri pH seviyelerinde görülmektedir. Ancak

Maine (1953) hastalığının çok benzer bir formunu, toprak pH'sının 4,5 olduğu alanlarda belirlemiştir. Hastalığın ortaya çıkış aşamasında, Amerika'nın Orta Batı bölgesinde, hassas olan 'chippewa' çeşidi patateslerde simptomlara neden olduğu bildirilirken, Maine'ye göre hastalık, bölgeye dışarıdan girmiştir. Ancak o dönemde üretim yapan çiftliklerin dışarıdan tohumluk sağlamadığı da bilinmektedir. Öte yandan 1950'lerin başlarında tohumluklarda uygulanan kontrol yöntemlerinden vazgeçilmiş olması, nadir olan hastalığın, yüzde olarak ölçülebilir bir duruma gelmesine yol açmış olabilir. İlerleyen zamanlarda bu asit tolerans strain Bonde ve McIntyre ayrıca, Manzer ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir. Daha sonra Lambert ve Loria bu türü tanımlamış, RL-110 nolu straini tip tür olarak belirlemiş ve adını da *S. acidiscabies* olarak önermişlerdir (Lambert and Loria 1989b).

Yapılan tanımlamaya göre; *S. acidiscabies* tüm standart besi yerlerinde simopodiyal olarak dallanmış, flexous spor zincirlerine sahiptir. Substrat miselyumunun parçalanması, sporangium veya sklerotium oluşumu ya da flagellat sporları yoktur. Sporları silindirik, düz, 0,4-0,5 µm çapında ve 0,9-1,1 µm uzunluğundadır. TYR ya da PYI besi yerlerinde melanoid pigment üretmezler. Kutzner'in inorganik tuz gliserol agar besi yerlerinde, HCl ile muamele edildiklerinde sarıya, NaOH ile muamele edildiklerinde tekrar kırmızıya dönen çözünebilir koyu kırmızı renkli pigment üretirler. Rafinozu karbon kaynağı olarak kullanamazlar. Tüm strainler poligalakturonid, arbutin, ksantin ve ksilanı indirgeme yeteneğine sahiptirler. Yine nispeten yüksek oranda kristal viyole ve toksik kimyasallara karşı dirençlidirler.

Patateslerde görülebilen uyuz belirtisi tiplerinden biri derin ve çukur şeklindeki lezyonlardır. *S. caviscaabies* bu tarz belirtilere neden olabilen etmenlerdendir. Goyer ve arkadaşları (1996) tarafından bildirildiğine göre bu derin ve çukur şeklinde lezyonlara Washington eyaletinde rastlanmıştır. Simptomlar *Streptomyces atroolivaceus*, *Streptomyces diastatochromogenes*, *Streptomyces lydicus* ve *Streptomyce resistomyficus* türlerine atfedilmiş ancak bu durum doğrulanamamıştır. Daha sonra Kanada'da derin çukur şeklinde lezyonlardan izole edilen 8 straine yönelik değerlendirmelerde bu

strainlerin literatürde bilinen bitki patojeni *Streptomyces*'lerden farklı olduğu ortaya konulmuş ve bu strainlere *S. caviscabies* adı verilmiştir.

Özellikle sulu tarlalarda yetişen patateslerden izole edilen *S. caviscabies*, yeast malt-extract agar (YME) agar üzerinde oluşturduğu altın sarsından açık kahverengiye kadar renklenebilen miselyumları ile karakterize edilmiştir. Havai miselyumların ucunda beyaz renkli, flexous spor zincirleri bulunmaktadır. Silindirik ve pürüzsüz olan sporları 0,5-0,63 µm çapında ve 0,87-1,08 µm boyundadır. PYI agar üzerinde melanin pigment üretemezler. Tüm strainler tek azot kaynağı olarak prolin ve metiyonini, yine tek karbon kaynağı olarak rafinozu kullanırlar. Ksilanı hidrolize edebilirken, arbutin ve poligalakturonik asidi hidrolize edemezler. Çoğu strain %7 ve üzerindeki NaCl konsantrasyonlarına tolerans gösteremez. Tüm strainler %0,1'lik fenole, 10 IU penisiline, 10 µg/ml tallium asetat ve 20 µg/ml streptomisin sülfata karşı dirençlidir. YME agar üzerinde 4,5 pH 'ta ise büyüme inhibe edilir ve bazı strainler YME agarda sarı veya kırmızı çözünebilir pigment üretir (Goyer *et al.* 1996).

Bir başka bitki patojeni *Streptomyces* türü de; Japonya'da patatesler üzerindeki kabarık ve pürtüklü lezyonlardan izole edilmiş olan *S. turgidiscabies*'dir (Mijiyama *et al.* 1998). İzole edilen 22 *S. turgidiscabies* türünün tamamı patojenite testlerinde pozitif sonuç vermiş; yumrular üzerinde düzensiz, kabarık ve mantarimsı lekeler oluşturmuşlardır. Standart besi yerleri üzerinde simpodiyal olarak dallanmış, flexous spor zincirlerine sahiptirler. Silindirik ve pürüzsüz olan sporları 0,5-0,6 µm çapında, 1,0-1,2 µm boyundadır. Substrat miselyumunda parçalanma, sporangium, sklerotium veya flagellat spor oluşumu gözlemlenmez. Tyrosine ya da pepton iron agarda melanoid pigment ya da herhangi bir çözünebilir pigment üretmezler. Substrat miselyumları sarı pigment üretip, bu pigment pH değişimlerine karşı hassas değildir. Tüm strainler hidrojen sülfid üretir fakat nitratı indirgeyemezler. Adenin, allantoin, arbutin, kazein, eskulin, hipoksantin, nişasta, L-tyrosin ve üre tüm strainler tarafından indirgenebilirken, ksantin indirgenemez. Büyüme pH 4,5, %4 NaCl, 10 µg/ml sodyum azid, 10 µg/ml sodyum tellurit'te devam ederken toksik bileşiklerden %5 NaCl, 20 µg/ml sodyum azid, 1 mg/ml fenol, 100 µg/ml potasyum tellurit, 10 µg/ml tallium asetat 0,5 µg/ml kristal

viyole, ayrıca 37°C’de ve pH 4’te gelişimleri inhibisyona uğramıştır. Ayrıca bu çalışma kapsamında bir DNA hibridizasyonu da gerçekleştirilmiş, *S. turgidiscabies* strainlerinin akrabalık oranları %96’nın üzerinde bulunurken, diğer patojen strainlerle aralarındaki akrabalık oranları ise %5-21 arasında değişim göstermiştir (Mijiya *et al.* 1998).

Yapılan bir diğer çalışmada ise; *S. europaeiscabiei*, *S. stelliscabiei* ve *S. reticuliscabiei* türleri tanımlanmıştır. Fransa’da kabarik ve ağ şeklinde lezyonlardan izole edilen strainler, patojen türlerin tip strainlerini de içeren 19 *Streptomyces* örneği ile DNA hibridizasyon çalışmalarına tabi tutulmuş ve sonuçta *S. scabiei* strainleri arasında genetik akrabalık derecelerine göre 3 farklı grup olduğu ortaya çıkmıştır. Bunlara arasından 1. grup *S. europaeiscabiei*, 3. grup ise *S. stelliscabiei* olarak önerilmiş ve türlere ait tip strainler belirlenmiştir. Önerilen ve tip straini belirlenen bir başka tür de ağ şeklindeki uyuz lezyonlarından izole edilen *S. reticuliscabiei* olmuştur (Bouček-Mechine *et al.* 2000)

Yapılan çalışma sonucunda belirlenen tip strainlere ait tanımlamalar verilmiştir. Buna göre; kabarik tipte uyuz lezyonlarından izole edilen *S. europaeiscabiei* gri renkli, spiral spor zincirlerine sahiptir ve tyrosin agar üzerinde melanin pigment üretebilir. L-arabinoz, D-fruktoz, D-glukoz, D-mannitol, inositol, rafinoz ramnoz, sukroz ve D-ksilozu karbon kaynağı olarak kullanabilir. Ksantin parçalanması türler arasında farklılık gösterirken, tüm strainler 20 µg/ml streptomisin, 0.5 µg/ml kristal viyoleye karşı hassastır. Öte yandan yine tüm strainler 25 µg/ml oleandomisin ve 10 IU penisiline karşı dirençli olarak değerlendirilmiştir.

Farklı bir genetik grup olarak belirlenen ve yıldız benzeri kabarik uyuz lezyonlarından izole edilen *S.stelliscabiei* de gri ve spiral spor zincirlerine sahiptir. Tyrosin agar üzerinde melanin pigment üretebilir. L- arabinoz, D-fruktoz, D-glukoz, D-mannitol, inositol, rafinoz ramnoz, sukroz ve D-ksilozu karbon kaynağı olarak kullanabilir. Yine test edilen izolatların çoğu ksantini parçalayabilmektedir. Tüm strainler 20 µg/ml streptomisin, 0.5 µg/ml kristal viyole, 100 µg/ml oleandomisin ve %5 NaCl’ye karşı hassas olup, 25 µg/ml oleandomisin ve 10 IU penisiline karşı dirençlidirler.

Tanımlanan bir diğer tür ise; ağ şeklindeki lezyonlardan izole edilmiş olan *S. reticuliscabiei*'dir. Açık gri renkte, flexous spor zincirlerine sahip olan tür tyrosin agar üzerinde melanin pigment üretememektedir. Gelişimi 20 µg/ml streptomisin, 0.5 µg/ml kristal viyole, 100 µg/ml oleandomisin ve %5 NaCl'de inhibe edilmektedir. Penisiline (10 IU/ml) karşı tüm strainler direnç gösterirken, 25 µg/ml oleandomisin'e karşı strainlerin %60'lık bir kısmı direnç gösterebilmiştir.

Farklı türlerin tanımlandığı bir diğer çalışma ise; *S. luridiscabiei*, *S. puniscabiei* ve *S. niveiscabiei*'nin, belirlendiği Kore'de yapılmıştır. Araştırmacılar çalışma sonucunda elde ettikleri hastalık etmenlerini; *S. scabiei*, *S. turgidiscabies* ve *S. acidiscabies* olarak tanımlamıştır. Bu çalışmadan 7 yıl sonra bir başka araştırmada; Jeju Adası'ndan toplanan ve kabarik tipe uyuz lezyonları sergileyen patates yumrularından izolasyonlar yapmıştır. Sonuçta 3 türün bilinen patojen strainlerden farklı özellikler sergiledikleri belirlenmiştir. DNA akrabalık oranlarına göre ayrıştırılan türlere ait tip strainler belirlenmiş ve isimleri *S. luriscabiei*, *S. puniscabiei* ve *S. niveiscabiei* olarak önerilmiştir (Park *et al.* 2003)

Yapılan tanımlamalara göre; *S. luriscabiei*, sarı-beyaz renkte ve sporları pürüzsüz ve monoverisillat flexous spor zincirlerine sahiptir. Tyrosine ve PYI agarda melanin pigment üretmekte ve L- arabinoz, D-fruktoz, D-glukoz, D-mannitol, inositol, rafinoz ramnoz, sukroz, D-ksilozu karbon kaynağı olarak kullanabilmektedir. Gelişebildiği minimum pH 4.5 iken, %5 NaCl, %0.1 fenol, 100 µg/ml tallium asetat, 20 µg/ml streptomisin, 25 ve 100 µg/ml oleandomisine karşı hassas; 10 µg/ml tallium asetat, 0.5 µg/ml kristal viyole ve 10 IU penisiline karşı dirençlidir (Park *et al.* 2003).

Bir diğer tür *S. puniscabiei*; soluk turuncu renkte ve pürüzlü sporları olan, flexous spor zincirlerine sahiptir. Tyrosine agar üzerinde melanin üretebilirken, PYI agar üzerinde üretemez. L- arabinoz, D-fruktoz, D-glukoz, D-mannitol, inositol, rafinoz ramnoz, sukroz ve D-ksilozu karbon kaynağı olarak kullanılabilir ve gelişebildiği minimum pH 3.5'tir. Tallium asetat (25 ve 100 µg/ml) ve 20 µg/ml streptomisine karşı hassas; %7 NaCl, 0.5 µg/ml kristal viyole, %0.1 fenol, 25 ve 100 µg/ml oleandomisin ve 10 IU penisiline karşı dirençlidir (Park *et al.* 2003).

Adı *S. niveiscabiei* olarak önerilen 3. tür ise; beyaz renkli ve pürüzsüz sporları olan, flexous spor zincirlerine sahiptir. Tyrosin ya da PYI agar üzerinde melanin pigment üretmez. L- arabinoz, D-fruktoz, D-glukoz, D-mannitol, inositol, rafinoz ramnoz, sukroz ve D-ksilozu karbon kaynağı olarak kullanabilir ve *S. puniscabiei* gibi pH 3.5'te gelişebilir. %5 NaCl, 20 ve 100 µg/ml tallium asetat, 0.5 µg/ml kristal viyole, %0.1 fenol, 25 ve 100 µg/ml oleandomisin ve 20 µg/ml streptomisine karşı hassas olup; 10 IU/ml penisiline karşı dirençlidir (Park *et al.* 2003).

Yakın zamanda önerilen bir başka tür ise *Streptomyces alcaliscabiei*'tir. Gri, flexous spor zincirlerine sahip, çözünebilir pigment üretiminden yoksun olan bu türün aynı zamanda PYI ve TRY agarlar üzerinde melanin üretebildiği bildirilmiştir. Mannitol, sukroz, meliboz, fruktoz, laktoz, selüloz, rafinoz, glukoz ve maltozu karbon kaynağı olarak kullanabilen *S. alcaliscabiei*, %1 fenol, %5, 6 ve 7 konsantrasyonlarda NaCl, 100 µg/ml tallium asetat, 25 µg/ml streptomisin, 100 µg/ml oleandomisin ve 10 IU/ml penisiline duyarlı iken, 10 µg/ml tallium asetatı tolere edebilmektedir. Farklı olarak bu türün, besi ortamında pH 7-11 aralığında gelişebildiği ifade edilmiştir (Tahany *et al.* 2012).

Tipik fitopatojen bakterilerin çoğunluğundan farklı özelliklere sahip *Streptomyces*'lerin izolasyonları, patojenitelerinin belirlenmesi ve tanılanması işlemlerinde de yer yer farklılıklar gözlenebilmektedir. Öncelikle izolasyon prensipleri değerlendirildiğinde standardize edilmiş çok sayıda metot olduğu görülmektedir. Bunlardan biri Loria ve arkadaşları (2001) tarafından belirlenmiştir. Buna göre hasta yumrular üzerinde sporulasyon varsa sporlar direkt alınarak su agarı üzerine ekim yapılmaktadır. Sporulasyon gözlemlenmiyorsa yumrular önce musluk suyu ile yıkanmakta, ardından %1.5'lik NaCOH ile dezenfekte edilmektedir. Daha sonra lezyon görülen bölgenin bulunduğu yerdeki kabuk kaldırılarak altında bulunan saman sarısı renkli kısımdan bir miktar doku alınmaktadır. Ardından havan içerisinde ezilen doku steril su ile süspansiyon edilme ve bu süspansiyondan su agarı üzerine ekim yapılmaktadır. Ekim yapılan besiyerleri 28-30°C'de 7-10 gün süre ile inkübe edilmektedir. Ayrıca ortam üzerinde

diğer bakteri ve fungusların gelişimini önlemek amacı ile su agarına NPPC (nistatin, polimiksin, penisilin ve sikloheksimit) ilave edilebileceği de belirtilmiştir.

Farklı bir yöntemle göre; yumruların yüzey dezenfeksiyonu 1:140 oranında fenol ile yapılmış, ardından steril su içinde bekletilen yumrular fenolden arındırılmıştır. Daha sonra lezyon görülen kısmın altından küçük bir parça alınmış ve steril su içeren tüplere aktarılmıştır. Bu tüpler 50°C'ye ayarlı su banyosunda 30 dk süre ile bekletilmiştir. Daha sonra tüpler içindeki parçalar belli oranlarda NPPC içeren su agarları üzerine konulmuş ve 30°C'de 10 gün süre ile inkübe edilmiştir. Daha sonra patates dokularının etrafında oluşan koloniler, NPPC içeren YME agar besisi yerine transfer edilmiştir (Faucher *et al.* 1992).

Başka bir çalışmada ise lezyonlu kısımdan alınan parçalar havan içinde ezilmiş ve fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon edilmiştir. Ardından bu süspansiyona 10 ml fizyolojik tuzlu su eklenmiş ve bu stok solüsyondan 10⁷ ye kadar seyreltme yapılmıştır. Son olarak 10⁴⁻⁷ aralığında olan dilüsyonlardan tyrosine casinate nitrate agar (TCN) besisi yerine ekimler yapılmış ve petriyeler inkübasyona bırakılmıştır (Archuleta and Easton 1981).

Streptomyces türlerinin patojeniteleri de farklı yöntemlere göre belirlenebilmektedir. Yaprak ve sap çeliklerinden üretilen yumrular, patates diskleri veya turp fidelerinde yapılan testler bunlar arasında yer almaktadır (Liu *et al.* 1997; Conn *et al.* 1998; Loria *et al.* 2001; Cullen and Lees 2007).

Streptomyces türlerinin tanı ve sınıflandırılmasına ilişkin tanı çalışmaları 1940'larda antibiyotiklerin keşfinin ardından hız kazanmış, özellikle bu efektif maddeleri ürettiği belirlenen türler, yeni tür olarak tanımlanmış ve patentlenmiştir. Bu yolla o zamana kadar sayısı 40 civarında olan tür sayısı 3000'i geçmiş, ancak daha sonra bunların çoğu sinonim olarak değerlendirilmiştir (Anderson and Wellington 2001). Daha sonra bu türlerin tanısı için standart kriterlerin belirlenmesi gerektiğine karar verilmiş ve 1964 yılında Uluslararası *Streptomyces* projesi (ISP) yürürlüğe konmuştur. Shirling ve Gottlieb (1966) tarafından; spor zinciri morfolojisi, spor rengi, substrat miselyumu,

melanin veya çözünebilir pigment üretimi, belirli karbon kaynaklarını kullanabilme yeteneği gibi özellikler tanımlanacak standart kriterler olarak ortaya konmuştur. Bu sayede sinonimler tespit edilerek tür sayısı 450'ye indirilmiş ve tip strainler belirlenerek bir kültür koleksiyonu oluşturulmuştur.

Ancak ISP teşhise ilişkin prensipler belirlenmemiş, yalnızca kullanılan metotları standardize etmiştir (Anderson and Wellington 2001). İlerleyen yıllarda Williams ve arkadaşları (1983) sayısal taksonomiye *Streptomyces* türlerine uygulamış ve bunun sonucunda Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 1974 baskısında 463 olan tür sayısı 1989 baskısında 142'ye düşmüştür. Fakat bu da problemi tam olarak çözmemiştir. Bazı türler içinde görülen sıra dışı özellikler nedeni ile fazla sayıda alt tür tanımlanmış ve birçok alt tür seçilen tip strainlerle uyumsuzluk sergilemiştir (Goodfellow and Dickenson 1985). Günümüze doğru gelindiğinde *Streptomyces* türleri arasındaki akrabalık ilişkilerinin anlaşılabilmesi için ISP'de standardize edilen kriterlere ek olarak çok sayıda kemotaksonomik ve moleküler metot da kullanılmaktadır.

Waksman (1961) *Actinomycetes*'ler üzerine yayınladığı 'The Actinomycetes' isimli eserinde, *Streptomyces* türlerinin sınıflandırılmasında göz önünde bulundurulması gereken karakteristik özellikleri belirlemiştir. Buna göre ilk sırada morfolojik karakteristikler olarak değerlendirilen; substrat miselyumunun yapısı, havai miselyumunun yapısı ve oluşumu, sporoforların dallanma biçimleri, sporların şekli ve boyutu, spor yüzeyi (düz veya pürüzlü) yer almıştır. Ardından kültürel özellikler başlığı altında topladığı; büyüme karakteristikleri, havai miselyumunun gelişimi, substrat miselyumu ve havai miselyumunun rengi kriterlere dahil edilmiştir. Aynı çalışmada; çözünebilir pigment üretimi, karbon kaynaklarının kullanımı, sukroz inversiyonu, selülozun parçalanması, nişasta hidrolizi, proteolitik aktivite, azot kaynaklarının kullanımı, oksidaz aktivitesi, reduktaz aktivitesi, antibiyotik ve vitamin üretimi, bunların yanı sıra PYI agar üzerinde kükürt oluşumu göz önünde bulundurulması gereken biyokimyasal özellikler olarak tespit edilmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları, faj duyarlılıkları, serolojik reaksiyonları, kimyasal kompozisyonları, ekolojik özellikleri ve genetik ilişkiler de bu eserde sınıflandırmanın önemli kriterleri olarak sunulmuştur.

Geçmişten günümüze kullanılan metotların da yukarıda bahsedilen kriterler baz alınarak şekillendirildiği görülmektedir. Bu metotlar; morfolojik ve biyokimyasal yöntemleri içeren klasik taksonomi (Pridham ve Tresner 1974; Shirling and Gottlieb 1966), sayısal taksonomi (Williams *et al.* 1983), yağ asidi metil esterleri analizi (Paradis *et al.* 1994; Ndowora 1995), seroloji (Ridell and Williams 1983; Kirby and Rybicki 1986), pirotaksonomi (Sanglier *et al.* 1992), strainlerin kullanabildiği karbon kaynaklarının tespiti (Davelos *et al.* 2004; Tripathi *et al.* 2011), faj tipleme (Anderson and Wellington 2001), poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) (Manchester *et al.* 1990; Ochi 1992), DNA-DNA hibridizasyonu (Witt and Stackerbrandt 1990; Radenbach *et al.* 1993), düşük frekanslı parçacık analizi (LFRFA) (Beyazova and Lechevalier 1993), sekans analizi (Ochi 1995; Huddleston *et al.* 1997; Katoka *et al.* 1997) ve çoğu araştırmacı tarafından tercih edilen polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (Burkhalid *et al.* 2002; Wanner 2006; St-Onge *et al.* 2008; Awad *et al.* 2009; Dees *et al.* 2012) sayılabilir. Bahsedilen metotların kronolojisine göz atıldığında konvensiyonel taksonomi ile başlayan yolculuğun, sayısal taksonomi ile devam ettiği ve ardından modern taksonomik yöntemlere doğru geldiği görülmektedir.

Erken dönemlerde taksonomik sistemler fenotipik karakterlere dayanmaktaydı. Bu geleneksel yaklaşıma göre; *Streptomyces*'ler, spor formasyonları, spor renkleri, melanin üretimi gibi kriterler açısından benzerlik ve farklılıklarına göre gruplandırılmaktaydı. İkinci aşamada ise bu gruplar karbon kaynaklarını kullanım karakteristiklerine göre alt gruplara ayrılmaktaydı (Pridham and Tresner 1974). Sayısal taksonomi de çok sayıda fenotipik kriterin tamamının eş zamanlı olarak değerlendirilmesine imkan tanımıştır. Williams ve arkadaşları (1983) tarafından *Streptomyces* türleri üzerinde 189 fenotipik karakter kullanılarak yapılan çalışmada 475 strain karakterize edilmiş, sonuçta 19 majör, 40 minör ve 18 adet de tek strain içeren 77 grup belirlenmiştir. Daha sonra numerik taksonomi veri tabanında var olan 41 karakteristiği kullanarak, muhtemel bir tanı oranı veren MATİDEN programı geliştirilmiştir (Anderson and Wellington 2001). İlerleyen yıllarda ise değişik araştırmacılar tarafından, Williams ve arkadaşlarının (1983) oluşturduğu tanı matrisi yenilenmiş ve geliştirilmiştir (Langham *et al.* 1989; Kampfer *et al.* 1991).

Streptomyces türlerinin sınıflandırılmasında kullanılabilecek bir diğer kriter de sahip oldukları 14-18 karbonlu, iso ve anteiso yağ asidi zincirleridir (Lechevalier 1977; Saddler *et al.* 1987). Bunun yanı sıra bazı türlerde hidrosillenmiş metil esterleri de mevcuttur (Kroppenstedt 1985). Kanada'da yapılan bir çalışmada 31 adet patojen ve patojen olmayan *S. scabiei* türünün yağ asidi metil esterleri belirlenmiştir. Yapılan analizlere göre bu 31 strain iki grup içinde yer almıştır. İlk grupta baskın yağ asidi 16:0 olarak tespit edilirken, ikinci grubun baskın yağ asidinin 15:0 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 15:0, 15:0 iso ve 16:0 yağ asitlerinin, analiz edilen tüm strainlerde total yağ asidi kompozisyonunun %20'sini oluşturduğu belirlenmiştir. Yine çalışma sonucunda genetik gruplarla, yağ asiti profilleri arasında herhangi bir bağlantı bulunmadığı gibi, patojen strainler arasında da ayırt edici herhangi bir karakteristiğe rastlanmadığı rapor edilmiştir (Paradis *et al.* 1994).

Amerika'da yapılan başka bir çalışmada ise; 19 patojen *Streptomyces* spp., 7 patojen baskılayıcı *Streptomyces* spp., ve *S. albidoflavus*'a ait tip strainin hücresel yağ asidi kompozisyonları belirlenmiştir. Yapılan gruplandırmaya göre patojenik *S. scabiei* ve *S. albidoflavus* türlerinin *S. acidiscabies*'ten farklı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *S. acidiscabies* istisna olmak kaydıyla patojenik *Streptomyces* strainlerinin, patojen baskılayıcı strainlerden farklı bir grupta yer aldığı tespit edilmiştir (Ndowora 1995).

Pirotaksonomik yöntem de *Streptomyces* türlerinin tanısında kullanılan yöntemlerden biri olup yüksek sıcaklıkta pirolize edilen hücrelerin kütle spektroskopisi ile analiz edilmesi (PyMS) esasına dayanmaktadır. Yapılan bir çalışmada; majör gruplardan olan *S. albidoflavus* grubu PyMS analizine tabi tutulmuş, *S. albidoflavus* ve *S. anulatus* olmak üzere iki farklı grupta değerlendirilmiştir. Yine 6 adet *S. halstedii* straininden 3 tanesi de farklı bir grup içinde yer almıştır. Bu sonuçlara göre; PyMS analizinde aynı grupta yer alan strainler içinde varyasyon görülebilmektedir. Araştırmacılara göre; bu metodun uygulanmasında dikkat edilmesi gereken husus tıpkı yağ asidi analizinde olduğu gibi standart bir prosedüre bağlı kalınmasıdır. Çünkü geliştirme ortamı ve süresinin elde edilen pirogramı etkilediği belirtilmiştir (Sanglier *et al.* 1992).

Serolojik teknikler de bu cinsin tanısı amacıyla kullanılabilir. *Streptomyces* türleri tarafından üretilen proteinlerin direkt olarak araştırılmasına ve türler arasındaki farklılıkların belirlenmesine imkan sağlayan serolojik tanı çalışmaları agar jel immunodifüzyon analizi ile başlamıştır (Ridell *et al.* 1986). Ancak, bu analiz yönteminin bazı sakıncaları olduğu bildirilmiştir. Sadece major antijen gruplarının belirlenebilmesi, yarı kantitatif bir yöntem olması ve presipitasyon hatlarının belirlenmesindeki görecelik bunlar arasında gösterilmiştir. ELISA yönteminin ise bu dezavantajlara sahip olmadığı ve daha hassas ölçüm yapabildiği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada; indirekt ELISA yöntemi kullanılmış, sonuçta daha önce sayısal taksonomi çalışmaları ile elde edilen veriler, bu araştırma sonuçları ile paralellik göstermiştir (Kirby and Rybicki 1986). Bu çalışmada kullanılan antibody *Streptomyces* türlerinin miselyumlarını hedef alacak şekilde dizayn edilmiş ve taksonomik araştırmalarda türlerin gruplandırılması için kullanılmıştır. Öte yandan türe spesifik monoklonal antibodyler üzerine yapılan bir başka çalışmada ise; *S. lividans*'ın spor yüzeyinde bulunan antijenleri hedef alan tür spesifik bir antibody geliştirilmiş ve bunun *S. lividans*'ın tanısında başarı ile kullanılabilceği kaydedilmiştir (Wipat *et al.* 1994).

Streptomyces grubu bakterilerin tanısında en önemli kriterlerden biri de kullanabildikleri karbon kaynakları, bir başka deyişle metabolik enzim profillerinin belirlenmesidir. Bu amaçla daha önceleri ISP'de standardize edilen metotlar kullanılmıştır. Buna göre standart bir besi yerine karbon kaynakları eklenmek suretiyle bakterilerin bu karbon kaynaklarını kullanıp kullanmadığı belirlenmiştir (Pridham and Gottlieb 1948;). Ancak günümüzde bu işlem için hazır kitler tercih edilmektedir. BIOLOG firması tarafından geliştirilen SFP2 veya GP2 kitler bu amaçla kullanılabilir. Yapılan bir çalışmada; SFP2 BIOLOG plate kullanılmış ve test edilen 10 *Streptomyces* straininin tamamının α -D-glukoz, maltotrioz, turanoz, *N*-acetyl-D-glukozamine, D-mannoz, gliserol, dekstrin ve L-glutamik asit karbon kaynaklarını kullandığı, 6 karbon kaynağının ise hiçbir izolat tarafından kullanılmadığı belirtilmiştir (Davelos *et al.* 2004). Yapılan başka bir çalışmada ise; 14 *Streptomyces* straininin metabolik enzim profillerinin belirlenmesi amacıyla GP2 BIOLOG kit kullanılmıştır. Yapılan analizlere göre; strainler iki majör grupta yer almış, 10 karbon kaynağı, ilk

grupta yer alan hiçbir strain tarafından kullanılmazken, 3 karbon kaynağı da ikinci grupta yer alan strainlerin hiçbiri tarafından kullanılmamıştır. Tüm strainler tarafından kullanılan tek karbon kaynağının ise D-riboz olduğu belirtilmiştir (Triphati *et al.* 2011) .

Tanıda kullanılan bir diğer yöntem ise faj tiplene olarak bilinmektedir. Buna göre fajların konukçu spesifitesinden yararlanarak tanı yapılabilmektedir. Fajların bazıları polivalent, yani cinse dahil çok sayıda türü enfekte edebilecek özellikte iken, bazıları da türe spesifik özelliktedir. Ancak, *Streptomyces* fajlarının genel olarak cins spesifik özellikte olduğu bildirilmiştir (Anderson and Wellington 2001).

Bir diğer yöntem ise poliakrilamid jel elektorforezi (PAGE) ile hücresel proteinlerin analizine dayalı olan protein profillemedir. Yapılan bir çalışmada; 32 *Streptomyces* ve 5 *Streptoverticillium* straini SDS-PAGE ile analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlara göre protein profilleri ile daha önce belirlenen fenotipik gruplar arasında bir bağlantı olduğu belirlenmiştir (Manchester *et al* 1990). Bir diğer çalışmada ise; *S. scabiei* strainleri SDS-PAGE analizine tabi tutulmuş ve sonuçta iki farklı grup belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmını oluşturan DNA-DNA hibridizasyon analizinde de; aynı iki grubun elde edildiği, ilave olarak PAGE analizinin bu gruplardan birinin, iki alt gruba ayrılmasına da olanak sunduğu kaydedilmiştir. Fakat aynı çalışmada yağ asidi metil esterlerinin analizi sonucu elde edilen verilere dayanarak yapılan gruplandırmanın, diğer iki çalışmanın sonuçları ile örtüşmediği görülmüştür (Paradis *et al.* 1994). Yine yapılan analizler patojen ve patojen olmayan strainler arasında bir ayırım yapılmasına olanak sağlamamıştır. Öte yandan 2-D PAGE adı verilen iki boyutlu protein analizinin daha duyarlı olduğu belirtilmiştir. *Streptomyces* proteinlerini ilk olarak 2-D PAGE yöntemi ile analiz eden Ochi (1989), yaptığı araştırmalar sonucunda cinse spesifik 2-D PAGE profillerine sahip AT-L30 proteinlerine odaklanmış, bu yöntemin *Streptomyces* türlerinin sınıflandırılması ve tanılanmasında başarı ile kullanılabileceğini belirtmiştir (Ochi 1992).

Şüphesiz bahsedilen metotların hepsinin avantaj ve dezavantaj olarak değerlendirilebilecek yönleri vardır. Ancak genetik materyalin analizine yönelik

yöntemler daha kesin sonuçlar vermesi ve daha geniş bir kitle tarafından kabul görmesi nedeni ile ayrı bir öneme sahiptir.

Bu metotlardan biri DNA-DNA hibridizasyon tekniğidir. Metot, farklı organizmalardan elde edilmiş tek zincirli DNA molekülerinin birleştirilmesi esasına dayanır. Organizmalar arasındaki benzerlik %olarak ifade edilir. %70 ve üzeri benzerlik gösteren strainler aynı gruba dahil edilir. Yapılan bir çalışmada; *Streptomyces* türleri ile familyanın diğer üyeleri olan *Streptoverticillium* cinsine dahil strainler analiz edilmiş ve cins içindeki benzerlik oranı %97'ye kadar ulaşırken, cinsler arası hibridizasyon sonucunda benzerlik oranının %15-27 arasında değiştiği ve buradan hareketle yöntemin *Streptomyces* türlerinin cins seviyesinde ayrımı için kullanılabileceği bildirilmiştir (Witt and Stackbrandt 1990). Yine bir başka çalışmada; *S. albidoflavus* strainleri DNA-DNA hibridizasyonu ile analiz edilmiş, daha önce sayısal taksonomi esaslarına göre 3 alt gruba ayrılan strainler, bu çalışmada tek grupta toplanmıştır (Mordarski *et al.* 1986). Farklı araştırmalarda çok defa tercih edilmesine rağmen, kromozom üzerinde bazı bölgelerde görülen düzensizlik göz önünde bulundurulduğunda, bu metodun türler ve tür grupları arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde tek taksonomik test olarak kullanımının uygun olmadığı da belirtilmiştir (Redenbach *et al.* 1993).

