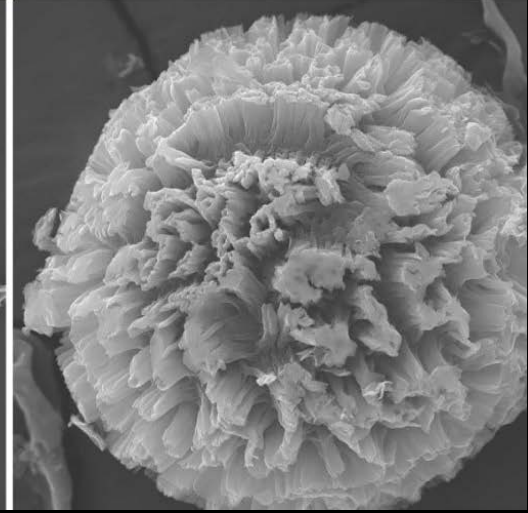
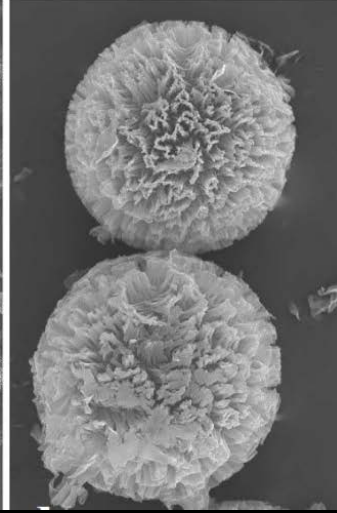
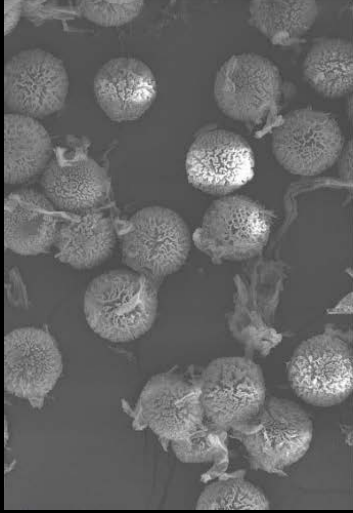


e-ISSN:2147-6845

E-JOURNAL

November 2021 Volume:12

Issue:2



Selçuk University Mushroom Application and
Research Center-KONYA-TURKEY

JOURNAL OF FUNGUS



Selçuk Üniversitesi
Mantarcılık
Uygulama ve Araştırma Merkezi
KONYA-TÜRKİYE



MANTAR DERGİSİ

E-DERGİ/ e-ISSN:2147-6845

Ekim 2021

Cilt:12

Sayı:2



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2021 / Cilt:12/ Sayı:2
November 2021 / Volume:12 / Issue:2

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜ

ADINA SAHİBİ

PROF.DR. GIYASETTİN KAŞIK

YAZI İŞLERİ MÜDÜRÜ

DR. ÖĞRT. ÜYESİ SİNAN ALKAN

Haberleşme/Correspondence

S.Ü.

Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü
Alaaddin Keykubat Yerleşkesi, Fen Fakültesi B Blok,
Zemin Kat-42079/Selçuklu-KONYA

Tel:(+90)0 332 2233998/ Fax: (+90)0 332 241 24 99

Web: <http://mantarcilik.selcuk.edu.tr>
<https://dergipark.org.tr/tr/pub/mantar>

E-Posta:mantarcilik@gmail.com

Yayın Tarihi/Publication Date

31/10/2021



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2021 / Cilt:12/ Sayı:2
November 2021 / Volume:12 / Issue:2

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 (Yüzüncü Yıl Üniv.-Van)
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. Cem ERGÜL (Uludağ Üniv.-Bursa)
Prof.Dr. Ertuğrul SESLİ (Trabzon Üniv.-Trabzon)
Prof.Dr. Faruk SELÇUK (Ahi Evran Üniv.-Kırşehir)
Prof.Dr. Fatih KALYONCU (Celal Bayar Üniv.-Manisa)
Prof.Dr. Giovanni PACIONI (Università Degli Studi Dell'Aquila- L'Aquila, İtalya)
Prof.Dr. Hacı Halil BIYIK(Adnan Menderes Üniv.-Aydın)
Prof.Dr. Hasan AKGÜL (Akdeniz Üniv.-Antalya)
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN (Selçuk Üniv.- Konya)
Prof.Dr. Kadir KINALIOĞLU(Giresun Üniv.-Giresun)
Prof.Dr. Macit İLKİT (Çukurova Üniv.-Adana)
Prof.Dr. Mehmet CANDAN(Anadolu Üniv. Eskişehir)
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. Vasyl P. HELUTA (M.G.Kholodny Botany Institute Mycology,Kiev, Ukraine)
Prof.Dr. Yusuf UZUN (Yüzüncü Yıl Üniv. Van)
Doç.Dr. Burhan ŞEN (Trakya Üniv.-Edirne)
Doç.Dr. Ilgaz AKATA (Ankara Üniv.-Ankara)
Doç.Dr. Hakan ALLI (Muğla Sıtkı Koçman Üniv. Muğla)
Doç.Dr. Sinan AKTAŞ (Selçuk Üniv.-Konya)
Doç.Dr. Şanlı KABAKTEPE (İnönü Üniv.-Malatya)
Dr.Öğr.Üyesi Gönül EROĞLU (Selçuk Üniv.-Konya)
Dr.Öğr.Üyesi İskender KARALTI (Azerbaijan Medical University-Bakü)



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2021 / Cilt:12/ Sayı:2
November 2021 / Volume:12 / Issue:2

Bu sayımızda yer alan eserler hakkında aşağıda isimleri yazılı hakemlerimize yaptıkları değerlendirmeler için teşekkür ederiz.

Prof.Dr. Abdullah KAYA
Prof.Dr. Ahmet ASAN
Prof.Dr. Aslı KAÇAR
Prof.Dr. Celaleddin ÖZTÜRK
Prof.Dr. Ertuğrul SESLİ
Prof.Dr. Fatih KALYONCU
Prof.Dr. Faruk SELÇUK
Prof.Dr. Hacı Halil BIYIK
Prof.Dr. Hasan AKGÜL
Prof.Dr. İbrahim TÜRKEKUL
Prof.Dr. Mustafa YAMAÇ
Prof.Dr. Semra İLHAN
Doç. Dr. Ali KELEŞ
Doç. Dr. Hakan ALLI
Doç.Dr. Huseyin YEMENDZHİEV
Doç.Dr. Ilgaz AKATA
Doç.Dr. Rasime DEMİREL
Doç.Dr. Sinan AKTAŞ
Doç.Dr. Şanlı KABAKTEPE
Dr.Öğrt. Üyesi İskender KARALTI
Dr.Öğrt. Üyesi Mustafa Emre AKÇAY
Öğr.Gör.Dr. Sanem BULAM



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2021 / Cilt:12/ Sayı:2
November 2021 / Volume:12 / Issue:2

