



MANTAR DERGİSİ



Nisan 2017

Cilt:8

Sayı:1

e-ISSN 2147-6845

E-DERGİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ-KONYA-TÜRKİYE

*MANTAR
DERGİSİ*



*THE JOURNAL
OF FUNGUS*

E-DERGİ

E-JOURNAL

e-ISSN 2147-6845

CİLT:8, SAYI:1, NİSAN 2017
VOLUME:8, ISSUE:1, APRIL 2017

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜ
ADINA SAHİBİ

PROF.DR. GIYASETTİN KAŞIK

YAZI İŞLERİ MÜDÜRÜ
UZM.DR. SİNAN ALKAN

Haberleşme/Correspondence
S.Ü.

Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü
Alaaddin Keykubat Yerleşkesi, Rektörlük Binası
Kat:5, 42079 Selçuklu- Konya

Tel:(+90)0 332 223 3998/ Fax:(+90)0 332 241 24 94

Web: <http://www.mantarcilik.selcuk.edu.tr>

E-Posta: mantarcilik@gmail.com

Yayın Tarihi/Publication Date
28/04/2017

İDARİ YAYIN KURULU
(Merkez Yönetim Kurulu)
Prof.Dr. Gıyasettin KAŞIK
Prof.Dr. Celaleddin ÖZTÜRK
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Y.Doç.Dr. Sinan AKTAŞ
Y.Doç.Dr. Gönül EROĞLU

*MANİTAR
DERGİSİ*



*THE JOURNAL
OF FUNGUS*

E-DERGİ

E-JOURNAL

e-ISSN 2147-6845

ÇİLT:8, SAYI:1, NİSAN 2017

VOLUME:8, ISSUE:1, APRIL 2017

Baş Editör

Prof.Dr.Gıyasettin KAŞIK(Selçuk Üniv.-Konya)

EDİTÖRLER KURULU (Editorial Board)

Prof.Dr. Abdullah KAYA	(Karamanoğlu Mehmetbey Üniv.-Karaman)
Prof.Dr. Abdulnasır YILDIZ	(Dicle Üniv.-Diyarbakır)
Prof.Dr. Abdurrahman Usame TAMER	(Celal Bayar Üniv.-Manisa)
Prof.Dr. Ahmet ASAN	(Trakya Üniv.-Edirne)
Prof.Dr. Ali ARSLAN	(Atatürk Üniv.-Erzurum)
Prof.Dr. Aysun PEKŞEN	(19 Mayıs Üniv.-Samsun)
Prof.Dr. A.Dilek AZAZ	(Balıkesir Üniv.-Balıkesir)
Prof.Dr. Ayşen ÖZDEMİR TÜRK	(Anadolu Üniv.- Eskişehir)
Prof.Dr. Beyza ENER	(Uludağ Üniv.Bursa)
Prof.Dr. Cvetomir M. DENCHEV	(Bulgarian Academy of Sciences, Bulgaristan)
Prof.Dr. Celaledin ÖZTÜRK	(Selçuk Üniv.-Konya)
Prof.Dr. Ertuğrul SESLİ	(Karadeniz Teknik Üniv.-Trabzon)
Prof.Dr. Giovanni PACIONI	(Università Degli Studi Dell'Aquila- L'Aquila, İtalya)
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN	(Selçuk Üniv.- Konya)
Prof.Dr. Kenan DEMİREL	(Yüzüncü Yıl Üniv.-Van)
Prof.Dr. Macit İLKİT	(Çukurova Üniv.-Adana)
Prof.Dr. Mitko KARADALEV	(Ss.Cyril and Methodius Univ.-Macedonia)
Prof.Dr. Mustafa YAMAÇ	(Eskişehir Osmangazi Üniv.-Eskişehir)
Prof.Dr. Nur Münevver PINAR	(Ankara Üniv.-Ankara)
Prof.Dr. Sevda KIRBAĞ	(Fırat Üniv.-Elazığ)
Prof.Dr. Süleyha Hilmioğlu POLAT	(Ege Üniv.-İzmir)
Prof.Dr. Şule ÖZTÜRK	(Uludağ Üniv.- Bursa)
Prof.Dr. Vasyıl P. HELUTA	(M.G.Kholodny Botany Institute Mycology,Kiev, Ukraine)
Doç.Dr. Burhan ŞEN	(Trakya Üniv.-Edirne)
Doç.Dr. Cem ERGÜL	(Uludağ Üniv.-Bursa)
Doç.Dr. Faruk SELÇUK	(Ahi Evran Üniv.-Kırşehir)
Doç.Dr. Fatih KALYONCU	(Celal Bayar Üniv.-M)
Doç.Dr. Hasan AKGÜL	(Akdeniz Üniv.-Antalya)
Doç.Dr. Hacı Halil BIYIK	(Adnan Menderes Üniv.-Aydın)
Doç.Dr. Ilgaz AKATA	(Ankara Üniv.-Ankara)
Doç.Dr. Kadir KINALIOĞLU	(Giresun Üniv.-Giresun)
Doç.Dr. Mehmet CANDAN	(Anadolu Üniv. Eskişehir)
Doç.Dr. Yusuf UZUN	(Yüzüncü Yıl Üniv.-Van)
Yrd.Doç.Dr. İskender KARALTI	(Yeditepe Üniv.-İstanbul)
Yrd.Doç.Dr. Şanlı KABAĞTEPE	(İnönü Üniv.-Malatya)
Uzm.Dr. Sinan ALKAN	(Selçuk Üniv.- Konya)

*MANĖAR
DERGİSİ*



*THE JOURNAL
OF FUNGUS*

E-DERGİ

E-JOURNAL

e-ISSN 2147-6845

CİLT:8, SAYI:1, NİSAN 2017
VOLUME:8, ISSUE: 1, APRIL 2017

Bu sayımızda yer alan eserler hakkında aŖađıda isimleri yazılı hakemlerimize yaptıkları değerlendirmeler için teŖekkür ederiz.

Prof.Dr. Ahmet ASAN
Prof.Dr. Aysun PEKŖEN
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Prof.Dr. Kenan DEMİREL
Prof.Dr. Merih KIVANÇ
Prof.Dr. Mustafa YAMAÇ
Prof.Dr. Önder TÜRKMEN
Prof.Dr. Yusuf UZUN
Doç.Dr. Ahmet UYSAL
Doç.Dr. Alev HALİKİ
Doç.Dr. Burhan ŖEN
Doç.Dr. Emine ARSLAN
Doç.Dr. Faruk SELÇUK
Doç.Dr. İbrahim TÜRKEKUL
Y.Doç.Dr.Sinan AKTAŖ

İÇİNDEKİLER
CONTENTS

<i>Puccinia (Pucciniales) Species Determinated on Artemisia members in Turkey</i>	1
<i>Türkiye'de Artemisia Üyeleri Üzerinde Belirlenen Puccinia (Pucciniales) Türleri</i> Şanlı KABAKTEPE, Murat KÜRŞAT, Ilgaz AKATA, Şemsettin CİVELEK	
<i>Infundibulicybe alkaliviolascens (Tricholomataceae): Türkiye Mikotası için Yeni Bir Kayıt</i>	6
<i>Infundibulicybe alkaliviolascens (Tricholomataceae): A New Record for the Turkish Mycota</i> Ertuğrul SESLİ, Ayşegül TOPCU SESLİ	
New additions to Turkish <i>Hyaloscyphaceae</i>	13
<i>Türkiye için Hyaloscyphaceae'ye Yeni İlaveler</i> Yasin UZUN, Abdullah KAYA, İbrahim Halil KARACAN, Semiha YAKAR	
Tarımda Mikorizal Fungusların Etkinliği	20
<i>Effectiveness of Mycorrhizal Fungi in Agriculture</i> Nurhan ÖZTÜRK, Esin BASIM, Hüseyin BASIM	
Çay Üretim Aşamalarından İzole Edilen Mayaların Tanımlanması	35
<i>Identification of Yeasts Isolated from Tea Processing Stages</i> Elif SEVİM, Ali SEVİM, Hacer TAŞKIRAN GENÇ, Şengül ALPAY KARAOĞLU	
Aydın İlinde Termofilik Çevreden İzole Edilen Mayaların Moleküler Tanısı	48
<i>Molecular Identification of Yeasts Isolated from Thermophilic Environment in Aydın Province</i> H. Halil BIYIK, Esin POYRAZOĞLU ÇOBAN, Yusuf GEROĞLU, Ilgıt KIRGIZ	
Nallıhan (Ankara) İlçesi Makrofungusları	60
<i>Macrofungi of Nallıhan (Ankara) District</i> Celâleddin ÖZTÜRK, Dilek PAMUKÇU, Sinan AKTAŞ	
Detection of Fungi in Cooling Tower Samples Using Fluorescent In Situ Hybridization and Traditional Culture-Dependent Methods	68
<i>Floresanlı Yerde Hibritleme ve Geleneksel Kültür Yöntemlerini Kullanılarak Soğutma Kulesi Örneklerinden Fungusların Tespiti</i> Duygu GÖKSAY KADAİFÇİLER, Zuhâl ZEYBEK	



***Puccinia* (*Pucciniales*) Species Determined on *Artemisia* members in Turkey**

Şanlı KABAKTEPE¹, Murat KÜRŞAT², İlğaz AKATA*³, Şemsettin CİVELEK⁴

¹Inönü University, Battalgazi Vocat Sch., Battalgazi, Malatya, Turkey.

²Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, Tandoğan, Ankara, Turkey.

³Bitlis Eren University, Department of Biology, Faculty of Science and Arts, Bitlis, Turkey.

⁴Fırat University, Faculty of Sciences, Department of Biology, Elazığ, Turkey

Abstract:In the current study, two species belonging to genus *Puccinia* (*Puccinia abrotani* Fahrend. and *P. artemisiicola* P. Syd. & Syd.) are determinate on *Artemisia* and these species are new records for Turkish mycobiota. Containing the previously reported three *Puccinia* members recorded on *Artemisia* (*P. chrysanthemi* Roze, *P. dracunculina* Fahrend. and *P. tanacetii* DC.), an identification key was given for Turkish *Puccinia* determinate on *Artemisia*. Short descriptions of the newly reported species are provided together with macro and microphotographs and discussed briefly.

Key words: *Puccinia*, *Artemisia*, New records, Turkey.

Türkiye'de *Artemisia* Üyeleri Üzerinde Belirlenen *Puccinia* (*Pucciniales*) Türleri

Öz:Mevcut çalışmada, *Puccinia* cinsine mensup iki tür (*Puccinia abrotani* Fahrend. ve *P. artemisiicola* P. Syd. & Syd.) *Artemisia* üzerinden belirlenmiştir ve bu türler Türkiye mikobiyotası için yeni kayıttır. Daha önceden rapor edilen ve *Artemisia* cinsi üzerinden kaydedilen üç *Puccinia* üyesi (*P. chrysanthemi* Roze, *P. dracunculina* Fahrend. ve *P. tanacetii* DC.) de dahil edilerek, *Artemisia* üzerinden belirlenmiş Türkiye *Puccinia*'ları için bir teşhis anahtarı verilmiştir. Yeni kayıt olarak verilen türlere ait kısa tanımlamalar ile makro ve mikrografları verilerek kısaca tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Puccinia*, *Artemisia*, Yeni kayıtlar, Türkiye.

Introduction

Artemisia L., belonging to the family *Asteraceae*, is a large a genus of small herbs and shrubs distributed in temperate climates, generally in dry or semiarid habitats. The genus includes more than 500 species that have ecological and economic importance (Tabur et al., 2012). Many species are used as food, medicine, forage, or soil stabilizers in disturb habitats, while some species are lethal or allergenic (Hayat et al., 2009). Tracing to literature (Kürşat and Civelek, 2011; Fırat,

2015), genus *Artemisia* is represented by 27 taxa (21 species, 3 subspecies and 3 varieties) in Turkey (Kürsat, 2012).

The rust fungi are obligate plant parasitic group of the order *Pucciniales* (*Basidiomycota*). The group contains approximately 7000 species within 168 genera and they cause diseases in economically important plant species including ferns, conifers and angiosperms (Cummins and Hiratsuka, 2003).

*Corresponding author e-mail: akata@science.ankara.edu.tr



Puccinia Pers. is the largest genus of this group that comprise more than 5000 widely distributed species and there are 27 species report on several *Artemisia* species (Farr and Rossman, 2016)

According to literature (Bahçecioğlu and Kabaktepe, 2012; Kabaktepe et al., 2015a; 2015b; 2015c; 2015d), *Puccinia chrysanthemi* Roze, *P. dracunculina* Fahrend. and *P. tanacetii* DC. are known as *Artemisia* host species, but there is not any record of *Puccinia abrotani* Fahrend. and *P. artemisiicola* P. Syd. & Syd. in Turkey.

The current study aims to make contribution to the mycobiota of Turkey.

Materials and Methods

Fungi samples were collected in 2007 from Turkey. The host specimens were prepared according to established herbarium techniques. Host plants identified use the Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Cullen, 1975). Spores were scraped from dried host specimens and mounted in lactophenol. Macro photographs were taken under a stereo microscope (Novex trinocular zoom stereo microscope RZT-SF). Micro photographs were taken under a light microscope (Noveks B series 1000). Analysis LS Starterwas software was used to measure. The current names of fungi are given according to www.indexfungorum.org. Names of host plants and families are given according to http://www.theplanlist.org. Voucher specimen are deposited in the İnönü University Herbarium (INU).

Results

Systematic enumeration of the reported species belonging to the genus *Puccinia* is provided below.

Key to species of *Puccinia* determinate on *Artemisia* in Turkey.

- 1. Mesospores not seen2
- 1.* Mesospores seen3
- 2. Teleutospores smooth*P. dracunculina*
- 2.* Teleutospores finely verruculose at upper cell *P. tanacetii*

- 3. Teleutospores smooth*P. artemisiicola*
- 3.* Teleutospores verruculose4
- 4. Teleutospores chestnut brown and up to 46 µm.....*P. chrysanthemi*
- 4.* Teleutospores dark brown and up to 62 µm*P. abrotani*

1. *Puccinia abrotani* Fahrend.,Annls mycol. 39(2/3): 181 (1941). Figure 1.

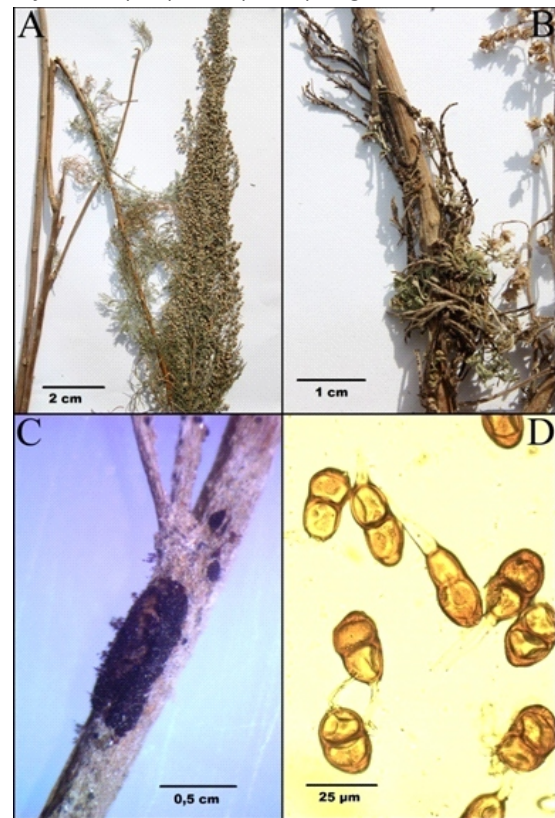


Figure 1. *P. abrotani* on *Artemisia abrotanum*
 A-dried herbarium specimen;
 B- infected plant leaves
 C-stereo microscope view of *P. abrotani* on stem surface;
 D- LM view of Teleutospores.

Uredinia generally hypophyllous, on irregular, pallid-yellow or brownish, scattered or in clusters, 1-1,5 mm, pulverulent, snuff brown. Urediniospores globoid-ellipsoid, 22-39 × 23-32 µm, wall echinulate, brown with 3 equatorial pores.



Teleutosori mixed with uredinia. Teleutospores ellipsoid or oblong, rounded at the both ends or slightly thickened above or slightly attenuate downwards, scarcely constricted on septa, 29-62 × 19-34 μm, wall delicately verruculose, dark brown, 1,5-2,5 μm, at apex up to 9 μm, pore in upper cell apical, pedicels up to 80 μm, hyaline, persistent. Mesospores subglobose or pyriform, 32-37 20-21 μm, dark brown.

Specimen examined: Muş, on *Artemisia abrotanum* L., 1266 m., N 38° 47.423, E 41° 29.795, 23.11. 2007, M. Kurşat 1044.

2. *Puccinia artemisiicola* P. Syd. & Syd., Monogr. Uredin. (Lipsiae) 1(1): 14 (1902). Figure 2.

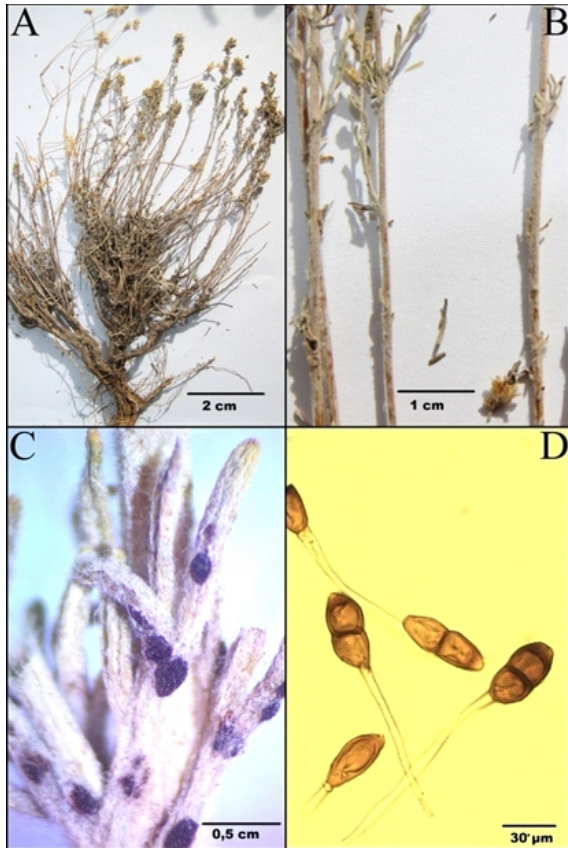


Figure 2. *P. artemisiicola* on *Artemisia taurica*
A-dried herbarium specimen;
B- infected plant leaves
C-stereo microscope view of *P. artemisiicola* on stem surface;
D- LM view of Teleutospores.

Teleutosori amphigenous, on petioles, on stems, scattered or in groups, elongated on stems, covered by the epidermis, dark brown. Teleutospores ellipsoid, oblong, rounded above and slightly attenuate downwards, constricted on septa, 33-63 × 12-25 μm, wall smooth, brownish, 1,5-2,5 μm, at apex up to 14 μm, pore in upper cell apical, pedicels up to 70 μm, hyaline or yellowish, deciduous. Mesospores ellipsoid-globose, 22-40 12-23 μm, wall brownish, smooth, 1,5-2,5 μm, at apex up to 6 μm.

Specimen examined: Van, Kuzgun Koran pass, on *Artemisia fragrans* Willd., 2142 m, N 38°23.367, E 42° 47.319, 19.09.2007, Ş. Civelek-M. Kurşat 1049; Ankara, Çubuk Dam Lake, Karaman village, on *Artemisia taurica* Willd., 1130 m., N 40° 17.583, E 33° 01.018, 10.09.2007, M. Kurşat 1027; Kayseri, Amanos pass, 1121 m, N 38° 43. 377, E 35° 04.811, 22.10.2007, M. Kurşat 1089.

3. *Puccinia chrysanthemi* Roze, Bull. Soc. mycol. Fr. 16: 92 (1900).

Specimen examined: Ağrı, on *Artemisia absinthium* L. Doğubeyazıt, Suluçem, northern slopes of Zor mountain, 2054 m, N 39° 42.476, E 43° 51.399, 22.09.2007, Ş. Civelek, M. Kurşat 1063; Bitlis, on *Artemisia incana* (L.) Druce, Adilcevaz-Ahlat pass, 1720 m, N 38° 47.855, E 42° 43.000, 23.09.2007, Ş. Civelek, M. Kurşat 1075; Malatya, Sivas, on *Artemisia austriaca* Jacq. and *Artemisia taurica* Willd. (Bahçecioglu and Yıldız, 2001; 2005).

4. *Puccinia dracunculina* Fahrenh. Annls mycol. 39(2/3): 181 (1941): Şanlıurfa, on *Artemisia dracunculus* L. (cultivated species) (Kavak and Bilgili, 2015).

5. *Puccinia tanacetii* DC., in Lamarck & de Candolle, Fl. franç., Edn 3 (Paris) 2: 222 (1805).

Specimen examined: Hakkari, on *Artemisia haussknechtii* Boiss., Hakkari- Van pass, 1624 m, N 37° 34.873, E 43° 54.148, 21.09.2007, Ş. Civelek, M. Kurşat 1059;



Van, on *Artemisia splendens* Willd., Gürpınar, Sopa konak village ,2692 m, N 38° 12.533, E 43° 37.055, 21.09.2007, Ş. Civelek, M. Kurşat 1060; Kahramanmaraş, on *Artemisia campestris* L. (Bahçecioglu et al., 2006); Kars, Ardahan; on *Artemisia campestris* L. var. *marschalliana* (Spreng.) Poljak. (given as *Artemisia marschalliana* Spreng.) (Bahçecioglu and Kabaktepe, 2012); Ardahan, Kahramanmaraş, Kars, on *Artemisia vulgaris* L. (Bahçecioglu et al., 2006; Bahçecioglu and Kabaktepe 2012).

Discussion

P. abrotani and *P. artemisiicola* resemble other rust species growing on *Artemisia* due to their general appearance. *P. abrotani* can easily be separated from other *Puccinia* species growing on *Artemisia* by its larger and darker teliospores while *P. artemisiicola* by its smooth teliospores and mesospores.

P. abrotani has been reported from Belarus, Germany, Lithuania, Poland and Romania on *Artemisia abrotanum* L. (Braun, 1982; Girilovich et al., 2003; Ignataviciute and Minkevicius, 1993; Savulescu, 1953). The

records of *P. artemisiicola* have been given on *Artemisia campestris* L. in Finland, Lithuania and Romania on *Artemisia japonica* Thunb. in Japan and Russia, on *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit., in Romania, on *Artemisia stolonifera* (maxim.) V.I. Komarov, in Japan and Korea, on *Artemisia vulgaris* L. in Bulgaria and Czech Republic (Azbukina, 1984; Cho et al., 2004; Denchev, 1995; Dietrich, 2005; Ignataviciute and Minkevicius, 1993; Ito, 1950; Liro, 1908; Savulescu, 1953).

Tracing to literature on Turkish *Puccinia* (Bahçecioglu and Kabaktepe, 2012; Kabaktepe et al., 2015a), 215 taxa (205 species and 10 varieties) have previously been reported from Turkey.

With the current study, *Puccinia abrotani* Fehrend. and *P. artemisiicola* P. Syd. & Syd. are recorded for Turkish *Puccinia* for the first time and number of Turkish *Puccinia* taxa increase to 217. Among them, 5 species are determinate on *Artemisia* species.

Acknowledgements

We are indebted to TÜBİTAK (Project no. TBAG-106T559) for its financial support.

References

- Azbukina Z.M., *Key to the rust fungi of the Soviet Far East*, AkademiyaNauk SSSR, Moscow (1984).
- Bahçecioglu Z., Yıldız B., *Malatya yoresi tarla yabancı otları uzerinde belirlenen parazit funguslar*, C.U. Fen Bilimleri Dergisi 22(1): 3-13 (2001).
- Bahçecioglu Z., Yıldız B., *A study on the microfungi of Sivas Province*, Turkish J. Botany 29: 23-44 (2005).
- Bahçecioglu Z., Kabaktepe S., Yıldız B., *Microfungi isolated from plants in Kahramanmaraş Province, Turkey*, Turkish J. Botany 30: 419-434 (2006).
- Bahçecioglu Z., Kabaktepe S., *Checklist of rust fungi in Turkey*, Mycotaxon, 119: 494 (2012).
- Braun U., *Die Rostpilze (Uredinales) der Deutschen Demokratischen Republik*, Feddes Repert. Beih. 93: 213-334 (1982).
- Cho W.D., Shin H.D., Eds., *List of plant diseases in Korea*, Fourth edition, Korean Society of Plant Pathology (2004).
- Cullen J., *Artemisia*, In (Ed.) Davis, P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Volume 5, Edinburgh University Press, Edinburgh, 311-324 (1975).
- Cummins G.B., Hiratsuka Y. *Illustrated genera of rust fungi*, 3rd edn, The American Phytopathological Society, Minnesota, (2003).
- Denchev C.M., *Bulgarian Uredinales*, Mycotaxon, 55: 405-465 (1995).
- Dietrich, W., *The rust fungi, smut fungi and downy mildews in the Czech part of Krusnehor (Erzgebirge): first supplement*, Czech Mycol., 57: 257-273 (2005).



- Farr, D.F., Rossman, A.Y. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved November, (2016).
- Fırat M., *A New Record for Flora of Turkey; Artemisia oliveriana J. Gay ex Besser (Asteraceae)*, Hacettepe J. Biol. & Chem., 43 (2): 181-184 (2015).
- Girilovich I.S., Khramtsov A.K., Gulis V.I., Poliksenova V.D., *Micromycetes of the Belorussian National State Park "Belovezhskaya Pushcha". I. Peronosporales and Uredinales*, Mikol. Fitopatol. 37(3): 20-27 (2003).
- Hayat M.Q., Khan M.A., Ashraf M., Jabeen S., *Ethnobotany of the Genus Artemisia L. (Asteraceae) in Pakistan*, Ethnobotany Research & Applications, 7:147-162 (2009).
- Ignataviciute M., Minkevicius A., *Mycota Lithuaniae V. Uredinales 2. Genus Puccinia*, Lietuvos Botanikos Institutas (1993).
- Ito S., *Mycological Flora of Japan. Vol. II. Basidiomycetes, No. 3. Uredinales - Pucciniaceae, Uredinales Imperfecti*, Yokendo Ltd., Tokyo (1950).
- Kabaktepe Ş., *Puccinia yahyalensis (Pucciniaceae) - a new rust species on Hypericum scabrum L. from Aladaglar Mountains in Turkey*, Nova Hedwigia, 100 (1-2): 265-268 (2015).
- Kabaktepe Ş., Karakuş Ş., Mutlu B., *New Puccinia (Pucciniales, Basidiomycota) records for Turkey*, Hacettepe J. Biol. & Chem., 43 (1): 69-72 (2015a).
- Kabaktepe Ş., Mutlu B., Karakuş Ş., *Puccinia melitenensis (Pucciniaceae), a new rust species on Campanula stevenii subsp. beauverdiana from Malatya in Turkey*, Phytotaxa 213 (2): 147-150 (2015b).
- Kabaktepe Ş., Karakuş Ş., Mutlu B., *New Puccinia (Pucciniales, Basidiomycota) records for Turkey*, Hacettepe J. Biol. & Chem., 43 (1): 69-72 (2015c).
- Kabaktepe Ş., Kürşat M., Akata I., Akgül H., Karataş M., *A new record for the Turkish Rust Mycobiota: Puccinia alataevica Nevod*, Biological Diversity and Conservation 8 (2): 66-69 (2015d).
- Kürşat M., Civelek Ş., *Türkiye'de Doğal Olarak Yetişen Artemisia L. (Asteraceae) Cinsine Ait Üç Türün Morfolojik Özellikleri Bakımından İncelenmesi*, Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 12 (19): 15-25 (2011).
- Kürşat, M. (2012). Artemisia. In: Güner A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M.T. (eds.). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği yayını. İstanbul.
- Liro J.I., *Uredineae Fennicae Finlands Rostsvampar*, Finska Litteratur sallskapets (1908).
- Tabur S., Civelek Ş., Oney S., Yılmaz Ş.B., Kürşat M., Turkoğlu İ., *Chromosome counts and karyomorphology of some species of Artemisia (Asteraceae) from Turkey*, Turk J. Bot, 36: 235-246 (2012).
- Savulescu T., *Monografia Uredinalelor din Republica Populara Romana. 2 vols*, Editura Academiei Republicii Populare Romane (1953).



***Infundibulicybe alkaliviolascens* (Tricholomataceae): Türkiye Mikotası için Yeni Bir Kayıt**

Ertuğrul SESLİ^{1*}, Ayşegül TOPCU SESLİ²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fatih Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Ana Bilim Dalı,
Trabzon, Türkiye

²IMKB Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Yenicuma Mah., Adres Sokak, Ortahisar,
Trabzon, Türkiye

Öz: *Infundibulicybe alkaliviolascens* (Bellù) Bellù (Sin.: *Clitocybe alkaliviolascens* Bellù –*Tricholomataceae*) Türkiye'den ilk kez rapor edilmiş; arazi ve laboratuvar resimleri ile desteklenip, kısa bir tartışma ile birlikte sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Infundibulicybe alkaliviolascens*, Trabzon, Türkiye, Yeni kayıt.

***Infundibulicybe alkaliviolascens* (Tricholomataceae): A New Record for the Turkish Mycota**

Abstract: *Infundibulicybe alkaliviolascens* (Bellù) Bellù (Sin.: *Clitocybe alkaliviolascens* Bellù – *Tricholomataceae*) was reported for the first time from Turkey; supported with field and laboratory images and was presented with a short discussion.

Key words: *Infundibulicybe alkaliviolascens*, Trabzon, Turkey, New record.

Giriş

2003 yılında gerçekleştirilen moleküler çalışmalar ışığında *Clitocybe* (Fr.) Staude cinsinden ayrılmış olan *Infundibulicybe* Harmaja, günümüzde dünya çapında 18 türle ve Türkiye'de ise bu çalışmadan önce sadece bir türle (*Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja) temsil edilen küçük bir cinstir (Staude, 1857; Harmaja, 2003; Sesli ve Denchev, 2008; Solak ve ark., 2015). Cinsin tipik özellikleri olarak, fruktifikasyon organının *Clitocybe* tipinde olması; bazidiyokarpın, nem oranına göre renk değiştirmemesi; şapkanın tabak veya huni şeklinde, yüzeyinin az çok kadifemsi veya pullu, renginin beyaz, ten renginde, pembemsi soluk kahve, sarımsı kahverengi, kırmızımsı kahverengi veya grimsi kahverengi olması; lamellerin sap üzerine doğru yayılmış; spor izinin beyazımsı ve sporlarının düz ve şeffaf olması; şilosistitlerin bulunmaması; hem toprak ve hem

de çimenler üzerinde yayılış göstermesi sayılabilir (Knudsen ve Vesterholt, 2008).

Son yıllarda Türkiye mikotası ile ilgili olarak gerçekleştirilen çalışmalarda çeşitli yeni kayıtlar saptanmıştır (Kaşık ve ark., 2013; Akata ve ark., 2014; Acar ve ark., 2015; Kaya ve Uzun, 2015; Akata ve ark., 2016; Doğan ve Kurt, 2016; Sesli ve Topcu Sesli, 2016; Topcu Sesli ve Sesli, 2016). Ayrıca, Trabzon ilinden bilim dünyası için bazı yeni cins ve türler tanımlanmıştır (Vizzini ve ark., 2015; Sesli ve ark., 2016; Vizzini ve ark., 2016).

Bu çalışmanın amacı, bazidiyokarpları Trabzon ilinden toplanan *Infundibulicybe alkaliviolascens* türünü, orijinal resimleri ve kısa bir betimi ile birlikte Türkiye'den ilk kez tanıtmaktır.

*Sorumlu yazar e-mail: ertugrulsesli@yahoo.com



Materyal ve Metot

Bazidiyokarp örnekleri 2015 yılı Ekim ve Kasım aylarında Karadeniz Teknik Üniversitesi Kanuni ve Fatih yerleşkeleri içerisinde gerçekleştirilen arazi çalışmaları sırasında toplanmıştır. Arazide saptanan bazidiyokarpların öncelikle Canon 600D marka kamera ile fotoğrafları çekilmiştir. Bazidiyokarpların toplandığı alandaki bitki türleri not edildikten sonra örnekler paketlenip mikoloji laboratuvarına getirilmiştir. Spor izleri alındıktan sonra kurutularak fungaryum kutularına yerleştirilen bazidiyokarplardan daha sonra kesitler alınarak mikroskopik yapıları görüntülenmiştir. İncelemlerde Melzer reaktifi, Kongo kırmızısı, potasyum hidroksit, amonyak ve saf su kullanılmıştır. Şapkanın etli kısmına KOH uygulanmış ve renginin mor menekşeye döndüğü gözlenmiştir. Bazidiyospor, sistityum, bazidiyum, şapka derisi ve hiflerin görüntülenmesinde Zeiss Axio Imager araştırma mikroskobu; ölçümlerin yapılmasında ise Zeiss AxioCam marka kamera ile birlikte Zen 2 yazılım programı kullanılmıştır.

Moleküler çalışmalar için aynı türe ait iki farklı koleksiyondan örnekler alınarak hücrelerin ribozomlarındaki DNA gen dizisine bakılmıştır (ITS). Saptanan gen dizileri Dünya Gen Bankasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) bu türe ait gen dizisi ile (KR264911) karşılaştırılmış; teşhis hem morfolojik ve hem de moleküler bulgulara göre yapılmıştır.

Bulgular

Infundibulicybe alkaliviolascens (Bellù) Bellù, Bresadoliana 1(2): 6 (2012) (*Tricholomataceae* Lotsy)

[*Clitocybe alkaliviolascens* Bellù, Beih. Sydowia 10: 29 (1995)] [Türkçe ismi: **Pileli**] [Şekil 1–3]

Şapka 30–100 mm, soluk sarı, kavun içi, sarımsı kahverengi veya yumurta sarısı; olgunlaşınca özellikle şapka ortasında daha koyu kahverengi, kenarlarda daha açık renklidir. Genç iken meyve tabağı biçiminde, zamanla orta kısmı çukurlaşır ve olgunlukta huni şeklini alır. Kenarları bütün veya parçalı, orta kalınlıkta, olgunlaşınca incelik ve tipik olarak pileli bir

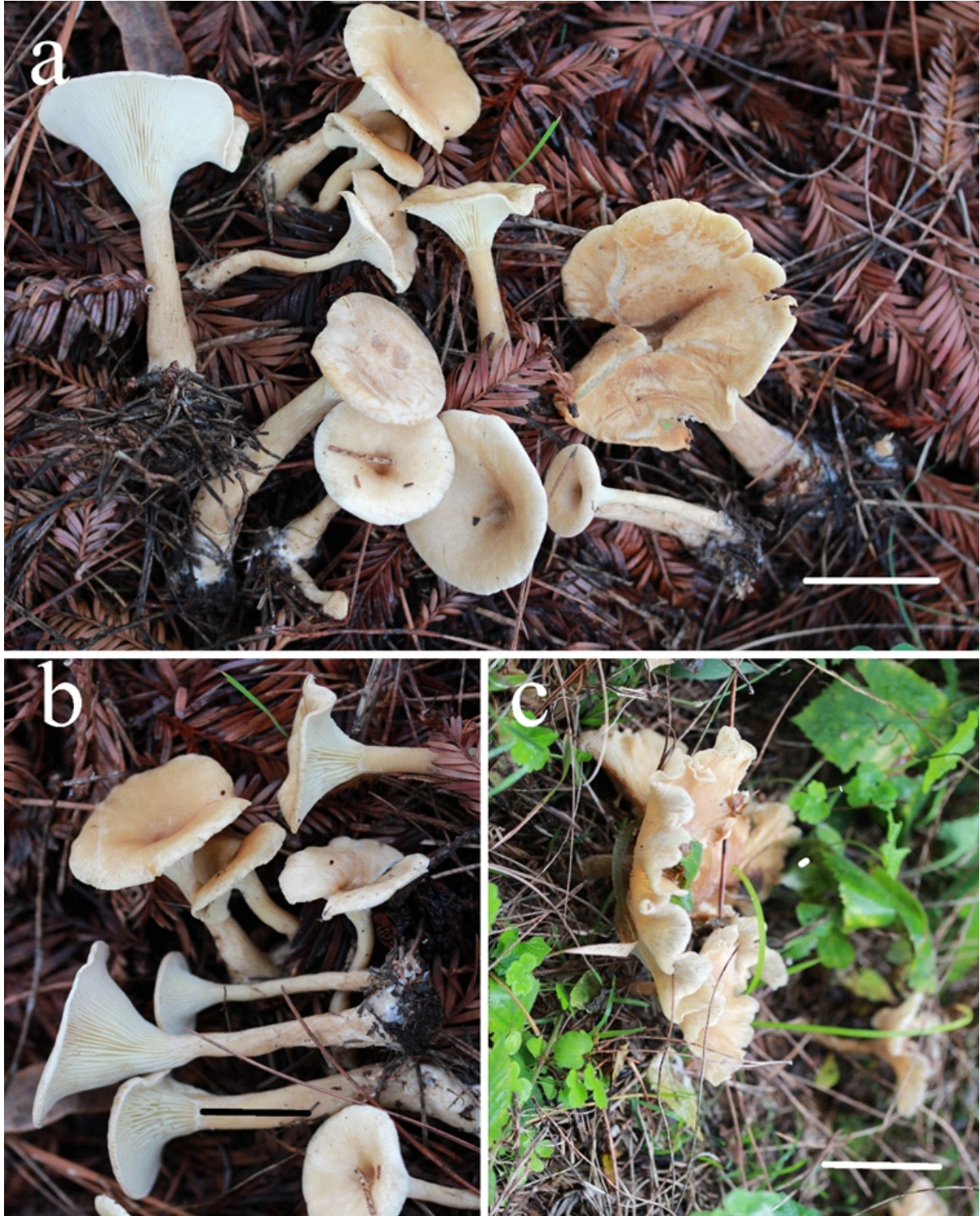
görünüm kazanır. Şapkanın etli kısmına KOH uygulandığı zaman mor menekşe rengine döndüğü görülür. **Lameller** sık, sarımsı beyaz olup sap üzerine yayılmıştır. Mide bulandırıcı bir kokusu olup tadı hafif yakıcıdır. Sap 40–70 × 5–20 mm, silindirik, genellikle eğri, tabana doğru daha geniş, sarımsı soluk kahverengi, kırmızımsı kahverengi, yer yer tabanda daha yoğun olan beyaz pamuksu yapılarla kaplı, çizgili görünüşte, bazen taban kısmı oldukça şişkindir. **Bazidiyosporlar** 6–9 × 3.5–5 µm, ince çeperli, elips biçiminde, şeffaf, düz veya hafif süslüdür. **Bazidiyumlar** 25–35 × 6.5–8.5 µm, çomak şeklinde, şeffaf, tanecikli ve 4 sporludur. Lamel hifleri düzenli ve kancalı olup sistityum izlenmemiştir.

Türkçe İsim Etimolojisi: “Pileli” ismi, olgunlaşan bazidiyokarpların pileyi anımsatan görünüşünden esinlenilerek verilmiştir.

