T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORMAN TOPRAĞINDAN İZOLE EDİLEN *PENİCİLLİUM* TÜRLERİ ÜZERİNDE, MORFOLOJİK, KOLONİYAL VE MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR

TUĞBA KORUR KOLANLARLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. AHMET ASAN

EDİRNE-2017

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü V.

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet ASAN
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Prof. Dr. Ahmet ASAN	
Doç. Dr. Burhan ŞEN	
Doç. Dr. Ilgaz AKATA	

Tarih: 19/06/2017

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

19/06/2017

Tuğba KORUR KOLANLARLI

Yüksek Lisans Tezi

Orman Toprağından İzole Edilen *Penicillium* Türleri üzerinde Morfolojik, Koloniyal ve Moleküler Çalışmalar

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada orman toprağından izole edilen *Penicillium* türlerinin, morfolojik, koloniyal ve moleküler yöntemlerle tespiti amaçlanmış ve *Penicillium* tür çeşitliliği incelenmiştir.

Araştırma materyali olan orman toprağı Edirne Kent Ormanından 03. Ekim. 2015 tarihinde alınmıştır. Toprak örneği 10 cm derinden aseptik şartlarda alınmış olup, *Penicillium* türlerinin izolasyonu için Waksman'ın 'Toprağı Sulandırma Yöntemi' kullanılmıştır. *Penicillium* türlerinin morfolojik ve koloniyal tanımlanması amacıyla Pitt'in '' A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000)", "The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces* (1979)'', Samson ve Ark. 'Food and Indoor Fungi (2010)'' ve çeşitli makaleler esas alınmıştır. Mikrofungusların moleküler tanısı için hizmet satın alımı yapılmış olup, hizmet alınılan firma fungusların izolasyon işlemi için Bio-Speedy™ Fungal DNA İzolasyonu Kitini kullanmıştır. PCR kiti olarak ise Bio-Speedy™ Maya ve Küf Real- Time PCR Hızlı Tespit Kiti kullanılmıştır. Elde edilen sekanslar gen bankası kullanılarak benzer sekanslarla BLAST analizi yapılmıştır.

Araştırma sonucunda *Penicillium* cinsine ait 12 tür tanımlanmıştır. Bu türler; *P. chrysogenum, P. citrinum, P. commune, P. manginii, P. ubiquetum, P. camemberti, P. sanguifluum, P. janczewskii, P. canescens, P. steckii, P. hirsutum, P. roseopurpureum*' dur.

Yıl : 2017

Sayfa Sayısı : 68

Anahtar Kelimeler : Toprak, Fungus, *Penicillium*, Sanger dizileme, ITS

Master's Thesis

Penicillium Species Which Isolated From Forest Soil; Morphological, Colonial and Molecular Studies

Trakya University Institute of Natural Sciences

Departman of Biology

ABSTRACT

In this study the *Penicillium* species, which are isolated from forest soil, are aimed to be detected with morphologically, colonial and molecülar methods and *Penicillium* species diversity is studied.

The forest soil sample was taken 10 cm deep under aseptic conditions and Waksman's ' Soil Dilution Method' was used fort he isolation of *Penicillium* species. Pitt's 'A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000)", "The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces* (1979)'', Samson and etc. 'Food and Indoor Fungi (2010), and various articles have been used for morphological and colonial identification of *Penicillium* species. The service was purchased fort he molecular diagnosis of microfngi and the company used the Bio-Speedy ™ Fungal DNA Isolation Kit for isolation of fungi. As PCR Kit, Bio-Speedy ™, Yeast and Mould Real- Time PCR Rapid detection kit was used. The obtained sequences were subjected to BLAST analysis similar sequences using the gene bank.

Twelve species belonging to the genus *Penicillium* were identified as the result of the research. These species are *P. chrysogenum, P. citrinum, P. commune, P. manginii, P. ubiquetum, P. camemberti, P. sanguifluum, P. janczewskii, P. canescens, P. steckii, P. hirsutum, P. roseopurpureum.*

Year : 2017

Number of Pages : 68

Keywords : Soil, Fungi, *Penicillium*, Sanger Sequencing Method, ITS

TEŞEKKÜRLER

Yüksek Lisans eğitimim boyunca beni yönlendiren, bilgisini benden esirgemeyen, eğitimim boyunca ufkumu açıp meslek hayatımda da ileriye taşıyan, ömrüm boyunca saygı ve sevgi ile anacağım değerli hocam Prof. Dr. Ahmet ASAN' a

Çalışmalarım süresince gerek arazi gerek laboratuvar çalışmalarımda desteğini ve tecrübesini benden esirgemeyen, karşılaştığım problemlere çözüm üreten değerli hocam Doçent Dr. Burhan ŞEN'e

Tez çalışmam boyunca, bana destek olan sevgili arkadaşım Gizem AYAN' a

Hayatım boyunca bana hep destek olan ve yapmış olduğum bu çalışmada ne zaman yorulsam kendime olan inancımı arttıran sevgili babam Birol KORUR ve ailemin diğer üyelerine,

Laboratuvar çalışmalarımda benimle birlikte zaman geçirip, benle başarılamı, başarısızlıklarımı, hayatı paylaşan sevgili eşim Mustafa Emre KOLANLARLI' ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba KORUR KOLANLARLI

İÇİNDEKİLER

DOĞRULUK BEYANI ..... **I**
ÖZET ..... **II**
ABSTRACT ..... **III**
TEŞEKKÜRLER ..... **IV**
İÇİNDEKİLER ..... **V**
SİMGELER ve KISALTMALAR ..... **VIII**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **IX**
TABLO LİSTESİ ..... **XI**
BÖLÜM 1
1.GİRİŞ **1**
BÖLÜM 2
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Toprak Mikrobiyolojisi 3
2.1.1. Toprak Mikrobiyolojisinin Tarihçesi 5
2.2. Fungusların Genel Özellikleri 7
2.3. Fungusların Ekolojik İstekleri 7
2.3.1. Sıcaklık 7
2.3.2. Nem 8
2.3.3. pH 8
2.3.4. Besin Talepleri 8
2.3.5. Oksijen 9
2.3.6. Işık 9
2.4. Araştırma Bölgesinin Coğrafik Özellikleri 9
2.4.1 Jeolojisi 9
2.4.2. Jeomorfolojisi 9
2.4.2.1.Dağlar 10
2.4.2.2.Ovalar 10
2.4.2.3. Akarsular 10

2.4.2.4. Göller ve Barajlar 10
2.4.3. İklim 10
2.4.3.1. Sıcaklık 11
2.4.3.2.Yağış 11
2.4.3.3. Güneşlenme 11
2.4.3.4. Bitki Örtüsü 11
2.5. *Penicillium* Cinsi 14
2.5.1. *Penicillium* Tarihçesi 14
2.5.2. *Penicillium* Cinsinin Makro ve Mikromorfolojisi 16
2.5.2.1. Makromorfolojik Kriterler 16
2.5.2.1.1. Büyüme Koşulları 16
2.5.2.1.2. Büyüme Oranı 17
2.5.2.1.3. Koloni Rengi 17
2.5.2.1.4. Sklerotium 17
2.5.2.1.5. Koloni Dokusu 17
2.5.2.1.5.1. Kadifemsi 17
2.5.2.1.5.2. Pamuksu 18
2.5.2.1.5.3. Fasciculate 18
2.5.2.1.5.4. Funiculose 18
2.5.2.2. Mikromorfolojik Kriterler 18
2.5.2.2.1. Dallanma Desenleri 18
2.5.2.2.1.1. Monoverticillate 18
2.5.2.2.1.2. Divaricate 18
2.5.2.2.1.3. Biverticillate 19
2.5.2.2.1.4. Tetraverticillate 19
2.5.2.2.1.5. Quaterverticillate 19
2.5.2.2.2. Konidia 19
2.5.2.2.3. Fiyalid Şekli 19
2.5.2.2.4. Stipe 19
2.5.3. *Penicillium* Cinsinin Ekonomik Önemi 20
2.5.4. *Penicillium* Cinsinin Primer ve Sekonder Metabolitleri 20
2.5.5. Moleküler Tanımlama 22

BÖLÜM 3

3. MATERYAL METOD 26
3.1. Materyal 26
3.1.1. Besiyerleri 26
3.1.2.Çözeltiler 30
3.2. Metot 31
3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması 31
3.2.2. Mikrofungusların Morfolojik Tanısı 32
3.2.3. Mikrofungusların Moleküler Tanısı 33
3.2.3.1. Fungal DNA İzolasyonu Akış Şeması 33
3.2.3.2. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması 35

BÖLÜM 4

4. SONUÇLAR 37

BÖLÜM 5

5. TARTIŞMA 53
KAYNAKLAR 59
ÖZGEÇMİŞ 68

SİMGELER DİZİNİ

AFLP	:Amplifiye Olmuş Fragmentlerin Parça Uzunluk Polimorfizmi
° C	: Santigrad Derece
C	: Karbon
c DNA	:Tamamlayıcı DNA
CYA	:Czapek Yeast Agar
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
G25N	:Gliserol Nitrate Agar
IGS	:Genler Arası Bölge
ITS	:Transkripsiyonu Yapılamayan Bölge
Km	:Kilometre
Kg	:Kilogram
LSU	:Küçük Alt Birim
m	:Metre
MEA	:Malt Extract Agar
mm	:Minimetre
µM	:Mikrometre
mL	:Mililitre
N	:Azot
O_2	:Oksijen
P	:Fosfat
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	:Rastgele Amplifiye Olmuş Polimorfik DNA
RFLP	:Restriksiyon Fragmentlerinin Uzunluk Polimorfizmi
RNA	:Ribo Nükleik Asit
r RNA	:Ribozomal RNA
SSU	:Büyük Alt Birim
YES	:Yeast Extract Agar
yy	:Yüzyıl

ŞEKİLLER

Şekil 4.1. *P. chrysogenum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P.chrysogenum* mikroskobik görüntüsü……..…….39

Şekil 4.2. *P. citrinum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. citrinum* mikroskobik görüntüsü……40

Şekil 4.3. *P.commune* A. CYA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C' 7 günlük koloni morfolojisi D. MEA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi E. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. . G25N 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi……..42

Şekil 4.4. *P.manginii* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. manginii* mikroskobik görüntüsü……43

Şekil 4.5. *P. ubiquetum* A. CYA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi C. MEA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. MEA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi E. G25N besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. CSN besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi……44

Şekil 4.6. *P.camemberti* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25ºC' de 7 günlük ters koloni morfolojisi F. *P. camemberti* mikroskobik görüntüsü……...45

Şekil 4.7. *Psanguifluum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25ºC' de 7 günlük ters koloni morfolojisi F. *P. sanguifluum* mikroskobik görüntüsü……...…46
Şekil 4.8. *P.janczewskii*. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25º C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi F. *P. janczewski* mikroskobik görüntüsü…….48
Şekil 4.9. *Penicillium canescens* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. canescens* mikroskobik görüntüsü……49
Şekil 4.10. *Penicillium steckii* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. steckii* mikroskobik görüntüsü……..50
Şekil 4.11. *Penicillium hirsutum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. hirsutum* mikroskobik görüntüsü……..51
Şekil 4.12. *Penicillium roseopurpureum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. roseopurpureum* mikroskobik görüntüsü…….52

TABLOLAR

Tablo 2. 1. 2015 Yılı Ekim Ayı Hava Durumu 13
Tablo 3. 1. DG18 Besiyeri Bileşenleri 26
Tablo 3. 2. Czapek Yeast Agar Bileşenleri 27
Tablo 3. 3. 25% Glycerol Nitrate Agar Bileşenleri 27
Tablo 3. 4. Neutral Creatine Sucrose Agar Bileşenleri 28
Tablo 3. 5. Malt Extract Agar Bileşenleri 29
Tablo 3. 6. Potato Dextrose Agar Bileşenleri 29
Tablo 3. 7. Yeast Extract Sucrose Agar Bileşenleri 30
Tablo 3. 8. Czapek Konsantresi Bileşenleri 30
Tablo 3. 9. Creatine Sucroze Konsatresi Bileşenleri 31
Tablo 3.10. Laktofenol Çözeltisi Bileşenleri 31
Tablo 3.11. Protokolde Geçen Kimyasal İçerikleri 34
Tablo 3.12. PCR Kurulumu İiçin Gereken Bileşenler ve Miktarları (1 Reaksiyon İçin) 35
Tablo 3.13. Real Time PCR Programı (ITS) 35
Tablo 4.1. Karşılaştırmalı moleküler ve morfolojik teşhisler……37

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Funguslar çok hücreli, heterotrofik, ökaryotik, klorofil içermeyen, yapısı kitinden oluşan hücre duvarı ile çevrili, spor taşıyan organizmalardır. Mantarların morfolojik, fizyolojik ve genetik özellikleri onları eşsiz organizmalar yapar. Funguslar katı maddeleri hücre duvarlarından absorbe etmek için kullanılabilir hale getiren enzimleri salgılama yeteneğindedirler. Karbon kaynaklarını kullanma becerileri büyük ölçüde değişiklik gösterir. Mantarlar dünyada yaygın olarak bulunur ve rüzgar sıcaklık ve hava kirliliği gibi çeşitli faktörlerden etkilendikleri gösterilmiştir. Ayrıca bir mevsimden diğerine türleri ve miktarları değişiklik gösterir [1].

Toprak kozmopolit bir sistemdir ve mantarlar toprak mikrobiyolojisinin önemli bileşenleridir. Fungusların topraktaki rolü son derece kompleks bir konu olup toprak mikrobiyolojisinin temelini oluşturur. Birçok fungus saprofit olarak ölü organik maddelerin üzerinde bulunur ve toprakta bulunan bitki kalıntılarının ve diğer organik maddelerin en önemli ayrıştıtıcıları olarak kabul edilirler [2].

Penicillium cinsi; toprak, bitki örtüsü, hava, kapalı alan ve gıda ürünleri gibi çeşitli habitatlarda ortaya çıkan ve yaygın olarak bilinen mantar cinslerinden biridir. Dünya çapında yayılım gösterip, insan yaşamı üzerinde büyük ekonomik etkiye sahiptir ve doğadaki temel işlevi organik materyalin parçalanmasıdır. Çeşitli mikotoksinleri üretebilme yeteneğindedirler. Bazı türlerden; fermante sucuk, Gordonzola ve Rokfor peyniri gibi bazı ürünlerin üretimi için faydalanılır. Bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılan penisilini üretebilme yeteneğine sahiptirler. Cinsin üyeleri; antibiyotik, anti-tümoral, anti-fungal, anti-viral bileşiklerin üretimi ve bunların yanı sıra hücre dışı enzimlerin üretiminde kullanımları nedeniyle ticari ve endüstriyel önemlerini her daim

korurlar. Bugüne kadar *Penicillium* cinsinin 250 den fazla türü kapsadığı bildirilmiştir [3,4].

Mantar türlerini tanımlamak amacıyla mikologlar tarafından farklı konseptler kullanılmıştır. Morfolojik kavram klasik yaklaşımdır. Bu yaklaşıma göre türler, morfolojik özelliklere ve ideal olarak aralarındaki farklara göre tanımlanır. *Penicillium* türlerinin genetik çeşitliliği; rastgele çoğaltılmış Polimorfik DNA' nın yanı sıra DNA' nın ITS (Transkripsiyonu yapılamayan bölgeler) bölgesinin sekanslama ve Restriksiyon Fragmentlerinin Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ile de incelenmektedir. Ribozomal RNA bölgeleri fungal genomların filogenetik çalışmalarında kullanılmıştır. Bu bölgeler korunmuş bölgeler olup PCR amplifikasyonu kullanılarak kolaylıkla incelenebilir. DNA' nın çeşitli bölgelerinden ITS (transkripsiyonu yapılamayan bölgeler) ve IGS (ara bölgeler) popülasyonların ve türlerin arasındaki farklılıkları göstermektedir [5,6].

Bu çalışmada orman toprağından *Penicillium* türlerinin izole edilmesi ve izole edilen türlerin morfolojik, koloniyal ve moleküler yöntemler ile tanımlanması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

Mantarlar çok hücreli, ökaryotik canlılardır. Hücreleri dallanmış iplikler şeklinde olup, bunlara hif veya misel adı verilir. Hifler bir araya gelerek miselyum adı verilen yapıyı oluştururlar. Hücre çeperi genellikle selüloz olmayıp içinde azot bulunan polisakkarit türevi olan kitindir. Funguslar saprofit veya parazitiktirler. Saprofit mantarların çoğu besinlerini oluşturan substratların üzerine sindirim enzimi salgılayıp rizoid veya haustorium adı verilen yapılar ile besinlerini absorbe ederler. Parazitik mantarlar hücre dışı sindirim yapabilir veya üzerinde yaşadıkları canlıların oluşturdukları besinleri doğrudan absorbe edebilme kabiliyetindedirler. Fungusların protein sekans analizleri, biyosentetik yollar, sitokrom sistemleri, mitakondriyal genetik materyali, biyokimyasal ve yapısal hücresel özellikler, glikoproteinler, beslenme şekli ve besleyici materyallerin depolanması, hif duvarının kimyasal yapısı, ribozomal RNA ile yapılmış olan çalışmalar fungusların bitkilerden çok hayvanlara yakın olduğunu göstermiştir. Dünya üzerinde 1.5 milyar mantar türü olduğu düşünülmektedir ve bugüne kadar yalnızca 70.000 tanesi tanımlanabilmiştir [7,8,9].

2.1.Toprak Mikrobiyolojisi

Funguslar insan hayatında önemli rol oynamaktadır. Doğada enzim, organik asit, antibiyotik, protein, vitamin üretimi ve bozulan organik maddenin parçalanması gibi çeşitli rolleri vardır. Mikrofunguslar toprak, atmosfer, bitki tohum su gibi ortamlarda görülürler. Toprak bu ortamlar arasında nem, pH, organik madde, sıcaklık gibi mantarların ekolojik isteklerine en uygun ekosistem olduğu için funguslar en iyi gelişimi toprakta gösterirler [10].

Fungusların topraktaki rolü son derece karmaşık bir konudur ve toprak ekosisteminin temelini oluşturur. Mantarlar, toprak derinliği ve besin maddesine bağlı olarak bakteri türüne göre toprak biyokütlesinde daha çok bulunarak toprak mikrobiyolojisinin önemli bir bileşenini oluştururlar. Toprak çeşitli; saprofit, parazitik ve antogonistik mantar türlerinin büyümesi için doğal ortam oluşturur. Orman toprakları besin değeri açısından zenginlik gösterir ve toprakla ilişkili mantarlar besin madde döngüsünde rol oynarlar. Saprofit mantarlar odunsu artık ve yaprak çöplerinin ayrışması için gerekli olan enzimleri üretebilme yeteneğine sahiptirler. Saprofit funguslar selüloz, lignin gibi bitki yapısındaki polimerlerin ayrışmasında rol aldıklarından küresel karbon döngüsünde rol gösterirler. Bu durum da toprak yapısı ve verimliliğinin gelişimine yardımcı olur [11,12].

Funguslar % 40-45 karbonu kullanma yeteneğine sahiptirler ve bakterilere kıyasla daha fazla karbon (C) depolar ve geri dönüştürürler. Mantarlar bitkilere hem azot (N) hem fosfot (P)' un geri dönüştürülmesinde yardımcı olurlar. Farklı mantar grupları farklı karbon kaynaklarını kullanırlar ve çok az organik karbon toprakta kalır [13,14].

Mikrobiyal topluluklar; bitki türlerinin kompozisyonu, toprağın tipi, sulardaki mevsimsel değişimler, sıcaklık ve organik maddelerin kullanılabilirliği ile kontrol edilir. Topraktaki mikrofungal toplulukların türleri, bitki örtüsünden etkilenirler. Kompleks bitki örtüsü, farklı mantar türlerinin bir arada yaşamasına imkan sağlar. Topoğrafya mantar popülasyonlarının toprak içindeki miktar, çeşitlilik ve dağılım modelini etkilerken; habitatı yok etme, kent gelişimi, sanayileşme, tarım, kirlilik ve böcek ilacı kullanımı gibi insan faaliyetleri, toprak mantar çeşitliliğini potansiyel olarak etkileyebilir [15,12].

Ormanlar, biyojeokimyasal döngüleri yönlendiren ve önemli, karasal biyokütleyi karmaşık hale getiren bazı mikrobiyal topluluklara ev sahipliği yapar. Mantarlar; ayrıştırıcılar, mutualistler veya patojenler olarak ekolojik rolleri sayesinde organik madde parçalanmasında ve bitki beslenmesine aracılık etmekle toprak mikrobiyolojisinde önemli rol oynarlar. Toprak mantarlarının orman sağlığı ve üretkenliğinde oynadığı önemli rolü göz önünde bulundurarak çeşitliliklerini ve bileşimlerini sınıflandırmak ve bu faktörlerin biyotik ve abiyotik faktörlere göre nasıl değiştiğini anlamak önem arz eder [16,17].

Toprak mikroorganizmalarının yararlı etkileri, azot fiksasyonu ve organik madde ayrışımından metabolik yan ürünlerin ve zirai kimyasalların parçalanmasına, nitrat, sülfat, fosfat ve temel maddelerin biyo elverişliliğinin arttırılmasına kadar çeşitlilik gösterir. Buna ek olarak önemli miktarda toprak mantarı eczacılık, tarım ve endüstride faydalı biyoaktif bileşikler üretirler ancak bazı mantarlar hayvan ve bitki hastalıklarına neden olabilirler. Toprak mantarlarıyla ilgili çalışmalar, çok amaçlı yapılmaktadır. Toprak mantarları endüstriyel mikrobiyolojide kullanılabilir, bu nedenle yeni türlerin bulunması ve mantarların endüstriyel özelliklerinin belirlenmesi önemlidir. Öte yandan, bazı toprak mikrofungusları bitkilerde ciddi verim kayıplarına neden olur [11,14].

2.1.1. Toprak Mikrobiyolojisinin Tarihçesi

Mikrobiyal ekoloji, daha spesifik olarak toprak mikrobiyolojisi dinamikte büyümekte olan toprak biliminin alt disiplinidir. Pasteur' un spontan generasyon teorisi ile yaptığı deney tartışmaları sonlandırmış, Robert Koch' ta ünlü önermeleri ile mikrobiyolojinin gelişmesine dolayısıyla toprak mikrobiyolojisi gibi yeni bilim dallarının ortaya çıkmasına neden olmuştur [18,19].