İÇİNDEKİLER/ CONSTENS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

Kültür Mantarı <i>Pleurotus sajor-caju</i> (Fr.) Singer Üzerine Bir Araştırma: Taksonomik Durumunun ve Doğru Adının İncelenmesi.....87 A Study on the Cultivated Mushroom <i>Pleurotus sajor-caju</i> (Fr.) Singer: Investigation of Its Taxonomical Status and the Correct Name İsmail ORUK, Mehmet AKYÜZ	87
Diversity and Distribution of Microfungi in Tuz Lake, Turkey94 Tuz Gölü (Türkiye) Mikrofungus Çeşitliliği ve Dağılımı Yaşar Erçin KOCABIYIK, Semra İLHAN	94
<i>Leratiomyces percevalii</i> , A New Record for Turkish Mycobiota.....108 <i>Leratiomyces percevalii</i> , Türkiye Mikobiyotası için Yeni Bir Kayıt İsmail ACAR, Yusuf UZUN, Mustafa Emre AKÇAY, Sedat KESİCİ	108
<i>Aspergillus</i> Türlerinin Moleküler Tanımlanması için Hızlı, Doğru ve Düşük Maliyetli Yenilikçi Yaklaşım.....113 Rapid, Accurate and Low-Cost Innovative Approach for Molecular Identification of <i>Aspergillus</i> species Yüksel GEZGİN, Sibel ARSLAN, Zeycan NURÇE	113
The Annual Variation of Allergic <i>Cladosporium</i> and <i>Alternaria</i> Spores in the Atmosphere of Büyükşehir (Bursa), Turkey; Effects of Meteorological Factors.....122 Büyükşehir (Bursa), Türkiye Atmosferindeki Allerjik <i>Cladosporium</i> ve <i>Alternaria</i> Sporlarının Yıllık Değişimi; Meteorolojik Faktörlerin Etkileri Semih BEKİL, Ayca TOSUNOĞLU, Adem BIÇAKÇI	122
First Record of <i>Elaphomyces decipiens</i> for the Mycobiota of Turkey.....134 <i>Elaphomyces decipiens</i> 'in Türkiye Mikobiyotası İçin İlk Kaydı Yasin UZUN, Abdullah KAYA	134
Macrofungi Determined in Ereğli (Konya) District.....138 Ereğli (Konya) Yöresinde Belirlenen Makromantarlar Fahri Tunahan ÇEVİK, Yasin UZUN, Abdullah KAYA	138
Adaklı (Yüksekova/Hakkâri) ve Çevre Köylerde Belirlenen Makromantarlar.....148 Macrofungi Determined in Adaklı (Yüksekova / Hakkâri) and Surrounding Villages Sedat KESİCİ, Yusuf UZUN	148



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2021 / Cilt:12/ Sayı:2
November 2021 / Volume:12 / Issue:2

Saleplerden (Orkide) İzole Edilen Endofitik <i>Fusarium</i> spp.'nin Moleküler Tanımlanması ve Filogenetik Çeşitlilik Analizleri.....163 Phylogenetic Diversity Analysis and Molecular Identification of Endofitic <i>Fusarium</i> spp. Isolated From Salep (Orchid) Yüksel GEZGİN	163
Bazı Kullanılmış Kozmetik Ürünlerinde Fungal Çeşitlilik.....172 Fungal Diversity in Some Used Cosmetic Products Döndü GÜMÜŞKAYA ELBASAN, Ahmet ASAN, Suzan ÖKTEN	172
Scutellinia kerguelensis, A New Ascomycete Record for Turkey.....180 Scutellinia kerguelensis, Türkiye İçin Yeni Bir Askomiset Kaydı Yasin UZUN, Abdullah KAYA	180
RETRACTED: Investigation of Bacterial and Fungal Load of Five Printing House in Kahramanmaraş City.....184 GERİ ÇEKİLEN: Kahramanmaraş'taki Beş Matbaanın Bakteri ve Mantar Yükünün İncelenmesi Ufuk YILMAZ, Ferudun KOÇER, Ahmet TUTUŞ, Sinan SÖNMEZ	184
DERLEME MAKALELERİ / REVIEW ARTICLES	
Anaerobik Funguslarda Hidrojenozomlar: Hidrojen Üreten Organeller.....190 Hydrogenosomes in the Anaerobic Fungi: Hydrogen-Producing Organelles Ferit Can YAZDIÇ, Fadime YAZDIÇ, Bülent KAR, Emin ÖZKÖSE, Mehmet Sait EKİNCİ	190
Comparison of Quartile Scores of Mycology Journals Covered by Web of Science and SCImago SCOPUS Databases.....209 Web of Science ve SCOPUS Veritabanları Kapsamında olan Mikoloji Dergilerinin Q Değerleri Analizi Ahmet ASAN, Gülay GİRAY	209
Fonksiyonel Bir Gıda: Shiitake Mantarı (<i>Lentinula edodes</i>).....218 A Functional Food: Shiitake Mushroom (<i>Lentinula edodes</i>) Duygu KIRMIZIKUŞAK, Fulya SARPER	218
<i>Alternaria</i> Genusu Üyelerinin Meyve ve Sebzeler Üzerine Etkileri.....223 Effects of Genus <i>Alternaria</i> Members on Fruit and Vegetables Burcu KAYA, Nükhet Nilüfer ZORBA	223
Deniz Orjinli Fungus Kaynakları ve Lakkaz Üretimi.....240 Marine-Derived Fungal Sources and Laccase Production Ali KOÇYİĞİT, Sultan Kübra TOKER	240



Geliş(Received) :13/12/2020
Kabul(Accepted) :02/05/2021

Araştırma Makalesi
Doi: 10.30708.mantar839829

Kültür Mantarı *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer Üzerine Bir Araştırma: Taksonomik Durumunun ve Doğru Adının İncelenmesi

İsmail ORUK¹, Mehmet AKYÜZ^{2*}

*Sorumlu yazar: makyuz@beu.edu.tr

¹ Bitlis Eren Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Bitlis - Türkiye

¹ Orcid ID: 0000-0001-6552-3556 / i_oruk@hotmail.com

² Bitlis Eren Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitlis - Türkiye

² Orcid ID: 0000-0003-3986-3498 / makyuz@beu.edu.tr

Öz: Geçmişten günümüze *Pleurotus* cinsine ait bazı mantarların taksonomisi ile ilgili bazı sorunlar bulunmaktadır. *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer ismi en yaygın kullanılan ticari kültür mantarı izolatu olarak karşımıza çıkmaktadır ve *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. ile *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. türlerinin sinonimi olarak kullanılmaktadır. Günümüzde Index Fungorum ve MycoBank Database veri tabanlarında *P. sajor-caju* ismi güncellenmiş olup artık *L. sajor-caju* olarak kullanılmaktadır. Fakat, elimizdeki *P. sajor-caju* ticari örneği literatür ile karşılaştırıldığında morfolojik ve anatomik bakımdan *L. sajor-caju* (sap kısmında annulus bulunması, hifsel sistem dimitik yapıda ve bazidiyospor 5.5-8×1.8-2.5 µm) türünden farklılık gösterdiği ve adının *L. sajor-caju* olarak kullanılmasının yanlış olacağı düşünülmüştür. *P. sajor-caju* ismi ile sağlanan örneklerin gerçekte hangi türe ait olduğu karmaşık bir problem olarak görülebilmektedir. Yapılan bu çalışma ile *P. sajor-caju* olarak elde edilen ticari kültür mantarı örneğinin, mikro-makroskobik özellikleri (sap kısmında annulus olmaması, hifsel sistem monomitik özellikte, bazidiyospor 7.5-11×3-4.5 µm) ile moleküler düzeyde yapılan analizlerinde çalışılan türün gerçekte *P. pulmonarius* olduğu (% 99) kesinleşmiştir.