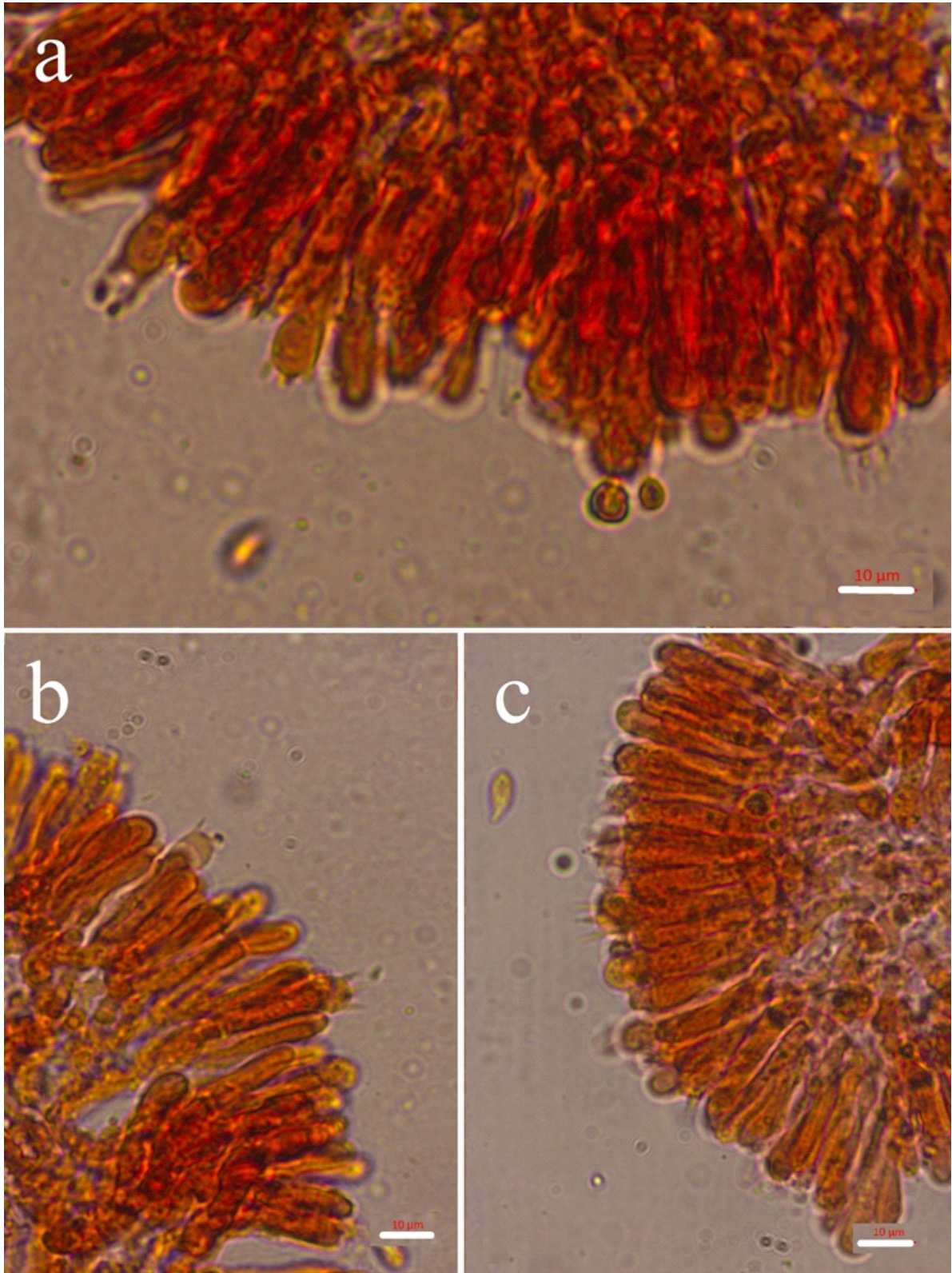
İncelenen Materyal: Trabzon, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fatih Yerleşkesi, 41°00'40"K, 39°36'28"D, 20 m, 27 Ekim 2015, gruplar halinde sahil sekoyası altında (*Sequoia sempervirens*), Fatih Eğitim Fakültesi Kişisel Fungaryumu 3607; Kanuni Yerleşkesi, 40°59'39"K, 39°46'15"D, 112 m, 2 Kasım 2015; tek tek veya gruplar halinde böğürtlen çalılıkları (*Rubus fruticosus*) altında, Fatih Eğitim Fakültesi Kişisel Fungaryumu 3645.

Tartışma

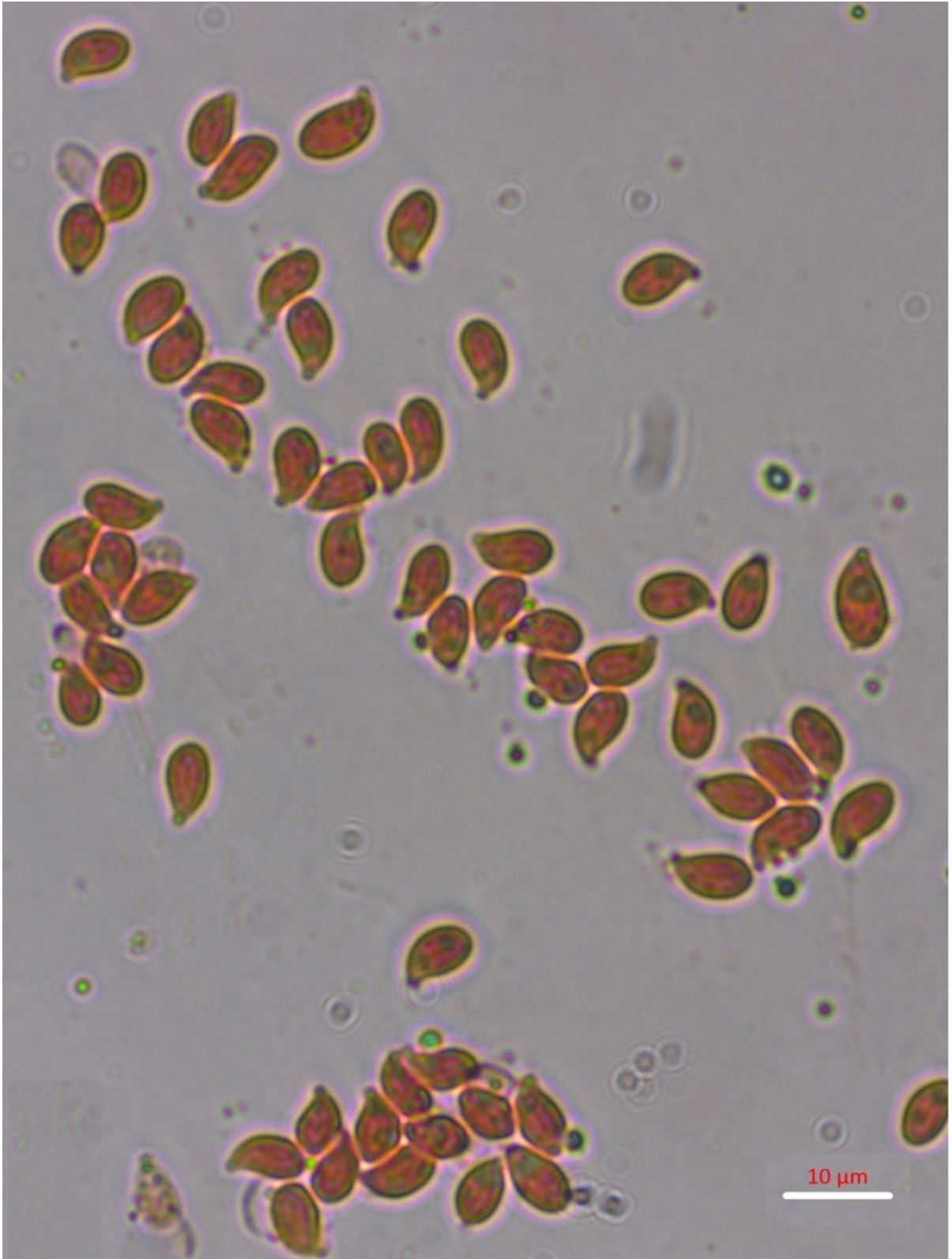
Harmaja (2003) tarafından yapılan moleküler ve morfolojik çalışmalar bazı *Clitocybe* üyelerinin ayrılarak farklı bir cins olarak sınıflandırılmasının daha uygun olacağı sonucunu ortaya koymuştur. “*Infundibulicybe alkaliviolascens*” ilk olarak “*Clitocybe alkaliviolascens*” ismi ile tanınmış; Harmaja (2003) tarafından “*Infundibulicybe*” adlı bir cins oluşturulduktan sonra, Bellù (2012) tarafından yeni bir kombinasyon olarak bilim dünyasına kazandırılmıştır.



Şekil 1. *Infundibulicybe alkaliviolascens*: a–c= Bazidiyokarplar (ölçek çubukları: a–c= 30 mm).



Şekil 2. *Infundibulicybe alkaliviolascens*: a–c. Bazidiyumlar ve bazidiyoller (ölçek çubukları: a–c= 10 µm).



Şekil 3. *Infundibulicybe alkaliviolascens*: Bazidiyosporlar (ölçek çubuğu: 10 μm).



Mevcut çalışmadan önce, Türkiye'nin çeşitli yörelerinde yapılan çalışmalarda bu cinse ait sadece bir tür (*Infundibulicybe geotropa*) saptanmıştır (Kaya, 2009; Türkoğlu ve Yağız, 2012).

2015 yılı Sonbaharında Karadeniz Teknik Üniversitesi Kanuni ve Fatih yerleşkeleri içerisinde yaptığımız çalışmalarda söz konusu türe ait iki farklı lokalite tespit edilmiştir.

Tarafımızdan gerçekleştirilen morfolojik çalışmalar; genç bazidiyokarpların soluk sarı veya sarımsı beyaz; şapkanın daha düzgün ve fazlaca bölünmemiş; olgunlaşmış olanların ise koyu sarıdan açık kahverengiye kadar

değiştiğini, özellikle şapka kenarlarının pileli bir şekil kazandığını göstermiştir. Mikroskopik çalışmalar, Trabzon örneğinin spor boyutlarının mevcut literatürle tam olarak uyumlu, bazidiyumlarının bir miktar daha uzun olduğunu göstermiştir. Bu durumun ekolojik koşullardan kaynaklanma olasılığın yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Bellü, 2012). Materyalin sekans analiz sonuçları GenBank'taki sonuç ile (KR264911) %100 oranında benzerlik göstermiştir. Trabzon örneklerine ait sekans analiz sonuçları aşağıdaki gibi saptanmıştır (115917_C7_C7+6525_1F+ITS4):

1	AACGGGGAAC	CAACCTGATT	TGAGGTCAAT	AGTCAATTAA	ATTATGATTG	TCCAAGTCAA	60
61	TGGACGGTTA	GAAAGCTGAA	CATTGGCTTC	ACATCAGAAA	TGGCGTAGAT	AATTATCACA	120
121	CCCAATGATG	GTCAACAATC	AAGTTCCACT	AATGCATTTA	AGGAGAGCCG	ACTTGCTGAG	180
181	AAGCCCAGCA	CTCCCATATC	CAAGCCAATT	CAATTC AATT	CAAATTGAAG	AGGTTGAGAA	240
241	TTAATGACA	CTCAAACAGG	CATGCTCCTC	GGAATACCAA	GGAGCGCAAG	GTGCGTTCAA	300
301	AGATTGATG	ATTCCTGAA	TTCTGCAATT	CACATTACTT	ATCGCATTTT	GCTGCGTTCT	360
361	TCATCGATGC	GAGAGCCAAG	AGATCCGTTG	TTGAAAGTTG	TATTCATTTA	TTTTAAAAGG	420
421	CTTTTGACGG	CGCATTTAAA	GTTGACATTC	AAAGACATGC	ATTAGGGGTA	TATATGAAAA	480
481	CATAGACTAG	GGGGAATAAT	ACAAGGAAAG	CGCGCACTAA	TGCCACATTC	CTCAAACCAA	540
541	GCTAATGAAA	GCTTGAAAGT	GTTCCCAAAA	GTCTACAATA	AGTGCACAGG	TGGTTTGATT	600
601	AAAATGAGAG	CAAGCGTGCA	CATGCCCCAA	AGGGCCAGCG	ACAACCTACT	TCAATTCAAA	660
661	TTCAATAATG	ATCCTCCGC	AGGTTACCT	ACGAAACCT	TGTTACGACT	TTTACTTCCT	720
721	CAAATTGGAC	CAAAGAAAGA	AAAAAAAAA				749

(114011_D2_D2+6475_1F+ITS4):

1	GGGGGGGAAC	CTACCTGATT	TGAGGTCAAT	AGTCAATTAA	ATTATGATTG	TCCAAGTCAA	60
61	TGGACGGTTA	GAAAGCTGAA	CATTGGCTTC	ACATCAGAAA	TGGCGTAGAT	AATTATCACA	120
121	CCCAATGATG	GTCAACAATC	AAGTTCCACT	AATGCATTTA	AGGAGAGCCG	ACTTGCTGAG	180
181	AAGCCCAGCA	CTCCCATATC	CAAGCCAATT	CAATTC AATT	CAAATTGAAG	AGGTTGAGAA	240
241	TTAATGACA	CTCAAACAGG	CATGCTCCTC	GGAATACCAA	GGAGCGCAAG	GTGCGTTCAA	300
301	AGATTGATG	ATTCCTGAA	TTCTGCAATT	CACATTACTT	ATCGCATTTT	GCTGCGTTCT	360
361	TCATCGATGC	GAGAGCCAAG	AGATCCGTTG	TTGAAAGTTG	TATTCATTTA	TTTTAAAAGG	420
421	CTTTTGACGG	CGCATTTAAA	GTTGACATTC	AAAGACATGC	ATTAGGGGTA	TATATGAAAA	480
481	CATAGACTAG	GGGGAATAAT	ACAAGGAAAG	CGCGCACTAA	TGCCACATTC	CTCAAACCAA	540
541	GCTAATGAAA	GCTTGAAAGT	GTTCCCAAAA	GTCTACAATA	AGTGCACAGG	TGGTTTGATT	600
601	AAAATGAGAG	CAAGCGTGCA	CATGCCCCAA	AGGGCCAGCG	ACAACCTACT	TCAATTCAAA	660
661	TTCAATAATG	ATCCTCCGC	AGGTTACCT	ACGAAACCT	TGTTACGACT	TTTACTTCCT	720
721	CAAATTTGAA	CAAAGAAAGG	AAATA				745



Teşekkür

Bu araştırmanın finansmanı Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince (BAP No: 11300) sağlanmıştır.

Yazının düzenlenmesine yardımcı olan sayın Uzman Ahmet Aydın'a (Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fatih Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü) içtenlikle teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Acar İ., Uzun Y., Demirel K., Keleş A., *Macrofungual diversity of Hani (Diyarbakır / Turkey) district*, Biological Diversity and Conservation, 8(1)28–34(2015).
- Akata I., Kaya A., Uzun Y., *Two new Lachnum records for Turkish Mycobiota*, Journal of Applied Biological Sciences, 8(1)28–30(2014).
- Akata I., Kaya A., Uzun Y., *Two new genus records for Turkish Helotiales*, Kastamonu Univ. Journal of Forestry Faculty, 16(1)131–134(2016).
- Bellü F., *Die Trichterlinge der Sekt. Infundibuliformes Fr. und ihre Reaktion gegenüber Kalilauge*, Beih. Sydowia, (10)28–34(1995).
- Bellü F., *Clitocybe alkaliviolascens is now an Infundibulicybe: its recombination with additional distribution data*, Bresadoliana, 1(2)3–7(2012).
- Doğan H.H., Kurt F., *New macrofungi records from Turkey and macrofungual diversity of Pozantı-Adana*, Turkish Journal of Botany, (40)209–217(2016).
- Harmaja H., *Notes on Clitocybe s. lato (Agaricales)*, Annales Botanici Fennici, 40(3)213-218(2003).
- Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., Alkan S., Eroğlu G., *Kefe yaylası (Denizli) yenen mantarları*, Mantar Dergisi, 4(2)19–27(2013).
- Kaya A., *Macromycetes of Kahramanmaraş province (Turkey)*, Mycotaxon, (108)31–34(2009) + online version: 1–21 (<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/kaya-v108-checklist.pdf>).
- Kaya A., Uzun Y., *Six new genus records for Turkish Pezizales from Gaziantep province*, Turkish Journal of Botany, (39)506–511(2015).
- Knudsen H., Vesterholt J., *Funga Nordica: Agaricoid, Boletoid and Cyphelloid Genera*. Narayana Press, Copenhagen(2008).
- Sesli E., Denchev C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*, Mycotaxon, (106)65–67 (2008). up-dated online version (February 2014): 1–136. <http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>
- Sesli E., Topcu Sesli A., *Türkiye için üç yeni kayıt: Chalciaporus piperatoides, Gymnopus menehune ve Lyophyllum shimeji*, Mantar Dergisi, 7(1)61–66(2016).
- Sesli E., Vizzini A., Enrico E., Contu M., *Clitolyphyllum akcaabatense gen. nov., sp. nov. (Agaricales, Tricholomatineae), a new fan shaped clitocyboid agaric from Turkey*, Botany, (94), 73–80(2016).
- Solak M.H., Işiloğlu M., Kalmış E., Allı H., *Macrofungi of Turkey. Checklist vol 2. Üniversiteler Ofset*, İzmir(2015).
- Staude F., *Die Schwämme Mitteldeutschlands*, in besondere des Herzogthums, (1)1–150(1857).
- Tocu Sesli A., Sesli E., *Psilocybe semilanceata (Fries) Kumber (Strophariaceae): Türkiye için yeni bir halüsinojen mantar*, Bağbahçe Bilim Dergisi, 3(1)34–40(2016).
- Türkoğlu A., Yağız D., *Contributions to the macrofungual diversity of Uşak Province*, Turkish Journal of Botany, (36)580–589(2012).
- Vizzini A., Antonin V., Sesli E., Contu M., *Gymnopus trabzonensis sp. nov. (Omphalotaceae) and Tricholoma virgatum var. fulvoubonatum var. nov. (Tricholomataceae), two new white-spored agarics from Turkey*, Phytotaxa, 226(2)119–130(2015).
- Vizzini A., Baroni T.J., Sesli E., Antonin V., Saar I., *Rhodocybe tugrulii (Agaricales, Entolomataceae), a new species from Turkey and Estonia based on morphological and molecular data, and a new combination in Clitocella (Entolomataceae)*, Phytotaxa, 267(1)001-015(2016).



New additions to Turkish *Hyaloscyphaceae*

Yasin UZUN¹, Abdullah KAYA¹, İbrahim Halil KARACAN², Semiha YAKAR¹

¹ Karamanoğlu Mehmetbey University, Science Faculty, Department of Biology, 70100 Karaman, Turkey

² Ömer Özmimar Religious Anatolian High School, 27220, Gaziantep, Turkey

Abstract: Five hyaloscyphaceous macrofungi taxa, *Calycina conorum* (Rehm) Baral, *Discocistella grevillei* (Berk.) Svrček, *Hyalopeziza millepunctata* (Lib.) Raitv., *Lasiobelonium variegatum* (Fuckel) Raitv. and *Rodwayella citrinula* (P. Karst.) Spooner, were given as new records for the mycobiota of Turkey. Four of them are the first members of the genera *Calycina* Nees ex Gray, *Discocistella* Svrček, *Hyalopeziza* Fuckel and *Rodwayella* Spooner in Turkey. The taxa are described briefly and the photographs related to their macro and micromorphologies are provided.

Key words: Macrofungi, New records, Gaziantep, Turkey.

Türkiye için *Hyaloscyphaceae*'ye Yeni İlaveler

Öz: Beş hyaloscyphaceous makromantar taksonu, *Calycina conorum* (Rehm) Baral, *Discocistella grevillei* (Berk.) Svrček, *Hyalopeziza millepunctata* (Lib.) Raitv., *Lasiobelonium variegatum* (Fuckel) Raitv. and *Rodwayella citrinula* (P. Karst.) Spooner, Türkiye mikobiyotası için yeni kayıt olarak verilmiştir. Bunlardan dört tanesi *Calycina* Nees ex Gray, *Discocistella* Svrček, *Hyalopeziza* Fuckel and *Rodwayella* Spooner cinslerinin Türkiye'deki ilk üyeleridir. Taksonların kısa betimlemesi yapılmış ve türlerin makro ve mikromorfolojilerine ait fotoğrafları verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Makromantarlar, Yeni kayıtlar, Gaziantep, Türkiye.

Introduction

Hyaloscyphaceae Nannf. is a fungal family within the order Helotiales (Cannon and Kirk, 2007). The members of the family are mainly characterized by small apothecia covered with well differentiated marginal and lateral hairs. Species in this family are saprobic and generally have a cosmopolitan distribution (Han et al., 2014).

So far 10 taxa of Hyaloscyphaceae belonging to the genera *Cistella* QuéL., *Dasyscyphella* Tranzschel, *Lachnellula* P. Karst., *Lasiobelonium* Ellis & Everh., *Neodasyscypha* Suková & Spooner and *Perrotia* Boud. have been recorded from Turkey (Sümer, 1982; Kaşık et al., 2002; Doğan and Öztürk,

2006; Akata et al., 2009a; Akata et al., 2009b; Alkan et al., 2010; Öztürk et al., 2010; Sesli and Denchev, 2014; Kaya et al., 2015; Uzun et al., 2015).

The present paper deals with the hyaloscyphaceous species collected from Gaziantep province and aims to make a contribution to the mycobiota of Turkey.

Materials and methods

Specimens were collected from various localities within the boundaries of Gaziantep province between 2014 and 2015. They were photographed in their natural habitats and ecological and morphological characteristics of them were recorded.



Micromorphological studies were carried out under Nikon Eclipse Ci trinocular light microscope. With the help of the relevant literature (Raitviir, 1980; Breitenbach and Kränzlin, 1984; Raitviir and Galán, 1993; Cheybe, 2004; Hairaud, 2010; Han et al., 2014; Friebe and Wendelin, 2015) they were identified. The collected materials are deposited in Karamanoğlu Mehmetbey University, Kamil Özdağ Science Faculty, Department of Biology.

Results

The systematics of the taxa are given in accordance with Cannon and Kirk (2007), Kirk et al. (2008), and the Index Fungorum (www.indexfungorum.org; accessed 9 December 2016). The taxa are presented in alphabetical order with a brief description, habitat, locality, collection date, and accession numbers.

Leotiomyces O.E. Erikss. & Winka

Helotiales Nannf.

Hyaloscyphaceae Nannf.

Calycina conorum (Rehm) Baral

Syn: [*Cystopezizella conorum* (Rehm) Svrček, *Pezizella conorum* Rehm, *Pezizella conorum* Rehm var. *conorum*]

Macroscopic and microscopic features: Apothecia 0.2-0.6 mm in diameter, disc shaped, sessile, concrescent, ivory white to creamy yellow. Hymenial surface smooth, concolorous with the outside (Figure 1a). Asci 45-50 × 5-9 μm, cylindrical. Paraphyses irregularly cylindrical, often tapering towards the apex (Figure 1b). Ascospores 7-8 × 2,5-3 μm, smooth, hyaline, without guttules (Figure 1c).

Specimen examined: Gaziantep –İslahiye, Kozdere village, pine forest, on *Pinus brutia* Ten. cones, 37°06'N-36°39'E, 560 m, 15.03.2014, K.8617.



Figure 1. *Calycina conorum*: a. ascomycete, b. asci and paraphyses, c. ascospores in an ascus



***Discocistella grevillei* (Berk.) Svrček**

Syn: [*Calloria conii* Cooke & W. Phillips, *Cistella grevillei* (Berk.) Raitv., *Clavidisculum grevillei* (Berk.) Raitv., *Dasyscyphus berkeleyi* (A. Bloxam) Masee, *Dasyscyphus grevillei* (Berk.) Masee, *Lachnella berkeleyi* (A. Bloxam) W. Phillips, *Lachnum grevillei* (Berk.) Nannf., *Mollisia grevillei* (Berk.) W. Phillips, *Peziza berkeleyi* A. Bloxam, *Peziza grevillei* Berk., *Trichopeziza berkeleyi* (A. Bloxam) Sacc., *Trichopeziza grevillei* (Berk.) Sacc., *Urceolella berkeleyi* (A. Bloxam) Boud.]

Macroscopic and microscopic features: Apothecia 0.3-0.6 mm in diameter, cup to soucer shaped, sessile, margin hairy, white,

creamy white to light pinkish. Hymenial surface smooth, concolorous with the outside (Figure 2a). Asci 40-55 × 4,5-7 μm, cylindrical. Paraphyses lanceolate (Figure 2b). Ascospores 7-9 × 1-2 μm, cylindrical, smooth (Figure 2c).

Specimen examined:

Gaziantep–Yavuzeli, Halilbaşlı village, stream side, on dead *Conium maculatum* L. stem, 37°16'N-37°31'E, 560 m, 09.03.2014, K.8588; Sarıbuğdaylı village, stream side, on herbaceous stem, 37°17'N-37°31'E, 560 m, 16.03.2014, K.8675.

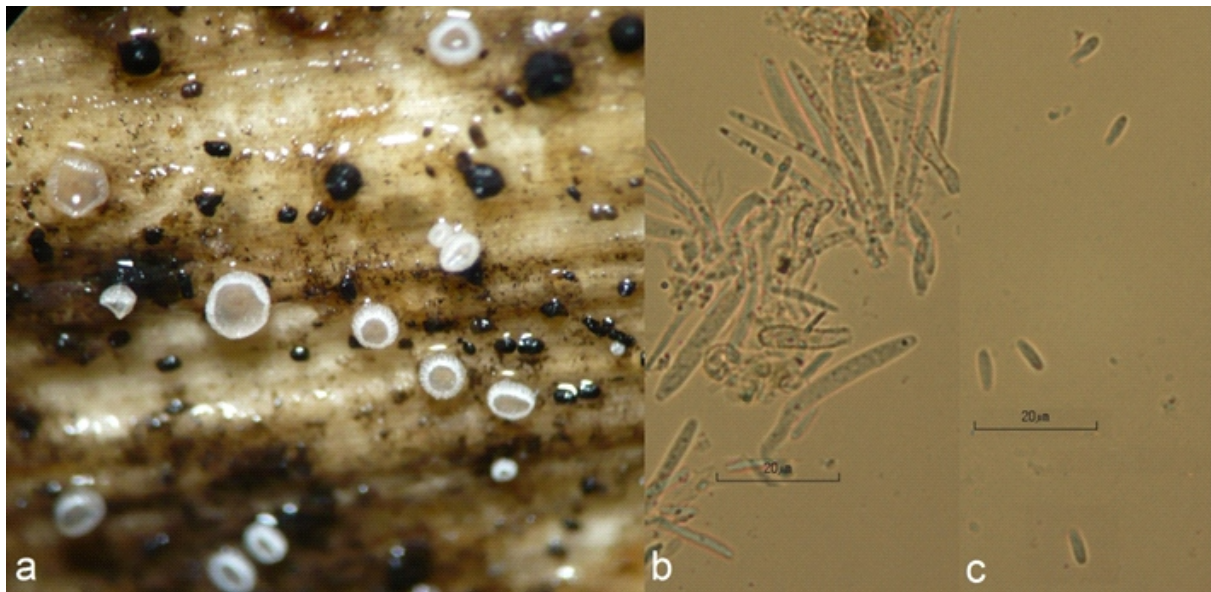


Figure 2. *Discocistella grevillei*: a. ascocarps, b. asci and paraphyses, c. ascospores

***Hyalopeziza millepunctata* (Lib.) Raitv.**

Syn: [*Dasyscyphus carmichaelii* Masee, *Dasyscyphus elaphines* (Berk. & Broome) Masee, *Dasyscyphus scrupulosus* (P. Karst.) Velen., *Dasyscyphus scrupulosus* var. *melampyri* Velen., *Dasyscyphus scrupulosus* (P. Karst.) Velen., var. *scrupulosus*, *Dumontinia ulmariae* (Velen.) Holst-Jensen, *Helotium carmichaelii* (Berk.) Masee, *Helotium*

scrupulosum P. Karst., *Hyalopeziza scrupulosa* (P. Karst.) Raitv., *Hyaloscypha millepunctata* (Lib.) Boud., *Hymenoscyphus carmichaelii* Berk., *Lachnella grisella* Cooke & W. Phillips, *Lachnella scrupulosa* (P. Karst.) W. Phillips, *Mollisia elaphines* (Berk. & Broome) Gillet, *Mollisia millepunctata* (Lib.) Sacc.,



Olla millepunctata (Lib.) Svrček, *Olla scrupulosa* (P. Karst.) Svrček, *Olla scrupulosa* var. *obscura* Svrček, *Olla scrupulosa* (P. Karst.) Svrček, var. *scrupulosa*, *Peziza carmichaelii* W. Phillips, *Peziza cirrhata* P. Crouan & H. Crouan, *Peziza elaphines* Berk. & Broome, *Peziza millepunctata* Lib., in Roumeguère, *Peziza scrupulosa* (P. Karst.) P. Karst., *Pezizella dematiicola* Feltgen, *Pezizella millepunctata* (Lib.) Rehm, *Pezizella scrupulosa* (P. Karst.) Rehm, *Phialea carmichaelii* (Berk.) Sacc., *Pseudohelotium elaphines* (Berk. & Broome) Sacc., *Pseudohelotium millepunctatum* (Lib.) Sacc., *Pseudohelotium scrupulosum* (P. Karst.) Sacc., *Pseudohelotium scrupulosum* var. *carpini* Sacc., *seudohelotium scrupulosum* var. *caulium* Sacc., *Pseudohelotium scrupulosum* (P. Karst.) Sacc., var. *scrupulosum*, *Pyrenopeziza grisella* (Cooke & W. Phillips) Boud., *Pyrenopeziza grisella* (Cooke & W. Phillips) Boud., var. *grisella*, *Pyrenopeziza grisella* var. *ilicis* (Feltgen) Boud., *Sclerotinia ulmariae* Velen., *Tapesia dematiicola* (Feltgen) Boud., *Trichopeziza cirrhata* (P. Crouan & H. Crouan) Sacc., *Trichopeziza grisella* (Cooke & W. Phillips) Sacc., *Trichopeziza grisella* (Cooke & W. Phillips) Sacc., f. *grisella*, *Trichopeziza grisella* f. *ilicis*

(Feltgen) Sacc. & D. Sacc., *Unguicularia cirrhata* (P. Crouan & H. Crouan) Le Gal, *Unguicularia millepunctata* (Lib.) Dennis, *Unguicularia scrupulosa* (P. Karst.) Höhn., *Unguicularia ulmariae* (Velen.) Dennis, *Urceola elaphines* (Berk. & Broome) Quél., *Urceolella cirrhata* (P. Crouan & H. Crouan) Boud., *Urceolella elaphines* (Berk. & Broome) Boud., *Urceolella scrupulosa* (P. Karst.) Boud., *Urceolella scrupulosa* var. *carpini* (Sacc.) Boud., *Urceolella scrupulosa* var. *caulia* (Sacc.) Boud., *Urceolella scrupulosa* (P. Karst.) Boud., var. *scrupulosa*]

Macroscopic and microscopic features: Apothecia 0.1-0.3 mm in diameter, urceolate, sessile, whitish to pale greyish when fresh, whitish gray to pale olivaceous gray when dry. Hymenial surface smooth, gray-whitish to ocher (Figure 3a). Asci 30-40 × 4-7 μm, clavate, eight spored. Paraphyses filiform, sometimes branched in basal part (Figure 3b). Ascospores 5-7,5 × 1-1,8 μm, ellipsoid, sometimes clavate-ellipsoid, smooth, hyaline (Figure 3c).

Specimen examined: Gaziantep–Nurdağı, Gökçedere village, roadside, on dead *Rubus* L. sp. stem, 37°09'N-36°42'E, 485 m, 07.03.2014, K.8500.

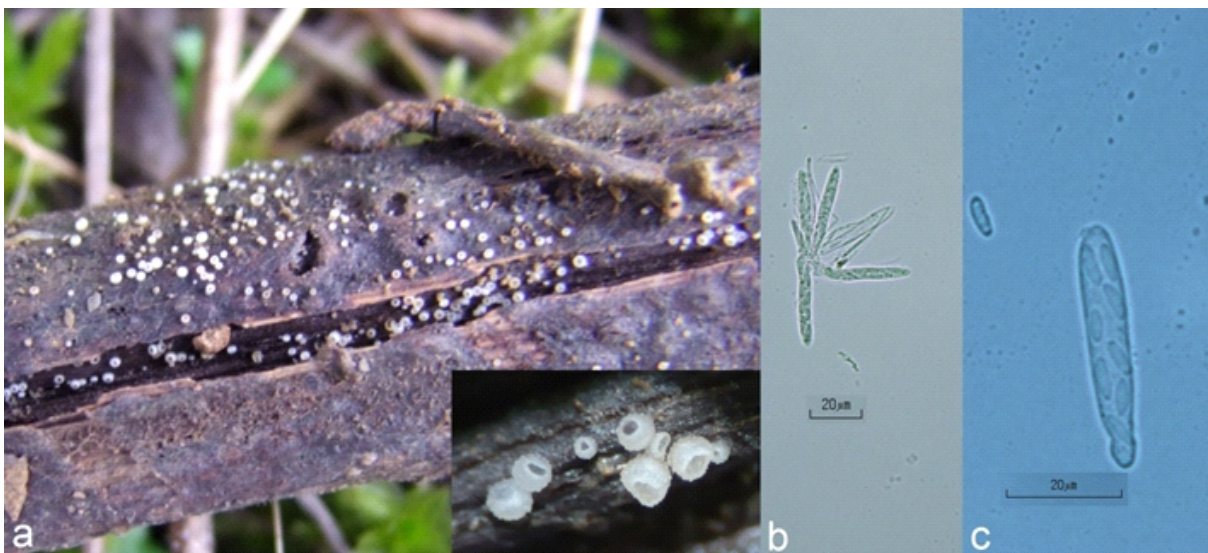


Figure 3. *Hyalopeziza millepunctata*: a. ascocarps, b. asci and paraphyses, c. ascospores in an ascus



Lasiobelonium variegatum (Fuckel) Raitv.

Syn: [*Atractobolus variegatus* (Fuckel) Kuntze, *Dasyscyphus variegatus* Fuckel, *Lachnum variegatum* (Fuckel) Rehm, *Lachnum variegatum* (Fuckel) Rehm f. *variegatum*]

Macroscopic and microscopic features: Apothecia 0.5-1.5 mm in diameter, sessile, cupulate, external surface clearly hairy, hairs are dense towards the margin and loose towards the base. Hymenial surface smooth,

cream to gray (Figure 4a). Asci 60-70 × 6-7 μm, cylindrical, eight spored. Paraphyses 60-90 × 2-4 μm, somehow longer than asci, cylindrical with attenuated top (Figure 4b). Ascospores 10-16 × 2-2,5 μm, oblong, slightly curved, some with small guttules towards the ends (Figure 4c).

Specimen examined: Gaziantep –Yavuzeli, Halilbaşı village, on *Populus* L. sp. stump, 37°16'N- 37°31'E, 560 m, 02.10.2014, K.10489; Sarıbuğdaylı village, 37°17'N- 37°31'E, 560 m, 16.03.2014, K. 8676.

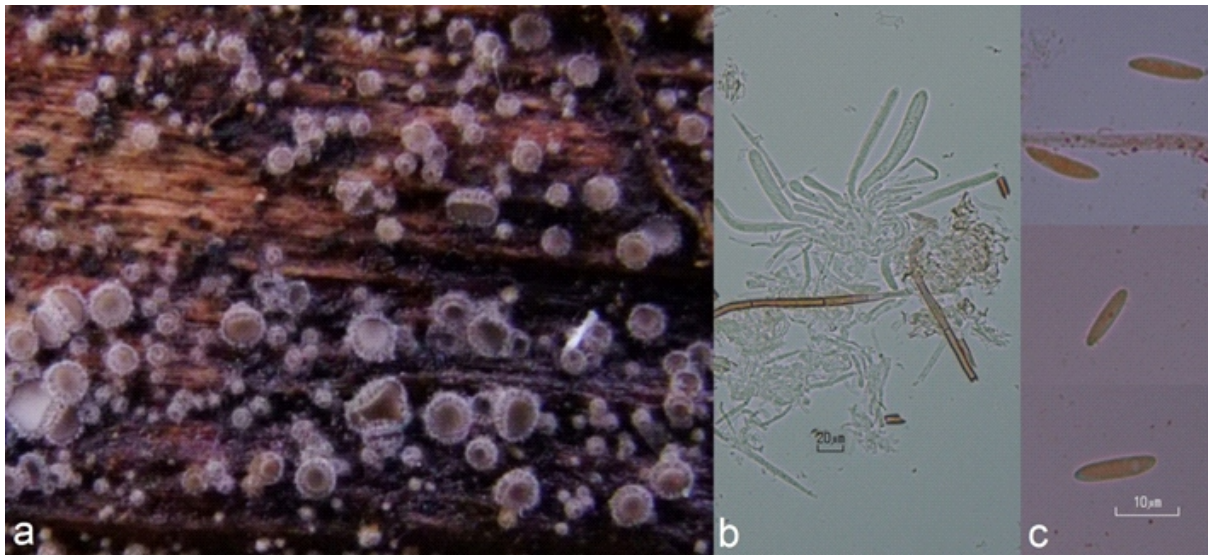


Figure 4. *Lasiobelonium variegatum*: a. ascomycetes, b. asci and paraphyses, c. ascospores

Rodwayella citrinula (P. Karst.) Spooner

Syn: [*Calycina flexuosa* (Masse) Kuntze, *Helotium citrinulum* P. Karst., *Helotium citrinulum* P. Karst. var. *citrinulum*, *Helotium citrinulum* var. *seaveri* Rehm, *Helotium flexuosum* Masse, *Hymenoscyphus citrinulus* (P. Karst.) J. Schröt., *Mollisiella citrinula* (P. Karst.) Boud., *Pezizella citrinula* (P. Karst.) Sacc.]

Macroscopic and microscopic features: Apothecia 0.5-3 mm in diameter, slightly convex to flat or disc shaped, sessile, smooth or somehow pruinose, pale ochre yellow, lighter at receptacle, hymenium smooth

or finely puberulent, lemon to yellowish white (Figure 5a). Asci 40-60 × 4.5-6 μm, cylindrical to cylindrical-clavate, eight spored. Paraphyses cylindrical with slightly swollen apex (Figure 5b). Ascospores 7.5-12 × 1.5-2.5 μm elliptic-fusoid, elliptic-clavate, straight or slightly bent, hyaline, smooth, sometimes constricted at the centre (Figure 5c).

Specimen examined: Gaziantep –Nurdağı, Olucak village, mixed forest, roadside, on dead herbs, 37°10'N-36°40'E, 950 m, 10.04.2015, K.11682.



Figure 5. *Rodwayella citrinula*: a. ascocarps, b. asci and paraphyses, c. ascospores

Discussion

New contributions were made to the mycobiota of Turkey with the addition of five members of Hyaloscyphaceae. Among them *Calycina conorum* (Rehm) Baral, *Discocistella grevillei* (Berk.) Svrček, *Hyalopeziza millepunctata* (Lib.) Raitv. and *Rodwayella citrinula* (P. Karst.) Spooner are the first members of the genera *Calycina* Nees ex Gray, *Discocistella* Svrček, *Hyalopeziza* Fuckel and *Rodwayella* Spooner respectively, while

Lasiobelonium variegatum (Fuckel) Raitv. is the second member of the genus *Lasiobelonium* Ellis & Everh. in Turkey (Kaya et al., 2015). As a result, the genera and the total taxa number of Hyaloscyphaceae in Turkey increased to 10 and 15 respectively.