Bir diğer moleküler teknik de düşük frekanslı parçacık analizi (LFRFA)'dir. Metodun temeli restriksiyon enzimleri ile kesilen kromozomal DNA'nın değişken alanlı jel elektroforezinde (PFGE) ayrıştırılmasına dayanır. Beyazova ve Lechevalier (1993); *Streptomyces* cinsi içinde yer alan 8 türe ait 59 straini bu yolla analiz etmiş ve bazı strainlerin gruplandırılmasında etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymuşlardır. Buna rağmen fizyolojik testler sonucunda %90 oranında benzerlik gösteren *S. cyaneus* strainlerinin LFRFA analizi sonucu benzerlik oranının %58 olarak değerlendirildiği bildirilmiştir.

Çok sayıda araştırmacı tarafından tercih edilen bir yöntem de nükleik asit sekanslarının belirlenmesidir. rRNA genleri baz alınarak yapılan sekans analizlerinin *Streptomyces* taksonomisinde oldukça önemli bir yere sahip olmasının yanı sıra cins içinde

gerçekleşen horizontal gen transferlerinin saptanmasında da oldukça yararlı olduğu belirtilmiştir (Huddleston *et al.* 1997). Bu bölgeler yüksek derecede korunmuş genleri içermektedir. 16S rRNA genleri 3 bölgeye sahip olup gerek cins (α ve β bölgesi) ve gerekse tür (γ bölgesi) düzeyinde tanı yapabilecek proplar dizayn edebilmek için yeterince varyasyona sahiptir (Stackerbrandt *et al.* 1992). Yine 23S ve 5S genleri de türler arası ilişkilerin belirlenmesinde kullanılabilir (Ochi 1995). 16S rRNA genlerinin *Streptomyces* taksonomisinde kullanılmaya başlamasının ardından bu alandaki çalışmalar hız kazanmıştır. Katoka ve arkadaşları (1997) kapsamlı bir çalışmaya yönelmiştir. Bu amaçla 89 *Streptomyces* türüne ait tip strain, sekans analizine tabi tutulmuş ve 16S rRNA genlerinin tür içi ve türler arası ilişkilerin belirlenmesinde kullanılabileceği kanısına varılmıştır. Araştırma sonuçları yayımlandıktan sonra benzer gruplar art arda sekanslanmış, 485 *Streptomyces* strainine ait datalar gen bankasına kaydedilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada patates adi uyuz hastalığına neden olan strainleri de içeren 12 *Streptomyces*, sekans analizine tabi tutulmuş, bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu filogenetik ağaçta her strainin kendine özgü bir pozisyonda olduğu belirlenmiş ve patatesteki uyuz hastalığına neden olan *Streptomyces* türleri arasında yakın filogenetik bağlar olmadığı öne sürülmüştür (Taguchi *et al.* 1996).

En çok kullanılan ve tercih edilen moleküler tanı yöntemlerinden biri de şüphesiz PCR'dır. Literatüre bakıldığında *Streptomyces*'lerin cins ve tür düzeyinde tanısının yanı sıra ürettikleri toksinler ve patojenite özelliklerine dair genlerin belirlenmesinde PCR'dan çok geniş bir yelpazede faydalandığı görülmektedir.

Streptomyces strainlerini cins seviyesinde tanılayabilmek amacı ile çok sayıda primer dizayn edilerek kullanılmıştır. 16S 1F/1R; Burkhalid ve arkadaşları (2002) ile Wanner'in çalışmalarında (2004, 2006) başarı ile kullanılmış universal primerlerdir. Bu primer çifti *Streptomyces* türleri için 1531 bp uzunluğunda spesifik bant vermekte olup, ilaveten farklı uzunlukta bantlar da gözlemlenebileceği bildirilmiştir. Yine yapılan bir başka çalışmada; pA ve pH primerleri kullanılmış, *Streptomyces* strainleri 1514 bp'lik bantlar oluşturmuşlardır (Lethonen *et al.* 2004). StrepB ve StrepF primerleri de *Streptomyces* türlerinin cins düzeyinde tanısında kullanılmıştır. Bu primer çiftinin de

Streptomyces strainlerinde 520 ve 1070 bp'lik bant uzunluğunda dizileri amplifiye ettiği bildirilmiştir (Awad *et al.* 2009).

Yine *S.scabiei*, *S. stelliscabiei*, *S. turgidiscabies*, *S. aureofaciens*, *S. acidiscabies* ve *S. bottropensis* için türe spesifik primerler de dizayn edilerek kullanılmıştır. Ayrıca *S. scabiei* için dizayn edilen primer çiftlerinden birinin aynı zamanda *S. europaeiscabiei* içinde 1 bp farkla aynı reaksiyonu verdiği bildirilmiştir (Wanner 2006). Lethonen ve arkadaşları (2004) tarafından *S. scabiei*, *S. turgidiscabiei* ve *S. aureofaciens* için spesifik primerler dizayn edilmiş; *S. scabiei* için Scab1m/2m primer çifti 1278 bp, *S. turgidiscabies* için Turg1/2 primer çifti 1273 bp ve *S. aureofaciens* için Aur1/2 primer çifti 943 bp'lik bantlar vermiştir. Almanya'da yapılan bir çalışmada; türe spesifik primerler kullanılarak *S. scabiei*, *S. europaeiscabiei*, *S. turgidiscabies*, *S. acidiscabies*, *S. bottropensis*, *S. stelliscabiei* ve *S. aureofaciens* türlerinin tanısı yapılmıştır (Leiminger *et al.* 2012).

Toksin üretimi ve patojeniteye ilişkin, patojenite adası (pathogenity island, PAI) olarak isimlendirilen ve mikroorganizmalar tarafından horizontal gen transferi yoluyla kazanılan bölgeye ait genlerin belirlenmesine yönelik olarak dizayn edilmiş çok sayıda primer çifti de mevcuttur. Yapılan bir çalışmada; *S. scabiei*, *S. acidiscabies* ve *S. turgidiscabies* strainlerini içeren 43 patojen *Streptomyces* patojenite determinantları olarak kabul edilen nec1 ve ORFtnf genlerine spesifik primerler kullanılmıştır. Sonuçta patojenite testleri pozitif olarak değerlendirilen izolatlar arasından yalnız 1 tanesinin bu genlerden yoksun olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yapılan testlerde patojen olarak değerlendirilen tüm strainlerin takstomin A üretimlerinin pozitif olduğu, patojenitesi negatif olarak değerlendirilen tek strainin de ORFtnf genine sahip olduğu belirlenmiştir (Burkhalid *et al.* 1998). Yine bir başka çalışmada; nec1 genine ait sekanstan türetilen Nec 15/13 ve Nec 35/33 primerleri dizayn edilmiş ve patojen *Streptomyces* türlerinden 580 bp'lik PCR ürünleri elde edilmiştir (Shin *et al.* 2002).

Bir diğer çalışma uyuz hastalığı etmenlerini karakterize etmek amacıyla Norveç'te yapılmış olup, 130 farklı lokasyondan izole edilen 223 strain patojenite karakteristikleri

bakımından test edilmiş, izolatlar arasında TxtAB genleri pozitif ve negatif olanlar belirlenmiştir. Bunlar arasında; nec1+/TomA+, nec1-/TomA+, nec1+/TomA- ve nec1-/TomA- olmak üzere 4 farklı PAI genotipi belirlenmiş ancak TxtAB operonunun temel patojenite determinantı olduğu ifade edilmiştir (Dees *et al.* 2012).

Kanada'da yapılan bir çalışmada; 41 *Streptomyces* straini PAI genleri (TxtA, TxtC, TomA) ve takstomin üretimi bakımından test edilmiştir. Araştırma sonucunda 40 strainin takstomin ürettiği ve takstomin üretemeyen 1 strain hariç tüm strainlerin TxtA, TxtC, TomA genlerini de ifade edebildiği, bunlar arasında yalnızca bir strainin TomA genini kodlayamadığı belirtilmiştir (St-Onge *et al.* 2008).

PAI karakteristiklerinin belirlenmesine yönelik olarak yapılan bir diğer çalışmada 66 *Streptomyces* straini nec 1 ve TomA genlerinin varlığı açısından test edilmiştir. PCR ile yapılan testlere ek olarak doğrulama için Southern Blot analizi de yapılmıştır. Bu genlerden bir tanesini kodlayabilen strainler patojen olabildiği gibi, her ikisini de kodlayamadığı halde patojen olan strainlerin varlığı tespit edilmiştir (Wanner 2004).

Yine Wanner (2006) tarafından yapılan bir diğer çalışmada; Amerika'da 6 farklı eyaletten izole edilmiş farklı türe mensup strainler Nec1, TxtA, TxtAB ve TomA genleri açısından test edilmiştir. Çalışma sonucunda; *S. scabiei*, *S. europaeiscabiei*, *S. stelliscabiei*, *S. acidiscabies* ve *S. bottropensis* strainleri arasından patojenitesi pozitif izolatlar bakıldığında, strainlerin çoğunun PAI genotipi Nec1+/Txt+/TomA+, *S. scabiei* izolatlarından bir tanesinin PAI genotipi Nec1+/Txt+/TomA- ve bir tanesinin PAI genotipi de Nec1-/Txt+/TomA- olarak kaydedilmiştir. Yine bu çalışmada da Txt AB operonu temel patojenite işareti olarak tayin edilmiştir.

Bir diğer çalışma; Amerika'da 135 farklı lokasyondan izole edilen patojen *Streptomyces* türleri üzerinde gerçekleştirilmiş ve bu strainlere ait patojenite karakteristikleri belirlenmiştir. Buna göre nec1, TxtAB ve TomA genleri test edilmiştir. Test edilen türler *S. scabiei*, *S. europaeiscabiei*, *S. acidiscabies*, *S. turgidiscabies* ve *Streptomyces Idaho-X* olup, strainler arasında PAI genotipleri açısından farklılıklar olduğu ortaya

konmuştur. Kimi strainler Nec1-/Txt+/TomA-, kimi strainler Nec1+/Txt-/TomA ve kimi strainler de Nec1-/Txt-/TomA- olarak değerlendirilmiştir. Çok sayıda *Streptomyces* straini ile gerçekleştirilen bu çalışmada TxtAB operonunun temel patojenite belirleyicisi olduğuna dair kuvvetli deliller ortaya konmuş, bu operondan yoksun olan strainlerden yalnız 1 tanesinin turp bitkisinde lezyon oluşturabildiği ve patateste patojen olmadığı belirtilmiştir (Wanner 2009).

Bir başka çalışma da İspanya'da yapılmıştır. Batı Avrupa'nın değişik bölgelerinden (İspanya, Hollanda, Fransa, Almanya, Birleşik Krallık) toplanan hastalıklı yumrulardan total DNA izolasyonu yapılmış ve TxtAB genlerine sfesifik olarak dizayn edilen Stx1a ve Stx1b primerleri ile analizler yapılmıştır. Bu primer çiftinin de 402 bp'lik bir bant verdiği ve TxtAB genlerinin belirlenmesinde başarı ile kullanılabilceği bildirilmiştir. Büyük oranda patojen strainlerin TxtAB operonuna sahip olduğu ancak nadir de olsa bu operondan yoksun olan patojen strainlerin göz ardı edilemeyeceği ifade edilmiştir (Gonzalez *et al.* 2008).

Patojenite belirleyicilerine yönelik olarak yapılan bir başka çalışmada 660 kb'lık PAI belirlenmiştir. Bu bölge üzerinde nekrogenic proteinleri kodlayan nec 1, takstomin A üretiminden sorumlu TxtA, takstomin B üretiminden sorumlu TxtB, sitokrom P450 üretiminden sorumlu TxtC, tomatinaz üretiminden sorumlu TomA ve yine takstomin metabolizmasında rol oynayan NOS, fas 1-6 gibi bir grup gen dizisinin varlığı belirlenmiştir (Kers *et al.* 2005). Bir başka çalışmada ise; nec 1 geninin amplifikasyonuna yönelik yuvalanmış (nested) PCR ve gerçek zamanlı (real-time) PCR analizinde kullanılabilcek primer çiftlerinin yanı sıra yine nec 1 bölgesini hedef alan bir Taqman prop dizayn edilmiştir (Cullen and Lees 2007). Bir başka çalışmada da; TxtAB operonunu kodlayan primerler dizayn edilmiş, gerçek zamanlı PCR kullanılarak patojenlerin toprak ve patates yumrularından tespiti sağlanmıştır (Qu *et al.* 2007) .

Streptomyces türlerinin patojenite karakteristikleri incelendiğinde bunların farklı faktörden kaynaklanabileceği anlaşılmaktadır. Bunların başında şüphesiz taxtomin veya tomatinaz gibi *Streptomyces* türlerinin ürettiği fitotoksinler ve nekrogenik proteinler

gelmektedir. Bu nekrogenik proteinler nec1 geni tarafından tetiklenmekte ve bağımsız bir patojenite faktörü olarak işlev görmektedir. Yine üretimi TomA genine bağlı olarak gerçekleşen tomatimaz ve Txt genlerine bağlı olarak gerçekleşen takstomin bileşikleri de patojenite de önemli rol oynayan fitotoksinlerdir (Healy *et al.* 2000; Wanner 2006; Wach *et al.* 2007; Khodakaramian and Khodakaramian 2012).

Bunlar içinde en önemi olan ve üzerinde en çok çalışılan determinant takstomin bileşikleri olmuştur. Takstominler 1989 yılında keşfedilmiş, bitki hücrelerinde selüloz sentezini inhibe eden, bir molekül triptopan ve bir molekül fenilalanin içeren siklik dipeptitlerdir. Birbirlerinden txtA ve txtB'ye bağlı metil gruplarının ve txtC'de dipeptit omurgaya bağlı hidroksil gruplarının varlığı ile ayırt edilirler. Tüm takstominlerde triptofanın indol halkasındaki 4. karbona bağlı bir nitro grubu bulunur ve bu grup NOS aksiyonları yoluyla ortaya çıkar (Wact *et al.* 2007).

Babcock ve arkadaşları (1993) yaptıkları çalışmada; *S. scabiei* strainlerinin ürettiği toksinler üzerine çalışmış ve 5 farklı takstomin bileşiği belirlemişlerdir. Belirlenen komponentlerden 1 ve 4'ün daha öce yapılan çalışmalarada takstomin A ve B olarak belirlendiği, ayrıca bu beş komponentin King ve arkadaşları (1992) tarafından yapılan çalışmada da tanımlandığı bildirilmiştir. Bu bileşiklerin *Streptomyces* patojenitesinde çok önemli bir yere sahip oldukları yapılan birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Lawrence *et al.* 1990; King and Lawrence 1996; Conn and Leci 1998; Wanner 2004; Wanner *et al.* 2006; Khodakaramian and Khodakaramian 2012).

Healy ve arkadaşları (2000) tarafından bildirildiğine göre; *S. scabiei*, *S. acidiscabies*, *S. turgidiscabies* ve tatlı patatete uyuz belirtilerine neden olan *S. ipomoeae* türleri takstomin ailesine dahil bir veya daha fazla analog üretebilmektedir. *S. scabiei*, *S. turgidiscabies* ve *S. acidiscabies* türlerinin ürettiği dominant toksin takstomin A iken, *S. ipomoeae*'nin ürettiği dominant toksin takstomin C'dir. Yine aynı çalışmada stainlerin takstomin üretiminin ORFtnp-nec1-IS1629 bölgelerinin korunumuna bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir.

Türkiye’de fitopatojen *Streptomyces*’ler üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında az sayıda araştırma olduğu göze çarpmaktadır. Karahan (2006) tarafından belirtildiğine göre; hastalığın var olduğu 1948’de yapılan makroskobik gözlemlerden bu yana bilinmektedir (Bremer 1948). Sonraki yıllarda da Ege Bölgesi’nde bir çalışma yürütülmüş, İzmir ve civarında bulunan patates ekim alanlarının patates uyuzu ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Kaya ve Gündoğdu 1972).

Günümüze doğru gelindiğinde ise Karahan (2006) tarafından, Afyon, Nevşehir, Niğde ve Bolu illerinde patates ekim alanlarında yapılan çalışma ile patojen *Streptomyces* türlerinin tanısı ve hastalığa karşı bazı patates çeşitlerinin reaksiyonları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda biyokimyasal ve fizyolojik testler kullanılarak *S. scabiei*, *S. reticuliscabiei* ve *S. turgidiscabies* türlerinin varlığı belirlenmiş, bazı strainlerin ise tür düzeyinde tanıların yapılamadığı bildirilmiştir.

Erzurum İli’nde, daha doğrusu yukarıda kayıtlarına değinilen bölgeler haricinde Türkiye’de fitopatojen *Streptomyces* türleri hakkında bir veri bulunmamaktadır. Öte yandan, spesifik olarak fitopatojen *Streptomyces* türlerini hedef almasa da, patateslerde var olan bakteriyel hastalıkların belirlenmesine yönelik bölgesel ve ülke çapında iki proje çalışması yürütüldüğü bilinmektedir. Bunlardan birincisi Atatürk Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenen ‘‘Erzurum ilinde yetiştirilen patateslerdeki bakteriyel etmenlerin tanılanması ve patojenitelerinin belirlenmesi’’ ikincisi ise TÜBİTAK tarafından desteklenen ‘‘Ülkesel Patates Tohumluk Üretim Sisteminin Geliştirilmesi’’ projeleridir. Bu projeler sonucunda, araştırmaların yapıldığı yıllar itibari ile patates üretim alanlarının bakteriyel hastalıklar yönünden temiz ve sorunsuz olduğu belirtilmiştir. Mevcut literatür bilgisi gözden geçirildiğinde de, bölgemizde stolbur (Citir 1985; Eroglu *et al.* 2010) hariç patateslerde görülen bakteriyel hastalıklara dair herhangi bir kayıt bulunmadığı tespit edilmiştir.

Son yıllarda Erzurum İli’nde patates üreticilerinden gelen şikayetler üzerine yürütülen sörvey çalışmalarında patates yumrularında uyuz hastalığı belirtilerine sıkça rastlandığı tespit edilmiştir. Hastalığın gitgide yaygınlaştığının gözlenmesi üzerine bu çalışma

Erzurum İli patates üretim alanlarında var olan fitopatojen *Streptomyces* türlerinin tanılanması ve karakterize edilmesi amacıyla tasarlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın materyalini, Erzurum merkez ve çevre ilçelerden toplanan hastalıklı patates yumrularından izole edilen *Streptomyces* izolatları ve bu izolatların patojenitelerinin belirlenmesinde test bitkisi olarak kullanılan, tarım kredi kooperatifinden temin edilen patates (*Solanuma tuberosum* L. var. Marfona) yumruları oluşturmuştur. Çalışma kapsamında Erzurum merkez ve çevre ilçelerden toplanan patates yumrularından 264 adet *Actinomycetes* grubu bakteri izole edilerek kültüre alınmıştır. Sörveyler patates ekiminin ekonomik düzeyde yapılmadığı Kandilli, Çat, Tekman ve Karayazı hariç tüm ilçelerimi (Merkez, Pasinler, Oltu, Olur, Narman, Karaçoban, Aşkale, Tortum, Uzundere, Şenkaya, Karaçoban, Hınıs, Köprüköy, Horsan ve İspir) kapsamıştır.

3.1.1. Yararlanılan cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır;

Biolog mikroplate okuyucusu (Biolog, U.S.A., SN E11175)

Biolog turbidity (Biolog, U.S.A., SN 02071102)

Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)

Çalkalayıcı (Thermoshake, Gerhard, GERMANY, SN 4002319)

Derin dondurucu (Nuair, U. S. A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316-PK)

Elektroforez jel görüntüleme sistemi (Biolab- Uv tech)

Elektroforez jel yürütme sistemi (Biogen)

Hassas terazi (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42-90908239)

Hematoloji alkalayıcısı (GERMANY, GEL–3025, SN 10365703 F)

İnkübatör (Nüve, TÜRKİYE, ES 500, SN 03–0591)

Magnetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK–418, SN 05–1083)

Mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE)

Mikroskop (Olympus, JAPAN, B x 50, ODO4368)

Mini karıştırıcı (IKA, U.S.A., M51, SN 03017581)

Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)

Otomatik pipetler (Eppendorf, GERMANY)

PCR thermocycle (Eppendorf, Mastercycler, ALMANYA)

pH metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)

Saf su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)

Steril kabin (LABCAIRE)

Sterilizatör (Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN 303–3051)

Su banyosu (Nüve, TÜRKİYE, ST–402, SN 02–0138)

3.1.2. Kullanılan besi yerleri ve çözeltilerin hazırlanışı

Araştırma süresince kullanılan besi yerlerinin ve çözeltilerin hazırlanışı ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir:

Su Agarı: 1 L dH₂O içerisine %1,5 (w/v) oranında agar eklenmiş ve besiyeri otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilmiştir. Besiyeri 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşması beklenmiştir.

Pepton Yeast Iron (PYI) Agar: 36 g pepton iron agar, 1 g yeast ekstrakt 1 L dH₂O içinde karıştırılarak besiyerinin pH'sı 7,3'e ayarlanmış ve 121°C'de 20 dk steril edilmiştir. Ardından besiyerinin 45°C'ye soğuması beklenerek steril petrilere dökülmüş ve katılaşmaya bırakılmıştır (Tresner and Danga 1958).

Modifiye Bennet Agar: 1 g beef ekstrakt, 1 g yeast ekstrakt, 2 g tyripton, 10 g gliserol ve 15 g agar 1 L dH₂O içerisinde çözülmüş, besiyeri 121°C'de 20 dk steril edilmiştir. Besiyeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşması beklenmiştir (Lambert and Loria 1989a).

Yulaf Unu Agar: 20 g yulaf unu 1 L dH₂O içerisinde çözümlenerek 20 dk boyunca kaynatılmıştır. Besiyeri tülbentten süzülerek pH'sı 7,3'e ayarlanmıştır. Ardından 20 g agar eklenerek 121°C'de 20 dk süreyle otoklav edilmiş, besiyeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Shirling and Gottlieb 1966).

Patates Dekstroz (PDA) Agar: Hassas terazide 40 g PDA (Difco) tartılarak 1 L dH₂O içinde çözülmüş ardından 121°C'de 15 dk süreyle otoklav edilmiştir. Steril edilen besi yeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

Yeast Malt Extract Agar (YME): 4,0 g yeast ekstrakt, 10 g malt ekstrakt, 4,0 g dextrose 1 L dH₂O içinde karıştırılarak, NaOH ile pH 7,0-7,2'ye ayarlanmıştır. Daha sonra karışıma 20 g agar eklenerek besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiş ve soğumaya bırakılmıştır. Besiyeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşması beklenmiştir.

Trypticase Soy Broth (TSBA): Hassas terazide 40 g TSBA (Merck) tartılarak 1 L dH₂O içinde çözülmüş, daha sonra karışım 121°C'de 15 dk süreyle otoklav edilmiştir. Steril edilen besi yeri oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır (Klement *et al.* 1990).

Bazal Mineral Salt Agar: Hassas terazide; 2,64 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2,38 g KH_2PO_4 , 5,65 g $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve 1 ml iz element çözeltisi 1 L dH_2O içinde çözülmüş, pH'sı 6,8-7,0'ye ayarlanmış ve 15 g agar eklenmiştir. 121°C 'de 15 dk süreyle otoklav edilerek, 45°C 'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşması beklenmiştir.

Tyrosine Agar: 15 g gliserol, 0,1 g L-asparagin, 0,5 g L-tyrosin, 0,5 g K_2HPO_4 , 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g NaCl, 0,01g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0 ml iz element çözeltisi ve 20 g agar 1 L su içerisinde çözülmüş, pH 7,2-7,4'e ayarlanmış, 121°C 'de 20 dk süreyle otoklav edilerek, 45°C 'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşması beklenmiştir.

İz Element Çözeltisi: 100 ml dH_2O içerisinde, 0,64 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,11 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,79g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,15 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözümlenerek hazırlanmıştır. Bu çözeltinin buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmesi ve kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmesi gerekmektedir. Ayrıca kullanılan çözelti en fazla 1 aylık olmalıdır.

%70'lik Etil Alkol: 70 ml etil alkol, sdH_2O ile 100 ml'ye tamamlanarak solüsyon hazırlanmış ve hazırlanan çözelti -20°C 'de muhafaza edilmiştir.

%30 'luk Gliserol: 30 ml gliserol 70 ml sdH_2O 'ya ilave edilerek hazırlanan karışım otoklavda 121°C 'de 15 dk steril edilmiştir.

Hücre Parçalama (Saponification) Çözeltisi: 150 ml sdH_2O ve 150 ml metil alkol (HPLC Grade) 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, sonra katı formdaki sodyum hidroksit (ACS Grade)'den hassas terazide 45 g tartılarak çözeltiliye ilave edilmiştir. Çözelti iyice çözülmünceye kadar karıştırılmıştır (Miller and Berger 1985).

Metilleştirme (Methylation) Çözeltisi: 275 ml metil alkol (HPLC Grade) ve 325 ml hidroklorik asit (6 N) 1 L'lik renkli çözelti şişesi içerisine ilave edilmiş, iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır (Miller and Berger 1985).

Saflaştırma (Extraction) Çözeltisi: 200 ml metil-tert-butil-eter (HPLC Grade) 200 ml hexan (HPLC Grade) üzerine ilave edilerek 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, hazırlanan çözelti iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır (Miller and Berger 1985).

Bazik Yıkama (Base Wash) Çözeltisi: Hassas terazide katı formdaki sodyum hidroksitden (ACS Grade) 10,8 g tartılarak 900 ml sdH₂O içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmış, karışım 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmıştır (Miller and Berger 1985).

STE (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 50 mM EDTA, pH: 8) Çözeltisi: 1.21 g Tris, 1.75 g NaCl ve 3.72 g EDTA saf su içerisinde çözülmüş, 1 N HCl ile pH 8'e ayarlanmış, ardından toplam hacim 200 ml'ye tamamlanarak otoklavda steril edilmiştir.

5 M NaCl Çözeltisi: 29.22 g NaCl 100 ml saf su içerisinde çözülerek otoklavda steril edilmiştir.

TE (10mM Tris, 1 mm EDTA, pH: 8) Çözeltisi: 0.24 g Tris ve 0.074 g EDTA saf su içerisinde çözülerek pH 8'e ayarlanmış, son hacim 200 ml'ye tamamlanarak otoklavda steril edilmiştir.

%10'luk SDS Çözeltisi: 10 g SDS 100 ml saf su içerisinde çözülerek çözelti otoklavda steril edilmiştir.

%10 CTAB (Hexadecyl trimetil-ammonium bromide)-0.7 M NaCl Çözeltisi: 80 ml saf su içerisinde önce 4.09 g NaCl çözülmüştür. NaCl tamamen çözüldükten sonra

karışıma 10 g CTAB ilave edilerek çözünmesi sağlanmış, toplam hacim 100 ml'ye tamamlandıktan sonra otoklavda steril edilmiştir.

Kloroform : İzoamilalkol (24:1) Çözeltisi: 24 ml kloroform ve 1 ml izoamilalkol karıştırılarak elde edilen karışım – 20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Fenol: Kloroform: İzoamilalkol (25:24:1) Çözeltisi: 25 ml fenol, 24 ml kloroform ve 1 ml izoamilalkol karıştırılarak elde edilen karışım – 20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Proteinaz K: 1 ml steril distile su içerisinde 20 mg proteinaz K olacak şekilde hazırlanana karışım – 20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Ethidium Bromür Çözeltisi: 500 ml 0.5xTBE tamponu içerisine 300 µl ethidium bromür ilave edilerek hazırlanmış, karanlık ortamda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Bromfenol Blue Çözeltisi: 0.25 g bromfenol blue, 0.25 g xylene cyanol FF ve 30 ml gliserol'ün toplam hacminin 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Çözelti otoklavda steril edilirdikten sonra + 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

10xTBE Tamponu (pH: 8): 108 g Tris, 55 g borik asit, 40 ml 0.5 M EDTA 500 ml steril distile su içerisinde çözüldükten sonra karışımın pH'sı 8'e ayarlanmıştır. Ardından toplam hacim steril distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması

Sürvey çalışmalarında; Erzurum İli'nde (merkez ve çevre ilçeler) ekimi yapılan patates bitkilerinden, bitkilerin hasat döneminde (Eylül-Ekim) tipik uyuz simptomsu sergileyen yumru örnekleri toplanmış, etiketlenerek, polietilen torbalar içerisinde laboratuara getirilmiş ve izolasyon yapılmaya kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması işlemi 2010-2012 yılları arasında gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. İzolasyon

Uyuz simptomsu gösteren yumrular musluk suyu altında yıkanarak topraktan arındırılmışlardır. Daha sonra bu yumrular %1'lik sodyum hipoklorit içerisinde bir dakika tutulmuş ve steril saf sudan geçirilerek yüzeysel dezenfeksiyonları tamamlanmıştır. Kahverengi-siyah lezyon gösteren kısım steril bir bisturi yardımıyla kaldırıldıktan sonra alttaki saman sarısı renkli kısımdan yaklaşık 500 mg doku alınıp 1 ml steril su ile havan ve havan eli kullanılarak ezilmiş ve 5 ml steril su içinde süspansiyon edilmiştir. Bu süspansiyonlardan 50 µl alınarak su agarı bulunan petrilere cam baget yardımıyla ekilmiş ve petrilere 30 °C'de bir hafta süreyle inkubasyona bırakılmıştır (Loria *et al.* 2001). Su agarı üzerinde gelişen, tozlu ipliğimsi yapıda görünüme sahip koloniler seçilmiş ve kolaylıkla sporulasyon verebileceği YME besi yerine çizgi ekim yapılmıştır. Petrilere 30 °C'de 15-20 gün süreyle inkübe edilmiştir. Gelişen tek kolonilerden yine YME besi yerine saf kültür elde etmek için çizgi ekim yapılmıştır (Loria *et al.* 2001). Saflaştırılan izolatlar YME besi yeri üzerinde sporulasyon verince petrilere bir miktar steril saf su ilave edilmiş ve cam baget yardımıyla sporlar toplanmıştır. Toplanan bu sporlar 1500 rpm'de 20 dakika süreyle santrifüj yapılarak çöktürülmüştür. Santrifüjden sonra üst sıvı boşaltılmış ve geriye kalan pelet %20'lik

gliserolün 1 ml'si ile sulandırılmıştır. Bu süspansiyonlar daha sonra -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Patojenite testi

Patatesler soyulup temizce yıkanmış ve %0,1'lik kalsiyum karbonat (CaCO₃) ile 3 dakika muamele edilerek dezenfeksiyonları tamamlanmıştır. Daha sonra patateslerden 0,5 cm kalınlığında 3 cm çapında diskler kesilerek nemli kurutma kağıdı koyulmuş petrilere aktarılmıştır. Ardından OMA besiyerinde 7-10 gün geliştirilmiş olan strainlerden küçük parçalar alınarak, hazırlanan patates disklerinin üzerine ters çevrilmiş ve petrilere parafilmle kapatılarak 22°C'de 3-6 gün inkübe edilmiştir. Patates diskleri üzerinde görülen yüzeysel veya derin lezyonlar pozitif patojenite sonucu olarak kabul edilmiştir. Aynı zamanda lezyonun kapladığı alana göre strainler için bir skala değeri belirlenmiştir (0: hastalık yok, 1: yüzey alanının %10-25'inde lezyon, 2: yüzey alanının %26-50'sinde lezyon, 3: yüzey alanının %51-75'inde lezyon, 4: yüzey alanının %76 ve üzerinde lezyon). Kontrol olarak bakteri ekimi yapılmamış OMA'dan kesilen parçalar kullanılmıştır (Conn *et al.* 1998).

3.2.4. Morfolojik testler

Yapılan patojenite testi sonucu pozitif olarak değerlendirilen izolatlar genel ayrımları için aşağıdaki morfolojik testlere tabi tutulmuştur

Spor zinciri şekli

YME agar besiyerinde, spor vermiş ve olgunlaşmış kültürler mikroskop altında, 40x'de incelemeye tabi tutularak spor zinciri şekli belirlenmiştir (Shirling and Gottlieb 1966).

YME üzerinde koloni ve spor rengi

YME agar besiyerinde olgunlaşmış kültürler spor ve koloni rengi bakımından incelenmiş, incelemeler 3 haftalık periyotta ve 1 hafta ara ile 3 kez tekrar edilmiştir (Shirling and Gottlieb 1966).

3.2.5. Biyokimyasal testler

Yapılan patojenite testi sonucu pozitif olarak değerlendirilen izolatlar yine genel ayrımları için aşağıdaki biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur

Melanin pigment üretimi

Önemli biyokimyasal özelliklerden biri olan melanin üretimi PYI ve TYR agar üzerinde test edilmiştir. Kültürler agar üzerine inokule edildikten sonra 2 ve 4. günlerde kontrol edilmiş, kahverengi, siyah ve yakın tonlarda görülen pigment oluşumları pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak inokule edilmemiş PYI ve TYR agar ortamları kullanılmıştır. Ayrıca kullanılan diğer besi ortamları; YME, PDA ve MBO üzerinde de kahverengi ve siyah dışında gözlemlenen pigment oluşumları kaydedilerek, strainlerin çözülebilir pigment üretimi belirlenmiştir (Shirling and Gottlieb 1966).