Mikroskobun Antonie Van Leeuwenhook (1623-1723) tarafından keşfedilmesinden bu yana toprakta bir canlı topluluğunun olduğu bilinmektedir. 18. yy' da bazı mikrobiyologlar organik maddelerin toprakta mikroorganizmalar tarafından ayrıştırıldığından bahsetmişlerdir. 19.yy' da Fransa' da Louis Pasteur mikroorganizmaların bitki ve hayvanların yaşam döngüsüne karıştığını bildirmiştir. Toprak mikrobiyolojisinde ilk ve önemli keşif 1862 yılında Pasteur' ün nitrifikasyon olayının toprak bakterileri tarafından olduğunun keşfidir. Winogradsky, nitrifikasyonun iki aşamalı bir olay olduğunu tespit etmiştir. Ardından bu bakterileri izole etmeyi başarmıştır. Winogradsky yapmış olduğu çalışmalardan dolayı birçok bilim insanı tarafından mikrobiyolojinin babası olarak kabul edilir. M. Woronin baklagil kök yumrusunda bakterilerin bulunduğunu saptamıştır. 1888'de Hellrigal ve Willfahrt baklagil köklerine bakterilerin topraktan bulaştığını, köklerde nodül oluşumuna sebep olduklarını ve atmosferdeki azotu fikse ettiklerini bildirmişlerdir. Canon 1895 yılında hastalık yapan mikroorganizmaların tıpta ne kadar önemi varsa; toprak mikroorganizmalarınında toprak bilimi için o kadar önemli olduğunu vurgulamıştır.

1902 yılında Omelianski toprak mikroorganizmalarının selüloz ayrıştırma özelliklerini bulmuşlardır. Toprak mantarlarının araştırılması Adametz'in bazı türleri izole ettiği 1886' ya kadar uzanır. Adametz 11 küf türü izole ederek biyokimyasal araştırmalar yapmıştır. Bu yüzyılın ilk dönemlerinde humus oluşumu ve toprak verimliliği soruları üzerinde durulup öncelikle incelenmiştir [20, 19, 21].

20. yy başlarında Lipman toprağın yaşayan bir varlık olarak ele alınması gerektiğini ve toprak verimliliği ile bitki üretiminde mikroorganizmaların önemini kanıtlamıştır. Bu durum toprak mikrobiyolojisinin dönüm noktasıdır. 1925- 1950 yılları arasında toprak mikrobiyolojisinin temelini iki önemli kitap oluşturur. Bunlar Selman Waksman' ın 'Principles of Soil Microbiology' ve 'The Soil and The Microbe' tur. 1961-1971 yılları arasında Alexander 'Introduction of Soil Microbiology ' kitabını yazdı. 1960 sonrası mikrobiyolojinin gelişimi ile birlikte; 1965-1975 yılları arasında toprak mantarlarının çeşitliliğinde ilerleme kaydedilmiştir [19,22].

Daha sonraki yıllarda toprak mikrobiyolojisinde yazılan önemli eserler; Soil Organisms and Plant Growth (1999, Subba Rao), Soil Ecology (1994, Killham), Soil Biotechnology (1983, Lynch), Soil Microbial Ecology (1992, Metting ve ark.), Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry (1995, Alef ve Nannipieri), Modern Soil Biology (1997, Van Elsas ve ark.), Principles and Aplications of Soil Microbiology (2005, Sylvia ve ark.), Mycorhizal Symbiosis (1983, Harley ve Smith), The Biology of Soil: A Community and Ecosystem Approach (2005, Bardgett), Biological Diversity and Function in Soils (2005, Bardgett ve ark.) ve Sustaining Biodiversity and Ecosystem Services in Soils and Sediments (2004, Wall)' tir [19].

Türkiye' de toprak mikrobiyolojisi konusunda yapılan ilk çalışmalar 1970 yılından itibaren Öner tarafından yapılmıştı. 1982 yılından itibaren Hasenekoğlu ve arkadaşları toprak mikrobiyolojisi üzerine çalışmalar yaptı. Türkiye'de çalışmalar Kuzeydoğu Anadolu'da yoğunlaşmıştır (Hasenekoğlu, 1982; Hasenekoğlu & Azaz, 1991; Hasenekoğlu & Sülün, 1991; Sülün & Hasenekoğlu,1993), İzmir ve çevresinde (Ekmekçi, 1974,1975; Asan & Ekmek, 1994; Öner, 1974) ve Trakyada Ahmet ASAN çeşitli çalışmalar yapmıştır [22,23,24].

2.2. Fungusların Genel Özellikleri

Küfler çok hücreli mikroorganizmalardır. Funguslar klorofil içermezler ve bundan dolayı fotosentez yapma yetenekleri yoktur. Parazitik, saprofit ve kommensal yaşam biçimlerini gösterebilirler. Hif adı verilen iplik şeklinde yapılardan oluşmuşlardır. Hifler septalı veya septasız olabilir. Bölmeli hiflerde besin ve su geçişi için por adı verilen açıklıklar bulunur. Fungusların beslenmesinde hifler büyük önem taşırlar ve bitki üzerinde yaşayan parazitik funguslar emeç adı verilen hiflerini bitkilerin ksilem ve floem borularına kadar ulaştırıp buradan su, mineral ve fotosentez ürünlerini absorblarlar. Fungusların hücreleri etrafında hücre çeperi vardır. Hücre çeperinin yapısı kitin, selüloz veya ikisinin karışımı formda olabilir. Ancak gelişmiş türlerde hücre çeperi kitin yapısındadır. Fungal sporlar üremede çok önemli olmakla beraber fungal taksonomi için de önem arz ederler. Fungal spor küçük, hareketli (planospor) veya hareketsiz (aplanospor); tek veya çok hücreli, şekil ölçü ve renkleri farklı, üreme veya organizmayı canlı tutmaya yarayan yapılardır. Bir hiften veya spor üreten hücreden çıkıp, uygun ortamda çimlenip yeni birey oluşturma kabiliyetindedirler. Fungal sporun rengi, şekli, yüzeyi (pürüzlü olup olmaması) taksonomide önem arz eder ve teşhiste değerli bilgiler sunar [25].

2.3. Fungusların Ekolojik İstekleri

Mantarlarda diğer canılar gibi gelişme bakımından çevre koşullarından etkilenirler. Mantarların gelişimi; sıcaklık, su, rutubet, oksijen miktarı, karbondioksit miktarı, asitlik-alkalilik, hava basıncı, ışık ve ışıma (radyasyon) gibi faktörlerle ilgilidir [26].

2.3.1. Sıcaklık

Sıcaklık ve nem tüm organizmaları etkileyen çevresel faktörlerdir ve hayatta kalmalarını, büyümelerini ve çoğalmalarını etkiler. Fungusların hayat faaliyetleri 0-5°C' de başlar ve 20-30°C'de maksimum yüksekliğe ulaşır. Daha yüksek sıcaklıklarda hayatsal faaliyetler düşüş gösterir [26,27].

2.3.2. Nem

Fungusların optimal gelişimi için bağıl hava nemi %85- %90 arasında olmalıdır. *Aspergillus* ve *Penicillium* spp. Nem içeriği % 14' ten fazla olduğunda depolanan ürünlerde çoğalırlar [26,27].

2.3.3. pH

Fungusların hücre zarındaki iyon alışverişi, enzim etkinliği gibi metabolizma olayları ortam pH'sından etkilenir. Fungusların pH toleransı pH 2-9 arasıdır. Bu pH aralığında gelişebilirler. Birçok mantar asitli ortamda daha iyi üreyebilir ancak en ideal üreme pH'sı 6.8-7' dir. Fungusların asitli ortamda büyüyebilme yeteneklerinden; karışık floraya ait örneklerde besiyerinin asiditesi arttırılarak bakterilerin üremesi inhibe ettirilir. Funguslar kültür ortamında yetiştirildiklerinde, substratın pH'sını değiştirirler. Bu pH değişimi substratın bileşimine ve genetiğe bağlıdır [27,28].

2.3.4. Besin Talepleri

Mantarlar çok çeşitli bileşikleri karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilme kabiliyetindedirler. Kullanamadıkları tek organik molekül metan' dır. Mantarların en çok yararlandığı enerji kaynağı bitkisel kökenli karbonhidratlardır. Mantarların sahip olduğu sindirim enzimleri, hangi substratın besin olarak kullanılacağını belirler [29].

Karbon, azot, fosfor, potasyum ve magnezyum gibi makro elementler mantar gelişimi için gerekli olmakla birlikte; demir, çinko, bakır, manganez ve mobildenum gibi mikro elementlerde mantarlar tarafından talep edilebilir [26].

Mantarların karbona olan ihtiyaçları diğer besin maddelerinden daha fazla olmakla birlikte azot kaynağıda gelişim için sağlanmalıdır. Doğada organik maddeler büyüme için ihtiyaç duyulan azotu mantara sağlar; bununla birlikte birçok mantar inorganik azotuda kullanabilir. İnorganik nitrojen üzerindeki büyüme aminoasitlerden veya kompleks bir organik azot kaynağı üzerindeki büyümeye oranla daha az olur [27].

Mantarların amonyum tuzları gibi inorganik veya aminoasitler gibi organik formdaki azotlu bileşikler ile beslenmesi gerekir. Fungal büyüme ortamında aynı zamanda sülfür kaynağıda sağladığından, Amonyum sülfat, fungal büyümede sıklıkla kullanılan azot kaynağıdır. Birçok mantar azot kaynağı olarak aminoasit, amin ve amidleri özümseyebilir [30].

2.3.5. Oksijen

O_2 gereksinimleri açısından çoğu mantar aerob olup, genellikle mikroaerofiliktir. Ancak bazı türler etanol ve organik ait oluşturur ve anaerobik şartlar altında gelişebilirler. Oksijen varlığı büyümenin yanısıra mikotoksin oluşumunuda etkileyen bir faktördür [30,31].

2.3.6. Işık

Fungusların büyüyüp gelişimi mutlak karanlıkta olur ve bu bakımdan ışığa ihtiyaçlarının olmadığı bilinmekle birlikte üreme yapısı oluşumunda ışığın gerekli olduğu hatta kısa dalga boylu ışınların gerekli olduğu bilinmektedir. Funguslarda ultraviyole ışınlara uzun süre maruz kalma, misel ve sporun ölümüne sebep olur. Öldürmeye yeterli olmayan ultraviyole ışın yoğunlukları canlı kalan mantarlarda mutasyona sebep olmaktadır [26].

2.4. Araştırma Bölgesinin Genel Özellikleri

Edirne ili Marmara Bölgesinin Trakya kısmında yer alır ve Türkiye' nin Avrupa yakasındaki en büyük ikinci şehridir. Doğusunda Kırklareli ve Tekirdağ, güneydoğusunda Çanakkale, batısında Yunanistan, kuzeybatısında Bulgaristan, güneyinde Ege Denizi bulunur. Edirne'nin rakımı 41 m'dir. Edirne il toprakları 48º 30′ ve 42º 00′ kuzey enlemleri ile 26º 00′ ve 27º 00′ doğu boylamları arasındadır [32].

2.4.1. Jeolojisi

Edirne'nin jeolojik yapısı Paleolitik birinci zamana ait Istranca Dağları'nın billuri kayalık yapılaşmasından meydana gelmiştir [32].

2.4.2. Jeomorfolojisi

Edirne il toprakları geniş düzlükler ve basık tepelerden meydana gelmektedir. Topraklarının %78'ini platolar, %5'ini dağ ve yaylalar, % 17'sini ise ovalar oluşturur. Kuzeyinde Istranca dağları, güneyinde Koru Dağları ve Ege Denizi, batısında Meriç Nehri ve Meriç Ovası, doğusunda ise Ergene Ovası vardır. Bulgaristan ile 88 km'lik sınırı olan ilin Meriç Irmağı ile 204 km uzunluğunda sınırı vardır [32].

İlin önemli akarsularından olan Meriç, Tunca, Arda ve Ergene nehirlerinin debileri yoğun yağışlar sebebiyle Mart ve Nisan aylarında maximum seviyeye ulaşır. Yaz aylarında yağışların azalmasıyla normal debilerine ulaşırlar. Edirne ilinde akarsuların dışındaki yüzey suları; doğal göller, barajlar ve göller oluşturur [32].

2.4.2.1. Dağlar

Edirne ilinde Istranca Dağları, Koru Dağları, Uzunköprü Dağları ve Çandır Dağları olmak üzere dört ana dağ vardır. Bu dağlar arasında en yüksek yer 720 m ile Koru Dağ Yerli Su Tepesi'dir. Dağlar orman ve fundalık alanlarla kaplıdır [32].

2.4.2.2. Ovalar

Alüvyon bakımından zengin olan Kazanova ve Tunca Ovaları en verimli ovalardır. Ancak fosfor bakımından fakir ovalardır. Bunun sebebi organik madde oranının çok düşük kil oranının ise yüksek oluşudur [32].

2.4.2.3. Akarsular

Edirne akarsu bakımından zengin bir ildir, ancak akarsu rejimlerinde düzensizlik görülür. İlkbahar ve sonbahar aylarında taşkınlar görülebilir. Başlıca akarsuları Meriç Nehri, Arda Nehri, Tunca Nehri, Ergene Nehri'dir [32].

2.4.2.4. Göller ve Barajlar

Başlıca göller; Gala Gölü, Dalyan Gölü, Taşaltı Gölü, Tuzla Gölü, Böcürmene Gölü, Sığırcık Gölü ve Pamuklu Gölleridir [32].

Başlıca barajlar; Altınyazı Barajı, Kadıköy Barajı, Alıç Regülatörü, Sultanköy Barajı, Süloğlu Barajı'dır [32].

2.4.3. İklim

Edirne ilinin içerisinde bulunduğu bölge Karadeniz, Ege ve Marmara denizlerinin etkileriyle vakit vakit ve yer yer farklı iklim özellikleri gösterebilir; ancak yükseltinin az olmasından kaynaklı Karadeniz ikliminin etkisi veya Ege Denizine kıyısının olmasına rağmen karasal iklimin yaşandığı bölgedir. Edirne'de kışlar sert ve kar yağışlı yazlar ise kurak ve sıcak geçer [32,33].

Akdeniz iklimi kendisini gösterdiği zaman kışlar, ılık ve yağışlı; karasal iklim kendisini gösterdiği zaman kışlar çok soğuk ve yağışlı geçmektedir. Sıcaklığın en yüksek olduğu aylar Temmuz ve Ağustos aylarıdır. Sıcaklığın en düşük olduğu aylar ise Ocak ve Şubat aylarıdır [32,34].

2.4.3.1. Sıcaklık

Edirne ilinin ortalama sıcaklığı 13.5º C' dir. Edirne ilinin ilkbaharda 19,3º C, yaz'ın 25,5º C, sonbaharda 12º C, kış aylarında ise 7,9º C sıcaklık ortalaması vardır. Sıcaklığın en yüksek olduğu aylar Temmuz ve Ağustos, en düşük olduğu aylar ise Ocak ve Şubattır. Araştırma örneklerinin alındığı 2015 senesi Ekim ayında en yüksek sıcaklık 26. 6 º C ve en düşük sıcaklık 3. 4 º C' dir [32, 34, 35].

2.4.3.2. Yağış

Edirne ilinin ölçümler sonucu elde edilen yıllık ortalama yağış miktarı 603.5 $mm^{3'}$ tür. Edirne iline en çok yağış Kasım, Aralık ve Ocak aylarında düşmektedir. Haziran, Temmuz ve Ağustos Aylarında ise toplam 107,4 mm^3 yağış düşer. Örneklerin alındığı 2015 senesi Ekim ayında toplam yağış miktarı 88,9 kg/m^2'dir. [35].

2.4.3.3. Güneşlenme

Edirne ilinin güneşlenme süresi ortalama 6. 5 saat/gün' dür [36].

2.4.4. Bitki Örtüsü

Edirne ili bitki örtüsü iklim özellikleri, toprak yapısı ve çevre etkenlerine bağlı olarak çeşitlilik gösterir. İl topraklarının %47' si tarım toprağı, %13' ü ağaçlık ve ormanlık, % 34' ü çayır ve otlak , %6' sı ise ürün vermeyen topraklardan oluşur. Meriç havzası ele alındığı zaman bitki örtüsü, havzanın iklim, toprak ve rölyef gibi çevre şartlarına uygunluk gösterir. Havza kışın daha fazla yağış alır ve yazın yağışlar azalır. Bu yüzden bitkilerin gelişim evrelerinin ilk aylarında, yaşanan su sıkıntısı, kış aylarında toprakta birikmiş nemden karşılanır. Havzadaki nispi nem miktarı oldukça yüksektir. Bu durum havza bitki örtüsü üzerinde olumlu bir etki yaparken, rüzgar bitki gelişimini arttırıcı nitelikte değildir. Ergene havzasının etrafı dağlarla çevrili olduğundan etrafındaki arazilere göre daha az yağış alır. Sırtlar ve tahrip görmemiş tepeler meşe

ağaçları ile kaplıdır. Ergene havzası antropojen step sahasıdır ve ağaçlardan yoksundur. Tüylü meşe, Macar meşesi, Mazı meşesi, Karaağaç ve Karaçalı gibi kuru orman grubuna ait türler bulunur. Meriç havzası ise kuru ormanlar, antropojen step, maki-psödomaki'ye ait türleri bünyesinde bulundurur. Meriç nehri akarsu boyunca söğüt ve kavak türlerine rastlanır [32].

Karaağaç bölgesi ele alındığında oksijen üreten doğal yaşamın tam anlamıyla hüküm sürdüğü bir yerdir. Bölgede asırlık çınar ağaçları ve seyrek olsada iğne yapraklı ağaçlar vardır [32].

Edirne Kent Ormanının büyüklüğü 29.6 hektar' dır. Kent ormanı Karaağaç yolu üzerinde ve Meriç nehri kıyısında bulunmaktadır. Burada bulunan ağaç türleri Aksöğüt, Saplı Meyveli Karaağaç, Ova Karaağacı, Dişbudak Yapraklı Akçaağaç, Erguvan, Titrek Kavak, Yabani Erik, Armut, Muşmula' dır [37].

Tablo 2. 1. 2015 Yılı Ekim Ayı Hava Durumu

GÜN	HAVA DURUMU	ORT SIC (C)	MİN SIC (C)	MAX SIC (C)	MAX RÜZ.Y ÖN	MAX RÜZ. HIZI (M/SN)	KAR YÜKS. (CM)	TOP YAĞIŞ ($kg/m^{2)}$	ORT NEM (%)
1	Çok bulutlu	13,5	9,0	17,1	NE	7,8	-	-	69,7
2	Çok bulutlu	15,6	12,0	21,4	WSW	6,9	-	-	68,1
3	Açık	17,0	9,8	24,9	NNE	3,8	-	-	72,3
4	Parçalı bulutlu	11,7	10,5	26,6	S	4,3	-	-	76,2
5	Çok bulutlu	18,0	11,8	25,4	N	3,9	-	-	76,8
6	Sağanak Yağışlı	18,4	15,3	24,8	W	6,0	-	16,8	81,9
7	Çok bulutlu	18,2	12,5	24,6	ENE	6,2	-	0,2	76,4
8	Çok bulutlu	16,3	16,0	19,9	E	6,8	-	-	70,3
9	Çok bulutlu	14,9	12,9	17,5	N	4,6	-	-	86,0
10	Sağanak Yağışlı	16,7	12,6	21,7	SE	5,8	-	0,0	82,3
11	Sağanak Yağışlı	16,0	13,8	17,7	WSW	8,5	-	2,7	96,3
12	Sağanak Yağışlı,Sisli	15,7	16,0	19,7	NNW	7,1	-	9,0	93,4
13	Parçalı bulutlu	13,1	9,1	19,3	N	8,2	-	4,5	77,8
14	Parçalı bulutlu	14,7	9,3	21,0	NNW	4,6	-	-	77,2
15	Çok bulutlu	15,9	12,0	23,3	ENE	6,3	-	-	73,8
16	Çok bulutlu	15,5	9,8	20,1	E	5,8	-	-	77,7
17	Çok bulutlu	16,4	14,1	20,9	WSW	4,3	-	-	81,6
18	Parçalı bulutlu	15,5	10,0	21,8	SSE	4,1	-	-	81,8
19	Çok bulutlu	16,3	12,9	20,2	SE	4,8	-	-	80,8
20	Sisli	16,7	13,4	23,4	SE	4,7	-	-	87,0
21	Sağanak Yağışlı	12,0	12,6	12,6	NNW	7,0	-		90,1
22	Sağanak Yağışlı	12,6	11,1	14,3	NE	9,0	-	8,8	91,0
23	Sağanak Yağışlı	10,9	10,6	11,8	NNE	13,8	-	29,0	88,9
24	Sağanak Yağışlı	10,6	9,4	15,5	NNW	8,6	-	17,8	86,0
25	Az Bulutlu	11,0	5,2	19,2	NNE	5,0	-	0,1	76,4
26	Az Bulutlu	10,5	3,4	18,9	NNE	3,5	-	-	79,6
27	Çok bulutlu	11,1	6,7	17,7	N	6,4	-	-	80,3
28	Az bulutlu	10,9	4,9	17,1	NNW	6,8	-	-	70,5
29	Parçalı bulutlu	10,7	5,0	18,2	ENE	5,6	-	-	72,4
30	Parçalı bulutlu	11,1	6,7	16,7	NNE	9,2	-	-	79,5
31	Az Bulutlu	10,2	6,3	15,3	NNE	11,7		-	69,3
A.Top.								88,9	
A.Ort.		14,3	10,5	19,6	-	6,5	-	-	79,7
A.Max		18,4	-	26,6	NNE	13,8	-	29,0	96,3
A.Min		10,2	3,4	-	-	-	-	-	68,1

2.5. *Penicillium* Cinsi

Penicillium adını Latince küçük fırça anlamına gelen 'penisillus' kelimesinden alır. *Penicillium* türleri doğada her yerde yaygın olarak bulunur. Küçük, dirençli ve hafif konidiası hayatta kalmayı ve geniş bir yayılım göstermesini sağlar. *Penicillium* cinsinin topraktan evrimleştiği düşünülmektedir ve bilinen türlerin birçoğu bu yaşam alanından izole edilmiştir. Organik maddenin parçalanmasından esas olarak sorumludurlar ve toprakta bulunan diğer organizmalarla birlikte azot verimliliğinin korunmasına yardımcı olur. Bazı türler toprakta yetişirken, bazıları daha kuru ortamda yetişir, bazıları çürüyen bitki örtüsünü seçer, bazıları tohum odun gibi kuru habitatlarda yetişir. Onlar biyolojik materyalin bozulma sürecindeki önemli ajanlardır [38, 39, 40].