Anahtar kelimeler: *Pleurotus*, Kültür Mantarı, *Pleurotus sajor-caju*, *P. pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, Taksonomi

A Study on the Cultivated Mushroom *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer: Investigation of Its Taxonomical Status and the Correct Name

Abstract: There are some problems with the taxonomy of some fungi belonging to the *Pleurotus* genus from past to present. The name *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer appears as the most widely used commercial cultivated mushroom isolate and is used as a synonym of both *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. and *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. species. Today, the name *P. sajor-caju* has been updated in the Index Fungorum and MycoBank Database databases and is now used as *L. sajor-caju*. However, when the commercial specimen of *P. sajor-caju* is compared with the literature, it is thought that it differs morphologically and anatomically from *L. sajor-caju* (the presence of annulus in the stipe, the hyphae system is dimitic and the basidiospore 5.5-8×1.8-2.5 µm) and it would be wrong to use its name as *L. sajor-caju*. Which species the samples provided with the name *P. sajor-caju* actually belong to can be seen as a complex problem. With this study, it was confirmed that the species studied was actually *P. pulmonarius* (99%) in the micro-macroscopic properties (absence of annulus in the stipe, hyphal system monomitic, basidiospore 7.5-11×3-4.5 µm) and molecular analysis of the commercial cultivated mushroom sample obtained as *P. sajor-caju*.

Key words: *Pleurotus*, Culture Mushroom, *Pleurotus sajor-caju*, *P. pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, Taxonomy



Giriş

Funguslar Alemi, dünya yüzeyinde tür bakımından, Hayvanlar Aleminden sonra en kalabalık ikinci organizma grubunu oluşturmaktadır (Purvis ve Hector, 2000). Bitkiler ve diğer organizmalarla karşılaştırıldığında küresel çapta tam olarak mantarlar aleminin biyolojik çeşitliliğini belirlemek ve envanterini tamamlamak kolay görülmemektedir (Wu ve ark., 2019).

Mantarlar Alemi sahip oldukları geniş ekolojileri, farklı yaşam döngüsü stratejileri ile tek hücreli sucul kitritlerden, küflere, maya ve dermatofitler ile makrofunguslara kadar değişen morfolojilerle muazzam bir takson çeşitliliği göstermektedir (Hawksworth ve Lücking, 2017).

Taksonomistler tarafından kullanılan standart teşhis yöntemleri ile türlerin morfolojileri, fizyolojileri, ekolojik özellikleri, yayılışları, konukçu bitki seçimleri ile örneklerin spor, renk, boyut, şekil vb. gibi mikro-makroskobik özellikleri kullanılarak sınıflandırılma geliştirilmiştir. Geçmiş yıllarda dünya çapında yaklaşık 1.5-5.1 milyon (Hawksworth, 1991, 2001; Blackwell, 2011; O'Brien ve ark., 2005; Hawksworth ve Lücking, 2017) fungus türünün olabileceği öne sürülmüştür. Fakat moleküler genetikteki gelişmeler, DNA analizinin taksonomiye dahil edilmesi, sekans analizleri ile güvenilir istatistiksel ve filogenetik yaklaşımlarla desteklenerek mantarlar (fungi) alemi yeniden şekillenmeye başlamış ve son on yılda yeni division, sınıf, ordo, familya ve cinsler gibi taksonların oluşturulması ile birlikte, günümüzde yaklaşık 12 milyon (11.7–13.2) mantar türünün olabileceği varsayılmıştır (Wu ve ark., 2019).

Taksonomide iki önemli kavramdan biri olan morfolojik tür kavramı, fungal taksonomi alanında baskın olduğundan, pek çok fungus türü morfolojik özellikleri kullanılarak sınıflandırılmaktadır. Ancak, makrofungusların morfolojik karakteristikleri; iklim, yetiştirme substratı ve çevresel koşullardan güçlü bir şekilde etkilendiklerinden, sınıflandırmada yetersiz kalabilmektedir (Bresinsky ve ark., 1976). Bir diğer önemli taksonomik kavram olan biyolojik tür kavramında ise iki tür birbiriyle çiftleşebiliyor ise, bir biyolojik tür olarak gruplandırılırlar. Morfolojik karakterlere göre sınıflandırılan mantar türlerinin taksonomik kimliğini değerlendirmek için çiftleşme uyumluluk testleri (mating compatibility tests) kullanılmaktadır. Farklı taksonomistler, morfolojik karakterlere dayandırılarak aynı taksonun taksonomik durumu ile ilgili olarak farklı sonuçlara varmışlardır (Bao ve ark., 2004). Dolayısıyla tüm bunlar göz önüne alınarak son yıllardaki gelişmeler ile birlikte, taksonomistler tarafından türlerin geçmiş yıllarda yapılan bilimsel isimlendirilme ve

sınıflandırılmaları sürekli olarak revize edilmekte ve tür isimleri başta olmak üzere tüm taksonomik kategorilerin konum ve adları değişebilmektedir (Index Fungorum, 2020; MycoBank Database, 2020).

Pleurotus cinsi, *Agaricus* türlerinden sonra dünyada yetiştirilen yenilebilir mantarların büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Sánchez, 2010). Bununla birlikte, *Pleurotus* cinsine ait mantarların taksonomisi hakkında birçok sorun hâlâ çözülememiştir. Geçmişten günümüze araştırmacılar *Pleurotus* türleri arasındaki taksonomik ve filogenetik ilişkileri açıklığa kavuşturmak için farklı uyum testleri, biyokimyasal ve moleküler teknikler kullanılmıştır (Bresinsky ve ark., 1976; Zervakis ve Labarere, 1992; Petersen ve Hughes, 1993; Vilgalys ve ark., 1993; Vilgalys ve Sun, 1994; Zervakis ve ark., 1994; Iracabal ve ark., 1995; Bunyard ve ark., 1996; Zervakis ve Balis, 1996; Gonzalez ve Labarere, 2000; Bao ve ark., 2004). Sonuç olarak, tür ve varyete seviyesinde pek çok taksonun geçerli isimleri yeniden belirlenmiştir.