NaCl'ye tolerans

Strainlerin NaCl, penisilin, streptomisin, kristal viyole, ve fenole karşı gösterdikleri tolerans MBO ortamında test edilmiştir (Lambert and Loria 1989a). Modifiye Bennet agar hazırlandıktan sonra otoklav edilmiş ve 45°C'ye kadar soğuduktan sonra toksik bileşikler besiyerlerine ilave edilmiştir. Ardından soğuyan besiyerleri steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

%5, 6 ve 7 NaCl içeren MBO besiyerleri bakteri kültürleri ile inokule edilmiş, 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle karşılaştırmalı olarak

1, 2, 3 ve 7. günlerde kaydedilmiştir. Normal gelişim gösterebilen strainler dirençli olarak değerlendirilmiştir (Lambert and Loria 1989a).

Fenole tolerans

Kültürler; %0,1 oranında fenol içeren MBO besiyerine inokule edildikten sonra 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle karşılaştırmalı olarak 1, 2, 3 ve 7. günlerde kaydedilmiştir. Normal gelişim gösterebilen strainler dirençli olarak değerlendirilmiştir (Lambert and Loria 1989a).

Streptomisine tolerans

Hazırlanan streptomisinli (20 µg/ml) MBO besiyerlerine kültürler inokule edilmiş, 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle karşılaştırmalı olarak 1, 2, 3 ve 7. günlerde kaydedilmiştir. Normal gelişim gösterebilen strainler dirençli olarak değerlendirilmiştir (Lambert and Loria 1989a).

Penisiline tolerans

Hazırlanan penisilinli (10 IU/ml) MBO besiyerlerine kültürler inokule edilmiş, 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle karşılaştırmalı olarak 1, 2, 3 ve 7. günlerde kaydedilmiştir. Normal gelişim gösterebilen strainler dirençli olarak değerlendirilmiştir. (Lambert and Loria 1989a).

Kristal viyoleye tolerans

Kristal viyole (0,5 µg/ml) içeren besiyerlerine kültürler inokule edilmiş, 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle karşılaştırmalı olarak

1, 2, 3 ve 7. günlerde kaydedilmiştir. Normal gelişim gösterebilen strainler dirençli olarak değerlendirilmiştir. (Lambert and Loria 1989a).

37°C’de gelişim

MBO besiyerlerine kültürler inokule edilmiş ve 37°C’de 15 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Gelişim gösterebilen strainler için sonuç pozitif olarak kaydedilmiştir

pH duyarlılığı

Bu test için Lambert ve Loria (1989a) tarafından belirlenen temel besi ortamı kullanılmış, 3,0-6,0 aralığında ve 0,5 birimlik pH farkları ile hazırlanan besiyerlerine kültürler inokule edilerek, 30°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra pozitif ve negatif kontrollerle karşılaştırmalı olarak gelişimleri incelenmiştir. Lambert and Loria 1989a).

3.2.6. Strainlerin MIS sistemi ile yağ asit profillerinin belirlenmesi

Bu çalışmada kullanılan bakteri strainleri Mikrobial Tanı Sistemi=MIS (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak tanılanmıştır (Miller and Berger 1985).

Strainlerinin TSBA besiyerinde geliştirilmesi

Saf kültür olarak – 80°C’de muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü’nde bulunan MIS (MIDI, Inc., Newark, DE) sistemi kullanılmak suretiyle kültüre alınan strainlerin tanısı yapılarak, yağ asidi profilleri belirlenmiştir. Yeast malt extract agar üzerinde geliştirilen bakteriler spor oluşturduktan sonra, bu spordardan Steril TSBA besiyerine ekim yapılmış ve

çalkalamalı shaker yardımı ile kültürler 26-28°C'de 72 saat süre ile geliştirilmiştir. Daha sonra kültürler 5000 rpm hızda 10 dakika santrifüjlenerek elde edilen pellet teflon kapaklı tüplere aktarılmıştır (Paradis *et al.* 1994). Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılmasında MIDI'nin standart protokolü izlenmiştir (Miller and Berger 1985).

Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması

Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılmasında hücre parçalama, metilleştirme, saflaştırma ve bazik yıkama çözeltileri kullanılmış olup aşağıdaki prosedür uygulanmıştır.

1. Test tüplerine 1 ml hücre parçalama çözeltisi ilave edilmiş, 5–10 sn çalkalanarak 5 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda bekletilmiştir. Çıkarılan tüpler tekrar 5–10 sn çalkalanarak 25 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.
2. Test tüplerine 2 ml metilleştirme çözeltisi eklenerek 5–10 sn'lik bir çalkalamadan sonra 80°C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenerek yağ asitlerinden yağ asit metil esterler elde edilmiştir.
3. Soğutulan tüplere 1,25 ml saflaştırma çözeltisi eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısı ile çalkalanmıştır. Alt kısmında inorganik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluşmuştur. Pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve organik faz muhafaza edilmiştir.
4. En son aşamada ise her tüpe 3 ml bazik yıkama çözeltisi ilave edilerek, 5 dk süreyle çalkalandıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tüp içerisinde yine 2 ayrı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti

ile alınarak 2 ml'lik gaz kromotografi tüplerine transfer edilmiş ve ağızları sıkıca kapatılmıştır.

Örneklerin MIS sisteminde analiz edilmesi

Protokole göre hazırlanan örnekler MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra cihaz çalıştırılmıştır. MIS sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler tek tek analiz edilmiş ve bilgisayar ortamında tanı sonuçları alınmıştır. Bu testler her bir örnek için 3 kez tekrar edilmiş ve yüzde olarak elde edilen en yüksek değer tanı sonucu olarak alınmıştır. Strainlerin birbirleri ile benzerlik ve farklılıkları, içerdikleri yağ asiti türleri ve yüzde oranlarına SPSS (Statistical Package for Social Sciences)'in Windows Release 15 (SPSS. Inc.) sürümü kullanılarak bakılmış ve dendogramları yapılmıştır.

3.2.7. Strainlerin kullandığı karbon kaynaklarının belirlenmesi

Patojen *Streptomyces* strainlerinin kullandığı karbon kaynakları daha önce tanımlanmış klasik yöntemlere göre belirlenmiştir. Bunun için ISP'de esas alınan 9 karbon kaynağı kullanılmıştır. L-arabinoz, glukoz, fruktoz, D-mannitol, sukroz, rafinoz, ramnoz ve D-ksiloz %10'luk çözeltiler halinde membran filtreden geçirilerek steril edilmiş, Myo(I)-Inositol ise filtre sterilizasyonuna uygun olmadığından eter sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Ardından son konsantrasyonları %1 olacak şekilde 60°C'ye kadar soğutulan bazal mineral salt agar ilave edilmiştir. Daha sonra besiyeri petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır. Son olarak hazırlanan bakteri süspansiyonları steril swab yardımı ile besiyerlerine inokule edilmiştir. Negatif kontrol olarak karbon kaynağı ilave edilmemiş bazal mineral salt agar besiyeri kullanılmıştır. 28°C'de 15 gün inkübe edilen petrillerdeki gelişim durumu negatif kontrollerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir (Shirling and Gottlieb 1966).

3.2.8. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

DNA'nın izolasyonu

Yeast malt ekstrakt besiyerinde geliştirilmiş kültürler öze yardımı ile 30 ml TSB besiyeri içeren erlenlere aktarılarak, yatay çalkalayıcıda 30°C'de, 120 rpm'de 2 gün geliştirilmiştir. Ardından kültürler 10000 rpm hızda 10 dakika santrifüjlenerek 0,1 g pellet alınmış ve steril havanlara aktarılmıştır. Sıvı azot ve havan eli yardımı ile ezilen pellet daha sonra 20 mg/ml lizozimle takviye edilerek TE buffer içeren tüplere aktarılmıştır. Tüpler 37°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra 20 µl SDS (%10'luk) ve 20 µl proteinaz K eklenmiş, ardından 55°C'de 30 dakika inkübe edilerek soğuması beklenmiştir. Daha sonra 1:1 oranında fenol-kloroform eklenerek 10000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş, üst faz temiz bir tüpe transfer edilerek üzerine %90'luk etanol eklenmiştir. -20°C'de 30 dakika bekletilerek DNA çöktürülmüş ardından 10000 rpm'de 10 dakikalık santrifüjleme işlemi ile pellet %90'luk etanolde iki kez yıkanmıştır. Daha sonra TE buffer içinde çözdürülmüş, 20 µl RNase solüsyonu (20 µg/ml) eklenerek 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Eşit miktar fenol-kloroform çözeltisi ile tekrar ekstrakte edilerek yukarıda belirtilen çöktürme ve yıkama işlemi yenilenmiştir (Kumar et al 2010). Son olarak nanodrop spektrofotometre yardımı ile 260 ve 280 nm'de ultraviyole ışık absorpsiyon yöntemi kullanılarak DNA kalitesi belirlenmiştir. Spektral ölçümler sonucunda 260/280 oranı 1,6 ve üzerinde olan DNA örneklerinin konsantrasyonları TE buffer ile 50 ng/µl'ye ayarlanarak çalışma solüsyonları hazırlanmış ve -86°C'de muhafaza edilmiştir.

16s rDNA PCR çalışmaları

Bu aşamada *Streptomyces* spp. için daha önce bir çok çalışmada başarı ile kullanılmış 16S 1F ve 16S 1R primerleri kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin dizilimleri, bağlanma sıcaklıkları ve PCR döngüleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. 100 mM Tris-HCl (pH 9,0), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂ (Sigma P2192), %0,1 Triton X-100 (Sigma

T8787), 25 pmol her primerden (Methabion), 2,5 U Taq DNA polymerase (Sigma T1806), 200 µM dNTP mix (Sigma D7295) içeren 50 µl reaksiyon buffer içerisine 25 ng kalıp DNA eklenmiş ve PCR gerçekleştirilmiştir (Wanner 2006). Daha sonra örnekler %1,5'lik agaroz jelde 90 V akımda 45 dakika yürütüldükten sonra, görüntüleme sistemine aktarılmıştır.

Spesifik PCR metodu ile genetik profillerin belirlenmesi

Çalışmanın bu kısmında patojen *Streptomyces* izolatlarının tür bazında moleküler tanımlarının yapılması amaçlanmıştır. Bunun için daha önceki çalışmalarda belirlenmiş türe spesifik 16s rDNA primerleri kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin dizilimleri, bağlanma sıcaklıkları ve PCR döngüleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. 100 mM Tris-HCl (pH 9,0), 50 mM KCl (Sigma P2317), 1-2 mM MgCl₂ (M1028), 200 µM dNTP mix (Sigma D7295), 25 pmol her primerden (Methabion), 2,5 U Taq DNA polymerase (Sigma T1806) içeren 50 µl reaksiyon buffer içerisine 25 ng kalıp DNA eklenmiş ve daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen süre ve sıcaklıklarda, küçük modifikasyonlarla PCR döngüsü gerçekleştirilmiştir (Wanner 2006). Daha sonra PCR ürünleri agaroz jelde 70 V akımda 80 dk yürütülerek görüntüleme sistemine aktarılmıştır.

Patojeniteye ilişkin genlerinin belirlenmesi

Çalışmanın son aşamasında ise; daha önceki çalışmalarda patojeniteden sorumlu olduğu belirlenmiş Nec1, TomA genleri ve TxtAB operonuna spesifik olarak dizayn edilmiş primerler kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin dizilimleri, bağlanma sıcaklıkları ve PCR döngüleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. TxtAB operonunun tespiti için öncelikle Stx1a/Stx1b primerleri tercih edilmiş, sonuç alınamayan örnekler için tekrar aşamasında TxtAB1/TxtAB2 primerleri kullanılmıştır. Nf/Nr, Tom3/Tom4 ve TxtAB1/TxtAB2 primerleri için; 100 mM Tris-HCl (pH 9,0), 50 mM KCl (Sigma P2317), 1-2 mM MgCl₂ (M1028), 200 µM dNTP mix (Sigma D7295), 25 pmol her primerden (Methabion), 2,5 U Taq DNA polymerase (Sigma T1806) içeren 50 µl reaksiyon buffer içerisine 25 ng

kalıp DNA eklenmiş ve daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen süre ve sıcaklıklarda küçük modifikasyonlar yapılarak PCR gerçekleştirilmiştir (Wanner 2006). Stx1a ve Stx1b primerleri için; Qiagen (201443) Taq PCR master mix kullanılmış, son hacimde primerler 1 µM konsantrasyona ayarlanarak 2,5 µl template DNA eklenmiş, belirtilen süre ve sıcaklıklarda PCR gerçekleştirilmiştir (Gonzalez *et al.* 2008). Ardından örnekler %1,5'lik agaroz jelde 70 V akımda 80 dk yürütülerek görüntüleme sistemine aktarılmıştır

3.2.9. İstatistik analiz

İstatik analizle IBM.SPSS 20 programı ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, Ward yöntemine göre hiyerarşik sınıflandırma analizine tabi tutulmuştur.

Çizelge 3.1. Kullanılan primerlere ait bazı özellikler

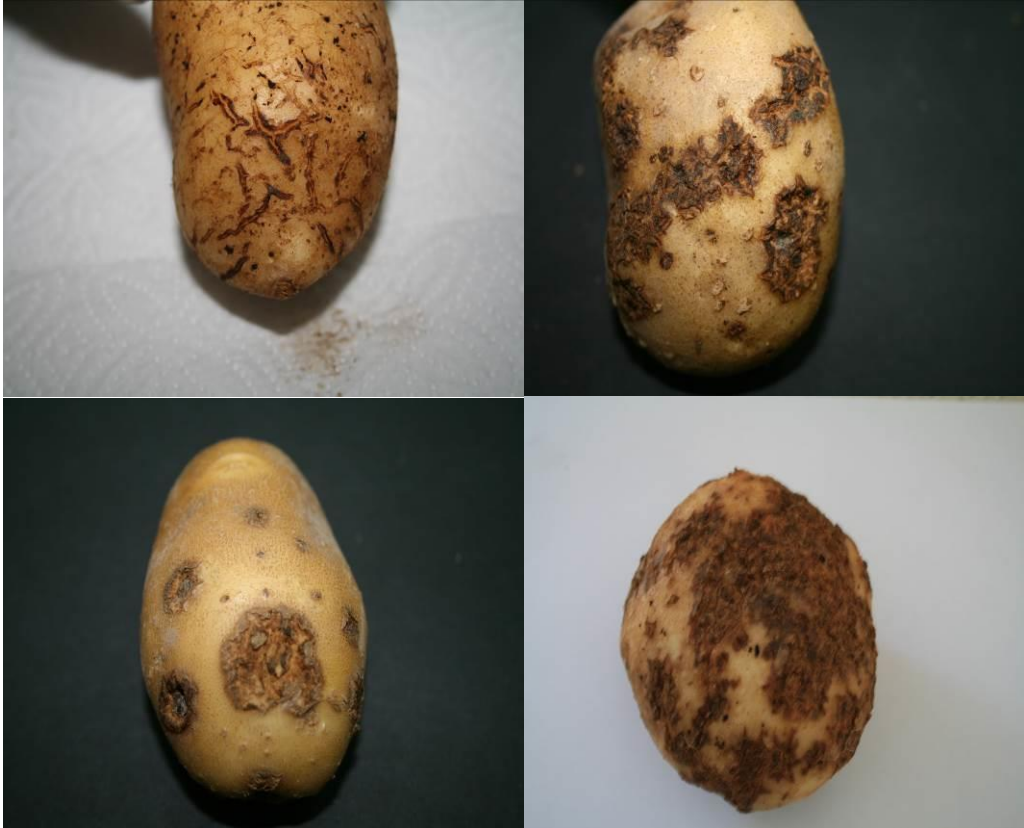
	Primer çiftlerinin baz dizimleri	BS °C	MgCl ₂ (mM)	BU (bp)	PCR döngüsü
<i>16S rDNA</i>	16S1F (5' CATTACGGAGAGTTTGATCC 3') 16S1R (5' AGAAAGGAGGTGATCCAGCC 5')	59	1,5	1531	95 °C'de 3 dk, 40 döngü (95 °C'de 20sn, 59 °C'de 30 sn, 72 °C'de 2 dk), 72 °C'de 4dk.
<i>S. scabiei</i>	Scab1m (5' CGACACTCTCGGGCATCCGA 3') Scab2m (5' TTCGACAGCTCCCTCCCTTAC 3')	60	1,0	1278	95 °C'de 3 dk, 40 döngü (95 °C'de 20sn, 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 2 dk), 72 °C'de 4dk.
<i>S. stelliscabiei</i>	Stel3 (5' GAAAGCATCAGAGATGGTGCC 3') T2st2 (5' CGACAGCTCCCTCCCCGTAAG 3')	60	1,5	476	95 °C'de 3 dk, 40 döngü (95 °C'de 20sn, 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 2 dk), 72 °C'de 4dk.
<i>S. bottropensis</i>	Stel3 (5' GAAAGCATCAGAGATGGTGCC 3') Aci2 (5' CGACAGCTCCCTCCCACAAG 3')	60	1,0	475	95 °C'de 3 dk, 40 döngü (95 °C'de 20sn, 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 2 dk), 72 °C'de 4dk.
<i>Nec1</i>	Nf (5' ATGAGCGCGAACGGAAGCCCCGGA 3') Nr (5' GCAGGTCGTCACGAAGGATCG 3')	60	2,0	700	95 °C'de 3 dk, 40 döngü (95 °C'de 20sn, 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 2 dk), 72 °C'de 4dk.
<i>TomA</i>	Tom3 (5' GAGGCGTTGGTGGAGTTCTA 3') Tom4 (5' TTGGGGTTGTACTCCTGCTC 3')	59	1,5	392	95 °C'de 3 dk, 40 döngü (95 °C'de 20sn, 59 °C'de 30 sn, 72 °C'de 2 dk), 72 °C'de 4dk.
<i>TxtAB</i>	Stx1a(5' GTGGACCGTGGAGCATCT 3') Stx1b(5' CAGTTCGGCGTAACTCAGC 3')	60	1,5	402	95 °C'de 5 dk, 35 döngü (95 °C'de 30sn, 60 °C'de 15 sn, 72 °C'de 1 dk), 72 °C'de 10 dk.
<i>TxtAB</i>	TxtAB1 (5' CCACCAGGACCTGCTCTTC 3') TxtAB2 (5' TCGAGTGGACCTCACAGATG 3')	48	2,0	385	95 °C'de 3 dk, 40 döngü (95 °C'de 20sn, 48 °C'de 30 sn, 72 °C'de 2 dk), 72 C'de 4dk

*BS: bağlanma sıcaklığı, BU: bant büyüklüğü.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. İzolasyon Sonuçları

Bu çalışmada Erzurum ili merkez ve çevre ilçelerden 2010-12 yılları aralığında farklı tiplerde uyuz belirtileri sergileyen patates yumruları toplanmıştır (Şekil 4.1). Sörveyler Pasinler, Narman, Uzundere, Tortum, İspir, Pazaryolu, Hınıs, Karaçoban, Köprüköy, Horasan, Aşkale, Şenkaya, Olur, Oltu ve Merkez İlçe'yi kapsamıştır. Bu çalışmalar sonucunda toplam 264 adet *Actinomyces* grubu bakteri straini izole edilerek saflaştırılmış ve -81°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 4.1. Farklı tipte uyuz belirtileri

Yapılan izolasyonların Erzurum İli içindeki dağılışı incelenecek olursa en çok izolasyon 86 strain ile Pasinler ilçesinde yapılmıştır. Şenkaya'dan 29, Narman'dan 25, Oltu'dan 20, Merkez Mahalleler'den (Dumlu, Akdağ, Söğütlü) 18, Pazaryolu'ndan 17, Olur'dan 16, Horasan'dan 14, İspir'den 8, Aşkale'den 7, Karaçoban'dan 6, Hınıs'dan 6, Tortum'dan 5, Uzundere'den 5 ve Köprüköy'den ise 2 *Actinomyces* straini izole edilmiştir.

4.2. Patojenite Test Sonuçları

İzole edilen 264 *Actinomyces* patates diskleri üzerinde patojenite testlerine tabi tutulmuş ve sonuçta bu strainlerden 114 tanesinin patojen olduğu belirlenmiştir. Patojen strainler, patates diskleri üzerinde çökük veya yüzeysel kahverengi lezyonlara bunun yanı sıra yer yer çürümeye neden olmuştur. Strainler lezyon yüzey kaplama alanına göre oluşturulan skala ile değerlendirildiğinde 21 strain için 1, 50 strain için 2, 40 strain için 3 ve 3 strain için ise 4 skala değeri belirlenmiştir.

En fazla patojen strain Pasinler İlçesi'nden izole edilmiştir. Bu ilçeden izole edilen 86 strainden 62 tanesinin patojen olduğu belirlenmiştir. Şenkaya'dan izole edilen 29 strainden 16'sı, Narman'dan izole edilen 25 strainden 2'si, Oltu'dan izole edilen 20 strainden 5'i, Merkez Mahalleler'den (Dumlu, Akdağ, Söğütlü) izole edilen 18 strainden 11'i, Pazaryolu'ndan izole edilen 17 strainden 1'i, Olur'dan izole edilen 16 strainden 1'i, Horasan'dan izole edilen 14 strainden 3'ü, Aşkale'den izole edilen 7 strainden 5'i, Tortum'dan izole edilen 5 strainden 3'ü, Uzundere'den izole edilen 5 strainden 3'ü ve Köprüköy'den izole edilen 2 strainin 2'si patojen olarak tanımlanmıştır. Öte yandan İspir ilçesinden 8, Karaçoban ilçesinden 6 ve Hınıs ilçesinden 6 *Actinomyces* izole edilmiş ve bunlardan hiçbirinin patojen olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Negatif ve pozitif patojenite sonucu

Patojen strainlerin 77 tanesi kabarıklık, 17 tanesi çukur ve 20 tanesi de yüzeysel uyuz belirtilerini sergileyen yumrulara izole edilmiştir. Bu çalışmada; karmaşaya yol açmamak adına; yumrulara gözlemlenen belirtileri ifade etmek için yıldız benzeri, ağ şeklinde kabarıklık, derin çukur gibi ifadeler kullanılmamış, belirtiler yalnızca kabarıklık, çukur ve yüzeysel ağ şeklinde değerlendirilmiştir.

4.3. Bakteriyel Strainlerin Yağ Asidi Metil Esterleri Analizi Sonuçları

Strainlerin ihtiva ettiği yağ asidi metil esterlerinin analizi sonucu tüm strainler cins düzeyinde *Streptomyces* olarak tanımlanmıştır. Tür düzeyinde ise 53 strainin *S. scabiei*, 33 strainin *S. olivaceus*, 18 strainin *S. violaceusniger*, 2 strainin *S. cinnamomeum*, 2 strainin *S. californicus*, 2 strainin *S. exfoliatus*, 2 strainin *S. rochei* ve 2 strainin de *S. lavendulae* olarak isimlendirildiği belirlenmiştir. Ancak testler sonucunda elde edilen benzerlik indeksleri genel itibari ile çok düşük olup, %0,18-46 aralığında değişkenlik göstermiştir.

İhtiva ettikleri yağ asidi çeşidi ve bulunma oranları esas alınarak yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre oluşturulan dendograma göre 2 majör gruba ayrılan strainler kendi arasında da alt gruplara ayrılmıştır (Çizelge 4.1). Buna göre 1. majör grup kendi arasında iki alt gruba ayrılmış; 80 strain (KS170, KS176, KS186, KS188, KS196,

KS197, KS198, KS225, KS252, KS294, KS295, KS297, KS300, KS302, KS303, KS306, KS307, KS308, KS317, KS318, KS319, KS461, KS463, KS464, KS465, KS466, KS467, KS469, KS470, KS471, KS 474, KS475, KS476, KS477, KS478, KS479, KS480, KS481, KS485, KS486, KS487, KS489, KS493, KS495, KS497, KS499, KS500, KS503, KS505, KS507, KS508, KS511, KS518, KS521, KS522, KS523, KS525, KS526, KS527, KS528, KS529, KS530, KS535, KS536, KS538, KS540, KS543, KS545, KS546, KS548, KS552, KS553, KS555, KS558, KS562, KS572, KS592, KS627, KS647 ve KS677) 1. alt grubu meydana getirmiştir. Bu alt grupta yer alan strainlerin ihtiva ettiği yağ asitleri incelediğinde 5 yağ asidinin tüm strainlerde bulunduğu belirlenmiştir. Bu yağ asitlerinin bulunma oranları ise; **15:0 iso** yağ asidi için maksimum %23,64, minimum %4,63, ortalama %11,61; **15:0 anteiso** yağ asidi için maksimum %50,19, minimum %14,97, ortalama %29,04; **16:0 iso** yağ asidi için maksimum %17,42, minimum %0,94, ortalama %11,48; **16:0** yağ asidi için maksimum %26,62, minimum %1,14, ortalama %16,93; **17: anteiso** yağ asidi için ise maksimum %18,10, minimum %2,87 ortalama %9,81 olarak tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra grup üyeleri arasında değişkenlik gösteren yağ asitlerinin varlığı da tespit edilmiştir. Strainlerin çoğunun ihtiva ettiği yağ asitleri bulunma oranları bakımından incelendiğinde; **13:0 anteiso** maksimum %2,2, ortalama %0,37; **14:0 iso** maksimum %6,00, ortalama %1,62; **14:0** maksimum %3,69, ortalama %1,43; **15:0** maksimum %5,43, ortalama %3,15; **16:1 cis 9** maksimum %15,79, ortalama %5,66; **16:0 9 metil** maksimum %3,3, ortalama %0,69; **17:1 anteiso c** maksimum %4,65, ortalama %0,59; **17:0 iso** maksimum %9,17, ortalama %3,95 ve **17:0** maksimum %3,49, ortalama %0,61 oranında bulunmuştur. Yine strainler arasında nadir olarak görülen yağ asitlerinden **12:0** maksimum %10,56, ortalama %0,27; **13:0 iso** maksimum %1,49, ortalama %0,19; **17:1 cis 9** maksimum %1,35, ortalama %0,01; **17:0 3OH** maksimum %1,23, ortalama %0,01; **17:0 cyclo** maksimum %1,12, ortalama %0,02; **18:0 iso** maksimum %8,48, ortalama %0,16; **18:1 cis 9** maksimum %1,46, ortalama %0,18; **18:0** maksimum %3,42, ortalama %0,48; **19:0 iso** maksimum %3,46, ortalama %0,43; **19:0 anteiso** maksimum %6,89, ortalama %0,86 ve **20:0** maksimum %2,4, ortalama %0,48 oranında varlığı belirlenen yağ asitleri olmuştur. 1. Majör grubu oluşturan olan 2. alt grup ise 19 strainden (KS195, KS229, KS492, KS510, KS514, KS515, KS524, KS539, KS554, KS560, KS561, KS573, KS593, KS613, KS618, KS620, KS629, KS636 ve KS646)

meydana gelmiştir. Bulunma oranları incelendiğinde tüm strainlerin ihtiva ettiği yağ asitleri; **15:0 iso** maksimum %10,05, minimum %5,56, ortalama %7,80; **15:0 anteiso** maksimum %30,28, minimum %2,98, ortalama %26,67; **16: iso** maksimum %21,28, minimum %10,35, ortalama %15,5; **16:0** maksimum %14,32, minimum %1,65, ortalama %9,90; **17:0 iso** maksimum %9,07, minimum %3,60, ortalama %6,93; **17: anteiso** maksimum %26,5, minimum %11,33, ortalama %19,62 olarak belirlenmiştir. Yine strainlerin çoğunluğunda var olan yağ asitlerinden; **14:0 iso** maksimum %6,07, ortalama %2,47; **15:0** maksimum %5,75, ortalama %2,06; **16:1 cis 9** maksimum %6,57, ortalama %3,52; **16:0 9 metil** maksimum %3,62, ortalama %1,45; **17:1 anteiso c** maksimum %3,40, ortalama %1,86 oranında tespit edilmiştir. Nadir olarak görülen yağ asitleri ise; **14:0** maksimum %0,82, ortalama %0,43; **17:1 cis 9** maksimum %1,08, ortalama %0,18 ve **17:0** maksimum %3,79, ortalama %0,90 belirlenmiştir. Her iki alt grup üyeleri kendi aralarında da farklı gruplara ayrılmıştır.

Yapılan analizler sonucu elde edilen 2. majör grup yine kendi arasında 2 alt gruba ayrılmıştır. Bunlardan 1.'sini 5 strain (KS227, KS488, KS499, KS606 ve KS678) oluştururken, bulunma oranlarına göre tüm strainlerde var olan yağ asitleri; **15: 0 iso** maksimum %19,21, minimum %8,94, ortalama %14,58; **15:0 anteiso** maksimum %55,61, minimum %25,23, ortalama %46,18; **16:0** maksimum %14,24, minimum %5,92, ortalama %8,13; **17:0 iso** maksimum %7,53, minimum %3,85, ortalama %5,55; **17:0 anteiso** maksimum %15,48, minimum %8,47, ortalama %10,39 oranında tespit edilmiştir. Strainlerin çoğunluğunda görülen **14:0 iso** yağ asidinin maksimum %4,13, ortalama %2,07 oranında bulunduğu belirlenirken nadir görülen **12:0** yağ asidinin bulunma oranları ise maksimum %4,34, ortalama %1,22 olarak tespit edilmiştir. 2. Majör gruba ait 2. alt grup ise 10 strainden (KS177, KS482, KS509, KS541, KS542, KS556, KS569, KS608, KS662 ve KS665) meydana gelmiştir. Yine tüm strainlerde var olan yağ asitleri; **15: 0 iso** maksimum %9,45, minimum %4,84, ortalama %6,87; **15:0 anteiso** maksimum %54,36, minimum %37,99, ortalama %43,27; **16:0 iso** maksimum %18,02, minimum %8,45, ortalama %13,23; **16:0** maksimum %14,69, minimum %3,02, ortalama %8,21; **17:0 iso** maksimum %5,71, minimum %1,45, ortalama %3,56; **17:0 anteiso** maksimum %24,66, minimum %9,77, ortalama %17,78 oranında tespit

edilmiştir. Strainlerin çoğunluğunda görülen **14:0 iso** yağ asidinin ise maksimum %5,62, ortalama %2,62 oranında varlığı belirlenmiştir. Nadir olarak görülen yağ asitlerinden **15:0** maksimum %3,24, ortalama %0,63; **16:1 cis 9** maksimum %5,89, ortalama %2,03; **16:0 9 metil** maksimum %1,58, ortalama %0,29; **17:1 anteiso c** maksimum %3,03, ortalama %0,85; **17:0 cyclo** maksimum %1,54, ortalama %0,45 oranında tespit edilirken, KS509 nolu strainin **17:0** yağ asidini %1,11 oranında ve KS608 nolu strainin **18:1 cis 9** yağ asidini %1,3 oranında ihtiva ettiği belirlenmiştir.

İzolatların içerdikleri yağ asidi metil esterleri ve bunların bulunma oranları esas alınarak yapılan analizler sonucunda, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler test sonuçlarına göre aynı grupta olduğu belirlenen strainlerin ihtiva ettikleri yağ asidi metil esterleri itibari ile aynı veya farklı gruplarda yer alabileceği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Patojen strainlerin maksimum, minimum ve ortalama yağ asidi metil ester içerikleri

Yağ Asidi	I. Majör Grup (99 strain)						II. Majör Grup (15 strain)					
	I. Alt Grup			II. Alt Grup			I. Alt Grup			II. Alt Grup		
	Maks	Min	Ort	Maks	Min	Ort	Maks	Min	Ort	Maks	Min	Ort
15:0 anteiso	50,19	14,97	29,04	30,28	22,98	26,67	55,61	25,23	46,61	54,36	37,99	43,28
15:0 iso	23,64	4,63	11,61	10,05	5,56	7,80	19,21	8,94	14,58	9,45	4,84	6,87
16:0 iso	17,42	0,94	11,48	21,28	10,35	15,25	12,53	2,55	6,20	18,02	8,45	13,23
16:00	26,62	1,14	16,93	14,32	1,65	9,90	14,24	5,92	8,31	14,69	3,02	8,22
17:0 anteiso	18,1	2,87	9,81	26,5	11,33	19,62	15,48	8,47	10,39	24,66	9,77	17,79
17: 0 iso	9,17	0	3,95	9,07	3,6	6,93	7,53	3,85	5,56	5,71	1,45	3,57
14:0 iso	6,00	0	1,62	6,07	0	2,47	4,13	0	2,71	5,62	0	2,62
16:1 Cis 9	15,79	0	5,67	6,57	0	3,52	8,86	0	1,77	5,89	0	2,03
12:00	10,56	0	0,27	0,94	0	0,05	4,34	0	1,23	0	0	0
15:00	5,43	0	3,15	5,75	0	2,07	0	0	0	3,24	0	0,63
16:0 9 metil	3,30	0	0,69	3,62	0	1,45	0	0	0	1,58	0	0,29
17:1 anteiso c	4,65	0	0,60	3,40	0	1,87	0	0	0	3,03	0	0,86
17:00	3,49	0	0,61	3,79	0	0,90	0	0	0	1,11	0	0,11
14:00	3,69	0	1,43	0,82	0	0,04	0	0	0	0	0	0
17:1 Cis9	1,35	0	0,02	1,08	0	0,18	0	0	0	0	0	0
17:0 Cyclo	1,12	0	0,03	0	0	0	0	0	0	1,54	0	0,41
18:1 Cis 9	1,46	0	0,02	0	0	0	0	0	0	1,3	0	0,13
13:0 iso	1,49	0	0,19	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13:0 anteiso	2,20	0	0,37	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17:0 3OH	1,23	0	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18:0 iso	8,48	0	0,16	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18:00	3,42	0	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19:0 iso	3,46	0	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19:0 anteiso	6,89	0	0,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20:00	2,40	0	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0

4.4. Morfolojik ve Biyokimyasal Test Sonuçları

Streptomyces türü bakterilerin karakterizasyonunda kullanılan bazı morfolojik ve biyokimyasal testlerden bu çalışmada da yararlanılmıştır. Spor zinciri morfolojileri, spor renkleri, koloni renkleri, melanin ve çözülebilir pigment üretimleri, toksik bileşiklere tolerans ve 37°C'de gelişim gibi testlenen karakterlere ait veriler Çizelge 4.2'de özetlenmiştir. Buna göre bir sınıflandırma yapılmış ve 21 morfolojik grup belirlenmiştir. Genel itibari ile aynı gruba dahil edilen strainler testlere karşı benzer reaksiyonlar verirken, bazı gruplarda testlenen karakterler bakımından farklılıklar olabildiği gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.2 Patojen strainlere ait bilgiler

Strain kodu	MIS tam sonucu	Lokasyon ve belirti tipi	Hastalık skalası	Spor rengi	Spor zinciri	YME'de koloni rengi	PYI ve TRY agarda melanin, diğer besiyerlerinde çözünebilir pigment üretimi					NaCl toleransı (%)			Streptomisin	Penisilin	pH	Kristal viyole	Fenol	37 C'de gelişim
							PYI	TYR	YME	PDA	MBO	5	6	7						
KS186 ¹	<i>S. scabies</i>	Şenkaya(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS196 ¹	<i>S. scabies</i>	Şenkaya(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS197 ¹	<i>S. scabies</i>	Şenkaya(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS198 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Şenkaya(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS225 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	1	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS294 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(Ç)	1	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS295 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Ç)	1	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS300 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS302 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Y)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS303 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS306 ¹	<i>S. scabies</i>	Köprüküy(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS307 ¹	<i>S. scabies</i>	Köprüküy(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS317 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS318 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS319 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS461 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS463 ¹	<i>S. violaceusniger</i>	Pasinler(K)	4	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	5,0	-	-	+

*Belirti tipi; (K): kabarık, (Ç): çukur, (Y): yüzeysel ağ, Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, TS: turuncumsu sarı, Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml, pH: geliştirdiği minimum pH seviyesi. KS(X)¹⁻²¹: Grup No.