Penicillium cinsi çeşitli yollarla insanla etkileşim kurmaktadır. Bazı türler insan kaynaklı her türlü malın bozulmasına neden olur, bazı türler meyveleri çürütür veya yiyecekleri bozar, bazıları mikotoksin üretir. Birkaç tanesi penisilin adı verilen antibiyotiği üreterek insan hayatına direkt fayda sağlar ki bu antibiyotiğin bulaşıcı hastalık kontrolüne önemli etkisi vardır. Bazı birkaç tür gıda üretiminde doğrudan yer almaktadır. Geçmiş yıllarda *Penicillium* türlerinin rolü tespit edilmiştir. Çeşitli diğer *Penicillium* türlerinin enfeksiyonlara neden olduğu bulunmuştur [40].

Bu cinsin önem ve çeşitliliği türlerin tanımlanmasının incelikle yapılmasını gerektirmektedir. Ekolojik ilişkilerini anlamak, zararlarını azaltmak, patojenite ve yararlılık potansiyellerinden yararlanmak için doğru tür tanımlamalarına önem verilmelidir [40].

Penicillium türleri Ascomycota filumuna aittir, ancak taksonomik karakterizasyonu halen bir tartışma konusudur ve *Penicillium* türlerinin çoğunun belirlenmesindeki zorluklar disiplinler arasındaki yaklaşımları gerektirir. *Penicillium* cinsindeki tür kavramlarının açıklanması esas olarak morfolojik özelliklerle desteklenmiştir. Örneğin Thom ve Raper, makroskobik ve mikroskobik özelliklerle kombinasyon yaparak *Penicillium* sınıflandırmasını temel alır [41].

2.5.1. *Penicillium* Tarihçesi

1809, Link *Penicillium* cinsini tanımladı ardından üç tür tanımladı. *P. candidum, P. expansum, P. glaucus*

1824, Link tüm yeşil *Penicillium*' lara *P.glaucum* adını verdi.

1837-1839 Corda birçok *Penicillium* türünün morfolojisini illüstre etti.

1874, Brefeld *P.glaucum*'un ascospor üretimine ilişkin detaylı raporunu yayınladı.

1880, Saccardo *P.digidatum*' u tanımladı.

1889, Zukal *P. Luteum*' u tanımladı.

1892, Ludwig ascosporik türler için *Eupenicillium* adını önerdi

1895, Wehmer çürüyen meyvelere neden olan *Penicillium* türleri üzerine çalışmasını yayınladı ve *P. İtalicum*' u tanımladı.

1901, Dierckx 25 yeni türü önerdiği makalesini yayınladı.

1911, Westlin birçok *Penicillium* türünü tanımladı.

1915, Thom *Penicillium* cinsinin sınıflandırma grubu kavramını yayınladı.

1923, Biourge *Penicillium* cinsinin 125 türünü yeniden düzenledi. Monografisi *Penicillium*' u bölümlere, alt bölümlere ve serilere ayırarak amanına göre yapılan cinsin en kapsamlı ve ayrıntılı çalışmasını temsil etti.

1923, Demelius *P.glaucoroseum* ve *P.clavigenum* türlerini tanımladı.

1927, Zaleski 35 yeni tür ve bir varyete tanımladı.

1927, J.C.Gilman& E.V.Abbott *P. Restrictum* ve *P. Vinaceum*'u tanımladırlar.

1928, Flemming ve Florey Penisilini keşfetti.

1906-1930, Thom birçok tür tanımladı.

1930, Thom kapsamlı monografisini yayınladı. O zamana kadarki tanımlanmış tüm türleri laboratuvar ortamında yeniden inceledi. Sınıflandırma konusundaki grup kavramını vurguladı. 1931, Hetrington, A.C., ve H. Raistrick *Penicillium citinum*'dan citrinin izole edildi.

1939, Oxford, Raistrick ve Simonart *Penicillium griseofulvum*'dan griseofulvin'i izole etti. Başlangıçta bir tarımsal ürün olarak geliştirildi daha sonra insan ve veterinerlik uygulamaları için sistemik bir mantar maddesi olan gliseofulvinin tedavide devrimci bir ajan olduğu kanıtlandı.

1949, Raper ve Thom ünlü eserleri 'Manual of the Penicillia'yı yayınladı.

1955, Benjamin *Penicillium*'un ascosporik türleri için *Taloromyces* cinsini tanımladı.

1957-1974, Stolk ve Samson birçok tür tanımladı.

1972, Stolk ve Samson 'Genus *Taloromyces*' isimli kitabı yayınladılar.

1973, Stolk ve Samson 'Genus *Eupenicillium*'isimli kitabı yayınladır.

1973, Pitt *Penicillium* türleri için tanımlama yöntemleri hakkındaki değerlendirmelerini yayınlı yeni tadı. Sıcaklık ve su ilişkilerine dayalı yeni taksonomik kriteler belirledi.
1974, Pitt *Eupenicillium* ve siklerotojenik türlere ilişkin bir anahtar yayınladı.
1979, Pitt 'The Genus *Penicillium*' isimli kitabını yayınladı ve *Penicillium* cinsini konidiyofor morfolojisi ve dallanma desenlerine göre 4 alttür'e ayırdı.
1982, Carlos Ramirez, 'Manual and Atlas of Penicillia' isimli kitabını yayınladı. 227 tür ve varyete tanımladı.
1994, Tzean, Shean-Shong '*Penicillium* and related Telemorphs ' isimli eseri yayınladı.
2000, Robert A. Samson ve John Pitt 'Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* Systematics', 'Modern Concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* Classification' isimli kitaplarını yayınladılar.
1990-2013 yılları arasında Frisvard ve arkadaşları birçok tür tanımladı.
2014, Robert A Samson, Cobus M Visagie, Jos Houbraken 'Species Diversity in *Aspergillus, Penicillium* ve *Taloromyces'* isimli kitabı yayınladılar. 49 *Penicillium* ve 18 *Taloromyces* tanımlanmış ve ITS geninin yanı sıra *Penicillium* ve *Talaromyces* için β Tubulin kullanılarak barkodlama yapılmıştır [42].

2.5.2. PENİCİLLİUM CİNSİ MAKRO VE MİKRO MORFOLOJİSİ

Morfolojik veriler *Penicillium* taksonomisinde kullanılan önemli taksonomik kriterlerdir [40].

2.5.2.1. Makromorfolojik Kriterler

2.5.2.1.1. Büyüme Koşulları

Türler arasındaki varyasyonu azaltmak ve koloni karakterlerini incelemek amacıyla inkübasyon için gerekli ideal koşulları sağlamak önemlidir. Suşlar Pitt (1979) formülasyonlarına göre Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA), Malt Extract Agar (MEA) ve Gliserol Nitrate Agar (G25N) besiyerleri üzerinde yetiştirilerek koloni karakterleri incelenir [40].

2.5.2.1.2. Büyüme Oranı

Koloni büyüme oranı Pitt (1973, 1979)'e göre önemli bir taksonomik kriterdir. Büyüme 7 günlük inkübasyonun ardından, koloninin arka yüzeyinden boydan boya ölçülür [40].

2.5.2.1.3. Koloni Rengi

Koloni rengi' nin araştırılması, araştırmacıların kararına kalmakla birlikte kullanılan bir karakterdir. Koloni' nin rengi güneş ışığında ve çıplak gözle gözlemlenir [40].

2.5.2.1.4. Sklerotium

Sklerotium olgunlaşmamış kleistotesyumdan ayırt edilemeyen ve asci üretmeyen sert yapılar olarak tanımlanır. Sklerotium oluşumu *Penicillium* cinsinin sadece birkaç türünde görülür. *P. gladioli, P. scletotigenum* ve tropikal topraktan izole edilen *P.olsonii'* nin bazı izolatlarında sklerotium yapısı görülmüştür. *P. roqueforti*' nin üç haftalık MEA besiyerindeki kolonilerinde sklerotium benzeri yapılar görülmüştür. *P.italicum*' un üç ay boyunca karanlıkta ve 0°C' de inkübe ettirilen kolonilerin kenarında beyaz sklerot gözlemlenmiştir [40,42].

2.5.2.1.5. Koloni Dokusu

Koloni dokusu, konidiofor düzenlemesine bakarak belirlenir. Kolonilerin 4 farklı koloni dokusunu incelemek mümkündür. Bunlar; Velvety (kadifemsi), Floccose (yünümsü), Funiculose (lif), Fasciculate (salkım)' dır [40].

2.5.2.1.5.1. Kadifemsi (Velvety) koloni yapısı

Konidyoforlar yüzeyden yukarı doğru yükselir ve kadifemsi görünümde veya küçük toz zerrecikleri halinde görünürler. Bu tip kolonilere örnek olarak karakteristik olarak *Penicillium chrysogenum, Penicillium oxalicum* verilir [42].

2.5.2.1.5.2. Pamuksu (Floccose) koloni yapısı

Spor oluşumu merkezden başlayıp kademeli şekilde kenara doğru ilerler. Hifler besiyeri üzerinde düzenli bir şekilde birbirine geçmiş veya düzensizdir. Koloni yapısı pamuk gibidir [44].

2.5.2.1.5.3. Fasciculate (Salkım) koloni yapısı

Kenar kısımları hızlı büyüyen kolonilerin kenar kısımları kaba ve granülar yapıdadır. Mikroskobik inceleme bu durumun konidioforların bir araya toplanmasının sonucu olduğunu gösterir [42].

2.5.2.1.5.4. Funiculose (Lif) koloni yapısı

Bazı türler havasal bir veya birkaç hifin bir araya gelmesinden oluşurlar [45].

2.5.2.2. Mikromorfolojik Kriterler

2.5.2.2.1. Dallanma Desenleri

Konidioforların dallanma desenleri *Penicillium* sınıflandırılmasında geleneksel olarak kullanılır. Konidioforlar simetrik ve asimetrik dallanma desenleri ile basitten karmaşığa değişiklik gösterir [3].

2.5.2.2.1.1. Monoverticillate Konidiofor

Monoverticillate konidioforlar terminal bir fiyalide sahiptir. Bazı türlerde konidiofor'un terminal hücresi hafifçe şişer ve torbacık halini alır. Bu tür konidiofor'a sahip *Penicillium* türleri *Aspergillus* cinsine ait türlerle karıştırılabilir. Ancak *Penicillium* türlerinin *Aspergillus* cinsi aksine septaları vardır [3].

2.5.2.2.1.2. Divaricate Konidiofor

Daha önceleri düzensiz olarak adlandırılan konidioforlar, çok sayıda alt terminalli dalın oluşturduğu basitten karmaşık bir dallanma modeline sahiptir, ancak konidiofor kısımları farklıdır [3].

2.5.2.2.1.3. Biverticillate Konidiofor

Biverticillate konidioforlar sap ve fiyalid arasında üç veya daha çok metulaya sahiptirler. Metula eşit veya birbirine eşit olmayan uzunluklarda olabilir [3].

2.5.2.2.1.4. Tetraverticillate Konidiofor

Tetraverticillate konidioforlar sap ve metula arasında başka bir dallanma desenine sahiptirler. Çoğunlukla stipe ekseni bir yan dalın devamıdır. Bazen üç veya daha fazla dalın gerçek bir çemberi gibidir [3].

2.5.2.2.1.5. Quaterverticillate Konidiofor

Quaterverticillate konidioforlar sadece birkaç tür tarafından üretilirler ve Tetraverticillate örüntüsünün ötesinde extra bir dallanma desenine sahiptirler [3].

2.5.2.2.2. Konidia

Penicillium türleri sferoid, sub-sferoid, elipsoidal ve silindirik gibi çeşitli konidia üretirler. Konidia duvarı pürüzüsz, pürüzlü, dikenli veya çizgili olabilir. Konidialar çoğunlukla pigmentlidirler ve bu pigmentler kolonilere karakteristik renklerini verir [39].

2.5.2.2.3. Fiyalid Şekli:

Fiyalidler, *Penicillium* kolonisinde milyonlarca konidyaya neden olan hücrelerdir. İğne şeklinde veya silindirik olabilirler. Fiyalidler geniş ve bowling labutlarına benzer şekilde ise ampulliform adını alır. Fiyalidler Biverticillium altcinsinin birçok türü tarafından üretilir. *P.italicum, P.digidatum* identifikasyonlarını kolaylaştıran silindirik fiyalid üretirler [39].

2.5.2.2.4. Stipe (Sap)

Sap uzunluklarının belirlenmesi 100 μm’ yi aştığında problem teşkil eder. Dijital kameralar ve belirli mikroskopların kullanılması üzerine tasarlanmış yazılımların yardımıyla stipe uzunlukları kolayca tespit edilebilir. Sap kısmının duvar dokusu çeşitlilik gösteririr ve kaba, pürüzsüz veya küçük yuvarlak çıkıntıları olabilir [39].

2.5.3. *Penicillium* Cinsinin Ekonomik Önemi

Penicillium cinsi doğal ekosistem, tarım alanları, biyoteknoloji gibi birçok alanda kullanılmasıyla önemli bir cinstir. Faydalı türlerin olmasının yanı sıra muazzam ekonomik kayıplara da neden olabilirler. Bazı türler endüstride kullanılan ezimleri üretirler. Örneğin *Penicillium* türleri tarafından üretilen selüloz ve ksilenoz gıda, yem, tekstil, ve kağıt endüstrisi gibi geniş uygulama alanlarına sahiptir. Yine *Penicillium* türleri tarafından üretilen peroksidaz enzimi Orange G, Azure B ve Lip boyası gibi bazı heterosiklik boyaları indirgeyebilirler. *P. aurantiogriseum, P.citrinum, P. waksmanii* gibi bazı *Penicillium* türleri AuCl çözeltisinden altın nanopartiküllerinin biyosentezi için kullanılır [42].

Bunların yanı sıra saprofitik *Penicillium* türleri; ahşap, gıda maddeleri, ve bazı diğer mallara zarar verirken parazitik *Penicillium* türleri ağır ürün kaybına, insan veya hayvanlarda hastalıklara neden olurlar. Öte yandan *Penicillium*, hasat öncesi ve hasat sonrası tarım ürünlerinin bozulmasının etkenlerinden biridir. *P.expansum* meyve ve sebzelerde özellikle elmalarda küflenmeye neden olur. Elmalarda kahverengi çürüklere neden olur [46, 47, 48].

Turunçgil meyvelerinin depolandığı süreçte küf büyümesi ağır ekonomik kayıplara neden olur. Turunçgil meyvesinin bozulmasında rol oynayan birincil *Penicillium* türleri *P. italicum* (mavi küf) ve *P. digitatum* (yeşil küf)' tür [42].
Doğal yaşam alanı hava, su, toprak olan *P.citrinum*' un sekonder metaboliti citrinin' dir. Citrinin mısır, pirinç, buğday, çavdar, arpa ve yulaf'ın doğal kirleticisidir ve insan ve hayvanlar tarafından tüketilerek kronik hastalıklara neden olabilir [49].

Peynir mikrobiyotası'nın peynire tat, koku, aroma ve doku kattığı bilinmektedir. Rokfor, Gorgonzola, Stilton ve Danish Blue Peynirlerinde *P.roqueforti* türünün değişik suşları kullanılır. Gorgonzola peyniri için kullanılan suşlar daha yeşil renkli olmasına ragmen Stilton peyniri için kullanılan daha lipolitik bir *P.roqueforti* suşu kullanılır. Camembert ve Brie peynirlerinde ise beyaz küf *P.camamberti* kullanılır [30,50].

2.5.4. *Penicillium* Cinsinin Sekonder ve Primer Metabolitleri

Primer metboliter fungusların büyümesi için elzem metabolitlerdir. Eğer büyüme ortamı; nükleik asit, protein, karbonhidrat ve lipitleri sağlamıyorsa bunlar ve bunların öncüllerinin sentezlenmesi gerekir [46].

Funguslar hücre büyümesi esnasında primer metabolitleri (aminoasit, protein, karbonhidrat, vitamin, aseton, etanol) ve seconder metabolitleri (antibiyotik, toksin, alkaloid, yağ asitleri, ketonlar) üretme kabiliyetindedirler [51].

Mikotoksin; basitçe funguslar tarafından üretilen toksik metabolitlerdir. Mikotoksinler iz miktarda dahi insan sağlığına etki edebilirler. Mikotoksinler besin ve yem maddeleri ile alındığında insan ve hayvanlarda zehirlenmelere hatta ölümlere yol açabilirler [52,53].

Penicillium türlerinin önemli antibiyotik ve toksinleri;

Penicillin: 1928 senesinde İskoç bilim insanı Sir Alexander Fleming *Staphyloccoccus* içeren besiyeri petrisinde mavi yeşil küfün bakteri büyümesini inhibe ettiğinin farkına vardı. Bu küfün Streptococcus, Meningococcus, Difteri gibi insan sağlığını son derece tehdit eden bakterileri öldürme yeteneğine sahip olduğunu belirtti. Bu küfü izole edip geliştirdi ve *Penicillium notatum* olduğunu keşfetti. Böylece Penicillin izole edildi. Penicillin enfeksiyonların tedavisinde hayati rol oynayan önemli bir maddedir. Penicillin en aktif olarak *P. chrysogenum* tarafından üretilmektedir [42].

Gliseofulvin: Gliseofulvin tipik olarak *P.gliseofulvum*'un bazı suşlarından elde edilen antifungal maddedir. Dermatofit ve ringworm enfeksiyonlarının tedavisinde alınan bir ilaçtır [54].

Aflatoksin: *Penicillium* türleri tarafından sentezlenen mutajenik, teratojenik ve toksijenik özellikleri ile 1962 yılından beri yapılan araştırmalarda kanserojen özelliği en yüksek olan mikotoksindir. Aflatoksin ile oluşan zehirlenme tablosuna aflatoksiloz adı verilir. İnsanlar aflatoksinlere doğrudan, mesleki maruziyet veya özellikle kontamine yem ile beslenmiş hayvanlardan elde edilen ürünler ile beslenme sonucu maruz kalırlar[53,55].

Okratoksin: *P.viridicadum* ve *P.cyclopium* türleri tarafından sentezlenen mikotoksindir. Bu küfler düşük sıcaklıkta toksin sentezleyebildikleri için soğuk iklim koşullarının hüküm sürdüğü ülkelerde ciddi bir problemdir. Yem hammaddeleri ve yemlerde doğal kontaminant olarak en fazla Okratoksin A, seyrek olarak Okratoksin B' ye ratlanır. İnsan sütü ve inek sütünde bulunabildiği için bebekler için risk oluşturur [53,56].

Citrinin: Citrinin ilk olarak 1931 senesinde Hetherington ve Raistrick isimli araştırmacılar tarafından *P. citrinum*'dan izole edilmiş bir mikotoksindir. Genel olarak hasat sonrası depolama koşulları altında oluşur ve çoğunlukla depolanmış tahıllarda

bulunur. Bunların dışında meyve ve sebze suları, otlar ve baharatlardada bulunabilir [57].

Penicillin Asit: İlk defa 1913 senesinde *P. puberulum* ile enfekte mısırdan izole edilmiştir. *P. cyclopium, P. martensii, P. puberulum, P. thomii, P. roquerforti* türleri tarafından üretilir. Ancak en önemli üreticisi *P. aurantiogriseum*'dur [58,53].

Rubrotoksin: *P. rubrum* ve *P. purpurogenum* türleri tarafından üretilir. Karaciğer nekrozuna neden olur [59].

Patulin: P.*expansum, P. patulum, P.aspergillus* ve *P. byssochlamys* üretilen toksindir. *P.expansum* özellikle elmalarda patojen bir türdür. Esas olarak elma ve elma suyunda bulunmakla birlikte armut, kayısı, şeftali, domates, portakal gibi ürünlerde de bulunabilir. Patulin iç organlarda patoloji ve kanseröz oluşumlara neden olmaktadır [55,53].

Siklopiozonik Asit: *P.cyclopium* tarafından üretilir ve nörotoksiktir [59].

Tremojenik Toksin: *P.cyclopium* tarafından üretilir, nörotoksiktir [59].

Sitreoviridin: *P.citreovinde* tarafından üretilen toksin, nörotoksiktir[59].

Luteoskyrin: *P.islandicum* tarafından üretilir ve hepatotoksiktir [59].

Sikloklorotin: *P.adacium* tarafından üretilir ve hepatotoksiktir [59].

Regülosin: *P.rugulasum* tarafından üretilir ve hepatotoksiktir [59].

2.5. Moleküler Tanımlama

Penicillium cinsi yaklaşık olarak 250 türden oluştuğu için taksonomisi her daim karmaşıktı. Bu cinsin sınıflandırılması önceki dönemlerde makro ve mikro morfolojik özelliklere göre yapılmış olsada çok sayıda küçük farklılıklara sahip türü içerdiği ve morfolojik analizler için harcanan süre çok uzun olduğu için alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur [60,61].

Moleküler yöntemler genetik materyaldeki küçük farklılıklara dayalı olduğu için türlerin daha doğru ayırt edilmesine yardımcı olur. En çok kullanılan moleküler yöntemler:

- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)
- Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD)
- Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP)
- Restriksiyon fragmentlerinin uzunluk polimorfizmi (RFLP)

- Gen Çip (Microarray)
- DNA dizilimi
- DNA Barkot

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu in vitro koşullarda DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanır. Bu reaksiyon 3 basamaktan oluşur.

- DNA Zincirinin Açılması (Denatürasyon)
- Primerin Açılan Zincire yapışması (Bağlanma)
- Primer Uzaması (Uzama) [62].

Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD): RAPD markerları, tek bir kısa ve rastgele oligonükleotid primer kullanılarak, bilinmeyen DNA dizilerinin çoğaltılmış ürünleridir. RAPD, herhangi bir genomik DNA' nın parmak izi için önceki dizi analizlerine ihtiyaç duymaz. Yakından ilişkili türler ve popülasyon düzeyindeki genetik çeşitliliğin ortaya konulmasında kullanılmıştır. RAPD tekniği; ucuz oluşu, çok gelişmiş aletlere az gerek göstermesi ve kısa sürede çok miktarda DNA marker geliştirmedeki etkinliğinden dolayı önemlidir [63,6].

Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP): Bu yöntemin amacı; iki restriksiyon enzimi ile kesilen çok miktarda ki DNA parçacığının bulunduğu karışımda bulunan restriksiyon parçacıklarının özel bir alt grubunun amplifiye edilmesidir. Genom hakkında bir ön bilgi olmadan bu yöntem kullanılabilir. Elde edilen markerlar güvenilir ve bilgi sağlayıcıdır [64].