Acknowledgements

The authors would like to thank TÜBİTAK for supporting the Project (212T112) financially.

References

- Akata I., Çetin B., Işıloğlu M. *Macrofungi of Ankara-Kızılcahamam Soğuksu National park*. The Herb Journal of Sytematic Botany, 16(2): 177-188 (2009a).
- Akata I., Doğan H.H., Körüklü T., İşlek, C. *Macrofungi of Ankara University Tandoğan campus*. Kafkas University Journal of Science, 2(1): 15-19 (2009b).
- Alkan, S., Kaşık, G. & Aktaş, S. *Macrofungi of Derebucak district (Konya, Turkey)*. Turkish Journal of Botany, 34: 335-350 (2010).
- Breitenbach J., Kränzlin F. *Fungi of Switzerland. Volume 1: Ascomycetes*. Luzern, Switzerland: Verlag Mykologia (1984).
- Cannon PF, Kirk PM. *Fungal Families of the World*. Wallingford, UK: CAB International (2007).
- Cheype JL. *Contribution à la connaissance des champignons de la haute vallée de l'Arve (Haute-Savoie) 3e note: deux discomycètes inoperculés « au poil »*. Bull. Mycol. Bot. Dauphiné-Savoie, 173: 29-36 (2004).
- Doğan H.H., Öztürk C. *Macrofungi and their distribution in Karaman Province, Turkey*. Turkish Journal of Botany, 30: 193-207 (2006).



- Friebes G, Wendelin I. *Wer suchet, der findet: Seltene und interessante Ascomycota vom Jägerberg (Steiermark, Österreich)*. Joannea Botanik, 12: 5–38 (2015).
- Hairaud M. *Note sur deux espèces intéressantes*. Ascomycete.org, 2(2): 11-13 (2010).
- Han J.G., Sung G.H. Shin H.D. *Proliferodiscus inspersus var. magniascus and Rodwayella citrinula, Two Unrecorded Taxa of Hyaloscyphaceae (Tribe Arachnopezizeae) in Korea*. Mycobiology, 41: 86-91 (2014).
- Kaşık G., Doğan H.H., Öztürk C., Aktaş, S. *New records of Ascomycetes for Turkish mycoflora*. Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 20: 75-81 (2002).
- Kaya A., Karacan İ.H., Uzun Y. *Three Phragmites Adans. inhabiting fungi, new for Turkey*. Biological Diversity and Conservation, 8(1):143-146 (2015).
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. *Dictionary of the Fungi*. 10th ed. Wallingford, UK: CAB International (2008).
- Öztürk Ö., Doğan H.H., Yıldırım Ş. *Macrofungi of Eldivan dağ (Çankırı)*. The Herb Journal of Systematic Botany, 17(2): 141-154 (2010).
- Raitviir A. *The Genus Lasiobelonium*. Scripta Mycologica, 9: 99-132 (1980).
- Raitviir A., Galán R. *Notes on Spanish glassy-haired Hyaloscyphaceae*. Sydowia, 45(1): 34-54 (1993).
- Sesli E., Denchev CM. *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*. 6th edn. Mycotaxon Checklists Online (<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>): 1–136 (2014).
- Sümer, S. *Wood-decaying fungi in the western Black Sea Region of Turkey, especially in and around Bolu Province*. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul (1982).
- Uzun Y., Kaya A., Karacan İ.H., Kaya Ö.F., Yakar S. *Macromycetes determined in Islahiye (Gaziantep/Turkey) district*. Biological Diversity and Conservation, 8(3): 209-217 (2015).



Tarımda Mikorizal Fungusların Etkinliği

Nurhan ÖZTÜRK¹ Esin BASIM*² Hüseyin BASIM³

¹Akdeniz Üniversitesi, Korkuteli MYO, Mantarcılık Programı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi, Korkuteli MYO, Bahçe Tarımı Programı, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antalya

Öz: Mikoriza, oluşturduğu misel yapıları ile birçok bitkinin kökleri arasındaki etkileşim sonucunda her iki organizmanın da karşılıklı yararlanmasına dayanan bir ilişki oluşturmaktadır. Bu ilişkide mikorizal fungus, gelişimi için bitkiden karbon ve esansiyel organik maddeleri temin ederken, bitkinin de su ile besin elementleri, tuz ve metabolitleri alınmasına yardımcı olmaktadır. Böylece, bu etkileşimde her iki taraf da yarar sağlamaktadır. Tarımda değişik alanlarda kullanılan mikorizal gruplardan en önemlileri endomikoriza ve ektomikorizalardır. Mikorizal funguslar ve bitki kökleri arasındaki bu simbiyotik ilişki, doğadaki ekolojik dengenin anlaşılmasına büyük katkılar sağlayan ototrof konukçu ile heterotrof organizma arasındaki besin alışverişini ortaya koyan en güzel örneklerden birisidir. Günümüze çok sayıda bitkinin funguslarla simbiyotik bir ortaklık oluşturduğu çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir. Bu derlemede, mikoriza kullanımının tarımın birçok alanında özellikle toprak ıslahı ve verimliliği, bitki gelişimi, bitki hastalıkları üzerine olan etkileri ve önemi hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Mikoriza, Mikorizal Fungus, Endomikoriza, Ekzomikoriza.

Effectiveness of Mycorrhizal Fungi in Agriculture

Abstract: Mycorrhizal fungus forms a mutual benefit as a result of interactions between many plant roots and mycelium structures. While mycorrhizal fungus in this relationship provides essential carbon and organic matter from plants, it also helps to plant uptaking water, nutrients, salt and metabolites. Thus, the both sides in this interaction provide benefit from each other. The important mycorrhizal groups used in various areas of agriculture are endomycorrhizae and ectomycorrhizae. Mycorrhizal fungi and their symbiotic relationships with plant roots is one of the most important example of demonstrating the nutrient exchange between host and heterotrophic organisms feeding patterns that contributes significantly to our understanding of the ecological balance in the nature. Nowadays, a large number of effective detection of mycorrhizal fungi that form a symbiotic partnership with the plant has been identified by many studies. This reviewed will be focused on the importance of mycorrhizal fungi use in many areas of agriculture, especially the effects on plant development, plant diseases, the soil fertility and improvement.

Key words: Mycorrhizae, Mycorrhizal Fungi, Endomycorrhizae, Ectomycorrhizae.

*Sorumlu Yazar: esinbasim@akdeniz.edu.tr



1. Giriş

Mikorizal fungusların yeryüzünde oluşumunun çok eski dönemlere dayandığı tahmin edilmekte ve mikorizal fungusların, bitkiler ile simbiyotik ilişki kurarak bitkilerin yeryüzüne yayılışında önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (Smith ve Read, 2008). Mikoriza terimi Yunanca'da *myces* (Fungus), *rhiza* (kök) anlamına gelen sözcüklerin bir araya gelmesiyle oluşmuştur. İlk kez 1885 yılında Frank tarafından bazı bitkilerin köklerinde yoğun bir şekilde kolonize olan, fakat hastalık oluşturmayan funguslar saptanmış ve bitki kökleriyle bazı fungusların ortak yaşamlarını tanımlamada kullanılmıştır (Moser ve Haselwandter, 1975; Hayman, 1981). Bitkiler ile mikroorganizmalar arasında görülen mikorizal ortak yaşam biçimi, bilinen diğer simbiyotik yaşam biçimleri arasında en yaygın ve en önemli olanıdır (Allen, 1991). Son yıllarda, mikorizal ortak yaşam önem kazanmaya başlamış ve bu alanda yapılan çalışma sayısı da giderek artmıştır (Gai vd., 2006; Martin ve Slater, 2007).

Mikorizal funguslar ve bitki kökleri arasındaki ortak yaşam ilişkisinde, heterotrof organizma ile ototrof konukçu arasındaki besin alışverişindeki önemli kısım, farklı cinslere ait mikorizal fungus türlerinin birçok farklı familyadaki bitki türlerine özelleşebildikleridir (Smith ve Read, 2008).

Mikorizal fungusların miselleri ile bitki kökleri arasında oluşan bağlantı sonucunda bir dizi etkileşim gerçekleşmektedir. Bu etkileşim doğrultusunda bitki köklerinden kök salgıları toprakta bulunan mikorizal funguslara ait sporların çimlenmesi ile hif tüpünün oluşması sonucu hifler bitki köklerine yönelmektedir. Böylece kök ile hifler arasında bağlantı gerçekleşmiş olmaktadır. Bu temastan sonra kök ile hif arasında gerçekleşen güçlü bir adhezyon vasıtasıyla kök yüzeyine bağlanan mikorizal funguslar, aposoryum oluşturarak bitki kökünü penetre etmekte ve kök dokusunda intersellüler olarak yayılış göstermektedirler (Peterson ve Farquhar, 1994). Kök yüzeyinde oluşan yoğun fungal örtü ve misel yapısı bitki kökünün

ulaşamadığı yerlere ulaşarak bitkiye yarar sağlamaktadır. Bu yarar sonucunda, fungus bitkiden karbon alırken, bitkinin sağladığı kazanç mikorizal fungusların topraktan aldığı besin maddeleri ve suyun bünyesine ulaştırılmasıdır (Erzurumlu ve Kara, 2014).

Mikorizal funguslar; spor yapısına, bitkilerde oluşturduğu etki şekillerine ve kök içinde morfolojik ve fizyolojik yapılarına göre büyük farklılıklar gösterdikleri için farklı şekilde gruplandırılmaktadırlar. Mikorizal fungusların oluşturduğu miselin kök yapısı ile ilişkisine göre endomikorizalar ve ektomikorizalar olmak üzere iki büyük grup oluşturmaktadırlar. Genel olarak orman ağaçları ile bazı meyve ağaçlarında ektomikoriza tipi bir ortak yaşam görülürken, çoğu kültür bitkilerinde ve bazı meyve ağaçlarında ise endomikoriza tipi ortak yaşam görülmektedir (Marschner, 1995). Ayrıca, bu iki büyük grup dışında ericaceous ve orkide mikoriza grupları da bulunmaktadır.

Ancak, tarım açısından kullanılan endomikorizalar ve ektomikorizalar daha geniş alanda kullanılmaktadırlar (Anonim, 2014).

Doğal ekosistemdeki bu yararlı ortak yaşam, bitki köklerinin bir parçası olan mikorizal fungusların topraktaki yararlı mikroorganizmalarla etkileşime girmesi sonucu bitkide kök eksüdasyonu çoğalmakta ve kuru madde üretimi %25 oranında artmaktadır. Bu etkileşim sonucunda mikorizal funguslar, bitki büyümesini artırarak bitki canlılığının korumasında rol alan etkili faktörlerden birisi olarak görülmektedir (Sharma vd., 1992). Mikorizal fungusların, bitki gelişimi üzerine etkileri şunlardır:

- Bitki besin elementlerini ve su alımını artırarak bitki gelişimini artırırlar,
- Kimyasal gübre kullanımını azaltarak çevreye yarar sağlamaktadırlar,
- Fumigasyon veya solarizasyon sonrası yapılan ekim sonrası oluşan bitkilerin bodur kalmasını önleyerek bitki ekim kalitesini artırırlar ve erken bitki çıkışını sağlarlar,



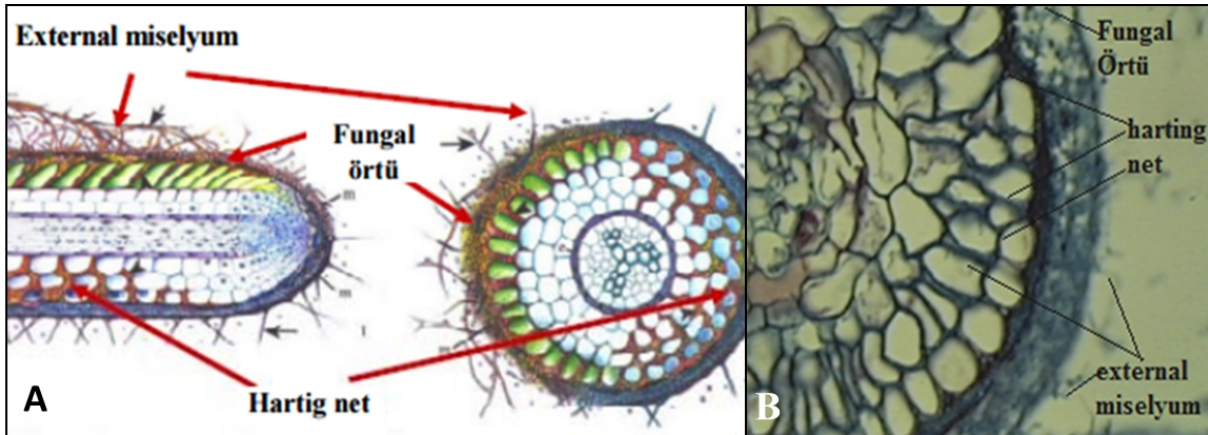
- Şaşırtma sırasındaki fide şokunu ve fide kayıplarını azaltırlar,
- Patojenlerin etkilerine karşı bitkiyi korurlar,
- Zayıf gelişen fide sorunlarını azaltırlar,
- Kuraklık ve çevre koşullarına karşı oluşan streslere karşı bitkiyi korurlar ve gelişim direncini artırırlar,
- Kirletilmiş ve hatalı tarım uygulamaları sonucu zarar görmüş topraklardaki olumsuz etkileri de azaltmaktadır (Ortaş, 1998).

Kök ile birlikte simbiyotik olarak yaşayan mikoriza türlerinin birçok yararı olduğu gibi tarımsal üretimdeki kullanım alanı da her geçen gün hızla artmaktadır.

1.1. Ektomikorizalar

Genel olarak orman ağaçları ve bazı meyve ağaçları ile ortak yaşam oluşturan ektomikorizalar, oluşturdukları farklı yapıları ile karakterize edilmektedirler. Bu yapılardan birisi fungal örtüdür (mantle). Fungal örtü bitkilerde kökün dış yüzeyindeki kökçük yapısında çok

sayıda dallanmış olan hif örtüsü ile karakterize edilen bir yapıdır. Bu örtünün kalınlığı ve yapısı ortak yaşam gösteren türe ve yetiştiği çevresel koşulları bağlı olarak yüksek oranda farklılık göstermektedir. Ortak yaşam oluşturan fungus için bu fungal örtü oluşumu, besin maddesi ve karbon deposu olarak görev yapmaktadır. Bir diğer karakteristik yapı ise harting net' tir. Bu yapı, kökün daha dış kısımlarındaki kortekste kortikal ve epidermal hücreler arasında hücre içi intraselluler hiflerin yoğun yığınlar halinde bir araya gelmesinden oluşmaktadır. Konukçu bitki ve fungus arasındaki karbondioksitlerle minerallerin değiş tokuş edildiği yapı harting net ile gerçekleşmektedir. Bir diğer karakteristik yapı ise external miselyum olan dış fungal örtüden toprak içine yayılış gösteren hiflerden oluşan misel yapısıdır. Bu misel besin alımı, besin maddelerinin hareketini, su alımını ve topraktaki diğer yararlı mikroorganizmalar ile etkileşim oluşturabilmeleri için geniş bir yüzey alanı oluşturmasından dolayı oldukça önemlidir (Şekil 1) (Kibar ve Pekşen, 2007).



Şekil 1. Ektomikorizaların bitki kökleri ve dokularında oluşturduğu yapılar (A: Peterson vd., 2004; B: Plantscience 4u, 2016)



Ektomikorizal funguslar, tarımda önemli yer tutan fungus gruplarından birisini oluştururlar. Ektomikorizal fungus gruplarının çoğunluğunu *Basidiomycota* bölümü oluştururken toplamda 65 cins mevcuttur. Bu grupta 45'i *Basidiomycota*, 18'i *Ascomycota* ve geri kalanı da *Zygomycota* bölümüne aittir. Örneğin; *Basidiomycota*'dan *Agaricales* takımından *Boletus*, *Amanita*, *Tricholoma* ve *Suillus* cinsleri, *Russulales* takımından *Lactarius*, *Cortinarius* ve *Russula* cinsleri, *Aphylophorales* takımından *Thelephora* cinsi, *Hymenogastres* takımından *Rhizopogon* cinsi ve *Sclerodermatales* takımından *Scleroderma* cinsi, *Ascomycota* bölümünden *Tuberiales* takımından *Tuber* cinsleri ve *Zygomycota*'dan *Endogonales* takımına giren cinsler ektomikorizal ortak yaşam gösteren funguslardır (Isaac, 1992; Anonymous, 2007).

Ektomikorizal funguslar tropik alanlardan çok mevsimsel iklim değişikliklerinin olduğu ılıman alanlarda çok daha yaygın simbiyoz oluşturmaktadırlar (Carlile ve Watkinson, 1995). Dünya florasının yaklaşık %10'nunda ektomikorizal funguslar başlıca *Fagaceae* (meşe, kestane, kayın), *Pinaceae* (çam, göknar, karaçam, ladin baldıran), *Juglandaceae* (Amerikan cevizi, pekan), *Betulaceae* (kızılağaç, huş) *Salicaceae* (kavak, söğüt), *Myrotaceae* (okaliptüs) ve diğer bazı ağaçlarda ortak yaşam oluşturmaktadırlar (Marx, 2001). Ektomikorizal fungusların ortak yaşamdaki etkinliği üzerine yapılan araştırmalarda en çok kullanılan ağaç türleri çam (*Pinus*) ve kayın (*Fagus*)'dır (Carlile ve Watkinson, 1995).

Ektomikorizal funguslar ile bitki etkileşime girdiğinde oluşan kolonizasyon emici köklerde şekil ve renk değişikliklerine neden olur. Köklerin şekilleri çatallı, çok dallanmış olabilirken, rengi kırmızı, sarı, siyah, beyaz, kahverengi veya karışık renklerde olabilir (Marx, 2001). Birçok ektomikorizal fungus, bitki kılcal köklerinin dallanmasını arttıran bitki büyümesini geliştirici gibberellin, oksin, etilen ve sitokinin gibi bitki büyüme düzenleyici hormonları üretirler. Bu nedenle, kök yapısının absorptif

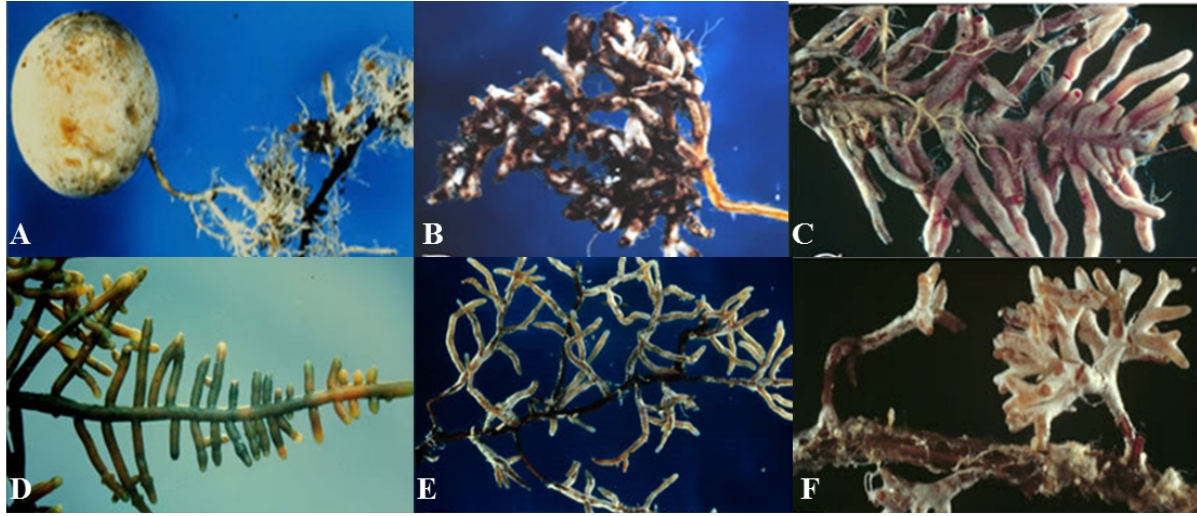
kapasitesinin artması ile kök ve fungus dokusu arasındaki temas yüzeyi artmış olur. Bu dallanma biçimi ile bitki kökü etrafında mantar dokunun oluşturduğu manto yapısı ektomikorizaları karakterize ederek topraktaki miselden sağlanan besinler için bir depo olarak görev yapmaktadır. Aynı zamanda bazı patojenlerden ve olumsuz çevre koşullarından kılcal bitki köklerini korumaktadır (Şekil 2) (Molina vd., 1993; Molina vd., 2001).

Dünyada ektomikorizal funguslar ile yapılan çalışmalarda ektomikorizal fungusların bitki gelişimini olumlu etkilediği ve besin maddesi alımını artırdığı saptanmıştır (Akitsu vd., 2000; Souza vd., 2004; Turjaman vd., 2006; Repac, 2007). Ülkemizde özellikle orman ağaçlarında bulunan ektomikorizalarla ilgili yok denecek kadar az çalışma olmasına rağmen, ektomikorizal fungusların önemi bazı çalışmalar ile vurgulanmıştır (Kara, 2000; Kara ve Tilki, 2001; Tilki ve Kara, 2004; Kibar ve Pekşen, 2007, 2011; Pekşen ve Kibar, 2007; Tüfekçi, 2007; Toprak vd., 2014, Toprak vd., 2016)

1.2. Endomikorizalar

Endomikorizal grubu oluşturan funguslar, Fungi aleminin içinde yer alan *Glomeromycota* bölümü üyeleridir. İplikli misel topluluklarına sahip olmasıyla arbusküler (çalı-benzeri) olarak adlandırılan genel cinse *Glomus* adı verilmiştir (Holt, 2009). *Glomeromycota* bölümü funguslar 600 ile 620 milyon yıl önceden oluşmuş olan çok eski bir gruptur. (Amaranthus, 2004; Redecker, 2008).

Endomikorizal funguslar üzerinde en çok araştırma yapılan ve kullanılan mikorizalardır. Arbusküler mikorizal funguslar taksonomik olarak *Zygomycetes* sınıfı, *Glomerales* takımı, *Glomeraceae* familyasına bağlı olup, *Entrophospora* spp., *Acaulospora* spp., *Glomus* spp., *Sylerocystis* spp. *Scutellospora* spp. ve *Gigaspora* spp. türlerini kapsarlar. Arbusküler mikorizal fungusların etkisi ilk olarak 1959 yılında rapor edilmiştir (Baylis, 1959).

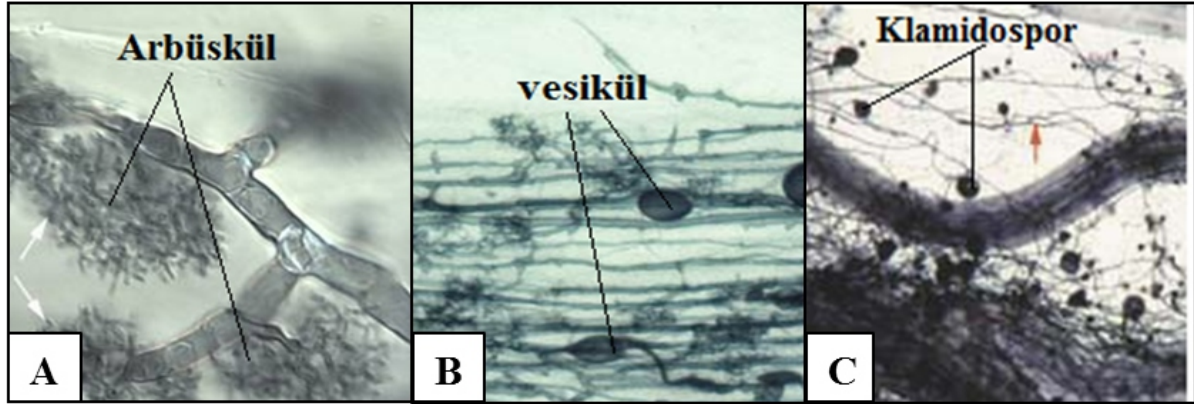


Şekil 2. Farklı ektomikorizal kökler; A, *Hysterangium* sp. (Tuberales) B, *Rhizopogon vinicolor* (Boletales) C, *Poria terrestris* (Polyporales); D, *Lactarius sanguifluus* (Russulales); E-F, *Amanita muscaria* (Agaricales) (Mycorrhizal Associations, 2008).

Endomikorizaların karakteristik yapısı; hem kortekste hücre içi boşluklarda hem de hücreler arası boşluklarda meydana gelmektedir (Sieverding, 1991; Harley ve Smith, 1983; Smith ve Read, 1997). Endomikorizal funguslar, hücre içinde ağaçların kök tipi gibi dallanmaya benzeyen arbüskül olarak adlandırılan yapılar (Şekil 3-A) oluşturmaktadır. Endomikorizal funguslar kortekste geliştiği için ortamda lipitçe zengin oval şekilli olan vesikül (Şekil 3-B) adı verilen yapıları oluşturmaktadırlar (Marschner, 1995; Mossea, 1981). Arbusküler mikorizalar, hiflerini toprak içine salarlar ve oluşan misel ağı çift yönlü besin maddesi hareketini teşvik ederek toprak besinlerinin ve suyun bitkiye yönelmesini ve bitkide oluşan fotosentez ürünlerinin misele geçmesini sağlarlar. Arbusküler mikorizal funguslar; hifler, ekstraradikal ve intraradikal sporlar, vesikül intrasellüler depo yapıları ve ekstra radikal hiften dallanan yardımcı hücreler ile bitki köklerinin kabuk hücreleri etrafında ve hücreler içinde misel ağı oluştururlar (Dalpe ve Monreal, 2004). Bu yapılarla, bitki kökleri ve mikorizal fungus arasında etkileşim ile ortak yaşam başlamaktadır.

Endomikorizaların bitkiler ile etkileşimlerinin sonucu, çoğunlukla kök yüzeyinde oluşan ekstraradikal misellerin penetrasyonundan 3-4 hafta sonra dinlenme sporları olan klamidosporlar oluşmaktadır. Bazı türlerde dinlenme sporunun oluşumu 6 aya kadar uzayabilmektedir. Klamidosporların büyüklükleri mikorizal türlere göre farklılık göstermekte boyutları 15-800 µm arasında olmaktadır. Mikorizal funguslar, bu sporlar sayesinde canlılığını toprakta birkaç yıl koruyabilmektedir (Sieverding, 1991) (Şekil 3-C).

Tarımda en çok kullanılan endomikorizal grubu olan arbüsküler mikorizalar; bitki gelişimini, özellikle de bitki besin maddelerinin miktarlarının kritik seviyelerinde olan topraklarda ve zor çevre koşullarında besin elementi alımını teşvik etmekte ve kök gelişimini, köklerin absorpsiyon gücünün artması sonucunda da besin maddesi ve su alımını, köklerdeki hücre yenilenmesini olumlu yönde etkilemektedirler (Sieverding, 1991; Ortaş, 2002).



Şekil 3. Endomikorizaların bitki dokusunda oluşturduğu yapılar. A: Arbüskül yapısı; B: Vesikül yapısı C: Klamidospor (www.mycorrhizas.info).

1.3. Tarımda Mikorizaların Etkinliği

Ülkemizde mikorizal funguslarla ilgili yapılan çalışmalarda hem mikoriza çeşitleri hem de bu mikoriza çeşitlerinin otsu ve odunsu bitkilerin dışında meyve ve sebzelerde uygulanmasına yönelik çalışmalarda mikorizaların olumlu yönde etki gösterdiği belirlenmiştir. Mikorizaların bitki büyümesinde ve bitkinin ürün veriminde etkili bir faktör olmasının yanında bitkilerdeki hastalık ve zararlılara karşı da bitkinin direncini arttırdığı çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Ülkemizde ise mikorizal fungusların etkinliği ile ilgili çalışmalar yeni olup, son dönemlerde bu alanda gittikçe artan oranda araştırma çalışmaları oluşturularak, elde edilen etkili mikorizal fungus türlerinin tarımda kullanılabilirliği sağlanmaktadır.

1.3.1. Mikorizal Fungusların Bitki Gelişimine Etkinliği

Mikorizalar, bitkinin yarar sağlayamadığı çözünürlük oranı az olan besin elementlerini, özellikle de fosforu absorbe ederek bitkiye gerekli olan diğer besin elementini aktarmaktadırlar. Yetiştiriciliği yapılan bitkilerin, toprak fungal hastalık etmenlerine ve topraktaki nematodlara karşı bitkinin dayanıklılığını arttırmaktadırlar. Daha iyi beslenerek gelişen mikorizalı bir bitkinin, herhangi bir uygulama yapılmadan gelişen mikorizasız bitkiye oranla

obligat bitki patojenlerine karşı daha dayanıklı olduğu gözlenmiştir (Demir ve Onoğur, 1999).

Mikorizalar, bitki köklerini çevre faktörlerinin neden olduğu ağır metal toksisitesi ve tuzluluğa karşı bitkiyi koruyarak bitkinin direncini arttırmaktadırlar (Harley ve Smith, 1983). Ayrıca mikorizal funguslar, verimsiz toprakların bitki büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerini de azaltabilmektedirler (Mossea, 1981). Mikorizal funguslar, bitki patojenlerine karşı da bitkinin direncini artırarak bitkiyi beslerler ve direkt rizosferde zararlı organizmalarla mücadele ederek etkinliği arttırmırlar (Dehne ve Schanbeck, 1979).

Mikorizal etki, olumsuz çevre koşullarının başında gelen kuraklık koşullarına karşı bitki dayanıklılığını da artırabilmektedir. Bu etki, direkt hifler ile olabildiği gibi mikorizanın bitki fizyolojisi ve morfolojisi üzerinde yaptığı farklılaşmadan dolayı kılcal kök oluşumu ile de etkili olmaktadır (Davies vd., 1992).

Mikorizal funguslar, toprakta fazla fosfor olduğu zaman inaktif duruma geçmekte ve bu etki sonucunda diğer bazı bitki besin elementlerinin alınamamasına neden olmaktadır (Menge vd., 1978; Graham, vd., 1981; Robson, vd., 1993).



Mikorizaların, fosfor içeriği düşük olan verimsiz topraklarda buğday bitkisinin verimini ve bitki gelişimini olumlu etkilediği rapor edilmiştir (Hayman, 1970; Khan, 1975; Thompson, 1990). Mikorizal fungusların en önemli etkileri, bitkinin su ilişkisini düzenlemeleridir. Mikorizanın bitki su ilişkisi üzerine etkisi ile uzun sürede sürdürülebilir tarımda avantaj sağlayabilir (Subramanian vd., 1995).

Mikorizal etkinin; bakır, çinko, demir, kalsiyum, fosfor, magnezyum ve mangan gibi bitki besin elementi alımını arttırdığı ve mikorizal hifler sayesinde toprak içerisinde bulunan besin elementlerinin alımının 60 kat daha fazla olduğu araştırma sonuçlarında ortaya konulmuştur (Bieleski, 1973). Mikorizal funguslar, tuz stresine karşı bitki dayanıklılığını arttırmaktadırlar (Menge vd., 1978). Mikorizal fungusların, azot fiksasyonu yapan *Rhizobium* bakterilerinin nodül oluşturmasında da olumlu etkiler yaptığı saptanmıştır (Davis, 1978; Davis, 1979; Menge vd., 1980).

Mikorizal fungusların, topraktaki bitkilerce alımı yavaş olan fosforun kontrollü koşullarda bitki tarafından alımını hızlandırdığı yapılan denemelerle gözlenmiştir (Mossea, 1981). Mikorizal funguslar inoküle olmamış bitkilerin kök bölgesinin 1 cm uzağındaki fosfordan yararlanabilirken, mikorizal funguslarla enfekte olmuş bitki köklerinin fungus hifleriyle kökten 11 cm uzaktaki fosforu kolaylıkla alabildiği ortaya konulmuştur (Li vd., 1991).

Mikorizal funguslardan *Glomus mosseae* ve *Scutellospora* türlerinin domateste bazı büyüme parametrelerine etkileri araştırılmış ve *G. mosseae* fungus türünün bitki büyümesinin 7. haftasında bitki boyunu, sürgün kuru madde ağırlığını ve çiçeklenme miktarını kontrol bitkisine göre önemli derecede arttırdığı saptanmıştır (Monther, 2009).

Glomus sp. ve *Glomus aggregatum*, *G. clarum*, *G. deserticola*, *G. intarardices*, *G. monosporus*, *G. mosseae*, *Gigaspora margarita*, *Paraglomus brasilianum* içeren mikorizal prepatın domates, hıyar ve biber

bitkilerinde fide çıkışı ve gelişimi ile bitki gelişimine olan etkisi üzerine yapılan çalışmada; bitki gelişimi açısından *Glomus* sp. uygulaması, domates ve hıyar bitkilerinin gelişimlerinde etkili olmuştur. Buna karşılık mikorizal preparatın biber bitkilerinin gelişimi açısından herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bitkilerdeki mikoriza kök kolonizasyon oranının *Glomus* sp.'de uygulamasında hıyarda %71, domateste %72 ve biberde ise %61 iken mikorizal preparatta daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Yıldız, 2009).

Kiraz bitkisinde doku kültürü ile elde edilmiş "Edabariz" ve "Gisela 5" anaçlarının çevre koşullarına uyumlu olma evresinde beslenme ve gelişmeleri üzerine arbüsküler mikorizal fungusların etkisinin araştırıldığı çalışmada, *Glomus clarum*, *G. etunicatum*, *G. intraradices*, *G. caledonium* ve *G. mosseae* mikorizal fungus türlerinin karışımı ile mikorizal üç farklı substrat karışımı kullanılmıştır. Mikorizal etki sonucu, tüm anaç bitkiciklerinin şaşırtmada canlılıklarını sürdürerek daha çok besin alımı yaptığı saptanmıştır. Arbüsküler mikorizal fungusların bitkiciklere bulaştırılmasıyla kirazlarda büyüme ve gelişme parametrelerini arttırarak kiraz anacı üretimini iyileştirmede yarar sağlayacakları saptanmıştır (Aka-Kaçar vd., 2010).

Fındık ile ektomikorizal fungus türü olan *Lactarius pyrogalus*'un farklı izolat ve inokulasyon uygulamasının mikoriza oluşumu ve fidan gelişimi üzerine etkisinin belirlendiği çalışmalarda; *L. pyrogalus* mantar türünün farklı inokulasyon uygulamaları ve farklı bölgelerden elde edilen izolatların fındık fidanlarında ektomikoriza oluşturduğu ve kontrol uygulamasına göre fidan gelişimlerinde olumlu sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Kibar ve Pekşen, 2011, 2016).

Bitkilerdeki klorofil miktarı üzerine yapılan çalışmada; tohum ekiminden sonra bitkilerin çimlenme, büyüme durumları, bitkilerin yaprak klorofil değerleri ve çiçeklenme zamanları ölçülmüştür.



Çalışma sonucunda; mikoriza aşılama-sının klorofil miktarı üzerine etkili olduğu ve mikoriza aşılması ile fosfor uygulaması arasında interaksiyon olduğu belirlenmiştir (Akay ve Karaarslan, 2012).

Farklı fosfor dozlarında mikoriza çeşit-lerinin tarla koşullarında biberde verim ve bitki gelişimine etkileri üzerine yapılan çalışmada; fosfor uygulamasının tohum aşamasında mikoriza aşılansmış biberde verimi artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, şaşırtma sırasında yapılan yeniden aşılamanın da verimi artırdığı saptanmıştır (Almaca vd., 2013).

Yetiştirme ortamına ilave edilen mikoriza fungusunun bitki gelişimini, verimini ve meyve kalitesini önemli ölçüde artırdığı belirlenmiş ve verimde kontrol uygulamasına göre % 42.2 artış sağlanmıştır (Öztek ve Ece, 2014).

Serada buharla sterilize edilerek, bünye-sinde doğal olarak bulunan Arbusküler Mikorizal funguslarının (AMF) azaldığı toprakta yetiştirilen bibere AMF türleri (*Glomus caledonium* ve *G. clarum*) farklı şekillerde uygulanmıştır. Uygulamaların biberde bitki gelişimi, verim ve bitkinin beslenme durumu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; serada AMF

ilavesi bitki gelişmesi ve verimi olumlu yönde etkilemiştir. Verim üzerine etkisinde; birer kez uygulamalarda kontrole göre yaklaşık %16 oranında bir artış, iki kez uygulama da yaklaşık %29 oranında artış saptanmıştır (Altuntaş vd., 2015).

1.3.2. Mikorizal Fungusların Bitki Hastalıklarına Karşı Etkinliği

Mikorizal fungusların bitki patojenlerinin etkilerine karşı daha dirençli olduğu fakat mikorizanın patojenlerin neden olduğu hastalığı ortadan kaldırmadığı sadece hastalık simptom-ları ve şiddetini azalttığı saptanmıştır (Davis, 1978; Davis, 1979; Menge vd., 1980).

Arbusküler Mikorizal (AM) fungusların rizosfer bölgesinin önemli komponentlerinden birisi olması ve bitkiler üzerinde etkili olmaları nedeniyle kök hastalıklarının ve mücadele açısından olumlu etkileri sahiptirler. Çalışma-ların büyük bir çoğunluğunda fungal patojenlerin neden olduğu toprak kaynaklı hastalıkların AM fungusları tarafından azaltıldığı çalışmalar sonucunda ortaya konulmuştur (Ocak ve Demir, 2012) (Tablo 1).

Tablo 1. Bazı fungal patojenlere karşı kullanılan Arbusküler Mikorizal Funguslar ve konukçuları (Demir ve Akköprü 2007).

Fungal Patojen	Konukçu Bitki	Arbusküler Mikorizal Funguslar
<i>Aphanomyces euteiches</i>	Bezelye	<i>Glomus intraradices</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>chrysanthemi</i>	Havuç	<i>G. intraradices</i>
<i>F.o. f.sp. cucumerinum</i>	Hıyar	<i>G. mosseae</i>
<i>F. o. f.sp. radialis-lycopercici</i>	Domates	<i>G. intraradices</i>
<i>F. solani</i>	Fasulye	<i>G. mosseae</i>
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Kavun	<i>G. intraradices</i>
<i>Phytophthora fragariae</i>	Çilek	<i>G. fasciculatum</i> & <i>G. etunicatum</i>
<i>P. nicotianae</i>	Domates	<i>G. mosseae</i>
<i>P. parastica</i>	Domates	<i>G. intraradices</i> <i>Glomus mosseae</i> , <i>Gigaspora roseae</i>
<i>Pythium ultimum</i>	Soğan	<i>G. intraradices</i>
<i>P. ultimum</i>	Biber	<i>G. intraradices</i>
<i>Rhizoctonia solani</i>	Fasulye	<i>G. intraradices</i>
<i>R. solani</i>	Patates	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. intraradices</i>
<i>V. dahliae</i>	Patlıcan	<i>G. etunicatum</i> , <i>Gigaspora</i> <i>margarita</i> <i>G. intraradices</i>
<i>Verticillium albo-atrum</i>	Domates	<i>G. mosseae</i> , <i>G. caledonium</i>



Rizosferin ve biyolojik mücadelenin önemli üyeleri olan mikorizal funguslar içinde en çok kullanılan arbusküler mikorizal fungus türlerinden *Glomus fasciculatum*, *G. mosseae* ve *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*'nin *Sclerotinia sclerotiorum* ve fasulye bitki gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Fasulyede morfolojik değerler dikkate alındığında, patojen popülasyonunun uygulamalarda tüm morfolojik değerlerde azaldığı ve bitkilerde toplam azot ve fosfor içeriğinin ise arttığı saptanmıştır (Aysan ve Demir, 2009).