Pleurotus sajor-caju ve *P. florida* yaygın olarak kullanılan ticari izolatlar olarak karşımıza çıkmaktadır. *P. sajor-caju* olarak isimlendirilen türün, *P. pulmonarius* ile *P. florida* olarak isimlendirilen türün de aslında *P. ostreatus* ile aynı türler olduğu ifade edilmiştir (Gonzalez ve Labarere, 2000). *Pleurotus sajor-caju* izolatının doğal örnekleri farklı morfolojik özelliklere sahip iken, ticari izolatu ise kültürü yapılan *P. pulmonarius* ile çok benzer morfolojik yapı gösterdiği ayrıca belirtilmiştir (Zervakis ve Balis, 1996; Bao ve ark., 2004). Bu gruptaki birkaç takson her zaman tipik istiridye mantarı *P. ostreatus* ile karıştırıldığı ve morfolojik karakterleri bakımından *P. pulmonarius*'u, *P. ostreatus*'dan ayırmanın güç olduğu (Buchanan, 1993), fakat uyumluluk testlerinde her ikisinin farklı türler olduğu önerilmiştir (Bao ve ark., 2004).

Pleurotus sajor-caju'nun taksonomik durumunun hâlâ belirsiz olduğu, fakat fruktifikasyonlarının *P. pulmonarius*'unkine çok benzer olduğu bilinmektedir. Bazı araştırmacılar (Kashangura ve ark., 2006), *P. sajor-caju*'nun ayrı bir tür olduğu, diğerleri (Chiu ve ark., 1998) *P. pulmonarius*'un bir varyetesi, sıcaklığa dayanıklı *P. pulmonarius* straini olduğu (Idowu, 2003) ve bazı araştırmacılar ise *P. sajor-caju* ve *P. pulmonarius*'un aslında tek bir tür olduğunu öne sürmüştür (Gonzalez ve Labarere, 2000). Pek çok bilim adamı ise *P. sajor-caju*'nun doğal örnekleri ile kültürü yapılan izolatlar arasında belirgin bir şekilde morfolojik farklılıklar olduğunu belirtmişlerdir (Comer, 1981; Kurtzman ve Zadrzil, 1982; Pegler, 1983). Ayrıca, *P. sajor-caju* olarak adlandırılan bazı ticari izolatlar yanlışlıkla bu türe atfedildiği ancak aslında *Pleurotus pulmonarius* (Fr.)



Quél.'e ait olduğu gözlenmiştir (Hilber, 1989; Gonzalez ve Labarere, 2000). *P. sajor-caju* ile *P. pulmonarius* örneklerinin morfolojik yapısı, mikroskopik özellikleri ile kültür koşullarının türlerin ayırt edilmesinde yararlı olmadığı, fakat moleküler teknikler ile uyum analiz testlerinde ise ayrı türler olduğu belirtilmiştir (Shnyreva ve ark., 2012).

Modern mikoloji'de "*P. sajor-caju*" isminin iki anlamı bulunmaktadır. Özel taksonomik bir terim olarak bu isim, nomenklatural eş anlamlısı (sinonim) olan *L. sajor-caju*'yu ifade eder, biyoteknolojik literatürde daha yaygın kullanılan bu isim ise gerçek *Pleurotus* cinsi içerisinde yer alan "*P. sajor-caju*" türünü ifade etmektedir (Zmitrovich ve Wasser, 2016).

Polyporaceae familyası içerisinde yer alan *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr., önceleri *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer olarak isimlendirilmiş ve *Pleurotus* genusu içerisinde değerlendirilmiştir. Ancak, 1975 yılında Pegler tarafından yeniden *Lentinus* genusu içerisinde sınıflandırılmıştır (Pegler, 1975).

Büyük ölçekte yetiştirilen en önemli *Pleurotus* türleri; *P. ostreatus* ve *P. pulmonarius*'tur (Bazanella ve ark., 2013). *Pleurotus pulmonarius* genellikle mantar üreticileri tarafından hatalı adla "*P. sajor-caju*" adı altında pazarlanmaktadır. Gerçek *P. sajor-caju* aslında Pegler (1975) tarafından *Lentinus* cinsine geri gönderilen ve doğru bir şekilde *L. sajor-caju* olarak adlandırılan ayrı bir mantar türüdür (Buchanan, 1993). Her iki tür arasında morfolojik olarak çok belirgin farklar bulunduğu ve *L. sajor-caju*'nun, sapka kenarında belirgin bir peçe, sap kısmında kalıcı bir yüzük halkası ve trimitik veya dimitik hif yapılarına sahip iken, *P. pulmonarius*'ta monomitik hif yapısı ve sap kısmı ise düz bir yapı göstermektedir (Stamet, 2000).

Pleurotus sajor-caju ismi, ticari üreticiler ve araştırmacılar tarafından *P. pulmonarius* (Pegler, 1975; Huang ve ark., 2009) ve *L. sajor-caju* türlerinin sinonimi olarak kullanılmaktadır (Zmitrovich ve Wasser, 2016). Bu isim günümüzde Index Fungorum (2020) ve MycoBank Database (2020) veri tabanlarında geçerli halinin *L. sajor-caju* olduğu görülmektedir. Fakat, kültür mantarı üreticileri tarafından *P. sajor-caju* ismi olarak kullanılan izolatların aslında *P. pulmonarius* örnekleri olduğu ve hem *Lentinus* hem de *Pleurotus* cinsi içerisinde kullanılan izolatların mikro-makroskopik ve moleküler teşhislerinin yeniden yapılarak elde edilen örneklerin gerçekte *P. pulmonarius* mu? yoksa *L. sajor-caju* mu? olduğu yeniden belirlenmelidir. Bu karışıklık yıllardır süre gelen ve hâlâ devam eden bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Pleurotus pulmonarius, yaygın olarak "Indian Oyster, Italian Oyster, Phoenix Mushroom, Lung Oyster"

olarak adlandırılmaktadır. Görünüş olarak *P. ostreatus* türüne benzemekte, fakat habitat ve mikroskopik özellikleri ile sıcaklık istekleri bakımından farklılıklar göstermektedir. Ticari üretim yapan biyoteknolojik firmaların *P. pulmonarius*'u, *P. sajor-caju* olarak adlandırdığı ve karışıklığın buradan kaynaklandığı ve ayrıca pek çok bilimsel makale de bile ısrarla bu yanlışlığın devam ettirildiği görülmektedir (Hilber, 1989; Stamet, 2000). Bir diğer sorun ise farklı araştırmacılar tarafından izole edilen *L. sajor-caju* örneklerinin, *P. sajor-caju* olarak kullanmaları ve bu izolatları *Pleurotus* cinsi olarak lanse etmelerinden kaynaklanmaktadır.