Restriksiyon fragmentlerinin uzunluk polimorfizmi (RFLP): RFLP yöntemi, farklı organizmalara ait aynı veya homolog DNA bölgelerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi esasına dayanır. Ayrılan DNA parçaları büyüklük esasına göre jel elektroforezinde yürütülür. Örnekler boyanarak görünür hale getirilerek, jeldeki DNA' ların nitro-selüloz veya naylon membranlar üzerine transferi yapılır ve jelin alkali ortamda ısıtılmasıyla DNA parçaları denatüre edilir. Radyoaktif olarak işaretli DNA probunun olduğu sıvıya daldırılır. Probun hibridizasyonu otoradyografi ile açığa çıkarılır [65].

Microaaray: Mikroarray çalışmalarının temelleri DNA molekülünün fiziksel ve kimyasal özelliklerine dayanır. DNA molekülü iki tamamlayıcı ipten oluşur. Binlerce

farklı gen sekansları DNA microarraylerin üzerine belirli konumlarda yapışır veya bağlanır. Bu destekler cam lam, silicon çip veya naylon membranlar olabilir. Buna paralel olarak, RNA' lar extrakte edilir, tamamlayıcı cDNA' ya dönüştürülür, amplifiye olur ve floras an boyalar veya radyoaktif olarak etiketlenir. Bu boyalar farklı dalga boylarında ışık yayar. Uygun lazerle uyarma sonucu kırmızı ve yeşil görünür. Bu yöntem hızlıdır, birçok genin aktivitesi aynı anda izlenebilir ve hasta ve sağlıklı hücrelerdeki genlerin aktivitelerinin karşılaştırılmasına olanak sağlar. Lakin aynı zamanda fazla miktarda veri analizi yapıdığından zaman alıcıdır, verdiği sonuçlar komplekstir, sonuçlar kantitatif değildir ve pahalı bir yöntem oluşu dezavantajdır [66,67].

DNA dizilimi: Nükleik asitler, hücrede meydana gelen tüm biyolojik olayları yöneten ve genetik bilginin nesilden nesile aktarılmasını sağlarlar. DNA dizilimleri, DNA molekülünde nükleotid baz denen Adenin, Guanin, Sitozin ve Timin sıralamasını belirlemek maksadıyla kullanılan metodları belirtir. İlk DNA dizisi 1970' li yıllarda iki boyutlu kromotografi ile elde edildi. DNA her gen ürününün yapısını içeren bilgi deposudur ve organizmanın her parçasını tasvir eder. DNA boyunca bazların oluşturduğu sıra genetik kalıtımı oluşturan talimatların tümünü içerir. Yöntemin faydaları, dizinin varyasyon şeklini göstermesi yani değişimin transversiyon yada transisyon olup olmadığı gibi konularda bilgi vermesidir. Bunun yanı sıra nükleotid sapma derecesinin ölçülebilmesi, farklı laboratuvarlardan gelen sonuçların karşılaştırılabilmesi, dizinin yayınlanıp elektronik veri tabanlarında saklanıyor oluşu gibi yararlarıda vardır [68, 69, 70].

DNA Barkod: DNA barkot yöntemi DNA dizisi temelli olup birkaç lokus kullanılarak türlerin tanımlanmasını sağlar. Mantarların DNA barkodlaması yoluyla moleküler olarak tanımlanması, son 15-20 yıl boyunca mantar ekolojisi araştırmalarında önemli hale gelmiştir. 2012 yılında Uluslar Arası Fungal Barkodlama Konsorsiyumu spacer (ITS) bölgesinin birincil mantar barkodu olarak kullanılmasını önerdi [71, 72, 73].

Tüm canlılarda protein sentezi ortak özellik olduğundan organizmalar arasındaki evrimsel ilişkiyi ayırt edebilmek için ribosomal RNA' lar kullanışlı moleküllerdir. r RNA genlerini kodlayan DNA dizileri çalışmalarda sıklıkla kullanılır. rRNA gen kümesi çekirdek ve mitokondride bulunur ve oldukça korunmuş değişken bölgelerden oluşur. Tekrarlanan birimlerde üç rRNA geni bulunur küçük rRNA geni (18s), 5.8s

rRNA geni ve büyük rRNA geni. Korunmuş diziler büyük alt birim (LSU) ve küçük alt birim (SSU) genlerinde bulunur. Alt birimler arasında ara bölgeler transkripsiyonu yapılamayan bölgeler (ITS) ve genler arası bölge (IGS) olarak isimlendirilirler. Bu bölgeler alt birim dizilerinden daha spesifiktir ve cins, tür veya tür içi popülasyonlar arasındaki çalışmalarda kullanılırlar. 18S r RNA bölgesi daha yavaş evrim geçirir. Bu yüzden uzak akraba organizmaların kıyaslanmasında daha çok kullanılmıştır. Ancak kodlanmayan bölge (ITS ve IGS) daha hızlı evrim geçirir ve cinse ait türlerin ve tür içi suşların karşılaştırılmasında kullanılır [70,74].

BÖLÜM 3

MATERYAL METOD

3.1. Materyal

Araştırma materyali Edirne İli Karaağaç Kent Ormanı toprağından alınmıştır. Örnek 03. Ekim.2015 tarihinde alınmıştır.

3.1.1. Besiyerleri

Besiyeri 1: Dichloran 18% Glycerol Agar (DG18)

Tablo 3. 1. DG18 Besiyeri Bileşenleri

Gliserol	220.0 g
Agar	15.0 g
Glikoz	10.0 g
Pepton	5.0 g
KH_2PO_4	1.0 g
$MgSO_47H_2O$	0.5 g
Dikloran	2.0 mg
Kloromfenikol	0.1 g

LabM LAB218 hazır besiyeri kullanılmıştır.

Gıda ve yem ürünlerinde kserofilik küf türlerinin tespiti için geliştirilen DG18 besiyerinin kapalı alan küfleri içinde uygun olduğu kanıtlanmıştır. Hem kserofilik hem

mesofilik küfler DG18 besiyerinde üreyebilirler. Rhizopus ve Mucor gibi hızlı gelişen küflerin gelişimini besiyeri içerisinde bulunan dikloran engeller ve bu türlerin aşırı büyümesi engellenir. Besiyeri 31.6 g tartılır 1000 ml distile suda çözülüp homojen hale getirilir içerisine 220 ml gliserol eklenir ve 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilir [68].

Besiyeri 2: Czapek Yeast Agar (CYA)

Tablo 3. 2. Czapek Yeast Agar Bileşenleri

K_2HPO_4	1.0 g
Czapek Konsantresi	10.0 ml
Yeast Extract	5.0 g
Sükroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1000 ml

CYA besiyeri *Penicillium* cinslerinin tür tayininde kullanılmıştır. Besiyeri bileşenleri tartılır ve 1000 ml distile su eklenerek homojen hale getirilir. 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilir. Besiyeri 5°C, 25°C, 37°C olmak üzere üç ayrı sıcaklık için kullanılır [40].

Besiyeri 3: 25% Glycerol Nitrate Agar (G25N)

Tablo 3. 3. 25% Glycerol Nitrate Agar (G25N Bileşenleri)

K_2HPO_4	0.75 g
Czapek Konsantresi	7.5 ml
Yeast Extract	3.7 g
Gliserol	250.0 g
Agar	12.0 g
Distile su	750 ml

Bu besiyeri *Penicillium* türlerinin tanımlanmasında kullanılır. Besiyerinin bileşenleri tartılır ve 1000 ml distile suda çözünür. Kullanılacak olan gliserol'ün yüksek kalite ve düşük su içeriğine sahip olması gerekmektedir. Kullanılan diğer kimyasallar analitik düzeyde olmalıdır. Besiyeri 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilir [75].

BESİYERİ 4: Neutral Creatine Sucrose Agar (CSN)

Tablo 3. 4. Neutral Creatine Sucrose Agar Bileşenleri

CS konsantresi	10 ml
Sükroz	10.0 g
Kreatine	5.0 g
KH_2PO_4	1.0 g
Bromocresol purple	0.05 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Kreatine Sükroz Agar *Penicillium* alt türlerinin tanımlanması sorununa yeni bir yaklaşım olarak tanıtıldı (Frisvard, 1985). Bu alt türlerin proteince zengin gıdalar veya karbonhidratça zengin gıdalarda büyümelerine göre iki gruba ayrıldığına dikkat çekti. İçerisinde bulunan bromocresol isimli boya asit veya baz üretimini belirlemek amacıyla kullanılr. CSN besiyeri subgenus *Penicillium* identifikasyonunda önem arz eder. Besiyeri bileşenleri tartılıp homojenize edilmesinin ardından pH 5.5- 6.8 arasında ayarlanır. Besiyeri 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilir. Sadece subgenus *Penicillium* tanısında kullanılması gerekmektedir [40].

BESİYERİ 5: Malt Extract Agar (MEA)

Tablo 3. 5. Malt Extract Agar Bileşenleri

Malt Extract	50 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.01 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.005 g
Distile Su	1000 ml

Tabloda verilen değerler 1000 ml suda çözülüp 121° C 15 dk otoklavlanmıştır [76].

BESİYERİ 6: Potato Dextrose Agar (PDA)

Tablo 3. 6. Potato Dextrose Agar Bileşenleri

Patates İnfüzyonu	4.0 g
D(+) Glukoz	20.0 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1000 ml

Merck 1.10130.0500 hazır besiyeri kullanılmıştır.

PDA besiyeri mayaların ve küflerin kültüvasyon, sayım ve stok kültür olarak saklanmasında kullanılan bir besiyeridir. Patates nişastası ve dekstroz fungusların verimli bir şekilde büyümesini sağlarken pH' ın steril tartarik asit yardımıyla 3.5' in altına düşürülmesi bakteriyel büyümeyi inhibe eder. Hazır besiyerinden 39 gr tartılarak 1000 ml su içinde homojen hale getirilir. 121°C'de 15 dakika steril edilir; stok kültürlerin saklanmasında otoklavlanmadan önce deney tüplerine tüp başına 5'er ml gelecek şekilde paylaştırılır ve daha sonra otoklav ile steril edilir [31].

BESİYERİ 7: Yeast Extract Sucrose Agar

Tablo 3. 7. Yeast Extract Sucrose Agar Bileşenleri

Yeast Extract	20.0 g
Sucrose	150.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	0.5 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.005 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.01 g
Agar	20.0 g
Distile Su	885 ml

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilir [68].

3.1.2. Çözeltiler

ÇÖZELTİ 1: Czapek Konsantresi

Tablo 3. 8. Czapek Konsantresi Bileşenleri

$NaNO_3$	30.0 g
KCI	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile Su	100 ml

CYA ve G25N besiyerlerinin bileşiminde bulunur. Czapek konsantresi sterilizasyon edilmeden saklanır. $Fe(OH_3)$ çözeltisinin yeniden homojen şekilde dağıtılması için Czapek Konsatresi her kullanımdan önce karıştırılmalıdır [40].

ÇÖZELTİ 2: Creatine Sucroze Konsatresi (CS)

Tablo 3. 9. Creatine Sucroze Konsatresi Bileşenleri

KCI	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile Su	100 ml

CSN besiyerinin bileşiminde bulunur. Bileşenler homojen hale getirilir ve CSN agar bileşenlerine dahil edilir [40].

ÇÖZELTİ 3: Laktofenol Çözeltisi

Tablo 3.10. Laktofenol Çözeltisi Bileşenleri

Distile su	20 ml
Laktik Asit	20 ml
Fenol Kristalleri	20 ml
Gliserin	40 ml

3.2. Metot

3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Toprak örnekleri toprağın 10 cm derininden aseptik şartlarda alınmıştır. Toprak örneği alınımında kullanılacak spatül % 70 lik alkol ile temizlenmiş ve steril poşetlerin içerisine konularak laboratuvara getirilmiştir. Orman toprağında bulunan *Penicillium* türlerinin izolasyon işlemi icin Waksman'ın '' Toprağı Sulandırma Yöntemi '' kullanılmıştır [77].

Laboratuvara getirilen toprak örneğinden 10 gram tartılarak darası alınmış petri kabına konulmuştur. Petri kabı 105 °C sıcaklığındaki fırında 24 saat tutulmuş ardından yeniden tartılmıştır. Bu şekilde toprak kurusu elde edilmiştir. Bu nem miktarı

gözönünde bulundurularak 25 g fırın kurusu toprağa denk gelen nemli toprağın kaç gram olduğu hesaplanmıştır.

Hesaplama sonucunda 25 g toprak kurusuna gelen toprak 500 ml' lik erlene konularak üzerine % 09' luk NaCl çözeltisi konulmuştur (10^{-1} dilüsyon). Bu süspansiyonun homejine olabilmesi için mekanik çalkalama makinesinde 20-30 dakika boyunca çalkalandı. Çalkalama işlemi ardından $10^{-2'}$ lik süspansiyondan toprak taneleri dibe çökmeden 10 ml alınıp üzerine 90 ml NaCI çözeltisi konularak $10^{-3'}$ lük dilüsyon elde edilmistir. Bu süspansiyondan da 10 ml alınarak 90 ml NaCl içeren erlene aktarılarak $10^{-4'}$ lük dilüsyon elde edilmistir. Aynı işlem tekrarlanılarak daha ileri dilüsyon serileri hazırlanmıştır. Topraktan fungusların izolasyonunda kullanılmaya en elverişli serileri 1/1000 ve 1/ 10000 arasında olanlardır. Bu dilüsyon serilerinden alınan 1 ml örnek 9 cm çapındaki besiyelerine aktarılır, üzerine PDA agar dökülür ve örnekler dökme plaka yöntemi ile ekilerek 25° C 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır.

Gelişen küf örneklerinden saf kültür izole edilip izolatlar PDA besiyerine pasajlanmıştır.

3.2.2. Mikrofungusların Morfolojik Tanısı

PDA besiyerine izole edilen türler yeniden DG18 besiyerine üç nokta ekim yöntemi ile ekilerek üretilmiş buradan küflerin gliserol stok çözeltileri hazırlanmıştır. İzole edilen *Penicillium* türlerinin morfolojik ve kolonial tanımlanması amacıyla Czapek Yeast Extract Agara, Malt Extract Agar, 25% Glycerol Nitrate Agar, Neutral Creatine Sucrose Agar ve Yeast Extract Sucrose Agar besiyerleri hazırlanmıştır. Bu cinsin tür tayininde Pitt'in '' A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000)" , "The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces* (1979)'', Samson ve Ark. 'Food and Indoor Fungi (2010)'' ve ilgili makaleler esas alınmıştır. Czapek Yeast Extract Agardaki türler için 3 farklı sıcaklıkta inkübasyon yapılmıştır. 5°C, 25°C ve 37°C. 5°C' de inkübasyona bırakılacak Czapek Yeast Extract Agar petrileri asetatlı kalem yardımıyla bölünerek 2 ayrı şüpheli türün ekimi aynı petriye yapılmıştır. 25 °C ve 37 °C' de inkübasyona bırakılacak Czapek Yeast Extract Agar petrilerine şüpheli her tür ayrı ayrı ekilmiştir. Malt Extract Agar, 25% Glycerol Nitrate Agar, Neutral Creatine Sucrose Agar, Yeast Extract Sucrose Agar besiyerine şüpheli türler ayrı ayrı petrilere ekilerek 25 °C' de 7 gün inkübasyona

bırakılmıştır. Ayrıca ilgili makaleler de geçen özel koşullar için gerekli besiyerlerinde gerekli inkübasyonlar yapılmıştır. İnkübasyon süreleri ardından renk, eksuda oluşumu, tekstür, çözünür pigment varlığı, koloni çapları gibi makroskobik özellikleri incelenmiştir.

Küflerin makroskobik olarak incelenmesi ardından 1 damla Laktofenol Çözeltisi veya Lacto cotton blue çözeltisi lam üzerine damlatılmıştır, incelenicek olan küf kolonosinin üzerine selobant değrililerek küf sporlarının banta yapışması sağlamış ve lam'ın üzerine yapıştırılarak preperat hazırlanmıştır veya kolonilerden öze yardımı ile alınarak lacto cotton blue veya lactofenol çözeltisi bulunan lam ile preperat hazırlanmıştır.

3.2.3. Mikrofungusların Moleküler Tanısı

Mikrofungusların moleküler tanısı için hizmet satın alımı yapılmış olup, hizmet alınılan firma fungusların izolasyon işlemi için Bio-Speedy™, Fungal DNA İzolasyonu Kitini kullanmıştır. PCR kiti olarak ise Bio-Speedy™, Maya ve Küf Real- Time PCR Hızlı Tespit Kiti kullanılmıştır.

3.2.3.1. Fungal DNA İzolasyonu Akış Şeması

1- 2 mL' lik parçalama tüpleri içerisine 500 µL %0,1 Tris Buffer veya Moleküler Dereceli Su (Molecülar Grade Water) konularak, Czapek Yeast Extract Agar besiyeri üzerinde geliştirilen koloniler kazınarak eklendir.
2- Maximum hızda 10 sn vorteks
3- 14000 g' da 1 dakika santrifüj
4- Üst faz atılır, parçalama tüpüne 500 µL Parçalama Tamponu ve 1.3 mm çaplı metal boncuklar ilave edilir.
5- 7000 rpm' de 2 dakika homejenize edilir (1 dakika 2 tur).
6- Homojenize numuneye 5 µL Proteinaz K ilave edilir hafif vortekslenir.
7-55° C' de 2 saat inkübasyon
8- 14000g'da 1 dakika santrifüj
9- Üst faz yeni tüpe aktarılır.
10- 500 µL Bağlama Tamponu-1 ilave edilir, hafif vorteks yapılır.
11- 95° C' 15 dakika inkübasyon

12- 14000g’ da 1 dakika santrifüj

13-Üst faz yeni bir tüpe aktarılır

14- 500 µL Bağlama Tamponu-1 ilave edilir, hafif vorteks yapılır.

15-Toplama tüpüne DNA kolonu yerleştirilir.

16- Karışımdan 750 µL DNA kolonuna aktarılır

17- 14000 g’ da 1 dakika santrifüj edilir. Alır atlttaki sıvı (filtrat) atılır.

18- Numune bitene kadar 16. Ve 17. Adımlar tekrarlanır.

19- DNA kolonuna 500 µL yıkama tamponu eklenir.

20- 14000d’ da 30 saniye santron tifüj edilir. Filtrat atılır.

21- 19. Ve 20. Adımlar tekrarlanır.

22- Kolon tüpü boş iken 14000 g’da 1 dakika santrifüj edilir ve yeni bir steril mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilir.

23- DNA kolonuna 100 µL Çözücü Tampon (elüsyon tamponu veya moleküler saf su) ilave edilir ve 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.

24- 14000 g’ da a dakika santrifüj edilir.

25- Tüpte kalan sıvı DNA

Elde edilen DNA’ nın saflık ve miktarı spektrofotometrik yöntem ile elde edilir. OD260/280 1.6- 2.0 aralığında ve DNA konsantrasyonu >500 ng/µL olmalıdır. DNA konsantrasyonu >100 ng/µL olduğu durumda PCR işlemi öncesi konsantrasyon 50 ng/ µL olarak şekilde Çözücü Tampon ile işlem yapılır.

Tablo 3.11. Protokolde Geçen Kimyasal İçerikleri

Parçalama Tamponu	%2 CTAB hexadecyltrim ethylam monium bromide-, 100 mM TrisHCI pH 8, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCI
Bağlama Tamponu-1	4 M Guanidine thiocyanate, 20 mM TrisHCI, pH 8
Bağlama Tamponu-2	2- propanol
Yıkama Tamponu	20 mM NaCI, 2 mM Tris- HCI, pH 8; %80 v/v Etanol

Tablo 3.12. PCR Kurulumu İçin Gereken Bileşenler ve Miktarları (1 Reaksiyon İçin)

2X-MİX	5 µL
Oligo Mix -10 µM (Forward primer + Reverse primer)	1 µL
MGW (moleküler ölçekli su)	2 µL
Template (Kalıp DNA)	2 µL
Toplam Reaksiyon Hacmi	**10 µL**

PRİMERLER:

ITS_F: TCCTCCGCTTATTGATATGC

ITS_R: GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG

Tablo 3.13. Real Time PCR Programı (ITS)

Program	**Döngü Sayısı**	**Adım**	**Sıcaklık (°C)**	**Süre (sn)**	**Hız (°C/s)**	**Floresan okuma (470 / 510 nm) (Ekzitasyon / Tespit)**
Ön İnkübasyon	1	Denatürasyon	95	600	4<	
Çoğalma	40	Denatürasyon	95	15	4<	
		Bağlanma	52	15		
		Uzama	72	30		Adım sonunda, tek okuma
Erime Eğrisi	1	Erime	65	1	0,5	65 °C- 98 °C arası sürekli okuma
			98	1		

3.2.3.2. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

1-PCR ürünü 200 µL (0.2 ml) ‘lik tüpe alınır.

2- Yaklaşık olarak 10 µL PCR ürünü bulunan tüpe 10 µL MGW eklenir, pipetleme ile karıştırılır.

3- 60 µL Bağlama Tamponu-1 ve 20 µL Bağlama Tamponu-2 eklenir, vortekslenir.

4- Toplama tüpüne DNA kolonu yerleştirilir.

5- Karışımın tamamı DNA kolonuna transfer edilir.

6- 14000g 1 dakika santrifüj edilir. Filtrat atılır

7- DNA kolonuna 500 µL yıkama tamponu eklenir.

8- 14000g' da 30 saniye santrifüj edilir. Filtrat atılır.

9-7. ve 8. İşlemler tekrarlanır.

10- Kolon boş iken 14000 g' da 1 dakika santrifüj edilir.

11- Kolon yeni bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirlir, toplama tüpü atılır.

12- 20 µL Çözücü Tampon eklenir ve 1 dakika oda sıcaklığında inkübasyon

13- 14000 g'da 1 dakika santrifüj

14- Saflaştırılan PCR ürünleri tüpte kalan sıvıdır.

15- Saf PCR ürünleri -20°C' de saklanır.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

Edirne İli Karağaç Kent Ormanından alınan toprak örneğinde 12 adet *Penicillium* cinsine ait tür tanımlanmıştır. Bu türler; *P. chrysogenum, P. citrinum, P. commune, P. manginii, P. ubiquetum, P. camemberti, P. sanguifluum, P. janczewskii, P. canescens, P. steckii, P. hirsutum, P. roseopurpureum*' dur.

Kingdom: Fungi

Şube: Ascomycota

Sınıf: Eurotimycetes

Ordo: Eurotiales

Aile: Trichomaceae

Cins: Penicillium

Tablo 4.1. Karşılaştırmalı moleküler ve morfolojik teşhisler.