Çizelge 4.2 (devam)

Strain kodu	MIS tanı sonucu	Lokasyon ve belirti tipi	Hastalık skalası	Spor rengi	Spor zinciri	YME'de koloni rengi	PYI ve TRY agarda melanin, diğer besiyerlerinde çözünebilir pigment üretimi					NaCl toleransı (%)			Streptomisin	Penisilin	pH	Kristal viyole	Fenol	37 C'de gelişim
							PYI	TYR	YME	PDA	MBO	5	6	7						
KS469 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS470 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS471 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	4	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS475 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS476 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	5,0	-	-	+
KS479 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS480 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS481 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	5,0	-	-	+
KS486 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS488 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS493 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS497 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS499 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS500 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS503 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS505 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	5,0	-	-	+
KS507 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+

*Belirti tipi; (K): kabarık, (Ç): çukur, (Y): yüzeysel ağ, Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, TS: turuncumsu sarı, Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml, pH: geliştirdiği minimum pH seviyesi. KS(X)¹⁻²¹: Grup No.

Çizelge 4.2 (devam)

Strain kodu	MIS tanı sonucu	Lokasyon ve belirti tipi	Hastalık skalası	Spor rengi	Spor zinciri	YME'de koloni rengi	PYI ve TRY agarda melanin, diğer besiyerlerinde çözünebilir pigment üretimi					NaCl toleransı (%)			Streptomisin	Penisilin	pH	Kristal viyole	Fenol	37 C' de gelişim
							PYI	TYR	YME	PDA	MBO	5	6	7						
KS511 ¹	<i>S. cinnamoneum</i>	Pasinler(Y)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	5,0	-	-	+
KS518 ¹	<i>S. scabies</i>	Tortum(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS521 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS523 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Ç)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS528 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS529 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS530 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS535 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS536 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Tortum(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	5,0	-	-	+
KS546 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS553 ¹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	5,0	-	-	+
KS555 ¹	<i>S. scabies</i>	Tortum(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+
KS592 ¹	<i>S. olivaceus</i>	Şenkaya(K)	1	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	5,0	-	-	+
KS170 ²	<i>S. scabies</i>	Şenkaya(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	5,5	-	-	+
KS176 ²	<i>S. violaceusniger</i>	Şenkaya(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	5,5	-	-	+
KS297 ²	<i>S. violaceusniger</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	5,5	-	-	+
KS466 ²	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	5,5	-	-	+

*Belirti tipi; (K): kabarık, (Ç): çukur, (Y): yüzeysel ağ, Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, TS: turuncumsu sarı, Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml, pH: geliştirdiği minimum pH seviyesi. KS(X)¹⁻²¹: Grup No.

Çizelge 4.2 (devam)

Strain kodu	MIS tanı sonucu	Lokasyon ve belirti tipi	Hastalık skalası	Spor rengi	Spor zinciri	YME'de koloni rengi	PYI ve TRY agarda melanin, diğer besiyerlerinde çözünebilir pigment üretimi					NaCl toleransı (%)			Streptomisin	Penisilin	pH	Kristal viyole	Fenol	37 C'de gelişim
							PYI	TYR	YME	PDA	MBO	5	6	7						
KS494 ²	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	+	5,5	-	-	+	
KS526 ²	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	+	-	5,5	-	-	+	
KS548 ²	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	+	+	5,5	-	-	+	
KS627 ²	<i>S. californicus</i>	Oltu(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	+	-	5,5	-	-	+	
KS252 ³	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	+	+	-	+	5,0	-	+	+	
KS464 ³	<i>S. violaceusniger</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	+	+	5,0	-	+	+	
KS489 ³	<i>S. violaceusniger</i>	Pasinler(K)	2	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	+	+	5,0	-	-	+	
KS545 ³	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	+	+	5,0	-	-	+	
KS195 ⁴	<i>S. exfoliatus</i>	Şenkaya(Y)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	-	-	+	+	4,0	-	+	+	
KS509 ⁴	<i>S. olivaceus</i>	Uzundere(Y)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	-	-	+	+	4,0	-	+	+	
KS510 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Dumlu(Y)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	+	-	-	+	4,0	-	+	+	
KS514 ⁴	<i>S. scabies</i>	Dumlu(Ç)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	+	-	-	+	4,0	-	+	+	
KS515 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Dumlu(Ç)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	-	-	+	+	4,0	-	+	+	
KS554 ⁴	<i>S. olivaceus</i>	Dumlu(K)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	+	+	-	+	4,0	-	-	+	
KS560 ⁴	<i>S. olivaceus</i>	Dumlu(Y)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	-	-	+	+	4,0	-	+	+	
KS573 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Şenkaya(Y)	3	G	S	K	+	+	-	-	-	+	+	-	+	4,0	-	+	+	
KS593 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Şenkaya(K)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	+	-	-	+	4,0	-	+	+	

*Belirti tipi; (K): kabarık, (Ç): çukur, (Y): yüzeysel ağ, Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, TS: turuncumsu sarı, Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml, pH: gelişebildiği minimum pH seviyesi. KS(X)¹⁻²¹: Grup No.

Çizelge 4.2 (devam)

Strain kodu	MIS tanı sonucu	Lokasyon ve belirti tipi	Hastalık skalası	Spor rengi	Spor zinciri	YME'de koloni rengi	PYI ve TRY agarda melanin, diğer besiyerlerinde çözünebilir pigment üretimi					NaCl toleransı (%)			Streptomisin	Penisilin	pH	Kristal viyole	Fenol	37 C' de gelişim
							PYI	TYR	YME	PDA	MBO	5	6	7						
KS618 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Oltu(K)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	4,0	-	+	+
KS620 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Oltu(K)	1	G	S	K	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	4,0	-	+	+
KS629 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Narman(Ç)	3	G	S	K	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	4,0	-	+	+
KS636 ⁴	<i>S. exfoliatus</i>	Narman(Ç)	2	G	S	K	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	4,0	-	+	+
KS646 ⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Şenkaya(K)	3	G	S	K	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	4,0	-	+	+
KS647 ⁴	<i>S. olivaceus</i>	Şenkaya(K)	3	G	S	K	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	4,0	-	+	+
KS467 ⁵	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(Y)	1	G	S	B	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	5,0	+	+	+
KS474 ⁵	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(Ç)	1	G	S	B	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	5,0	+	+	+
KS485 ⁵	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(Y)	1	G	S	B	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	5,0	+	+	+
KS487 ⁵	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	1	G	S	B	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	5,0	+	+	+
KS543 ⁶	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Ç)	3	G	RF	SG	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	-	+	+
KS662 ⁶	<i>S. scabies</i>	Pazaryolu(K)	1	G	RF	SG	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	-	+	+
KS665 ⁶	<i>S. scabies</i>	Horasan(Y)	1	G	RF	SG	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	-	+	+
KS677 ⁶	<i>S. olivaceus</i>	Horasan(Y)	1	G	RF	SG	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	-	+	+
KS678 ⁶	<i>S. scabies</i>	Horasan(Y)	2	G	RF	SG	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	-	+	+
KS492 ⁷	<i>S. rochei</i>	Dumlu(Y)	3	MK	RF	ST	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	+	+	+
KS524 ⁷	<i>S. scabies</i>	Akdağ(K)	3	MK	RF	ST	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	+	+	+

*Belirti tipi; (K): kabarık, (Ç): çukur, (Y): yüzeysel ağ, Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, TS: turuncumsu sarı, Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml, pH: geliştirdiği minimum pH seviyesi. KS(X)¹⁻²¹: Grup No.

Çizelge 4.2 (devam)

Strain kodu	MIS tanı sonucu	Lokasyon ve belirti tipi	Hastalık skalası	Spor rengi	Spor zinciri	YME'de koloni rengi	PYI ve TRY ağarda melanin, diğer besiyerlerinde çözünebilir pigment üretimi					NaCl toleransı (%)			Streptomisin	Penisilin	pH	Kristal viyole	Fenol	37 C' de gelişim
							PYI	TYR	YME	PDA	MBO	5	6	7						
KS613 ⁷	<i>S. scabies</i>	Olur(Y)	3	MK	RF	ST	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	+	+	+
KS482 ⁸	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Ç)	1	B	RF	KS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	4,5	+	+	+
KS540 ⁸	<i>S. violaceusniger</i>	Dumlu(K)	2	B	RF	KS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	4,5	+	+	+
KS227 ⁹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Ç)	3	G	RF	S	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	-	+	+
KS522 ⁹	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Ç)	3	G	RF	S	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	4,0	-	+	+
KS477 ¹⁰	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	RF	S	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS478 ¹⁰	<i>S. olivaceus</i>	Pasinler(K)	3	G	RF	S	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS495 ¹⁰	<i>S. olivaceus</i>	Aşkale(Y)	3	G	RF	S	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS538 ¹⁰	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	2	G	RF	S	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS552 ¹⁰	<i>S. olivaceus</i>	Aşkale(Ç)	1	G	RF	S	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS562 ¹⁰	<i>S. olivaceus</i>	Aşkale(Ç)	2	G	RF	S	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS177 ¹¹	<i>S. olivaceus</i>	Şenkaya(K)	1	G	S	SA	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS188 ¹¹	<i>S. scabies</i>	Şenkaya(Y)	1	G	S	SA	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS556 ¹¹	<i>S. scabies</i>	Akdağ(K)	2	G	S	SA	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS572 ¹¹	<i>S. californicus</i>	Şenkaya(Y)	2	G	S	SA	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS308 ¹²	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	5,0	-	-	+
KS527 ¹²	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	4	G	S	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	5,0	-	-	+

*Belirti tipi; (K): kabarık, (Ç): çukur, (Y): yüzeysel ağ, Spor rengi; G. gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, TS: turuncumsu sarı, Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml, pH: geliştirdiği minimum pH seviyesi. KS(X)¹⁻²¹: Grup No.

Çizelge 4.2 (devam)

Strain kodu	MIS tanı sonucu	Lokasyon ve belirti tipi	Hastalık skalası	Spor rengi	Spor zinciri	YME'de koloni rengi	PYI ve TRY agarda melanin, diğer besiyerlerinde çözünebilir pigment üretimi					NaCl toleransı (%)			Streptomisin	Penisilin	pH	Kristal viyole	Fenol	37 C'de gelişim
							PYI	TYR	YME	PDA	MBO	5	6	7						
KS539 ¹³	<i>S. scabies</i>	Uzundere(K)	2	SB	RF	KH	+	+	-	-	-	-	-	-	+	5,0	-	Z	+	
KS558 ¹³	<i>S. violaceusniger</i>	Aşkale(K)	3	SB	RF	KH	+	+	-	-	-	-	-	-	+	5,0	-	Z	+	
KS541 ¹⁴	<i>S. violaceusniger</i>	Dumlu(K)	1	G	S	K	-	+	+	+	+	+	+	+	+	4,0	+	+	+	
KS569 ¹⁴	<i>S. scabies</i>	Şenkaya(K)	1	G	S	K	-	+	+	+	+	+	+	+	+	4,0	+	+	+	
KS606 ¹⁵	<i>S. lavendulae</i>	Oltu(Y)	2	SG	RF	KH	-	+	-	-	-	+	+	-	+	4,5	-	+	-	
KS608 ¹⁵	<i>S. scabies</i>	Oltu(Y)	2	SG	RF	KH	-	+	-	-	-	+	+	-	+	4,5	-	+	-	
KS229 ¹⁶	<i>S. violaceusniger</i>	Pasinler(Ç)	2	G	S	S	-	-	-	-	-	+	+	+	-	5,0	-	+	+	
KS465 ¹⁷	<i>S. scabies</i>	Pasinler(K)	3	G	RF	KS	-	+	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	+	
KS508 ¹⁸	<i>S. cinnamoneum</i>	Aşkale(K)	1	G	RF	TS	-	-	-	-	-	-	-	-	+	4,0	-	-	-	
KS525 ¹⁹	<i>S. violaceusniger</i>	Söğütlü(Ç)	2	B	RF	KH	+	+	-	-	-	-	-	-	+	4,0	-	-	+	
KS542 ²⁰	<i>S. scabies</i>	Pasinler(Ç)	1	B	RF	KH	-	+	+	+	+	+	+	+	-	4,0	+	+	+	
KS561 ²¹	<i>S. rochei</i>	Uzundere(Y)	1	G	RF	KS	+	+	-	-	-	-	-	-	+	5,0	+	+	-	

*Belirti tipi; (K): kabarık, (Ç): çukur, (Y): yüzeysel ağ. Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, TS: turuncumsu sarı, Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml, pH: gelişebildiği minimum pH seviyesi. KS(X)¹⁻²¹: Grup No.

Grup 1; 47 strainden (KS186, KS196, KS197, KS198, KS225, KS294, KS295, KS300, KS302, KS303, KS306, KS307, KS317, KS 318, KS319, KS461, KS463, KS469, KS470, KS471, KS475, KS476, KS479, KS480, KS481, KS486, KS488, KS493, KS497, KS499, KS500, KS503, KS505, KS507, KS511, KS518, KS521, KS523, KS528, KS529, KS530, KS535, KS536, KS546, KS553, KS555 ve KS592) oluşmuş ve patojen strainlerin %41'ini meydana getirmiştir. Bu grup morfolojik özellikleri ve biyokimyasal testlere verdikleri reaksiyonlara göre *S. scabiei* olarak tanılanmıştır. Bu grubun tüm üyelerinin; gri, spiral spor zincirlerine sahip, PYI ve TYR agar üzerinde melanin üretebilen strainler olduğu belirlenmiştir. Yine grup üyelerinden hiçbiri YME, PDA ve MBO besiyerleri üzerinde çözünebilir pigment üretmezken, 10 IU/ml penisilin, 0.5 µg/ml kristal viyole ve %1'lik fenole karşı duyarlı oldukları gözlemlenmiştir. Grup üyelerinden yalnız KS481 nolu strainde 20 µg/ml streptomisine karşı direnç gözlemlenirken NaCl toleranslarının grup içinde değişkenlik gösterebilmiştir. KS198, KS295, KS479, KS497, KS499, KS507 ve KS521 nolu strainler %5 NaCl'ye, KS463, KS476, KS505, KS511, KS536, KS553 ve KS592 nolu strainlerin ise %6 NaCl'ye dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu grup strainleri arasında %7 NaCl toleransına rastlanmazken, diğer grup üyelerinin ise %5 NaCl'ye karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Grup 1 üyelerinin gelişebildiği minimum pH derecesi ise 5,0 olarak tayin edilmiştir.

Grup 2; 8 strainden (KS170, KS176, KS297, KS466, KS494, KS526, KS548 ve KS627) meydana gelirken patojen strainlerin %7'lik kısmını oluşturmuş ve grup üyeleri *S. stelliscabiei* olarak tanılanmıştır. Bu grupta yer alan tüm strainler gri, spiral spor zincirlerine sahip olmakla birlikte, tüm strainlerin PYI ve TYR besi yerlerinde melanin pigment üretirken, çözünebilir pigment üretmedikleri belirlenmiştir. Yine strainlerin tamamı 10 IU/ml penisiline dirençli iken, 20 µg/ml streptomisin, 0,5 µg/ml kristal viyole ve %1 fenole karşı dirençleri olmadığı tespit edilmiştir. Gelişebildikleri minimum pH seviyesinin 5,5, NaCl toleranslarının ise değişken olduğu kaydedilmiştir. KS170, KS526 ve KS627 nolu strainler %7 NaCl'ye karşı dirençli iken diğer grup üyelerinin ise %5 NaCl'ye karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Grup 3; 4 strainden (KS252, KS464, KS489 ve KS545), meydana gelmiş, patojen strainlerin %3,5'ini teşkil eden grup üyeleri, *S. europaeiscabiei* olarak tanılanmıştır. Bu grup üyelerinin de gri, spiral spor zincirlerine sahip olmakla birlikte PYI ve TYR besiyerlerinde melanin üretebildikleri tespit edilmiştir. Çözünebilir pigment üretiminden yoksun olan strainlerin, 10 IU/ml penisiline karşı dirençli iken, 0,5 µg/ml kristal viyole ve 20 µg/ml streptomisine duyarlı oldukları kaydedilmiştir. NaCl toleransları incelendiğinde KS252 nolu strainin %6 NaCl'ye direnç gösterdiği, diğer grup üyelerinin %5 NaCl'ye karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Gelişebildikleri minimum pH seviyesi 5,0 olarak tespit edilirken, KS252 ve KS464 nolu strainlerin %1 fenole karşı direnç gösterebildikleri de gözlemlenmiştir.

Grup 4; 15 strainden (KS195, KS509, KS510, KS514, KS515, KS554, KS560, KS573, KS593, KS618, KS620, KS629, KS636, KS646 ve KS647) meydana gelmiş ve patojen strainlerin %13,2'sini oluşturan grup üyeleri *S. bottropensis* olarak tanılanmıştır. Kırmızı renkli substrat miselyumları ile diğer grup üyelerinden kolayca ayrılabilen strainlerin gri renkte ve spiral spor zincirlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Grup üyelerinin tamamı PYI ve TYR besi yerlerinde melanin üretebilmekte olup, çözünebilir pigment üretiminden yoksun oldukları tespit edilmiştir. Penisiline (10 IU/ml) ve %1 fenole karşı dirençli olan strainlerin, 0,5 µg/ml kristal viyole ve 20 µg/ml streptomisine duyarlı oldukları belirlenmiştir. Gelişebildikleri minimum pH seviyesi 4,0 olarak belirlenen grup üyelerinin NaCl toleransları ise %6 olarak kaydedilmiş, %7 NaCl toleransına rastlanmamıştır.

Grup 5; 4 strainden (KS467, KS474, KS485 ve KS487) oluşan ve patojen strainlerin %3,5'ini teşkil eden grup üyeleri *S. violaceus* olarak tanılanmıştır. Gri renkte spiral spor zincirlerine sahip olmakla birlikte, ürettikleri mavi renkteki çözünebilir pigment ile diğer gruplardan kolayca ayırt edilebilmişlerdir. Strainler PYI besi yerinde melanin üretemezken, TYR besi yerinde üretebildikleri gözlemlenmiştir. Streptomisine (20 µg/ml) duyarlı olan strainler, diğer tüm toksik kimyasallara karşı dirençli olarak değerlendirilmiştir. NaCl toleransları %7 ve gelişebildikleri minimum pH seviyesi ise 5,0 olarak belirlenmiştir.

Grup 6; 5 strainden (KS543, KS662, KS665, KS6777 ve KS678) teşkil olup, patojen strainlerin %4,4'ünü meydana getiren grup üyeleri *S. setonii* olarak tanılanmıştır. Sarımsı-gri, rectiflexous tipte spor zincirlerine sahip strainlerin, PYI ve TYR besiyerlerinde melanin üretmedikleri, yine çözünebilir pigment üretiminden de yoksun oldukları belirlenmiştir. Minimum 4,0 pH'da gelişebildikleri tespit edilen grup üyelerinin, 10 IU/ml penisilin ve %1 fenole direçli, 20 µg/ml streptomisin ve 0,5 µg/ml kristal viyoleye duyarlı oldukları gözlemlenmiştir. Ayrıca tüm strainlerin %7 NaCl'ye karşı tolerans gösterebildiği de tespit edilmiştir.

Grup 7; 3 strainden (KS492, KS524 ve KS613) teşkil olup, patojen strainlerin %2,6'sını bu grup üyeleri meydana getirmiştir. *S. puniscabiei* olarak tanılanan strainlerin; morumsu-kırmızı renkte, rectiflexous spor zincirlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Grup üyeleri PYI besi yerinde melanin üretmezken, TYR besi yerinde üretebilmişlerdir. Streptomisin (20 µg/ml) hariç, kullanılan tüm toksik maddelere karşı dirençli olan grup üyelerinin, çözünebilir pigment üretmediği ve gelişebildiği minimum pH seviyelerinin ise 4,0 olduğu belirlenmiştir.

Grup 8; 2 strainden (KS482 ve KS540), *S. luridiscabiei* olarak tanılanan grup üyeleri patojen strainlerin %1,8'lik kısmını teşkil etmiştir. Beyaz renkte, basit rectiflexous spor zincirlerine sahip olan strainlerin, melanin ve çözünebilir pigment üretiminden yoksun oldukları kaydedilmiştir. Streptomisin (20 µg/ml) ve %5 NaCl'ye karşı duyarlı olan strainlerin, kullanılan diğer toksik maddelere direçli olduğu belirlenmiştir. Gelişim gösterebildikleri minimum pH derecesi ise 4,5 olarak tespit edilmiştir.

Grup 9; 2 strainden (KS227 ve KS522) meydana gelen ve *S. intermedius* olarak tanılanan grup üyeleri, patojen strainlerin %1,8'ini teşkil etmiştir. Bu grup üyelerinin koyu gri (mavimsi) renkte, rectiflexous spor zincirlerine sahip oldukları belirlenmiştir. PYI besiyerinde melanin üretmezken, TYR besiyerinde üretebilen strainlerin, çözünebilir pigment üretiminden yoksun oldukları tespit edilmiştir. NaCl (%7), 10 IU/ml penisilin ve %1 fenole karşı dirençli olan strainlerin, kullanılan diğer toksik

maddelere karşı ise duyarlı oldukları belirlenmiştir. Ayrıca gelişebildikleri minimum pH seviyeleri de 4,0 olarak tayin edilmiştir.

Diğer 12 grup ise morfolojik ve biyokimyasal karakteristikleri yardımı ile tür düzeyinde tanısı yapılamayan strainleri içermektedir.

Grup 10; 6 strainden (KS477, KS478, KS495, KS538, KS552 ve KS562) meydana gelirken, patojen strainlerin %5,3'ü bu grup üyelerinden oluşmuştur. Gri, rectiflexous tipte spor zincirlerine sahip olan strainlerin, PYI ve TYR besi yerlerinde melanin üretemedikleri, aynı zamanda çözünebilir pigment üretiminden de yoksun oldukları gözlemlenmiştir. NaCl'ye (%5) dirençli olan grup üyelerinin, aynı zamanda 10 IU/ml penisiline karşı da mukavemet gösterebildiği belirlenmiştir. Kullanılan diğer toksik maddelerden hiçbirisine karşı direnci olmayan strainlerin gelişebildiği minimum pH derecesi ise 5,0 olarak tayin edilmiştir.

Grup 11; 4 strainden (KS177, KS188, KS556 ve KS572) teşekkül etmiş ve patojen strainlerin %3,5'i bu grup üyelerinden meydana gelmiştir. YME üzerinde koloni renkleri limon sarı iken, spor zincirlerinin gri ve spiral tipte olduğu gözlemlenmiştir. PYI besi yeri üzerinde melanin üretimleri bulunmazken, TYR besiyerinde üretebildikleri belirlenmiştir. Çözünebilir pigment üretimleri bulunmayan strainlerin %5 NaCl ve 10 IU/ml penisiline karşı direnç gösterebildikleri ve minimum 5,0 pH seviyesinde gelişebildikleri tespit edilmiştir.

Grup 12; 2 strainden (KS 308 ve KS527) meydana gelirken, Patojen strainler içindeki bulunuş oranı %1,8'e tekabül etmiştir. Gri, spiral spor zincirlerine sahip olan strainlerin PYI ve TYR besi yerlerinde melanin üretildikleri gözlemlenmiştir. Penisilin (10 IU/ml) haricinde kullanılan toksik maddelerin hiçbirine karşı direnç tespit edilmezken, gelişebildikleri minimum pH seviyesinin 5,0 olduğu kaydedilmiştir

Grup 13; 2 strainden (KS539 ve KS558) meydana gelmiş ve patojen strainlerin %1,8'lik kısmını oluşturmuştur. PYI ve TYR besi yerlerinde melanin üretebilen grup

üyelerinin, sarımsı-beyaz, rectiflexous tipte spor zincirlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Çözünabilir pigment üretemeyen ve 10 IU/ml penisiline dirençli olan strainlerin %1 fenole karşı dirençleri ise zayıf olarak değerlendirilmiştir. Kullanılan diğer toksik maddelerin hiçbirine karşı mukavemet gösteremeyen strainlerin, minimum 5,0 pH seviyesinde gelişim gösterebildikleri belirlenmiştir.

Grup 14; 2 strainden (KS541 ve KS569) oluşmuş ve patojen strainlerin %1,8'ini teşkil etmiştir. Gri, spiral spor zincirleri bulunan grup üyelerinin, PYI besiyerinde melanin üretemezken, TYR besiyerinde üretebildikleri belirlenmiştir. Ayrıca YME, PDA ve MBO besi yerlerinde de kırmızı renkte çözünabilir pigment ürettikleri tespit edilmiştir. Test edilen tüm toksik maddelere karşı dirençli olan strainlerin gelişim gösterebildiği minimum pH seviyesinin ise 4,0 olduğu belirlenmiştir.

Grup 15; 2 strainden (KS606 ve KS608) meydana gelirken, patojen strainlerin %1,8'lik kısmı bu grup üyelerinden oluşmuştur. Gri, rectiflexous tipte spor zincirlerine sahip olan strainlerin, PYI besiyerinde melanin üretemezken, TYR besi yerinde üretebildikleri gözlemlenmiştir. NaCl (%6), 20 µg/ml streptomisin, 10 IU/ml penisilin ve %1 fenole karşı dirençli olduğu gözlemlenen strainlerin, 0,5 µg/ml kristal viyoleye karşı duyarlı oldukları ve Minimum 4,5 pH seviyesinde gelişebildikleri tespit edilmiştir.

Tür düzeyinde tanısı yapılamayan diğer strainler ise tek başlarına birer morfolojik grubu meydana getirmişlerdir ve her biri patojen strainlerin %0,9'luk kısmını oluşturmuştur.

Grup 16; KS229 nolu straini kapsamıştır. Gri spiral renkte spor zincirlerine sahip olan strainin PYI ve TYR besi yerlerinde melanin ve çözünabilir pigment üretimi olmadığı tespit edilmiştir. NaCl (%7), 10 IU/ml penisilin ve %1 fenole karşı direnç gösteren strainin, kullanılan diğer toksik maddelere karşı duyarlı olduğu belirlenmiş, gelişebildiği minimum pH seviyesi ise 5,0 olarak değerlendirilmiştir.

Grup 17; KS465 nolu straini içermektedir. Gri, rectiflexous tipte sporları bulunan strainin, PYI besiyerinde melanin üretemezken, TYR besiyerinde üretebildiği

gözlemlenmiştir. Ayrıca testlenen toksik maddelerden hiçbirine direç göstermemiş ve gelişim gösterebildiği minimum pH seviyesi 5,0 olarak tespit edilmiştir.

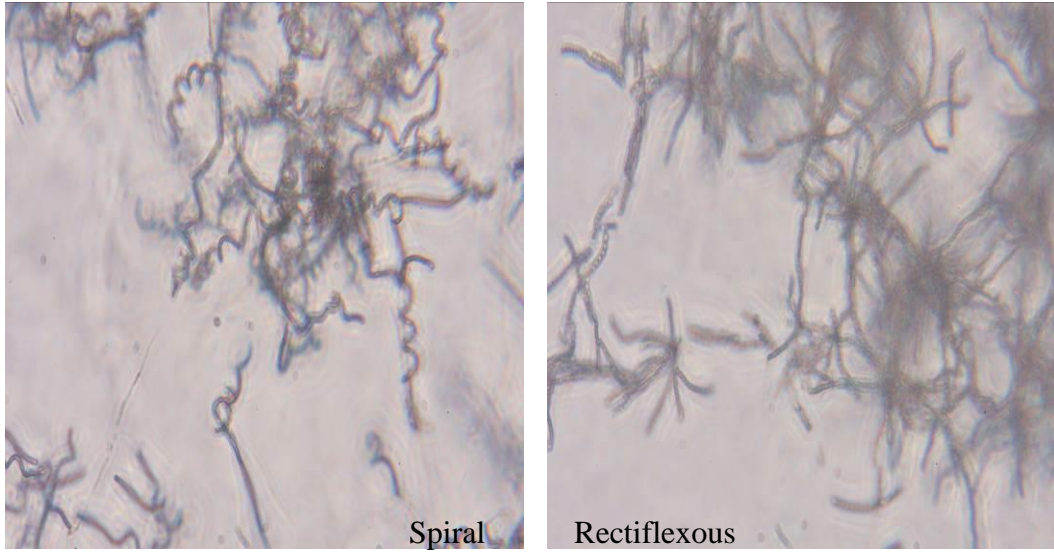
Grup 18; KS508 nolu straince oluşturulmuştur. Gri, rectiflexous tipte spor zincirlerine sahip olan strainin, melanin ve çözünebilir pigment üretiminden yoksun olduğu gözlemlenmiştir. Penisilin (10 IU/ml) hariç, kullanılan toksik maddelerden hiçbirine direç gösteremeyen strainin, gelişebildiği minimum pH seviyesi ise 4,0 olarak kaydedilmiştir.

Grup 19; KS525 nolu strain tarafından oluşturulmuştur. Beyaz, rectiflexous tipte spor zincirleri bulunan strainin, PYI ve TYR besi yerleri üzerinde melanin üretebildiği belirlenmiştir. Çözünebilir pigment üretimi gözlemlenmeyen strainin, 10 IU/ml penisilin dışında kullanılan toksik maddelere dirençli olmadığı, gelişebildiği minimum pH seviyesinin ise 4,0'a ulaşabildiği tespit edilmiştir.

Grup 20; KS542 nolu strainden oluşmuştur. Beyaz, rectiflexous tipte sporları bulunan strain, PYI besiyerinde melanin üretemezken, TYR besi yerinde üretebildiği belirlenmiştir. Kırmızı renkte çözünebilir pigment üretebilen strainin, %7 NaCl, 10 IU/ml penisilin, %1 fenol ve 0,5 µg/ml kristal viyoleye dirençli olduğu tespit edilirken, 20 µg/ml streptomisine karşı direnç gözlemlenmemiştir. Gelişebildiği minimum pH seviyesi ise 4,0 olarak tayin edilmiştir.

Grup 21; KS561 nolu straince oluşturulmuştur. Gri, rectiflexous spor zincirleri bulunan strain, PYI ve TYR besiyerlerinde melanin üretebildiği belirlenmiştir. Çözünebilir pigment üretimi gözlemlenmezken, 10 IU/ml penisilin, %1 fenol ve 0,5 µg/ml kristal viyoleye dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu strainin gelişebildiği minimum pH seviyesi ise 5,0 olarak kaydedilmiştir.