Pleurotus sajor-caju (Fr.) Singer ismi, *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. türünün sinonimi olarak kullanılmaktadır. Bu isim ile sağlanan örneklerin gerçekte hangi türe ait olduğu karmaşık bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde Index Fungorum (2020) ve MycoBank Database (2020) veri tabanlarında *P. sajor-caju* ismi güncellenmiş olup artık *L. sajor-caju* olarak kullanılmaktadır. Fakat, elimizdeki *P. sajor-caju* ticari örneği literatür (Bi ve ark., 1993; Stamet, 2000; Zmitrovich ve Wasser, 2016; Sharma ve ark., 2015) ile karşılaştırıldığında morfolojik ve anatomik bakımdan *L. sajor-caju* türünden farklılık gösterdiği ve adının *L. sajor-caju* olarak kullanılmasının yanlış olacağı düşünülmüştür. Bu nedenle, ticari izolat olarak elde edilen *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer örneğinin yeniden mikro-makroskopik, moleküler incelemesinin gerekli olduğu ve taksonomideki yerinin tam olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Daha önce, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı'ndan sağlanan ve stok kültürümüzde bulunan *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing.'in ticari ana misel kültürü, Bitlis Eren Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarında çoğaltılarak deneysel çalışmalarda kullanılmıştır (Oruk ve Akyüz, 2020). Kültür koşullarında saf misel çoğaltılması, tohumluk misel (spawn) üretimi, kompost hazırlanması ve kültür koşulları ile ilgili tüm aşamalar Zadrazil (1978)'e göre yapılmıştır.

Mikro-Makroskopik Özelliklerin Tespiti

Türün kültür işlemleri sonucunda elde edilen numunelerin mikro-makroskopik (bazidiokarp, bazidiospor, hif) incelenmeleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikoloji Araştırma Laboratuvarında (Fungaryum) yapılmıştır. Türe ait mikroskopik yapıların incelenmesinde Leica marka D500 model 10×100 büyütme kapasiteli ışık mikroskobu,



bu yapıların fotoğraflarının çekiminde ve boyutlarının ölçümünde ise Leica marka ICC50HD model mikroskop kamerası ve Leica LAS EZ (Version 3.4.0) isimli program kullanılmıştır. Mikroskopik incelemelerde daha net görüntüler elde edebilmek için %5'lik KOH çözeltisi kullanılmıştır.

Türün Moleküler Düzeyde Tespiti

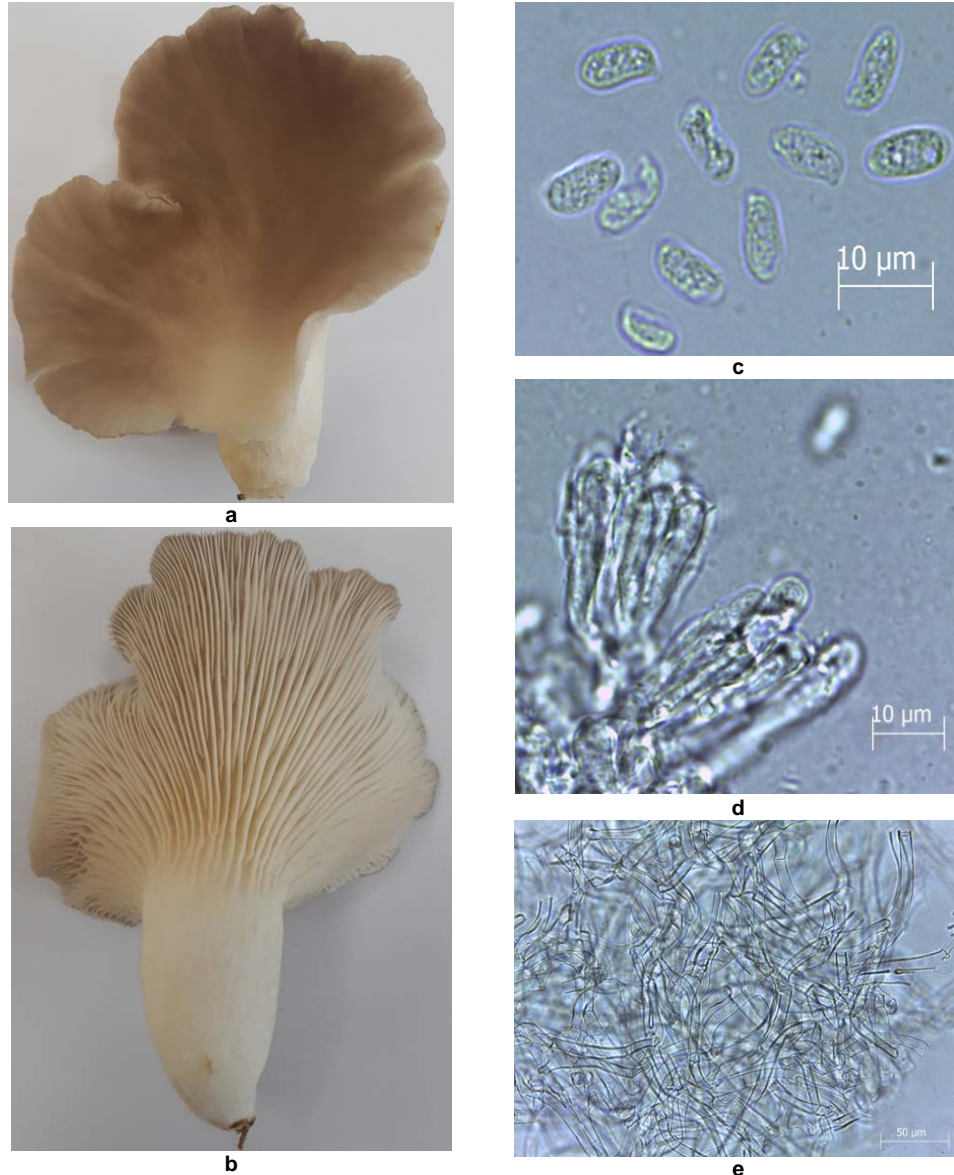
Saf misel örneklerin moleküler düzeyde teşhisi Ankara Refgen Biyoteknoloji Firması tarafından yapılmış olup, elde edilen DNA dizi bilgisi GenBank üzerinden blastN (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizine tabi tutulmuştur. Yapılan blastn analizi sonucunda organizma nükleotid düzeyinde GenBank'ta kayıtlı izolatlar ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Türün Mikro-Makroskobik Özellikleri

Pleurotus pulmonarius türü morfolojik olarak *L. sajor-caju* (syn.: *P. sajor-caju*) türüne oldukça benzerlik göstermesine rağmen, *L. sajor-caju* türüne ait genç örneklerin sap üzerinde çabuk kaybolabilir özellikte bir annulus taşımaya karşılık, *P. pulmonarius* türünde hiçbir evrede annulus görülmemesi ile makroskobik bakımdan ayırt edilebilirler (Şekil 1a-b).

Mikroskopik olarak ise *L. sajor-caju* türünde hifsel sistem dimitik özellik gösterirken, *P. pulmonarius*'ta monomitik özelliktedir (Şekil 1e). Ayrıca *L. sajor-caju* türüne ait bazidiyosporlar $5.5-8 \times 1.8-2.5 \mu\text{m}$ boyutlarındayken, *P. pulmonarius* türünün bazidiyosporları $7.5-11 \times 3-4.5 \mu\text{m}$ boyutlarındadır (Şekil 1c-d).