İzolat Kodu	Morfolojik Teşhis	Moleküler Teşhis	Eşleşen Örneğin Accession No
O6	*Penicillium chrysogenum*	*Penicillium chrysogenum*	KC009774.1
K31	*Penicillium citrinum*	*Penicillium citrinum*	KX674625.1
K19	*Penicillium commune*	*Penicillium commune*	KC009828.1
K9	*Penicillium manginii*	*Penicillium manginii*	JN 617662.1
O5	*Penicillium ubiquetum*	*Penicillium ubiquetum*	NR121514.1
K15	*Penicillium camemberti*	*Penicillium camemberti*	KF285997.1
K24	*Penicillium sanguifluum*	*Penicillium sp.* *Penicillium sp.*	KF367534.1 KF367516.1

		Penicillium sanguifluum	JN 617681.1
K29	******Penicillium janczewskii*	*Penicillium murcianum* *Penicillium janczewskii* *Penicillium canescens*	NR138358.1 KP016839.1 HQ607858.1
G4	******Penicillium canescens*	*Penicillium murcianum* *Penicillium janczewskii* *Penicillium canescens*	NR138358.1 KP016839.1 HQ607858.1
K23	*Penicillium steckii*	*Penicillium steckii*	KP942904.1
G5	******Penicillium hirsutum*	*Penicillium hirsutum* *Penicillium sp.* *Penicillium sp.* *Penicillium hordei*	JN 942853.1 JF 311967.1 JF 311949.1 AJ 004817.1
O9	******Penicillium roseopurpureum*	*Penicillium sanguifluum* *Penicillium sanguifluum* *Penicillium roseopurpureum*	KJ 191428.1 JN 617711.1 GU 566236.1

- Moleküler teşhiste farklı türleri aynı query cover ve max. ident oranıyla veren izolatlar

***Penicillium chrysogenum* (Thom 1910)**

Koloniler CYA besiyerinde hızlı büyüme gösterir ve 7. günde çapları 35-45mm' dir. Miselyum beyaz veya sarı, eksuda sarı damlalar halindedir. Genellikle sarı renkli pigment üretirler. Ters yüzeyleri sarı, bej veya soluk krem görünebilir.

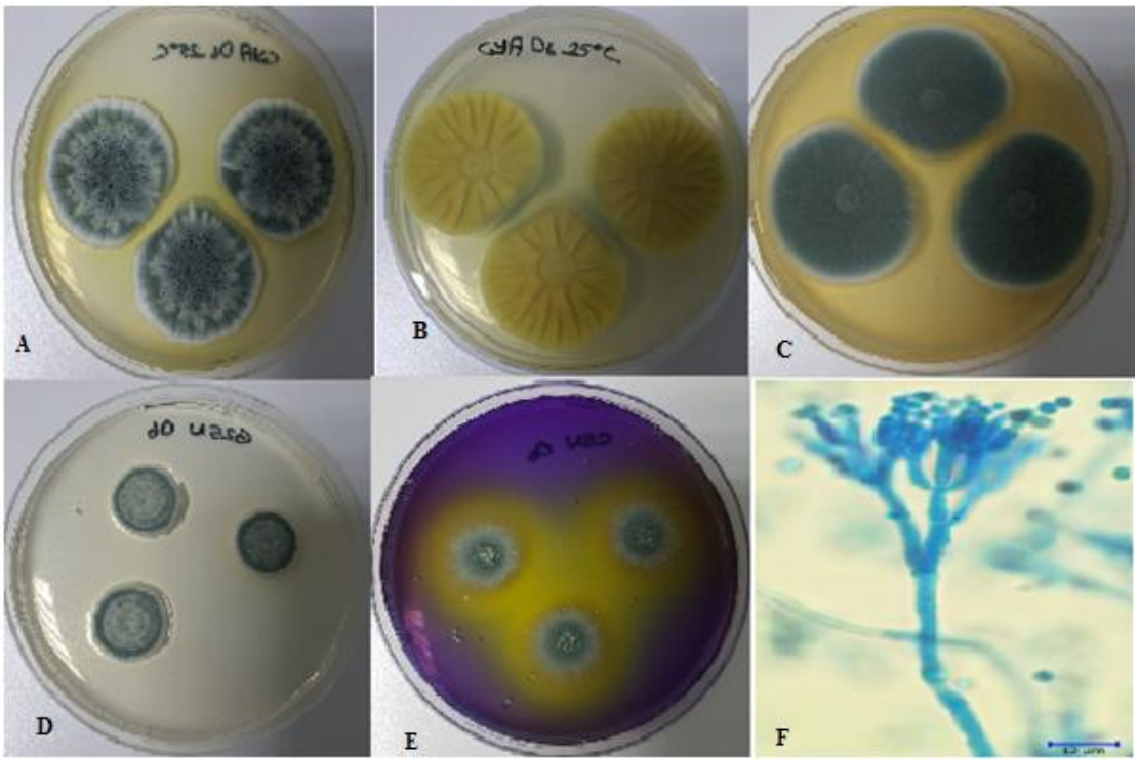
MEA besiyerinde koloniler 25-40 mm çapa ulaşabilir. Koloniler kadifemsi, nadiren merkez kısmında yünümsüdür. Miselyum gösterişsiz, konidia grimsi turkuaz veya soluk yesil renktedir. Ters yüzeyleri soluk veya sarımsı renktedir.

G25N besiyerinde koloni çapı 18-22 mm' dir. Koloniler ışınsal sulkat veya yoğun, ters yüzeyleri soluk renkli, parlak sarı, kahverengi veya kırmızımsı kanverengidir.

CSN besiyerinde koloniler 12-18 mm çapındadır, büyüme güçlü veya orta derecelidir. Ortam ve ters yüzey nötral ve hafif asidiktir.

Konidioforlar şeffaf 200-300 µm uzunluğundadır. Tetravertisillat, quaterverticilliate veya biverticillate olabilir. Rami 15-20 µm, metula silindirik, konidia elipsodial veya küremsidir.

Bu türün tanımlanması Pitt' in 'A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000)' e göre yapılmıştır.



Şekil 4.1. *P. chrysogenum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. chrysogenum* mikroskobik görüntüsü

***P. citrinum* (Thom 1910)**

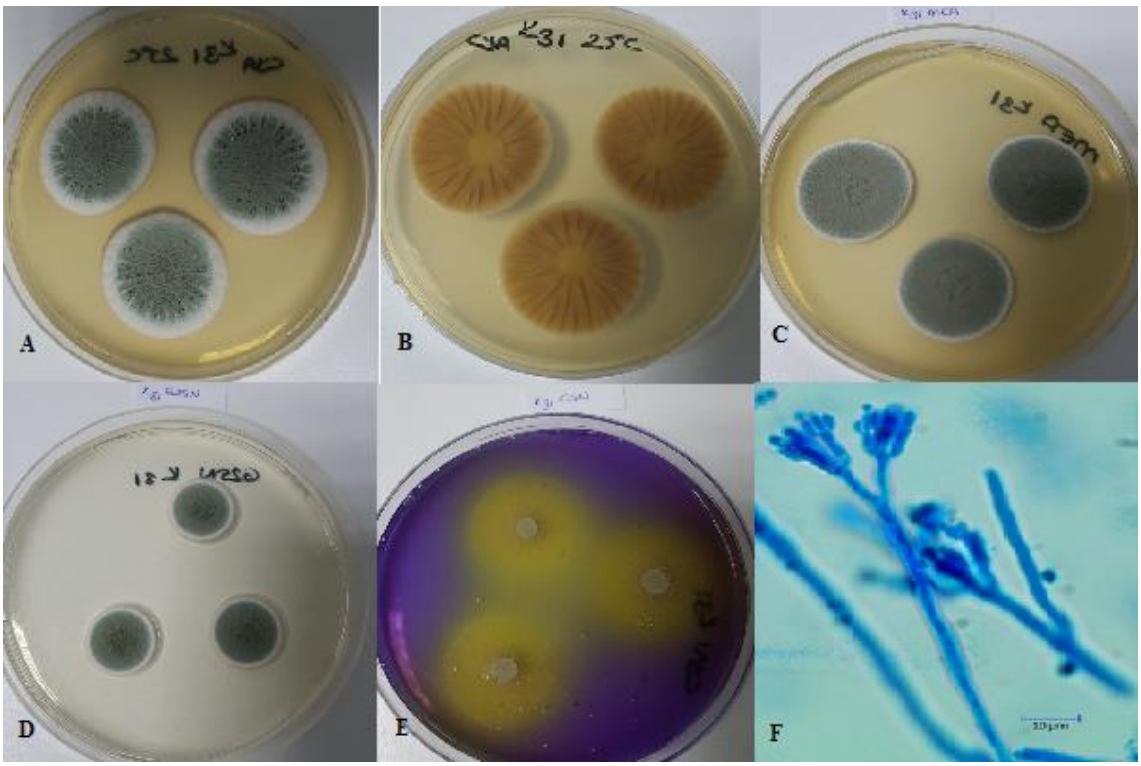
CYA besiyerinde kolonilerde ılımlı büyüme görülür ve çapları 27-33 mm' dir. Konidia grimsi yeşil veya mavi-gri-yeşil, miselyum göze çarpmayan, bazı suşlar tarafından küçük eksuda damlaları üretilir (soluk sarı veya berrak renkte). Çözünür pigment sarı renkte, koloni tersten kahverengimsi sarı. 5 ºC' de inkübe edilen petrilerde büyüme görülmez.

YES besiyerinde iyi sporulasyon, koloni çapı 29-37 mm, konidyal renk değişken; gri-yeşil veya koyu yeşil. Çözünür pigment suşların çoğunluğunda mevcut, pigment güçlü sarı ve sarı turuncu renkte.

MEA' da 18-25 mm çapında koloniler görülür. Koloniler beyaz yünümsüdür. Miselyum grimsi bazen grimsi turuncu renktedir. Konidia soluk yeşil, kenarlarda grimsi mavidir. Kolonilerin bu besiyerinde tersten görünümleri soluk kahverengi veya yoğun sarımsı kahverengi olabilir.

Sklerotium yok. Konidiofor baskın olarak bivertisilat, taze izolatlarda tervetisillat olabilir. Fiyalidler ampulliform. Konidya küresel veya subglobose.

Bu türün tanımlanması Pitt' in 'A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000), Jos A. M.P. Houbroken, Jens C. Frisvard, Robert A. Samson' un ' Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species' ve J. Houbraken, J. C. Frisvard ve R. A. Samson' un 'Taxonomy of Sectian Citrina' makalesine göre yapılmıştır.



Şekil 4.2. *P. citrinum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. citrinum* mikroskobik görüntüsü.

***P. commune* (Thom 1910)**

CYA besiyerinde koloniler orta hızda büyür ve çapları 30-37 mm' dir. Koloniler kadifemsi veya yünümsü olabilir. Miselyum beyaz renkte, konidia grimsi turkuaz, soluk mavi veya soluk yeşil olabilir. Bej rengi eksuda oluşur. Koloniler tersten kremsi, mat sarı veya kahverengimsi sarı olabilirler. 37 ºC' de inkübasyona bırakılan petrilerde büyüme görülmez.

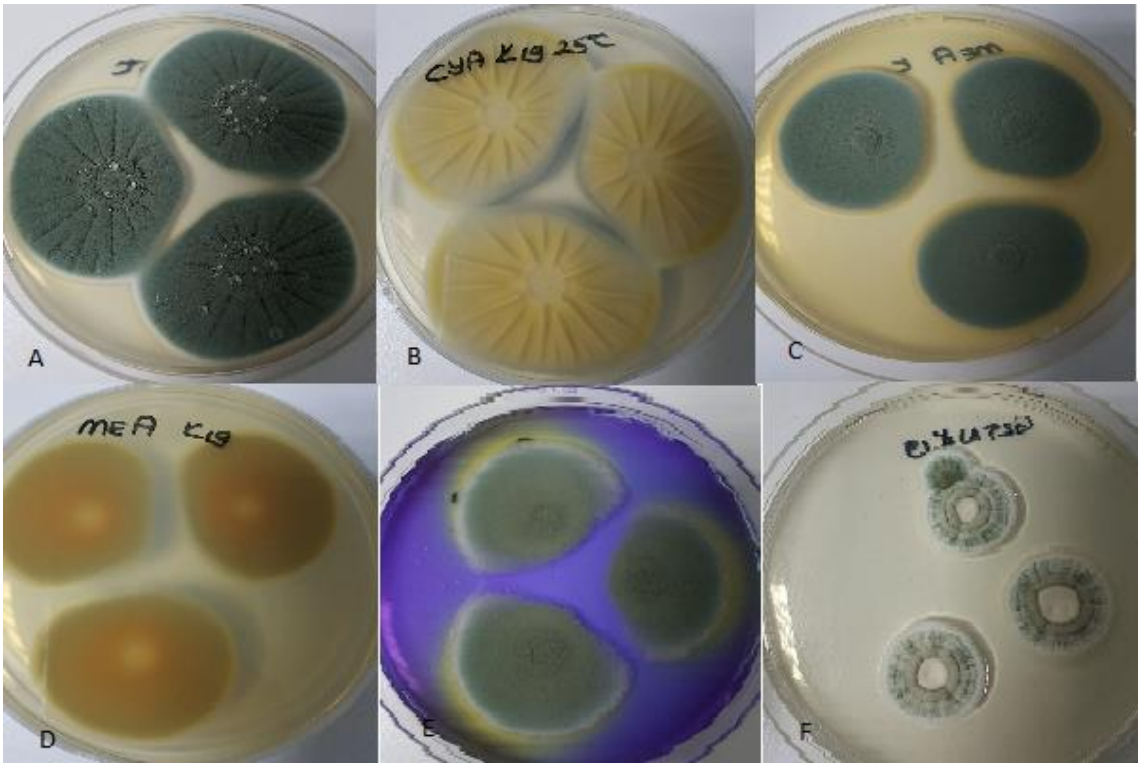
MEA' da büyüyen kolonilerin çapları 23-30 mm' dir. Koloniler kadifemsi veya fasikulat'tır. Miselyum beyaz, konidia gri yeşildir. Ters yüzeyleri soluk veya açık sarıdır.

G25N besiyerinde koloniler düz, sulkat veya kırışık ve sıklıkla fasikulattır. Miselyum beyaz veya sarımsı renktedir. Ters yüzeyleri soluk veya turuncu kahvedir.

CSN besiyerinde büyüme iyidir.

Konidyaforlar şeffaf, tervetisillate ve 200-400 µm uzunluğundadır. Metula 10-15 µm ve silindirik, fiyalidler 9 µm uzunluğunda ve ampulliform' dur. Konidia küremsi veya elipsodial olabilir.

Bu türün tanımlanması Pitt' in 'A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000)' e göre yapılmıştır.



Şekil 4.3. *P.commune* A. CYA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. MEA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi E. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. . G25N 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi

***P. manginii* (Duche &R. Heim 1931)**

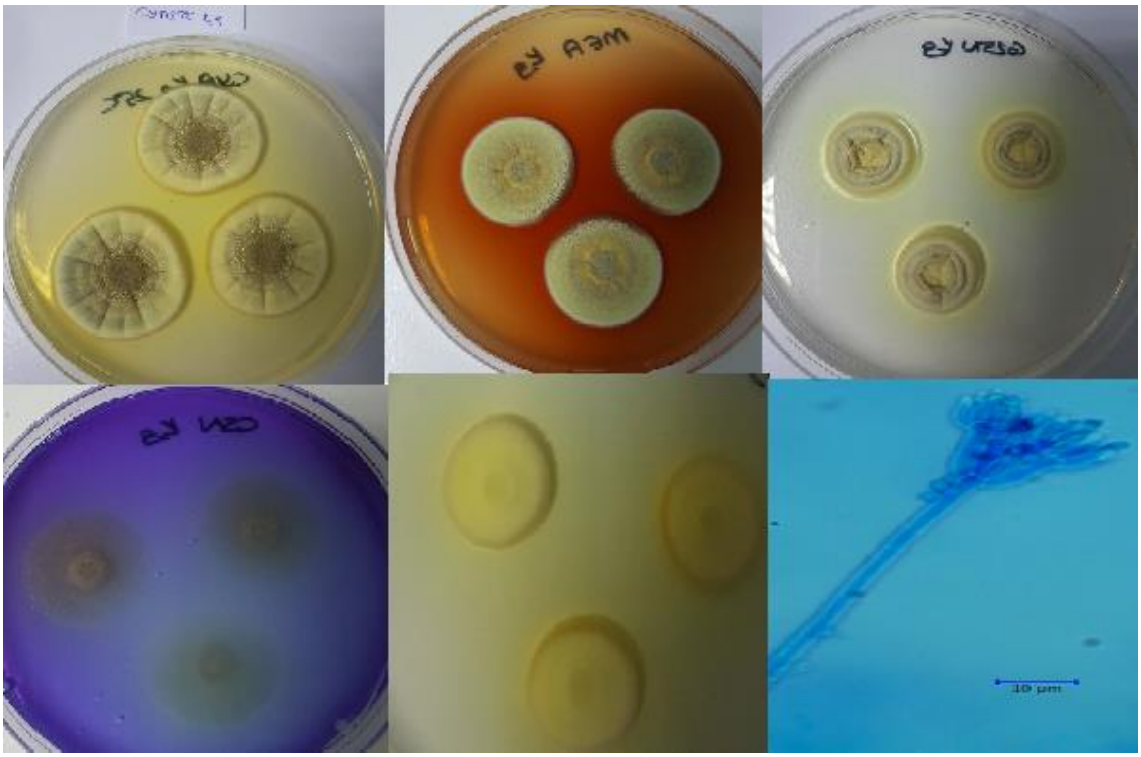
CYA besiyerinde orta dereceli büyüme görülür ve koloni çapları 28-40 mm' dir. Koloni dokusu kadifemsi, konidia gri-yeşil, miselyum açık sarı, eksuda bazı suşlarda şeffaf bazılarında sarı damlalar halinde, çözünür pigment sarıdır. Koloniler tersten turuncu veya merkezi kırmızı etrafı turuncudur.

YES besiyerinde orta derecede büyüme, konidia gri yeşil, miselyum açık sarı, güçlü çözünür kırmızı pigment, koloniler tersten siyah-kırmızı veya kırmızı kahverengidir

MEA' da gelişim değişiklik gösterir. Gelişim görülmeyebilir veya iyi gelişim gözlenebilir. Koloni yaş aldıkça yünümsü koloni dokusu görülür.

Sklerot gençken açık sarı- kahverengi ve açık renkli, yaş aldıkça turuncu kahverengine döner. Konidioforlar ağırlıklı olarak simetrik, bivertisillate; sap 200-200 µm uzunluğunda, ince pürüzlü duvarlı veya zaman zaman pürüzsüz duvarlı olabilir. Fiyalidler ampulliform, konidialar elipsodial ve pürüzsüdür.

Bu türün tanımlanması J. Houbraken, J. C. Frisvard ve R. A. Samson' un 'Taxonomy of Sectian Citrina' makalesine göre yapılmıştır.



Şekil 4.4. *P.manginii* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. manginii* mikroskobik görüntüsü

***P. ubiquetum* (Frisvard & Samson 2011)**

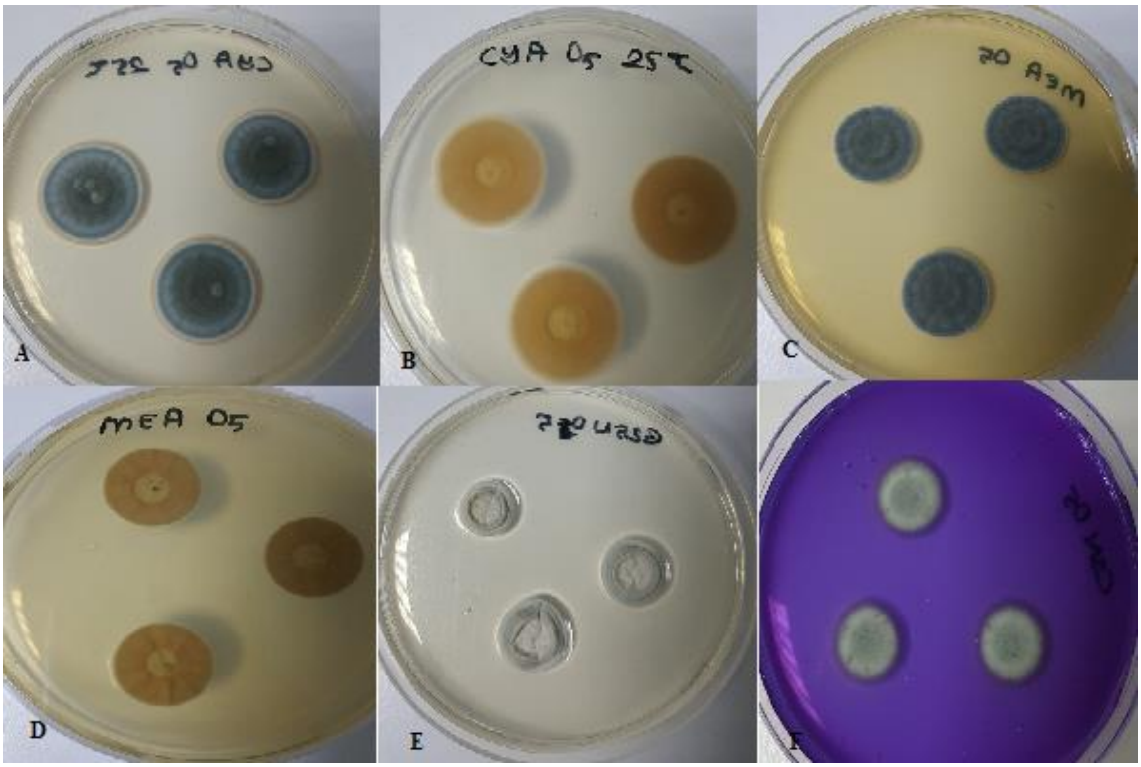
CYA besiyerinde koloni çapı 24-34 mm' dir. İyi sporülasyon, kadifemsi koloni dokusu, konidya mat yeşil veya koyu yeşil, miselyum gösterişsiz, eksuda şeffaf, çözünür pigmentler yoktur. Koloni tersten ten rengi, turuncu merkezli pembemsi ve sıklıkla turuncu pigmentlidir.

YES besiyerinde koloni çapı 30-36 mm' dir. Besiyerinde iyi sporülasyon, miselyum beyaz, çözünebilir pigmentler yoktur. Kolonilerin ters yüzeyleri turuncu tonlarda pembemsi turuncudur.