Morfolojik kıstaslar dikkate alındığında 89 strainin spiral, 27 strainin rectiflexous spor zincirlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Spiral ve rectiflexous tipte spor zincirleri

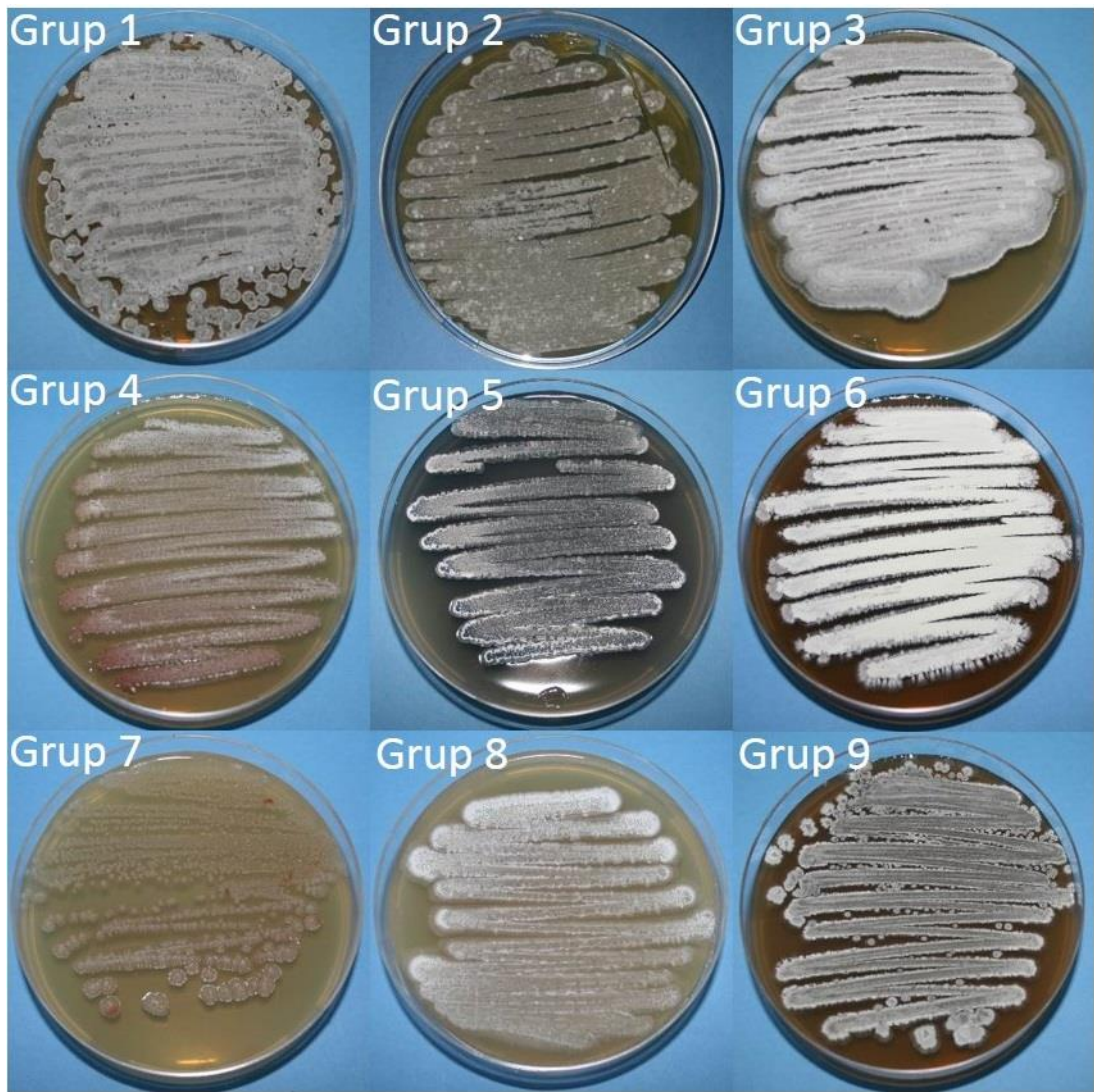
Strainlerin YME agar üzerinde oluşturdukları spor kütlelerinin renklerine bakıldığında ise; 97 strainin gri, 5 strainin beyazımsı gri, 4 strainin mavimsi gri, 3 strainin beyaz, 2 strainin kahverengimsi gri ve 3 strainin ise morumsu-kırmızı spor rengine sahip olduğu tespit edilmiştir. Morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına göre tesis edilen 21 gruba ait strainlerin YME agar besiyeri üzerindeki görünüşleri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te verilmiştir.

Strainlerin melanin üretimleri incelendiğinde; 82 izolatın hem PYI ve hem de TYR agar üzerinde melanin üretebildiği, 14 izolatın her iki agar üzerinde de melanin üretemediği, 18 izolatın ise PYI agar üzerinde melanin üretemezken TYR agar üzerinde üretebildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.6).

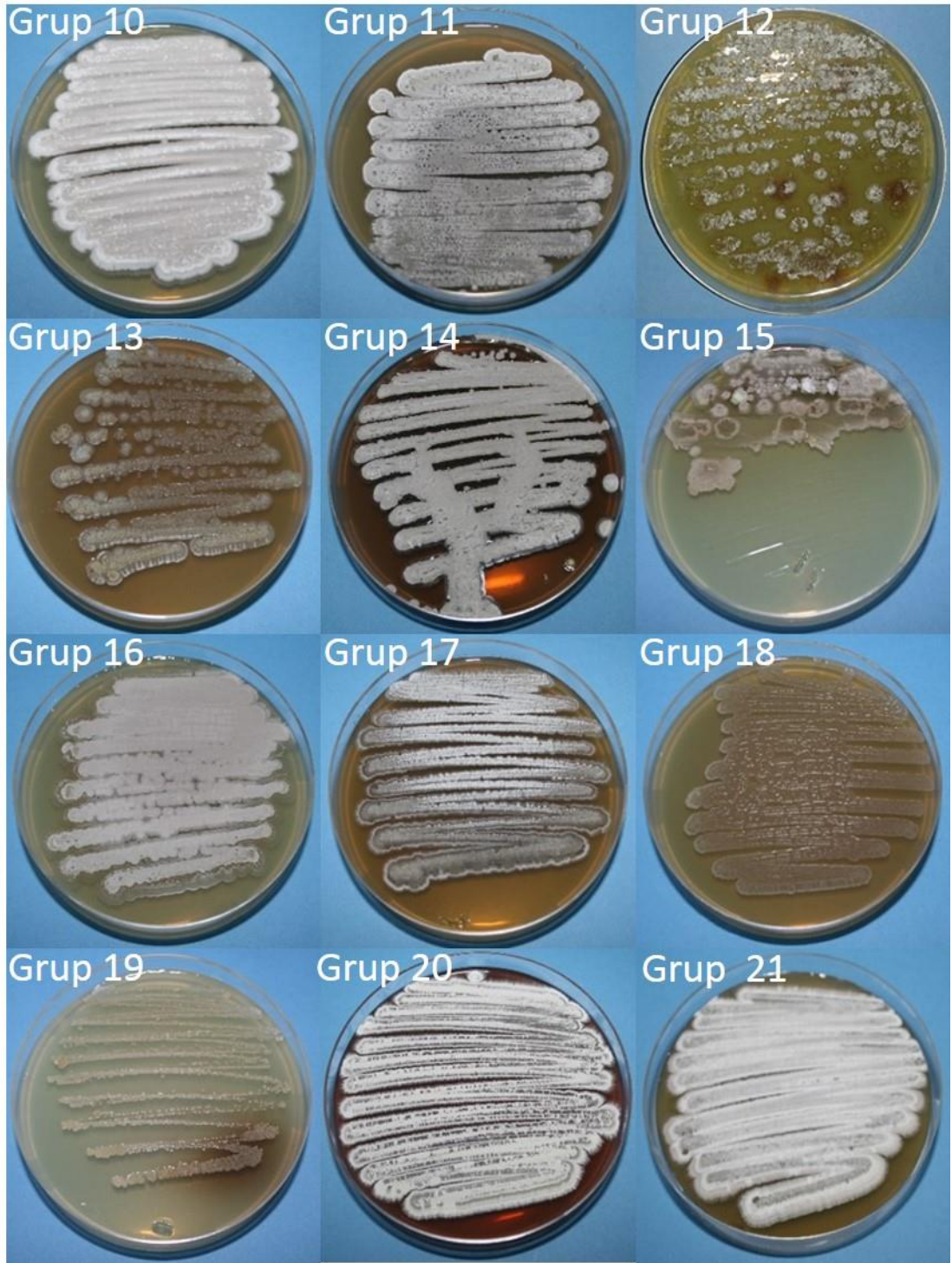
Bazı strainlerin besiyerlerinde çözünebilir pigment ürettikleri belirlenmiştir. Buna göre KS542 straini YME, PDA ve MBO agar üzerinde kırmızı rekte çözünebilir pigment üretirken, KS541 ve KS569 strainleri de YME, PDA ve MBO besiyerleri üzerinde kırmızı çözünebilir pigment üretmiştir. Yine KS467, KS474, KS485 ve KS487 nolu strainler hem YME ve MBO besiyer ortamlarında mavi renkte çözünebilir pigment üretmiş, PDA üzerinde oluşturdukları çözünebilir pigment ise kırmızımsı-mavi olarak

değerlendirilmiştir. Strainlerin oluşturduğu mavi ve kırmızı renkte çözünebilir pigmentler Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

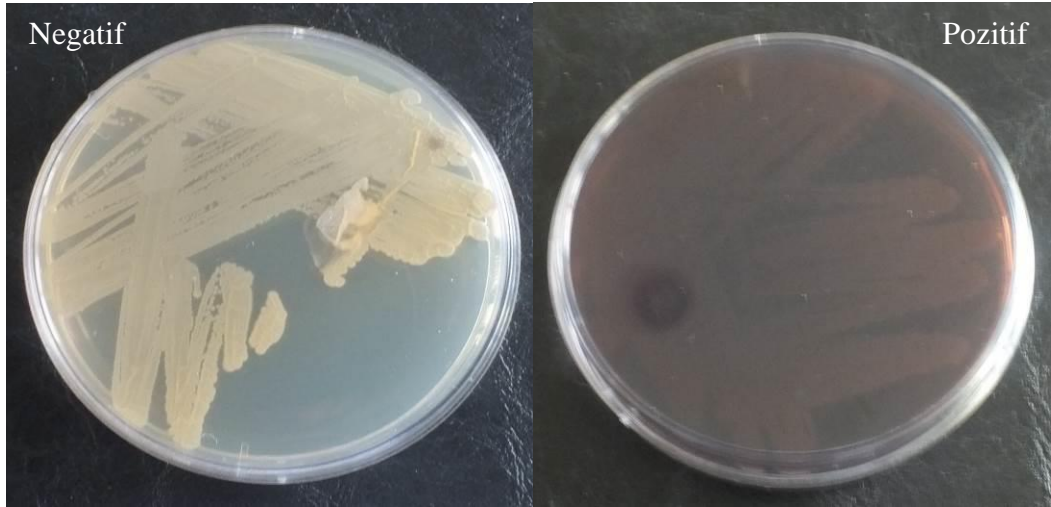
Yine strainlerin YME agar üzerinde oluşturduğu koloni renkleri çoğunlukla kahverengimsi sarı bunun yanı sıra sarı, kırmızı, kahverengi ve soluk turuncu olarak tespit edilmiştir.



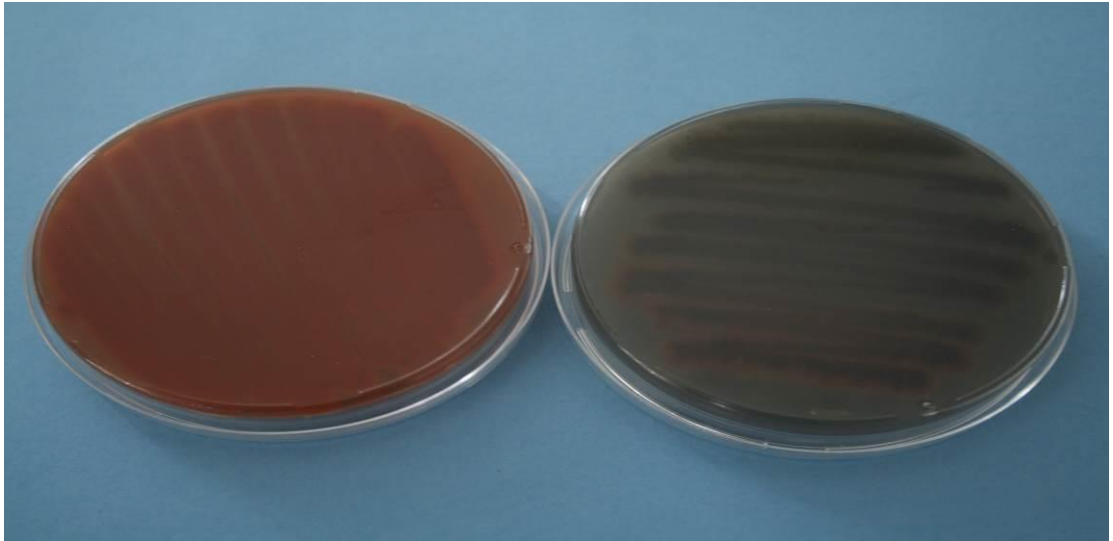
Şekil 4.4. Grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9 strainlerinin YME agar besiyeri üzerindeki görünüşü



Şekil 4.5. Grup 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ve 21 strainlerinin YME agar besi yeri üzerindeki görünüşü



Şekil 4.6. PYI agar üzerinde melanin üretimi



Şekil 4.7. KS542 ve KS474 nolu strainlerin YME besiyerinde ürettikleri kırmızı ve mavi renkte çözünebilir pigmentler

Toksik maddelere direnç testlerinin sonuçları incelendiğinde; NaCl toleranslarının gruplar içinde farklılık gösterdiği belirlenmiş, aynı grupta yer alan strainlerin farklı derecelerde NaCl'yi tolere edebildiği gözlemlenmiştir. Kristal viyole ve streptomisin direnci açısından incelendiğinde strainlerin gruplar içinde gösterdiği farklılıkların çok düşük bir frekansta kaldığı, Penisilin direncinin ise aynı grup üyeleri arasında farklılık arz etmediği belirlenmiştir. Gelişebildikleri minimum pH seviyesi 4,0-5,5 arasında

değişirken, strainlerin 4 tanesi hariç tamamı 37 °C’de gelişim gösterirken, bu karakter açısından da gruplar arasında farklılık olmadığı gözlemlenmiştir.

4.5. Patojen Strainlerin Kullanabildiği Karbon Kaynakları

Çalışmanın bu kısmında ISP’de belirlenen 9 karbon kaynağı; L-arabinoz, fruktoz, glukoz, Myo (I)- inositol, D-mannitol, rafinoz, ramnoz, sukroz ve D,ksiloz’un patojen strainlerce kullanılabilirliği test edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.3’te özetlenmiştir. Buna göre; morfolojik ve biyokimyasal testlere verdikleri reaksiyonlara göre oluşturulan 21 gruptan 13’üne dahil olan strainler bu karbon kaynaklarının tamamını kullanmıştır. Karbon kaynaklarının kullanılabilirliği açısından aynı gruba dahil olan strainler arasında farklılık gözlemlenmemiştir. Gruplar arasında görülen farklılıklara bakılacak olursa KS177, KS188, KS556 ve KS572 nolu strainlerin meydana gelen grup 11 üyeleri Myo (I)- inositol ve ramnoz karbon kaynaklarını kullanamazken, grup 15 üyeleri KS606 ve KS608 nolu strainler de bu karbon kaynaklarını kullanmıştır. KS541 ve KS569 nolu strainlerin olduğu grup 14, KS227 ve KS522 nolu strainlerin oluşturduğu grup 9 üyeleri, Myo (I)- inositol’ü, yine grup 8 üyeleri KS482 ve KS540 nolu strainler ise Myo (I)- inositol ve ramnoz’u karbon kaynağı olarak kullanamamıştır

Tek başlarına birer grup olarak değerlendirilen strainlerden; grup 17 üyesi KS465’in Myo (I)- inositol ve ramnoz’u; grup 21’i oluşturan KS561 nolu strainin Myo (I)- inositol, D-mannitol, rafinoz, ramnoz ve sukrozu; grup 20’yi oluşturan KS542 nolu strainin ise Myo (I)- inositol, ramnoz ve sukroz’u karbon kaynağı olarak kullanamadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Patojen strainlerin kullabildiği ISP şekerleri

	L-Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	M-Inositol	D-Mannitol	Rafinoz	Ramnoz	Sukroz	D-Ksiloz		L-Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	M-Inositol	D-Mannitol	Rafinoz	Ramnoz	Sukroz	D-Ksiloz		L-Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	M-Inositol	D-Mannitol	Rafinoz	Ramnoz	Sukroz	D-Ksiloz
KS186 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS471 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS528 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS196 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS475 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS529 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS197 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS476 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS530 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS198 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS479 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS535 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS225 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS480 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS536 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS294 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS481 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS546 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS295 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS486 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS553 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS300 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS488 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS555 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS302 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS493 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS592 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS303 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS497 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS170 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS306 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS499 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS176 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS307 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS500 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS297 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS317 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS503 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS466 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS318 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS505 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS494 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS319 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS507 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS526 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS461 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS511 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS548 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS463 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS518 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS627 ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS469 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS521 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS252 ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS470 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS523 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS464 ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* KS(X)¹⁻²¹: Grup no

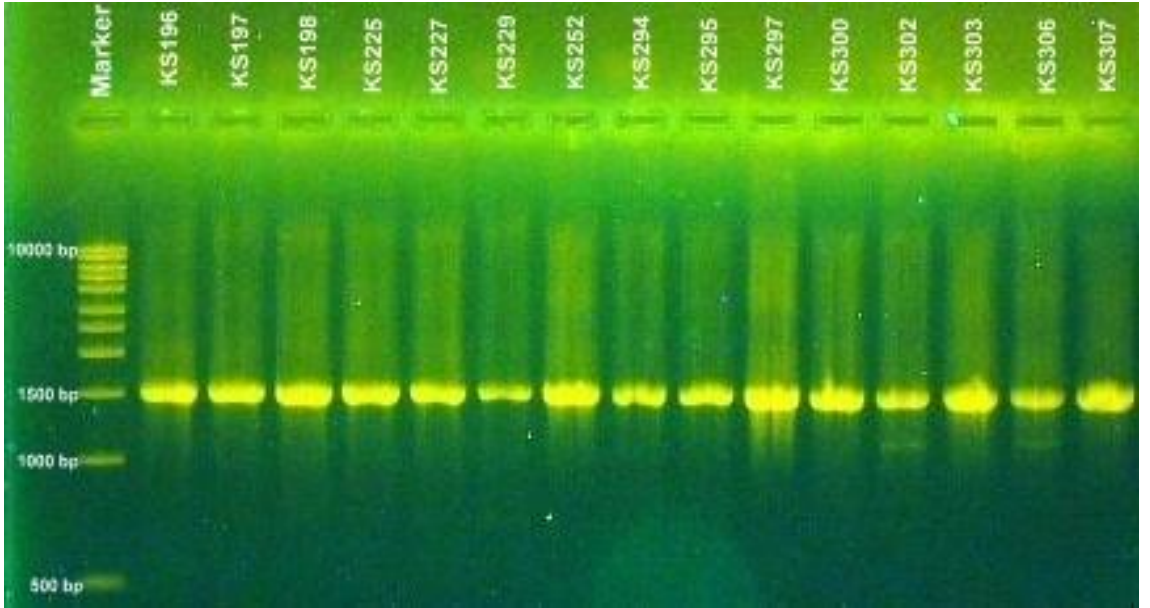
Çizelge 4.3. (devam)

	L-Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	M-Inositol	D-Mannitol	Rafinoz	Ramnoz	Sukroz	D-Ksiloz		L-Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	M-Inositol	D-Mannitol	Rafinoz	Ramnoz	Sukroz	D-Ksiloz		L-Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	M-Inositol	D-Mannitol	Rafinoz	Ramnoz	Sukroz	D-Ksiloz	
KS489 ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS485 ⁵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS562 ¹⁰	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS545 ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS487 ⁵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS177 ¹¹	+	+	+	-	+	+	-	+	+
KS195 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS543 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS188 ¹¹	+	+	+	-	+	+	-	+	+
KS509 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS662 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS556 ¹¹	+	+	+	-	+	+	-	+	+
KS510 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS665 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS572 ¹¹	+	+	+	-	+	+	-	+	+
KS514 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS677 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS308 ¹²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS515 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS678 ⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS527 ¹²	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS554 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS492 ⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS539 ¹³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS560 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS524 ⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS558 ¹³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS573 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS613 ⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS541 ¹⁴	+	+	+	-	+	+	+	+	+
KS593 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS482 ⁸	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	KS569 ¹⁴	+	+	+	-	+	+	+	+	+
KS618 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS540 ⁸	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	KS606 ¹⁵	+	+	+	-	+	+	-	+	+
KS620 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS227 ⁹	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	KS608 ¹⁵	+	+	+	-	+	+	-	+	+
KS629 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS522 ⁹	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	KS229 ¹⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS636 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS477 ¹⁰	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS465 ¹⁷	+	+	+	-	+	+	-	+	+
KS646 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS478 ¹⁰	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS508 ¹⁸	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS647 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS495 ¹⁰	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS525 ¹⁹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KS467 ⁵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS538 ¹⁰	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS542 ²⁰	+	+	+	-	+	+	-	-	+
KS474 ⁵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS552 ¹⁰	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KS561 ²¹	+	+	+	-	-	-	-	-	+

*KS(X)¹⁻²¹: Grup no

4.6. 16S rDNA PCR Sonuçları

Çalışmanın bu kısmında strainlerin cins düzeyinde moleküler tanıları için 16S1F / 16S1R üniversal primerleri kullanıldığında tüm strainler, *Streptomyces* cinsi bakterilere özgü 1531 bp'lik DNA bantları vermiştir. Diğer testler sonucunda olduğu gibi, 16S rDNA PCR çalışmaları sonucunda da tüm strainler cins düzeyinde *Streptomyces* olarak tanılanmıştır. Bahsedilen 1531 bp'lik DNA bandına ek olarak bazı strainlerin farklı bantlar verebildiği de gözlemlenmiş ancak bu farklılıklar tür düzeyinde herhangi bir ayırım sağlayacak nitelikte bulunmamıştır. Tüm patojen *Streptomyces* izolatlarını temsilen seçilen 15 strainin 16SrDNA PCR sonucu vermiş olduğu reaksiyonlar Şekil 4.8'de gösterilmiştir.

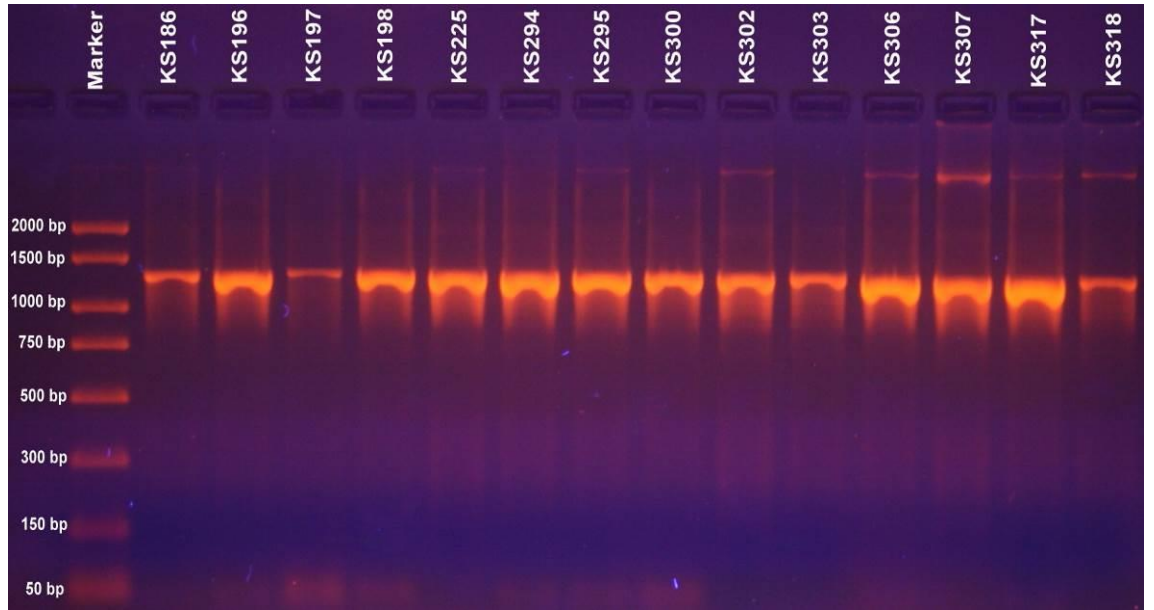


Şekil 4.8. Bazı strainlere ait 16S rDNA PCR sonuçları

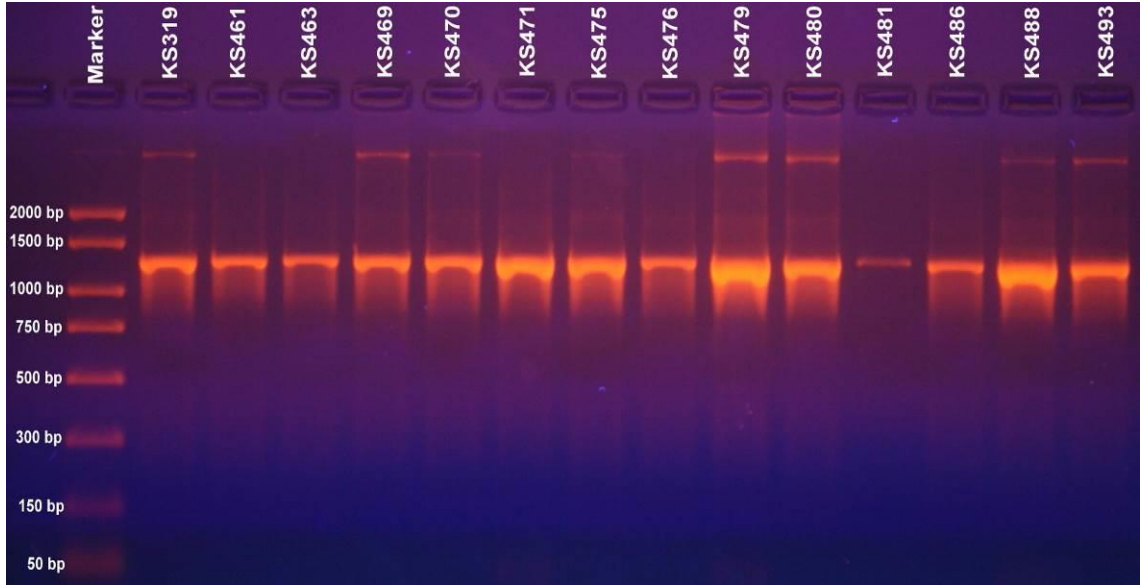
4.7. Spesifik PCR Sonuçları

Spesifik PCR analizleri sonucunda; 47 strain *S.scabiei*, 4 strain *S. europaeiscabiei*, 8 strain *S. stelliscabiei* ve 15 strain de *S. bottropensis* olarak tanılanmıştır. Diğer strainlerin spesifik PCR ile tanılanması mümkün olmamıştır. *S. scabiei* olarak tanımlanan strainler için Scab1m ve Scab2m primerleri kullanılmıştır. Sonuçta daha önce belirtilen 1278 bp'lik spesifik DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12).

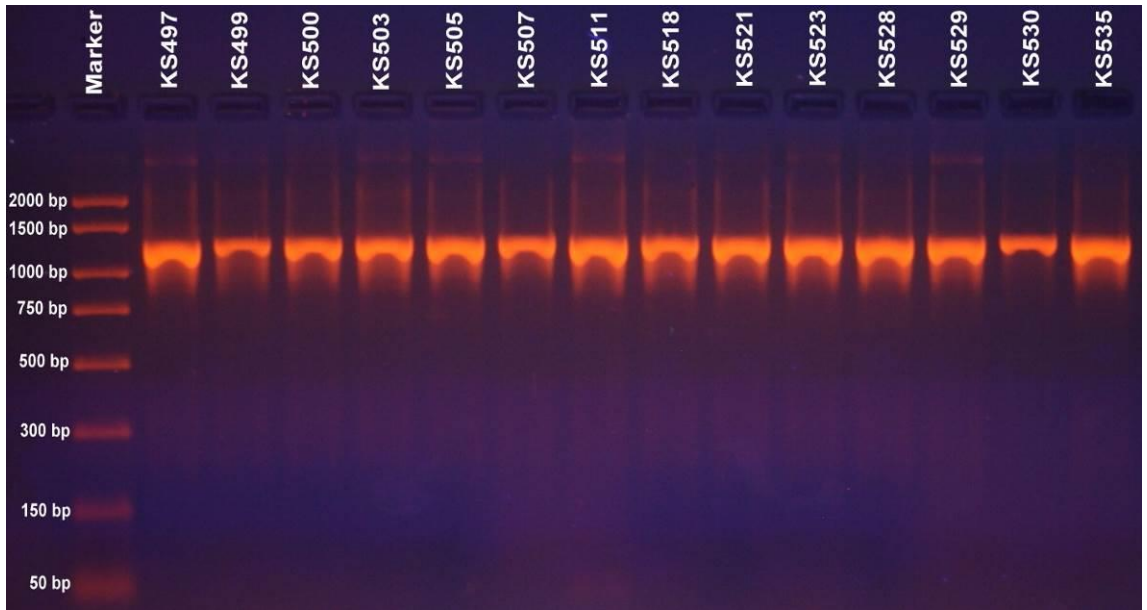
S. europaeiscabiei olarak tanılan strainler için de aynı primerler kullanılmış ve bu strainlerin spesifik PCR reaksiyonu sonucu da benzer bantlar elde edilmiştir (Şekil 4.12).



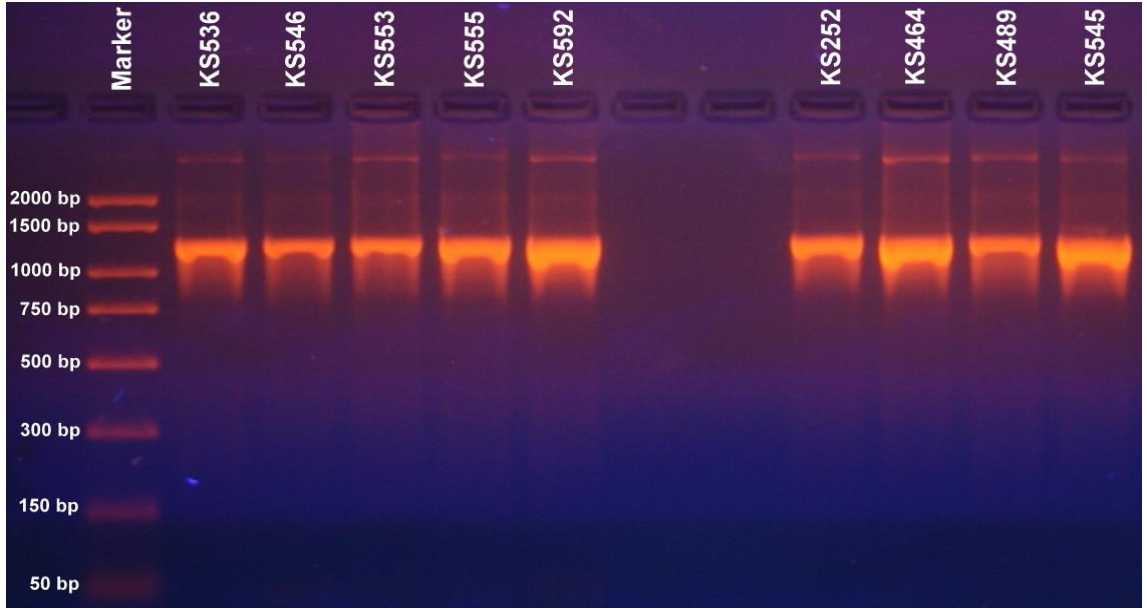
Şekil 4.9. *S. scabiei* strainlerine ait spesifik PCR sonuçları (A)



Şekil 4.10. *S. scabiei* strainlerine ait spesifik PCR sonuçları (B)



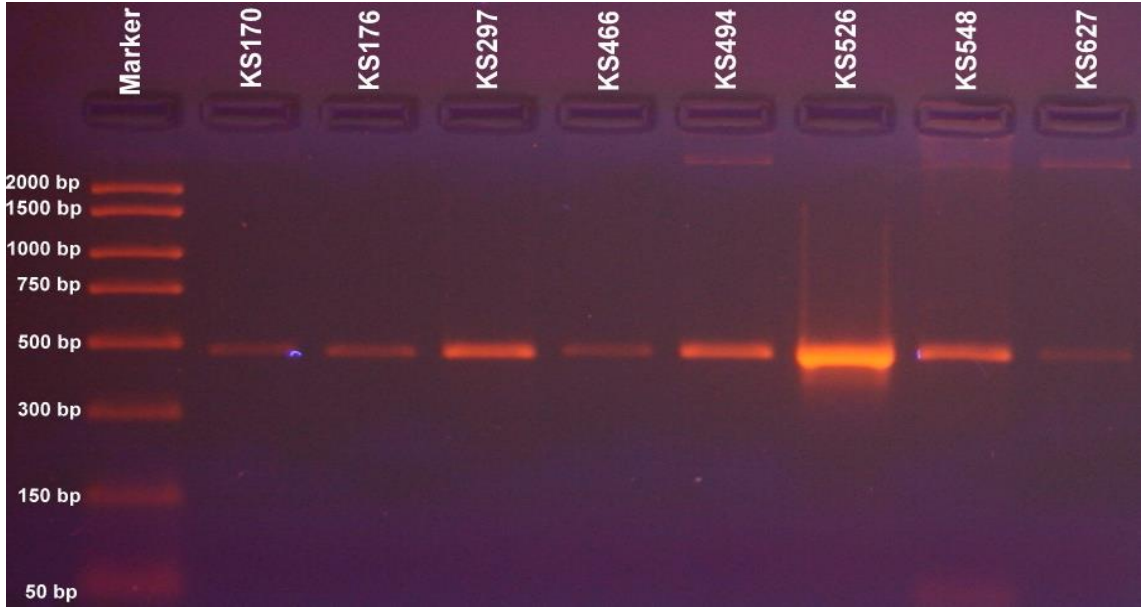
Şekil 4.11. *S. scabiei* strainlerine ait spesifik PCR sonuçları (C)



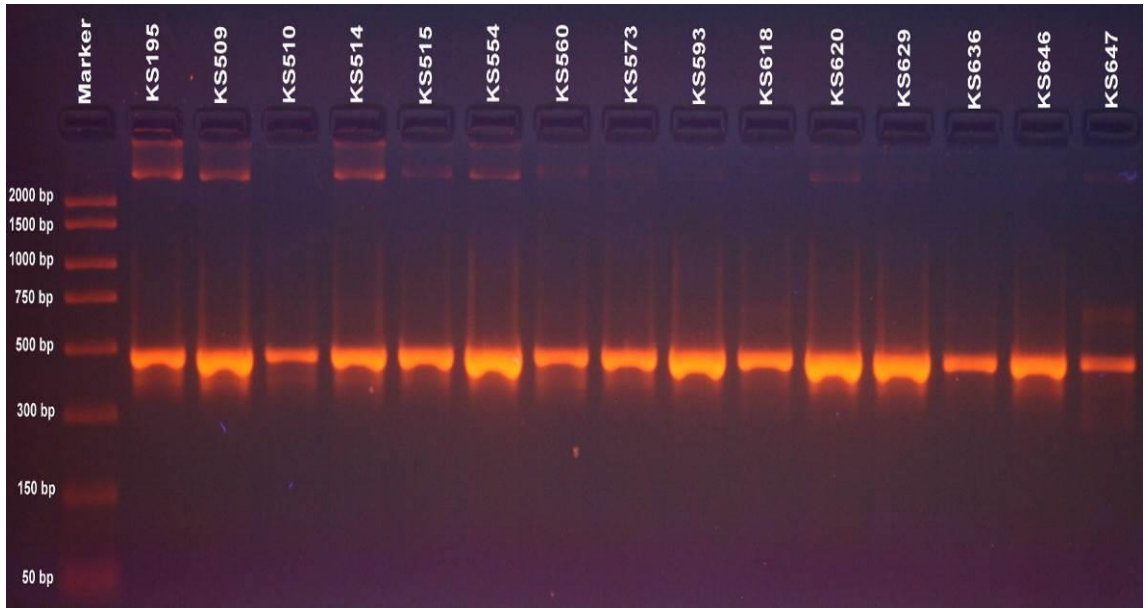
Şekil 4.12. *S. scabiei* (KS536, KS546, KS553, KS555, KS592) ve *S. europaeiscabiei* (KS252, KS464, KS489, KS545) strainlerine ait spesifik PCR sonuçları

Spesifik PCR ile tanısı yapılabilen 8 strain *S. stelliscabiei* olarak tespit edilmiş, bu strainlerin spesifik PCR reaksiyonu sonucunda, Stel3 ve T2st2 primerleri için, daha önce belirtilen 476 bp'lik DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.13).