Şekil 1. *P. pulmonarius*'un mikro-makroskobik özellikleri (a: Bazidiyokarp (Şapka), b: Bazidiyokarp (lamel + sap), c: bazidiyospor, d: bazidiyum, e: hif (monomitik))



Pleurotus pulmonarius voucher KA12-0402 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

Sequence ID: [KR673457.1](#) Length: 613 Number of Matches: 1

Range 1: 4 to 613 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1110 bits(601)	0.0	608/611(99%)	1/611(0%)	Plus/Minus
Query 52	CGATTAAGAGACTGGC	ACTCTATTTCATGCGT	GCTATTGATGAGTGATA	AATTATCACATCA 111
Sbjct 613	CGATTAGAGAGCTGG-	ACTCTATTTCATGCGT	GCTATTGATGAGTGATA	AATTATCACATCA 555
Query 112	TGCGCAGAGGCAATG	AAGTCCGCTAATGCAT	TTAAGAGGAGCCGACT	TGTTACAGCC 171
Sbjct 554	TGCGCAGAGGCAATG	AAGTCCGCTAATGCAT	TTAAGAGGAGCCGACT	TGTTACAGCC 495
Query 172	AGCAACCCCAACAA	TCCAACATCACAAATA	AAATGTGAGTTTGA	GAATTAATGACACT 231
Sbjct 494	AGCAACCCCAACAA	TCCAACATCACAAATA	AAATGTGAGTTTGA	GAATTAATGACACT 435
Query 232	CAAACAGGCATGCC	CTCGGAATACCAAG	GGCGCAAGGTGCG	TCAAAGATTCGATGAT 291
Sbjct 434	CAAACAGGCATGCC	CTCGGAATACCAAG	GGCGCAAGGTGCG	TCAAAGATTCGATGAT 375
Query 292	TCACTGAATTCGCA	ATTACATTACTTAT	CGCATTCGCTGCG	TCTTCATCGATGCGA 351
Sbjct 374	TCACTGAATTCGCA	ATTACATTACTTAT	CGCATTCGCTGCG	TCTTCATCGATGCGA 315
Query 352	GAGCCAAGAGATCC	GTTGTTGAAAGTGT	TATTATGGTTTAT	AGGCACAAGGCCATTAAA 411
Sbjct 314	GAGCCAAGAGATCC	GTTGTTGAAAGTGT	TATTATGGTTTAT	AGGCACAAGGCCATTAAA 255
Query 412	TGACATTCGTAGAC	ATACATTTGGGGT	GTGTTAAGTAAAT	TAGACTGCGTTGTACACCCGA 471
Sbjct 254	TGACATTCGTAGAC	ATACATTTGGGGT	GTGTTAAGTAAAT	TAGACTGCGTTGTACACCCGA 195
Query 472	GACGTTTAAATCCC	AGCAAACCAAGTCT	GACGACTTGAAGG	ACGACTTACAGATCTATC 531
Sbjct 194	GACGTTTAAATCCC	AGCAAACCAAGTCT	GACGACTTGAAGG	ACGACTTACAGATCTATC 135
Query 532	AAAAGTTTACAGGT	GGTTGAAAGACT	AGTGAAGCGTG	CACATGCCCTAGAGGCCAGCAA 591
Sbjct 134	AAAAGTTTACAGGT	GGTTGAAAGACT	AGTGAAGCGTG	CACATGCCCTAGAGGCCAGCAA 75
Query 592	CAACTCCATAGTGA	AATTCATTAATGAT	CCTTCGCGAGTT	CACCTACGGAACCTTGTTA 651
Sbjct 74	CAACTCCATAGTGA	AATTCATTAATGAT	CCTTCGCGAGTT	CACCTACGGAACCTTGTTA 15
Query 652	CGACTTTTACT			662
Sbjct 14	CGACTTTTACT			4

Şekil 2. Ticari *P. sajor-caju* örneğinin DNA dizi bilgisinin Genbank Üzerinden *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. (% 99) olarak teşhis edilmesi

Türün Moleküler Düzeyde Tespiti

Türün moleküler düzeyde teşhisi Refgen Biyoteknoloji Firması tarafından DNA dizi bilgisi GenBank üzerinden blastN analizine tabi tutulmuştur (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Yapılan blastn analizi sonucunda organizma nükleotid düzeyinde GenBank'ta kayıtlı *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. izolatları ile % 99 oranında benzerlik göstermiştir. Nükleotid eşleşmeleri Şekil 2'de görülmektedir.

Tartışma ve Sonuç

Geçmişten günümüze *Pleurotus* cinsine ait mantarların taksonomisi ile ilgili bazı sorunlar bulunmaktadır. *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer ismi en yaygın kullanılan ticari kültür mantarı izolatı olarak karşımıza çıkmaktadır ve hem *P. pulmonarius* (Fr.) Quel. hem de *L. sajor-caju* (Fr.) Fr. türlerinin sinonimi olarak kullanılmaktadır. Bu isim ile sağlanan örneklerin gerçekte hangi türe ait olduğu karmaşık bir problem olarak görülebilmektedir. Farklı araştırmacılar (Corner, 1981; Kurtzman ve Zadrzil, 1982; Pegler, 1983; Zervakis ve

Balis, 1996; Bao ve ark., 2004), *P. sajor-caju*'nun doğal örnekleri ile kültürü yapılan izolatlar arasında belirgin bir şekilde morfolojik farklılıklar olduğunu ve sinonim olarak kullanılan farklı tür isimlerinin aslında tek bir tür içerisinde (*P. pulmonarius*) yer aldığını belirtmişlerdir (Bresinsky ve ark., 1976; Zervakis ve Labarere, 1992; Petersen ve Hughes, 1993; Vilgalys ve ark., 1993; Vilgalys ve Sun, 1994; Zervakis ve ark., 1994; Iracabal ve ark., 1995; Bunyard ve ark., 1996; Zervakis ve Balis, 1996; Gonzalez ve Labarere, 2000; Bao ve ark., 2004).

Gerçek *P. sajor-caju* aslında Pegler (1975) tarafından *Lentinus* cinsi içerisinde yer alan ve doğru bir şekilde *L. sajor-caju* olarak adlandırılan ayrı bir türdür (Buchanan, 1993). Her iki tür arasında morfolojik olarak belirgin farklar bulunmaktadır (Stamet, 2000).

Günümüzde Index Fungorum (2020) ve MycoBank Database (2020) veri tabanlarında *P. sajor-caju* ismi güncellenmiş olup, artık *L. sajor-caju* olarak kullanılmaktadır. Eldeki örneklerin incelenmeden direk olarak bu şekilde isimlendirilmesi yanlışlara neden olmaktadır. Elimizdeki *P. sajor-caju* ticari örneği literatür



(Bi ve ark., 1993; Stamet, 2000; Zmitrovich ve Wasser, 2016; Sharma ve ark., 2015) ile karşılaştırıldığında morfolojik ve anatomik bakımdan *L. sajor-caju* türünden farklılık gösterdiği ve adının *L. sajor-caju* olarak kullanılmasının yanlış olacağı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile *P. sajor-caju* olarak elde edilen ticari kültür mantarı örneğinin, mikro-makroskobik özellikleri (Şekil 1) ile moleküler düzeyde yapılan analizlerinde (Şekil 2) çalışılan türün gerçekte *P. pulmonarius* olduğu (% 99) kesinleşmiştir. Bu yönüyle elimizdeki ticari izolat *P. sajor-caju* olarak isimlendirilse bile aslında, *P. pulmonarius* olduğu (Hilber, 1989; Zervakis ve Balis, 1996; Gonzalez ve Labarere, 2000; Stamet, 2000; Bao ve ark., 2004) araştırmacıların verileri ile doğrulanmaktadır.