MEA' da koloni çapı 18- 26 mm' dir. Orta veya iyi sporülasyon, konidia rengi mavi-yeşil, yeşil veya mavimsi-gri yeşil veya koyu mavi yeşildir. Koloni dokusu süngerimsidir.

Sklerot yok, konidyaforlar simetrik birverticillat, sap kısa 300 µm, düzgün 2.5-4.0 µm genişliğindedir.

Bu türün tanımlanması J. Houbraken, J. C. Frisvard ve R. A. Samson' un 'Taxonomy of Sectian Citrina' makalesine göre yapılmıştır.



Şekil 4.5. *P. ubiquetum* A. CYA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi C. MEA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. MEA 25°C'de 7 günlük ters koloni morfolojisi E. G25N besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. CSN besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi.

***P.camemberti* (Thom 1906)**

Koloniler CYA besiyerinde yavaş büyür ve çapları 25-35 mm' dir. Genellikle 1 mm yüksekliğine kadar yükselmiş havasal miselleri vardır. Koloni dokusu yünümsüdür. Eksuda nadiren görülür ve beyaz damlalar halindedir. Koloniler tersten krem veya donuk sarı görünürler.

MEA besiyerinde koloniler hızlı büyür. Çapları 25-40 mm' dir. Konidyalar grimsi yeşildir. Koloniler tersten soluk veya açık sarı renktedir. Koloni dokusu kadifemsi nadiren granülar fasikulattır.

G25N besiyerinde koloni çapı 18-22 mm'dir.

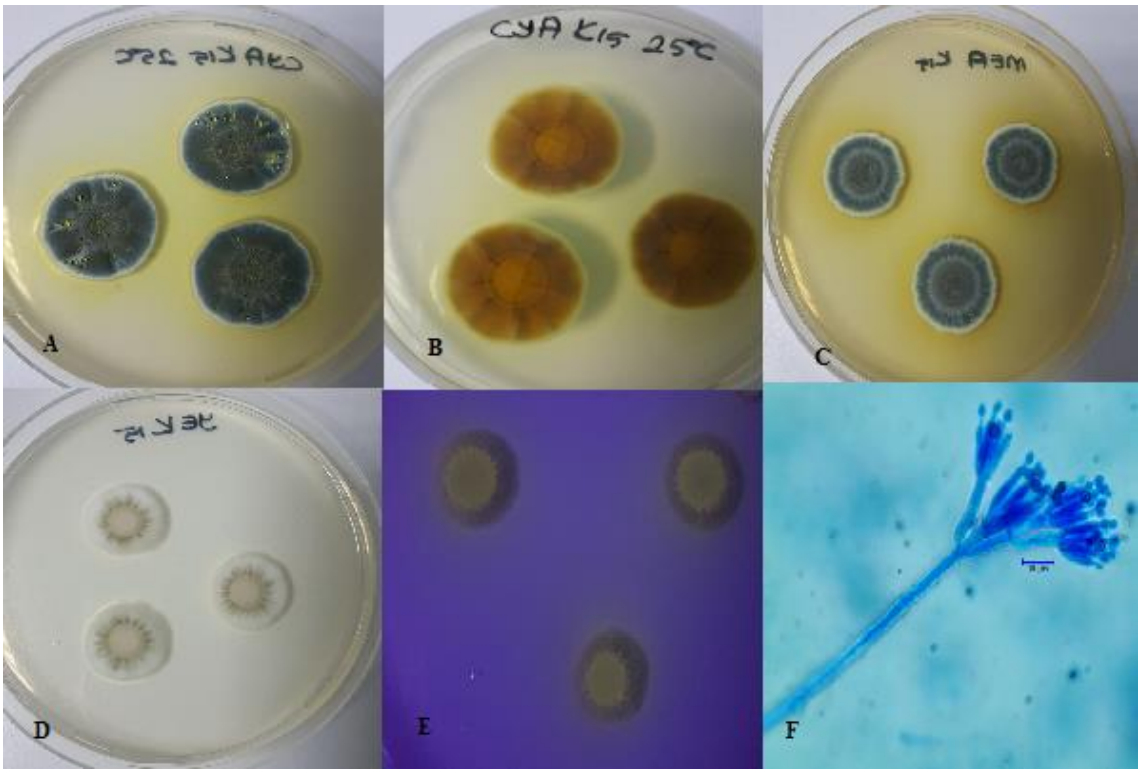
CYA besiyerinde 5ºC' de koloni çapı 3-6 mm.

CYA besiyerinde 37 ºC' de büyüme yok.

CSN besiyerinde kolonilerin çapları 15-20 mm' dir. Güçlü büyüme görülür, besiyeri yüzeyi alkalidir

Konidiaforlar havasal hiflrden doğar, sap 200-400 µm, pürüzlü veya pürüzsüz duvarlıdır. Metula 8-12 µm uzunluğunda; fiyalidler 10-12 (-15) µm ve ampülliform' dur.

Bu türün tanımlanması J. Houbraken, J. C. Frisvard ve R. A. Samson' un 'Taxonomy of Sectian Citrina' makalesi ve R. A. Samson, J. Houbraken, U. Thrane, J. C. Frisvard ve B. Andersen' in 'Food and Indoor Fungi' isimli kitaba göre yapılmıştır.



Şekil 4.6. *P.camembertii* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25ºC' de 7 günlük ters koloni morfolojisi F. *P. camembertii* mikroskobik görüntüsü.

***P. sanguifluum* (Biourge 1923)**

CYA besiyerinde 18-26 mm çapında sporulasyon orta veya zayıf düzeydedir. Kadifemsi koloni dokusu görülür. Konidya gri-yeşil, miselyum beyaz veya soluk bej, eksuda yok veya koyu kırmızı kahverengi rengindedir, çözünür pigment kırmızı renktedir. Koloniler terstten koyu kırmızı kahverengi veya kırmızıdır.

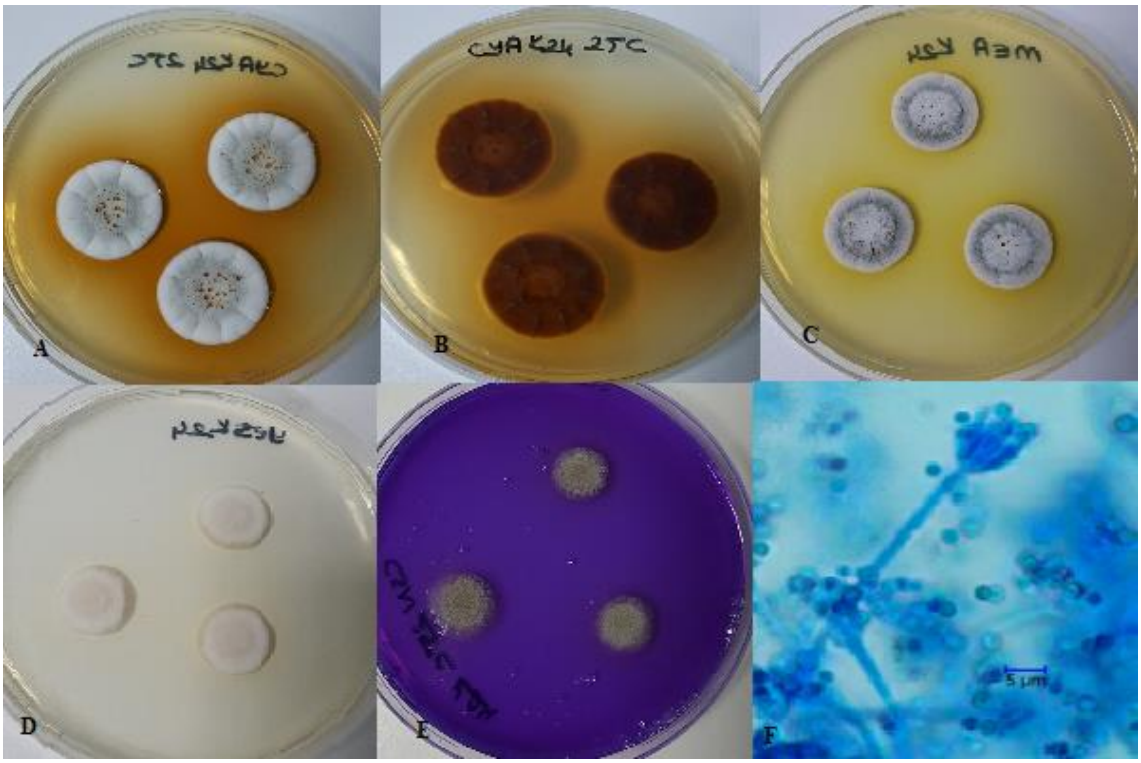
YES besiyerinde sporulasyon yok veya seyrek, miselyum beyaz, soluk beyaz veya soluk sarı. Çözünür pigment yok veya turuncu, ters turuncu, turuncu kahverengi, turuncu kırmızı merkezliveya değil.

MEA besiyerinde koloniler 17-26 mm' dir.Koloni dokusu yünümsüdür.

CSN besiyerinde 5-14 mm çapında olan kolonilerde zayıf büyüme görülür. Asit üretimi zayıftır veya görülmez.

Sklerot görülmez. Konidiyoforlar monovertisillat, kısa, 15-20 mm uzunluğundadır. Fiyalidler ampülliform, konidia globose veya subglobose'dur.

Bu türün tanımlanması J. Houbraken, J. C. Frisvard ve R. A. Samson' un 'Taxonomy of Sectian Citrina' makalesine göre yapılmıştır.



Şekil 4.7. *Psanguifluum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25ºC' de 7 günlük ters koloni morfolojisi F. *P. sanguifluum* mikroskobik görüntüsü

***Penicillium janczewskii* (K. M. Zaleski 1927)**

Koloniler CYA besiyerinde 25-32 mm, ışınsal sulkat, yoğun veya orta yoğunlukta yünümsü koloni dokusu, miselyum beyaz bazı izolatlarda soluk sarı, konidya sporulasyonun yoğun olmadığı petrilerde yeşilimsi-gri, ama yoğun sporulasyon olan petrilerde daha koyu, mat yeşil. Berrak eksuda ve çözünebilir pigment bazen üretilir. Tersten kahverengi, koyu kahverengi turuncu veya koyu kırmızımsı turuncu.

MEA besiyerinde koloni çapı 18-24 mm, radial sulkat, yünümsü koloni dokusu, miselyum beyaz veya soluk sarı, bazen soluk turuncu veya pembemsi; turuncu veya sarı çözünür pigment bazen üretilir. Koloni tersi somon rengi veya çözünür pigment varlığında koyu turuncu.

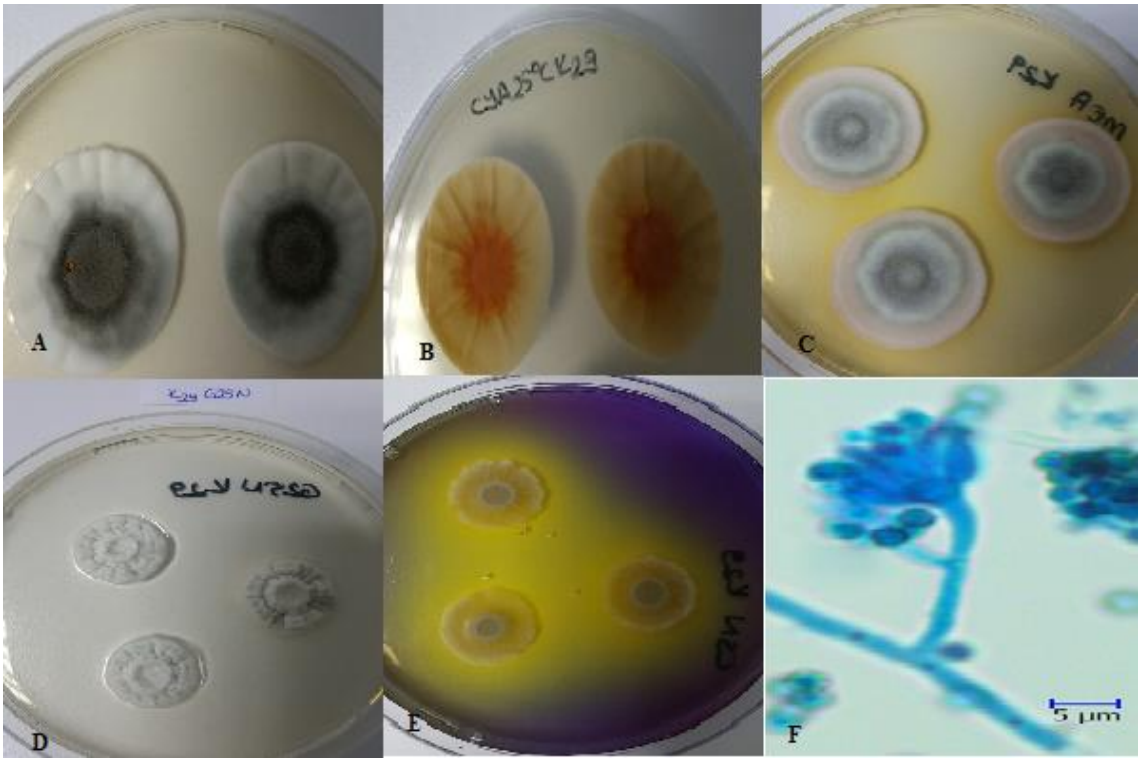
G25N besiyerinde 15-20 mm çapında, bazen 12 mm çapında. Işınsal sulkat, kadifemsi veya yünümsü koloni dokusu, miselyum beyaz- soluk sarı, tersten genellikle soluk sarı, mat kahverengi.

CYA besiyerinde 5º C' de inkübe edilen petrilerde mikrokoloni oluşabilir.

CYA besiyerinde 37° C'de tipik olarak büyüme yok ancak bazen koloniler 10 mm' ye ulaşabilir.

Konidiyoforlar havasal hiflerden doğar, ince bir sap, düzgün duvarlar ve 50-200 µm uzunluğundadır. Fiyalidler ampulliform ve 6-8 µm uzunluğundadır.

Bu türün tanımlanması Pitt' in 'A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000)' e göre yapılmıştır.



Şekil 4.8. *P.janczewskii*. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. MEA 25°C' de koloni morfolojisi, C. G25N 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi D. CSN 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi E. YES 25ºC' de 7 günlük ters koloni morfolojisi F. *P. janczewski* mikroskobik görüntüsü

***P. canescens* (Sopp 1912)**

CYA besiyerinde koloni çapı 25-35 mm, ışınsal sulkat, yünümsü koloni dokusu, miselyum tipik olarak açık gri- açık yeşil, eksuda genellikle mevcut, berrak veya koyu kahverengi çözünür pigment her zaman bulunmamakla birlikte sarımsı kahverengide olabilir. Koloni tersten koyu kahverengi, bazı izolatlarda daha soluk renkte.

MEA besiyerinde koloni çapı 15-25 mm' dir. Yünümsü koloni dokusu, miselyum beyaz, soluk açık sarı veya kahverengimsi, bazen sarı- kahverengi çözünür pigment mevcut. Tersten soluk, sarı- kahverengi, turuncu kahverengi veya koyu kahverengi.

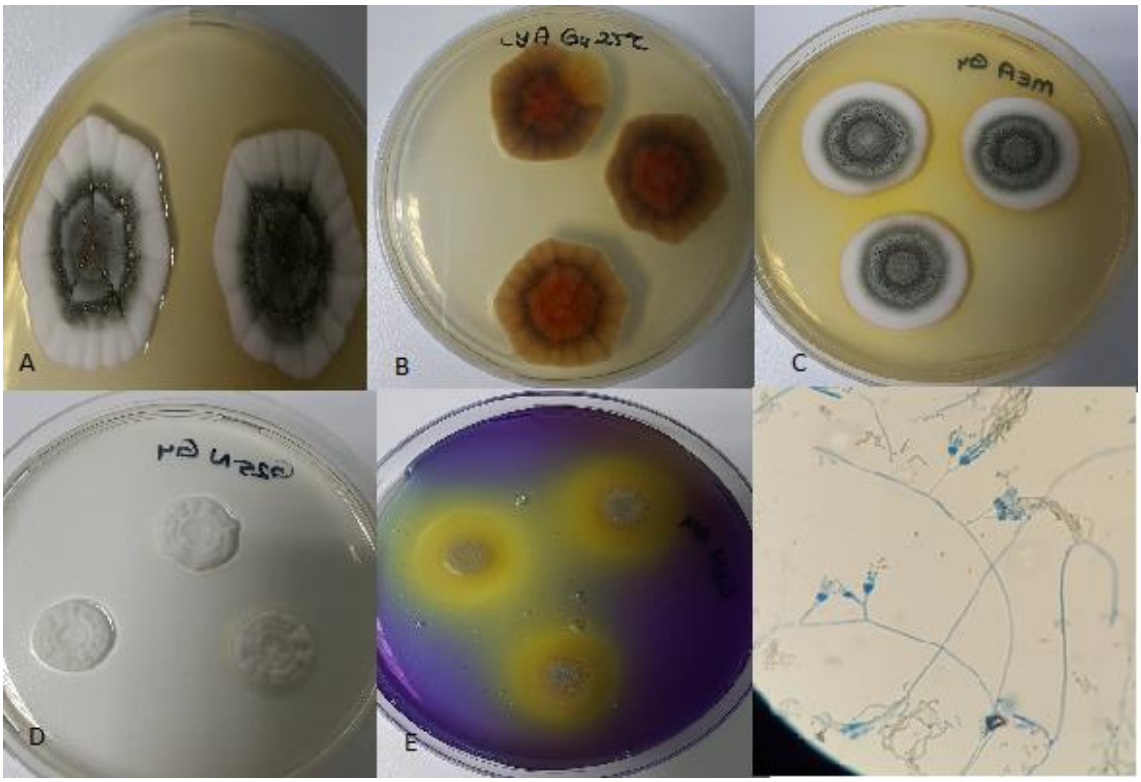
G25N besiyerinde koloni çapı 15-20 mm' dir. Sulkat veya buruşuk, kadifemsi veya hafifçe yünümsü koloni dokusu, miselyum beyaz veya krem, tersten sarı kahverengi veya koyu kahverengi.

CYA 5 ºC' de mikrokoloni oluşabilir.

CYA 37 ºC' de genellikle üreme yok, nadiren 15 mm olabilir.

Konidyofor yüzey hiflerinden doğar genellikle. Fiyalidler geniş ampulliform, 7-8 µm uzunluğunda.

Bu türün tanımlanması Pitt' in 'A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species (2000)' e göre yapılmıştır.



Şekil 4.9. *Penicillium canescens* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. canescens* mikroskobik görüntüsü.

***P.steckii* (K. M. Zaleski 1927)**

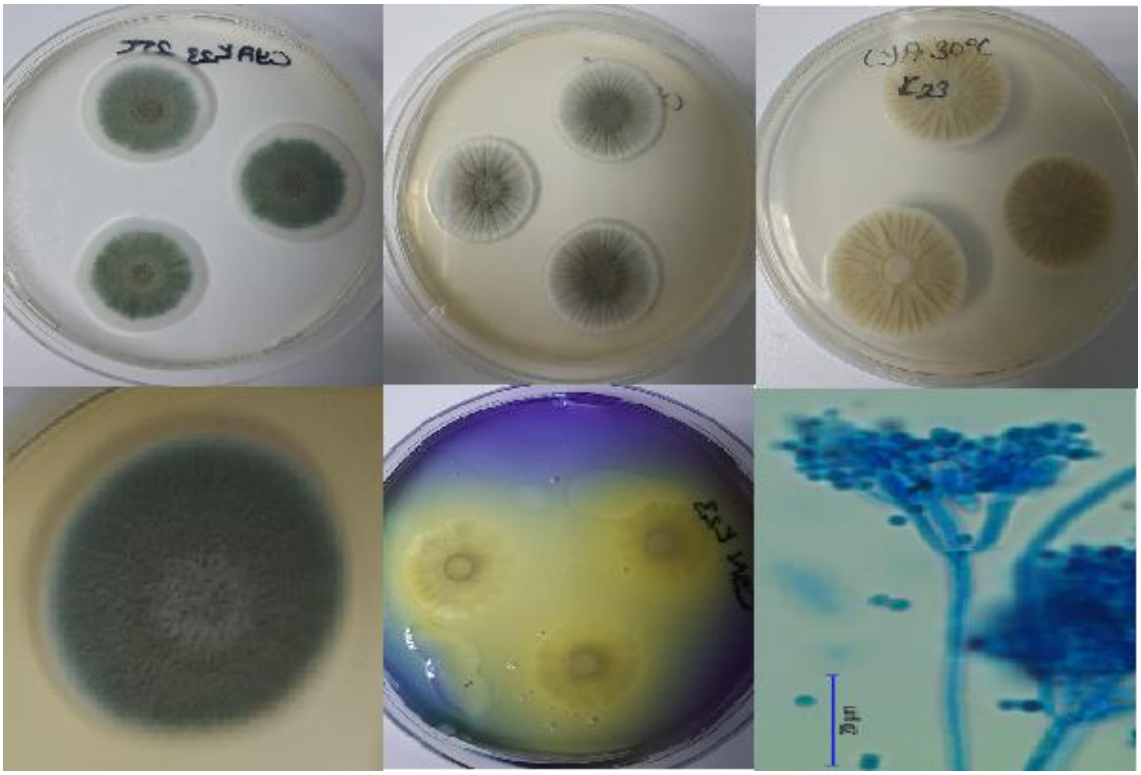
CYA besiyerinde orta veya iyi sporulasyon, kadifemsi koloni dokusu, konidya gri-yeşil, miselyum göze çarpmayan, küçük berrak veya sarı eksuda damlalar halinde, çözünür pigment yok, tersten krem renginin tonları (krem, soluk krem, sarı-krem, kahverengi krem).

YES besiortamında orta veya iyi sporulasyon koloni çapı 29-40 mm. Konidya gri-yeşil, bazen donuk yeşil, çözünür pigmentler yok, çoğu izolatların tersi sarı bazen turuncu.

MEA besiyerinde iyi sporulasyon, konidya gri yeşil veya mat yeşil, kadifemsi koloni dokusu.

Sklerot yok. Yüzey hiflerinden doğan konidyoforlar, çoğunlukla simetrik olarak bivertisillat. Fiyalidler ampulliform. Konidya genel olarak elipsoidal, bazı suşlarda hafif fusiform .

