

## ***Lactococcus lactis* subspecies *lactis* ve *cremoris* Suşlarının Ribotyping ve Site Specific-PCR ile Moleküler Ayırımı<sup>1</sup>**

**Pervin Başaran<sup>2</sup>, Neşe Başaran<sup>3</sup>, İbrahim Çakır<sup>4</sup>**

### **Özet**

Süt endüstrisi ve çevresel kolleksiyonlardan elde edilen 25 adet *Lactococcus lactis* subspecies *lactis* ve subspecies *cremoris* suşu 16S RNA ile otomatize edilmiş ribotyping ve site-spesific PCR (S-PCR) teknikleri ile test edilmiştir. Otomatize edilmiş ribotyping ile bir adet *lactis* (2209 ve iki adet *cremoris* (BO32 ve 140) hariç suşların büyük çoğunluğu fenotipik özellikleri yönünden sınıflandırılmıştır. *L. lactis* subspecies *lactis* ve *cremoris* alt türlerinin klasik yöntemlere uygun olarak birbirinden tam ayırımı, özellikle *cremoris* alt türlerinde bulunan delesyon bölgesinden dizayn edilen bir seri site-spesific primer çiftleri (PR1, RM4, ve F3) kullanılan S-PCR yöntemi ile sağlanmış, ancak *lactis* ile gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle süt ürünleri üretiminde *lactis* ve *cremoris* alt türlerinin ayırımı için (PR1, RM4, ve F3) primerlerinin kullanıldığı S-PCR yöntemi hızlı ve duyarlı bir yöntemdir.

*Lactococcus* türlerinden *L. lactis* ssp. *lactis*, *L. lactis* ssp. *cremoris* ve *L. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* peynir, yayıkaltı, ekşi krema ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel uygulamalarda bu alt türlerden *lactis* ve *cremoris* 'i birbirinden ayırmak için konvensiyonel fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları fizyolojik karakterizasyon (örneğin pH 9.2, 40 °C veya %4 NaCl'de gelişme) ve arjininden amonyak oluşumu gibi biyokimyasal testlerdir (*cremoris* arjinini kullanamaz). Son yıllarda *Lactococcus lactis* alt türlerini birbirinden ayırmak için plazmit kesim haritaları, rRNA restriksiyon analizleri RAPD ve RFLP gibi moleküler esaslı yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu çalışmanın amacı *lactis* ve *cremoris* alt türlerinin S-PCR ve ribotyping yöntemleri kullanılarak, standart fenotipik yöntemlere göre daha hızlı ve güvenilir bir şekilde ayırabilirliğini araştırmaktır.

Araştırma sonuçlarına göre, ribotyping yöntemi *Lactococcus* spp. türlerini diğer cinslerin üyelerinden ayırmada etkili bulunmuştur. Tüm *L. lactis* alt türleri 7 kb büyüklüğünde bir

<sup>1</sup> Bu çalışma Current Microbioloy (2001) 42(1-2) 45-48'de yayınlanan "Molecular Differentiation of *Lactococcus lactis* Subspecies *lactis* and *cremoris* Strains by Ribotyping and Site Specific-PCR" adı ile yayınlanmış makalenin genişletilmiş Türkçe özetidir.

<sup>2</sup> Dr., Adnan Menderes Üniversitesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü Aydın

<sup>3</sup> MSc., Cornell University, Dept. of Food Engineering, Geneva ABD. Yazışmalardan sorumlu yazarın E-posta adresi: [nb51@cornell.edu](mailto:nb51@cornell.edu)

<sup>4</sup> MSc. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Ankara

bant oluşturmuştur. Bununla birlikte ribotyping yöntemi ile alt türleri ayırmada çok başarılı olamamıştır. Örneğin  *L. lactis* ssp. *lactis*'i *L. lactis* ssp. *cremoris* 'ten ayıramamıştır. Ribotyping yönteminin pahalı ve zaman alıcı oluşu da dikkate alındığında birbirine çok yakın alt türleri ayırmak için genotipik yöntemlerin fenotipik yöntemlerle oldukça yüksek oranda ilişkili olduğu önemlidir.