Sonuç olarak; sistematik alanında çalışan uzmanların örnekleri incelemeyen veri tabanların (Index Fungorum 2020; MycoBank Database 2020) kabul ettiği

isimle yapılacak değişiklikte araştırmacıları yanlış yönlendirmelere sevk ettikleri görülmüştür. Eldeki *P. sajor-caju* örneğinin mikro-makroskobik ve moleküler teşhisleri yapılarak, gerçekte *P. pulmonarius* mu? yoksa *L. sajor-caju* mu? olduğu ayırt edilerek belirlenmelidir. Bu çalışma ile ülkemizde yapılacak bilimsel çalışmalarda sıklıkla yapılan hatalı isimlendirmeler (*P. sajor-caju*) ortadan kaldırılacaktır.

Teşekkür

Türün sistematik deskripsiyonunu hazırlayan ve teknik desteklerini esirgemeyen, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Emre AKÇAY'a ve Türün moleküler düzeyde teşhisini yapan Refgen Biyoteknoloji Firmasına katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Bao, D., Kinugasa, S. and Kitamoto, Y. (2004). The Biological Species of Oyster Mushrooms (*Pleurotus* spp.) from Asia Based on Mating Compatibility Tests. *J. Wood Sci.*, 50(2): 162–168.
- Bazanella, G.C.S., Souza, D.F., Castoldi, R., Oliveira, R.F., Bracht, A. and Peralta, R.M. (2013). Production of Laccase and Manganese Peroxidase by *Pleurotus pulmonarius* in Solid-State Cultures and Application in Dye Decolorization. *Folia Microbiol.*, 58: 641–647.
- Bi, Z., Zheng, G. and Taihui, L. (1993). *The Macrofungus Flora of China's Guangdong Province*. Chinese University Press, p. 244.
- Blackwell, M. (2011). The Fungi: 1, 2, 3 . . . 5.1 Million Species?. *Am. J. Bot.*, 98: 426–438.
- Bresinsky, A., Hilber, O. and Molitoris, H.P., (1976). *The Genus Pleurotus as an Aid for Understanding the Concept of Species in Basidiomycetes*. In: Clemençon, H. (ed), *The Species Concept in Hymenomycetes*. Cramer, Vaduz, pp. 229–258.
- Buchanan, P.K. (1993). *Identification, Names, and Nomenclature of Common Edible Mushrooms*. In: Chang, S.T., Buswell, J.A., Chiu, S. (Eds.). *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Chinese University Press, Hong Kong, pp. 21–32.
- Bunyard, B.A., Chaichuchite, S., Nichololson, M.S. and Royse, D.J. (1996). Ribosomal DNA Analysis for Resolution of Genotype Classes of *Pleurotus*. *Mycol. Res.*, 100: 143–150.
- Chiu, S.W., Chan, Y.H., Law, S.C., Cheung, K.T. and Moore, D. (1998). Cadmium and Manganese in Contrast to Calcium Reduce Yield and Nutritional Values of the Edible Mushroom *Pleurotus pulmonarius*. *Mycol. Res.*, 102(4): 449–457.
- Corner, E.J.H. (1981). The Agaric Genera *Lentinus*, *Panus*, and *Pleurotus* with Particular Reference to Malaysian Species. *Nova Hedwigia.*, 69: 1–169.
- GenBank(2020). <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Erişim tarihi 7.7.2020)
- Gonzalez, P. and Labarere, J. (2000). Phylogenetic Relationships of *Pleurotus* Species According to the Sequence and Secondary Structure of the Mitochondrial Small-Subunit rRNA V4, V6 and V9 Domains. *Microbiology*, 146: 209–221.
- Hawksworth, D.L. (1991). The Fungal Dimension of Biodiversity – Magnitude, Significance, and Conservation. *Mycol. Res.* 95: 641–655.
- Hawksworth, D.L. (2001). The Magnitude of Fungal Diversity: The 1.5 Million Species Estimate Revisited. *Mycol. Res.*, 105: 1422–1432.
- Hawksworth, D.L. and Lücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol. Spectrum*, 5: 1–17.
- Hilber, O. (1989). Valid, Invalid and Confusing Taxa of the Genus *Pleurotus*. *Mushroom Sci.*, 12: 241–248.
- Huang, L., Wu, Q., Yang, X. and Zhang, J. (2009). Taxonomic status of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in China based on ITS sequence analysis. *Acta Edulis Fungi*, 16(2): 30–35.
- Idowu, O. (2003). Evaluation of Different Substrates and Combinations on the Growth of *Pleurotus pulmonarius* (Fries) Quelet (*P. sajor-caju*). *Nigerian J. Hortic. Sci.*, 8: 112–221.
- Index Fungorum (2020). <http://www.indexfungorum.org> (Erişim tarihi 7.7.2020)