15 Strain ise *S. bottropensis* olarak tanılanmış, Stel3 ve Aci2 primerleri ile gerçekleştirilen spesifik PCR reaksiyonu sonucunda 475 bp'lik DNA bantlarının varlığı belirlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.13. *S. stelliscabiei* strainlerine ait spesifik PCR sonuçları



Şekil 4.14. *S. bottropensis* strainlerine ait spesifik PCR sonuçları

Yapılan çalışmalar sonucunda patojen strainler farklı klasik ve moleküler metotlar kullanılarak tanılanmıştır. Bunlara ait sonuçlar Çizelge 4.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 4.4. *Streptomyces* strainlerinin farklı metotlara göre tanı sonuçları

Grup No	Strain kodu	MIS tanı sonucu	Morfolojik ve biyokimyasal testlere göre tanı sonucu	PCR tanı sonucu	Spor rengi	Spor zinciri	Melanin
1	KS186	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS196	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS197	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS198	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS225	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS294	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS295	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS300	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS302	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS303	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS306	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS307	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS317	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS318	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS319	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS461	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS463	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS469	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS470	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS471	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS475	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS476	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS479	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS480	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS481	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS486	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS488	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS493	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS497	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS499	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS500	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS503	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS505	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS507	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS511	<i>S. cinnamoneum</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS518	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS521	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS523	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+

*Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, Melanin üretimi: +/+ : PYI'da ve TYR'de pozitif, +/-: PYI'da negatif ve TYR'de pozitif, -/-: PYI ve TYR'de negatif

Çizelge 4.4. (devam)

Grup No	Strain kodu	MIS tanı sonucu	Morfolojik ve biyokimyasal testlere göre tanı sonucu	PCR tanı sonucu	Spor rengi	Spor zinciri	Melanin
1	KS528	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS529	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS530	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS535	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS536	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS546	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS553	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS555	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
1	KS592	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. scabiei</i>	<i>S. scabiei</i>	G	S	+/+
2	KS170	<i>S. scabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
2	KS176	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
2	KS297	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
2	KS466	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
2	KS494	<i>S. scabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
2	KS526	<i>S. scabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
2	KS548	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
2	KS627	<i>S. californicus</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	G	S	+/+
3	KS252	<i>S. scabiei</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	G	S	+/+
3	KS464	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	G	S	+/+
3	KS489	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	G	S	+/+
3	KS545	<i>S. scabiei</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	<i>S.europaeiscabiei</i>	G	S	+/+
4	KS195	<i>S. exfoliatus</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS509	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS510	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS514	<i>S. scabiei</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS515	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS554	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS560	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS573	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS593	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS618	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS620	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS629	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS636	<i>S. exfoliatus</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS646	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
4	KS647	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. bottropensis</i>	G	S	+/+
5	KS467	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. violaceus</i>	<i>S. sp.</i>	G	S	-/+
5	KS474	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. violaceus</i>	<i>S. sp.</i>	G	S	-/+

*Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, Melanin üretimi: +/+ : PYI'da ve TYR'de pozitif, -/+ : PYI'da negatif ve TYR'de pozitif, -/- : PYI ve TYR'de negatif

Çizelge 4.4. (devam)

Grup No	Strain kodu	MIS tanı sonucu	Morfolojik ve biyokimyasal testlere göre tanı sonucu	PCR tanı sonucu	Spor rengi	Spor zinciri	Melanin
5	KS485	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. violaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
5	KS487	<i>S. olivaceus</i>	<i>S. violaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
6	KS543	<i>S. scabiei</i>	<i>S.setonii</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
6	KS662	<i>S. scabiei</i>	<i>S.setonii</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
6	KS665	<i>S. scabiei</i>	<i>S.setonii</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
6	KS677	<i>S. olivaceus</i>	<i>S.setonii</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
6	KS678	<i>S. scabiei</i>	<i>S.setonii</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
7	KS492	<i>S. rochei</i>	<i>S. puniscabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	MK	RF	- /+
7	KS524	<i>S. scabiei</i>	<i>S. puniscabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	MK	RF	- /+
7	KS613	<i>S. scabiei</i>	<i>S. puniscabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	MK	RF	- /+
8	KS482	<i>S. scabiei</i>	<i>S. luridiscabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	B	RF	- /-
8	KS540	<i>S. violaceusniger</i>	<i>S. luridiscabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	B	RF	- /-
9	KS227	<i>S. scabiei</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /+
9	KS522	<i>S. scabiei</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /+
10	KS477	<i>S. olivaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
10	KS478	<i>S. olivaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
10	KS495	<i>S. olivaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
10	KS538	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
10	KS552	<i>S. olivaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
10	KS562	<i>S. olivaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
11	KS177	<i>S. olivaceus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
11	KS188	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
11	KS556	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
11	KS572	<i>S. californicus</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
12	KS308	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	+ /+
12	KS527	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	+ /+
13	KS539	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	SB	RF	+ /+
13	KS558	<i>S. violaceusniger</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	SB	RF	+ /+
14	KS541	<i>S. violaceusniger</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
14	KS569	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /+
15	KS606	<i>S. lavendulae</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	SG	RF	- /+
15	KS608	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	SG	RF	- /+
16	KS229	<i>S. violaceusniger</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	S	- /-
17	KS465	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /+
18	KS508	<i>S. cinnamoneum</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	- /-
19	KS525	<i>S. violaceusniger</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	B	RF	+ /+
20	KS542	<i>S. scabiei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	B	RF	- /+
21	KS561	<i>S. rochei</i>	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.	G	RF	+ /+

*Spor rengi; G: gri, B: beyaz, SB: beyazımsı-sarı, SG: sarımsı-gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, Melanin üretimi: +/+ : PYI'da ve TYR'de pozitif, -/+ : PYI'da negatif ve TYR'de pozitif, -/- : PYI ve TYR'de negatif

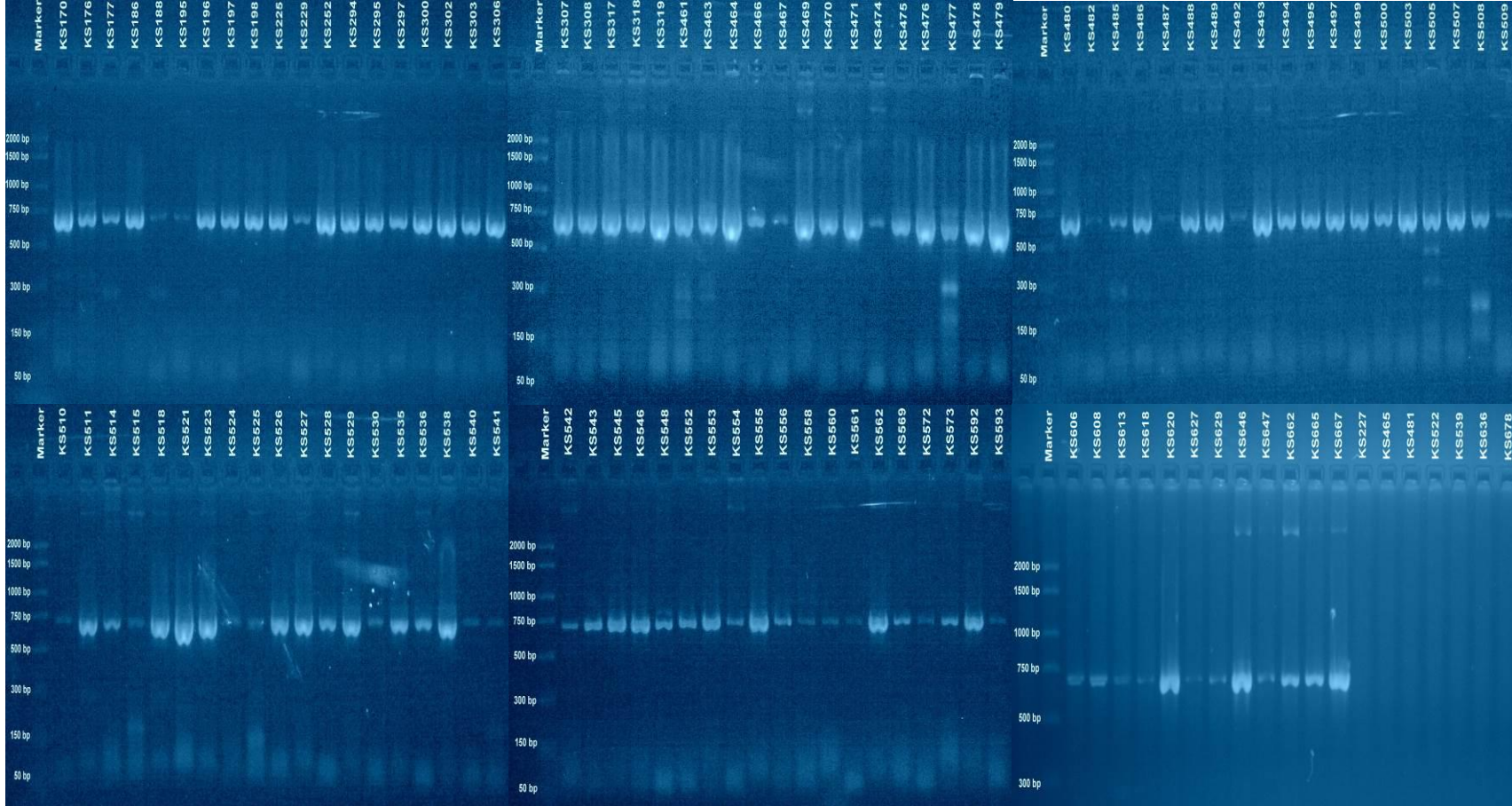
4.8. Patojen Strainlerin Patojenite Karakteristikleri

4.9. Patojen Strainlerin Nec1 Patojenite Geni Test Sonuçları

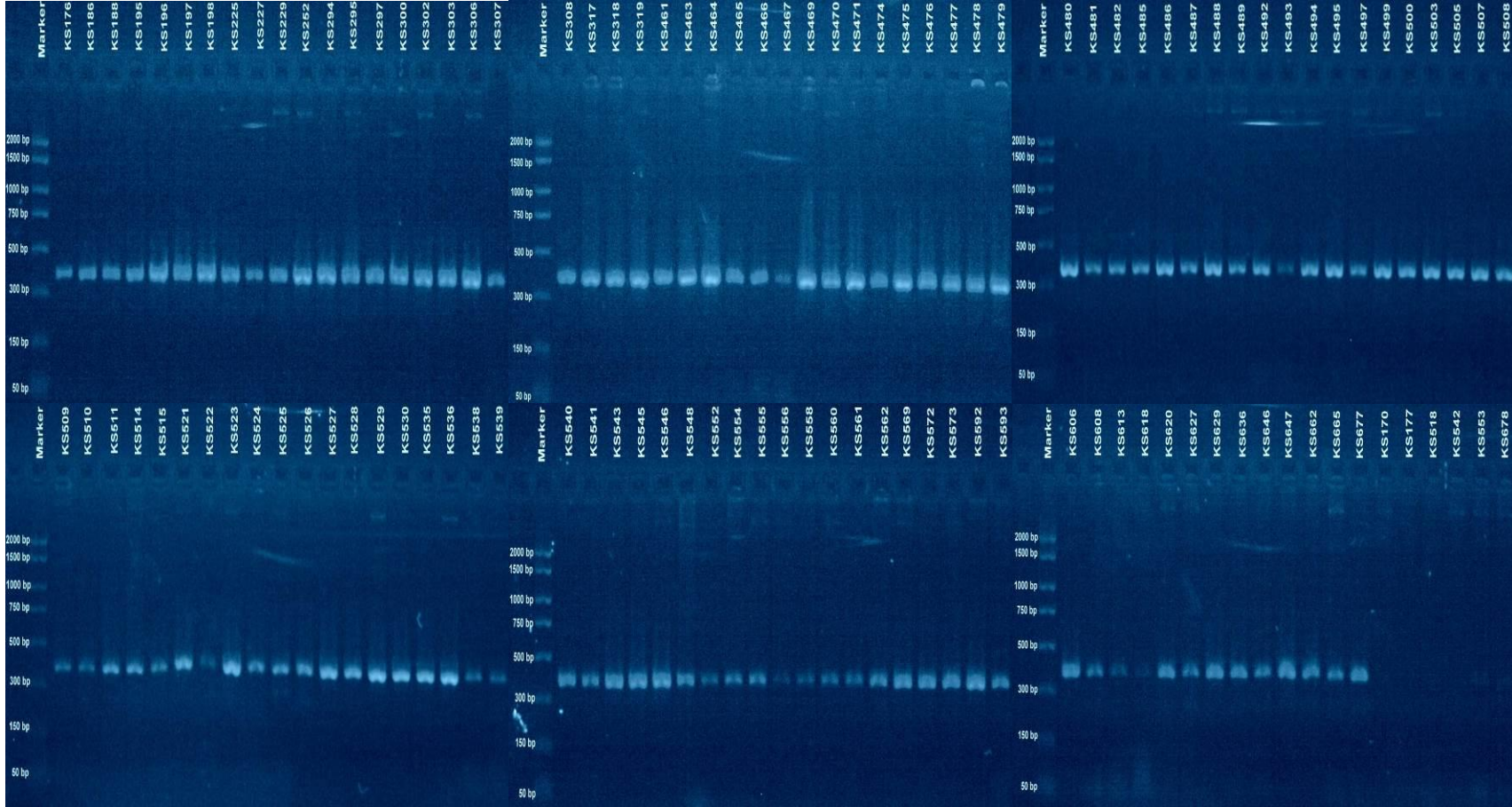
Tüm strainler, fitopatojen *Streptomyces* türleri için patojenite determinantlarından biri olarak kabul edilen Nec1 geninin varlığı açısından değerlendirilmiştir. Sonuç olarak strainlerin %94'ünün bu geni taşıdığı tespit edilmiştir. Bu testlere ait PCR sonuçları Şekil 4.15'te gösterilmiştir. 107 strain, yapılan çalışmalar sonucunda Nec1 geni için elde edilmesi beklenen 700 bp'lik DNA bantları verirken, KS227, KS465, KS481, KS522, KS539, KS636 ve KS678 nolu strainlerin içinde bulunduğu 7 strainde bu genin var olmadığı belirlenmiştir. Bunlardan KS227 ve KS522 nolu strainler, tespit edilen gruplardan birini meydana getirirken, KS539 straininin dahil olduğu grupta var olan diğer strain KS558'in aksine bu genden yoksun olduğu belirlenmiştir. Yine KS481, KS636 ve KS678 nolu strainlerin dahil oldukları gruplarda bu geni taşımayan yegane strainler olduğu belirlenmiştir. Öte yandan tek başına bir morfolojik grubu meydana getiren KS465 nolu strainin de Nec1 genini ihtiva etmeyen strainlerden olduğu belirlenmiştir.

4.9.1. Patojen Strainlerin TomA Patojenite Geni Test Sonuçları

Fitopatojen *Streptomyces*'ler için bir başka patojenite determinantı olan TomA geninin varlığı da tüm strainler için test edilmiştir. Bu testlere ait PCR sonuçları Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Çalışma sonucunda strainlerden 108 tanesinde bu gen için beklenen 392 bp'lik DNA bandı elde edilirken, KS170, KS177, KS518, KS542, KS553 ve KS678 nolu strainlerin ise TomA genini ihtiva etmediği tespit edilmiştir. Bunlar arasından KS518 ve KS553 nolu strainler dahil oldukları grupta bu gene sahip olmayan iki strain olurken, KS170, KS177 ve KS678 nolu izolatlar ise dahil oldukları grupta bu geni ihtiva etmeyen yegane strainler olmuştur. Öte yandan tek başına bir grubu meydana getiren KS542 nolu strainin de TomA genine sahip olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.15. Nec-1 patojenite genine ait PCR sonuçları. KS227, KS466, KS481, KS539, KS636, KS678 negatif.

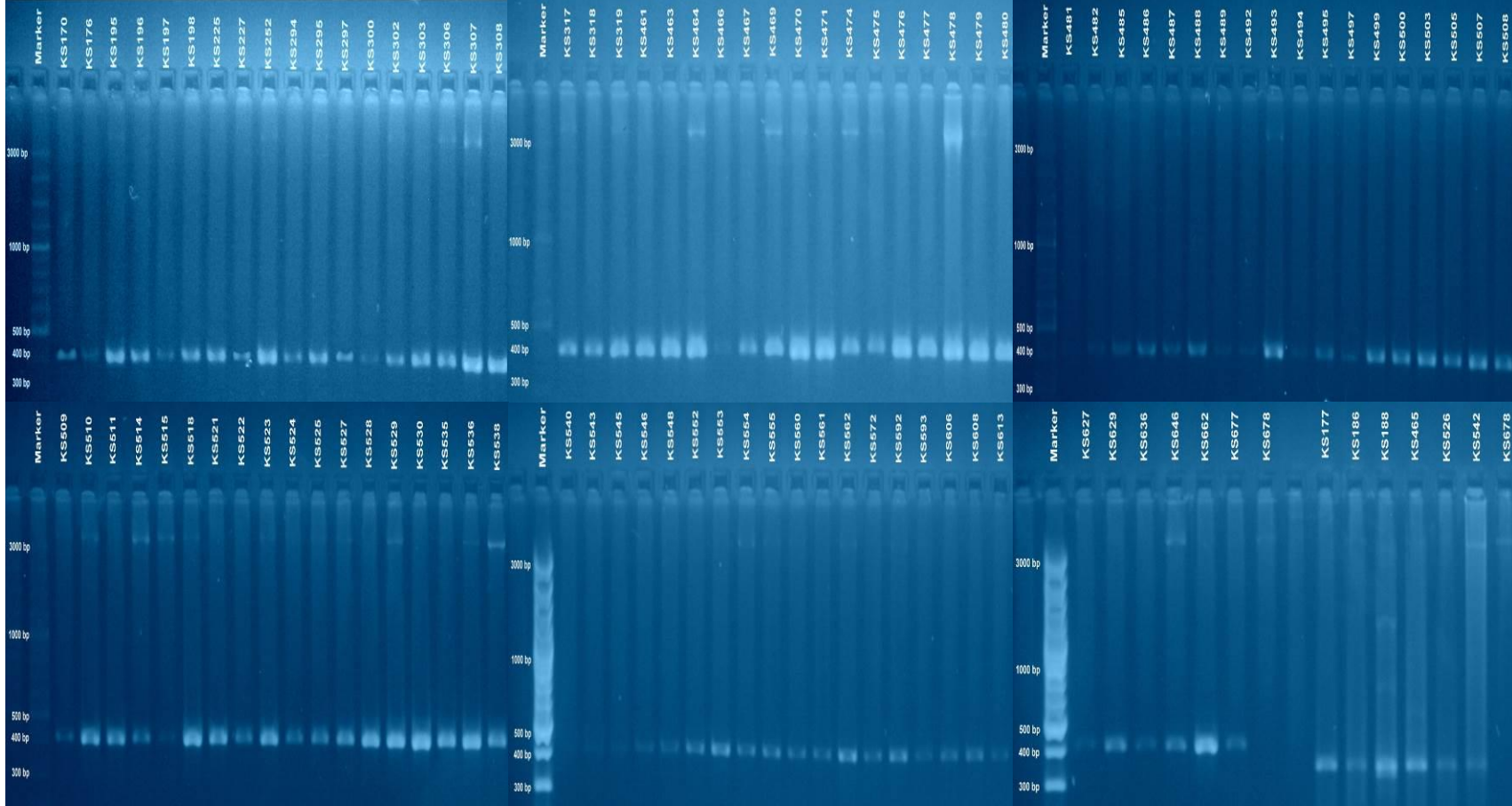


Şekil 4.16. TomA patojenite genine ait PCR sonuçları. KS170, KS177, KS 518, KS542, KS553, KS678 negatif.

4.9.2. Patojen Strainlerin TxtAB Operonu Test Sonuçları

Çalışmanın bu kısmında fitopatojen *Streptomyces*'ler için temel patojenite determinanı olarak kabul edilen takstominin üretimden sorumlu olan TxtAB operonunun varlığı test edilmiştir. TxtAB1/TxtAB2 ve Stx1a/Stx1b primerleri kullanılarak yapılan analizler sonucunda strainlerden 102 tanesinin bu operona sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan PCR işlemleri sonunda; TxtAB1/TxtAB2 primerleri için 385 bp ve Stx1a/Stx1b primerleri için 402 bp'lik DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.17). Geriye kalan 12 strainin (KS229, KS539, KS541, KS556, KS558, KS569, KS573, KS618, KS620, KS647, KS665 ve KS 678) ise bu primerler ile reaksiyonlarında negatif sonuçlar tespit edilmiştir. KS177, KS186, KS188, KS465, KS526 ve KS542 strainleri Stx1a/Stx1b primerlerine pozitif reaksiyon vermezken; TxtAB1/TxtAB2 primerleri ile yapılan analizlerde pozitif reaksiyon elde edilebilmiştir.

Streptomyces'lerin patojenite bölgelerini hedef alan analiz sonuçlarına göre; strainlerin büyük çoğunluğunun Nec1, TomA genlerine ve TxtAB operonuna sahip olduğu belirlenirken, yalnız 12 strainde TxtAB operonu, 7 strainde Nec1 geni ve 6 strainde de TomA geninin varlığı tespit edilememiştir. Buna göre; Nec1(+)/TomA(+)/TxtAB(+) 102 strain, Nec1(+)/TomA(-)/TxtAB(+) 5 strain, Nec1(-)/TomA(+)/TxtAB(+) 5 strain, Nec1(+)/TomA(+)/TxtAB(-) 10 strain, Nec1(-)/TomA(+)/TxtAB(-) 1 strain, Nec1(-)/TomA(-)/TxtAB(-) 1 strain tespit edilmiştir (Çizelge 4.5)



Şekil 4.17. TxtAB operonuna ait PCR sonuçları. KS177, KS186, KS188, KS465, KS526, KS542 TxtAB1/TxtAB2, KS678 negatif, diğerleri Stx1a/Stx1b

Çizelge 4.5. Strainlerin sahip olduğu patojenite genleri

Strain	NecI	TomA	TxtAB	Strain	NecI	TomA	TxtAB	Strain	NecI	TomA	TxtAB
KS170	+	-	+	KS478	+	+	+	KS536	+	+	+
KS176	+	+	+	KS479	+	+	+	KS538	+	+	+
KS177	+	-	+	KS480	+	+	+	KS539	-	+	-
KS186	+	+	+	KS481	-	+	+	KS540	+	+	+
KS188	+	+	+	KS482	+	+	+	KS541	+	+	-
KS195	+	+	+	KS485	+	+	+	KS542	+	-	+
KS196	+	+	+	KS486	+	+	+	KS543	+	+	+
KS197	+	+	+	KS487	+	+	+	KS545	+	+	+
KS198	+	+	+	KS488	+	+	+	KS546	+	+	+
KS225	+	+	+	KS489	+	+	+	KS548	+	+	+
KS227	-	+	+	KS492	+	+	+	KS552	+	+	+
KS229	+	+	-	KS493	+	+	+	KS553	+	-	+
KS252	+	+	+	KS494	+	+	+	KS554	+	+	+
KS294	+	+	+	KS495	+	+	+	KS555	+	+	+
KS295	+	+	+	KS497	+	+	+	KS556	+	+	-
KS297	+	+	+	KS499	+	+	+	KS558	+	+	-
KS300	+	+	+	KS500	+	+	+	KS560	+	+	+
KS302	+	+	+	KS503	+	+	+	KS561	+	+	+
KS303	+	+	+	KS505	+	+	+	KS562	+	+	+
KS306	+	+	+	KS507	+	+	+	KS569	+	+	-
KS307	+	+	+	KS508	+	+	+	KS572	+	+	+
KS308	+	+	+	KS509	+	+	+	KS573	+	+	-
KS317	+	+	+	KS510	+	+	+	KS592	+	+	+
KS318	+	+	+	KS511	+	+	+	KS593	+	+	+
KS319	+	+	+	KS514	+	+	+	KS606	+	+	+
KS461	+	+	+	KS515	+	+	+	KS608	+	+	+
KS463	+	+	+	KS518	+	-	+	KS613	+	+	+
KS464	+	+	+	KS521	+	+	+	KS618	+	+	-
KS465	-	+	+	KS522	-	+	+	KS620	+	+	-
KS466	+	+	+	KS523	+	+	+	KS627	+	+	+
KS467	+	+	+	KS524	+	+	+	KS629	+	+	+
KS469	+	+	+	KS525	+	+	+	KS636	-	+	+
KS470	+	+	+	KS526	+	+	+	KS646	+	+	+
KS471	+	+	+	KS527	+	+	+	KS647	+	+	-
KS474	+	+	+	KS528	+	+	+	KS662	+	+	+
KS475	+	+	+	KS529	+	+	+	KS665	+	+	-
KS476	+	+	+	KS530	+	+	+	KS677	+	+	+
KS477	+	+	+	KS535	+	+	+	KS678	-	-	-

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma kapsamında öncelikle Erzurum İli, patates üretim alanlarından izole edilen fitopatojen *Streptomyces* türleri kültüre alınmıştır. Bu amaçla Loria ve arkadaşları (2001) tarafından kullanılan izolasyon yöntemi tercih edilmiş; bu yöntemin *Streptomyces* cinsine mensup bakteri strainlerinin bitki dokusundan izole edilmesi ve saflaştırılmasında kullanışlı olduğu görülmüştür. Toplamda 264 adet *Actinomycetes*, uyuz belirtileri sergileyen patates yumrularından izole edilmiş ve patates disklerinde gerçekleştirilen patojenite testlerine göre bunlardan 114 (%43) tanesinin patojen olduğu belirlenmiştir.

Yapılan tespitler bir yaygınlık çalışmasına dayanmamasına rağmen, üretim alanlarının büyük çoğunluğunda fitopatojen *Streptomyces* türlerinin var olduğu gerçeğinin yadsınamayacağı düşünülmektedir. Şöyle ki; Erzurum ili sınırları içinde patates üretiminin merkezi olan Pasinler'den izole edilen strainlerin %77,5'inin, takiben üretimin en çok yapıldığı Merkez Mahalleler'den izole edilen strainlerin ise %61'inin patojen olduğu tespit edilmiştir. İzolasyonlar yapılırken mümkün olduğunca çok tarla gezildiği ve büyük ölçüde homojen bir çalışma sahası tesis edildiği de göz önünde bulundurulursa mevcut durum daha iyi anlaşılabilir. Tüm bu veriler ışığında, bölgede daha önce rapor edilmeyen *Streptomyces* grubu bitki patojenlerinin yaygın hale geldiği muhakkaktır. Ayrıca, bir tek patojen tür olmadığı ve farklı türlere mensup patojen *Streptomyces*'lerin bulunduğu da tespit edilmiştir.

Fitopatojen *Streptomyces*'lerin özellikle ticari anlamda patates tarımının yapıldığı Pasinler'de daha yaygın olması, bu patojenlerin tohumluk yumrular vasıtasıyla bölgeye girmiş olma ihtimalini güçlendirmektedir. Ancak yapılan sörveylerde, patojen *Streptomyces* türlerine rastlanmayan veya az rastlanan alanların var olduğu da gözlemlenmiştir. Çalışmamızda tespit edilen ve *Streptomyces* üyesi patojenler açısından temiz olan lokasyonlarda daha detaylı araştırmalar yapılmalı ve diğer bitki patojenleri

açısından da temiz olan alanlar tespit edilmelidir. Böylece bu alanların patates tohumluğu üretiminde önemli merkezler olabilecekleri düşünülmektedir.

Patojen *Streptomyces* strainlerinin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları incelendiğinde, verilerin bazı istisnalar dışında daha önce elde edilmiş bilgilerle örtüştüğü tespit edilmiştir. Yine yapılan morfolojik ve biyokimyasal testlerin türlerin ayırımında kullanışlı olduğu tespit edilmiştir. Grup 1 olarak değerlendirilen ve *S. scabiei* olarak tanımlanan strainler, Lambert ve Loria (1989a) tarafından bu tür için belirlenen karakteristik özellikleri taşımaktadırlar. *S. scabiei* olarak tanımlanan 47 strainin tamamı melanin pigment üretme yeteneğine ve gri, spiral spor zincirlerine sahiptirler. Bunun yanı sıra tüm strainler 9 ISP şekerini karbon kaynağı olarak kullanabilmektedir. Bu özellikler *S. scabiei*'nin tip türü olarak tanımlanan strainin en belirgin morfolojik karakteristiklerindedir. Strainlerin NaCl dirençleri %5-6 arasında değişkenlik göstermiş, %7 NaCl seviyesine direnç gösterebilen strain tespit edilmemiştir. Ayrıca minimum gelişebildikleri pH seviyesi 5,0'dır. Yine tüm strainlerin 10 IU/ml penisilin, 0.5 µg/ml kristal viyole ve %1'lik fenole karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Tip türün de benzer özellikleri taşıdığı bilinmektedir (Lambert and Loria 1989a). Bu yönüyle de ulaşılan sonuçlar daha önce elde edilmiş bilgileri destekler mahiyette bulunmuştur. Yalnızca 1 strainde 20 µg/ml streptomisine karşı direnç tespit edilmiştir. Aslında bu frekansta bir sapma görülmesi muhtemel karşılanmalıdır. *Actinomycetes*'ler hakkında yazılmış temel eserlerden biri olan 'The Actinomycetes' isimli eserde; *Streptomyces* 'lerin antibiyotik üretebilme yetenekleri gibi, antibiyotiklere karşı dirençlerinin de türden ziyade, strain spesifik bir karakteristik olabileceği ifade edilmiştir (Waksman 1961). Dahası bu testlerin tamamen gözleme dayalı ve doğruluk derecesi insan elinin hassasiyetiyle değişebilir testler olduğu da unutulmamalıdır. Sonuç olarak bu 47 strainin tamamı *S. scabiei* olarak değerlendirilmiş, tanı sonuçları moleküler testler ile desteklenmiştir.

Grup 2 olarak değerlendirilen ve *S. stelliscabiei* olarak tanımlanan strainlerin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları da genellikle literatürle benzer mahiyette bulunmuş ancak bazı strainlerin farklı özellikler sergileyebildikleri tespit edilmiştir. Gri, spiral

spor zincirleri, PYI ve TYR besi yerlerinde melanin pigment üretimi ve çözünebilir pigment üretiminden yoksunluk tüm strainlerin paylaştığı temel karakteristikler olarak göze çarpmaktadır. Ancak yapılan bir çalışmada bu türe ait, TYR agarda melanin üretebilen strainlerin oranı %62 olarak değerlendirilmiştir (Bouček-Mechice *et al.* 2006). Öte yandan 9 ISP şekerinin hepsini kullanabilen Strainler, 10 IU/ml penisiline karşı direnç sahibi, 20 µg/ml streptomisin, 0,5 µg/ml kristal viyole ve %1 fenole karşı ise duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Bu özelliklerin tamamı *S. stelliscabiei* için tanımlanan tip türe ait özelliklerle paralellik göstermektedir (Bouček-Mechice *et al.* 2000). Gelişebildikleri minimum pH seviyesi 5,5 olan strainlerin, NaCl toleransları ise değişkendir. KS170, KS526 ve KS627 nolu strainler %7 NaCl'ye karşı direçli, diğer grup üyeleri ise %5 NaCl'ye karşı duyarlıdır. *S. Stelliscabiei*'nin tanılandığı çalışmada %5 NaCl direnci rapor edilmemiştir (Bouček-Mechice *et al.* 2000). Bu açıdan literatürle bir uyumsuzluk tespit edilmiş olmasına rağmen, bu türe dâhil olduğu belirlenen strainlerin tanı sonuçları moleküler yöntemlerle de doğrulanmıştır. Ayrıca daha önce belirtilen sebeplerle strainler arasında bu gibi farklılıklar görülmesi de muhtemeldir. *S. stelliscabiei*'nin patateslerde Türkiye için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir.