Arbusküler mikorizal funguslar ve bitki patojeni bakteriler arasındaki ilişki ile ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Arbusküler mikorizal funguslardan en çok kullanılan mikorizal fungus *Glomus mosseae*'nin domateste *Erwinia caratovora*'ya karşı bitkilerin direncini arttırdığı ve bakterilerin rizosferde azaldığı saptanmıştır (Garcia-Garrido ve Ocampo, 1988).

Mikorizal funguslardan *Glomus mosseae* ile aşılınmış domates bitkilerinde fungusun *Pseudomonas syringae* bakteriyel etmeninin zararını azalttığı saptanmıştır (Garcia-Garrido ve Ocampo, 1989).

Phytophthora parasitica'ya karşı domates köklerinde sistemik dayanıklılığı aktifleştirmek için *G. mosseae* ve *G. intraradices* türlerinin etkinlik oranları karşılaştırılmıştır. *G. mosseae* türü *Phytophthora parasitica*'nın domates köklerinde oluşturduğu hastalık belirtilerini azalttığı saptanmıştır. Kök protein ekstraktlarının *Phytophthora parasitica*'nın hücre duvarında litik etki göstermesi, *Phytophthora parasitica*'ya karşı mikorizal fungusların sistemik bir etkisinin olduğu saptanmıştır (Poza vd., 2002).

Domates bitkisiyle *G. mosseae* fungus hifleri arasındaki misel ağının gelişmesinden sonra bitkilerde, savunma enzimleri olan peroksidase, β -1,3-glukanase, kitinase, polifenol oksidase, lipoksigenase ve fenilalanin ammonia-liyase aktivitelerinin tetiklenmesiyle bitkinin *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ve *Alternaria solani*'ye karşı olan dayanıklılık-

larında artışlar saptanmıştır. Bu şekilde, sağlam bitkilerin patojen saldırısına karşı kendi savunmalarını aktive ettiği, mikorizal ağ yoluyla da komşu bitkilerdeki savunma sinyallerine karşı etkili olabilecekleri önerilmektedir (Song vd., 2010).

Domateste *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı kullanılan organik tarım preparatları *Trichoderma harzianum* ve *Bacillus subtilis* ve bir mikorizal preparat olan *G. intraradices* ile farklı denemeler yapılmıştır. Mikorizal preparat uygulamasının kontrol denemesine nazaran patojenle enfekteli domates bitkilerinde sürgün kuru madde ağırlığı, sürgün boyu ve kök boyunu arttırdığı saptanmıştır. Mikorizal preparat dışında kullanılan *G. etunicatum*'un ise domateslerde bitki gelişimi, verim ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*'ye karşı etkili olabildiği belirlenmiştir (Biçici, 2011).

Pamuk bitkisinde *G. mosseae* mikorizal fungusunun pamukta solgunluğa neden olan *Fusarium vasinfectum* etmenine karşı hastalık şiddetini azalttığı gözlenmiştir (Hu ve Gui, 1991). *G. mosseae*, *G. versiforme* ve *Sclerocystis sinuosa* mikorizal fungus türleri pamukta *Verticillium* solgunluk hastalığına karşı kullanılması ile *G. versiforme* bitki patojeninin topraktaki mikrosklerot yoğunluğunu azalttığı belirlenmiştir (Liu, 1995). Tarlada yapılan çalışmalarda ise patlıcan bitkisinde *Verticillium* solgunluğuna karşı *G. etunicatum* ve *G. margarita* mikorizal fungus türlerinin hastalık etkisini belirli oranlarda azalttığı gözlenmiştir (Matsubara vd., 1995).

Mikorizal fungus *Glomus etunicatum*'un domatesin gelişimini teşvik ederken, bitkide hastalığa karşı dayanıklılık uyarıcı salisilik asit (SA) ile birlikte kullanıldığında *G. etunicatum*'un domateste solgunluk patojeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin kökte kolonizasyonunun engellendiğini saptayarak hastalığa karşı mücadelede kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Özgönen vd., 2001).



Hıyar kök çürüklüğü hastalığı *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium solani*'ye karşı mikorizal fungusların (*G. mosseae*, *G. etunicatum* ve *G. intraradices*) etkinliklerinin belirlendiği sera ve saksı çalışmalarında, bu mikorizal fungusların patojen funguslara doğrudan etkisinin olmadığı görülmüştür. Buna karşılık verim denemelerinde mikorizal fungus uygulamasının kontrole göre verimde artışı sağladığı bildirilmiştir (Yücel vd., 2001).

Arbüsküler mikorizal fungusların, *Rhizoctonia*, *Phytophthora* ve *Fusarium* bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıklara karşı alternatif olarak biyolojik mücadelede kullanılabilirdiği saptanmıştır. Bu çalışmayla arbüsküler mikorizal funguslar ile biyolojik mücadelede kullanılan diğer organizmalar arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Bu karşılıklı yararlı etkileşim, bitkilerde kök salgılarını, fitoaleksinleri ve fenolik bileşiklerin üretimini tetiklemektedir. Bu sayede mikorizal funguslar, toprak ve bitki mikrobiyal etkileşimini olumlu şekilde etkilemektedirler. Mikorizal fungal etkinin, bitki savunma genlerinin aktive olmasıyla beraber kitinaz, glukanaaz, flavonoid biyosentezi ve fitoaleksinlerin üretimini az da olsa arttırdığı saptanmıştır (Dalpe ve Monreal, 2004).

Mikorizal fungusların salisilik asit (SA) ve DL- β -amino-nbutyric asit (BABA) ile birlikte kullanıldığında biberlerde kök boğazı yanıklık etmeni *Phytophthora capsici*'nin infeksiyon potansiyeli üzerine etkilerini araştırmıştır. Mikorizal fungusların tohum ekimiyle birlikte mikorizal inokulum yapılmış olan biber bitkilerinin şaşırtılmasından sonra köklerde %61.3-%68.1 arasında değişen oranlarda kolonize olduklarını belirlemiştir. *G. mosseae*, *P. capsici*'nin hastalık şiddetini saksı koşullarında %91.7, sera koşullarında %43 ve tarla koşullarında ise %57.2 oranında azaltmıştır (Özgönen, 2004).

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde patlıcanda solgunluk hastalığına neden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae* (FOM)'nın yaygınlık oranı ile moleküler karakterizasyonu ve bitkide hastalığa karşı dayanıklılık uyarıcı

abiyotik ve biyotik faktörlerin hastalığın gelişimine olan etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda her iki dayanıklılık uyarıcının da hastalığın önlenmesinde etkin olduğu belirlenmiştir (Altınok, 2006).

Glomus coledonium, *G. etunicatum*, *G. fasciculatus*, *G. intraradices*, *G. mosseae*, *Gigaspora margarita* mikorizal fungus türlerinin pamukta bitki gelişim parametreleri ve solgunluk hastalık etmeni olan *Verticillium dahliae*'nin hastalık şiddeti üzerine etkisinin saptandığı çalışmada; mikorizal fungusların *V. dahliae* inokulasyonu yapılmadığı ve yapıldığı durumlarda pamuk bitkilerinde kolonizasyon oranlarında artışlar olduğu belirlenmiştir. Önceden mikorizal fungus inokulasyonu yapılmış bitkilerde hastalık şiddeti %31.3-65.6 azaldığı, hastalık şiddetini azaltmada *G. mosseae* ve *G. etunicatum*' in en etkin türler olduğu saptanmıştır (Özgönen, 2011).

Mikorizal funguslar (*Glomus etunicatum*, *G. fasciculatus*, *G. mosseae*, *G. intraradices* ve *Gigaspora margarita*) ve dayanıklılık teşvik edici bazı kimyasalların karpuzda solgunluk etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* (FON) üzerine etkileri araştırılmıştır. Mikorizal funguslar, FON'un hastalık oluşturmalarını %48.4-58.1 oranında engellemiş ve en etkili mikorizal fungusun *G. margarita* olduğu saptanmıştır (Çınar, 2011).

Geleneksel tarım uygulamalarında; üretim alanlarında uygulanan mücadele ve hatalı tarım uygulamalarının getirdiği birçok olumsuzluk, yetiştiricilikte kullanılacak yöntem ve materyallerin seçimlerinde farklılaşmaya ve alternatif yollar denenmesine imkan sağlamaktadır. Ekosistemin bir parçası olan mikorizal fungusların etkinliği; bitki hastalık ve zararlı organizmalara karşı mücadelede kullanılması, bitki için gerekli bitki besin elementlerinin alım kapasitesini artırması, bitki gelişimini ve verimi artırıcı olumlu etkileri bilimsel çalışmalarla ortaya konulmakta ve her geçen gün mikorizal fungusların önemi ve tarımsal üretimde kullanım alanları giderek artmaktadır (Koide ve Mosse, 2004; Almaca, 2014).



2. Tartışma

Bitki kılcal kökleriyle beraber etkileşimde bulunan endomikorizalar ve ektomikorizalar olmak üzere iki önemli mikoriza grubu vardır. Endomikorizalar daha çok Glomeromycota, ektomikorizalar ise Basidiomycota üyesi funguslarca oluşturulur. Mikorizal funguslar, farklı bitki türleri ile etkileşime girerek bitkilerin yararına çeşitli etkiler göstermektedirler. Bu etkiler, bitkinin olumsuz çevre koşullarına karşı bitkiye direnç sağlamak; bitkinin topraktan alamadığı bitki besin elementlerinin alınmasını sağlamak; bitkinin çeşitli bitki hastalıklarına karşı direncini artırarak bitkinin dayanıklılığını devam ettirme şeklindedir. Doğada var olan bu ortak yaşam ile bitki ve fungus arasında karşılıklı yararlı bir yaşam oluşmaktadır.

Mikoriza türleri olan ektomikorizaların daha çok orman ağaçları, endomikorizaların ise özellikle arbüsküler mikoriza türü birçok kültür bitkisinde gelişimi, toprak verimliliğini arttırdıkları, hastalık ve zararlılara karşı da etkinlik gösterdikleri birçok çalışmada ortaya konulmuştur.

Tarımsal üretimin sürdürülebilirliğinin devam etmesi için tercih edilmesi gereken etkili ve güvenilir yolun, doğal hayat ekosisteminde yer alan yararlı organizmalarla ilgili yeterli bilgi birikiminin sağlanarak ve bu bilgileri pratiğe aktarılması ve tarım alanlarında alternatif yöntemlerin geliştirilmesi düşünülmektedir. Tarımsal üretimde, bitki beslenmesinde ve bitki koruma amaçlı kullanılan biyolojik mücadele materyallerinin ekosistemde oluşturdukları doğrudan ya da dolaylı etkileşimlerinin detaylı olarak ortaya çıkarılması gerekmektedir. Bu

etkiler doğrultusunda özellikle bitki hastalıklarına karşı mücadelede alternatif yollar geliştirilerek bitki hastalıklarının şiddetini azaltmada ve kontrol altında tutmaya yönelik kimyasallara karşı biyolojik mücadelenin gelişmesi, çevre koruması açısından alternatif yöntem olmaktadır. Bu doğrultuda biyolojik mücadelede kullanılan organizmalardan kök sistemleri ile yararlı ortak yaşam oluşturan mikorizal fungusların alternatif biyolojik mücadele elemanı olarak kullanımı yarar sağlayacaktır. Bu derlemede mikorizal fungusların tarımda kullanımıyla ilgili bilgiler verilmesine rağmen, pratik anlamda mikorizal fungusların tarımda, özellikle kültür bitkilerinde etkin kullanımının sağlanabilmesi için zamana ihtiyaç duyulmaktadır. Yoğun tarım faaliyetlerinin yapıldığı topraklarda özellikle pestisitlerin ve inorganik gübrelerin kullanımının yoğunluğu dikkate alındığında, toprak mikrobiyal potansiyeli, toprak tuzluluğu, ağır metal birikimi vb. toprak kirlilikleri, bu tür bitki kök ve mikorizal etkileşimlerini son derece sınırlandırmaktadır. Dolayısıyla, öncelikle topraklarımızdaki organik madde içeriği, kimyasal ve fiziksel yapısının mikrobiyal faaliyetleri engelleyecek düzeyde olmaması durumunda, mikorizal fungusların tarımda kullanımının önü açılacaktır. Bunun yanında, *Trichoderma harzianum* K-12 Rifai strainin oluşturulmasında kullanılan protoplast füzyonu ve benzeri teknolojilerle elde edilecek hibrit mikorizal fungusların, farklı özellikteki topraklara adaptasyonları sağlanarak, tarım alanlarında özellikle örtü altı sebze yetiştiriciliğinde, orman, süs ve meyve fidanı yetiştiriciliğinde etkin kullanımları sağlanabilir.

Kaynaklar

- Aka-Kaçar Y., Akpınar Ç., Agar A., Yalçın-Mendi Y., Serçe S. ve Ortaş I., *The effect of mycorrhizas in nutrient uptake and biomass of cherry rootstocks during acclimatization*, Romanian Biotechnological Letters, 15 (3): 5246-5250 (2010).
- Akay A. ve Karaarslan E., *Mikoriza Aşılınmış Kudret Narı (Momordica charantia) Bitkisine Farklı Dozlarda Fosforlu Ve Demirli Gübre Uygulamasının Yaprak Klorofil İçeriğine Etkisi*, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2(3): 103-108 (2012).
- Akitsu, N., Hattori, T., Seo, G.S., Ohta, A. and Shimada, M., *A possible role of oxalate produced in the symbiotic culture system with a host plant Pinus densiflora and a mycorrhizal fungus Lactarius hatsudake*, Wood Research, 87: 13-14 (2000).



- Allen F. M., *The ecology of mycorrhizae*. Cambridge University Press. pp 184 (1991).
- Almaca A., Almaca N. D., Söylemez S. ve Ortaş İ., *The effects of mycorrhizal species and different doses of phosphorus on pepper (Capsicum annum L.) yield and development under field conditions*, Journal of Food Agriculture and Environment, Vol.11 (3&4): 647-651 (2013).
- Almaca A., *Tarımsal Üretimde Mikorizanın Önemi*, Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 18 (2), 58-67 (2014).
- Altınok H. H., *Doğu Akdeniz Bölgesi'nde patlıcanda Fusarium solgunluğu hastalığı (Fusarium oxysporum schlecht f.sp. melongenae Matuo and Ishigami)'nın yaygınlığı, etmenin moleküler karakterizasyonu ve bitkide hastalığa karşı dayanıklılığın uyarılması*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 141 (2006).
- Altuntaş Ö., Abak K.ve Daşgan Y. H., *Serada biber yetiştiriciliğinde arbusküler mikorhizal fungus kullanımının bitki gelişimi ve verime etkileri*, Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi, 2(2): 144-151 (2015).
- Amaranthus M. P., *Mycorrhizal management-A look beneath the surface at plant establishment and growth*, <http://www.fungi.com> (2004).
- Anonim (2014). <http://www.bioglobal.com.tr>
- Anonymous (2007). *Ectomycorrhizal fungi*. <http://www.nifg.org.uk/ecto.htm>
- Aysan E. and Demir S., *Using arbuscular mycorrhizal fungi and Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli against Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary in the common bean (Phaseolus vulgaris L.)*, Plant Pathology Journal, 8: 74-78 (2009).
- Baylis G. T. S., *Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of Griselinia littoralis (Cornaceae)*, New Phytologist, 58 (3): 274-278 (1959).
- Bieleski R. L., *Phosphate pools, phosphate availability*, Annual Review of Plant Biology, 24 :225-252 (1973).
- Biçici M., *Bitki hastalık etmenleri ile biyolojik mücadelenin başarısını arttırmada mikoriza'nın rolü*, Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 2 (2): 139-174 (2011).
- Carlile M. J. and Watkinson S. C., *The Fungi*. Academic Press, New York, pp 482 (1995).
- Çınar Z., *Karpuzda fusarium solgunluğuna (Fusarium oxysporum f.sp. niveum) karşı mikorizal funguslar ve abiyotik uyarıcıların etkilerinin belirlenmesi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, s. 70 (2011).
- Dalpe Y. and Monreal M., *Arbuscular mycorrhiza inoculum to support sustainable cropping systems*, Online. Crop Management, (2004).
- Davies F. T. Jr., Potter J. R. and Linderman R. G., *Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extra radical hyphae development of paper plants independent of plant size and nutrient content*, Journal Plant Physiology, 139: 289-294 (1992).
- Davis R. M., *Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on Phytophthora root rot of three-crop plant*, Phytopathology, 68: 1614-1617 (1978).
- Davis R. M., *Influence of Glomus fasciculatus and soil phosphorus on Verticillium wilt of cotton*, Phytopathology, 69: 453-456 (1979).
- Dehne, H.W. and Schanbeck F., *Untersuchungen zum einfluss der endotrophen mykorrhiza auf pflanzenkrankheiten*, II. Phenolstoffwechsel und Lignifizierung, Phytopathology, 95: 210-216 (1979).
- Demir S. ve Onoğur E., *Bitkilerde vesiküler-arbusküler mikoriza oluşumunun bitki besleme ve bitki korumadaki önemi*, Anadolu Dergisi, 9(2): 12-32 (1999).
- Demir S.ve Akköprü A., *Using of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens*, In: Biological Control of Plant Diseases Chincholkar SB and Mukerji KG (eds), Haworth Press, NY, USA, pp. 17-37 (2007).
- Erzurumlu G. S. ve Kara E. E., *Mikoriza konusunda Türkiye'de yapılan çalışmalar*, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 7 (2): 55-65 (2014).



- Frank A.B., *Über die auf wurzelsymbiose beruhende ernährung gewisser baume durch unterirdische pilze*, Berichte der Deutsche Botanische Gesellschaft, 3: 128-145 (1885).
- Gai J. P., Christie P., Feng G. and Li X. L., *Twenty years of research on community composition and species distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in China*, Mycorrhiza, 16: 229-239 (2006).
- Garcia-Garrido J. M. and Ocampo J. A., *Interaction between Glomus mosseae and Erwinia carotovora and its effects on the growth of tomato plants*, New Phytologist, 110 (4): 551-555 (1988).
- Garcia-Garrido J. M. and Ocampo J. A., *Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by Pseudomonas syringae*, Soil Biology and Biochemistry, 21 (1): 165-167 (1989).
- Graham J. H., Leonard R.T. and Menge J.A., *Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation*, Plant Physiology, 68: 548-552 (1981).
- Harley J. L. and Smith S. E., *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. London, pp 63 (1983).
- Hayman D.S., *Endogone spore number in soil and WAM in wheat as influenced by season and soil treatment*. Transactions of the British Mycological Society, 54: 219-226 (1970).
- Hayman D., *Mycorrhiza and it's significance in horticulture*, The Plantsman, 2(4): 214-224 (1981).
- Holt J. R., *Systematic biology-fungi. Course syllabus*, Susquehanna University, Pennsylvania, USA (2009).
- Hu Z. J. and Gui X. D., *Pretransplant inoculation with VA mycorrhizal fungi and fusarium blight of cotton*, Soil Biology and Biochemistry, 23: 201-203 (1991).
- Isaac S., *Fungal Plant Interactions*, Chapman and Hall, London, UK, pp 418 (1992).
- Kara Ö., *Mikoriza ve orman ağaçları için önemi*, I. Ulusal Orman Fakülteleri Öğrenci Kongresi Bildirileri, 4-5 Mayıs, s. 199-205, İstanbul (2000).
- Kara Ö. ve Tilki F., *Mikoriza ve ormancılıkta kullanımı*, İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, 51(1): 127-139 (2001).
- Khan A. G., *Growth effect of VA mycorrhiza on crops in the field in Endomycorrhizas*, London, pp 419-435 (1975).
- Kibar B. ve Pekşen A., *Ektomikorizanın tarım ve ormancılık bakımından önemi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 22 (2): 232-238 (2007).
- Kibar B. ve Pekşen A., *Lactarius pyrogalus mantar türünün farklı izolatlarının ve inokulasyon uygulamalarının fındık (Corylus avellana) fidanında ektomikoriza oluşumu ve fidan gelişimi üzerine etkisi*, Düzce Üniversitesi Ormancılık Dergisi, 7(2): 89-104 (2011).
- Kibar B. ve Pekşen A., *Lactarius pyrogalus'un değişik inokulum uygulamalarının fındıkta (Corylus avellana) bitki gelişimi üzerine etkileri*, Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 31 (2016) 191-198 (2016).
- Koide R.T. and Mosse B., *A history of research on arbuscular mycorrhiza*, Mycorrhiza, 14: 145-163 (2004).
- Li X. L., Marschner H. and George E., *Acquisition of phosphorus and copper in VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover*, Plant and Soil, 135: 49-57 (1991).
- Liu, R.J., *Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on Verticillium wilt of cotton*. Mycorrhizae, 5(4): 293-297 (1995).
- Matsubara Y., Tamura, H. and Harada, T., *Growth enhancement and Verticillium wilt control by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculation in eggplant*, Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 64(3): 555-561 (1995).
- Marschner H., *Mycorrhizas. mineral nutrition of higher plants*, Academic Press, pp 566-595 (1995).
- Martin F. and Slater H., *An evolving host for mycorrhizal research*, New Phytologist, 174(2):225-228 (2007).
- Marx D. H., *Forest application of the ectomycorrhizal fungus Pisolithus tinctorius*, The Prize, Ectomycorrhizal fungi, Lecture: Part I of II (2001).



- Menge J. A., Labanauskas C. K., Jonhson E. L. V. and Platt R. G., *Partical substitution of mycorrhizal fungi for phosphorus fertilization in the greenhouse culture of citrus*, Soil Science Society of America Journal, 42: 926-930 (1978).
- Menge J. A., Jarrel W., Labanauskas, W. M., Ojala J. C., Huszar C. E., Johnson L. V. and Sibert D., *Predicting mycorrhizal dependency of troyer citrange on Glomus fasciculatus in California citrus soils*, Soil Science Society of America Journal, pp 43 (1980).
- Molina R., O'Dell T., Luoma D., Amaranthus M., Castellano M. and Russel K., *Biology, ecology and social aspects of wild edible mushrooms in the forests of the Pacific Northwest: a preface to managing commercial harvest*, General Technical Report, Portland, pp 42 (1993).
- Molina R., Pilz D., Smith J., Dunham S., Dreisbach T., O'Dell T. and Castellano M., *Conservation and management of forest fungi in the Pacific Northwestern United States: an integrated ecosystem approach*, Cambridge University Press, pp. 10-63 (2001).
- Monther M. T., *Mechanisms involved in the biological control of tomato bacterial wilt caused by Ralstonia solanacearum using arbuscular mycorrhizal fungi*, Universiti Putra, Malaysia (2009).
- Moser M. and Haselwandter K., *Ecophysiology of mycorrhizal symbiosis*, Encylopedia of Plant Physiology, 12: 391-421 (1975).
- Mossea B., *Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture*. Research Bulletin. Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, pp 82 (1981).
- Mycorrhizal associations. David Moore's World of Fungi: Where mycology starts. <http://mycorrhizas.info> (2008).
- Ocak E. ve Demir S., *Toprak verimliliği ve bitki gelişiminde peyniraltı suyu ve Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF)'un önemi*, YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi (YYU JAGR SCI), 22(1): 48-55 (2012).
- Ortaş (1998). <http://www.ekizfidancilik.com>
- Ortaş, İ., *Do plants depend on mycorrhizae in terms of nutrient requirement international conference on sustainable land use and management*, Çanakkale (2002).
- Özgönen, H., Biçici, M. and Erkılıç, A., *The effect of salicylic acid and endomycorrhizal fungus Glomus etunicatum on plant development of tomatoes Fusarium wilt caused by Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 25:25-29 (2001).
- Özgönen, H., *Biberde kökboğazi yanıklığı (Phytophthora capsici Lenion)'na karşı mikorizal funguslar, salisilik asit ve DL-β-amino-Nbutirik asit ile dayanıklılığın teşvik edilmesi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, s. 122 (2004).
- Özgönen H., *Armüsküler mikorizal fungusların pamukta bitki gelişimine ve Verticillium Solgunluğu(Verticillium dahliae Kleb.) Üzerine etkileri*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 15 (3):171-177 (2011).
- Öztekin G. B. ve Ece M., *Sera domates yetiştiriciliğinde Symbion AM (Glomus fasciculatum) inokulasyonunun bitki gelişimi, verim ve meyve kalitesi üzerine etkisinin belirlenmesi*, Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 1(1): 35-42 (2014).
- Pekşen A. ve Kibar B., *Yenilebilir ektomikorizal mantarların yetiştiriciliği ve bu konuda yapılan çalışmalar*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22 (2): 239- 247 (2007).
- Peterson R.L. and Farquhar M.L., *Mycorrhizas-Integrated development between root and fungi*, Mycologia, 86 (3): 311-326 (1994).
- Peterson R.L., Massicotte H.B. and Melville L.H., *Anatomy and Cell Biology*. Mycorrhizas, National Research Council of Canada, Ottawa, Ontario, pp: 173 (2004).
- Plantscience4u, (2016). <http://www.plantscience4u.com>.
- Pozo M. J., Cordier C., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S., Barea J. M. and Azcon-Aguilar C., *Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defense responses to Phytophthora infection in tomato plants*, Journal of Experimental Botany, 53 (368): 525-534 (2002).



- Redecker D., *Glomeromycota. arbuscular mycorrhizal fungi and their relative (s)*, The Tree of Life Web Project, (2008).
- Repac, I., *Ectomycorrhiza formation and growth of Picea abies seedlings inoculated with alginate-bead fungal inoculum in peat and bark compost substrates*, Forestry, 80(5): 517-530 (2007).
- Robson A., Abbott L. K. and Schweiger P. F., *Benefits of VA mycorrhizas in agricultural and horticultural production*, 9th North American Conference on Mycorrhizae Guelph, Ontario, Canada, 51: 231-239 (1993).
- Sharma A. K., Johri B. N. and Gianinazzi S., *Vesicular-arbuscular mycorrhizae in relation to plant disease*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 8 (6): 559-563 (1992).
- Sieverding E., *Vesicular-arbuscular mycorrhizae management in tropical agrosystems*, Technical Cooperation, Federal Republic of Germany pp 372 (1991).
- Smith S. E. and Read J. D., *Mycorrhizal symbiosis*, (Ed) by A D. Robson. Kluwer Academic Publishers. London, pp 36 (1997).
- Smith S. E. and Read D. J., *Mycorrhizal symbiosis*, 3th Ed., Academic Press, pp 800 (2008).
- Song Y. Y., Zeng R. S., Xu J. F., Li J., Shen X. and Yihdego W. G., *Interplant communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks*, PLoS One. 13; 5(10): 13324 (2010).
- Souza, L.A.B., Filho, G.N.S., Oliveira, V.L., *Efficiency of ectomycorrhizal fungi on phosphorus uptake and eucalypt growth promotion*, Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 39(4): 349-355 (2004).
- Subramanian K. S., Charest C., Dwyer L. M., and Hamilton R. I., *Arbuscular mycorrhizal and water relations in maize under drought stress at tasseling*, New Phytologist, 129: 643-650 (1995).
- Thompson J. P., *Soil sterilization methods to show VA-Mycorrhizae aid P and Zn nutrition of wheat in vertisols*, Soil Biology and Biochemistry 22 (2): 229-240 (1990).
- Tilki F. ve Kara Ö., *Silvikültürel müdahalelerin ektomikoriza mantarları üzerine etkisi*, Gazi Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 4(1): 81-90 (2004).
- Toprak B., Yıldız O., Altundağ E., Güner T., Sargıncı M., Pekşen A. ve Mutlu, Ö., *Ektomikoriza ve endomikoriza aşılmasının toros sediri (Cedrus libani), karaçam (Pinus nigra) ve saçlı meşe (Quercus cerris) fidanlarının büyümeleri üzerine etkileri*, Doğu Akdeniz Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Ekoloji 2014 Sempozyumu Bildiri Özetleri Kitabı, (1-4 Mayıs 2014), s. 51, Gazimağusa, Kıbrıs (2014).
- Toprak B., Yıldız O., Sargıncı M., Güner Ş.T., Pekşen A., Çakır E. A., *Mikoriza Uygulamasının Karaçam (Pinus nigra) Fidanlarının Morfolojik Özelliklerine Etkisi*, Ormancılık Dergisi, 12(2): 258-269 (2016).
- Turjaman, M., Tamai, Y., Segah, H., Limin, S.H., Osaki, M., Tawaray, K., *Increase in early growth and nutrient uptake of Shorea seminis seedlings inoculated with two ectomycorrhizal fungi*, Journal of Tropical Forest Science, 18(4): 243-249 (2006).
- Tüfekçi S., *Doğal Populasyonlardaki Toros Sediri (Cedrus libani A. Rich.) Mikorizasının İzole Edilmesi ve Çoğaltılıp Fidan Üretiminde Kullanılması*, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 179s, Adana (2007).
- Yıldız, A., *A native Glomus sp. from fields in Aydın province and effects of native and commercial mycorrhizal fungi inoculants on the growth of some vegetables*, Turkish Journal of Biology, 34(4): 447-452 (2009).
- Yücel, S., Elekçioğlu, H., Özgönen, H., Toktay, H. ve Ortaş, İ., *Seralarda fungal kök hastalıklarına ve kökür nematodlarına karşı solarizasyon ve mikorizal fungus kombinasyonlarının etkilerinin araştırılması*, Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi. 3-8 Eylül, Tekirdağ, s. 421-431(2001).



Çay Üretim Aşamalarından İzole Edilen Mayaların Tanımlanması

Elif SEVİM¹, Ali SEVİM¹, Hacer TAŞKIRAN GENÇ², Şengül ALPAY KARAOĞLU^{2*}

¹ Ahi Evran Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, KIRŞEHİR

² Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, RİZE

Öz:Çay Dünya'da sudan sonra tüketilen en önemli içecektir. Bu çalışmada, çay yapraklarının tarladan fabrikaya gelişi ile başlayan çay işleme aşamalarından ve poşetlenen siyah çaydan izole edilen mayaların tanımlanması ve bir dizi biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada toplam 69 maya izolatu elde edilmiştir. İzolatların klasik yöntemler ve Vitek YBC tanımlama kart sistemi kullanılarak tür tanımlamaları yapılmıştır. Çalışmada izolatların %52.17'si Vitek YBC tanımlama sistemi ve klasik metotlar ile birlikte %94-99 doğrulukta tür seviyesinde tanımlanırken, diğer izolatlar tanımlanamamıştır. Çalışmada beş farklı cins (*Candida*, *Geotrichum*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* ve *Trichosporon*) ve 11 farklı tür tespit edilmiştir. En sıklıkta rastlanan türler sırasıyla *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder & Kreger-van Rij, in Kreger-van Rij 1984) (%13), *Cryptococcus laurentii* (*Cryptococcus laurentii* (Kuff.) C.E. Skinner, *Am. Midl. Nat.* 43: 249, 1950) (%11.5) ve *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis* Kudryavtsev, Bot. Mater. Otd. Sporov. Rast. Bot. Inst. Komarova Akad. Nauk S.S.S.R. 13: 143, 1960)(%7) olarak tespit edilmiştir. İzolatların %5'inde slime aktivitesi pozitif, %51'inin ise hif ya da pseudohif oluşturmayıp maya formunda olduğu belirlenmiştir. İzolatların %39'unda % 0.001'lik sikloheksimit direnci belirlenmiştir. İzolatların % 43'ünün %50 ve 60'lık glikoz ortamında iyi üreyebildiği tespit edilmiştir. Üreme sıcaklıklarına bakıldığında izolatların 45 °C'de üreyemedikleri ancak 42 °C'de % 35'inin üreyebildiği belirlenmiştir. Fermentasyon testleri sonucunda izolatların % 52'sinin test edilen 9 farklı karbohidrattan en az birini, RÇM 17C'nin ise 7 farklı karbon kaynağını fermente edebildiği belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda çay işleme aşamalarında ve paket çayda mayaların varlığı tespit edilmiş ve bu mayaların tanımlanması gerçekleştirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Çay, Maya, Klasik Tanımlama, Vitek -YBC kart Sistemi.

Identification of Yeasts Isolated from Tea Processing Stages

Abstract: Tea is the most popular beverage in the world after water. In this study, it was aimed to identify yeasts isolated from tea processing stages began with the arrival of the tea leaves from fields to the factory and the bagged black tea and to determine some biochemical properties of these yeasts. In this study, a total of 69 yeast isolates were identified. The isolates were identified using conventional techniques and Vitek YBC Identification Cart System. Although 52.17 % of the isolates were identified at species level between 94-99% accuracy with using conventional techniques and Vitek YBC Identification System, other isolates were not identified.



In this study, five different genus (*Candida*, *Geotrichum*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* and *Trichosporan*) and 11 different species have been identified. The most frequently encountered species were determined as *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder & Kreger-van Rij, in Kreger-van Rij 1984) (%13), *Cryptococcus laurentii* (*Cryptococcus laurentii* (Kuff.) C.E. Skinner, *Am. Midl. Nat.*43: 249, 1950) (%11.5) and *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis* Kudryavtsev, Bot. Mater. Otd. Sporov. Rast. Bot. Inst. Komarova Akad. Nauk S.S.S.R. 13: 143, 1960) (%7).

Five percent of the isolates were found to be positive for slime activity and 51% of the isolates were found to be yeasts which don't form hypha or pseudohypha. Also, 39% of the isolates have resistant against cycloheximide (0.001%). It was determined that 43% of the isolates were able to grow in the presence of 50-60% glucose. Considering the growth temperatures, all isolates could not grow at 45°C but 35% of the isolates could grow at 42°C. Based on the results of fermentation tests, it was determined that 52% of the isolates could ferment at least one of the tested nine different carbohydrates and RÇM 17C could ferment 7 different carbon sources. In the result of this study, the presence of yeasts at tea processing stages and black tea were determined and these yeasts were indentified.

Key words: Tea, Yeast, Conventional identification, Vitek- YBC Card System.

Giriş

Çay tüm Dünya'da sudan sonra tüketilen en popüler içecektir. Çaylar fermentasyon dereceleri baz alındığında dört kategoride sınıflandırılır; non-fermentatif yeşil ve sarı çay, kısmi fermente olan Oolong-tip çay, tamamen fermente siyah çay ve post-fermente koyu yeşil çay (Xu ve ark., 2011).

Mayalar, bilimde, gıdada, sağlıkda ve tarımsal alanlarda endüstriyel önem taşımaktadır. Mayaların geleneksel endüstrideki önemi, birçok gıdanın fermenteri olup bunların başında bira, şarap, alkol, sake, ekmek, peynir, sosis, salam, turşu, sirke vb. gıdalar gelmektedir. Mayalar geleneksel gıdanın yanısıra çevresel biyoteknolojide (biyoremidasyon), probiyotik, yiyecek ve içecek kontrolünde, gıda katkı maddeleri üretimlerinde (Enzimler, flavonoidler, pigmentler, organik asitler), biyokatalizörler olarak (biyotransformatör, farmasötikler ve kimyasal aramaddeler) ve benzer protein üreticileri (enzim, hormon, aşı ve toksin) olarak kullanılmalarının yanısıra biyolojik (moleküler, genomik vb.) ve biyomedikal (ilaç ve metabolit vb) araştırmalarda önemli bir materyali oluşturmaktadır (Kurtzman ve ark., 2011).

Çayın aromasına ve daha iyi fermente olmasına katkıda bulunan mayaların tanımlanması, endüstriyel potansiyeli yüksek yeni yerel suşların elde edilmesini, bilimsel ve ekonomik yeni çalışmalara temel teşkil edeceği düşünülmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda bölgemizin önemli geçim kaynağı olan ve de ülke ekonomisinde önemli bir yer tutan çaydaki maya türlerinin belirlenmesi hem ticari hem de sağlık açısından önemli olacağı düşünülmektedir. Bu amaçla, 2004-2005 yıllarında Çay-Kur'a bağlı iki çay fabrikasında işleme aşamalarından alınan çay örneklerinden ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen kuru siyah çay numunelerinden izole edilen maya izolatlarının tanımlanması ve çeşitli özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çay örneklerinde bulunabilen maya türlerinin belirlenmesi ve çeşitli özelliklerinin araştırılması, çayın işleme aşamalarında ve siyah çayda patojen veya fermentasyonda etkili türlerin bulunup bulunmadığı konusunda bilgi vereceği ve daha kaliteli çay üretimine fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışma Rize'de yetiştirilen çaylardaki maya türlerinin belirlenmesi açısından yapılan ilk çalışmadır.



Materyal ve Metot

Çay Örneklerinin Toplanması

Bu çalışma, Mayıs 2004 – Eylül 2005 tarihleri arasında, Çaykur'a ait Cumhuriyet ve Zihniderin Çay fabrikalarından, yaş çayın fabrikaya girişi ile kuru çay olarak çıkışı arasındaki siyah çay üretim basamaklarında belirlenen 10 farklı istasyondan ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen ambalaj (siyah) çaylarda alınan örneklerden yapılmıştır. Çalışmada çay fabrikasından izole edilen maya izolatları RÇM, ambalajlı çaylardan izole edilen maya izolatları HTM olarak isimlendirilmiştir. Çay fabrikalarından siyah çay üretim basamaklarında belirlenen istasyonlardan her sürgün döneminde (yılda 3 sürgün) olmak üzere toplamda 60 örnek alınmıştır.

Çay Örneklerinden Mayaların İzolasyonu

Belirlenen çay fabrikalarından her istasyondan yaklaşık olarak 50 gr çay örneği steril kaplara alınarak hızlı bir şekilde laboratuvara getirilmiştir. Belirlenen 10 farklı istasyondan alınan çay örneklerinden ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen ambalaj (siyah) çaylardan 10 gr tartılıp, 90 ml steril serum fizyoloji içeren cam erlenlere aktarılmıştır. Erlenler çalkalamalı su banyosunda 30 dk. bekletilerek örneklerin serum fizyoloji içerisinde homojen dağılımı sağlandı. Daha sonra seri dilüsyonlar hazırlanarak 10^{-1} ve 10^{-3} dilüsyonlardan Yeast Pepton Dekstroz (YPD) agara ekim yapılarak 25°C 'de 24-48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda YPD agar besiyerinde farklı morfolojiye sahip tüm kolonilerden YPD agar besiyerlerine tek koloni ekimleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen saf kültürlerin gliserol stokları yapılmış ve izolatların tanımlanabilmesi için bir takım morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler gerçekleştirilmiştir (Bilgehan, 2004).

Maya İzolatlarının Tanımlanması

Çay örneklerinden izole edilen maya izolatlarının tanımlanması Kreger van Rij, (1984)

ve Kurtzman ve Fell, (1998) tarafından önerilen morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler gerçekleştirilerek belirlenmiştir (Kreger-Van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998). Tanımlanan maya izolatları Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji ve Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarında muhafaza edildi.

Maya İzolatlarının Morfolojik ve Mikroskopik Özelliklerinin Belirlenmesi

Çay örneklerinden izole edilen izolatların koloni morfolojileri, koloni renkleri, mikroskopik görünüşleri, vejetatif üreme özellikleri, hifa ve pseudohifa oluşturma özellikleri Patato Dextrose Agar (PDA) ve Malt Extract Agar (MEA) besiyerlerine ekimleri yapılarak belirlendi (Barnett ve ark., 1983).

İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Çay örneklerinden izole edilen maya izolatlarının farklı sıcaklıklarda üreme özelliği Glikoz Yeast Peptone (GYP) Besiyeri kullanılarak test edilmiştir. Maya izolatlarının 24-48 saatlik kültürlerden GYP sıvı besiyerine ekimleri yapıldı. Ekimleri yapılan tüpler 17°C , 25°C , 37°C , 40°C ve 45°C 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılarak farklı sıcaklıklarda üreme özellikleri belirlendi (Barnett ve ark., 1983).