Bu türün tanımlanması J. Houbraken, J. C. Frisvard ve R. A. Samson' un 'Taxonomy of Sectian Citrina' ve Jos A., M.P. Houbroken, Jens C. Frisvard, Robert A. Samson' un ' Taxonomy of Penicillium citrinum and related species' makalesine göre yapılmıştır.



Şekil 4.10. *Penicillium steckii* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. steckii* mikroskobik görüntüsü.

***P. hirsutum* (Dierckx 1901)**

CYA besiyerinde 30- 40 mm çapında, ışınsal sulkat, yüzey dokusu tipik olarak granüler, miselyum kenarlarda beyaz, beyaz açık sarı, grimsi yeşil, mat yeşil, mavimsi sarımsı yeşil renk, eksuda genellikle koyu kızıl kahverengiye yakın violey kahverengisi bazen açık kahverengi. Çözünür pigment tipik olarak üretilir, koyu sarı-turuncu kahve bazen kırmızımsı kahverengi, tersi aynı renklerde görülür.

MEA besiyerinde 25-35 mm çapında küfler gelişir, miselyum koyu sarı, eksuda bazı izolatlar tarafından üretilir, oyu kırmızı, tersten soluk- koyu sarı yeşil veya turuncu kahverengi.

G25N 18-22 mm çapında koloniler gelişir, koloni dokusu yünümsü, miselyum beyaz veya sarı, sarı çözünür pigment genellikle üretilir, tersten parlak sarı-yeşil veya turuncu kahverengi.

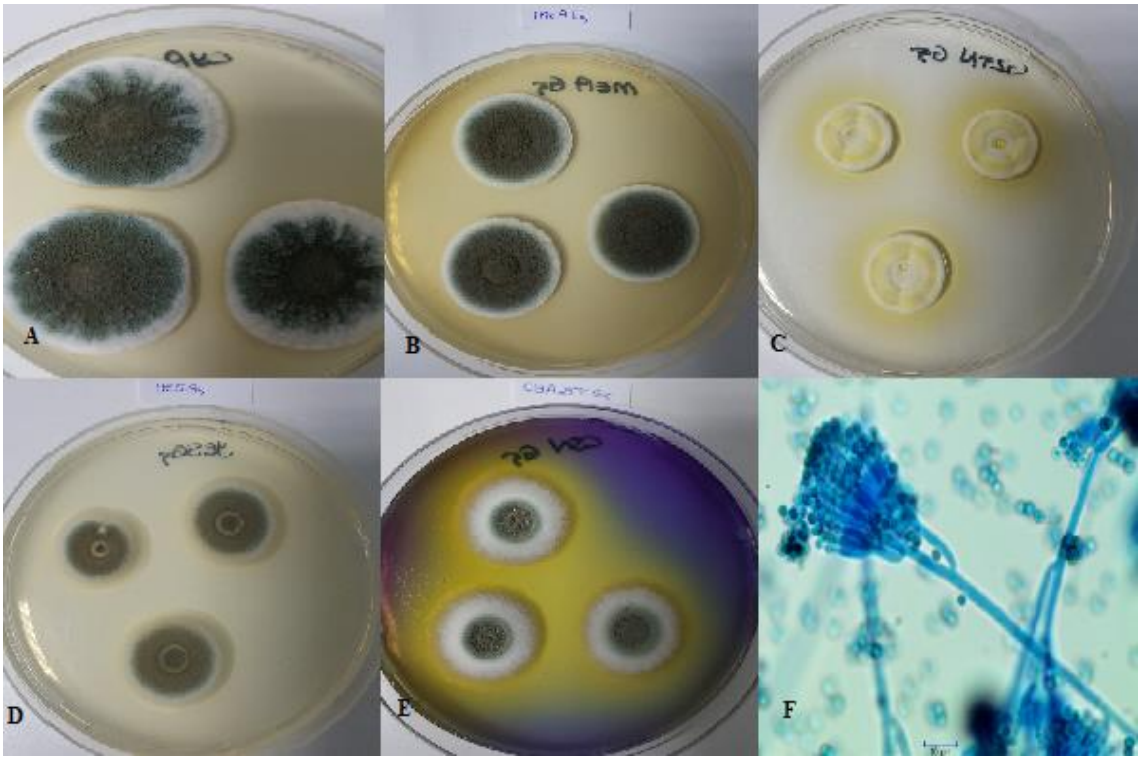
CYA 5ºC' de 2-5 mm çapında.

CYA 37ºC' de üreme görülmez.

CSN besiyerinde 24- 30 mm çapında, güçlü büyüme gözlemlenir. Asit üretimi vardır, tersten sarı bazen kahverengi pigment mevcut.

Konidioforlar çoğunlukla yüzey hiflerinden doğar, stipe 20-500 µm uzunluğunda, tervetisillat veya quatervertisillat. Fiyalidler ampulliform, düzgün duvarlı, 9-12 µm uzunluğunda.

Bu türün tanımlanması Pitt' in 'A Laboratory Guide to Common Penicillium Species (2000)' e göre yapılmıştır.



Şekil 4.11. *Penicillium hirsutum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. hirsutum* mikroskobik görüntüsü.

***P. roseopurpureum* (Dierckx 1901)**

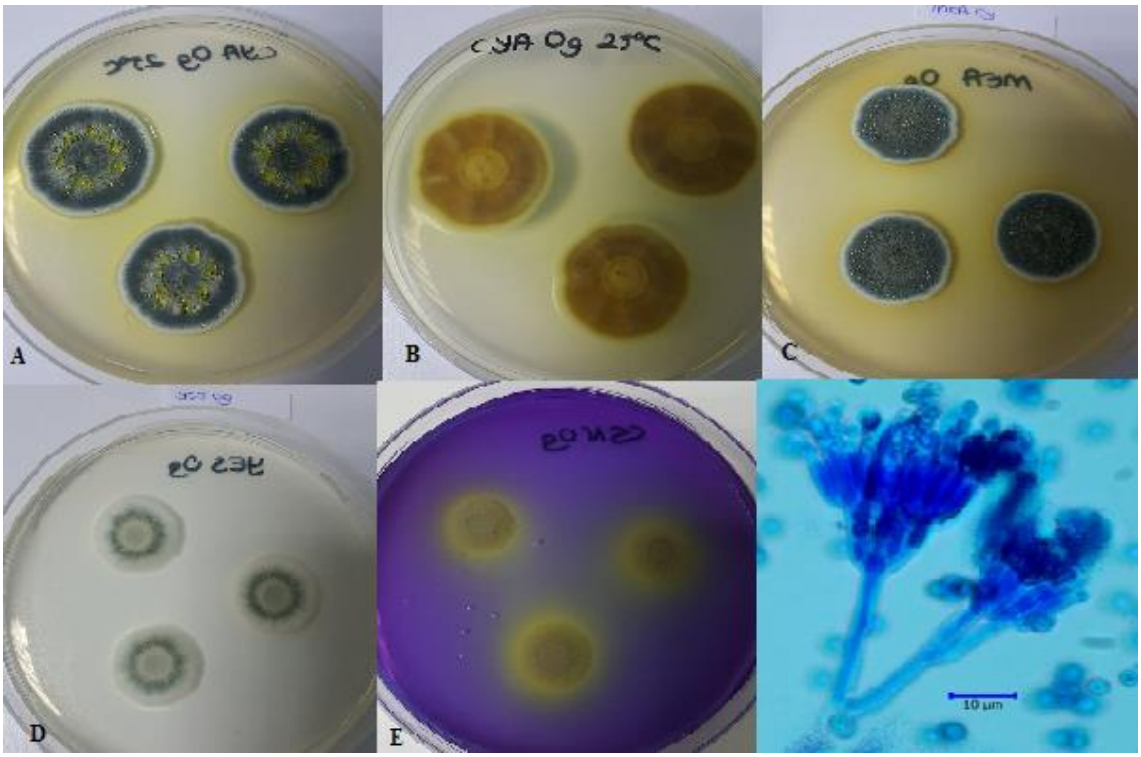
CYA besiyerinde sporulasyon yok veya seyrek koloni çapı 7- 16 mm' dir. Koloni dokusu kadifemsi, konidya gri-yeşil, miselyum beyaz veya soluk sarı, eksuda yok veya seyrek olarak koyu kırmızı kahverengi damlalar halinde, çözünür pigment turuncu, koloni tersi kahverengi (kırmızı kahverengi, karamel veya sarı kahverengi)

YES besiyerinde sporulasyon değişken veya zayıf, koloni çapı 12- 18 mm. Miselyum beyaz veya soluk sarı, çözünür pigment yok veya sarı kahverengi, tersten kırmızı- kahverengi merkezli etrafı sarı, turuncu-kırmızı veya sarı.

MEA besiyerinde seyrek sporulasyon, koloni çapı 9-19 mm. Zamanla gri-yeşil, koloni dokusu kadifemsi veya yünümsü.

Sklerot yok. Konidyofor gençken monovertisillat, yaşla birlikte bivertisillat. Ana konidyoforun uzunluğu 50- 150 µm. Fiyalidler ampulliform. Konidyolar globose veya subglobose.

Bu türün tanımlanması J. Houbraken, J. C. Frisvard ve R. A. Samson' un 'Taxonomy of Sectian Citrina' makalesine göre yapılmıştır.



Şekil 4.12. *Penicillium roseopurpureum* A. CYA 25°C' de 7 günlük koloni morfolojisi B. CYA 25°C' de 7 günlük ters koloni morfolojisi, C. MEA 25°C'de 7 günlük koloni morfolojisi D. G25N besiyerinde 25ºC'de 7 günlük koloni morfolojisi E. CSN besiyerinde 25ºC' de 7 günlük koloni morfolojisi F. *P. roseopurpureum* mikroskobik görüntüsü

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Toprak bünyesinde birçok canlıyı özellikle çeşitli mikroorganizmaları barındıran karmaşık bir ortamdır. Mikroorganizmaların topraktaki ortalama sayıları, ortam şartlarına bağlı olarak çeşitlilik gösterir. Ortam şartları; toprağın organik madde miktarı, toprak profilinin yapısı, üzerindeki bitki örtüsü, pH, nem miktarı, sıcaklık, su tutma kapasitesi, içeriğindeki fosfor ve potasyum miktarı, yılın mevsimleri' dir. Yüksek O_3, CO_2 veya N seviyesine maruz kalmasında durumunda orman topraklarındaki bakteri ve mantar etkinliklerinin değişebileceği ile ilgili rapor ortaya çıkmıştır. Toprak mantarları, topraklarda bakterilere kıyasla yaklaşık 100 kat daha az olmasına rağmen daha büyük bir biyokütleye sahiptir [78,21].

Fungal popülasyon toprak yüzeyinde her daim daha yüksektir. Bu durum daha yüksek miktarda karbon, daha yüksek havalandırma ve daha fazla nemin yani fungusların taleplerini karşılayan şartların toprak yüzeyinde daha çok sağlanmasından kaynaklanır. Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da yüzey katında mantar sayısını daha fazla olduğunu ve toprak derinliği arttıkça sayının azaldığını göstermiştir. Bizde bu çalışmaların ışığında örneğimizi toprağın 10 cm derininden aseptik şartlarda aldık. Orman toprağında bulunan *Penicillium* türlerinin izolasyon işlemi icin Waksman'ın '' Toprağı Sulandırma Yöntemi'' kullanılmıştır. Bu yöntem fungusların izolasyonunda en çok kullanılan ve en iyi sonuç veren yöntemdir [21, 79].

Toprak pH sı, organik içerik, su fungal çeşitliliği ve popülasyonu etkileyen ana faktördür. Organik karbon, nitrojen, fosfor ve potasyum mantarlar için önemlidir. Bunlardan birinin yokluğunda küflerin büyüme ve sporulasyonunu etkilediğini ortaya koymuştur. Mantar popülasyon yoğunluğunun, muson mevsiminde, toprak nemi önemli

derecede yüksek olduğu zaman meydana geldiği bildirilmiştir. pH, nem sıcaklık, organik azot gibi çevresel faktörlerin mikroflora dağlımında önemli rol oynadığını bildirmişlerdir [2].

Ahmet Asan ve Ömer Kara yapmış olduğu çalışmada; toprak profilindeki mantarların sayısının, tüm bölgelerde üstten alta doğru sürekli olarak azaldığını bildirmişlerdir. Tipik olarak A_1 horizonunda organik madde ve nem gibi faktörler ile orantılı olarak toprak mantar sayıları daha fazla bulunmuştur. Çam ormanlarındaki mantar bolluğu yaprak döken ormanlardan düşüktür. Bunun nedeni iki faktör ile açıklanmıştır. Bunlardan birincici çam ormanlarnın A_1 horizonundaki organik madde içeriğinin daha az olması iken ikincisi çam döküntülerinin kimyasal bileşimidir. Önceki çalışmalar (Christen, 1969; Jensen 1974) toprağa giren döküntü türüne göre mikrobiyal kominitenin değiştiğini tespit etmiştir. Yapılan çalışmada *Penicillium* türlerinin belirgin bir şekilde bol olduğu ve toplam taksonlardan daha yüksek oranda bulunduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde Christensen' de *Penicillium* türlerinin kuzeyyarım küredeki orta enlemlerde önemli bir cins olduğunu ve toplam mantar türlerinin %27-49' unu oluşturduğunu belitmiştir. Yapılan çalışmalar farklı ağaç türlerinin mantar toplulukları arasında bir fark olduğunu ortaya koymuştur. A_1 horizonunun aksine toprakaltı mantar topluluğunda en yüksek benzerliğin çam ve meşe ormanı arasında olduğu ve bununda kısmen açılanabilir olduğunu bulmuştur, aşağıya sızan organik bileşiklerin kimyasal farklılıklarından dolayı. Ağaç türlerine bağlı olarak, döküntülerden çıkan maddelerin sızıntılarında farklılıklar vardır. Yüzay katmanının lignin ve diğer polifenolik bileşiklerin yüksek konsantrasyonu, iğne çöpünün parçalanmasını zorlaştırıken, yaprak çöpleri kolayca süzülüp ayrışan suda çözünür bileşikler içerir; şeker, aminoasit ve alifatik asitler. Önceki çalışmalar ağaç örtüsünün, orman toprağı özelliklerini belirleyen en önemli faktörlerden biri olduğunu göstermiştir. Bizim araştırma sahamızda ise iğne yapraklı ağaçlar seyrek olarak bulunurken yaprak döken geniş yapraklı ağaçların yoğunlukta olduğu gözlenmiştir [15, 80, 81]

Ayşe Dilek Azaz Bandırma Kuşcenneti Milli Parkından alınan 15 toprak numunesinden toprağı seyreltme plaka ve yıkama yöntemi ile 199 fungal izolat elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda en yüksek tür çeşitliliğine sahip olan cins 16 tür ile *Penicillium'* dur [82].

A.Dilek Azaz, İsmet Hasenekoğlu Göktaş Bakır Fabrikası' nın kirlettiği alanların mikrofungus florası ve bunun normal ormal toprağı florası ile karşılaştırılması üzerine bir araştırma yaparak Göktaş Bakır Fabrikası civarındaki toprakların mikrofungus florasını kalitatif ve kantitatif olarak incelemiştir. Yaptığı çalışma sonucunda 62 tür ve varyete elde etmiştir. Araştırma alanı topraklarında tür sayısı en zengin cins kış aylarında % 20.445 ile *Penicillium* cinsine aittir [83].

Öner (1973) Atatürk Üniversitesi Erzurum Çiftliği Eğerli dağı kuzey yamacı mikrofungus mikrobiyotası ile alakalı olarak yapmış olduğu çalışmada 74 mikrofungus türü izole etmiştir. Bu çalışmada *Penicillium sp, Fusarium sp* ve *Aspergillus sp* türleri en yaygın türlerdir [84].

Hasenekoğlu (1980) Sarıkamış civari orman, çayır ve tarlaların mikrofungus florasını tespit etmek amacıyla ' Toprağı Sulandırma Yöntemi' ile çalışma yapmıştır. Çalışma sonucunda *Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Mucor, Paecilomyces* ve *Trichoderma* cinslerinin en yaygın cinsler olduğunu ortaya koymuştur. Yaptığı çalışmada tüm araştırma sahasında tür sayısı bakımından da cins sayısı bakımındanda en yaygın cinsin *Penicillium* olduğunu belirtmiştir [85].

Hasenekoğlu(1982), Erzurum et kombinası civarındaki kirlenmiş toprakların mikrofungus popülasyonunu incelemiş Çalışma sonucunda *Penicillium* cinsine ait türlere sıklıkla rastladığını belitmiştir [86].

Hasenekoğlu ve Sülün (1991) Erzurum Aşkale Çimento Fabrikasının Kirlettiği toprakların mikrofungus mikrobiyotasını saptamak amacıyla çalışma yapmıştır. Çalışmada ' Toprağı Sulandırma Yöntemi' kullanarak 37 farklı mikrofungus izolatı elde etmiştir. *Penicillium sp, Aspergillus sp, Clodosporium, Geomyces sp Beaueria sp* en yaygın türlerdir. Kirliliğin olmadığı topraklarda çalışma alanından alınan örneklere nazaran daha zengin flora tespit etmiştir [87].

Hasenekoğlu ve Azaz (1991) yılında Sarıkamış civarındaki traşlanmış orman alanları topraklarının mikrofungus florasını ve bunu normal toprak florası ile karşılaştırmıştır. Çalışma sonucu 87 ayrı mikrofungus izolatı elde etmiş, her iki alandada *Penicillium spp* ilk sırayı alırken sırasıyla *Acremoniumsp, Aspergillus sp, Trichoderma spp, Cladosporium spp* türleri takip etmişti [88].

Sülün ve Hasenekoğlu (1993) Kuzey Anadolu Bölgesi topraklarının *Aspergillus* ve *Penicillium* Florasını araştırmıştır. Toprağı Sulandırma Yöntemi ile yaptığı

çalışmada 270 istasyondan alınan örneklerden toplamda 40 farklı mikrofungus türü izole etmiştir. Bunlarda 21 tanesi *Penicillium* cinsine aitteken, 19 tanesi *Aspergillus* cinsine aittir. *Penicillium* türleri çeşitlilik ve frekans açısından *Aspergillus* türlerine oranla daha zengin bulunmuş [89].

Yapılan çalışmalara göre *Penicillium* cinsine ait türlerin toprakta diğer türlere göre daha çok bulunduğu ve en yüksek oranın kış aylarında görüldüğü tespit edilmiştir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmayı çeşitli faktörler ve mevsim etkili olmuştur.

Gelişen teknolojinin mikrobiyoloji alanında bizlere sunduğu en önemli yeniliklerden birisi moleküler tanımlama yöntemleridir. Moleküler tanımlama yöntemlerine yenilerinin eklenmesi, çeşitli amaçlarla yürütülmekte olan bilimsel çalışmalara çok önemli katkı sağlamaktadır. Bu yöntemlerin bu denli kullanılmasını sağlayan faktörler maliyet ve deneyimli personel ihtiyacıdır. Bu sebeple ülkemizde de bu yöntemlerin bilimsel çalışmalarda kullanılması hız kazanmıştır. Bizde yapmış olduğumuz çalışmada moleküler yöntem kullanarak sonuçlarımızı daha güvenilir hale getirmeyi amaç edindik. [90].

1990’ lı yıllarda, DNA sekanslama, taksonomistler için en güçlü araçlardan biri haline geldi. Çünkü standartize kültür rejimine ihtiyaç duymadan türler arasındaki ilişkileri çıkartmak için fırsattı. Mantarların dahili transkripsiyonlu spacer r DNA alanı ITS idi. ITS mantarların en yaygın şekilde dizilenen işaretleyicidir ve evrensel primerler mevcuttur. Ancak *Penicillium* ve diğer birçok Ascomycotes için ITS yakından ilişkili tüm türlerin ayırt edilmesi için yeterince değişken değildir [3]

John W. Taylor ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre ITS 1 ve ITS 2 bölgeleri, yaygın gıda kaynaklı *Penicillium* türlerinin taksonomik, ekolojik ve fizyolojik verilerini desteklemek için kullanılanilecek bilgileri içermektedir, ancak ITS değişkenliğinin derecesi, tüm bu yakından ilişkili olan türlerin ayrılmasını kolaylaştırmak için düşüktür. Diğer genlerden gelen ilave dizi verileri, tervetisillate *Penicillium* arasındaki filogenetik ilişkileri kurmak için yeterli karakter sağlayabilir [91].

Penicillium cinsinde bir tür işaretleyicisi olarak ITS ile ilgili sınırlamalar nedeniyle, izolatları tür düzeyine göre tanımlamak için genellikle ikincil bir barkod veya tanımlama işareti gereklidir. Bu işaretleyici filogenetik araştırmalar için kullanışlı

olmalıdır. Kritere uygun olarak *Penicillium* cinsi için ikinci tanımlama markerı olarak β tubulin önerilmektedir. Ancak bu bölge ile de problemler yaşanmaktadır [3].

Diğer olası ikincil işaretleyici seçenekleri arasında calmodulin veya RNA polimeraz II ikinci en büyük alt birin genleri RPB2 bölgeleri vardır. Gen β tubulin ile aynı ayrımcı güce sahiptir. RPB2 filogenide kullanıldığında amplikanda intron içermeyen ek avantaja sahiptir ve filogenide kullanıldığında sağlam ve kolay hizalamalara izin verir ancak bazen amplikasyonu zordur ve veritabanı eksiktir. Aynı şekilde calmodulin için iyi bir veritabanına sahip değiliz. Bu nedenle ITS bölgesinin yanı sıra rutin kullanımda β tubulin tavsiye edilirken, yeni türlerin tanımı için ITS, β tubulin, Cam ve RPB2 kullanımı önerilmektedir [3].

J. Haubroken ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre ITS veri seti β tubulin ve calmodulin veri setinden daha az farklılık gösterdi ve *P. tropicum* ve *P. tropicoides'* in ITS bölgeleri arasında fark yoktu [92].

Soner Özdil yapmış olduğu çalışmada filogenetik çalışmalarda protein kodlayan genlerin kullanıldığını ve bu genlerin çok değişken intron bölgeleri içerdiğini belirtmiştir. Bu genlerden en çok kullanılanları elangation factor 1, calmodulin, β tubulin, actin ve histone genleridir. Bu genler türler arasında ITS bölgesine göre daha fazla değişkenlik gösterir ve bu nedenle türlerin teşhisinde daha kullanışlıdır [65].