Grup 3 üyeleri; *S. europaeiscabiei* olarak tanımlanmış, gri ve spiral spor zincirlerine sahip olmakla birlikte melanin üretebilmektedirler. Temel karakteristik özellikleri *S. cabiei* strainleri ile benzer olup; çözünebilir pigment üretiminden yoksundurlar. *S. cabiei*'den farklı olarak *S. europaeiscabiei* strainleri 10 IU/ml penisiline karşı direnç gösterebilmektedirler. Toksik maddelere karşı dirençleri bakımından 0,5 µg/ml kristal viyole ve 20 µg/ml streptomisine duyarlı olan strainlerin NaCl dirençleri değişkenlik gösterebilmiştir. Bu kısımda testlenen karakteristikler, *S. europaeiscabiei*'nin belirlenmiş özellikleri ile paralellik göstermiştir (Bouček-Mechice *et al.* 2000). Öte yandan KS252 ve KS464 nolu strainlerde daha önceki çalışmalarda rapor edilmeyen %1 fenol direnci gözlemlenmiştir. Moleküler tanısında, *S. scabiei* için kullanılan Scab1m/2m primerlerine 1 bp farkla aynı reaksiyonu verdikleri bilinen (Wanner 2007) strainler bu yolla da tanılanmıştır. *S. europaeiscabiei*'nin de patateslerde Türkiye için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir.

Sırasıyla 1, 2 ve 3. grupları oluşturan *S. scabiei*, *S. stelliscabiei* ve *S. europaeiscabiei* strainlerinin birçok morfolojik ve biyokimyasal karakteristiği benzer olmasına rağmen, *S. scabiei* strainlerinin, 10 IU penisiline karşı duyarlı olması *S. stelliscabiei* ve *S. europaeiscabiei* strainlerinden ayrılmasına olanak sağlamıştır. Bu veriler mevcut literatür bilgisi ile de paralellik göstermiştir (Bouček-Mechice *et al.* 2000; Lambert and Loria 1989a) Yine *S. stelliscabiei* strainlerinin gelişebildiği minimum pH seviyesi 5,5 olarak belirlenirken, *S. scabiei* ve *S. europaeiscabiei* strainleri için bu değer 5,0 olarak kaydedilmiştir. *S. stelliscabiei*'ye ait tip türün tanımlandığı çalışmada, türün gelişim gösterebildiği minimum pH seviyesine ilişkin bir data sunulmamıştır. Bu nedenle bu farklılığın *S. stelliscabiei* strainlerinin, *S. scabiei* ve *S. europaeiscabiei* strainlerinden ayrımında kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak bu önermenin desteklenmesi için, daha fazla sayıda ve farklı lokasyonlardan elde edilmiş strainlere ait verilere ulaşılması gerekmektedir. Diğer 18 grup, morfolojik ve biyokimyasal karakteristiklerine göre kolayca ayırt edilebilmiştir(Çizelge 4.2). Bu manada strainlerin özellikle sınıflandırılması ve yer yer de tanılarında, morfolojik ve biyokimyasal karakteristiklerin belirleyici olduğunu söylemek mümkündür.

S. bottropensis olarak tanılanan grup 4 üyeleri, kırmızı renkli substrat miselyumları ile diğer grup üyelerinden kolayca ayrılabilirler. Gri renkte ve spiral spor zincirleri olup, tamamı melanin pigment üretebilmektedir. Çözünbilir pigment üretimi ise bu grup strainlerinde gözlemlenmemiştir. *S. bottropensis* için literatürde var olan kayıtlar incelendiğinde, farklı renkte substrat miselyumları ve spor kütlelerinin rapor edildiği görülmektedir (Leiminger *et al.* 2012). Bunlar içinde melanin üretebilen ve üretemeyen, çözünbilir pigment üretimi bulunan ve bulunmayan strainler bulunmaktadır. Literatürde görülen bu farklılıkların sebebi olarak *Streptomyces* genusunun tanısında daha önce değinilen handikaplar gösterilebilir. Yine bu gruba dahil edilen tüm strainler 9 ISP şekerinin tamamını kullanabilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da *S. bottropensis* strainlerinin ISP şekerlerinin tamamını kullanabildiği bildirilmiştir. (Yamazaki *et al.* 1991). Patates bitkisinde Türkiye için yeni kayıt olduğu belirlenen *S. bottropensis* strainlerine ait tanı sonuçları da moleküler testler yoluyla desteklenmiştir.

Diğer 17 morfolojik grup; tür düzeyinde tanıları, moleküler testler yolu ile desteklenemeyen strainleri içermektedir. *S. violaceus* olarak tanılanan Grup 5 üyeleri; gri renkte ve spiral spor zincirlerine sahip olmakla birlikte, YME agar üzerinde ürettiği mavi renkteki çözünebilir pigment ile diğer gruplardan kolayca ayırt edilebilmektedir. Strainler PYI besi yerinde melanin üretemezken, TYR besi yerinde üretebilmektedir. Streptomisine (20 µg/ml) duyarlı olan strainler, diğer tüm toksik kimyasallara karşı dirençli olarak değerlendirilmiştir. NaCl toleransları %7 ve gelişebildikleri minimum pH seviyesi ise 5,0 olarak belirlenmiştir. Bu strainler Waksman (1961) tarafından oluşturulan teşhis anahtarına göre tanılanmıştır. Yine bu temel karakteristik özelliklerin başka çalışmalarda elde edilen sonuçlarla da örtüştüğü görülmüştür. Ayrıca bu strainlerin 9 ISP şekerinin tamamını kullanabildiği de bilinmektedir (Al-Kadeeb *et al.* 2012). Bu tür; Skerman'a (1989) ait patojen bakteri listesinde yer almış, ancak daha sonra Bull ve arkadaşları (2010) tarafından hazırlanan listeye dahil edilmemiştir. *S. setonii* olarak tanılanan Grup 6 Sarımsı-gri, rectiflexous tipte spor zincirlerine sahip strainler, melanin ve çözünebilir pigment üretiminden de yoksundurlar. Minimum 4,0 pH'da gelişebildikleri tespit edilen grup üyeleri, 10 IU/ml penisilin ve %1 fenole direçli, 20 µg/ml streptomisin ve 0,5 µg/ml kristal viyoleye duyarlıdır. Ayrıca tüm strainlerin %7 NaCl'ye karşı tolerans gösterebildiği de tespit edilmiştir. ISP şekerlerinin tamamını kullanabilen strainlerin, tespit edilen özellikleri literatürdeki verilerle de paralellik göstermiştir (Liu *et al.* 2005). Yine bu tür de Bull ve arkadaşları (2010) tarafından yayınlanan ve kabul gören bitki patojeni bakterileri ihtiva eden listedeki yerini almıştır.

Grup 7 ise *S. puniscabiei* olarak tanılanmıştır. Grup üyeleri morumsu-kırmızı renkte, rectiflexous spor zincirlerine sahiptir. PYI besi yerinde melanin üretemezken, TYR besi yerinde üretebilmektedirler. 20 µg/ml streptomisin hariç, kullanılan tüm toksik maddelere karşı dirençli olan grup üyelerinin, çözünebilir pigment üretemediği belirlenmiştir. 9 ISP şekerinin tamamını kullanabilen strainlere ait özellikler literatür verileri ile örtüşmüştür (Park *et al.* 2003). Yalnızca türün tanımlandığı çalışmada strainlerin gelişim gösterebildiği minimum pH seviyesi 3,5; bu çalışmada ise 4,0 olarak kaydedilmiştir. Kanımızca farklı bölgelerden izole edilmiş strainler arasında, bu tarz değişkenlikler görülmesi muhtemeldir.

S. luridiscabiei olarak tanılanan Grup 8; beyaz renkte, basit rectiflexous spor zincirlerine sahip, melanin ve çözünebilir pigment üretiminden yoksun strainler olarak kaydedilmiştir. Streptomisin (20 µg/ml) ve %5 NaCl'ye karşı duyarlı olan strainlerin, kullanılan diğer toksik maddelere direçli olduğu belirlenmiştir. Gelişim gösterebildikleri minimum pH derecesi ise 4,5 olarak tespit edilmiştir. Bu verilerin tamamı literatürde mevcut olan bilgilerle paralellik göstermiştir (Park *et al.* 2003).

Grup 9, *S. intermedius* olarak tanılanan strainleri ihtiva etmektedir. Koyu gri (mavimsi) renkte, rectiflexous spor zincirlerine sahip, PYI besiyerinde melanin üretemezken, TYR besiyerinde üretebilen strainler, çözünebilir pigment üretiminden yoksundur. %7 NaCl, 10 IU/ml penisilin ve %1 fenole karşı dirençli olan strainler, diğer toksik maddelere karşı duyarlıdırlar. Ayrıca gelişebildikleri minimum pH seviyeleri de 4,0 olarak tayin edilmiştir. Bu strainlerin tanısı, Waksman (1961) tarafından kaleme alınan 'The Actinomycetes' isimli eserde yer alan teşhis anahtarına göre yapılmıştır. Skerman'a (1989) ait 'Approval List of Bacterial Names' isimli eserde, ayrıca Bull ve arkadaşları (2010) tarafından yayınlanan fitopatojen bakteriler listesinde, bu tür de fitopatojen *Streptomyces*'ler arasındaki yerini almıştır.

Morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına göre tanısı yapılan 9 türe ait özellikler Çizelge 5.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 5.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler yolu ile tanısı yapılan 9 türe ait özellikler

Test edilen parametreler	<i>S. scabiei</i>	<i>S. stelliscabiei</i>	<i>S. europaeiscabiei</i>	<i>S. bottropensis</i>	<i>S. violaceus</i>	<i>S. setonii</i>	<i>S. puniscabiei</i>	<i>S. luridiscabiei</i>	<i>S. intermedius</i>
YME'de spor rengi	G	G	G	G	G	G	MK	G	G
Spor zinciri şekli	S	S	S	S	S	RF	RF	RF	RF
YME'de koloni rengi	KS	KS	KS	K	B	SG	ST	KS	SA
PYI 'da melanin üretimi	+	+	+	+	-	-	-	-	-
TYR'de melanin üretimi	+	+	+	+	+	-	+	-	+
Çözünbilir pigment üretimi	-	-	-	-	+	-	-	-	-
NaCl toleransı ¹	%5	34	38	25	60	+	+	+	-
	%6	13	38	25	27	+	+	+	-
	%7	-	38	-	-	+	+	+	-
Streptomisin ¹	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenol ¹	-	-	50	93	+	+	+	+	+
Penisilin	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Kristal viyole	-	-	-	-	+	-	+	+	-
Minimum pH	5,0	5,5	5,0	4,0	5,0	4,0	4,0	4,5	4,0
37 C'de gelişim	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Karbon kaynakları kullanımı	L-arabinoz	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fruktoz	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+
	(I)-inositol	+	+	+	+	+	+	-	-
	D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+
	Rafinoz	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ramnoz	+	+	+	+	+	+	+	-
	Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+
D-ksiloz	+	+	+	+	+	+	+	+	

*+: Pozitif, -: Negatif, ¹: Pozitif sonuç veren strainlerin yüzdesi, Spor rengi; G: gri, MK: morumsu-kırmızı, Spor zinciri; S: spiral, RF: rectiflexous, YME'de Koloni; KS: kahverengimsi sarı, K: kırmızı, B: beyaz, ST: soluk turuncu, SA: sarı, KH: kahverengi, SG: sarımsı-gri Fenol: %1, Kristal viyole: 0,5 µg/ml, Streptomisin: 20 µg/ml, Penisilin 10 IU/ml

Diğer strainlerin testlenen morfolojik ve biyokimyasal özellikler yardımı ile tanılanması mümkün olmamıştır. Öte yandan morfolojik ve biyokimyasal testler yolu ile tanılanan strainlerin de, tanı sonuçlarının moleküler metotlar yardımı ile desteklenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada tanılanan *S. scabiei*, *S. bottropensis*, *S. stelliscabiei*, *S. setonii*, *S. eupopascabiei*, *S. violaceus*, *S. puniscabiei*, *S. luridiscabiei* ve *S. intermedius* türleri Doğu Anadolu Bölgesi için yeni kayıt olmakla birlikte, Türkiye'de de *S. scabiei* ve *S.*

reticulliscabiei (Karahan 2006) hariç fitopatojen *Streptomyces* varlığı rapor edilmemiştir. Daha önce belirtildiği gibi bu çalışma ile elde edilen 21 morfolojik grup bulunmaktadır. Bu gruplar içinde yeni patojen türler olması kuvvetle muhtemeldir. Yapılan birçok çalışmada, patojenite genlerini kodlayan bölgenin (PAI) horizontal gen transferi ile aktarıldığı ve bu nedenle de saprofit türlerin patojen özelliği kazanabildiği bildirilmiştir (Dees *et al.* 2012; Leiminger *et al.* 2012; Wanner 2009; Gonzales *et al.* 2008).

Çalışma kapsamında fitopatojen *Streptomyces*'ler için yağ asidi metil ester analizi de yapılmıştır. Bu analizler sonucunda elde edilen bulgular incelendiğinde, tüm strainler cins düzeyinde *Streptomyces* olarak tanılanmıştır. Tür düzeyinde ise 54 strainin *S. scabiei*, 33 strainin *S. olivaceus*, 18 strainin *S. violaceusniger*, 2 strainin *S. cinnamoneum*, 2 strainin *S. californicus*, 2 strainin *S. exfoliatus*, 2 strainin *S. rochei* ve 1 strainin de *S. lavendulae* olarak isimlendirildiği belirlenmiştir. Fakat strainlerin tür düzeyinde tanılarında benzerlik indekslerinin oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu indeks minimum %0,18 ve maksimum %46 olarak kaydedilmiştir. Bu değerlendirmelerde, Sherlock version 4.5'te bulunan actin 3.8 kütüphanesi kullanılmıştır. Günümüz itibari ile çok daha gelişmiş ve geniş sistem kütüphanelerinin bulunduğu bilinmektedir. Öte yandan daha önce yapılmış çalışmalar incelendiğinde de MIS ile *Streptomyces*'lere ait yağ asitlerinin tayin edildiği çalışmalar olduğu görülmüş, ancak araştırmacıların, sistemi bu strainlerin isimlendirilmesinde kullanmadığı tespit edilmiştir (Xu *et al.* 2005; Ritacco *et al.* 2003; Ndwora *et al.* 1995).

Genellikle *Streptomyces*'lerin sahip olduğu yağ asitlerini, özellikle bulunuş oranları açısından sınırlandırmak pek mümkün olmasa da standardize edilmiş koşullarda sahip oldukları 15-17 karbonlu iso ve anteiso yağ asitleri bu bakterilerin cins düzeyinde tanısında hızlı ve kullanışlı bir yöntem olarak göze çarpmaktadır (Saadler *et al.* 1987). Nitekim bu çalışmada da; tanı yüzdeleri düşük olmasına rağmen tüm strainler *Streptomyces* olarak tanılanabilmiştir.

Strainlerin ihtiva ettikleri yağ asitleri incelendiğinde, bunlardan bazılarının tüm gruplarda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu yağ asitleri; 1. majör gruba ait 1. alt grup için; 15:0 iso, 15:0 anteiso, 16:0 iso, 16:0 ve 17:0 anteiso olurken; 17:0 iso yağ asidinin ise bu gruba dahil strainlerin büyük çoğunluğunda bulunduğu belirlenmiştir. 1. majör gruba ait 2. alt grup ve 2. majör gruba ait her iki alt grupta ise bu altı yağ asidinin tüm strainlerde var olduğu anlaşılmıştır. Yapılan birçok çalışmada da bu yağ asitlerinin farklı *Streptomyces* strainlerinde varlığı rapor edilmiştir (Sun *et al.* 2007; Xu *et al.* 2005; Huang *et al.* 2004; Lindhom *et al.* 1997).

Bazı yağ asitleri ise strainler arasında değişkenlik göstermiş; ayrıca bunlardan bazıları test edilen strainlerin büyük çoğunluğunda görülürken, bazılarının ise nadir olarak birkaç strainde varlığı belirlenmiştir. 13:0, 14:0 iso, 14:0, 15:0, 16:1 cis 9, 16:0 9 metil ve 17:1 anteiso c yağ asitleri gruplar ve strainler arasında değişen oranlarda bulunmakla beraber strainlerin büyük çoğunluğunda tespit edilmiştir. Yine bu yağ asitlerinin de daha önce yapılan çalışmalarda farklı *Streptomyces* strainlerinde var olduğu bildirilmiştir (Sun *et al.* 2007; Xu *et al.* 2005; Huang *et al.* 2004; Lindhom *et al.* 1997; Ndowora *et al.* 1995). Strainlerde nadir olarak bulunan yağ asitlerine bakıldığında; 10:0, 12:0, 13:0 iso, 17:1 cis 9, 17:0 3OH, 17:0 cyclo; 18:0 iso, 18:1 cis 9 ve 19:0 iso yağ asitleri göze çarpmaktadır. Bunlar arasında 10:0 ve 19:0 iso yağ asitlerine dair herhangi bir veriye daha önce yapılan çalışmalarda rastlanmamıştır. Ancak bu yağ asitleri, birkaç strainde ve çok düşük oranlarda tespit edilmiştir. Bundan ötürü belirlenen 10:0 ve 19:0 iso yağ asitlerinin bir sistem hatasının yansıması olabileceği de düşünülmektedir.

Streptomyces grubu bakterilerin yağ asitleri üzerine yapılan çalışmalardan bazılarında da fitopatojen strainler yer almıştır. Lindhom ve arkadaşları (1997) tarafından yapılan çalışmada *S. scabiei*, *S. aacidiscabies* ve farklı bir grup *Streptomyces* spp.'nin yağ asitleri analiz edilmiştir. Sonuç olarak *S. scabiei* strainlerinin ihtiva ettiği yağ asitleri, 14:0; (%2,0-7,3), 15:0 iso; (%7,2-14,5), 15:0 anteiso; (%10,06-12,40), 15:0; (%3,0-5,7), 16:1 cis 9; (%8,7-13,2), 16:0 iso; (%12,4-27,8), 17:0 iso; (%1,6-4,6), 17:0 anteiso (%3,9-7,3), 17:0; (%0,3-1,2) olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada bir tanesi ATCC suşu olmak üzere dört *S. scabiei* straini kullanılmıştır. Görülebileceği gibi bu 4 strain

arasında bile yağ asitlerinin bulunma oranları açısından önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Yine *S. acidiscabies* ATCC 49003 ve SC122 olarak tanımlanan strainlerin *S. scabiei* strainlerinden farklı yağ asitleri bulundurduğu, aynı yağ asitlerinin ise bulunma oranlarında önemli farklılıklar olduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada da, iki *S. scabiei*, iki *S. acidiscabies*, bir *S. albidoflavus* ve bir diğer patojen *Streptomyces* sp, bunun yanı sıra bazı supresif *Streptomyces* strainleri için yağ asidi metil ester analizi yapılmıştır. Patojen strainlerinde bulunan yağ asitleri, 14:0 iso; (%6,70-11,00), 15:0 iso; (%6,30-9,70), 15:0 anteiso; (%10,20-25,70), 15:0; (%4,30-7,00), 16:0 iso; (%21,30-31,40), 16:1 cis 9; (%2,50-8,50), 16:0; (%2,20-8,50), 17:0 iso; (%0,70-2,00), 17:0 anteiso; (%2,70-5,70) oranlarında tespit edilmiştir. Nadir olan, 12:0 ve 13:0 anteiso yağ asitlerinin *Streptomyces* sp. olarak tanımlanan patojen strainde, %0,4 oranında bulunduğu belirlenmiştir. Supresif strainler dikkate alındığında, 14:0; (%1,40-7,60), 15:0 iso; (%7,80-15,90), 15:0 anteiso; (%21,50-32,80), 16:0 iso; (%13,30-25,30), 16:0; (%2,30-8,50), 17:0 iso; (%1,30-5,30) ve 17:0 anteiso (%5,40-12,80) yağ asitleri tespit edilmiştir (Ndowora *et al.* 1995).

Daha önce yapılan çalışmalarda ulaşılan sonuçlar, bu çalışmada elde edilen verilerle örtüşmüş, *Streptomyces* strainlerinde var olan temel yağ asitlerinin, oranları değişmekle beraber 15:0 iso, 15:0 antesio, 16:0, 16:0 iso, 17:0 iso ve 17:0 antesio olduğu tespit edilmiştir. Ancak farklı yağ asitlerinin varlığına da rastlanmıştır. Öte yandan bu yağ asitleri ve bulunma oranları dikkate alınarak yapılan sınıflandırmada oluşan grupların, morfolojik ve moleküler testler sonucu tesis edilen gruplarla benzer veya farklı strainleri içerebileceği de görülmüştür.

Ndowora *et al.* (1995) patojen strainlerle supresif strainlerin ihtiva ettikleri yağ asitleri ve bulunma oranları açısından farklı olduğunu; buradan hareketle patojen ve supresif strainlerin ayırımında MIS datalarından faydalanabileceğini öne sürerken, bir başka çalışmada ise, yağ asidi analizlerinin yanı sıra genetik profillemeye de yer verilmiş, sonuçta yağ asidi analizi ile oluşturulan grupların, genetik profillemeye yolu ile oluşturulan gruplardan farklı olduğu, strainler arasında da ayırt edici herhangi bir

karakteristiğe rastlanmadığı rapor edilmiş, bunun büyüme şartlarının yağ asidi profilleri üzerindeki etkisinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Paradis *et al.* 1994). Yine bir başka çalışmada, ribotipleme yolu ile oluşturulan gruplar ve yağ asidi metil esterleri baz alınarak oluşturulan grupların benzer veya farklı strainleri barındırabileceği rapor edilmiştir (Ritacco *et al.* 2003).

Bu çalışma kapsamında strainlerin tanılarına ulaşabilmek için PCR yöntemi de kullanılmıştır. Cins bazında patojen olarak değerlendirilen 114 strainin tamamı 161F/16S1R primerleri ile gerçekleştirilen PCR reaksiyonlarında *Streptomyces* cinsine spesifik olan 1531 bp'lik DNA bantları vermişlerdir. Bazı strainlerin bu spesifik DNA bandının yanı sıra, spesifik olmayan PCR ürünleri oluşturabildiği de tespit edilmiştir. Bu durum daha önce yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Wanner 2007).

Strainlerin tür bazında tanıların yapılabilmesi için de spesifik PCR yöntemi kullanılmıştır. Bitki patojeni *Streptomyces* türlerinin PCR ile tanısına yönelik olarak geliştirilmiş çok sayıda spesifik primer daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Wanner 2006; Wanner 2009). Morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre belirli gruplara dahil edilen strainlerin, bu primerler yardımı ile kesin tanı sonuçlarına ulaşılmıştır. Çalışma sonucunda *S. scabiei*, *S. stelliscabiei*, *S.europaeiscabiei* ve *S. bottropensis* türleri PCR ile kesin tanısı elde edilebilen fitopatojen *Streptomyces* türleri olarak kaydedilmiştir. Bu türlerden *S. scabiei*'nin Karahan (2006) tarafından yapılan çalışmada Orta Anadolu Bölgesi'nde varlığı bildirilmiş, diğer türlerin ise varlığına dair herhangi bir kayda rastlanmamıştır. Bu bakımdan *S. stelliscabiei*, *S.europaeiscabiei* ve *S. bottropensis* türleri Türkiye için yeni kayıtlar olarak belirlenmiştir. *S. scabiei*'nin ise Doğu Anadolu Bölgesi için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir. *S. scabiei* strainleri için kullanılan Scab1m/2m ve *S. stelliscabiei* strainleri için kullanılan Stel3/T2st2 primerlerinin bu iki tür için ayırt edici olduğu, *S. stelliscabiei* strainlerinin Scab1m/2m primerlerine reaksiyon vermediği gözlemlenmiştir. Yine *S. bottropensis* strainleri için kullanılan Stel3/Aci2 primerlerinin de bu türün ayırımında başarı ile kullanılabileceği görülmüştür. Ancak tanısı morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılan veya tür düzeyinde tanısı yapılamayan strainler, bu primerlerle muamele edilmemiştir. O

yüzden primerlerin geniş bir yelpazede spesifitelerine yönelik kesin çıkarımlara ulaşamamıştır. Moleküler düzeyde tanısı mümkün olmayan strainler, morfolojik benzerlikleri baz alınarak, *S. aureofaciens*, *S. turgidiscabies* ve *S. acidiscabies* için dizayn edilmiş spesifik primerlerle reaksiyona sokulmuş, ancak bunun sonucunda herhangi bir pozitif reaksiyon gözlemlenmemiştir. Bu strainlerin kesin tanılarına ulaşabilmek amacı ile ilerleyen dönemlerde sekans analizine gidilecektir.

Çalışmanın son kısmında ise strainlerin patojenite karakteristiklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için fitopatojen *Streptomyces*'lerin patojenite bölgelerini hedef alan spesifik primerler kullanılmıştır. Daha önce de belirtildiği gibi bu patojenite bölgesi (PAI) patojen olmayan türlere de aktarılabilirdiği için yeni patojen türlerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Lerat *et al.* 2009). Patojenite bölgesinde bulunan en önemli genler ise takstomin üretiminden sorumlu olanlardır. Takstomin adı verilen ve fitopatojen *Streptomyces*'ler tarafından üretilen toksin ailesinin bu cins için temel patojenite determinantı olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (Leiminger *et al.* 2012; Wanner 2009; Flores-Gonzales *et al.* 2008; Wanner 2007). Bu çalışmada değerlendirilen 114 patojen strainden 102 tanesinde TxtAB operonunun varlığı belirlenmiştir. TxtAB operonunun varlığı tespit edilemeyen 12 strainden; KS573, KS618, KS620 ve KS647 nolu strainler *S. bottropensis*, KS665 ve KS678 nolu strainler *S. setonii* olarak tanılanmıştır, KS229, KS539, KS541, KS556, KS558 ve KS569 nolu strainlerin ise tür düzeyinde tanısı yapılamamıştır.

Bu operon varlığı ve patojenite ile bağlantısı üzerine yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Wanner (2006) yaptığı çalışmada patojen olduğu tespit edilen 100 strainin tamamında TxtAB operonunun varlığını belirlemiştir. Yine Leiminger ve arkadaşları (2012) Almanya'da yaptıkları çalışmada test ettikleri 295 strain arasından 265 tanesinde TxtAB operonunun varlığını belirlemişler ve yalnız bu operona sahip olan strainlerin patojen olduğunu ifade etmişlerdir. Dees ve arkadaşlarının (2012) Norveç'te yaptığı çalışmada ise TxtAB operonuna sahip olmayan strainlerin patates ve turp bitkilerinde belirti oluşturmadığı belirtilmiştir. Yine bu çalışmada farklı türlerin sahip olduğu TxtAB sekanslarının değişken olabileceği de ifade edilmiştir. Bu nedenle TxtAB

operonunun varlığı belirlenemeyen 12 strainin, değişkenlik arz etmiş olabileceği de ihtimal dahilindedir. Yine bir başka çalışmada patojen *Streptomyces* strainlerinin belirlenmesinde TxtAB operonuna spesifik olarak dizayn edilen Stx1a/Stx1b primerleri kullanılmış ve patojen strainlerin büyük oranda bu operona sahip oldukları tespit edilmiştir. Ancak nadir olsa da bazı patojen *Streptomyces* strainlerinin bu operondan yoksun olduğu ve bunun göz ardı edilemeyeceği de belirtilmiştir (Flores-Gonzales *et al.* 2008). Bu açıdan yapılan patojenite testleri de göz önünde bulundurulduğunda, TxtAB operonu tespit edilemeyen 12 strainin patojen olduğunu söylemek mümkündür. Yine Wanner (2009) tarafından yapılan çalışmada da turpta yapılan testlerde lezyon oluşturan ve TxtAB operonundan yoksun bir strainin varlığından bahsedilmiştir. Fakat yine de TxtAB operonunun fitopatojen *Streptomyces*'ler için temel patojenite determinantı olduğu ve patojeniteyle bu operonun varlığı arasında kuvvetli bir ilişki bulunduğu muhakkaktır.

Bu çalışma kapsamında araştırılan ve fitopatojen *Streptomyces* strainlerinin patojenite bölgeleri üzerinde çoğunlukla bulunan hedef genlerden ikisi de Nec1 ve TomA'dır. Bu genlerin de patojenite ile ilgili olduğu düşünölen nekrotik proteinlerin üretiminden sorumlu oldukları bilinmektedir. Yapılan PCR bazlı analizler sonucunda Nec1 geninden yoksun 7, TomA geninden yoksun 6 strain olduğu belirlenmiştir. Nec1 genini ihtiva etmeyen 7 strainden; KS227 ve KS522 *S. intermedius*, KS481 *S. scabiei*, KS636 *S. bottropensis* ve KS678 *S. setonii* olarak tanılanırken, KS465 ve KS539 strainlerinin tür bazında tanısı yapılamamıştır. TomA geninden yoksun olan 6 strainden; KS518 ve KS553 *S. scabiei*, KS170 *S. stelliscabiei* ve KS678 *S. setonii* olarak tanılanırken, KS177 ve KS542 nolu strainlerin tür bazında tanısı yapılamamıştır.

Nec1 ve TomA genlerinin patojenite ile ilişkisi olmasına rağmen, birincil patojenite determinantları olmadığı daha önce yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Dees *et al.* 2012; Leiminger *et al.* 2012; Wanner 2009). Araştırmacılar Nec1 veya TomA genlerinin biri veya her ikisinden yoksun olmasına rağmen, TxtAB operonuna sahip patojen strainlerin varlığını rapor etmişlerdir. Yine Wanner (2009) yaptığı çalışmada, patojen olmayan strainlerin de çoğunlukla Nec1 ve TomA genlerine sahip olduklarını ve bu

genlerin taşıyıcısı olarak bulduklarını tespit etmiştir. Buradan hareketle *Streptomyces*'lerin patojenite bölgelerinde yer alan Nec1 ve TomA genlerinin strainlerin virülansı üzerine etkili oldukları ancak patojenitenin temel belirleyicisi olmadıkları söylenebilir.

Sonuç olarak bu çalışma ile; Erzurum ili patates üretim alanlarından patojen *Streptomyces* strainleri izole edilerek karakterizasyonları yapılmıştır. Patojen strainlerin toplamda izole edilen *Actinomyces*'ler içindeki oranının %43 olduğu tespit edilmiştir. Daha öncede belirtildiği gibi bu çalışma kapsamında herhangi bir yaygınlık çalışması yapılmamıştır. Ancak izole edilen streinlerin neredeyse yarısının patojen *Streptomyces* türleri olması hastalığın yaygınlığına dair ipuçları vermektedir. Dahası morfolojik ve biyokimyasal testler yardımı ile patates üretim alanlarında patojen *Streptomyces* türlerine dair 21 farklı grubun varlığı belirlenmiştir.

Morfolojik, biyokimyasal ve moleküler metotlar yardımı ile bu strainlerin tamamı cins düzeyinde *Streptomyces* olarak tanılanmıştır. Bunlar arasından 47 strain *S. scabiei*, 15 strain *S. bottropensis*, 8 strain *S. stelliscabiei* ve 4 strain de *S. europaeiscabiei* olarak tanılanmış ve bu tanı sonuçları moleküler yöntemlerle desteklenmiştir. Bunun yanı sıra morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına göre; 5 strain *S. setonii*, 4 strain *S. violaceus*, 3 strain *S. puniscabiei*, 2 strain *S. luridiscabiei* ve 2 strain de *S. intermedius* olarak tanılanmış, patojenite bölgeleri karakterize edilmiştir. 24 strainin ise tür düzeyinde tanısı mümkün olmamıştır. Tanısı yapılamayan strainlerin toplam patojenler içindeki oranı %21 olarak kaydedilmiştir.

Kullanılan tanı yöntemleri incelendiğinde; gerek klasik ve gerekse moleküler metotların her birinin farklı açılardan avantaj sağladığı görülmüştür. Özellikle iş yükünün azalması, strainlerin genel ayrımlarının yapılması bakımından morfolojik ve biyokimyasal testlerin önemli faydaları görülmüştür. Bu metotların değişkenliği ve yeknesaklık sağlanmasındaki sıkıntılar bilinmektedir. Kaldı ki, hangi metot kullanılırsa kullanılsın, bir takım morfolojik ve biyokimsal kıstasların *Streptomyces* türüne mensup bakterilerin tanısında vazgeçilmez olduğu muhakkaktır.

MIS sisteminin tür düzeyinde, tanı yüzdesi (isimlendirme) anlamında, *Streptomyces*'ler için çok uygun olmadığı görülmüştür. Bu durum kullanılan sistem kütüphanesinin eski olmasından kaynaklanıyor olabilir. Fakat benzerlik indeksleri düşük olsa da 114 patojen strainin tamamının bu sistem yardımıyla cins düzeyinde tanılabildiği de göz ardı edilmemelidir. Kanımızca; sistemin, yağ asidi metil ester analizlerinde oldukça yararlı olduğu da çoğu araştırmacının üzerinde mutabık kalabileceği bir argümandır.