İzolatların %50 ve %60 glikoz içeren besiyerinde üreme özellikleri Glukoz Agar Besiyerinde (1lt için, 40 gr yeast ekstrakt, 50 gr veya 60 gr glikoz, 15 gr agar) belirlenmiştir (Wickerham, 1951).

İzolatların Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Çay örneklerinden izole edilen maya izolatlarının biyokimyasal özellikleri üreaz üretimi, nitrat kullanımı, nişasta hidrolizi, indol, metil red/voges prouskauer testi, sitrat kullanımı, esculin hidrolizi ve selülaz üretim testleri ile belirlendi (Bilgehan, 2004; Yarrow, 1999; Koneman ve ark., 1997; Hols ve ark., 1994).



İzolatların fermentasyon özellikleri %2'lik glikoz, galaktoz, laktoz, maltoz, sukroz, trehaloz, mellebiyoz, selobiyoz ve %4'lük rafinoz solüsyonlarından hazırlanan besiyerlerine (1 lt için, 4.5 gr yeast ekstrakt, 7.5 gr pepton, 4 ml bromotimol mavisi (0.5 mg/ml)) ekilmesi ile belirlenmiştir (Barnett, 1983).

İzolatların Slime Aktivitesinin Belirlenmesi

Çay örneklerinden izole edilen izolatların slime aktiviteleri Kongo Kırmızısı Agar (Congo Red Agar) metodu ile gerçekleştirildi. İzolatlar SDA (Sabouraud Dextrose Agar) besiyerinde üretildi ve taze kültürlerden Kongo Kırmızısı Agar (Brain Heart Infusion Broth 37g/l, glikoz 80 g/l, agar 10 g/l, kongo kırmızısı 0.8 g/l) besiyerine yeniden ekimleri gerçekleştirildi. Petri kapları 25°C'de 3-5 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda koyu kırmızı renk oluşumu pozitif, pembe ve beyaz renklerin oluşumu ise negatif olarak kabul edildi (Freeman ve ark., 1989).

Jerm Tüpü Oluşumu

Jerm tüpü oluşumu testi için insan serumu kullanıldı. Test solüsyonu ¼ steril su ile sulandırılarak taze olarak hazırlandı. Bu amaçla 0.5-1.0 ml steril serum içinde test edilecek maya hücrelerinin taze kültürlerinden (1 günlük kültür) 10^5 - 10^6 hücre/ml olacak şekilde süspansiyon hazırlandı ve 25°C'de 1-3 saat inkübe edildikten

sonra mikroskopta lam lamel preparatı hazırlanarak jerm tüpü oluşumu incelendi. Flamentöz yapı oluşturan maya hücreleri pozitif olarak değerlendirildi. Negatif kültürler 24-48 saat bekletildikten sonra tekrardan kontrol edildi. Pozitif kontrol olarak *Candida albicans* ATCC 60193 suşu kullanıldı (Yarrow, 1999).

Vitek YBC Doğrulama Testi

Çay örneklerinden izole edilen maya izolatlarının tanımlanması için Vitek Maya Biyokimyasal Kart Kiti (YBC) (Biomérieux, France) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. Taze hazırlanan maya kültürlerinden önceden hazırlanmış steril 0,45 M'lık NaCl içerisinde aktarılarak Vitek Colorimeter Product (No: 52- 1210) cihazı ile McFarland 2.0 bulanıklığına ayarlandı. Solüsyonlar kartlara yüklenerek kartların 30°C'de 24 ve 48 saat inkübasyonu sağlandı. Test sonuçları, 24. veya 48. saatte değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmamızda, 2004-2005 yıllarında Çay-Kur'a bağlı iki (Zihniderin ve Cumhuriyet) fabrikadan, çay işleme aşamalarını temsilen 10 farklı noktadan alınan 60 örnekten (RÇM) ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen 10 adet ambalaj siyah çaylarda (HTM) yapılan analizler sonucunda izole edilen toplam 69 maya incelenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Çay numunelerinin alındığı noktalar ve maya izolasyon sayısı

Numune Alınan Nokta	Maya İzolasyonu			
	Cumhuriyet Çay Fabrikası	Zihniderin Çay Fabrikası	Toplam	
	Sayı	Sayı	Sayı	Yüzde (%)
1. Fabrika Girişi	2	1	3	4
2. Soldurma Girişi	3	1	4	6
3. Solduma Çıkışı	2	2	4	6
4. Rotervan 1	1	2	3	4
5. Rotervan 2	1	1	2	3
6. Fermentasyon Girişi	2	1	3	4
7. Fermentasyon Ortası	6	4	10	15
8. Fermentasyon Çıkışı	5	6	11	16
9. Fırın Girişi	4	3	7	10
10. Fırın Çıkışı	0	0	0	0
11. Ambalaj			22	32
Toplam			69	100



İzole ve karakterize edilen maya örneklerinin suş numaraları ve PDA besiyerindeki koloni morfoloji ve mikroskopik özellikleri Tablo 2'de verilmiştir. İzolatların çoğu beyaz ve krem renkte olup sadece HTM 28 izolatu turuncu renktedir. İzolatların 46 (%67)'si gibi büyük çoğunluğu S (düzgün) tipi, 15 (%22)'i R (pürtüklü) tipi ve 8 (%11)'i M (mukoit) tipi koloni morfolojisine sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada izolatların çeşitli besiyerlerinde tomurcuklanma şekilleri ve spor oluşturma özellikleri de incelenmiştir. İzolatların 15'inde ballitospur, 2'sinde askospur ve birinde artrospur gözlemlenmiştir. HTM 16 izolata ise hem ballitospur hemde askospur oluşumu tespit edilmiştir. Çalışmada izolatların bir kısmının sıvı, bir kısmının katı bazılarının ise her iki ortamda hifa oluşturdıkları gözlenmiştir. Herhangi bir ortamda hifa oluşturmayan izolatlarda jerm tüpü testi yapıldığında ise pseudohifa oluşturduğu belirlenmiştir. Çalışmada herhangi bir besiyerinde ve şartlarda hifa ya da pseudohifa oluşturmayan, sadece maya formunda bulunan izolat sayısı ise 35 (%51) olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Çalışmada maya izolatlarının tanımlanması için bir dizi biyokimyasal, fizyolojik, morfolojik testler ve bunun yanısıra Vitek 2 YBC kart sistemi kullanılmıştır. Bu özellikler içinde patojenitede rol oynayan, mikroorganizmayı konağın savunma mekanizmalarından (fagositozdan) koruyan, tıbbi mikolojide patojenite faktörü olarak bilinen slime aktivite varlığı incelendiğinde HTM 15, HTM 18, HTM 26, HTM 28 ve RÇM 21B izolatlarının (%7)'inin pozitif olduğu, geri kalan 64 (%93) izolatın ise negatif olduğu belirlenmiştir. İzolatların ozmolaritesini belirlemek amacıyla yüksek şeker içerikli (%50 ve %60) ortamda üreme özellikleri incelendi. İzolatların 30'unun her iki ortamda da oldukça iyi üreme özelliği gösterdiği tespit edildi. Maya izolatlarının belirli sıcaklıklarda üreme özellikleri test edildiğinde ise tüm izolatların 17°C, 25°C ve 37°C'de üreyebildiği, ancak 45 °C'de ise hiçbir izolatın üreyemediği belirlendi. Çalışmada 42°C'de izolatların 24 (% 35)'ünün (HTM-4, 5, 10, 12, 13, RÇM-4C, 7B, 9B, 9D, 14, 17C, 18A₂,

18B, 19B₂, 22, 29C, 37D, 40B, 42H, 55K, 86H₁, 104K, 108C₁, 119H) üreyebildiği, diğerlerinin ise bu sıcaklıkta üreyemedikleri belirlendi. İzolatların 26 (% 39)'ünün (HTM-4, 11, 13, 15, 28, RÇM-1H, 4A₁, 4A_x, 7B, 9D, 11, 17C, 18A₂, 18B, 19B₁, 29C, 37D, 38B, 40B, 42H, 56K, 86H, 86H₁, 104K, 119H, 133K) % 0.001'lik siklohegzimit direncine sahip oldukları belirlendi. İzolatların diğer biyokimyasal özellikleri Tablo 3'de verilmiştir.

Fermentasyon testleri sonucunda, izolatların birçoğunun sükrözu, glikozu, trehalozu, maltozu, galaktozu, mellebiyozu, laktozu ve rafinozu fermente edebilirken, hiçbir izolatın cellobiyozu fermente edemediği tespit edilmiştir. Fermentasyon testleri sonucunda izolatların 36 (% 52)'ünün test edilen 9 farklı karbon kaynağından en az birini, RÇM 17C izolatının test edilen 9 karbon kaynağından 7'sini (glukoz, galaktoz, maltoz, laktoz, trehaloz, rafinoz, sukroz), RÇM 16 izolatının ise 5'ini (glukoz, galaktoz, maltoz, sukroz, trehaloz) fermente edebilme özelliğinde olduğu gözlemlendi. RÇM9D izolatu ise 3 farklı karbon kaynağını (galaktoz, laktoz ve sukroz) fermente edebilme özelliğinde olduğu belirlenmiştir. Bunun yanısıra RÇM36 izolatu galaktozu, RÇM 25 izolatu glukoz ve galaktozu, RÇM 23 izolatu maltoz ve trehalozu, RÇM9E izolatu glukoz ve maltozu, HTM1 izolatu melobiyoz ve rafinozu, RÇM55K izolatu ise trehaloz ve melobiyoz karbon kaynaklarını fermente edebilme özelliğinde olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon testleri sonucunda 2 izolatın (RÇM4C, RÇM108C₁) sukroz ve trehalozu, HTM27 ve RÇM9B'nin sukroz ve glikozu, HTM5 ve RÇM86H'in sukroz ve melobiyozu, HTM26 ve RÇM11'in rafinozu, RÇM86H₁ ve RÇM119H'in trehalozu fermente edebildiklerini göstermiştir. Çalışmada, HTM10, RÇM21B ve RÇM53N izolatlarının maltozu, HTM13, RÇM24 ve RÇM38B izolatlarının glukozu, HTM4, HTM11, RÇM4A₁, RÇM4A₂, RÇM4A_x, RÇM4B, RÇM7B, RÇM18A₂, RÇM19B₁, RÇM56K ve RÇM104K izolatlarının ise sadece sukrozu fermente edebildiği belirlenmiştir.



Tablo 2. Maya izolatlarının morfolojik ve mikroskopik özellikleri
^a; askospor, ^{art}; artrospor, ^b; Ballitospor, MP; Monopolar, ML; Monolateral, BP; Bipolar veya bilateral, MTP ; Multipolar veya multilateral

Koloni Şekli	Koloni Rengi	Gerçek/Yalancı Hifa	Tomurcuklanma şekli	Spor Oluşturma	Maya İzolatları	
S-TİPİ	Krem	+	MP	-	HTM2, RÇM4B, RÇM34D, RÇM35D	
				+ ^b	HTM4, HTM5, RÇM53N	
			ML	-	HTM13	
				MTP	-	RÇM53K
		-	MP	-	HTM1, RÇM53L ₁ , RÇM133K	
				+ ^b	RÇM18A ₂	
			ML	-	HTM12, RÇM1H, RÇM23, RÇM37D	
				+ ^b	RÇM86H	
	MTP	-	HTM15, RÇM9E, RÇM14, RÇM21B			
		+ ^{b,a}	HTM16			
	Beyaz	+	MP	-	RÇM9D	
				MTP	-	RÇM7B, RÇM11, RÇM42H
				ML	-	RÇM9B, RÇM22
		-	MP	-	HTM3, HTM6, RÇM7C	
				+ ^b	RÇM36B, RÇM84B	
			MTP	-	HTM26, RÇM16, RÇM24, RÇM119H	
				+ ^b	HTM27, RÇM102J	
			ML	-	HTM29, RÇM25	
+ ^b	RÇM48E, RÇM86H ₁					
BP	-	RÇM55K				
Turuncu	-	MP	-	HTM28		
R-TİPİ	Krem	+	MP	-	HTM11, RÇM4A ₂ , RÇM19B ₂ , RÇM29C, RÇM104K	
				ML	-	RÇM19B ₁
			MTP	-	RÇM18B, RÇM40B, RÇM108C ₁	
		-	BP	-	RÇM4A ₁	
				+ ^b	RÇM4A _x	
			MP	-	RÇM17C	
	MTP	-	RÇM32B ₂			
	Beyaz	+	MP	-	HTM10	
+ ^b				RÇM38B		
M-TİPİ	Krem	+	ML	-	HTM17	
				+ ^{art}	HTM18	
				MTP	+ ^a	HTM19, HTM20
		+ ^b	HTM21			
		-	MP	-	HTM7	
				ML	-	RÇM4C
MTP	-			RÇM36C		



Tablo 3. Maya izolatlarının fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri*

*:İnd: İndol, MR: Metil Red, VP:Voges Prouskauer, Cit: Sitrat hidrolizi, Esc: Eskulin hidrolizi, Nit: Nitrat hidrolizi, Üre: Üre hidrolizi, NiP: Niasasta üretimi, SelP: Selüloz üretimi, +: pozitif, -: negatif, Z: zayıf pozitif.

Glukoz		Biyokimyasal Özellikler									Maya İzolatları
%50	%60	İnd	MR	VP	Cit	Esc	Nit	Üre	NiP	SelP	
+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	HTM1, HTM15
+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	HTM3, HTM6, HTM27, RÇM18A ₂ , RÇM42H, RÇM 53L ₁ , RÇM56K
+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	HTM4, HTM21, RÇM119H
+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	HTM5, HTM19, RÇM17C
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	HTM11, RÇM108C ₁
+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	RÇM37D, RÇM40B, RÇM55K
+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	RÇM48E, RÇM84B, RÇM53N
+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	HTM20, RÇM29C
+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	HTM29, RÇM24
+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	HTM17, HTM26
+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	HTM28, HTM2,
+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	RÇM 4A ₁
+	Z	-	-	-	-	-	+	+	+	+	HTM7, RÇM19B ₁ , RÇM21B
+	Z	-	-	-	-	-	+	-	-	+	HTM10, HTM16, RÇM9B, RÇM9E
+	Z	-	-	-	-	-	-	-	-	+	HTM13, RÇM22
+	Z	-	-	-	+	-	+	+	-	+	HTM18, RÇM18B, RÇM23
+	Z	-	-	-	+	-	-	-	-	+	RÇM4A ₂ , RÇM4A _x , RÇM16, RÇM19B ₂ ,
+	Z	-	+	-	-	-	-	+	+	+	RÇM11, RÇM36C
+	Z	-	-	-	+	-	+	-	-	+	RÇM102J
Z	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	HTM12, RÇM34D
Z	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	RÇM 14
Z	Z	-	-	-	+	+	+	+	+	+	RÇM1H, RÇM35D
Z	Z	-	-	-	+	+	+	-	-	+	RÇM4B, RÇM4C, RÇM7B
Z	Z	-	-	-	-	-	+	-	-	+	RÇM9D, RÇM86H, RÇM86H ₁
Z	Z	-	+	-	-	-	-	-	-	+	RÇM25, RÇM133K
Z	Z	-	+	-	-	+	+	-	-	+	RÇM36B, RÇM 38B, RÇM104K
-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	RÇM 7C
-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	RÇM32B ₂



Çalışmada 69 maya izolatının %52.17'si (36 izolat) Vitek 2 YBC kart sistemi ve biyokimyasal test sonuçlarına göre %94-99 doğruluk oranı ile tanımlanmıştır. Biyokimyasal, morfolojik ve Vitek sonuçlarına göre 33 izolat ise tanımlanamamıştır. Çalışma sonucunda tanımlanan maya izolatları incelendiğinde 5 farklı cins ve 11 farklı türün varlığı belirlenmiştir (Tablo 4). Yapılan çalışmanın sonucuna göre çay örneklerinden izole edilen mayalar içinde en fazla belirlenen cins *Candida* olarak tespit edilmiştir. Çalışmada en fazla belirlenen türler ise sırasıyla *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder & Kreger-van Rij, in Kreger-van Rij 1984)(%13), *Cryptococcus laurentii* (*Cryptococcus laurentii* (Kuff.) C.E. Skinner, *Am. Midl. Nat.*43: 249, 1950) (%11.5) ve *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis* Kudryavtsev, *Bot. Mater. Otd. Sporov. Rast. Bot. Inst. Komarova Akad. Nauk S.S.S.R.* 13: 143, 1960) (%7) olarak tespit edilmiştir. Bu türleri sırasıyla *Candida tropicalis* (*Candida tropicalis* (Castell.) Berkhout, *De Schimmelgesl. Monilia, Oidium, Oospora en Torula, Dissset. Utrecht:* 44, 1923), *Cryptococcus luteolus* (*Hannaella luteola* (Saito) F.Y. Bai & Q.M. Wang, in Wang & Bai, *FEMS Yeast Res.* 8(5): 805, 2008) (%4), *Candida parapsilosis* (*Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice, *Annlis Parasit. hum. comp.* 10: 1, 1932), *Candida lusitanae* (*Clavispora lusitanae* Rodr. Mir., *Antonie van Leeuwenhoek* 45(3): 480, 1979), *Saccharomyces cerevisia* (*Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen, *Meddn Carlsberg Lab.* 2: 29, 1883) ve *Geotrichum capitatum* (*Saprochaete capitata* (Diddens & Lodder) de Hoog & M.T. Sm., *Stud. Mycol.* 50(2): 508, 2004) (% 3), *Candida albicans* (*Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, *De Schimmelgesl. Monilia, Oidium, Oospora en Torula, Dissset. Utrecht:* 44, 1923) ve *Trichosporon pullans* (*Trichosporon pullulans* (Lindner) Diddens & Lodder, *Die anaskosporogenen Hefen, II Hälfte:* 410, 1942) (% 1,5) izlemektedir.

Tartışma

Bu çalışmada, 2004-2005 yılları arasında Çay-Kur'a bağlı iki çay fabrikasında işleme aşamalarında alınan çay örneklerden izole edilen 47 adet (RÇM) ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen kuru siyah çay numunelerinden izole edilen 22 adet (HTM) olmak üzere toplam 69 maya izolatı tanımlanmıştır. Bu çalışma ülkemiz için Rize çay bitkisinin işleme aşamalarından ve siyah çaydan maya izolasyonu ve tanımlanması açısından yapılan ilk çalışmadır. Bu çalışma ile Rize bölgesinde üretilen çaya özgü maya mikrobiyotası hakkında bilgiler literatüre kazandırılmıştır.

Çay işleme aşamalarının her biri kalite için önemli olmakla birlikte mikrobiyolojik açıdan fermantasyon aşaması, kıvrımın başlamasından oksidasyonun tamamlanmasına kadar geçen zaman olup bu evrede mayaların varlığının ve kaliteye olan etkinliğinin önemli olduğu düşünülmektedir. Fermantasyon esnasında nispi rutubetin %90-95, sıcaklığın 24-26 °C olması ideal bir oksidasyon için gereklidir (Lee, 1983). Literatürdeki bilgiler ile benzer olarak çalışmamızda da, çayın işleme aşamalarında izole edilen mayaların yarısının fermentasyon ve fermentasyon çıkış aşamalarında elde edildiği görülmektedir.

Çalışmada tanımlanan maya izolatlarının tümünün 45°C'de üreyemedikleri, 24 izolatın 42°C'de üreyebildiği tespit edilmiştir. İzolatların tümünün 17°C, 25°C ve 37°C üreyebildiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda 37°C üreyebilme özelliği gösteren izolatların memeli vücut sıcaklığında rahatlıkla üreyebileceklerini göstermektedir.

Literatürde çay bitkisinin işleme aşamalarından ve siyah çaydan mayaların izolasyonu ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Kozaki ve ark., 1972; Herrera ve Calderon-Villagomez, 1989; Mayser ve ark., 1995; Liu ve ark., 1996; Markov ve ark., 2001; Ramadani ve Abulreesh, 2010). *Saccharomyces* cinsi özellikle *S. cerevisiae* ise bu çalışmalarda oldukça sık rastlanan bir türdür (Herrera ve Calderon-Villagomez, 1989; Liu ve ark., 1996; Markov ve ark., 2001).



Tablo 4. Çay örneklerinden elde edilen maya izolatlarının teşhis sonuçları

Bölüm	Sinif	Taksonomik Özellikler				İzolat Numarası
		Familiya	Cins	Tür	n	
Ascomycota	Sacharomycetes	Saccharomycetaceae	<i>Candida</i>	<i>C. famata</i>	9	HTM 3-27-29 RÇM 7C-24-36B-48E-84B-102J
				<i>C. krusei</i>	5	HTM 10-12-21 RÇM22-34D
				<i>C. tropicalis</i>	3	RÇM 86H ₁ -108C ₄ -119H
				<i>C. parapsilosis</i>	2	RÇM 17C-53L ₁
				<i>C. lusitaniae</i>	2	RÇM 14-23
				<i>C. albicans</i>	1	RÇM18B
				<i>S. cerevisiae</i>	2	HTM16 RÇM 25
				<i>G. capitatum</i>	2	RÇM 9B-32B ₂
				<i>C. laurentii</i>	8	HTM 7-17-18-19-20 RÇM 1H-35D-36C
				<i>C. luteolus</i>	1	RÇM 21B
Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellaceae	<i>Cryptococcus</i>	<i>C. laurentii</i>	8	HTM 7-17-18-19-20 RÇM 1H-35D-36C
				<i>C. luteolus</i>	1	RÇM 21B
				<i>T. pulluans</i>	1	HTM 28
Tremellomycetes	Tremellaceae	<i>Cryptococcus</i>	<i>C. laurentii</i>	8	HTM 7-17-18-19-20 RÇM 1H-35D-36C	
				1	RÇM 21B	
				1	HTM 28	
Tremellomycetes	Tremellaceae	<i>Cryptococcus</i>	<i>C. laurentii</i>	8	HTM 7-17-18-19-20 RÇM 1H-35D-36C	
				1	RÇM 21B	
				1	HTM 28	
Toplam					69	HTM 1-2-4-5-6-11-13-15-26 RÇM 4A ₁ -4A ₂ -4A ₃ -4B-4C-7B-9D-9E-11-16-18A ₂ -19B ₁ - 19B ₂ -29C-37D-38B-40B-42H-53N-55K-56K-86H-104K- 133K



Çalışmamızda da hem çayın işlenme aşamasından (RÇM 25) hemde paket siyah çaydan (HTM 16) *S. cerevisiae* türü izole edilmiştir.

Candida'lar çayda büyük oranda bulunan diğer bir maya cinsidir. Birçok çalışmada *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. obutsa* ve *C. colliculosa* gibi türler izole edilmiştir (Kozaki ve ark., 1972; Herrera ve Calderon-Villagomez, 1989; Liu ve ark., 1996; Ramadani ve Abulreesh, 2010; Teoh ve ark., 2004). Çalışmamızda ise izolatların % 72 gibi büyük çoğunluğu *Candida* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda *C. albicans*, *C. lusitaniae* ve *C. parapsilosis* çay bitkisinin işlenme aşamalarından izole edilmiştir. Fakat bu türler çayın işlenme aşamalarından sıklıkla izole edilen maya türleri değildir ve genellikle patojen olarak nitelendirilirler (Pichova ve ark., 1999; Kuhn ve ark., 2002). *Candida* infeksiyonlarının oluşmasında konakçı savunma sisteminin yanında *Candida*'ya ait virulans faktörlerinde önemi vardır. Özellikle konakçı epitel hücrelerine yapışma, jerm tüpü oluşturma ve proteinaz enzim oluşturma özellikleri önemli virulans faktörleri olarak bildirilmektedir (Pfaller ve ark., 1995). Çalışmamızda Jerm tüpü ve slime faktör pozitif birlikteliği olan hiçbir *Candida* izolatı belirlenmemiştir. Ancak izolatların yine de fırsatçı patojen olma riski her zaman göz önünde tutulmalı ve bu doğrultuda gerekli önlemler alınmalıdır.

Cryptococcus cinsi genellikle toprakta yaşayan telemorf, besiyeri ortamında maya formunda üreyen bir mantardır (Ross ve Taylor, 1981). Bugüne kadar yaklaşık olarak 37 türü tanımlanmıştır ve bunların çoğu toprakta yaşayıp insan için patojen değildirler. Fakat *Cryptococcus neoformans* iyi bilinen fırsatçı patojen olup insanlardan mukokutanöz, kutanöz, solunum yolu, sentral sistem, sistemik ve organ sistemleri enfeksiyonuna neden olmaktadır (Pfaller, 1995). Çalışmamızda *C. laurentii* ve *C. luteolus* olmak üzere *Cryptococcus* cinsine ait 2 tür izole edilmiştir. *Cryptococcus* cinsine ait olan 12 izolatın 8'i *C. laurentii* ve 1'i *C. luteolus* olarak teşhis edilmiştir.

Literatürde bu iki türün insanlarda patojen olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Neves ve ark. (2015) yılında yaptıkları bir çalışmada servikal kanser tedavisi gören bir kadında *Cryptococcus laurentii*'nin bir fungal sepsise neden olduğu gösterilmiştir. Hunter-Ellul ve ark. (2014) yılında yaptıkları bir çalışmada *C. luteolus*'un TiplI diyabetli bir hastada tenosinovite (tendon kılıfı enflamasyonu)'ye neden olduğu gösterilmiştir. Çoğunluğu patojen olmayan *Cryptococcus* cinsine ait hiçbir tür daha önce yapılan hiçbir çalışmada siyah çay ve işlenme aşamasındaki çaydan izole edilmemiştir. Çalışmamızda literatürde ilk olarak, hem paket siyah çaydan hem de işlenme aşamasındaki çay örneklerinde *C. laurentii* ve *C. luteolus* Vitek 2 YBC kat sistemine göre %99 doğruluk oranı ile tanımlanmıştır. Bu türlerin gıdalarda bulunması özellikle immun sistemi baskılanmış kişilerde ciddi sağlık sorunlarına neden olabileceği için arzu edilmez (Pitt ve Hocking, 2009). Bu nedenle çay örneklerinde bu maya türlerinin varlığı ve sayısının bilinmesi gıda kodeksi çalışmalarına katkı sağliyağı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmada *Geotrichum* cinsine ait 2 adet *G. capitatum* (RÇM 9B ve 32B₂) izole edilmiştir. *Geotrichum* cinsi dünya çapında hububat ve süt ürünlerinin yanında toprak, su, hava, kanalizasyon gibi ortamlarda yaygın bulunan bir maya cinsi olmasına rağmen, *Geotrichum capitatum* ise çoğunlukla enfeksiyon etkeni olarak bilinmektedir (Carmichael, 1957; Girmenia ve ark., 2005; Garcia-Ruiz ve ark., 2013). Çalışmamızda *G. capitatum* izolatlarının slime oluşturma özelliklerinin olmaması yanında yinede fırsatçı patojen olma riskleri göz önünde bulundurulmalıdır.

Trichosporon cinsi fermentatif olmayan veya zayıf fermentatif fungusları içerir. Bu funguslar maya formunda olup eşeyli üreme fazları yoktur. Artrospor ve blastosporlar ile çoğalırlar. Maya benzeri kolonilere sahiptirler. Üreaz enzimi üretimi bu cinsin önemli bir özelliğidir (Sutton ve ark., 1998).



Trichosporon spp. anamorfik Basidiomycetes mayalarından olup, doğada yaygın olarak toprakta, sedimentlerde, atık sularda, çamurda, odunda, kağıt hamurunda ve klinik örneklerde bulunmaktadır. Çoğunluğu saprofitik türlerden oluşan bu cinsin insanlarda hastalığa sebep olan türleride (*T. cutaneum* syn. *T. beigeli*, *T. asteroides*, *T. ovoides*, *T. inkin*, *T. asahii* ve *T. mucoides*) literatürde bulunmaktadır ve son raporlar *Trichosporon* cinsinin sahip olduğu virulans faktörlerinin hematolojik kanserli hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olan ikinci veya üçüncü en yaygın tür olduğunu göstermiştir (Gueho ve ark., 1992-1993; Colombo ve ark., 2011). Çalışmamızda *Trichosporon* cinsine ait 2 adet suş izole edilmiş ve biri *T. pulluans* (HTM 28) olarak tanımlanırken diğer izolat (HTM 2) tanımlanamamıştır. Her iki izolatta ürün olan siyah çaydan izole edilmiştir. *Trichosporon* cinsinin patojen olabilme riskinin önemli olması durumu göz önüne alındığında ciddi bir durum olarak düşünülmektedir.

Çalışmada izole edilen maya türlerinin çay işleme aşamalarından ya da poşet siyah çaydan

izole edilmeleri çayın içecek olarak tüketilmesinde bir sıkıntı oluşturmamaktadır. Çünkü çay demlendiği için demleme sıcaklığında bu mikroorganizmaların hiç biri canlı kalmamaktadır. Ancak poşet çaylarda uzun süre yüksek sıcaklığa maruz bırakılmadığından dolayı bu etkenler elimine olamayacağı ve tüketici için risk oluşturacağı unutulmamalıdır. Bu nedenden dolayı imalatı esnasında sterilizasyon işleminde daha dikkatli olunması gerektiği aşıkardır. Çalışmanın sonucunda elde edilen ve tanımlanan mayaların, test sonuçlarıyla birlikte hem laboratuvarımız hem de ülkemiz suş koleksiyonuna bir kaynak teşkil edecektir. Bu çalışma ülkemiz için Rize çay bitkisinin işleme aşamalarından ve siyah çaydan maya izolasyonu ve tanımlanması açısından yapılan ilk çalışmadır.

Teşekkür

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: RTEÜ-2010.102.03.1).

Kaynaklar

- Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow D., *Yeast: Characteristics and identification*, Cambridge University Press, p. 13-27, New York (1983).
- Bilgehan H., *Klinik Mikrobiyoloji*, Fakülteler Kitapevi, Barış yayınları, 4. Baskı, s. 650-731, İzmir (2004).
- Carmichael J.W., *Geotrichum candidum*, Mycologia, 49, 13-19 (1957).
- Colombo A.L., Padovan A.C.B., Chaves G.M., *Current Knowledge Of Trichosporon spp. And Trichosporonosis*, Clinical Microbiology Reviews, 24, 682-700 (2011).
- Freeman D.J., Falkiner F.R., Keane C.T., *New method for detecting slime producing by coagulase negative staphylococci*, Journal of Clinical Pathology, 42, 872-874 (1989).
- Garcia-Ruiz J.C., Lopez-Soria L., Olazabal I., *Invasive infections caused by Saprochaete capitata in patients with haematological malignancies: report of five cases and review of the antifungal therapy*, Rev. Iberoam. Micol., 30, 248-255 (2013).
- Girmentria C., Pagano L., Martino B., *Invasive infections caused by Trichosporon species and Geotrichum capitatum in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature*, J. Clin. Microbiol., 43, 1818-1828 (2005).
- Gueho E., Improvisi L., de Hoog G.S., *Trichosporon on humans: A practical account*, Mycoses, 37, 3-13 (1993).
- Gueho E., Smith M.T., de Hoog G.S., Billon-Grand G., Christen R., Batenburg-van der Vegte W.H., *Contributions to a revision of the genus Trichosporon*, Antonie Van Leeuwenhoek, 61, 289-316 (1992).
- Guo Y., Ma Y., Zhan Z., Li B., Dingkuhn M., Luquet D., De Reffye P., *Parameter optimization and field validation of the functional-structural model GREENLAB for maize*, Annals of Botany, 97, 217-230 (2006).



- Herrera T., Calderon-Villagomez A., *Species of yeasts isolated in Mexico from the tea fungus*, Rev. Mex. Micol., 5, 205–210 (1989).
- Hols P., Rerain T., Garmyn D., Bernard N., Delcour J., *Use of homologous expression-secretion signals and vector-free stable chromosomal integration in engineering of Lactobacillus plantarum for α -amylase and levanase expression*, Applied and Environmental Microbiology, 60, 1401-1413 (1994).
- Hunter-Ellul L., Schepp E.D., Ilea A., Wilkerson M.G., *A rare case of Cryptococcus luteolus- related tenosynovitis*. Infection, 42, 771-774 (2014)
- Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., Winn W.C., *Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology*, Lippincott, pp.1296-1395, New York (1997).
- Kozaki M., Koizumi A., Kitahara K., *Microrganisms of zoogloeal mats formed in tea decoction*, Journal of Food and Hygienic Society of Japan, 13, 89-96 (1972).
- Kreger-Van-Rij N.J.W., *The Yeasts: A Taxonomic Study*, (3rd ed), Elsevier, 1082 pp, Amsterdam (1984).
- Kuhn D.M., Chandra J., Mukherjee P.K., Ghannoum M.A., *Comparison of biofilms formed by Candida albicans and Candida parapsilosis on bioprosthetic surfaces*, Infect. Immun., 70, 878-888 (2002).
- Kurtzman C.P., Fell J.W., *The Yeasts, A taxonomic study*, (4th ed), Elsevier Press, pp.1055, Amsterdam (1998).
- Kurtzman C.P., Fell J.W., Boekhout T., *The yeast a Taxonomic Study Vol 1*, Fifth ed. Elsevier B.V., pp. 9-65, Oxford (2011).
- Lee F.A., *Tea. Basic Food Chemistry*, Sekond edition. The Avi Publishing Company Inc., pp. 419-439, Westport, Connecticut (1983).
- Liu C.H., Hsu W.H., Lee F.L., Liao C.C., *The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation*, Food Microbiol., 13, 407–415 (1996).
- Markov S.L., Malba'sa R.V., Hauk M.J., Cvetkovic D.D., *Investigation of tea fungus microbe associations. The yeasts*, Acta Period. Technol., 32, 133–138 (2001).
- Mayser P., Fromme S., Leitzmann C., Grunder K., *The yeast spectrum from tea fungus Kombucha*, Mycoses, 38, 289-295 (1995).
- Middelhoven W.J., *Trichosporon wieringae sp. nov., ananamorphic basidiomycetous yeast from soil, and assimilation of some phenolic compounds, polysaccharides and other non-conventional carbon sources by saprophytic Trichosporon species*, Antonievan Leeuwenhoek, 86, 329-337 (2004).
- Neves,- R.P., Gonc R., de Lima Neto A., *Cryptococcus laurentii fungaemia in a cervical cancer patient*, The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 19, 660-663 (2015).
- Pfaller M.A., Messer S.A., Hollis R.J., *Variations in DNA subtype, antifungal susceptibility and slime production among clinical isolates of Candida parapsilosis*, Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 21, 9-14 (1995).
- Pichova I., Pavlíková L., Dostál J., Dolejší E., Hruková-Heidingsfeldová O., Weber J., Ruml T., Souek M., *Secreted aspartic proteases of Candida albicans, Candida tropicalis, Candida parapsilosis and Candida lusitania*, Eur. J. Biochem., 268, 2669-2672 (1999).
- Pitt J.I., Hocking A.D., *Fungi and food spoilage*, 3 th. edition. Springer, New York, USA (2009).
- Ramadani A.S., Abulreesh H.H., *Isolation and identification of yeast flora in local kombucha sample: AL NABTAH*, Umm. Al Qura. Univ. J. App. Sci., 2, 42–51 (2010).
- Ross A., Taylor I.E., *Extracellular glycoprotein from virulent and avirulent Cryptococcus species*, Infection and Immunity, 31, 911–918 (1981).
- Spencer D.L., Kurth K.T., Menon S.A., VanDyk T., Minion F.C., *Non-conventional yeasts*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 58, 147-56 (2002).



- Sutton D.A., Fothergill A.W., Rinaldi M.G., *Guide to Clinically Significant Fungi*, 1st ed., Williams & Wilkins, Baltimore (1998).
- Teoh A.L., Heard G., Cox J., *Yeast ecology of kombucha fermentation*, Int. J. Food Microbiol., 95, 119–126 (2004).
- Wickerham L.J., *Taxonomy of Yeast*, United States Department of Agriculture, Technical bulletin no: 1029 (1951).
- Wolfe A.P., Pruss D., *Transcription regulators that acetylate histones*, Cell, 84, 817-819 (1996).
- Xu A., Wang Y., Wen J., Liu P., Liu Z., Li Z., *Fungal community associated with fermentation and storage of Fuzhuan brick-tea*, International Journal of Food Microbiology, 146, 14-22 (2011).
- Yarrow D., *The yeast, A Taxonomic Study*, Fourth edition, Elsevier science B.V., pp.77-100, New York(1999).



Aydın İlinde Termofilik Çevreden İzole Edilen Mayaların Moleküler Tanısı

¹H. Halil BIYIK, ¹Esin POYRAZOĞLU ÇOBAN,
¹Yusuf GEROĞLU, ¹İlgit KIRGIZ

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, AYDIN

Öz: Termofilik mayaların izolasyonu için Aydın ili Buharkent ilçesi Bereket Jeotermal tesislerinin çevresindeki toprak ve su örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Elde edilen veriler ve analizler sonucunda, izolatların %98 ve %99 gibi değişen oranlarda belirli türlerinin ITS1 ve ITS2 bölgeleriyle homoloji gösterdiği tespit edilmiştir. Bu türlerin GenBank'ta kayıtlı *Saccharomyces cerevisiae* strain levure 23, *Candida albicans*, *Candida albicans* strain m74a, *Cyberlindnera jadinii* strain ATCC 22023, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* strain P2, *Pichia manshurica* strain h79b, *Candida glabrata* strain 86A adlı maya suşları olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Toprak, Su, Termofilik maya, İzolasyon, ITS, Filogenetik analiz.

Molecular Identification of Yeasts Isolated from Thermophilic Environment in Aydın Province

Abstract: For the isolation of thermophilic yeasts, soil and water samples around of Bereket geothermal plants in Buharkent district of Aydın province were used as material. As a result of the obtained data and analyzes, it was determined that certain strains showed homologies with the regions of ITS1 and ITS2 at the rates of 98% and 99% of the isolates. These species are registered in GenBank *Saccharomyces cerevisiae* strain levule 23, *Candida albicans*, *Candida albicans* strain m74a, *Pichia jadinii* strain ATCC 22023, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* strain P2, *Cyberlindnera jadinii* strain h79b and *Candida glabrata* strain 86A are identified as yeast species.

Key words: Soil, Water, Thermophilic yeast, Isolation, ITS, Phylogenetic analysis.

Giriş

Mayalar doğada yaygın olarak bulunan genellikle tek hücreli, ökaryotik mantarlardır. Maya türleri zorunlu aerobik veya fakültatif anaerobik özelliğe sahiptirler. Mayalar tomurcuklanma yoluyla eşeysiz ve eşeyli olarak ürerler. Çoğu maya, yüksek şekerli çevresel örneklerden izole edilebilir. Üzüm, elma veya şeftali gibi meyvelerde bitki özsuğu sızmalarında bulunur. Bazı mayalar da toprak ve böceklerde bulunur (Lee,1996).

Birçok maya, *Ascomycota* bölümüne ait

olmakla beraber bazıları *Basidiomycota*'ya aittirler. *Candida albicans* gibi bazı maya türleri insanlarda enfeksiyona yol açabildiği gibi *Rhodotorula* türleri de duş perdelerinde ve evdeki nemli yüzeylerde yaşar ve yüzeyler üzerinde lekeli bir görünüm oluşturur (Pfaller ve Diekema, 2004; Charles ve ark., 2005).

Bazı mayaların insanlarda ve çevrede yarattıkları olumsuz etkileri olmasına rağmen birçok maya türünün faydalı fizyolojik özellikleri olması nedeniyle biyoteknoloji alanında kullanılmaları çok yaygındır.