Elçin Tüney yaptığı çalışmada örnekleri cins düzeyinde 3 farklı gruba ayırmış ve A grubunda actin ve ITS, B grubunda β tubulin ve ITS, C grubunda ise actin ve B tubulin gen bölgelerini araştırmıştır. Yaptığı çalışmada β tubulin gen bölgesi ile 14 *Penicillium* cinsine ait tür tespit ederken ITS gen bölgesi ile aynı grupta 25 adet *Penicillium* cinsine ait tür tespit etmiştir [93].

Yapılan bu çalışmada ITS bölgesi ile *P. chrysogenum, P.citrinum, P. commune, P. manginii, P. ubiquetum ve P. camemberti* türleri ITS bölgesi ile moleküler olarak problemsiz şekilde tespit edilmiş ve çalışma morfolojik çalışmalar ile de desteklenmiştir. K29, G4, G5 ve O9 kodlu izolatların moleküler tespitinde ITS bölgesi yeterli olmamış türlerin tanımlanması morfolojik veriler kullanılarak yapılmıştır.

O9 kodlu izolatta moleküler sonuç bize türün aynı oranda *P.sanguifluum* ve *P. ubiquetum* olabileceğini verdi ve türün tanımlanmasında CYA petrileri 30°C' de 7 gün inkübasyona bırakıldı. *P. sanguifluum* 30°C ısıda 7 günde 13 mm ulaşabildiği halde *P. ubiquetum* 30°C' de gelişim göstermez [94].

K29 ve G4 kodlu izolatların moleküler verileri aynı quary cover, ident ve max. skor ile *P. canescens, P. murcianum* ve *P. janczewski* türlerini vermiştir. Bu izolatların teşhisinde morfolojik verilerden yararlanılmıştır. *P. canescens* ve *P. janczewski* eşit koşullarda aynı oranda büyür, aynı pigmentleri üretir ancak *P. canescens'* in daha koyu pigmenti olabilir ve *P. canescens'* in P. *janczewski* ye göre daha uzun bir sapı vardır [94].

Stephen Peterson isimli çalışan *P.spinulosum, P. glabrum, P. montanense, P. purpurascens* türlerinin r DNA sekans datalarının birbirine çok yakın olmasına rağmen 4-8 nükleotid ile farklılık gösterdiğinden farklı türler olarak tanımlayabilmiştir. *P. thomii- Eupenicillium lapidosum* ile morfolojik olarak farklı olmasına rağmen DNA sekansları farklılık içermez. Bu nedenle yapılan çalışmaların hem morfolojik hem moleküler çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir [65].

Çalışmayı bir adım daha ileriye götürmek amacıyla incelenilen ITS bölgesi dışında, cinse özgü spesifik alternatif bir bölgenin incelenmesi çalışmayı daha ileriye taşıyabilir.

KAYNAKLAR

[1] Tanveer Hussain, M. Ishiaq, Shehzad Azam, Waheeda Jawad, Irfan ul Haq, ***Comparative Analysis of Air, Soil and Water Mycoflora of Samahni Area, District Bhimber Azad Kashmir, Pakistan,*** African Journal of Microbiology Research, 8, 23, 2229-2306, 2014.

[2] Vinay Kumar, Udit Yadav, Ankit Kumar, ***Isolation and Identification of Soil Mycoflora From Different Populated Area of Bareilly City***, Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 4, 7, 151-156, 2015.

[3] C. M. Visagie, J. Houbraken, J. C. Frisvard, S. -B. Hong, C. H. W. Klaassen, G. Perrone, K. A. Seifert, J. Varga, T. Yaguchi, R. A. Samson, ***Identification and Nomenclature of The Genus Penicillium,*** Studies in Mycology, 78, 343-371, 2014.

[4] Mahdi Abastabar, Hossein Mirhendi, Mohammad Taghi Hedayati, Tahereh Shokohi, Ali Rezaei- Matehkolaei, Rasoul Mohammadi, Hamid Badali, Maryam Moazeni, Iman Haghani, Aynaz Ghojoghi, Javad Akhtari, ***Genetic and Morphological Diversity of the Genus Penicillium From Mazandaran and Tehran Provinces,*** Jundishapur Microbial, 9, 1, 1-7, 2016.

[5] M. E. Zain, A. A. Razak, H. H. El-Sheikh, H. G. Soliman and A. M. Khalil, ***Influence of Growth Medium on diagnostic characters of Aspergillus and Penicillium species,*** African Journal of Microbiology Reserch, 3,5,280-286, 2009.

[6] K. L. Tiwari, S. K. Jadhav and Ashish Kumar, ***Morphological and Molecular Study of Different Penicillium Species,*** Middle- East Journal of Scientific Research 7, 2, 203-210, 2011.

[7] Keeton, Gold, ***Genel Biyoloji***, Palme Yayıncılık, Ankara, 2007.

[8] Ahmet Asan, ***Tıpta Önemli Mantarların Filogenetik Sistematiği,*** İnfeksiyon Dergisi, 21, Ek, 021-031, 2007.

[9] David L. Hawksworth and Amy Y. Rossman, ***Where All the Undescribed Fungi ?,*** Phytopathology, 87, 9, 888-891, 1997.

[10] Ahmet Asan, Suzan Sarıca Ökten, Burhan Şen, ***Airborne and Soilborne microfungi in the vicinity Hamitabat Thermic Power Plant in Kırklareli City (Turkey), Their Seasonal, Distributions and Relations With Climatological Factors,*** Environmental Monitoring And Assessment, 164, 1- 4, 221- 231, 2010.

[11] Muhammad Suhaıl, Shaısta Akhund, Tahıra Jatt, A. M. Mangrıo, Hıdayatullah Abron, ***Isolation And Identification of Penicillium spp., From The River Indus Bed at Kotri,*** Pakistan Journal of Botany, 38, 4, 1289-1292, 2006.

[12] Shivakumar P. Banakar, B. Thippeswamy, B. V. Thirumalesh, K. J. Naveenkumar, ***Diversity of Soil Fungi in Dry Deciduous Forest of Bhadra Wildlife Sanctuary, Western Ghats of Southern India,*** Journal of Forestry Research 23,4, 631−640, 2012.

[13] James J. Hoorman, ***The Role of Soil Fungus***, The Ohio State University Extantion, 1-6, 2011.

[14] Ramise Demirel, Selma İlhan, Ahmet Asan, Engin Kınacı, Setenay Öner, ***Microfungi in Cultivated Fields in Eskişehir Provience***, Journal Of Basic Microbiology, 45, 4, 279- 293, 2005.

[15] Ömer Kara, Ahmet Asan, ***Microbial Community Structure From Forest Soils in Northern Thrace Region, Turkey,*** Annals of Microbiology, 57, 2, 149- 155, 2007.

[16] Amy Ross Davis, Jane E. Stewart, Matt Settles, John W. Hanna, John D. Shaw, Andrew T. Hudak, Deborah S. Page- Dumroese, Ned B. Klopfenstein, ***Fine Scale Variability of Forest Soil Fungal Communities in Two Contrasting Habitat Type Series in Northern Idaho, USA Identified With Microbial Metagenomics,*** Proceedings of the 63rd Annual Western International Forest Disease Work Conference, 145- 149, 2015.

[17] Ling- Ling Shi, Peter E. Mortimer, J. W. Ferry Slik, Xiao- Ming Zou, Jianchu Xu, Wen- Ting Feng, Lu Qiao, ***Variation in Forest Soil Fungal Diversity Along a Latituedinal Gradient,*** Fungal Diversity, 64, 1, 305- 315, 2014.

[18] Heribert Insam, ***Developments İn Soil Microbiology Since The Mid 1960s,*** Geoderma, 100, 3-4, 389-402, 2001.

[19] Nur Okur, ***Toprak Mikrobiyolojisinin Türkiye' de Dünü Bugünü Yarını,*** Toprak Bilimi ve Beslenme Dergisi, 1, 1,9-12, 2012.

[20] Koray Haktanır, Sevinç Arcak, ***Toprak Biyolojisi***, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 1997.

[21] W. Gams, H.A. van der Aa, A.J. van der Plaats-Niterink, R.A.Samson, J.A. Stalpers***, CBS Course Of Mycology***, Intistute of the Royal Netherlands Academy of Sciences and Letters, Hollanda, 1980.

[22] Semra İlhan, Ahmet Asan, ***Soilborne Fungi in Wheat Fields of Kırka Vicinity (Eskişehir- Turkey)***, Biologia, 56, 4, 363-371, 2001.

[23] Ahmet Asan, Sanver Ekmekçi***, Contribution To The Colonial And Morphological Characteristics of Some Aspergillus Species Isolated From Soil,*** Journal of Faculty of Science Ege University, 25, 1, 121-139, 2002.

[24] Ayşe Dilek Azaz, ***Isolation Of Soil Borne Fungi İn Fields İrrigated By GAP İn Harran Plain Using Two Isolation Methods,*** Turkish Journal Of Botany, 27, 2, 83-92, 2003.

[25] Ahmet ASAN, I. Ulusal Mikoloji Günleri Kurs El Kitabı, 2014.

[26] Sabri Sümer, ***Genel Mikoloji***, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 2006.

[27] H.L. Barnett, Barry B. Hunter, ***Illustrated Genera Of Imperfect Fungi,*** The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 1999.

[28] Yeliz Aka Özmay, Adana'daki Ev Dışı (Outdoor) ***Fungusların İzolasyonu, İdentifikasyonu, Mevsimsel Dağılımı Ve Alerjik Hastalıklarla Olan İlişkilendirilmesi,*** Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.

[29] A.Üsame Tamer, Fahrettin Gücin, M.Halil Solak, ***Mikolojiye Giriş***, Manisa, 2009.

[30] Kevin Kavanagh, ***Fungi Biology and Applications***, John Wiley&Sons, 2011.

[31] Ayşegül Yoltaş***, İzmir İli Ve Çevresinde Satışa Sunulan Tahıl Gevreği Ve Müslilerin Küf İzolasyonu Ve Küflerin Tanımlanması,*** İzmir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.

[32] http://95.9.94.134:2626/edirneweb/dosyalar/edirnesanayienvanteri.pdf

[33] http://investinedirne.org.tr/uploads/docs/16012014NO7AF0.pdf

[34] http://www.edirne.bel.tr/s/genel-bilgi-8.html

[35] http://www.trakyanet.com/trakya/edirne/edirne/220-bitki-ortusu-iklim.html

[36] Suzan Ökten, ***Edirne Devlet Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisinin Ve Polikliniğinin İç Ve Dış Ortamında Havayla Taşınan Fungus Ve Bakteriler,*** Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktara Tezi, 2008.

[37] http://www.edirnekentormani.com/Edirne-Kent-Ormani/

[38] Candice Leigh Johnston, ***İdentification of Penicillium Species in the South Afrika litchi export chain***, Pretoria Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Master Tezi, 2008.

[39] Cobus M. Visagie***, Biodiversity in the Genus Penicillium From Coastal Fynbos Soil,*** Stellenbosch University, 2008.

[40] Pitt, J. I., ***A laboratory guide to common Penicillium species***, Food Science, Australia, 2000.

[41] Ana Lucia Leitao, ***Potential of Penicillium Species İn The Biomediation Field,*** International Journal of Environmental Research and Public Health, 6, 4, 1393-1417, 2009.

[42] Mohamed Refai, Heidy Abo El- Yazid, Wael Twakkol***, Monograph on Genus Penicillium,*** 2015.

[43] Jens. C. Frisvard, Robert A.Samson, ***Polyphasic taxonomy of Penicillium Subgenus Penicillium A Guide To İdentification Of Food And Air-borne terverticillate Penicillia and their mycotoxins***, Studies in Mycology, 49,1-174, 2004.

[44] Nurcan Bahadır***, Bazı Fungal Türleri Standart ve İçeriği Değiştirilmiş Besiyerlerindeki Mikroskobik Ve Makroskobik Yapılarının İncelenmesi,*** Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Emstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009.

[45] Kenneth B. Raper, Charles Thom, ***A manual of Penicillia*** The Wiiliams& Wilkins Company, Amerika, 1949.

[46] Michael J. Carlile, Sarah C. Watkinson , Graham W. Gooday, ***The Fungi,*** Academic Press, İngiltere, 2001.

[47] Ibatsam Khokhar, Rukhsana Bajwa, Ghazala Nasim, ***New Report Of Penicillium implicatum Causing a Postharvest Rot of Pomegranate Fruit in Pakistan,*** Australasian Plant Disease Notes, 8, 1, 39-41, 2013.

[48] Klaus Pichhardt, ***Gıda Mikrobiyolojisi***, Literatür Yayıncılık, İstanbul, 2004

[49] Ali Reza Khosravı, Mojgan Sheıkhkaramı, Hojjatollah Shokrı, Azar Sabokbar, Genetik Variability, ***Of Citrinin Producing Penicillium Citrium Strains As Occupational Health Hazarts İn Northern İran,*** Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 63, 4, 489-496, 2012.

[50] Nabaraj Banjara, Mallory J. Suhr, Heather E. Hallen Adams, ***Diversity Of Yeast And Mold Species From Variety Of Cheese Types,*** Current Microbiology, 70, 6, 792-800, 2015.

[51] M.A.Tajick Ghanbari, H.Seid Mohammadkhani, V. Babaeizad, ***Identification Of Some Secondary Metabolites Produced By Four Penicillium Species***, Mycologia Iranica, 1, 2, 107-113, 2014.

[52] Sean P. Abbott Ph D., ***Mycotoxins and İndoor Molds***, Indoor Environment Connections, 3, 4, 14-24, 2002.

[53] Zehra Albay, Bedia Şimşek***, Süt Ve Ürünlerinde Mikotoksinler ve Özellikleri,*** Elektronik Mikrobiyolojisi Dergisi***,*** 09, 2, 50-60, 2011.

[54] International Agency For Research on Cancer, ***Griseofulvin,*** International Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risks To Human, 79, 291-315, 2001.

[55] Gözde Girgin, Nurşen Başaran, Gönül Şahin, ***Dünyada Ve Türkiye'de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler***, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 58, 3, 97-118, 2001.

[56] Fatma Şahindokucuyu, Firdevs Mor, ***Süt Sığırlarında Önemli Mikotoksinler ve Etkileri,*** Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 30, 1, 59-64, 2011.

[57] Doughari JH, ***The Occurance, Properties and Significance Of Citrinin Mycotoxin***, Plant Pathology&Microbiology, 6, 11, 1-6, 2015.

[58] Zehra Apaydın, Et Ürünlerinde Mikotoksin Oluşumu, Gıda/ The Journal Of Food, 12, 1, 41-46, 1987.

[59] Mohamed K. Refai, Atef A. Hassan, ***Monograph on Mycotoxigenic Fungi And Foods And Feeds With Synopsis of Studies Done by Authors on Mycotoxigenic Fungi And Mycotoxins in Foods Feeds***, 2013.

[60] Patrícia Gomes Cardoso, Marisa Vieira de Queiroz, Olinto Liparini Pereira, Elza Fernandes de Araújo, ***Morphologıcal And Molecular Differentiation Of The Pectinase Producing Fungi Penicillium Expansum And Penicillium gliseofulvum***, Brazilian Journal of Microbiology, 38, 1, 71-77, 2007.

[61] Josephine Jenitta X, J. Joel Gnanadoss, ***Screening, Molecular Characterization And Phylogenetic Analysis Of Penicillium sp Producing High Levels Of Protease,*** International Journal of Current Researchs ,11, 10-17, 2014.

[62] Zübeyir Devran, Suat Yılmaz, ***Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Bitki Biyoteknolojisinde Yaygın Uygulamaları,*** Dergi Park, 20, 1, 31-42, 2014.

[63] Fevzi Çakmakçı***, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers,*** Turkısh Journal of Biology, 25, 2, 185-196, 2001.

[64] Fulya Özdil, ***Mitokondriyel DNA PCR-RFLP (Restricsiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Markerleri Kullanılarak Türkiye'nin Farklı Yörelerine Ait Bal Arılarının Tanımlanması,*** Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2007.

[65] Soner Özdil, ***Evlerde Kullanılan Buzdolapların İç Havasından İzole Edilen Mikrofunguslar Üzerinde Morfolojik ve Moleküler Çalışmalar***, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.

[66] T. Mary – Huard, F. Pıcard, S. Robin, ***Introduction to Statistical Methods for Microarray Data Analysis,*** 1-70, 2004

[67]Ayşegül Yoltaş, İsmail Karaboz, ***DNA Microarray Teknolojisi ve Uygulama Alanları,*** Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 08,1, 01-19, 2010.

[68] Robert A. Samson, Jas Haubroken, Ulf Thone, Jens C. Frisvard, Brigette Anderson***, Food And Indoor Fungi***, An Institue of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, Hollanda, 2010

[69] Anjana Munshi***, DNA Sequencing***- Methods and Applications, Intech, Hırvatistan, 2012.

[70] Melike Çebi Kılıçoğlu, İbrahim Özkoç, ***Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler,*** Ondokuz Mayıs Ünivesitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23, 1, 65-72, 2008.

[71] Ertuğrul Filiz, İbrahim Koç, ***Bitkilerde DNA Barkodlama,*** Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12, 1, 53-57, 2012.

[72]Eva Bellemain, Tor Carlsen, Christian Brochmann, Eric Coissac, Pierre Taberlet, Havard Kauserud, ***ITS As An Environmental DNA Barkode For Fungi, an in Silico Approach Reveals Potential PCR Biases***, BMC Microbiology, 10, 189, 1-9, 2010.

[73] Jianping Xu, ***Fungal DNA Barkoding***, Genome, 59, 11, 913-932, 2016.

[74] T.J. White, T.Bruns, S.Lee, J.Taylor, ***Amplication and Dırect Sequencing of Fungal Rıbosomal RNA Genes for Phylogenetics***, Genetics and Evolution, Akademic Press, London, 1990

[75] Pitt, J. I., ***The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces,*** Academic Press, Londra, 1979.

[76] R.A.Samson, C.m. Visagie, J.Houbraken, S.b. Hong, V.Hubka, C.H. Klaassen, G.Perrone, K.A. Seifert, J.B. Tanney, S. Koscube, G. Sziqeti, T. Yguchi, J.C. Frisvard,

Phylogeny, identification and nomenclature of the genus Aspergillus, Studies in Mycology, 78: 141–173, 2014.

[77] S.A. Waksman, ***A Method for Counting the Number of Fungi in the Soil,*** Journal of Bacteriology, 7, 3, 339- 341, 1922.

[78] Ahmet Asan, ***Edirne İli Topraklarından İzole Edilen Aspergillus ve Penicillium Türleri Üzerinde Taksonomik ve Ekolojik Araştırmalar***, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 1992.

[79] Ömer Kara, ***Kuzey Trakya Dağlık Yetişme Ortamı Bölgesinde Kayın, Meşe, Karaçam Ormanlarındaki Toprak Mikrofunguslarının Mevsimsel Değişimi,*** İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı Toprak İlmi ve Ekolojisi Programı, Doktora Tezi, 2002.

[80] M. Christensen, ***Soil Fungi of dry to Mesic Conifer-Hardwood yo soil type and succession,*** Ecology, 50, 1, 9-27, 1969.

[81] V.V. Jensen, ***Decomposition of Angiosperm Tree Leaf Litter, Akademic Press,*** Londra, 1794.

[82] Ayşe Dilek AZAZ, ***Investigation of the Microfungal Flora of the Bird Paradise National Park in Bandırma, Balıkesir, (TURKEY)***, Turkish Journal of Biology, 27, 2, 117-123, 2003.

[83]A. Dilek AZAZ, İsmet HASENEKOĞLU, **Göktaş Bakır Fabrikasının Kirlettiği Alanları Mikrofungus Florası ve Bunun Normal Orman Toprağı ile Karşılaştırılması Üzerine Bir Araştırma, Kükem Dergisi**, 22, 1, 29-40, 1999.

[84] M. Öner***, Atatürk Üniversitesi Erzurum Çiftliği, Ereğli Dağı Kuzey Yamacı ve Trabzon-Hopa Sahil Şeridi Mikrofungus Florası ile İlgili Bir Araştırma,*** Atatürk Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1973.

[85] İ. Hasenekoğlu***, Sarıkamış Civarı Orman, Çayır ve Tarla Topraklarının Mikrofungus Florası***, Kükem Dergisi, 8, 1, 40-46, (1985).

[86] İ. Hasenekoğlu***, Erzurum Et Kombinası Civarındaki Kirlenmiş Toprakların Mikrofungus Populasyonu.*** Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi, 1, 1, 409-416, (1982).

[87] İ. Hasenekoğlu, Y.Sülün, (1991). ***Erzurum Aşkale Çimento Fabrikasının Kirlettiği Toprakların Mikrofunfus Florası Üzerine bir Araştırma*** , Doğa-Turkısh Journal of Botany, 15, 20-27,(1991).

[88] İ. Hasenekoğlu, A.D. Azaz, ***Sarıkamış Civarındaki Traşlanmış Orman Alanları Topraklarının Mikrofungus Florası ve Bunun Normal Orman Toprakları Florası ile Karşılaştırılması Üzerine Bir Araştırma***, Doğa-Turkısh Journal of Botany, 15, 214-226, (1991).

[89] İ. Hasenekoğlu, Y. Sülün, ***Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Topraklarının Mikrofungus Florası Üzerine Bir Araştırma***. Doğa-Turkısh Journal of Botany,18, 13-22, (1994).

[90] E.Çetinkaya, K. Ayhan, ***Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi,*** 2, 1, 53-62,(2012).

[91] Pernille Skouboe, Jens C.Frisvard, John W. Taylor, Darte Laurıtsen, Marianna Boysen, Lone Rossen, ***Phylogenetic Analysis of Nücleotide Sequences From the ITS Region of Terveticillate Penicillium species,*** Mycological Research, 103, 7, 873-881, (1999).

[92] Jos Haubroken, Jens C. Frisvard, Robert A. Samson, ***Taxonomy of P. citrinum and Relateed Species,*** Fungal Diversity, 44, 117-133, (2010).

[93] Elçin Tüney, ***Saf Kültür Olarak Stoklanmış Bazı Mikrofungusları ITS, β tubulin ve Actin Gen Dizilerine Göre Moleküler Tanısı,*** Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, (2016).

[94] J. Houbroken, J.C. Frisvard, R.A.Samson, ***Taxonomy of Penicillium Section Citrina,*** Studies in Mycology, 70, 53-138, (2011).

ÖZGEÇMİŞİM

27.07.2017 tarihinde EDİRNE/ MERKEZ' de doğdum 2004 senesinde İstiklal İlköğretim Okulundan, 2008 senesinde ise Edirne Lisesi' nden mezum oldum. Lisans eğitimime 2009 senesinde Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü' nde başladım ve 2013 senesinde mezun oldum. 2013 senesinde Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans Programına başladım.