Görece olmakla birlikte; *Streptomyces*'lerin tanısı ve karakterizasyonunda en önemli katkı PCR sisteminden alınmıştır. Tanı anlamında her türe spesifik primer çifti olmasa da özellikle patojenite bölgelerinin karakterizasyonunda PCR oldukça yararlı bulunmuştur. Yine literatürde yapılan çalışmalar ışığında, patojenite bölgesinde var olan hedef genlerin analizine olanak sağladığından, bu sistemin, patojen strainlerin çabuk ve doğru bir şekilde belirlenmesine olanak sağladığı bilinmektedir.

Tüm bu veriler ışığında güvenilir tanı için özellikle klasik ve moleküler metotların birlikte kullanılması gerektiği kanısını taşımaktayız. Klasik tanı yöntemlerinin handikaplarından bahsedilmesine rağmen, her çalışmada moleküler tanıya gitmenin mümkün olamayacağı muhakkaktır. Dahası her strainin bu manada en yoğun kullanılan yöntem olan PCR ile tanısı yapılamayabilir. Bu anlamda her türe spesifik primer çifti mevcut olmayabilir ya da primer çifti birden fazla sayıda türe aynı reaksiyonu verebilir. Bu yüzden mutlaka klasik tanıda kullanılan kıstaslardan, moleküler test sonuçlarının desteklenmesi veya doğrulanmasında yararlanılmalı, bu yöntemler bir bütün olarak kabul edilmelidir. Tabii ki sekans analizi gibi daha ileri ve güvenilirliği yüksek yöntemler de yer yer çalışmalara dâhil edilmelidir.

Ulaşılan patojen türler Türkiye ve Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki varlıkları açısından değerlendirildiğinde *S. bottropensis*, *S. stelliscabiei*, *S. europaeiscabiei*, *S. setonii*, *S. violaceus*, *S. puniscabiei*, *S. luridiscabiei* ve *S. intermedius* türlerinin Türkiye için patateslerde yeni kayıt olduğu bulunmuştur. Bu 8 türe ek olarak *S. scabiei*'nin de aralarında bulunduğu 9 türün Doğu Anadolu Bölgesi için patateslerde yeni kayıt olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan *S. scabiei*, *S. bottropensis*, *S. stelliscabiei* ve *S.*

europaeiscabiei strainlerine ait tanı sonuçları PCR ile desteklenirken, *S. setonii*, *S. violaceus*, *S. puniciscabiei*, *S. luridiscabiei* ve *S. intermedius* olarak tayin edilen türlere ait tanımlar morfolojik ve biyokimyasal kıstaslara dayanılarak yapılmıştır. İlerleyen dönemlerde bu çalışma sonucunda tanısı yalnız klasik yöntemlere göre yapılan strainlerin de sekans analizi ile kesin tanı sonuçlarına ulaşılması amaçlanmaktadır.

Bu çalışmanın temel bir araştırma niteliğinde olduğu unutulmamalıdır. Kanımızca Türkiye'nin önemli patates üretim alanlarında ve *Streptomyces* üyesi patojen bakterilerin arız olabildiği diğer kültür bitkilerinde de bu minvalde çalışmalar yapılarak patojen yelpazesinin belirlenmesi ve bunların kontrolüne yönelik stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra bu çalışmada kullanılan primer çiftlerinin spesifite ve etkinliklerine yönelik daha detay çalışmaların da yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, A. M., Aboshanab, K. M., Aboulwafa, M. M. and Hassouna, N. A., 2011. *Actinomyces hyovaginalis*: A novel bacterial isolate with transforming activity of vitamin D3 to 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3. *Journal of American Science*, 7(9): 230-237.
- Agrios, G. N., 1997. *Plant Pathology*. Department of Plant Pathology, University of Florida, Academic Press, p 635.
- Al-Kadeeb, S., Al-Rokban, A., Ahlam, H. and Awad, F., 2012. Characterization and identification of Actinomycetes isolated from contaminated Soil in Riyadh. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 3(8): 1-8.
- Altundağ, Ş., Karahan, A., Kılınc, O. A. and Özakman, M. 2008. First report of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* causing bacterial ring rot of potato in Turkey. *New Plant Disease*, 18: 33.
- Anderson, A. S. and Wellington, E. M. H., 2001, The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiolog*, 51: 797-814.
- Anonim, 2011. Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK), Bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr>
- Anonymous, 2012. Catalogue of life: 2012 annual check list. <http://www.Catalogueoflife.org>.
- Anonymous, 2012. Food and Agricultural Organization (FAO). <http://www.fao.org>
- Archuleta, J. G. and Easton, G. D., 1981. The cause of deep-pitted scab on potatoes. *American Potato Journal*, 58: 385-392.
- Awad, H. M., El-Saded, K. Y. I. and El-Nakkadi, A. E. M. 2009. Isolation screening and identification of newly isolated soil *Streptomyces* (*Streptomyces* sp. NRC-35) for β -lactamase inhibitor Production. *World Applied Sciences Journal*, 7(5): 637-3-646.
- Aysan, Y., Saygılı, H., Şahin, F. And Çetinkaya-Yildiz, R. 2005. Present status of bacterial stem rot on tomato in Turkey. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 695: 97-100.
- Babock, M. J., Eckwall, E. C. and Schottel, J. L., 1993. Production and regulation of potato-scab-inducing phytotoxins by *Streptomyces scabies*. *Journal of General Microbiology*, 139:1579-1586.
- Bencheikh, M. and Setti, B., 2007. Characterization of *Streptomyces scabies* isolated from common scab lesions on potato tubers by morphological, biochemical and pathogenicity tests in chlef region in western Algeria. *Sciences and Technologie*, 26: 61-67.
- Benlioğlu, K., 1991. Bolu, Nevşehir ve Niğde İllerindeki patates üretim alanlarında *Erwinia* spp.'nin yaygınlık oranları, tanılanması ve inokulum kaynakları üzerine araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 122s.
- Beyazova, M., and Lechevalier., M. P., 1993. Taxonomic utility of restriction endonuclease fingerprinting of large DNA fragments from *Streptomyces* strains. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43: 674–682.
- Boucek-Mechiche, K., Gardan, L., Andrivon, D. and Normand, P., 2006. *Streptomyces turgidiscabies* and *Streptomyces reticuliscabiei*, one genomic species two

- pathogenic groups. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 2771-2776.
- Bouček-Mechiche, K., Gardan, L., Normand, P. and Jouan, B. 2000. DNA relatedness among strains of *Streptomyces* pathogenic to potato in France: description of three new species, *S.europaeiscabiei* sp. nov. and *S.stelliscabiei* sp. nov. associated with common scab, and *S.reticuliscabiei* sp. nov. associated with netted scab. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50: 91-99.
- Bouček-Mechiche, K., Guerin, C., Jouan, B. and Gardan, L., 1998. *Streptomyces* species isolated from potato scabs in France: numerical analysis of Biotype-100 carbon source assimilation data. *Research Microbiology*, 149: 653-663.
- Bull, C. T., De Boer, S.H., Denny, T.P., Firrao, G., Fischer-Le Saux, M., Saddler, G. S., Scortichini, M., Stead, D.E. and Takikawa, Y., 2010. Comprehensive list of names of plant pathogenic bacteria, 1980-2007. *Journal of Plant Pathology*, 92(3): 551-592
- Burkhalid, R. A., Chung, S. Y. and Loria, R. 1998. *nec1*, gene conferring a necrogenic phenotype is conserved in plant-pathogenic *Streptomyces* spp. and linked to a transposase pseudogene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(10): 960-967.
- Burkhalid, R. A., Takeuchi, T., Labeda, D. and Loria, R. 2002. Horizontal transfer of the plant virulence gene, *nec1*, and flanking sequences among genetically distinct *Streptomyces* strains in the Diastatochromogenes cluster. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 738-744.
- Christova, K., Sholeva, Z. and Chipeva, V., 1995. Application of molecular biological methods in Taxonomy of genus *Streptomyces*. *Journal of Culture Collections*, 1: 3-10.
- Citir, A. 1985. Preliminary investigation of potato diseases caused by mycoplasma-like organisms (MLO) in Erzurum region. *Journal of Turkish Phytopathology*, 14: 53-63.
- Conn, K. L., Kritzman, G. and Lazarovits, G., 1998. A quantitative method for determining soil populations of *Streptomyces* and differentiating potential potato scab-inducing strains. *Plant Disease*, 82: 631-638.
- Cullen, D. W. and Less, A.K., 2007. Detection of the *nec1* virulence gene and its correlation with pathogenicity in *Streptomyces* species on potato tubers and in soil using conventional and real-time PCR. *Journal of Applied Microbiology*, 102: 1082-1094.
- Dees, M. V., Sletten, A. and Hermansen, A., 2012. Isolation and characterization of *Streptomyces* species from potato common scab lesions in Norway. *Plant Pathology*, 10.1111/J.1365-3059.2012.02619.x
- Doering-Saad, C., Kampf, P., Manulis, S., Kritzman, J.S., Zakrzewska-Czerwinska, J., Schrempf, H. and Barash, I. 1992. Diversity among *Streptomyces* strains causing potato scab. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 3932-3940.
- Eroglu, S., Ozbek, H. and Sahin, F. 2010. First report of group 16SrXII phytoplasma causing stolbur disease in potato plants in the Eastern and Southern Anatolia Regions of Turkey. *Plant Disease*, 94(11): 1374.1
- Faucher, E., Savard, T. and Beaulieu, C., 1992. Characterization of *Actinomycetes* isolated from common scab lesions on potato tubers. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 14: 197-202.

- Gonzalez, F. R., Velasco, I. and Montes, F., 2008. Detection and characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Western Europe. *Plant Pathology*, 57: 162-169.
- Goodfellow, M., and . Dickenson., C. H., 1985. Delineation and description of microbial populations using numerical methods. *In*: M. Goodfellow, D. Jones, and F. G. Priest (Eds.), *Computer-assisted Bacterial Systematics*. Academic Press. London, UK, 165–226.
- Goyer, C., Faucher, E. and Beaulieu, C., 1996. *Streptomyces cavisbabies* sp. nov., from deep pitted lesions in potatoes in Quebec, Kanada. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(3): 635-639.
- Gudmestad, N. C., and Secor, G. A. 2007. Zebra chip: a new disease of potato. *Nebraska Potato Eyes*, 19: 1-4.
- Han, J.S., Cheng, J.H., Yoon, T.M., Song, J., Rajkarnikar, A., Kim, W.G., Yoo, I.D., Yang, Y.Y. and Suh, J.W., 2005. Biological control agent of cammon scab disease by antagonistic strain *Bacillus* sp. Sunhua. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 213-221.
- Hao, J. J., Meng, Q. X., Yin, J. F. and Kirk, W. W., 2009. Characterization of a new *Streptomyces* strain, ds3024, that causes potato common scab. *Plant Disease*, 93: 1329-1334.
- Haynes, K.G., Goth, R.W., Young, R.Y. 1997. Genotype x environment interactions for resistance to common scab in tetraploid potato. *Crop Science*, 37: 1163-1167.
- Healy, F. G., Wach, M., Krasnoff, B. S., Gibson, D. M. and Loria, R. 2000. The TxtAB genes of the plan pathogen *Streptomyces acidiscabies* encode a peptide synthetaserequired for phytotoxin thaxtomin A production and pathogenicity. *Molecular Microbiology*, 38(4): 794-804.
- Huang, Y., Li, W., Wang, L., Lanoot, B., Vancanneyt, M., Rodriguez, C., Liu, Z., Swings, J. and Goodfellow, M., 2004. *Streptomyces Glauciniger* sp. nov., a novel mesophilic Streptomycete isolated from soil in South China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 2085-2089.
- Huddleston, A. S., N. Cresswell, M. C. P. Neves, J. E. Beringer, S. Baumberg, D. I. Thomas, and E. M. H. Wellington. 1997. Molecular detection of streptomycin-producing streptomycetes in Brazilian soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 1288–1297.
- Ismail, A., 2006. Numerical assessment mycelium colour in classification of some *Streptomyces* isolates. *International Journal of Agriculture and Biology*, 8(6): 872-875.
- Jiang, H. H., Meng, Q. X., Hanson, L. E. and Hao, J. J., 2012. First report *Streptomyces stelliscabiei* causing potato scab in Michigan. *Plant Disease*, 96(6): 904.
- Kampfer, P., 2006. The Family *Streptomycetaceae*, Part I: Taxonomy. *Prokaryotes*, 3: 538-604.
- Kämpfer, P., and D. P. Labeda. 2003. International Committee on Systematics of Prokaryotes, Subcommittee on the Taxonomy of Streptomycetaceae: Minutes of the Meeting, 30 July 2002, Paris, France. *International Journal of Systematic and. Evoluntary Microbiology*, 53:925.
- Kämpfer, P., R. M. Kroppenstedt, and W. Dott. 1991. A numerical classification of the genera *Streptomyces* and *Streptoverticillium* using miniaturized physiological tests. *Journal of General Microbiology*, 137:1831–1891.

- Karahan, A. 2006. Orta Anadolu Bölgesin’de patateslerde zararlı *Streptomyces* türlerinin tespiti ve önemli patates çeşitlerinin yaygın olan türe karşı reaksiyonlarının belirlenmesi. Ankara üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 91 s.
- Kataoka, M., K. Ueda, T. Kudo, T. Seki, and T. Yoshida. 1997. Application of the variable region in 16S rDNA to create an index for rapid species identification in the genus *Streptomyces*. FEMS Microbiological Letters, 151: 249–255.
- Keinath, A.P., Loria, R. 1989. Management of common scab of potato with nutrients. In: Englehard A. W. (Ed) Soilborne plant pathogens: management of disease with macro and micro nutrients. St Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Kers, J. A., Cameron, K. D., Joshi, M. V., Burkhalid, R. A., Morello, J. E., Wach, M. J., Gibson, D. M. and Loria, R., 2005. A large mobile pathogenicity island confers plant pathogenicity on *Streptomyces* species. Molecular Microbiology, 55: 1025-1033.
- Khodakaramian, G. and Khodakaramian, N., 2012. Pattern of host range phytotoxin and pathogenitciy related genes among *Streptomyces* complex inducing potato scab disease. International Conferance on Eco-System and Biological Sciences, May 19-20, Penang, Malaysia.
- Kieser, T., M. J. Bibb, M. J. Buttner, K. F. Chater, and D. A. Hopwood., 2000. Practical *Streptomyces* Genetics. The John Innes Foundation. Norwich, UK.
- Kim, J. D., Han, J. W., Lee, S. C., Lee, D., Hwang, I, C. and Kim, B. S., 2011. Disease control effect of strevertenes produced by *Streptomyces psammoticus* against tomato *Fusarium* wilt. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 1893-1899.
- King, R. R. and Lawrence, C. H., 1996. Characterization of new thaxtomin a analogues generated in vitro by *Streptomyces scabies*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44:1108-1110.
- King, R. R., Lawrence, C. H. and Calhoun, L. A., 1992. Chemistry of phytotoxins associated with *Streptomyces scabies* the causal organism of potato common scab. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 834-837.
- Kirby, R. and Rybicki, E., 1986. Enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) as a means of taxonomic analysis of *Streptomyces* and related organisms. Journal of General Microbiology, 132: 1891-1894.
- Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D. C., 1990. Methods in phytopathology. Akademiai Kiado, 153-180, Budapest.
- Korn-Wendisch, F., and Kutzner., H. J., 1992. The Family *Streptomycetaceae*. In: A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K.-H. Schleifer (Eds.), The Prokaryotes. Springer-Verlag. New York, NY, 921–995.
- Kreuze, J. F., Suomalainen, S., Paulin, L. and Valkonen, J. P. T ., 1999. Phylogenetic analysis of 16S rDNA genes and PCR analysis of the nec 1 gene from *Streptomyces* sp. causing common scab, pitted scab and netted scab in Finland. Phytopathology, 89: 46-469.
- Kroppenstedt, R. M. 1985. Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. In: M. Goodfellow and D. E. Minnikin (Eds.), Chemical Methods in Bacterial Systematics. Academic Press. London, UK. SAB Technical Series 20: 173–199.

- Kumar, V., Bharti, A., Gusain, O. and Bisht, G. S. 2010. An Improved Method for Isolation of Genomic DNA from Filamentous *Actinomycetes*. International Journal of Service Sciences, Engineering and Technology Management, 2(2): 10-13.
- Lambert, D.H. and Loria, R. 1989a. *Streptomyces scabiei* sp. nov., nom. rev. International Journal of Systematic Bacteriology, 39: 387-392.
- Lambert, D.H. and Loria, R. 1989b. *Streptomyces acidiscabies* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 39: 393-396.
- Langham, C. D., Williams, S. T., Sneath, P. H. A. and Mortimer, A. M., 1989. New probability matrices for identification of *Streptomyces*. Journal of General Microbiology, 135:121–133.
- Lapaz, M. I., 2012. First report regarding potato scab caused by *Streptomyces acidiscabies*. Plant Disease, 96(7): 1064
- Lapwood, D.H., Wellings, L.W., Hawkins, J.H. 1973. Irrigation as a practical means to control potato common scab (*Streptomyces scabiei*): final experiment and conclusions. Plant Pathology, 22: 35-41
- Lechevalier, M. P., DeBievre, C. and Lechevalier, H., 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: Phospholipid composition. Biochemical Systematics and Ecology, 5: 249–260.
- Leiminger, J., Frank, M., Wenk, C., Poschenrieder, G., Kellerman, A. and Schwarzfischer, A., 2012. Distribution and characterization of *Streptomyces* species causing potato common scab in Germany. Plant Pathology, 10.1111/J.1365-3059.2012.02659.x
- Lerat, S., Simao-Beauvoir, A. M. and Bealieu, C., 2009. Genetic and physiological determinants of *Streptomyces scabies* pathogenicity. Molecular Plant Pathology, 10(5): 579-585.
- Lethonen, M. J., Rantala, H., Kreuze, J. F., Bang, H., Kuisma, L., Koski, P., Virtanen, E., Vihlman, K. and Valkonen, J. P. T. 2004. Occurrence and survival of potato scab pathogens (*Streptomyces* species) on tuber lesions: quick diagnosis on a PCR-based assay. Plant pathology, 53: 280-287.
- Lindholm, P., Kortemaa, H., Kakkola, M., Salonene, M. S. and Valkonen, J. P. T., 1997. *Streptomyces* spp. isolated from scab lesions under nordic conditions in Finland. Plant Disease, 81: 1317-1322.
- Liu, D., Xiao, K., Kinkel, L.L., Anderson, N.A., Schottel, J.L. 1997. Biocontrol of plant diseases with antagonistic *Streptomyces* strains. Journal of Hebei Agricultural University, 20: 3-14.
- Liu, Z., Shi, Y., Zhang, Y., Zhou, Z., Lu, Z., Li, Wei., Huang, Y., Rodriguez, C., Goodfellow, M., 2005. Classification of *Streptomyces griseus* (Krausky 1914) Waksman and Henrici 1948 and related species and the transfer of *Microstreptospora cinerea* to the genus *Streptomyces* as *Streptomyces yanii* sp. Nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55: 1605-1610.
- Lorang, J. M., Liu, D., Anderson, N. A. and Schottel, J. L., 1995. Identification of potato scab inducing and suppressive strains of *Streptomyces*. Ecology and Epidemiology, 85: 261-268.

- Loria, R. 2001. Common scab. In: Stevenson, W.R., Loria, R., Franc, G.D., Weingartner, D. P. (Eds) Compendium of potato diseases. (2nd edition) St Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Loria, R. and Kempter, B.A. 1986. Relative resistance of potato tubers produced from stem cuttings and seed-piece-propagated plants to *Streptomyces scabiei*. Plant Disease, 70: 1146-1148.
- Loria, R., Burkhalid, R., Barbara, A. King, R. R., 1997. Plant pathogenicity in the genus of *Streptomyces*. Plant Disease, 81: 836-846.
- Maheshwari, S.K., Saini, L.C. 1994. Evaluation of boric acid against common scab disease. *Streptomyces scabiei* of potato. Tests of Agrochemicals and Cultivars. Annals of Applied Biology, 124: 28-29.
- Malahtrakis, N.E. and Goumas, D.E. 1987. Bacterial soft rot of tomato in plastic greenhouses in Crete. Annals of Applied Biology, 111:115-123.
- Manchester, L., B. Pot, K. Kersters, and M. Goodfellow. 1990. Classification of *Streptomyces* and *Streptovorticillium* species by numerical analysis of electrophoretic protein patterns. Systematic and Applied Microbiology, 13: 333-337.
- Miller, I. and Berger T., 1985, Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acids. Hewlett-Packard Gas Chromatography Application Note, Hewlett-Packard Co., Alto, CA., 228-238.
- Miyajima, K., Tanaka, F., Takeuchi, T. and Kuninaga, S. 1998. *Streptomyces turgidiscabies* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 48 : 495-502.
- Mordarski, M., Goodfellow, M., Williams, S. T. and . Sneath, P. H. A., 1986. Evaluation of species groups in the genus *Streptomyces*. In: G. Szabó, S. Biró, and M. Goodfellow (Eds.), Biological, Biochemical, and Biomedical Aspects of Actinomycetes: Proceedings of the 6th International Symposium on Actinomycetes Biology, Debrecen, Hungary, 1985. Akademiai Kiado. Budapest, Hungary, 517-525.
- Mun, H. S., Oh, E. J., Kim, H. J., Lee, K. H., Koh, Y. H., Kim, C. J., Hyun, J. W. and Kim, B. J., 2007. Differentiation of *Streptomyces* spp. which cause potato scab disease on the basis of partial *rpoB* gene sequences. Systematic and Applied Microbiology, 30: 401-407.
- Ndowora, T. C. R., Kinkel, L. L., Jones, R. K. and Anderson, N. A., 1995. Fatty acid analysis of pathogenic and suppressive strains of *Streptomyces* species isolated in Minesota. Phytopathology, 86: 138-143.
- Ochi, K. 1989. Heterogeneity of ribosomal proteins among *Streptomyces* species and its application to identification. Journal of General Microbiology, 135: 2635-2642.
- Ochi, K. 1992. Polyacrylamide gel electrophoresis analysis of ribosomal protein: a new approach for actinomycete taxonomy. Gene, 115: 261-265.
- Ochi, K. 1995. A taxonomic study of the genus *Streptomyces* by analysis of ribosomal protein AT-L30. International Journal of Systematic Bacteriology, 45: 507-514.
- Özakman, M., Karahan, A. and Altundağ, Ş. 1998. Patateslerde bakteriyel kahverengi çürüklük (*Ralstonia solanacerum*) hastalığının yaygınlığı üzerine çalışmalar. 8. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 21-25 Eylül, Ankara.

- Paradis, E., Goyer, C., Hodge, N. C., Hogue, R., Stall, R.E. and Beaulieu, C., 1994. Fatty acid and protein profiles of *Streptomyces scabiei* strains isolated in Eastern Canada. *International journal of Systematic Bactriology*, 44(3): 561-564.
- Park, D. H., Kim, J. S., Cho, J. M., Kwon, S. W., Hur, J. H. and Lim, C. K., 2003. Characterization of *Streptomyces* species causing potato scab in Korea: distribution, taxonomy, and pathogenicity. *Plant Pathology Journal*, 19(1): 13-18.
- Park, D.H., Kim, J.S., Kwon, S.W., Wilson, C., Yu, Y.M., Hur, J.H. and Lim, C.K. 2003. *Streptomyces luridiscabiei* sp. nov., *Streptomyces puniscabiei* sp. nov. and *Streptomyces niveiscabiei* sp. nov., which cause potato common scab disease in Korea. *International Journal of Systematic and Evoluntary Microbiology*, 53: 2049-2054.
- Pavlista, A.D. 1996. How important is common scab in seed potatoes? *American Potato Journal* 73: 275-278.
- Pridham, T. G. and Gottlieb, D., 1948. The utilization of carbon compounds by some *Actinomycetes* as an aid for species determination. *Jornal of Bacteriology*, 56: 107-114.
- Pridham, T. G., and H. G. Tresner. 1974. Genus I. *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339. *In*: R. E. Buchanan and N. E. Gibbons (Eds.). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. Williams and Wilkins. Baltimore, MD, 748-829.
- Qu, X., Wanner, L. A. and Christ, B. J., 1997. Using TxtAB operon to Quantify pathogenic *Streptomyces* in potato tubers and soil. *Bacteriology*, 98(4): 405-412.
- Redenbach, M., Flett, F., Piendl, W., Glocker, I., Rauland, U., Wafzig, O., Kliem, R., Leblond, P. and Cullum, J., 1993. The *Streptomyces lividans* 66 chromosome contains a 1MB deletogenic region flanked by two amplifiable regions. *Molecular Genetics and Genomics*, 241: 255-262.
- Ridell, M., Wallerström, G. and Williams, S. T., 1986. Immunodiffusion analyses of phenetically defined strains of *Streptomyces*, *Streptovercillium* and *Nocardiosis*. *Systematic and Applied Microbiology*, 8: 24-27.
- Ritacco, F. V., Haltli, B., Janso, J. E. and Bernan, V. S., 2003, Dereplication of *Streptomyces* soil isolates and detection of spesific biosyntetic genes using an automated ribotyping instrument. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30: 472-479.
- Rowe, R.C. 1993. Potato Health Management: A Holistic Approach. pp. 3-10 in: *PotatoHealth Management* R.C. Rowe ed., APS Press, St. Paul, MN.
- Saddler, G. S., O'Donnell, A. G., Goodfellow, M. and Minnikin, D. E., 1987. SIMCA pattern recognition in the analysis of streptomycete fatty acids. *Journal of General Microbiology*, 133: 1137-1147.
- Salamoni, S. P., Mann, M. B., Campos, F. S., Franco, A. C., Germani, J. C. and Van Der Sand, S. T. 2010. Preliminary characterization of some *Streptomyces* species isolated from a composting process and their antimicrobial potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26: 1847-1856.
- Sanglier, J. J., Whitehead, D., Saddler, G. S., Ferguson, E. V. and Goodfellow, M., 1992. Pyrolysis mass-spectrometry as a method for the classification, identification and selection of actinomycetes. *Gene*, 115: 235-242.

- Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan Y., 2006. Fitobakteriyoloji. Meta Basım ve Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, 530 s.
- Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y., 2008. Bitki Bakteri Hastalıkları. Meta Basım Mabaacılık Hizmetleri, 317 s, İstanbul
- Shin, G. Y., Kim, J. S. and Hahm, Y., 2002. Rapid identification of potato scab causing *Streptomyces* spp. using pathogenicity spesific primers. The Plant Pathology Journal, 18(6): 338-341.
- Shirling, E. B., and Gottlieb, D., 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. International Journal of Systematic Bacteriology, 16: 313–340.
- Stackebrandt, E., Rainey, F. A. and Ward-Rainey, N. L., 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 47: 479-491.
- Stackerbarandt, E., Liesack, W. And Witt, D., 1992. Ribosomal RNA and rDNA sequence analyses. Genes, 115: 255-260.
- Stead, D. and Wale, S., 2004. Non-water control measures for potato common scab. British Potato Council, 5-50.
- Stommel, J.R., Goth, R.W., Haynes, K.G. and Seong, H.K., 1996. Pepper (*Capsicum annum*) soft rot caused by *Erwinia caratovora* subsp. *atroseptica*. Plant Disease, 80,1109-1112. *Streptomyces*. Plant Disease, 81: 836-846.
- St-Onge, R., Goyer, C., Coffin, R. and Filon, M., 2008. Genetic diversity *Streptomyces* spp. causing common scab of potato in Esastern Canada. Systematic and Applied Microbiology. 31: 474-478.
- Sun, W., Huang, Y., Zhang, Y. Q. and Liu, H. Z., 2007. *Streptomyces emeiensis* sp. nov., a novel Streptomycete from soil in China. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57: 1635-1639.
- Şahin, F., 1999. Mikroorganizmaların yağ asidi profillerine göre tanısı (Microbial identification system). Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Kursu, Atatürk Üniversitesi, Biyoteknoloji Uygulama ve Ararştırma Merkezi, 66, Erzurum, Türkiye.
- Taguchi, S., Kojima, S., Miura, K. and Momose. H., 1996. Taxonomic characterisation of closely-related *Streptomyces* spp. based on the amino acid sequence analysis of protease inhibitor proteins. FEMS Microbiological Letters, 135: 169-173.
- Tahany, M. A., Khalil, M.S., Moussa, T. A. A. and A-Quaysi, S. A. A., 2012. Identification and characterization of *Streptomyces alcaliscabies* sp. nov. Journal of Food, Agriculture and Enviroment, 10(3-4): 476-483.
- Takeuchi, T., Swada, H., Tanaka, F. and Matsuda, I., 1996. Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. causing potato scab based on 16s rRNA sequences. International Journal of Systematic Bacteriology, 46(2): 476-479.
- Thwaites, R., Wale, S. J., Nelson, D., Munday, D. and Elphistone, J. G., 2009. *Streptomyces turgidiscabies* and *S. acidiscabies*: two new causal agents of common scab of potato (*Solanum tuberosum*) in the UK. New Disease reports, 20: 8.
- Tresner, H. D. and Danga, F., 1958. Hydrogen sulfide production by *Streptomyces* as a criterion for species differentiation. Journal of Bacteriology, 76(3): 239-244.
- Tripathi, B. M., Kaushik, R., Kumari, P., Saxena, A. K. and Arora, D. K. 2011. Genetic and metabolic diversity of streptomycetes in pupl and paper mill effluent treated crop fields. World Journal Microbiology and Biotechnology, 27: 1603-1613.

- Üstün, N., Ozakman, M. and Karahan, A., 2007a. First report of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanaceum* biovar 2 on tomato in Turkey. *Plant Pathology*, 57: 773.
- Üstün, N., Ozakman, M. and Karahan, A., 2007b. Occurrence of *Ralstonia solanaceum* biovar 2 on tomato, weeds and irrigation water in Turkey. Program and Abstract Book of Second International Symposium on Tomato Diseases. 8-12 October, Kusadasi, Turkey.
- Üstün, N., Ozakman, M. and Karahan, A., 2008. Outbreak of *Ralstonia solanaceum* biovar 2 causing brown rot on potato in the Aegean Region of Turkey. *Plant Disease*, 92, 973.
- Valkonen, J.P.T. 2004. Potato scab in Scandinavian countries. In *Novel Approaches to the Control of Potato Scab. Proceedings of the International Potato Scab Symposium (IPSS 2004)*, Sapporo, Japan: Hokkaido University, pp. 76-81.
- Vruggink, H. 1976. Influence of agricultural crops on the actinomycetes flora in soil. *Plant and Soil*, 44: 639-654.
- Wach, M. J., Krasnoff, S. B., Loria, R. and Gibson, M. D., 2007. Effect of carbohydrates on production of thaxtomin A by *Streptomyces acidiscabies*. *Archives of Microbiology*, 188: 81-88.
- Waksman, S. A., 1961. *The Actinomycetes*. Vol I, II. Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Wanner, L. A. 2004. Field isolates of *Streptomyces* differ in pathogenicity and virulence on radish. *Plant Disease*, 88: 785-796.
- Wanner, L. A. 2006. A survey of genetic variation in *Streptomyces* isolates causing common scab in the United States. *Plant Disease*, 96: 1363-1371
- Wanner, L. A. 2007. A new strain of *Streptomyces* causing common scab in potato. *Plant Disease*, 91(4): 352-359.
- Wanner, L. A., 2009. A patchwork of *Streptomyces* species isolated from potato common scab lesions in North America. *American Journal of Potato Research*, 86: 247-264.
- Waterer, D. 2002. Management of common scab of potato using planting and harvest dates. *Canadian Journal of Plant Science*, 82: 185-189.
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M. H., Sneath, P. H. A. and Sackin, M. J., 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Journal of General Microbiology*, 129: 1743-1813.
- Wipat, A., Wellington, E. M. H and Saunders, V. A., 1994. Monoclonal antibodies for *Streptomyces lividans* and their use for immunomagnetic capture of spores from soil. *Microbiology*, 140: 2067-2076.
- Witt, D., and Stackebrandt, E., 1990. Unification of the genera *Streptoverticillium* and *Streptomyces*, and amendment of *Streptomyces* Waksman and Henrici, 1943, 339AL. *Systematic and Applied Microbiology*, 13: 361-371.
- Xu, Ping., Li, W. J., Tang, S. K., Gao, H. Y. and Xu, L. H., 2005. *Streptomyces daliensis* sp. nov. from soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 89(1): 71-78.
- Yamazaki, M., Yamashita, T., Harada, T., Nishikiori, T., Saito, S., Shimada, N. and Fuji., A., 1992. 44-Homooligomycins a and b, new antitumor antibiotics from *Streptomyces bottropensis*. *Journal of Antibiotics*, 45(2): 171-179.
- Zadina, J., Dobias, K., Horackova, V. 1975. Resistance to *Streptomyces scabiei* (Thaxt.) Waksman et Henrici in the varieties of the world collection. *Ochrana Rostlin*, 11:195-204.

ÖZGEÇMİŞ

1981 Yılında Erzurum'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2000 Yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim Bölümün'de üniversite eğitimine başladı. 2004 Yılında aynı fakültenin bitki koruma bölümünden mezun oldu. 2005 Aralık - 2006 mayıs tarihleri arasında vatani görevini tamamladı. 2007 Yılında Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalın'da yüksek lisans eğitimine başladı. Aynı yılın aralık ayında, Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümün'de araştırma görevlisi kadrosuna atandı. 2009 Yılında yüksek lisans eğitimini tamamlayarak, doktora eğitimine başladı. Halen aynı birimdeki görevine devam etmektedir.