*Sorumlu Yazar:hbiyik@adu.edu.tr



Mayalar endüstriyel proseslerde en fazla kullanılan mikroorganizmalardandır. Çeşitli gıdaların hem üretilmelerinde hem de bozulmalarında önemli role sahiptirler. Fermantasyon yeteneklerinin çok yüksek olması nedeniyle alkol, şarap, bira ve ekmek endüstrisinde çok geniş bir kullanım alanı bulmuşlardır (Vaughan-Martini, 2003). Mayaların ökaryotik hücre yapısında olmaları, laboratuvar şartlarında kolayca üretilebilmeleri ve genetik düzeyde manipülasyonlar yapılabilmesi gibi özellikleriyle moleküler biyoloji çalışmalarında da önemli bir yeri vardır (Lopes ve ark., 1998).

Son yıllarda yapılan çalışmalar mikrobiyal yaşamın spesifik çevrelerle sınırlı olmadığını, mikrobiyal komünitelerin yüksek sıcaklık, yüksek tuz, düşük sıcaklık, asidik, alkali pH ve yüksek basınç gibi ekstrem olarak bilinen çevrelerde de bulunabileceğini ortaya koymuştur. Bu ekstrem çevrelerde yaşayan mikroorganizmalar ekstremofiller olarak adlandırılırlar (Van den Burg, 2003). Ekstremofilik mikroorganizmaların, yüksek sıcaklıkta yaşayan üyeleri termofillerdir. Yüksek sıcaklıkta üreme, diğer mikroorganizmalar ile kontaminasyon riskini de azaltır. Ayrıca termofilik mayaların enzimleri özel avantajlara sahiptir.

Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle biyoteknolojinin endüstriyel enzimler ile ilgili alanında yapılan çeşitli araştırmalar daha da önem kazanmaktadır. Özellikle son yıllarda stratejik alan şeklinde değerlendirilen rekombinant DNA teknolojilerinden yararlanılarak enzim üretimi büyük boyutlara ulaşmış ve kullanımı giderek yaygınlaşmıştır (Fernandez-Espinar ve ark., 2006). Etanol üretimi için de termofilik mikroorganizmalardan yararlanma mümkündür ve birçok avantaj sağlamaktadır.

Taksonomide kullanılan geleneksel yöntemler, mikroorganizmaların ekolojik kaynak, morfoloji, fizyoloji ve üreme gibi fenotipik özelliklerini belirlemeye dayanmaktadır. Biyoteknolojik olarak büyük bir öneme sahip olan maya türlerinin klasik yöntemle tanımlanması hem zaman alıcı hem de daha az güvenilirdir. Bu

nedenle son yıllarda mayaların tanımlanması ile ilgili DNA esaslı değişik yöntemler üzerinde durulmuştur (Lopes ve ark., 1998; Vaughan-Martini, 2003). Moleküler taksonomi alanında yapılan ilk çalışmaların ardından tanımlamada; ribozomal RNA (rRNA) veya tamamlayıcı molekülü olan ribozomal DNA (rDNA)'daki belirli bölgelerin hedeflendiği çeşitli tekniklerin geliştirildikleri ve günümüzde de sıklıkla kullanıldıkları bilinmektedir (Vaughan-Martini, 2003; Hierro ve ark., 2004). Filogenetik çalışmalarda da kullanılan bu yöntemler; 26S rDNA, 18S rDNA veya 18rDNA' daki ara bölgelerin (ITS1, ITS2, ITS3, ITS4) tanımlanmasına yöneliktir. Günümüzde, DNA baz dizi analizi çalışmaları sonucunda oldukça fazla sayıda veri bankasının oluşturulması ve PCR teknolojisinin geliştirilmesiyle, mayaların hızlı ve doğru bir şekilde tür ve suş düzeyinde tanımlanmaları mümkün olabilmektedir (Lopes ve ark., 1998; Van Der Vossen ve ark., 2003).

Bu çalışma ile Aydın ilinde termofilik çevrelerden izole edilen termofilik maya suşlarının PCR tekniği kullanılarak hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanmaları ve tanımlanan suşların bir sonraki çalışmalarda endüstriyel kullanım potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Toprak Örneklerinin Toplanması

Aydın ilinde Buharkent Bereket Jeotermal Su kaynağı çevresinden (Enlem: 37° 56" 62' ; Boylam: 28° 51" 51' ; Yükseklik: 138 m) 7 adet toprak, 2 adet su örneği aseptik koşullara uygun olarak alınmıştır. Örnekler steril kilitli poşetlere konularak laboratuvara getirilmiştir (Zhang ve ark., 2014).

Mayaların İzolasyonu

Laboratuvara getirilen toprak ve su örnekleri, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} e kadar seyreltilerek dilüsyonları hazırlanmıştır.

Hazırlanan seyreltmelerden sodyum propiyonat içeren YGC agar (%4 Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar, % 0,1 Sodyum Propiyonat) petrilere yayma ekim tekniği kullanılarak, ekim yapılmıştır.



25-30 °C de 3-7 gün inkübe edildikten sonra maya kolonileri seçilerek, YEP Agar (10 g/L Yeast Extract, 20 g/L Bacto-peptone, 20 g/L Agar, 20 g/L Dextrose) besiyetinde geliştirilmiş ve 200 g/L skim milk içerisinde saklanmıştır (Genç ve Çıldır, 2012; Zhang ve ark., 2014).

Moleküler Tanılama

DNA izolasyonu, Hoffman ve Winston (1987)'nin modifiye edilmiş metodu ile gerçekleştirilmiştir. Maya izolatları YEP Agar'da 30 °C de 24 saat geliştirildikten sonra hücreler 1 mL steril distile suda süspansiyon edilmiştir. 14,000 rpm de 2 dk santrifüj edilerek, hücreler toplanmış ve fenol-kloroform yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen DNA ekstraksiyonu %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür.

% 1 konsantrasyonda 0,5 X TBE tamponu ile hazırlanan 100 mL'lik agaroz jel içine ticari olarak satılan SafeView jel görüntüleme boyasından 3.5µL konulmuştur. Donan jel kuyucuklarına DNA örneğinden 5 µL, 6X Loading Dye DNA çöktürme boyasından 5µL ile karıştırılarak kuyucuklara doldurulmuştur. İlk kuyucuğa DNA'nın büyüklüğünü anlamak için marker olarak 1kb'lık DNA Ladder eklenmiştir. DNA'nın jeldeki görüntüsünü elde etmek için 40 dakika elektrik akımı (80 volt) uygulanmıştır. DNA UV görüntüleme cihazında görüntülenmiştir. Total DNA konsantrasyonu ve DNA kirliliği de NanoDrop'ta ölçüm yapılarak belirlenmiştir.

PCR denemesi, Dlačhy ve ark., (1999)'na göre yapılmıştır. 30 µL reaksiyon hacmi için 0,5 µL DNA polimeraz (2 U/ µL, 0,3 µL dNTP, 3 µL 10X tampon, 3 µL MgCl₂ (25 mM), 3 µL primer (10Mm) kullanılmıştır. PCR denemesi, White ve ark. (1990)'nın tanımladığı primerler ile gerçekleştirilmiştir.

ITS1 (5⁰-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3⁰)

ITS4 (5⁰-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3⁰)

PCR koşulları, 94 °C de 5 dk, 57 °C de 30 sn, 72 °C de 1dk, 72 °C de 5 dk olarak yapılmıştır.

Elde edilen PCR ürünlerinin sekansı Almanya'daki GATC BIOTECH Firması tarafından gerçekleştirilmiş ve sekans analizi ABI Primse sekans sistemi ile yapılmıştır.

Filogenetik Ağacın Oluşturulması

Filogenetik ağaç, 300bç-700bç arasındaki uzunluğunda diziler baz alınarak neighborjoining metot kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap analizleri 1000 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir).

Bulgular

Mayaların İzolasyonu

Aydın ilinde Buharkent Bereket Jeotermal Su kaynağı çevresinden maya izolasyonu için toprak ve su örnekleri alınmıştır (Şekil 1). Fakat sadece toprak örneğinden maya izolasyonu yapılabildiği görülmüştür (Tablo 1).



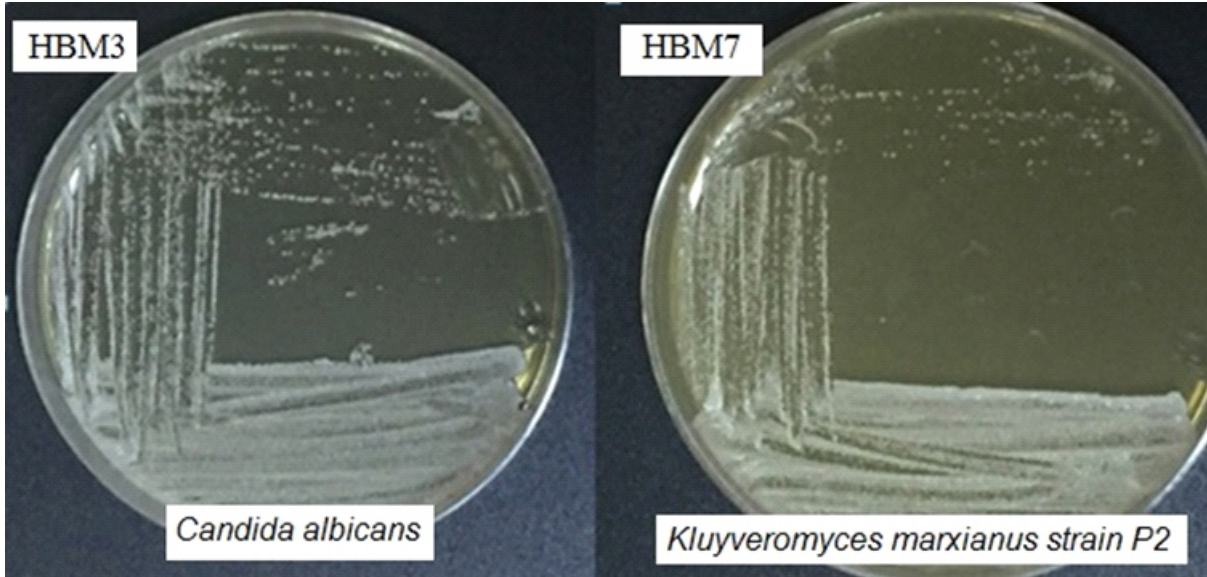
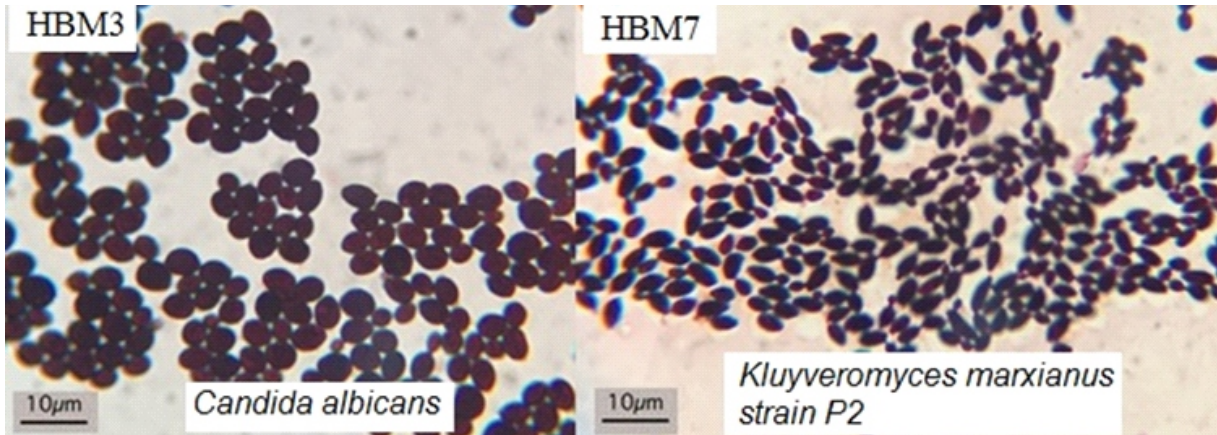
Şekil 1. Aydın ili Buharkent Bereket Jeotermal Su kaynağı. HBM1, HBM2; HBM3, HBM4, HBM5, HBM6, HBM7, HBM8, HBM9 izolatları için alınan su ve toprak örneklerinin doğal görüntüsü.

**Tablo 1.** Maya izolasyonu için alınan örnek çeşitleri ve izolat numarası

Örnek Çeşitleri	İzolat Numarası
Toprak (1)	HBM1, HBM2
Toprak (2)	HBM3
Toprak (3)	HBM4, HBM5
Toprak (4)	HBM6
Toprak (5)	HBM7
Toprak (6)	HBM8
Toprak (7)	HBM9
Su (1)	
Su (2)	

YEP Agar besiyerisinde gelişen maya kolonileri saflaştırılmıştır (Şekil 2). Saflaştırılan

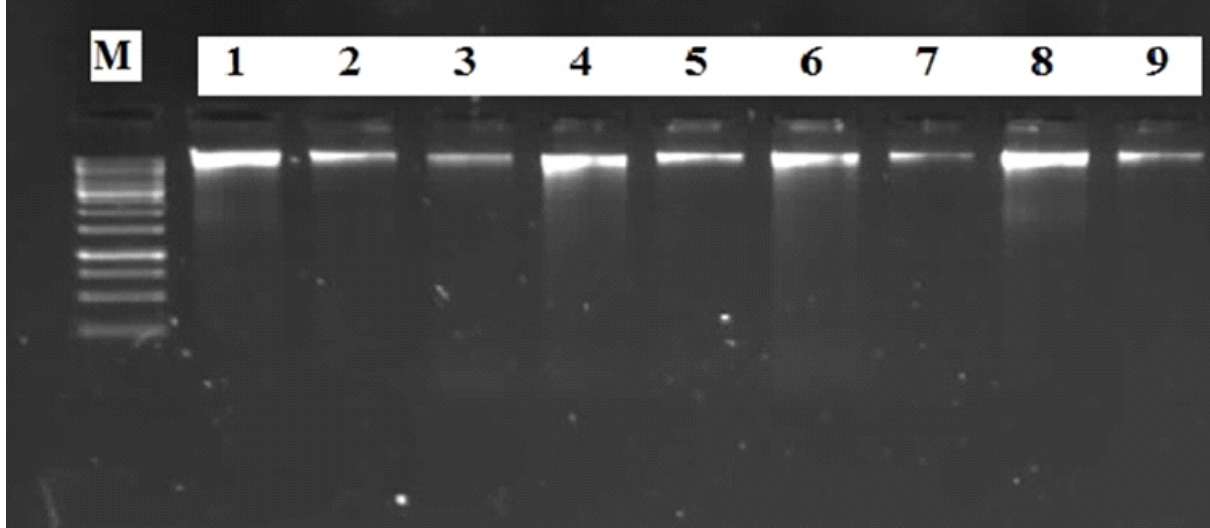
kolonilerin vejetatif hücre yapıları 100x immersiyon objektifinde incelenmiştir (Şekil 3).

**Şekil 2.** İzolasyonu yapılan bazı maya kolonilerinin YEP Agar besiyerisinde görüntüsü**Şekil 3.** Saflaştırılan izolatlara ait vejetatif hücre yapılarının 100x immersiyon objektifindeki mikroskopik görüntüsü



Moleküler Tanılama

HBM1, HBM2; HBM3, HBM4, HBM5, HBM6, HBM7, HBM8, HBM9 olarak numaralandırılmış 9 izolata ait DNA'ların agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü verilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. 9 izolatin toplam DNA'larının agaroz jel elektroforezi görüntülenmesi.

Marker olarak 1kb'lık DNA Ladder kullanılmıştır. 1:HBM1, 2:HBM2; 3:HBM3; 4:HBM4; 5:HBM5; 6:HBM6; 7:HBM7; 8:HBM8; 9:HBM9

Total DNA konsantrasyonu ve DNA kirliliğinin NanoDrop'ta ölçüm değerleri (Tablo 2)' de verilmiştir.

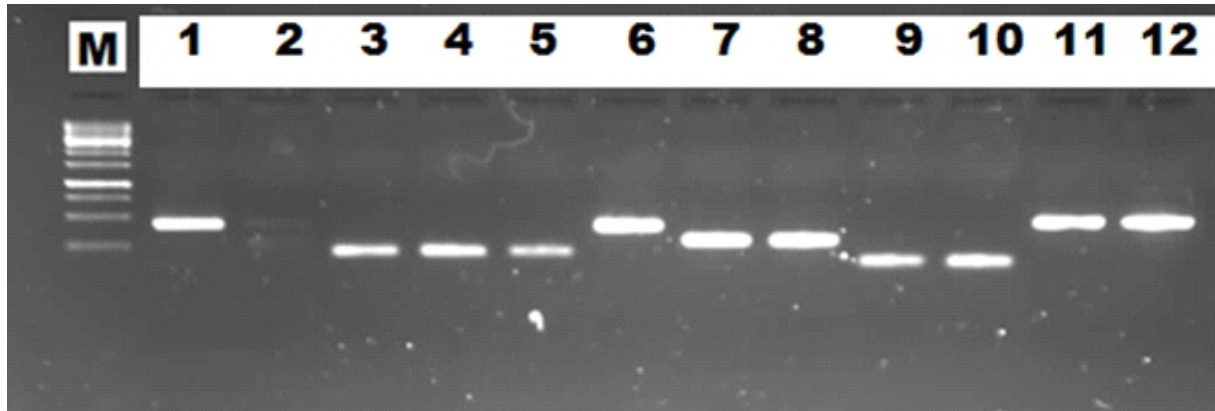
Tablo 2. Total DNA konsantrasyonu ve DNA kirliliğinin NanoDrop'taki ölçümü

İzolat Numarası	Nükleik Asit ng/µL	260/280(Abs)	Örnek Tipi
HBM1	136,5 ng/µL	1,92	DNA
HBM2	806,5ng/µL	1,73	DNA
HBM3	577,9 ng/µL	1,86	DNA
HBM4	989,6 ng/µL	2,01	DNA
HBM5	711,2 ng/µL	1,78	DNA
HBM6	1038,4 ng/µL	1,83	DNA
HBM7	639,3 ng/µL	1,97	DNA
HBM8	281,2 ng/µL	1,88	DNA
HBM9	412,4 ng/µL	1,91	DNA

PCR ürünleri Agaroz Jel Elektroforezinde yürütülmüş ve UV ışığında jel görüntüsü alınmıştır (Şekil 5).

Elde edilen sekansların BioEdit 7.1.3 programı kullanılarak, baz dizilimleri ve hizalamaları yapılmıştır. Hizalama yapıldıktan sonra elde edilen diziler NCBI Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) ile GenBank'taki kayıtlı dizilerle karşılaştırılmış ve türler tespit edilmiştir.

HBM1, HBM3, HBM4, HBM5, HBM6, HBM7, HBM8 ve HBM9 numaralı izolatların GenBank'ta kayıtlı türlerle benzerliği bulunmasına rağmen izolat HBM2'nin GenBank'ta karşılığı tespit edilememiştir. Bu nedenle toplam 8 izolatın GenBank'taki karşılığı saptanmıştır. İzolatların numaraları, tür isimleri, accession numaraları, depolanmış türlere benzerlik yüzdeleri ve identifikasyon skorları Tablo 3'de verilmiştir.



Şekil 5. Maya izolatlarına ait PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi (1. kuyucuk: HBM1; 2. kuyucuk: HBM2; 3. kuyucuk: HBM3; 4. kuyucuk: HBM4; 5. kuyucuk: HBM5; 6. kuyucuk: HBM6; 7. ve 8. kuyucuk: HBM7; 9. ve 10. kuyucuk: HBM8; 11. ve 12.. kuyucuk: HBM9; M:1kb DNA Ladder, 100bç- 2500bç).

Tablo 3. Elde edilen sekansların GenBank'taki kayıtlı dizilerle karşılaştırılmaları ve tespit edilen tür isimleri

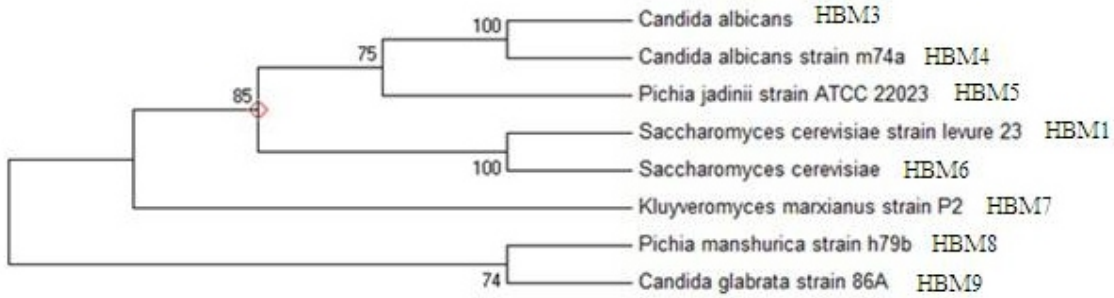
İzolat Numarası	Tür İsmi	Accession Numarası	Benzerlik (%)	Max. Skor
HBM1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain levure 23	KT726925.1	98	307
HBM2	DNA'sı elde edilmiş fakat tür ismi tespit edilememiştir.	–	–	–
HBM3	<i>Candida albicans</i>	GU373665.1	99	318
HBM4	<i>Candida albicans</i> strain H295B	KP675008.1	99	316
HBM5	<i>Pichia jadinii</i> strain ATCC 22023	AF335929.1	99	321
HBM6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	KP998094.1	99	311
HBM7	<i>Kluyveromyces marxianus</i> strain P2	KF851351.1	99	398
HBM8	<i>Pichia manshurica</i> strain H79a	KP674783.1	98	283
HBM9	<i>Candida glabrata</i> strain 86A	KP764981.1	98	297

Tablo 3'deki mayalar, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen/Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarında kodlanan izolat numaralar ile liyofilize halde saklanmaktadır.



Filogenetik Analiz Sonuçları

Filogenetik ağacın oluşturulması için MEGA 6 programı kullanılmıştır. GenBank'dan elde edilen referans organizmaların ve bu çalışmada elde edilen izolatların baz dizileri programa yüklenmiştir. MEGA 6 bünyesinde yer alan ClustalW programı kullanılarak, baz dizi benzerliklerine göre sıralanmıştır. MEGA 6 programının 1000 tekrarlı "Bootstrap test of phylogeny" özelliği seçilerek "neighbourjoining" özelliğine dayalı olarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu yöntemde taksonlar arasındaki yakınlık analiz edilmiştir.



Şekil 6. Suşların MEGA6 programı kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacı. Dalların yanındaki rakamlar istatistiksel bootstrap değerlerini göstermektedir. İstatistiksel olarak ağaçtaki verilere göre türler arasındaki % benzerlik ve yakınlık dereceleri hakkında bilgi elde edilmiştir

Tartışma

Termofilik mayalar *bacteria* ve *archaea* türleri gibi daha yüksek sıcaklıklarda yaşamaya adapte olamazlar ve 60°C'nin üzerinde yaşayan ökaryotikler de yoktur. Üstelik 60°C'nin üzerinde ökaryotik organeller yaşayamaz ve sadece prokaryotik yaşam formları olabilir (Madigan ve ark., 2015). Bu yüzden 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda yaşayanlar termotolerant/termofilik mayaların temsilcileri olabilir (Arthur ve Watson, 1976). Psikrofilik ve termofilik terimleri tanımlanırken organizmanın maya mı, ekstrem çevrelerdeki prokaryot mu veya ökaryot mu olduğuna bakılmaksızın sadece türler dikkate alınarak mikroorganizmalara göre yapılmaktadır. Mayaların üst termofilik limiti, termofilik organizmalar için en düşük limit tanımlaması yaklaşık 46°C'dir (Arthur ve Watson 1976; Madigan ve ark., 2015).

Ökaryotlardan birçoğu, 40-45°C'den yüksek ısılarda yaşamadıkları için termofilik mantarlar da uzun süre fark edilmemiştir. Bir asır önce Lindt tarafından ekmekten ilk termofilik mantar *Mucor pusillus* izole edilmiş, ardından Tsiklinskaia tarafından *Thermomyces*

lanuginosus patatesden izole edilmiştir. Bu küflerin her ikisi de tesadüfen keşfedilmişlerdir. Hugo Miehe, termofilik mantarlar ile ilgili geniş araştırmalar yapan ilk kişi olmuştur. Miehe'in yaptığı çalışmalardan dolayı termofilik mantarların temel yaşam koşulları belirlenmiştir. Cooney ve Emerson izole ettikleri 13 termofilik mantar türünü yaşama ortamlarına göre sınıflandırmış ve bu alanda çalışmaların artmasını sağlamışlardır (Deacon, 2007).

Termofilik mayaların hepsinde olmasa da, bazılarında sitoplazmik zara bağlı yağ dolu cisimcikler görülmüştür. Ayrıca bu yapıların endoplazmik retikulumda da devam ettiği gösterilmiştir. Asıl lipid depolanması, 50 °C 'de değil, 37 °C 'de üreyen hiflerde bulunur. Bu yağ cisimcikleri henüz tam anlaşılacakla birlikte, termofili mekanizması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Hudson, 1987).

Termofilik mantarlar buldukları yerlere göre, jeotermal bölgelerde üreyenler ve çürümüş bitki kümeleri, gübre gibi kendini ısıtan (self-heating) kaynaklarda üreyenler olmak üzere iki gruba ayrılmışlardır.



Jeotermal topraklar, dünyada birçok yerde bulunur. Amerika Birleşik Devletleri'nde Yellowstone Milli Parkı'nda bu tür sıcak su kaynakları bulunmaktadır. Buradaki toprağın özelliği, ısısının 70 °C ve daha fazla olması, ağır metaller içermesi, pH'sının 2-7 arasında veya daha az olması, az organik madde içermesidir (Redman ve ark., 1999).

Dünyamız'da solfatarik alanlar, hidrotermal kuyular, sıcak su kaynakları gibi çeşitli jeotermal alanlardan aerobik termofillerin izolasyonları yapılmaktadır (Baker, 2001). Yapılan çalışmalarda, sıcaklığın mikroorganizmaların fizyolojik aktiviteleri ve gelişimleri üzerindeki en önemli faktörlerden biri olduğunu göstermiştir. Jeotermal kaynaklar açısından oldukça zengin olan ülkemizde resmi kayıtlara alınmış 140 adet jeotermal saha bulunmaktadır. İller bankasının 2001 yılında yayınlamış olduğu listeye göre ülkemizdeki jeotermal kaynaklar ve kuyu başı sıcaklıkları da verilmiştir, bu kaynaklardan bazıları da Aydın ilinde bulunmaktadır (Anonim, 2001).

Aslında bu tür mantarlar çevremizde çok yaygındır. Isısı 40-50 °C olan sıcak suların, topraktan, sıcak havuzlardan, yağmur ormanlarının etrafından, çamurdan, ağaç yapraklarından, topraktan hem mezofilik hem de termofilik mantarlar bir arada izole edilmiştir (Deacon, 2007).

Aydın ili Buharkent Bereket Jeotermal Su kaynağı çevresine bırakılan termal suların sıcaklığının minimum 65°C olduğunu bildiğine göre bulgulardan elde edilen veriler termofilik mayaların bu tür çevrelerde yaygın olgunun bir göstergesidir.

Günümüzde mayaların tanımlanmalarında kullanılan kültürel yöntemlerin geçerliliği olmasına rağmen mayaların morfolojik, fizyolojik ve üreme gibi fenotipik özelliklerinde meydana gelebilecek değişiklikler her zaman genotipik özellik olarak yansımamaktadır (Vaughan-Martini, 2003). Bu nedenle klasik yöntemlerle yapılan tanılamada hata payının fazla olması, tekrarlanabilirlik yüzdesinin düşük olması ve zaman kaybına sebebiyet vermesi mümkün olduğu için son yıllarda araştırmacılar tanıla-

mada moleküler metotları kullanmaya yönelmişlerdir. DNA esaslı olarak PCR teknolojisinin geliştirilmesiyle mayaların hızlı, doğru ve güvenilir bir şekilde tür ve suş düzeyinde tanımlanmaları mümkün olabilmektedir. Özellikle ribozomal RNA (rRNA) veya ribozomal DNA (rDNA)'daki belirli bölgelerin hedeflendiği çeşitli teknikler günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. PCR ile çoğaltılmış DNA bölgesinin restriksiyon enzimleri ile kesimine dayanan RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ve RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) kullanılan yöntemler arasındadır. Tanılamada kullanılan DNA esaslı bu yöntemler; 26S rDNA, 18S rDNA veya 18rDNA' daki ara bölgelerin (ITS1 ve ITS2) tanımlanmasına yöneliktir (Hierro ve ark., 2004).

Mayaların tür tespiti ve türler arası ilişkilerinin belirlenmesinde ITS bölgelerinin kullanılması yaygındır. ITS bölgeleri ribozomal RNA içerisinde tekrarlanan bir bölgedir. Bu bölgede 5' external transcribed sequence (5' ETS), 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA ve son olarak da 3' ETS bölgeleri bulunmaktadır. Mayaların tanımlanmasında ITS bölgesinin; ITS1, ITS2, ITS5, ITS3 ve ITS4 primerleri ile çoğaltıldıkları bilinmektedir (Schoch ve ark., 2012).

Arxiozyma telluris (= *Kazachstania telluris*) mayası 28 ve 45°C arasında dar bir büyüme sıcaklığı gösterdiği için zorunlu termofilik olarak sınıflandırılmıştır. *A. telluris*'ün etanol de 37°C'de büyütüldüğü zaman maksimum hücre verimine ulaştığı görülmüştür. 25°C'de büyüme oldukça yavaş ve 20°C'de ise hiçbir büyüme gözlenmemiştir, üstelik bu termotolerant *Candida parapsilosis* mayasından ziyade daha çok termofilik bir karaktere sahip tür olduğunu gösterir. *A. telluris*'in büyüme için üst büyüme sıcaklığı yaklaşık 45°C idi (Arthur ve Watson 1976).

Kore'de topraktan izole edilen Y94T maya suşu daha yüksek sıcaklıklarda büyüme kapasitesine sahiptir. Suş, çoklu tomurcuklanma ile eşeysiz üreme, nişasta gibi ekstraselüler bileşiklerin yokluğu, negatif bir diazonyum



mavisi B renk reaksiyonu ve artrosporlar, balistik konidya ve askosporların yokluğu gibi karakteristik özelliklere sahip olduğundan *Candida* genusu içine yerleştirilebilir. Diğer belirli fizyolojik karakterleri yanında maksimum büyüme sıcaklığı 50–51°C olan ve diğer askomiset mayalardan ayrılan kısmi tek 26S ribozomal DNA lı bu suşdur. Bu yeni suş *Candida thermophila* olarak tanılanmıştır (Shin ve ark.,2001).

Çalışmada ITS bölgeleri kullanılarak yapılan moleküler tanılama sonucu % 98 oranında benzerlikle maya izolatlarının tanıları yapılmıştır. Sadece bir türün tanısı yapılamamıştır. Bu da bize uygulanan tekniklerin termofilik çevredeki mayaların izolasyon ve tanısı için geçerli bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Bulgularımız olan *Candida albicans*, *Candida albicans* strain m74a, *Pichia jadinii* strain ATCC 22023, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* strain P2, *Pichia manshurica* strain h79b ve *Candida glabrata* strain 86A türleri, ülkemiz ve Aydın bölgesindeki jeotermal kaynakların bulunduğu yerlerdeki topraktan alınan ilk termofilik maya örnekleri olabilir. Çünkü kayıtlarda bu termofilik maya örneklerine rastlanmamıştır.

Dünya literatür kaynaklarında mayaların çeşitli çevrelerden izolasyonu ve tanılarının ITS bölgeleri kullanılarak yapıldığını gösteren fazlaca çalışmalar vardır. Senses-Ergul ve ark., (2006) gıdalardan izole edilen bazı mayaların hem klasik hem de moleküler metotlarla identifikasyonunu gerçekleştirmişlerdir. İzole edilen 22 adet maya suşunda ITS-18S rRNA gen bölgesi sekanslanmış ve *Candida parapsilosis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus humicolus*, *Cryptococcus albidus*, *Aureobasidium* spp., *Hanseniaspora valbyensis*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Lachancea thermotolerans*, *Pichia anomala*, *Geotrichum candidum*, *Yarrowia lipolytica* olarak tanılanmıştır. Fitzpatric ve ark., (2006) izole ettikleri fungusların filogenetik identifikasyonu sonucunda *Candida lusitanae*, *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces*

hansenii, *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* ve *Lodderomyces elongisporus* mayalarını tanılamışlardır. Tofalo ve ark., (2009) şaraptan izole ettikleri mayaların ITS gen bölgelerini sekanslayarak, *Candida apicola*, *Candida zemplinina* ve *Zygosaccharomyces bailii* olarak osmotolerant maya türlerini tanıya etmişlerdir. Choi ve ark., (2010) topraktan 2 maya suşu izole etmişler ve ITS1 ve ITS2 gen bölgelerini sekanslayarak, *Saccharomyces cerevisiae* olarak belirlemişlerdir. González-Hernández ve ark., (2012) etanol üretiminde kullanılan mayaların izolasyonunu ve moleküler identifikasyonunu gerçekleştirmişlerdir. RFLP yöntemini kullanarak *Saccharomyces cerevisiae* maya türünü tanılamışlardır. Kurtzman ve Robnett (2013) izole ettikleri maya suşlarının filogenetik identifikasyonunu yapmışlar ve *Pichia* sp., *Saturnispora* sp., *Kregervanrija* sp., *Dekkera* sp., *Ogataea* sp., *Ambrosiozyma* sp., *Barnettozyma* sp., *Cyberlindnera* sp., *Phaffomyces* sp., *Starmera* sp., *Wickerhamomyces* sp., *Kodamaea* sp., *Metschnikowia* sp., *Debaryomyces* sp., *Zygoascus* sp., *Yarrowia* sp. olarak belirlemişlerdir. El-Latif Hesham ve ark., (2014) peyniraltı suyu gibi endüstriyel atıklardan izole ettikleri maya suşunun 5.8S-ITS rDNA ve 26S rRNA gen bölgelerinin sekansını yapmışlar ve %99 benzerlikle *Kluyveromyces marxianus* ve *Kluyveromyces lactis* olarak belirlemişlerdir. Šuranská ve ark., (2016) beyaz peynirden izole ettikleri maya suşlarının identifikasyonu için ITS gen bölgelerini kullanmışlar ve *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida zeylanoides*, *Yarrowia lipolytica*, *Galactomyces geotrichum* maya suşları tanılanmıştır. Abdel-Sater ve ark., (2016) deri ve tırnak örneklerinden izole edilen 21 maya suşunun ITS gen bölgelerini sekanslayarak *Saccharomycopsis fibuligera*, *Candida galli* ve *Trichosporon dohaense* olarak tanılanmıştır.



Benzer yöntemler ile termofilik maya türlerini tanılamamız *Candida Pichia*, *Saccharomyces* ve *Kluyveromyces* cinslerine ait türler tanılamamız kullanılan tanı yönteminin geçerliliği açısından oldukça önemlidir.

Suşların MEGA6 programı kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacında; Moleküler tanılama için kullanılan DNA bölgesinde oluşabilecek bir nokta veya bölgesel bir mutasyon, dizileme sırasında oluşan bir gap veya yanlış eşleşmeler baz dizi verisinde değişmeye yol açabileceği için filogenetik ağaç oluşturan programın farklı yorumlamasına yol açmış olabilir. Bu değişiklikler tür tayinini etkilemese de filogenetik ağaç çıkarırken farklılıklara yol açabilmektedir

Ege bölgesi ve özellikle Aydın ili jeotermal kaynakların en fazla olduğu illerimizden biridir. Aydın ilinde jeotermal kaynaklardan izole edilen termofilik mikroorganizmalar; özellikle bakteriler ve mikrofunguslar ile ilgili çalışmalar oldukça

fazladır. Termofilik mayalar ve bunların taksonomisi ile yapılan çalışmalar oldukça azdır. Termofilik mikroorganizmaların biyoteknoloji ve enzim biyoteknolojisinde kullanımının önemi göz önünde bulundurulduğunda toprak ve su örneklerinden izole edilen 8 termofilik mayanın izolasyon ve tanısının katkısı yadsınamaz. Çalışmamızda termofilik çevreden alınan toprak ve su örneklerinden izole edilen 9 maya suşunun ITS1 ve ITS2 gen bölgeleri çoğaltılarak, sekans analizi yapılmıştır. Termofilik mayalar kayıt altına alınarak stoklarımıza girmiştir. Böylece elde edilen suşların endüstriyel potansiyellerin araştırılması ve bir sonraki çalışmalar için kullanım olanağı sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK-BİDEP 2209 (Proje No: 1919B011500712) projesi ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Abdel-Sater M.A., Moubasher A.A., Soliman Z. *Identification of three yeast species using the conventional and internal transcribed spacer region sequencing methods as first or second global record from human superficial infections*, Mycoses, 59(10) 652-661 (2016).
- Anonim. Kaplıcaya Sahip Belediyeler Birliği (2001).
- Arthur H., Watson K. *Thermal adaptation in yeast: growth temperatures, membrane lipid, and cytochrome composition of psychrophilic, mesophilic, and thermophilic yeasts*, Journal of Bacteriology, 128 56-68 (1976).
- Baker G.C., Gaffer S., Cowan A.D., Suharto A.R. *Bacterial community analysis of Indonesian hot springs*, FEMS Microbiology Letters, 200 103-109 (2001).
- Charles P.E, Dalle F., Aube H., Doise J.M, Quenot J.P, Aho L.S, Chavanet P., Blettery B. *Candida spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study*, Intensive Care Medicine, 31(3) 393-400 (2005).
- Choi G.W., Umb H.J., Kim Y., Kang H.w., Kim M., Chung B.W., Kim Y.H. *Isolation and characterization of two soil derived yeasts for bioethanol production on Cassava starch*, Biomass and Bioenergy, 34(8) 1223-1231 (2010).
- Deacon J. *The microbial world: Thermophilic microorganisms produced by institute of Cell and Molecular Biology*. The University of Edinburgh, (<http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/thermo.htm>.) (2007).
- Dlauchy D., Tornai-Lehoczki J., Peter G. *Restriction enzyme analysis of PCR amplified rDNA as a taxonomic tool in yeast identification*, Systematic and Applied Microbiology, 22(3) 445-53 (1999).
- El-Latif Hesham A., Wambui V., Henry Ogola J.O., Maina J.M. *Phylogenetic analysis of isolated biofuel yeasts based on 5.8S-ITS rDNA and D1/D2 26S rDNA sequences*, Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 12(1) 37-43 (2014).



- Fernandez-Espinar M.T, Martorell R., De Llanos R., Querol A. *Molecular methods to identify and characterize yeasts in food and beverages*. In: *Yeasts in food and beverages*: Querol A. and Fleet G (eds), Springer-Verlag, Berlin, Germany, p. 55-82, (2006).
- Fitzpatrick D.A., Logue M.E., Stajich J.E., Butler G. *A fungal phylogeny based on 42 complete genomes derived from supertree and combined gene analysis*, BMC Evolutionary Biology, 6(99) 1-15 (2006).
- Genç T.T., Çıldır İ.N. *Bozcaada üzüm çeşitleri üzerinde Non-Saccharomyces mayaların dağılımı*, Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 5(1) 115-120 (2012).
- González-Hernández J.C., Perez E., Damian R.M., Chavez-Parga M.C. *Isolation, molecular and fermentative characterization of a yeast used in ethanol production during mezcal elaboration*, Revista Mexicana de Ingeniería Química, 11(3) 389-400 (2012).
- Hierro A., Sun J., Rusnak A.S., Kim J., Prag G., Emr S.D., Hurley J.H. *Structure of the ESCRT-II endosomal trafficking complex*, Nature, 431(7005) 221-225 (2004).
- Hoffman C.S., Winston F. *A ten-minute DNA preparation from yeast efficiently releases autonomous plasmids for transformation of Escherichia coli*, Gene, 57(2) 267-272 (1987).
- Hudson H.J. *Fungal Biology*. Edward Arnold Press, London, 6 158-75 (1987).
- Kurtzman C.P., Robnett C.J. *Relationships among genera of the Saccharomycotina (Ascomycota) from multigene phylogenetic analysis of type species*, FEMS Yeast Research, 13(1) 23-33 (2013).
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Brock biology of microorganisms*, 14th edn. Pearson Education Limited (2015).
- Lee B.H. *Fundamentals of food biotechnology*, VCH Publishers, USA, p. 431, (1996).
- Lopes M.B, Soden A., Martens A., Henschke P.A, Langridge P. *Differentiation and species identification of yeasts using PCR*, International Journal of Systematic Bacteriology, 48(1) 279-286 (1998).
- Pfaller M.A., Diekema D.J. *Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: Concern for resistance beyond Candida albicans and Aspergillus fumigatus*, Journal of Clinical Microbiology, 42(10) 4419-4431 (2004).
- Redman R.S, Litvintseva A., Sheehan K.B., Henson J.M., Roldríguez R.J. *Fungi from geothermal soils in Yellowstone National Park*. Applied and Environmental Microbiology, 65 5193-7 (1999).
- Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L., Levesque C.A., Chen W., Consortium F.B. *Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi*, Pnas, 109(16) 6241-6246 (2012).
- Senses-Ergül Ş., Agoston R., Belak A., Deak T. *Characterization of some yeasts isolated from foods by traditional and molecular tests*, International Journal of Food Microbiology, 108(1) 120-124 (2006).
- Shin K.S, Shin Y.K, Yoon J.H, Park Y.H. *Candida thermophila sp. nov., a novel thermophilic yeast isolated from soil*, International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology, 51 2167-2170, (2001).
- Šuranská H., Raspor P., Uroić K., Golić N., Kos B., Mihajlović S., Begović J., Šušković J., Topisirović L., Čadež N. *Characterisation of the yeast and mould biota in traditional white pickled cheeses by culture-dependent and independent molecular techniques*, Folia Microbiologica (Praha), 61(6) 455-463 (2016).
- Tofalo R., Chaves-López C., DiFabio F., Schirone M., Felis G.E., Torriani S., Paparella A., Suzzi G. *Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must*, International Journal of Food Microbiology, 130(3) 179-187 (2009).
- Van den Burg B. *Extremophiles as a source for novel enzymes*, Current Opinion Microbiology, 6(3), 213-218 (2003).
- Van Der Vossen J.M.B.M., Rahaoui H., De Nijs M.W.C.M., Hartog B.J. *PCR methods for tracing and detection of yeasts in the food chain*. In: *Yeasts in Food*, Boekhout T, Robert V (eds), Bayerlein GmbH, Neuss, Germany, p. 123-137, (2003).



- Vaughan-Martini A. *Reflections on the clasification of yeasts for different end-users in biotechnology, ecology, and medicine*, International Microbiology, 6(3) 175-182 (2003).
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Eds.), PCR protocols: A guide to method sand applications. Academic Press Inc., New York, p. 315–322, (1990).
- Zhang Y., Wu W.P., Hu D.M., Su Y.Y., Cai L. *A new thermophilic species of Myceliophthora from China*, Mycological Progress, 13(1)165–170 (2014).



Nallıhan (Ankara) İlçesi Makrofungusları

Celâleddin ÖZTÜRK, Dilek PAMUKÇU, Sinan AKTAŞ*

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 42075, Selçuklu, Konya

Öz: Nallıhan (Ankara) İlçesinin farklı lokalitelerinden Mayıs 2003 ve Haziran 2006 yılları arasında makrofungusların yetişmesi için uygun olan mevsimlerde 107 makrofungus örneği toplanmıştır. Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* bölümlerine ait toplam 68 tür tespit edilmiştir. Türlerin tamamı yöre için yeni kayıttır.

Anahtar kelimeler: Makrofungus, Nallıhan, Ankara, Türkiye.

Macrofungi of Nallıhan (Ankara) District

Abstract: 107 macrofungi samples were collected from different localities of the Nallıhan (Ankara) district between May 2003 and June 2006, which were suitable for the growth of macrofungi. As a result of the field and laboratory studies, 68 species belong to *Ascomycota* and *Basidiomycota* division were identified. All of these species are new records for the region.

Key words: Macrofungus, Nallıhan, Ankara, Türkiye.

Giriş

Ankara-Eskişehir-Bolu üçgeninin ortasında yer alan Nallıhan, Karadeniz bölgesinin Batı Karadeniz bölümünde yer alır. Ankara'nın batısında ve çok engebeli bir arazi yapısına sahip olan Nallıhan, Doğudan Beypazarı, Kuzeybatıdan Göynük, Kuzeyden Mudurnu-Seben, Batıdan Sarıcakaya, Güneyden Eskişehir ve Mihaliçcik'la çevrilidir (Şekil 1).

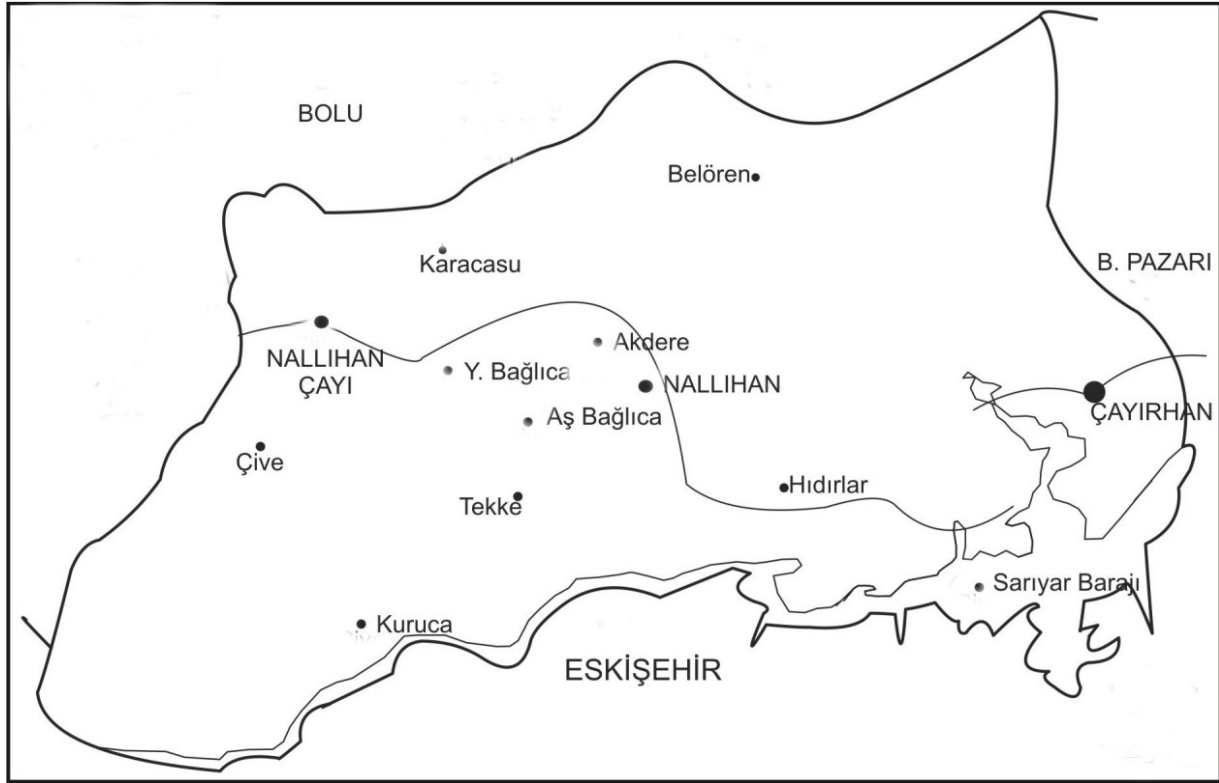
İlçe arazisinin % 48'i orman, % 25'i tarım, % 22'si çayır ve mera ve % 5'i çalılık alanlardan oluşmaktadır. Dağları, çam ve meşe ormanları ile kaplı olup kuzey ve batı yönünde orman örtüsü sık, doğu ve güney yönünde ise genellikle çıplak olup Çayırhan ve Beypazarı'na komşu arazileri kısmen düzlük alanlardan oluşmaktadır. Araştırma alanında Köknar, çam, ardıç, yer yer meşe ormanları ve diğer yapraklı ağaçlar görülür. İğne yapraklı ağaçlar yaygın türleri oluşturur. Bunlar, *Abies nordmanniana* (Stev) Spach. subsp. *bornmuelleriana* (Mattf) Coode et Cullen., *Pinus brutia* Ten., *Pinus nigra* Arnold

subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe., *Pinus sylvestris* L., *Juniperus communis* L. subsp. *nana*, *Juniperus excelsa* Biep., *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus*. Bölgede yapraklı ağaçları da *Acer platanoides* L., *Acer tataricum* L., *Corylus avellana* L., *Eleagnus angustifolia* L., *Quercus cerris* L., *Quercus pubescens* Willd., *Ficus carica* L., *Prunus cocomilio* Ten., *Prunus domestica* L. subsp. *insititia* Poir., *Pyrus eleagnifolia* Pall., *Salix alba* L. ve *Salix purpurea* L. temsil eder.

İlçenin iklimi, İç Anadolu ve Batı Karadeniz Bölgeleri iklim özelliklerini göstermektedir. İlkbahar, sonbahar ve kış ayları genellikle yağışlı geçerken yaz aylarında pek yağış görülmemektedir. Kış aylarının fazla soğuk olmadığı ilçede, rakımı 200-250 metreye kadar düşen Sakarya Nehri Vadisinde ise daha ılıman bir iklim tipi görülür.

Ülkemizde makrofunguslar üzerine yapılan çalışmaların, son yıllarda artış gösterdiğini görmekteyiz.

*Sorumlu Yazar:saktas@selcuk.edu.tr



Şekil 1. Araştırma Alanı

Yapılan bu çalışmaların bir kısmı iki ayrı kontrol listesi halinde yayınlanmıştır (Doğan ve Ark., 2007; Sesli ve Denchev, 2014) ve halen devam eden çalışmalar ile katkı yapılmaya devam etmektedir. Yaptığımız bu çalışma ile de Türkiye makrofunguslarına katkı yapılması ve ayrıca belirlenen yenen ve zehirli mantarlar ile bölge halkının bilgilendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal Ve Metot

Çalışma materyalini Mayıs 2003 ve Haziran 2006 tarihleri arasındaki sonbahar ve ilkbahar aylarında, yağışın bol olduğu zamanlarda toplanan mantar numuneleri oluşturmaktadır. Toplanan numuneler laboratuvara getirilip, mantar örnekleri üzerinde yapılan çalışmaların neticesinde türlerin deskripsiyonu çıkarılmıştır. Elde edilen veriler ve mevcut literatürün yardımıyla türlerin teşhisleri yapılmıştır (Watling

(1973), Philips (1981), Moser (1983), Ellis ve Ellis (1990), Breitenbach ve Kränzlin (1984,1986, 1991, 1995, 2000, 2005), Dähncke (1993), Jordan (1995), Winkler (1996). Mantarlar fungaryum materyali halinde hazırlanırken, kurutma dolabı içinde kurutulmuştur. Kurutulan örnekleri parazitlerden korumak için, içerisine 50 gr kristal timol veya fenol kristali yerleştirilmiş ve 50°C' ye ayarlanmış etüve konularak 3 saat bekletilmiştir. Böylece timol ve fenolün buharlaşarak mantar dokusuna nüfuz etmesi sağlanmıştır. Etüvden çıkarılan mantarlar kilimli polietilen poşetler içine yerleştirilerek, her mantar cinsi kendisi için ayrılmış saklama kutularına konmuştur. Mantar örnekleri S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Fungaryumu'nda saklanmaktadır.



Bulgular

Yapılan arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucu tespit edilen mantar türleri aşağıda alfabetik liste (Her bir kategori kendi içinde sıralanmıştır) halinde verilmiştir (Kısaltmalar: DP, Dilek Pamukcu).

Ascomycota

Pezizomycetes

Pezizales

Helvellaceae

Helvella spadicea Schaeff.

Nallıhan deresi kenarı, kavaklık alan, 14.05.2003, DP 1.

Pezizaceae

Sarcosphaera coronaria (Jacq.) J. Schröt.

Nallıhan Tv vericisi altı, çam ormanı, 11.06.2004, DP 23.

Basidiomycota

Agaricomycetes

Agaricales

Agaricaceae

Agaricus bitorquis (Quél.) Sacc.

Hıdırlar köyü, çay kenarı, çayırılık alan, 15.08.2005, DP 77, 17.06.2004, DP 52. Tekke köyü girişi, çam ormanı, 29.05.2005, DP 55

Agaricus macrocarpus F.H. Møller

Hıdırlar köyü, dere kenarı, çayırılık alan, 10.06.2004, DP 19.

Bovista plumbea Pers.

Nallıhan Tv vericisi altı, çam ormanı, 11.06.2004, DP 24.

Coprinus comatus (O.F. Müll.) Pers.

Nallıhan çayı kenarı, kavak ağacı altı, 14.08.2005, DP 76.

Macrolepiota excoriata (Schaeff.) Wasser

Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 105.

Macrolepiota procera (Scop.) Singer

Tekke köyü, çam ormanı, 21.06.2005, DP 64. Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 19.08.2005,

DP 83.

Amanitaceae

Amanita citrina Pers.

Balca köyü, çam ormanı, 12.6.2005, DP 56

Amanita gemmata (Fr.) Bertill.

Nallıhan Tv vericisi altı, çam ormanı, 11.06.2004, DP 27. Aksu köyü yolu üzeri, çam ormanı, 11.06.2004, DP 29.

Amanita ovoidea (Bull.) Link

Hoşebe mevkii, çam ormanı, 26.05.2006, DP 107. Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 10.06.2004, DP 17. Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 22.08.2005, DP 85. Balca köyü, çam ormanı, 13.06.2004, DP 41. Tekke köyü yaylası, su deposu aşağısı, çam ormanı, 10.06.2004, DP 12.

Amanita pantherina (DC.) Krombh.

Balca köyü, çam ormanı, 12.06.2005, DP 59.

Cortinariaceae

Cortinarius flexipes (Pers.) Fr.

Hoşebe mevkii, çam ormanı, 26.05.2006, DP 106.

Cortinarius rubellus Cooke

Balca köyü, çam ormanı, 12.06.2005, DP 60.

Cortinarius trivialis J.E. Lange

Kuruca köyü, çam ormanı, 25.05.2006, DP 100.

Hymenogastraceae

Hebeloma eburneum Malençon

Aksu köyü, çam ormanı, 12.06.2004, DP 33.

Hebeloma sinapizans (Fr.) Sacc.

Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 22.08.2005, DP 88.

Inocybaceae

Inocybe mixtilis (Britzelm.) Sacc.

Belören köyü girişi, çam ormanı, 12.06.2004, DP 31.

Inocybe rimosa (Bull.) P. Kumm.

Kuruca köyü, çam ormanı, 06.06.2004, DP 7.

Omphalotaceae

Gymnopus erythropus (Pers.) Antonín, Halling & Noordel.

Nallıhan çayı kenarı, meşelik alan, 17.08.2005, DP 80.



Omphalotus illudens (Schwein.) Bresinsky & Besl

Balca köyü, meşelik alan, 12.06.2005, DP 61.

Pleurotaceae

Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm.,

Balca köyü, kesilmiş kavak ağacı üzeri, 13.06.2004, DP 40.

Pluteaceae

Volvopluteus gloiocephalus (DC.) Vizzini, Contu & Justo

Balca köyü, çam ormanı, çayırılık alan, 13.06.2004, DP 35. Kuruca köyü girişi, çam ormanı, çayırılık alan, 25.05.2006, DP 102.

Psathyrellaceae

Coprinellus micaceus (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson

Hıdırlar köyü, dere kenarı, kavak ağacı altı, 10.06.2004, DP 21.

Psathyrella candolleana (Fr.) Maire

Çayırhan kasabası, dut ağacı altı, 12.06.2003, DP 3.

Psathyrella cotonea (Quél.) Konrad & Maubl.

Nallıhan çayı kenarı, Akdere köyü altı, çayırılık alan, 14.08.2005, DP 73.

Schizophyllaceae

Schizophyllum commune Fr.

Nallıhan çayı kenarı, kesilmiş kavak üzeri, 14.08.2005, DP 75. Balca köyü, kesilmiş meyve ağacı üzeri, 13.06.2004, DP 36.

Strophariaceae

Agrocybe dura (Bolton) Singer

Balca köyü yol kenarı, çayırılık alan, 13.06.2004, DP 38.

Agrocybe praecox (Pers.) Fayod

Nallıhan çayı kenarı, çayırılık alan, 15.05.2003, DP 2.

Cyclocybe cylindracea (DC.) Vizzini & Angelini

Nallıhan çayı kenarı, kavak kütüğü üzeri, 14.08.2005, DP 72. Nallıhan çayı kenarı, Akdere köyü altı, kavak kütüğü üzeri, 14.08.2005, DP 67.

Tricholomataceae

Clitocybe dealbata (Sowerby) P. Kumm.

Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 92.

Lepista nuda (Bull.) Cooke

Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 99.

Tricholoma batschii Gulden

Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 10.06.2004, DP 15.

Tricholoma bresadolanum Cléménçon

Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 101.

Tricholoma imbricatum (Fr.) P. Kumm.

Nallıhan Tv vericisi altı, çam ormanı, 11.06.2004, DP 28. Beleören köyü, yol üzeri, çam ormanı, 15.06.2004, DP 47. Tekke köyü yayla girişi, çam ormanı, 10.06.2004, DP 16, 22.08.2005, DP 87. Balca köyü, çam ormanı, 12.06.2005, DP 57.

Tricholoma myomyces (Pers.) J.E. Lange

Kuruca köyü, çam ormanı, 06.06.2004, DP 9. Nallıhan Tv vericisi altı, çam ormanı, 10.06.2004, DP 11. Kuruca köyü girişi, yol kenarı, çam ormanı, 25.05.2006, DP 103.

Tricholoma sculpturatum (Fr.) Quél.

Kuruca köyü, çam ormanı, 06.06.2004, DP 6.

Boletales

Boletaceae

Boletus erythropus Krombh.

Balca köyü, çam ormanı, 14.06.2004, DP 43.

Boletus impolitus Fr.

Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 19.08.2005, DP 81.

Boletus luridus Schaeff.

Balca köyü girişi, çam ormanı, 12.06.2005, DP 58.

Boletus speciosus Frost

Kuruca köyü, çam ormanı, 10.06.2004, DP 18.

Boletus subtomentosus L.

Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 10.06.2004, DP 20.

Leccinellum crocipodium (Letell.) Della Maggiora & Trassin

Balca köyü, çam ormanı, 17.06.2005, DP 62.



Gomphidiaceae

Chroogomphus rutilus (Schaeff.) O.K. Mill.

Kuruca köyü, çam ormanı, 06.06.2004, DP 8. Nallıhan Tv vericisi altı, çam ormanı, 11.06.2004, DP 25. Balca köyü, çam ormanı, 13.06.2004, DP 37. Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 95.

Rhizopogonaceae

Rhizopogon roseolus (Corda) Th. Fr.

Belören köyü, çam ormanı, 12.06.2004, DP 32, 15.06.2004, DP 45. Aşağı Düşen köyü, çam ormanı, 12.06.2004, DP 34. Belören köyü, çam ormanı, Aşağı Belören köyü, çam ormanı, 15.06.2004, DP 51.

Suillaceae

Suillus luteus (L.) Roussel

Aksu köyü yaylası, yol kenarı, çam ormanı, 20.05.2006, DP 90. Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 98.

Geastrales

Geastraceae

Geastrum triplex Jungh.

Aksu köyü yaylası, çam ormanı, 20.05.2006, DP 89.

Hymenochaetales

Hymenochaetaceae

Inocutis rheades (Pers.) Fiasson & Niemelä

Nallıhan çayı kenarı, Akdere köyü altı, kesilmiş kavak üzeri, 14.08.2005, DP 74. Nallıhan çayı kenarı, yüzme havuzu arkası, kesilmiş kavak üzeri, 17.08.2005, DP 78. Belören köyü yol üzeri, kesilmiş kavak ağacı üzeri, 15.06.2004, DP 50.

Porodaedalea pini (Brot.) Murrill

Kuruca köyü girişi, çam ağacı üzeri, 25.05.2006, DP 104.

Phellinus pomaceus (Pers.) Maire

Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 94.

Polyporales

Fomitopsidaceae

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murrill

Nallıhan çayı kenarı, stadyum arkası, söğüt ağacı üzeri, 26.05.2005, DP 54.

Meruliaceae

Bjerkandera adusta (Willd.) P. Karst.

Nallıhan çayı kenarı, kavak kütüğü üzeri, 14.08.2005, DP 65. Yüzme havuzu arkası, kavak kütüğü üzeri, 14.08.2005, DP 68.

Polyporaceae

Cerioporus squamosus (Huds.) Quél

Nallıhan-Bolu yolu üzeri yol kenarı, dut ağacı üzeri, 21.05.2006, DP 91.

Fomes fomentarius (L.) Gillet

Nallıhan çayı kenarı, kavak ağacı üzeri, 14.08.2005, DP 69. Balca köyü, kavak ağacı üzeri, 17.06.2005, DP 63.

Lentinus brumalis (Pers.) Zmitr.

Balca köyü, çam ormanı, ağaç üzeri, 13.06.2004, DP 39.

Panus conchatus (Bull.) Fr.

Nallıhan çayı kenarı, kavak ağacı üzeri, 14.08.2005, DP 66.

Trametes versicolor (L.) Lloyd

Tekke köyü yaylası, meyve ağacı üzeri, 17.08.2005, DP 79.

Russulales

Auriscalpiaceae

Lentinellus cochleatus (Pers.) P. Karst.

Nallıhan çayı kenarı, kesilmiş kavak ağacı üzeri, 14.08.2005, DP 70.

Russulaceae

Lactarius deliciosus (L.) Gray

Nallıhan Tv vericisi altı, çam ormanı, 11.06.2004, DP 26.

Lactarius vellereus (Fr.) Fr.

Belenören köyü yolu, çam ormanı, 15.06.2004, DP 48.

Russula emetica (Schaeff.) Pers.

Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 19.08.2005, DP 82. Aşağı Çive köyü, çam-meşe ormanı, 26.06.2004, DP 53.



):

Russula nigricans Fr.

Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 19.08.2005, DP 84.

Russula ochroleuca Fr.

Hoşebe piknik alanı, çam ormanı, 11.06.2004, DP 22. Tekke köyü yaylası, çam ormanı, 10.06.2004, DP 13. Balca köyü, çam ormanı, 14.06.2004, DP 42.

Stereaceae**Stereum hirsutum** (Willd.) Pers.

Belören köyü, yol üzeri, çam ormanı, 15.06.2004, DP 49.

Stereum ochraceoflavum (Schwein.) Sacc.

Tekke köyü yaylası, kesilmiş meyve ağacı üzeri, 22.08.2005, DP 86.

Thelephorales**Bankeraceae****Boletopsis leucomelaena** (Pers.) Fayod

Kuruca köyü girişi, çam ormanı, 25.05.2006, DP 97.

Phellodon tomentosus (L.) Banker

Karacasu köyü, şelale yolu üzeri, çam ormanı, 14.08.2005, DP 71.

Thelephoraceae**Thelephora caryophyllea** (Schaeff.) Pers.

Aşağı düşen köyü, çam ormanı, 14.06.2004, DP 44.

Tartışma

2003-2006 yılları arasında yapılan arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda iki bölüm, sekiz takım, 28 familya, 45 cinse ait 68 tür tespit edilmiştir. Bu türlerden iki tanesi *Ascomycota*, 66 tanesi de *Basidiomycota* bölümüne aittir. Türlerin familyalara göre dağılımı şöyledir; : *Tricholomataceae* 7, *Agaricaceae* ve *Boletaceae* 6, *Polyporaceae* ve *Russulaceae* 5, *Amani-*

taceae 4, *Strophariaceae*, *Cortinariaceae*, *Psathyrellaceae* ve *Hymenochaetaceae* 3, *Inocybaceae*, *Omphalotaceae*, *Hymenogastraceae*, *Stereaceae* ve *Bankeraceae* 2, *Helvellaceae*, *Pezizaceae*, *Pleurotaceae*, *Pluteaceae*, *Schizophyllaceae*, *Gomphidiaceae*, *Rhizopogonaceae*, *Suillaceae*, *Geastraceae*, *Meruliaceae*, *Fomitopsidaceae*, *Auriscalpiaceae* ve *Thelephoraceae* 1.

Çalışma alanı ve yakın çevresinde yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında (Tablo 1), oransal olarak bakıldığında *Tricholomataceae*, *Agaricaceae*, *Polyporaceae* ve *Russulaceae* familyalarına ait türlerin yoğunluğunu görmekteyiz. Çalışma alanında *Ascomycota* bölümüne ait tür sayısının diğer çalışmalara göre az sayıda olduğu, *Boletaceae* ve *Amanitaceae* familyalarına ait türlerin karışık ormanların varlığından dolayı sayıca fazlalığı görülmektedir.

Yapılan çalışma ile bölgede belirlenen yenen türler: *Helvella spadicea*, *Agaricus bitorquis*, *A. macrocarpus*, *Bovista plumbea*, *Coprinus comatus*, *Macrolepiota excoriata*, *M. procera*, *Pleurotus ostreatus*, *Volvopluteus gloiocephalus*, *Coprinellus micaceus*, *Lepista nuda*, *Leccinellum crocipodium*, *Chroogomphus rutilus*, *Rhizopogon roseolus*, *Lactarius deliciosus* ve *Russula ochroleuca*'dır.

Sonuç olarak bakıldığında, bölgede tespit edilen yenen türler, toplam türlerin % 23.5 ini, zehirli türler % 20.6 sını oluşturmaktadır. Belirlenen bu türler ile halkın yenen ve zehirli türler hakkında bilinçlendirilmesi sağlanmıştır. Yapılacak benzer çalışmalar ile hem halkın sağlıklı bir besin kaynağı olan mantarlara ilgisi, hem de bilgisinin artırılacağı kanaatindeyiz.



Tablo 1. Çalışma alanı ve çalışma alanına yakın çalışmaların familyalara göre dağılımı

	Servi ve Ark. (2010)	Akata ve Ark. (2010)	Kaşık ve Ark. (2010)	Akata ve Ark. (2009)	Köstekçi ve Ark. (2005)	Çalışma alanı
<i>Helotiaceae</i>	1	4	1	1	-	-
<i>Helvellaceae</i>	-	-	2	1	4	1
<i>Humariaceae</i>	-	-	-	-	1	-
<i>Hyaloscyphaceae</i>	-	1	-	1	-	-
<i>Morchellaceae</i>	-	1	5	1	-	-
<i>Pezizaceae</i>	-	2	1	1	1	1
<i>Caloscyphaceae</i>	1	1	1	-	-	-
<i>Discinaceae</i>	1	2	-	-	-	-
<i>Pyronemataceae</i>	1	4	2	1	-	-
<i>Diatrypaceae</i>	-	2	-	-	1	-
<i>Xylariaceae</i>	1	2	-	1	-	-
<i>Agaricaceae</i>	16	23	8	16	13	6
<i>Albatrallaceae</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Amanitaceae</i>	3	7	-	4	2	4
<i>Hygrophoraceae</i>	3	5	2	2	6	-
<i>Cortinariaceae</i>	-	6	4	-	-	3
<i>Inocybaceae</i>	3	8	8	1	-	2
<i>Marasmiaceae</i>	4	3	-	1	-	-
<i>Entolomataceae</i>	-	1	-	-	1	-
<i>Hydnangiaceae</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Lyophyllaceae</i>	-	2	-	-	-	-
<i>Marasmiaceae</i>	-	3	1	-	2	-
<i>Mycenaceae</i>	4	9	8	3	2	-
<i>Physalacriaceae</i>	4	4	4	1	-	-
<i>Pleurotaceae</i>	1	1	1	1	-	1
<i>Pluteaceae</i>	1	1	-	-	-	1
<i>Psathyrellaceae</i>	2	9	4	7	-	3
<i>Schizophyllaceae</i>	1	1	1	-	1	1
<i>Strophariaceae</i>	4	16	10	4	3	3
<i>Tricholomataceae</i>	11	22	16	11	9	7
<i>Auriculariaceae</i>	-	5	-	-	-	-
<i>Boletaceae</i>	-	4	1	7	2	6
<i>Diplocystidiaceae</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Hygrophoropsidaceae</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Hymenogastraceae</i>	-	-	-	-	-	2
<i>Omphalotaceae</i>	-	-	-	-	-	2
<i>Gomphidiaceae</i>	2	-	2	1	1	1
<i>Paxillaceae</i>	1	-	-	1	1	-
<i>Rhizopogonaceae</i>	1	1	1	-	2	1
<i>Suillaceae</i>	1	3	1	2	3	1
<i>Tapinellaceae</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Cantharallaceae</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Clavulinaceae</i>	-	1	-	1	-	-
<i>Hydnaceae</i>	-	1	-	-	1	-
<i>Dacrymycetaceae</i>	3	3	1	1	-	-
<i>Geastraceae</i>	2	2	5	1	-	1
<i>Gloeophyllaceae</i>	1	1	1	1	-	-
<i>Clavariadelphaceae</i>	1	1	-	-	2	-
<i>Gomphaceae</i>	1	2	2	1	2	-
<i>Schizoporaceae</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Phallaceae</i>	-	2	-	-	-	-
<i>Hymenochaetaceae</i>	2	2	3	-	1	3
<i>Fomitopsidaceae</i>	5	5	-	1	-	1
<i>Ganodermataceae</i>	3	4	1	2	-	-
<i>Meruliaceae</i>	-	1	-	1	-	1



Tablo 2. Bölgede tespit edilen zehirli türler ve neden oldukları sendromlar(Bresinsky ve Besl,1990)

Türler	Sendrom
<i>Sarcosphaera coronaria</i>	Gyromitra
<i>Amanita citrina</i>	Phalloides
<i>Amanita gemmata</i>	Pantherina
<i>Amanita pantherina</i>	Pantherina
<i>Cortinarius rubellus</i>	Orellanus
<i>Russula emetica</i>	Gastrointestinal
<i>Russula nigricans</i>	Gastrointestinal
<i>Hebeloma sinapizans</i>	Gastrointestinal
<i>Omphalotus illudens</i>	Gastrointestinal
<i>Boletus erythropus</i> (Çiğ yendiğinde)	Gastrointestinal
<i>Boletus luridus</i> (Çiğ yendiğinde)	Gastrointestinal
<i>Clitocybe dealbata</i>	Muskarin
<i>Inocybe mixtilis</i>	Muskarin
<i>Inocybe rimosa</i>	Muskarin

Kaynaklar

- Akata I., Çetin B., Işıloğlu M., *Macrofungi of Ankara-Kızılcahamam Soğuksu National Park*, Ot Sistematik Botanik Dergisi, 16:2, 177-188 (2009)
- Akata I., Çetin B., Işıloğlu M., *Macrofungal Diversity of Ilgaz Mountain National Park and Its Environs (Turkey)*, Mycotaxon, 113:287-290 (2010).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland*, Volume 1-5. Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland (1983-2005).
- Bresinsky A., Besl H., *A Colour Atlas of Poisonous Fungi*, Wolfe Publishing Ltd., London (1990).
- Dähncke R.M., *1200 Pilze*, AT Verlag Aarau, Stuttgart (1993).
- Doğan H.H., Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., *A Checklist of Aphyllorphorales of Turkey*, Pakistan J. Bot., 37(2): 459-485 (2007).
- Ellis M.B., Ellis J.P., *Fungi Without Gills (Hymenomycetes and Gasteromycetes)*, Chapman and Hill, London (1990).
- Jordan K., *The New Guide to Mushrooms*, Anness Publishing Ltd., Singapore (1996).
- Kaşık G., Aktaş S., Öztürk C., Doğan H.H., *Macrofungi Distribution of Gevne Valley*, Mantar Dergisi/The Journal of Fungus, 1(2):25-32 (2010).
- Köstekçi H., Yamaç M., Solak M.H., *Macrofungi of Türkmenbaba Mountain (Eskişehir)*, Turk J. Bot., 29:409-416 (2005).
- Kreisel H., *Grundzüge Eines Natürlichen Systems der Pilze*, Verlag Von J. Cramer, Stuttgart (1969).
- Moser M., *Keys to Agarics and Boleti*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1983).
- Phillips R., *Mushrooms and Other Fungi of Great Britain and Europe*, Pan Books Ltd., London (1981).
- Servi H., Akata I., Çetin B., *Macrofungal Diversity of Bolu Abant Nature Park (Turkey)*, African Journal of Biotechnology, 9(24):3622-3628 (2010).
- Sesli, E., Denchev, C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*. 6th edn. Mycotaxon Checklists Online (2014). (<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>): 1–136.
- Watling R., *Identification of The Larger Fungi*, Hulton Educational Publications Ltd (1973).
- Winkler R., *2000 Pilze Einfach Bestimmen*, ATV. Aarau, Schweiz (1996).



Detection of Fungi in Cooling Tower Samples Using Fluorescent In Situ Hybridization and Traditional Culture-Dependent Methods

Duygu GÖKSAY KADAIFÇİLER*, Zühal ZEYBEK

Istanbul University, Faculty of Science, Department of Biology, Fatih / Istanbul, Turkey

Abstract: The determination of the presence of *Eurotiales* members, which are widely distributed in nature and in man-made aquatic systems, is important for taking measures against those capable of creating opportunistic infections and allergies. In this study, the presence of fungi in cooling-tower samples was determined by using two different methods, one being fluorescent in situ hybridization (FISH), the second culturing; both sets of results were compared with each other. For this purpose, a total of 40 water and biofilm samples were taken from different cooling towers in Istanbul for investigation. In the culture method, all samples were applied to the isolation medium after pretreatment. The results of the applications were evaluated after 14 days. With the FISH method, all samples were fixed and hybridized by using suitable probes and were investigated under an epifluorescent microscope. Results were obtained after a short period of three days. The FISH method was able to detect 100% of fungi in all samples, whereas the culture method was able to detect 97.5% of the fungi in the samples. With culture method, the most isolated fungi were from the *Aspergillus* and *Penicillium* genera. As a result of the study, both methods are recommended to be used in conjunction.

Key words: *Aspergillus*, culture-independent method, *Eurotiales*, fluorescent in situ hybridization

Floresanlı Yerde Hibritleme ve Geleneksel Kültür Yöntemlerini Kullanılarak Soğutma Kulesi Örneklerinde Fungusların Tespiti

Öz: Doğada ve insan yapımı su sistemlerinde yaygın olarak bulunan *Eurotiales* üyesi fungusların varlığının tespiti, fırsatçı enfeksiyon ve alerjilere yol açabilen bu funguslara karşı alınabilecek önlemler açısından önemlidir. Bu çalışmada soğutma kulesi örneklerindeki fungusların varlığı, hem floresanlı yerde hibritleme (FISH) hem de kültür yöntemiyle araştırılmış, her iki yöntemin sonuçları karşılaştırılmıştır. Bu amaçla İstanbul'daki farklı soğutma kulelerine ait toplam 40 adet su ve biyofilm örnekleri alınarak incelenmiştir. Kültür yönteminde tüm örnekler, ön işlemlerden sonra izolasyon besiyerine ekilmiştir. Ekimlerin sonuçları 14 gün sonunda değerlendirilmiştir. FISH yönteminde ise; tüm örnekler fikse edilip uygun probalar kullanılarak hibridizasyonu yapıldıktan sonra epifloresan mikroskopta incelenmiştir. FISH yöntemi ile 3 gün gibi kısa bir sürede sonuç elde edilmiştir. Ayrıca bu yöntem ile incelenen örneklerin tamamında, kültür yönteminde ise incelenen örneklerin %97.5'in de fungus tespit edilmiştir. Kültür yöntemi ile en çok izole edilen fungusların *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsine ait oldukları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda her iki yöntemin beraber kullanılması önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: *Aspergillus*, kültür bağımsız yöntem, *Eurotiales*, floresanlı yerde hibritleme

* corresponding author: dgoksay@istanbul.edu.tr



Introduction

Fungi, which are usually saprophytes, break up the organic substances they grow on and turn them into inorganic materials, readying them for consumption by other organisms. Therefore, they play an important role in organic pollutant removal and mud refining. In contrast, as microbial polluting sources of aquatic systems, fungi may also pose a health risk for eukaryotic organisms (humans, plants, and animals). Apart from plant pathogens, numerous respiratory opportunistic pathogenic fungi belong to the phylum Ascomycota, of which *Aspergillus* and *Penicillium* are the dominant genera of the order Eurotiales (Öner, 1998; Guarro et al., 1999). In fact, the microfungi most commonly obtained in soil and water studies in Turkey belong to the genus *Aspergillus* (Asan & Ekmekçi, 2002; Asan et al., 2003; Asan et al., 2004; Yazıcıoğlu et al., 2004; Rasime et al. 2005; İlhan et al. 2006; Göksay Kadaifciler & Demirel, 2017). This genus, which is widely found around the world, exhibits high reproduction rates and capacities. Its atmospherically dispersed conidia are suspended in the air and can be transported anywhere with dust and other particles (Kantarcioglu & Yücel, 2003). The infections and/or disease caused by *Aspergillus* spp. are mainly linked to the lungs. Due to the inhalation of *Aspergillus* spores, bronchial asthma can occur in people who are allergic to the antigens of this fungus. In addition, this genus' members may become invasive, and they can migrate to the subcutaneous tissue, the central nervous system, the lungs, and the endocardium in immunocompromised persons (Szymanska 2005). Cooling towers represent a favorable environment for microbial growth because of the presence of water, nutrients, various temperatures, and pH ranges, and microorganisms can be easily dispersed by aerosols formed by the system (Choudhary, 1998). In cooling tower samples, fast detection and identification of fungi, which can cause potentially allergenic and toxicogenic reactions, is of great importance.

Fluorescent in situ hybridization (FISH) is a technique that enables the monitoring of three-dimensional distributions of target molecules in

the cell using epifluorescent or confocal laser microscopy due to the hybridization of nucleic acids with specific sequences in the cell; this can be done using fluorescence-stained oligonucleotides (probes) without damaging microorganisms' cells. In contrast to the classical culture method, using FISH, it is possible to detect microorganisms in their environment and assess their physiological activities, morphology, and position with respect to each other; it is also possible to determine their numbers by means of FISH. In addition, the method is helpful for the detection of microorganisms with unknown specific culture conditions (Amann et al., 1995; Amann et al., 2001). For this reason, taking into consideration the approaches' advantages and disadvantages, this study aims to use FISH (a culture-independent method) and the traditional culture-dependent method to investigate members of Eurotiales, especially *Aspergillus*, in cooling tower samples.

Materials and Methods

A total of 20 water and 20 biofilm samples were collected from 20 cooling towers associated with 13 buildings in the city of Istanbul, Turkey.

The Culture-Dependent Method

Water samples were concentrated by filtration through nitrocellulose filters with a pore size of 0.45 µm. Sabouraud dextrose agar (SDA) plates containing the antibiotic and Rose Bengal stain were used for isolation of fungi (Arvanitidou et al., 1999; Asan et al. 2003). Filters were placed on the SDA plates, and biofilm samples were scraped from the tower inside surfaces (10 cm²) using a sterile cotton swab and suspended in 20 mL of sterile tap water (Gagnon & Slawson, 1999). Biofilm samples were serially diluted, and diluted 1-mL samples were spread plated onto SDA plates. All SDA plates were incubated at 25°C for 30 days. After incubation, the fungal colonies and fungal colony mean were calculated. Following this, the colonies were subcultured on malt extract agar slants and stored at +4°C.



Fungal isolates were inoculated onto malt extract agar and potato dextrose agar for morphological identification. Plates were incubated for 7–14 days at 25°C. At the end of the incubation period, the colonies' macroscopic and microscopic characteristics were examined using a stereomicroscope and light microscope, respectively. Following generally accepted standards, lactophenol cotton blue was used as the mounting medium to identify the genus levels (Barnett & Hunter, 1999; Ellis, 1971; Sime & Abbott, 2002).

Fluorescent in Situ Hybridization (Culture-Independent Method)

Water samples were concentrated by filtration through nylon filters with a pore size of 0.22 µm; the filters were then suspended in 10 mL of sterile tap water. After homogenate preparation, sample–50% ethanol mixes (1:1, v/v) were stored at –20°C and fixed within 2 days. Biofilm samples were scraped from tower inside surfaces (10 cm²) using a sterile cotton swab and suspended in 10 mL of sterile tap water. After they were homogenized, samples were stored as mentioned above. The fixation of both water and biofilm samples was carried out with 4% paraformaldehyde (PFA) overnight at 4°C (Gagnon & Slawson, 1999; Kasapgil İnce et al., 2006). The hybridization method was modified based on Kasapgil İnce et al.'s (2006) study. After the fixation, PFA was centrifuged three times with 1× phosphate-buffered saline for cleaning, and the washing was performed at 5000 g. At the end of the washing step, the 10-µl fixed samples were placed in wells on covered polytetrafluoroethylene microscopic slides and allowed to dry. Drying slides were sequentially passed through 50%, 80%, and 96% alcohol series for 3 min at 48°C. A 1-µl probe (50 ng/µl) and hybridization buffer (10 µl) containing 0.9 M NaCl, 20 mM Tris/HCl, 0.01% (w/v) sodium dodecyl sulfate, and 30% v/v formamide were added to the slide wells in the moist hybridization

chamber and left overnight at 48°C for hybridization in the dark; following this, 2 µl of DNA binding dye–6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) was added to the wells and incubated for 30 min in the dark. At the end of this time, the slides were washed using wash buffer containing 160 mM NaCl, 20 mM Tris/HCl, 5 mM Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), and 0.01% (w/v) sodium dodecyl sulfate for 15 min at 48°C before a final 10-min wash with bidistilled water at 4°C. Following this, 5 µl of Citifluor antifadent agent was added to the dried slides to prevent rapid fading of the dyes. The dried slides were examined under a Nikon Eclipse 80i epifluorescent microscope and photographed. All samples were analyzed in duplicate.

Aspergillus fumigatus ATCC 10894 was used for the positive control fungus, and preliminary experiments were also carried out with this fungus. One well containing the EUK516 probe was used for positive control for eukaryotes. One well containing no probes and hybridization buffer without microorganisms and one well containing the NON338 probe were used for negative controls (Table 1).

Results

According to the culture method results, fungi were detected in 39 of 40 (97.5%) examined water and biofilm samples. In only one biofilm sample could no fungi be identified. The minimum and maximum values of the fungal colony counts were 4 and 1200 colonies/100 mL in water samples and 0.1 and 40 colonies/cm² in biofilm samples, respectively (Table 2). The most frequently identified fungi were *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Cladosporium* (Figure 1). *Aspergillus* spp. were isolated from all cooling towers.

According to the FISH method results, fungi were detected in all water and biofilm samples (total 40 samples). The fungal probes' signal results are given in Table 2.



Table 1. General characteristics of rRNA-targeted oligonucleotide probes and fluorescent dyes

Probe name	Probe sequencing 5'-3'	Target group/specificity	Dye/color	Usage
EUK516	5'-ACC AGA CTT GCC CTC C-3'	18S rRNA/ <i>Eukaryotes</i>	5'-CY3 (red)	Positive control
EUROT1108	5'-TTT AAG GGC CGA GGT CTC-3'	18S rRNA/ <i>Eurotiales</i>	5'-FAM (green)	<i>Eurotiales</i>
NON338	5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC-3'	No sense/No target	5'-FAM (green)	Negative control
DAPI	-	DNA binding dye (All DNA)	Blue	to determine the number of nuclei and to assess gross cell morphology

Table 2. Results of culture-dependent and fluorescent in situ hybridization methods

(Colony/100mL: colony per 100 mL; Colony/cm²: colony per square centimeter; +: fungal probes' signal detected)

Culture method				Fluorescent in situ hybridization method			
Water samples (Code)	Colony/100mL	Biofilm samples (Code)	Colony/cm ²	Water samples (Code)	Signal results	Biofilm samples (Code)	Signal results
W1	15	B1	1	W1	+	B1	+
W2	400	B2	1	W2	+	B2	+
W3	550	B3	2.3	W3	+	B3	+
W4	120	B4	40	W4	+	B4	+
W5	333	B5	0	W5	+	B5	+
W6	11	B6	0.2	W6	+	B6	+
W7	17	B7	0.1	W7	+	B7	+
W8	11	B8	1	W8	+	B8	+
W9	9	B9	0.1	W9	+	B9	+
W10	4	B10	0.6	W10	+	B10	+
W11	6	B11	0.1	W11	+	B11	+
W12	12	B12	0.1	W12	+	B12	+
W13	7	B13	0.2	W13	+	B13	+
W14	110	B14	6.4	W14	+	B14	+
W15	1200	B15	0.1	W15	+	B15	+
W16	15	B16	0.9	W16	+	B16	+
W17	30	B17	2.2	W17	+	B17	+
W18	10	B18	0.6	W18	+	B18	+
W19	13	B19	0.1	W19	+	B19	+
W20	14	B20	0.2	W20	+	B20	+



As Fig. 2 shows, fungal spores determined with the EUROT1108 probe labeled with 5'-FAM were green, while EUK516 labeled with 5'-CY3

yielded a red color and DAPI yielded blue. The morphological structures of *Aspergillus* are shown in Figure 3.

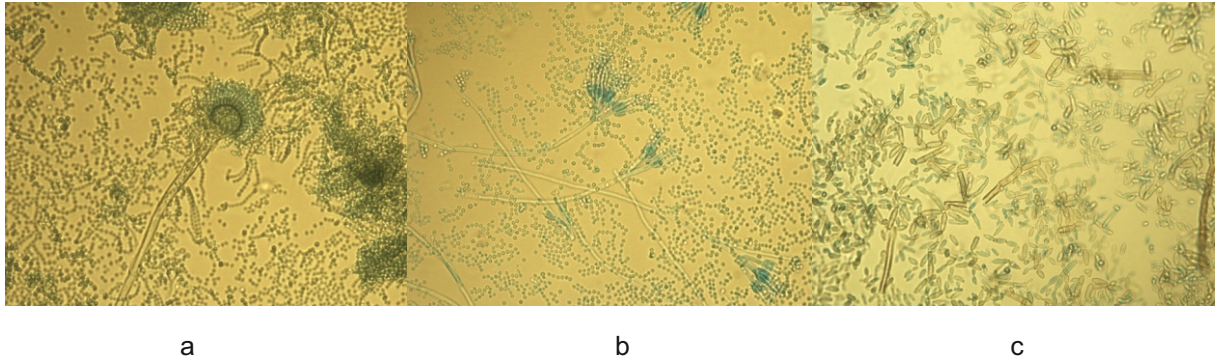


Figure 1. Morphologically identified fungus: (a) *Aspergillus*, (b) *Penicillium*, and (c) *Cladosporium* (x 500 magnification)

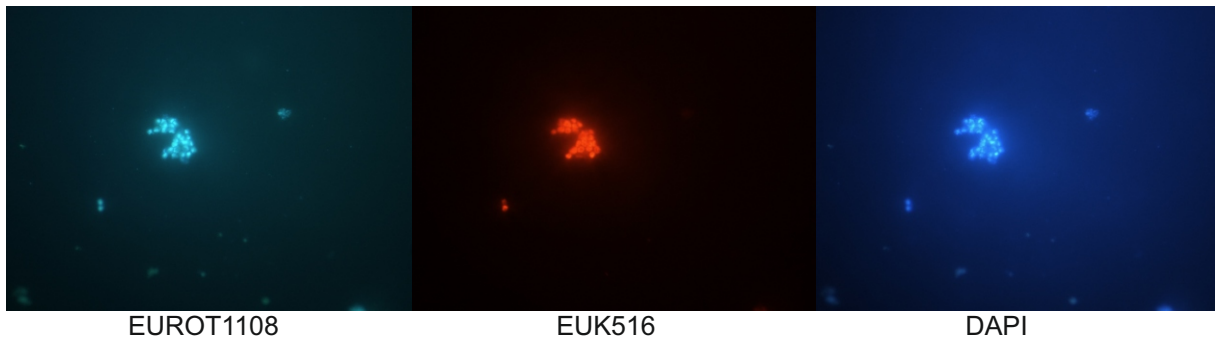


Figure 2. Fluorescent-labeled fungal spores (x 500 magnification)

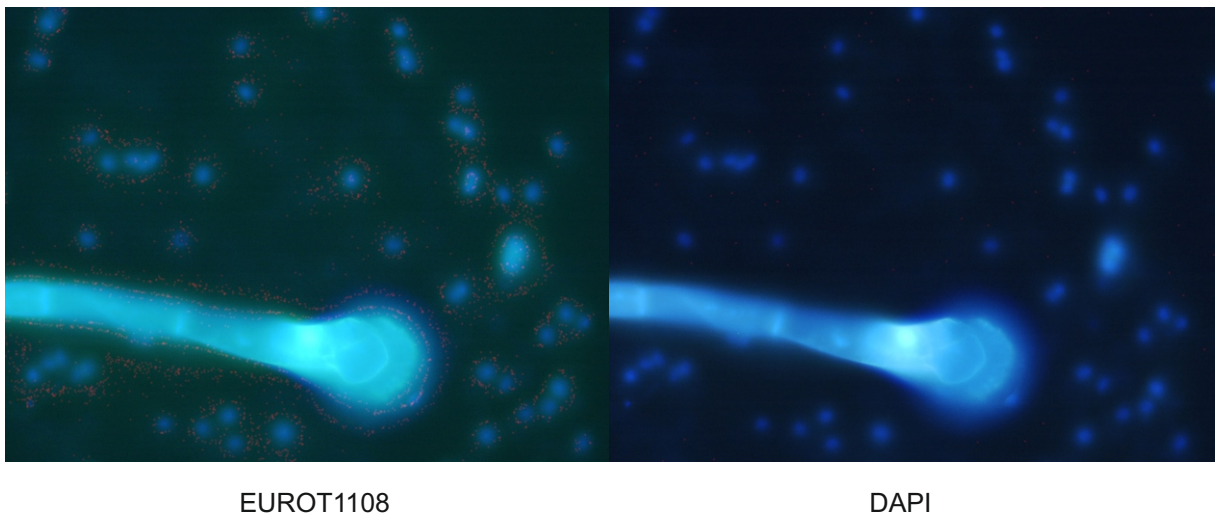


Figure 3. The structures of *Aspergillus* (x 500 magnification)



Discussion

Cooling towers are suitable environments for many microorganisms and fungi to grow. However, the proliferation of these microorganisms may have unfavorable effects in terms of both clogging the systems and causing respiratory infections in humans due to the inhaling of aerosols. Therefore, it is important to determine the amounts of fungi in both water and biofilm samples of cooling towers. In this study, the comparison between the culture and FISH methods showed that the results were in accordance in terms of monitoring the presence of fungi in cooling towers. The advantage of the culture method is that it is possible to count the colonies, isolates can be obtained, and these isolates can be used in forthcoming studies. However, this technique takes a long time and requires great expertise, especially for species-level diagnostics. Moreover, this culture method is insufficient if the microorganisms are in viable but nonculturable (VBNC) form. At present, there are publications available on aquatic fungi, and especially zoospore fungi, that cannot be cultured in freshwater media, and the importance of establishing a method in which these fungi can be cultured has been stressed (Baschien et al., 2008; Jobard et al., 2010). In the present study, fungi could be detected in all samples from cooling towers using the FISH method, whereas the culture method only allowed fungi to be detected in 97.5% of the examined samples. The probable reason for this is that the fungi in the biofilm sample were in the VBNC phase. The application of FISH can overcome this disadvantage. There is a need for further work to support these results.

Numerous studies have been performed in ecology, food science, agriculture, and human and veterinary medicine using the FISH method. Studies concerning fungi (e.g., *Candida*, *Paracoccidioides*, and *Aureobasidium pullulans*) have focused on medical and vegetable

pathogenesis (Lischewsk et al., 1996; Li et al., 1997; Spear et al., 1999; Moter & Göbel, 2000; Domingos Arantes et al., 2017). In fact, FISH is a novel technique in the determination of fungi, and it was first used in an environmental study with acidic mining drainages (Baker et al., 2004). This is the first study to detect fungi in cooling towers in Turkey using this method.

The most important advantage of FISH is that the presence of fungi can be determined in a much shorter amount of time than it can in the culture method. The faster the identification of pathogenic or opportunistic pathogenic fungi is, the easier it will be to determine the risk and mitigate it through appropriate measures (Moter & Göbel, 2000; Amann et al., 2001). This will allow a disinfection process to be initiated in a cooling tower at risk of developing colonies of fungi. As a solution, suitable antifungals can be applied for the disinfection of cooling tower systems. Despite the advantages mentioned above, identification of mold is usually performed at the family and/or order level in the FISH method. This approach can be used to analyze microbial communities and detect the phylogenetic relationships among microorganisms. In our study, the EUROT1108 probe was used because of its specificity for Eurotiales. At present, species-specific probes exist for only the most recognized pathogenic yeasts. Development of molecular-based studies, such as fungal genome sequencing studies, will make it possible to produce probes that can identify fungi at the species level. Such advancements could be especially helpful in microbial ecology and biodiversity studies (Moter & Göbel, 2000). In the present study, there are no quantitative results that can be compared with the culture method results. This is because the colonies formed from these fungi may arise from multiple spores or micelles, preventing accurate counting.



In addition, probes may fade rapidly during investigation, meaning that no signals would be produced. For this purpose, it is recommended that investigation and sampling be carried out rapidly when multiple samples are present. Moreover, as shown in Figure 1, a portion of spores measured with EUK516 lost their luminescence during photographing.

Because of the negative effect of opportunistic fungal pathogens on public health, more studies using culture and culture-independent techniques are needed to further

the understanding of the distribution of these microorganisms in aquatic systems, and applying solutions like disinfection. In light of the information presented here, FISH could be used to complement the culture method and thus obtain more comprehensive information.

Acknowledgements

This work was supported by the “Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University” (project number 2435).

References

- Amann, R.I., Fuchs, B., Behrens, S., *The Identification of Microorganisms by Fluorescence In Situ Hybridisation*, Current opinion in Biotechnology, 12(3): 231–236 (2001).
- Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.H., *Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation*. Microbiological Reviews. 59: 143-169 (1995).
- Arvanitidou, M., Kanellou, K., Constantinides, T.C., Katsouyannopoulos, V., *The Occurrence of Fungi in Hospital and Community Potable Waters*, Letters in Applied Microbiology, 29: 81-84 (1999).
- Asan, A., Ekmekçi, S., *Contribution to the Colonial and Morphological Characteristics of Some Aspergillus Species Isolated from Soil*, Ege University Journal of The Faculty of Science, 25(1): 121-139 (2002).
- Asan, A., Kırgız, T., Şen, B., Çamur-Elipek, B., Güner, U., Güher, H. :Isolation, Identification and seasonal distribution of airborne and waterborne fungi in Terkos lake (İstanbul-Turkey), Journal of Basic Microbiology, 43(2): 83-95 (2003).
- Asan, A., İlhan, S., Şen, B., Potoğlu Erkara, İ., Filik, C., Çabuk, A., Demirel, R., Türe, M., Sarıca Ökten, S., Tokur, S.,: *Airborne Fungi and Actinomycetes Concentrations in the Air of Eskişehir City (Turkey)*, Indoor and Built Environment, 13: 63-74 (2004).
- Baker, B.J., Lutz, M.A., Dawson, S.C., Bond, P.L., Banfield, J.F., *Metabolically Active Eukaryotic Communities in Extremely Acidic Mine Drainage*, 70(10): 6264-6271 (2004).
- Baschien, C., Manz, W., Neu, T.R., Marvanova, L., Szewzyk, U., *In Situ Detection of Freshwater Fungi in an Alpine Stream by New Taxon-Specific Fluorescence In Situ Hybridization Probes*, Applied and Cooling tower Microbiology, 74(20): 6427-6436 (2008).
- Choudhary, S.G., *Emerging Microbial Control Issues in Cooling Water Systems*. Hydrocarbon Processing, 77(5): 91-102 (1998).
- Demirel, R., İlhan, S., Asan, A., Kinacı, E., Oner, S., *Microfungi in Cultivated Fields in Eskişehir Province (Turkey)*, Journal of Basic Microbiology, 45(4): 279-293 (2005).
- Domingos Arantes, T., Cordeiro Theodoro R., de Melo Teixeira, M., Bagagli, E., *Use of Fluorescent Oligonucleotide Probes for Differentiation between Paracoccidioides brasiliensis and Paracoccidioides lutzii in Yeast and Mycelial Phase*, The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 112(2): 140-145 (2017).



- Ellis, M.B., *Dematiaceous Hyphomycetes*, The Eastern Press, London, UK, (1971).
- Gagnon, G.A., Slawson, R.M., *An Efficient Biofilm Removal Method for Bacterial Cells Exposed to Drinking Water*, Journal of Microbiological Methods, 34(3): 203- 214 (1999).
- Göksay Kadaifciler, D., Demirel, R., *Fungal Biodiversity and Mycotoxigenic Fungi in Cooling-Tower Water Systems in Istanbul, Turkey*, DOI: 10.2166/wh.2017.274 (2017).
- Guarro, J., Gene, J., Stchigel, A., *Developments in Fungal Taxonomy*, Clinical Microbiology Reviews, 12(3): 454-500 (1999).
- H.L. Barnett, B.B. Hunter, *Illustrated genera of imperfect fungi*, APS Press, St. Paul-Minnesota, USA, 1999.
- Ilhan, S., Demirel, R., Asan, A., Bayçu, G., Kınacı, E., *Colonial and Morphological Characteristics of Some Microfungal Species Isolated from Agricultural Soils in Eskişehir Province (Turkey)*, 30: 95-104 (2006).
- Jobard, M., Rasconi, S., Sime-Ngando, T., *Fluorescence in Situ Hybridization of Uncultured Zoosporic Fungi: Testing with Clone-FISH and Application to Freshwater Samples using CARD-FISH*, Journal of Microbiological Methods, 83: 236-243 (2010).
- Kantarcıoğlu, A. S., Yücel, A., *Aspergillus Cinsi Mantarlar ve İnvaziv Aspergilloz: Mikoloji, Patogenez, Laboratuvar Tanımı, Antifungal Direnç ve Duyarlılık Deneyleri*, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 34(3): 140-145 (2003).
- Kasapgil İnce, B., Usenti, I., Eyigor, A., Ayman Oz, N., Kolukirik, M., Ince, O., *Analysis of Methanogenic Archaeal and Sulphate Reducing Bacterial Populations in Deep Sediments of the Black Sea*, Geomicrobiology Journal, 23: 285–292 (2006).
- Klich, M.A., *Identification of common Aspergillus species*, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands, (2002).
- Li, S., Spear, R.N., Andrews, J.H., *Quantitative Fluorescence in Situ Hybridization of Aureobasidium pullulans on Microscope Slides and Leaf Surfaces*, Applied and Cooling tower Microbiology, 63(8): 3261-3267 (1997).
- Lischewsk, A., Amann, R.I., Harmsen, D., Merkert, H., Hacker, J., Morschhauser, J., *Specific Detection of Candida albicans and Candida tropicalis by Fluorescent In Situ Hybridization with an 18S rRNA-Targeted Oligonucleotide Probe*, Microbiology, 142: 2731-2740 (1996).
- Moter, A., Göbel, U.B., *Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) for Direct Visualization of Microorganisms*, Journal of Microbiological Methods, 41: 85-112 (2000).
- Öner, M., *Mikoloji I, Myxomycetes, Phycomycetes, Ascomycetes*, 4. Baskı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi no 53. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir. (1998).
- Sime, A.D., Abbott, L.L., Abbott, S.P., *Mounting Medium for Use in Indoor Air Quality Spore-Trap Analyses*, Mycologia., 94: 1087-1088 (2002).
- Spear, R.N., Li, S., Nordheim, E.V., Andrews, J.H., *Quantitative Imaging and Statistical Analysis of Fluorescence Hybridization (FISH) of Aureobasidium pullulans*, Journal of Microbiological Methods 35: 101-110 (1999).
- Szymanska, J., *Evaluation of Mycological Contamination of Dental Unit Waterlines*, Annals of Agricultural and Cooling tower Medicine, 12:153-155 (2005).
- Yazıcıoğlu, M., Asan, A., Ones, U., Vatansver, U., Şen, B., Ture, M., Bostancıoğlu, M., Pala, O.: *Indoor Airborne Fungal Spores and Home Characteristics in Asthmatic Children from Edirne Region of Turkey*, Allergologia et Immunopathologia, 32(4): 197-203 (2004).



MANTAR DERGİSİ

TELİF HAKKI DEVRİ

Selçuk Üniv. Mantarcılık Uygulama
Ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü
42031, Kampüs, KONYA
mantarcilik@gmail.com

Dergi Adı: *MANTAR DERGİSİ* (The Journal of Fungus) e-ISSN 2147-6845

Makalenin Adı :

SORUMLU YAZARIN;

Adı ve Adresi :

Telefon Numaraları

İş : Cep : E-posta : Fax :

Yazar(lar):

- Sunulan makalenin yazar(lar)ın orijinal çalışması olduğunu,
- Tüm yazarların bu çalışmaya bireysel olarak katılmış olduklarını ve bu çalışma için her türlü sorumluluğu aldıklarını,
- Tüm yazarların sunulan makalenin son halini gördüklerini ve onayladıklarını,
- Makalenin başka bir yerde basılmadığını veya basılmak için sunulmadığını,
- Makalede bulunan metnin, şekillerin ve dokümanların diğer şahıslara ait olan Telif Haklarını ihlal etmediğini taahhüt ederler.

Buna rağmen yazarların veya varsa yazarların işvereninin;

- Patent hakları,
- Yazar(lar)ın gelecekte kitaplarında veya diğer çalışmalarında makalenin tümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı,
- Makaleyi satmamak koşuluyla kendi amaçları için çoğaltma hakkı gibi fikri mülkiyet hakları saklıdır. Bununla beraber yazar(lar) makaleyi çoğaltma, postayla veya elektronik yolla dağıtma hakkına sahiptir.

Makalenin herhangi bir bölümünün başka bir yayında kullanılmasına **S. Ü. MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜ** yayımcı kuruluş olarak belirtilmesi ve Bilimsel Dergiye atıfta bulunulması şartıyla izin verilir. Atıf yapılırken Dergi Adı, Makale Adı, Yazar(lar)ın Adı, Soyadı, Cilt No, Sayı No ve Yıl verilmelidir. Yayımlanan veya Yayına kabul edilmeyen makalelerle ilgili dökümanlar (fotoğraf, orijinal şekil v.b.) karar tarihinden başlamak üzere bir yıl süreyle **S. Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü** tarafından saklanır ve bu sürenin sonunda imha edilir. Ben/Biz, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslarla istenecek hak talebi veya açılacak davalarda **S. Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü** ve Bilimsel Dergi Editörleri'nin hiçbir sorumluluğunun olmadığını, tüm sorumluluğun yazarlara ait olduğunu taahhüt ederim/ederiz. Ayrıca Ben/Biz makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma yapılırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanmadığını taahhüt ederim/ederiz. Telif Hakkı Devri Formu tüm yazarlarca imzalanmalıdır. Değişik kuruluşlarda görev yapan yazarlar Telif Hakkı Devri Formu'nda Dergi Adı, Makale Adı ve Yazar Adları bölümleri doldurulmak şartıyla ayrı ayrı imzalayarak sunabilirler. Buna rağmen tüm imzalar orijinal olmalıdır.

İmza..... Tarih..... İsim.....	İmza..... Tarih..... İsim.....
İmza..... Tarih..... İsim.....	İmza..... Tarih..... İsim.....
İmza..... Tarih..... İsim.....	İmza..... Tarih..... İsim.....



YAYIN İLKELERİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MANTARCILIK UYGULAMA Ve ARAŞTIRMA MERKEZİ'nin yayınladığı **MANTAR DERGİSİ** (e-ISSN 2147 6845); Ulusal veya Uluslararası Mikoloji alanıyla ilgili araştırma sonuçlarını içeren orijinal araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı elektronik HAKEMLİ bir dergidir. Derginin İdari Yayın Kurulu Merkez Yönetim Kuruludur.

Dergiye yayınlanmak üzere sunulan makaleler, Baş Editör tarafından konusu açısından dergide yayınlanmasının uygunluğuna karar verildikten sonra, Editör Kurulu aracılığı ile ilgili uzmanlık alanındaki hakemlere bilimsel yönden değerlendirilmek üzere gönderilir. Baş Editör, Bilimsel Hakemlerin eleştirisi ve önerileri ile yazarın bunlara verdiği cevaplar doğrultusunda eserin yayınlanıp, yayınlanamayacağına karar verir. Yayınlanması uygun görülmeyen eserler hakkında yazarlara bilgi verilir. Yayınlanması uygun görülen eserler hakkında İdari Yayın Kurulu Kararı alındıktan sonra, matbaa provası yazarlara gönderilir ve son kontrol okuması yapılır. Son okumada imla ve şekilsel hatalar dışında düzeltme veya ekleme yapılmaz. Derginin yayın dili Türkçedir. İngilizce dilinde de yayın kabul edilebilir.

Web sitemizde bulunan Telif Hakkı Devri Formu tüm yazarlarca imzalanmalı iletişim adresine posta ile gönderilmelidir. Bu form tüm yazarlar tarafından imzalanmadığı takdirde makale işleme alınmaz. Tüm imzalar orijinal olmalıdır.

Yazar makalesi ile ilgili en az 5 uzman ismini iletişim bilgileriyle beraber(cep tlf, e-posta adresi) word dosyası olarak, Hakem Öneri Formunu doldurarak sisteme ek dosya olarak yüklemelidir.

Sisteme yüklenen makalelerin bir an önce işleme alınabilmesi için; Telif Hakkı Devri Formu renkli olarak taranmış şekilde sisteme ek dosya olarak yüklenmelidir. Yazarlar eserlerini göndermeden önce son kontrolü sistem üzerinden yapmak zorundadırlar.

MAKALE YAZIM KURALLARI

Telif Hakkı devri formu ile gönderilecek Makale, **A4 boyutunda**, kenarlarda **3 cm** boşluk bırakılacak şekilde, **1.5 aralıklı, arial** yazı karakterinde, **10 punto** kullanılarak Word 2003 veya daha üst sürümdeki programla yazılmalıdır. Makalenin word dosyasında otomatik numaralandırma kullanılmamalıdır. Makalenin bölümleri sırayla şöyle olmalıdır;

(Türkçe Makaleler için):

Türkçe Başlık, Yazarlar ve adresleri, Öz, Anahtar kelimeler, İngilizce Başlık, Abstract, Key words, Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma, Kaynaklar.

(İngilizce makaleler için):

İngilizce Başlık, yazarlar ve adresleri, Abstract ve Key words, Türkçe Başlık, Öz ve Anahtar kelimeler, Introduction, Material and Method, Results, Discussion, References.

Yazar gerekli görürse alt başlıklar kullanılabilir. Her bölüme ait başlıklar kalın ve ilk harfleri büyük yazılmalıdır. Metin içinde geçen tüm bilimsel isimler italik olmalı, eğer başlık içerisinde yer alıyorsa hem italik hem de kalın olmalıdır. Tür isimleri ilk geçtikleri yerde yazarlarıyla birlikte verilmelidir. Daha sonraki yerlerde sadece takson isimleri yazılmalıdır. Bölümler arasında bir satır boşluk bırakılmalıdır.

Başlık: Türkçe Makalelerde makalenin Türkçe başlığı 14 punto, İngilizce başlığı 12 punto sadece baş harfleri büyük ve kalın olmalıdır. Yazar isimlerinin baş harfi ve soyadı büyük olmalı, adresler ismin altına yazılmalı, sorumlu yazarın e-mail adresi mutlaka belirtilmelidir. Akademik unvanlar makalede yer almamalıdır.

Anahtar kelimeler: 4-10 kelimedenden oluşmalıdır.

Giriş: Araştırma konusu mümkün olduğu kadar güncel olarak kısa ve özülü değerlendirilir. Çalışmanın amacı da belirtilmelidir.

Kaynaklar: Kaynaklar metinde (soyadı, tarih) parantez içinde belirtilerek yazılmalıdır. Kaynaklar bölümü alfabetik sıraya göre 10 punto olarak yazılmalı ve yararlanılan eserlerin Yazar (yazarlarının) Adı ve soyadının ilk harfleri büyük olmalıdır. Kitap, makale ve bildiri isimlerinin ilk harfleri büyük, tümü italik yazılmalıdır. Lisansüstü tezler kaynak olarak gösterilemez.

Kaynak künyeleri aşağıdaki sıraya uygun olarak yazılmalıdır.

Periyodik ise aşağıdaki örneğe uygun olarak: Yazarın soyadı, adının baş harfi, makalenin başlığı, derginin adı, cilt, sayı ve sayfa numarası, yayın yılı (yıl parantez içinde). İki satır olduğunda ikinci satır asılı olacaktır.

Aktaş S., Kaşık G., Doğan H.H., Öztürk C., *Two New Taxa Records for the Macrofungi of Turkey*, Tr.J.of Botany, 30(4)209-212(2006).

Kitap ise aşağıdaki örneğe uygun olarak: Yazarın soyadı, adının baş harfi, kitabın adı, yayınevi, yayımlandığı şehir ve basım yılı (yıl parantez içinde). İki satır olduğunda ikinci satır asılı olacaktır.

Kaşık G., Öztürk C., Doğan H.H., Aktaş S., Demirel G., *Mikoloji Laboratuvarı*, Marifet Ofset Matbaa ve Kağıtçılık, Konya(2005).

Bilimsel Toplantı kitabı ise aşağıdaki örneğe uygun olarak: Yazarın soyadı, adının baş harfi, bildiri adı, bilimsel toplantının adı, yapıldığı tarih, kitapçığın basıldığı yayın evi, sayfa numarası, toplantının yapıldığı yer ve yıl (yıl parantez içinde). İki satır olduğunda ikinci satır asılı olacaktır.

Aktaş S., Öztürk C., Kaşık G., Doğan H.H., Demirel G., *Köprülü Kanyon Milli Parkında (Antalya) Belirlenen Makrofunguslar*, XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Nobel Yayın Dağıtım, s.12-13,Kuşadası-Aydın(2006).

Tablo ve şekiller: Tablo bulundurmayan bütün görüntüler (fotoğraf, çizim, grafikler, harita vb.) şekil olarak isimlendirilmelidir. Bütün şekil ve tablolar metin içinde ardışık olarak numaralandırılmalıdır. Tablo ve şekillerin boyutları 14-20 cm.' den büyük olmamalıdır. Şekiller mutlaka orijinal olmalıdır. Fotoğraflar en az 600dpi çözünürlükte olmalı veya taranmış olmalıdır. Şekiller mutlaka ana makeden ayrı olarak "jpeg" dosyası olarak gönderilmelidir. Şekillerde el yazısı kullanılmamalı, bilgisayar yazılımı olmalıdır. Şekil ismi şekillerin altına, tablo ismi tablonun üstüne yazılmalıdır. Tablo üstü ve şekil altı yazıları 10 punto olmalıdır.

Eserler " <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/mantar/>" adresinden online olarak gönderilir.

Belirtilmeyen konular bilimsel kurallara uygun olmalıdır.

İletişim Adresi:

S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü

Mantar Dergisi Editörlüğü

Fen Fakültesi Binası A Blok Zemin Kat

42079 Kampüs/KONYA E-posta: mantarcilik@gmail.com

Web Sayfası: <http://mantarcilik.selcuk.edu.tr/> / <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/mantar/>



Principles of Articles

THE JOURNAL OF FUNGUS(e-ISSN-2147-6845) is published by SELÇUK UNIVERSITY MYCOLOGICAL APPLICATION RESEARCH CENTER. The journal, which is a peer-reviewed journal, publishes original research and review articles. The journal includes national or international research of results with respect to the field of mycology.

Journal articles submitted for publication, after deciding for the eligibility in terms of issues to be published in the journal by the editors, articles will be sent to relevant expertise in the field of scientific referees for evaluation. Editorial Board decides whether it can be published or not in accordance with the referees decides and suggestions. Galley Proof of the articles which is accepted for the publication is sent to the authors then final inspection is done. The language of the journal is in Turkish and English.

Copyright Release Form on our website which must be signed by all authors and must be sent via post to the correspondence address. If this form is not signed by all authors, the article will not be processed. All signatures must be original.

To start the process of the Articles as soon as possible; Article and signed **Copyright Release Form** should be sent to mantarcilik@gmail.com address as attachments via e-mail.

Articles preparation Rules

The article which will be accompanied with the **Copyright Release Form**, must be 1.5 spaced in A4 size, 3 cm each margins, 10 font size and in Arial text character. Articles should be written in Word 2003 or higher. Sections of the article should be respectively like this:

For Article in Turkish

Turkish title, Name(s) of author(s) and their addresses, Turkish abstract, Turkish key words, English title, English abstract, Key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, References.

For Article in English

English title, Name(s) of author(s) and their addresses, English abstract, Key words, Turkish title, Turkish abstract, Turkish key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, References.

If necessary, authors may use sub-titles. The title of each section should be written in bold and the initial letters should be written big on title. All the scientific names should be italicized in the text, if it take part in the title should be both bold and italic. Genus and species names must first be supplied with the authors in their place. Then other place names should be used only species names. Should be a blank line between sections.

Title: Title of Turkish articles should be 14 points. English title should be 12 points. Initial letters and surname of the author's name must be greater. Address should be written under the name of the author. E-mail address of corresponding author must be given. Academic qualifications are not included in the article.

Key words: Should consist of 4-10 words.

Introduction: Research topic as much as possible should be short and concise. The aim of the study should also be indicated.

References: References in the text must be written in parentheses (name, date). References section should be written as 9 points in alphabetical order. Names of books, articles and announcements initial letters should be big and all of them should be italicized. Master's theses are not shown as a reference. Reference should be written according to the following order.

For Article: Author's surname, first name initial, article title, journal name, volume number and page number, year of publication (year in parentheses)

Aktaş S., Kaşık G., Doğan H.H., Öztürk C., *Two New Taxa Records for the Macrofungi of Turkey*, Tr.J.of Botany, 30 (4) 209-212 (2006).

For Books: Author's surname, first name initial, the title of the book, publisher, and year of publication of the book (years in parentheses)

Kaşık G., Öztürk C., Doğan H.H., Aktaş S., Demirel G., *Mikoloji Laboratuvarı*, Marifet Ofset Matbaa ve Kağıtçılık, Konya(2005).

For Congress Book: Author's surname, first name initial, the article name, the name of scientific meetings, the date, publishing house, page number, meeting place and year (year in parentheses)

Aktaş S., Öztürk C., Kaşık G., Doğan H.H., Demirel G., *Köprülü Kanyon Milli Parkında (Antalya) Belirlenen Makrofunguslar*, XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Nobel Yayın Dağıtım, s.12-13,Kuşadası-Aydın (2006).

Tables and figures: All images (photographs, drawings, graphs, maps, etc..) should be named as figure. All figures and tables should be numbered consecutively in the text. The sizes of tables and figures 14-20 cm should not be greater than. Figures must be original. Photos must be at least 600 dpi resolution or must be scanned. Handwritten forms should not be used on figures. Figure name should be written under figure and should be 9 points. Table name should be written on top of the table and should be 9 points.

Correspondence Address:

S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü

Mantar Dergisi Editörlüğü

Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 42079 Kampüs/KONYA

Faks: 0 332 2410549, E-posta: mantarcilik@gmail.com

Web Sayfası: <http://mantarcilik.selcuk.edu.tr>



İÇİNDEKİLER(CONTENTS)

e-ISSN 2147-6845

E-JOURNAL

SELÇUK UNIVERSITY MUSHROOM APPLICATION AND RESEARCH CENTER-KONYA-TURKEY

Issue:1

Volume 8

April 2017

THE JOURNAL OF FUNGUS

- Puccinia (Pucciniales) Species Determinated on Artemisia members in Turkey*1**
Türkiye'de Artemisia Üyeleri Üzerinde Belirlenen Puccinia (Pucciniales) Türleri
Şanlı KABAĞTEPE, Murat KÜRŞAT, İlğaz AKATA, Şemsettin CİVELEK
- Infundibulicybe alkaliviolascens (Tricholomataceae): Türkiye Mikotası için Yeni Bir Kayıt*.....6**
Infundibulicybe alkaliviolascens (Tricholomataceae): A New Record for the Turkish Mycota
Ertuğrul SESLİ, Ayşegül TOPCU SESLİ
- New additions to Turkish Hyaloscyphaceae*.....13**
Türkiye için Hyaloscyphaceae'ye Yeni İlaveler
Yasin UZUN, Abdullah KAYA, İbrahim Halil KARACAN, Semiha YAKAR
- Tarımda Mikorizal Fungusların Etkinliği*.....20**
Effectiveness of Mycorrhizal Fungi in Agriculture
Nurhan ÖZTÜRK, Esin BASIM, Hüseyin BASIM
- Çay Üretim Aşamalarından İzole Edilen Mayaların Tanımlanması*.....35**
Identification of Yeasts Isolated from Tea Processing Stages
Elif SEVİM, Ali SEVİM, Hacer TAŞKIRAN GENÇ, Şengül ALPAY KARAOĞLU
- Aydın İlinde Termofilik Çevreden İzole Edilen Mayaların Moleküler Tanısı*.....48**
Molecular Identification of Yeasts Isolated from Thermophilic Environment in Aydın Province
H. Halil BIYIK, Esin POYRAZOĞLU ÇOBAN, Yusuf GEROĞLU, İlğit KIRGIZ
- Nallıhan (Ankara) İlçesi Makrofungusları*.....60**
Macrofungi of Nallıhan (Ankara) District
Celâleddin ÖZTÜRK, Dilek PAMUKÇU, Sinan AKTAŞ
- Detection of Fungi in Cooling Tower Samples Using Fluorescent In Situ Hybridization and Traditional Culture-Dependent Methods*.....68**
Floresanlı Yerde Hibritleme ve Geleneksel Kültür Yöntemlerini Kullanılarak Soğutma Kulesi Örneklerinden Fungusların Tespiti
Duygu GÖKSAY KADAİFÇİLER, Zuhâl ZEYBEK



Nisan 2017

Cilt:8

Sayı:1

e-ISSN 2147-6845

E-DERGİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ-KONYA-TÜRKİYE