- Iracabal, B., Zervakis, G. and Labarere, J. (1995). Molecular Systematics of the Genus *Pleurotus*: Analysis of Restriction Length Polymorphisms in Ribosomal DNA. *Microbiology*, 141: 1479–1490.
- Kashangura, C., Hallsworth, J. and Mswaka, A. (2006). Phenotypic Diversity amongst Strains of *Pleurotus sajor-caju*: Implications for Cultivation in Arid Environments. *Mycol. Res.*, 110: 312–317.
- Kurtzman, R.H. and Zadrzil, F. (1982). *Physiological and Taxonomic Considerations for Cultivation of Pleurotus Mushrooms, Tropical Mushrooms: Biological Nature and Cultivation Methods* (Chang, S.T. and Quimio, T.H. (eds.)). Hong Kong: Chines University Press, pp. 299–348.
- Mycobank Database, (2020). www.mycobank.org (Erişim tarihi 7.7.2020).
- O'Brien, H.E., Parrent, J.L., Jackson, J.A., Moncalvo, J.M. and Vilgalys, R. (2005). Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 5544–5550.
- Oruk, I. ve Akyuz, M. (2020). Lignoselülozik Atıkların *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr.'nin Kültüründe Değerlendirilmesi. *Mantar Derg.*, 11 (1): 12-18.
- Pegler, D.N. (1975). Classification of the Genus *Lentinus* Fr. (Basidiomycota). *Kavaka*, 3: 11–20.
- Pegler, D.N. (1983). The Genus *Lentinus*. *Kew. Bull. Additional. Series.*, 10: 1–281.
- Petersen, R.H. and Hughes, K.W. (1993). Intercontinental Interbreeding Population of *Pleurotus pulmonarius*, with Notes on *P. ostreatus* and other Species. *Sydowia*, 45: 139–152.
- Purvis, A. and Hector, A. (2000). Getting the Measure of Biodiversity. *Nature*, 405: 212–219.
- Sánchez, C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 85(5): 1321–1337.
- Sharma, V.P., Kamal, S., Upadhyay, R.C., Kumar, S., Sanya, I.S.K. and Singh, M. (2015). Taxonomy, Phylogeny, Cultivation and Biological Activities of a *Lentinus* Species from Andaman & Nicobar Islands (India). *Emirates J. Food Agric.*, 27(7): 570–576.
- Shnyreva, A.A., Sivolapova, A.B. and Shnyreva, A.V. (2012). The Commercially Cultivated Edible Oyster Mushrooms *Pleurotus sajor-caju* and *P. pulmonarius* are Two Separate Species, Similar in Morphology but Reproductively Isolated. *Russ. J. Genet.*, 48: 1080–1088.
- Stamets, P. (2000). *The Phoenix or Indian Oyster Mushroom Pleurotus pulmonarius (Fries) Quelet, "P. sajor-caju"*. In: Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms (third edition), Ten speed press, Chapter 21, Berkeley, California, USA: pp. 316-320, ISBN 978-1-58008-175-7.
- Vilgalys, R. and Sun, B.L. (1994). Ancient and Recent Patterns of Geographic Speciation in the Oyster Mushroom *Pleurotus* Revealed by Phylogenetics Analysis of Ribosomal DNA Sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States. Am.*, 91: 4599–4603.
- Vilgalys, R., Smith, A., Sun, B.L. and Miller, O.K. (1993). Intersterility Groups in the *Pleurotus ostreatus* Complex from the Continental United States and Adjacent Canada. *Can. J. Bot.*, 71: 113–128.
- Wu, B., Hussain, M., Zhang, W., Stadler, M., Liu, X. and Xiang, M. (2019). Current Insights into Fungal Species Diversity and Perspective on Naming the Environmental DNA Sequences of Fungi. *Mycology*, 10: 127–140.
- Zadrzil, F. (1978). *Cultivation of Pleurotus*. In: *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms* (Eds: Chang, S.T., Hayes, W.A.), Academic Press, New York, pp. 521-557.
- Zervakis, G. and Balis, C. (1996). A Pluralistic Approach in the Study of *Pleurotus* Species with Emphasis on Compatibility and Physiology of the European Morphotaxa. *Mycol. Res.*, 100: 717–731.
- Zervakis, G. and Labarere, J. (1992). Taxonomic Relationships within the Fungal Genus *Pleurotus* as Determined by Isoelectric Analysis of Enzyme Patterns. *J. Gen. Microbiol.*, 138: 635–645.
- Zervakis, G., Sourdis, J. and Balis, C. (1994). Genetics Variability and Systematics of Eleven *Pleurotus* Species Based on Enzyme Analysis. *Mycol. Res.*, 98: 329–341.
- Zmitrovich, I.V. and Wasser, S.P. (2016). Is Widely Cultivated "*Pleurotus sajor-caju*", Especially in Asia, Indeed an Independent Species?. *Inter J. Med. Mushrooms*, 18(7): 583–588.



Geliş(Received) :08.03.2021
Kabul(Accepted) :06.05.2021

Research Article
Doi: 10.30708.mantar892466

Diversity and Distribution of Microfungi in Tuz Lake, Turkey

Yaşar Erçin KOCABIYIK¹, Semra İLHAN^{2*}

*Sorumlu yazar: silhan@ogu.edu.tr

¹ Eskişehir Osmangazi University, Graduate School of Natural and Applied Science,
Department of Biology, Eskişehir, Turkey
Orcid ID: 0000-00001-5347-6975/ ercinkocabiyik@gmail.com

² Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Science and Letter, Department of Biology,
Eskişehir, Turkey
Orcid ID: 0000-0002—3787-2449/ silhan@ogu.edu.tr

Abstract: The aim of this study is to help illuminate the microfungus diversity in Tuz Lake using traditional and molecular diagnostic data and to correlate it with population dynamics. Microfungi were isolated from a total of 24 samples taken from three stations seasonally by membrane filtration method using two types of media. When using DRBC medium, colony counts were 68 CFU / 100 ml in saltpan water and 86 CFU / ml in lake water. On the DRBC17 medium, the number of colonies in both types of water samples was found to be the same 21 CFU / 100 ml. While 52 different species belonging to 19 genera have been isolated on DRBC medium, 30 different species belonging to 11 genera were detected on DRBC17. In total, 54 different species belonging to 21 genera were isolated. According to the variety of species, the leading genera are *Penicillium* (15 spp), *Aspergillus* (8 spp), *Alternaria* (8 spp), *Cladosporium* (5 spp), *Arthrimum* (2 spp). This study showed that Tuz Lake mycobiota has a high diversity and most of the isolated species are adapted to saline environments.

Key words: Fungal diversity, Hypersaline, Saltern, Abundance, Frequency

Tuz Gölü (Türkiye) Mikrofungus Çeşitliliği ve Dağılımı

Öz: Bu çalışmanın amacı, geleneksel ve moleküler tanılama verileri kullanılarak Tuz Gölü'ndeki mikrofungus çeşitliliğinin aydınlatılması ve popülasyon dinamikleriyle ilişkilendirilmesidir. Mikrofunguslar, mevsimsel olarak üç istasyondan alınan toplam 24 örnekten, iki tip ortam kullanılarak membran filtrasyon yöntemi ile izole edilmiştir. DRBC besiyerinin kullanıldığında koloni sayıları tuzla havuz suyunda 68 CFU / 100 ml ve göl suyunda 86 CFU / ml olmuştur; DRBC17 besiyerinde ise her iki tip su örneğinde de koloni sayısı aynı 21 CFU / 100 ml bulunmuştur. DRBC ortamında 19 cinse ait 52 farklı tür izole edilirken, DRBC17 üzerinde 11 cinse ait 30 farklı tür tespit edilmiştir. Toplamda 21 cinse ait 54 farklı tür izole edilmiştir. Tür çeşitliliğine göre önde gelen cinsler *Penicillium* (15 tür), *Aspergillus* (8 tür), *Alternaria* (8 tür), *Cladosporium* (5 tür), *Arthrimum* (2 tür) 'dur. Bu çalışma, Tuz Gölü mikrobiyotasının yüksek bir çeşitliliğe sahip olduğunu ve izole edilen türlerin büyük bir kısmının tuzlu ortamlara adapte olmuş türler olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Mantar çeşitliliği, Hipersalin, Tuzlu su, Bolluk, Frekans

Introduction

The fact that eukaryotic microorganisms are believed to be unable to survive in extreme environments for many years is considered to be the reason for the limited findings related to the biodiversity of such habitats. The hypersaline environments first have become the focus of interest for prokaryotic diversity, and then studies examining eukaryotic organisms in extreme environments have increased. Because of their unique nature and ability to survive in a wide variety of

environments and since they could be found in nearly each layer of the earth and widely spread in the ecosystem, the fungi have always been a point of interest for researchers.

Although many previous studies have been conducted on the isolation and identification of halotolerant/halophilic fungi, the first comprehensive study suggesting that fungi are active members of hypersaline environments was carried out by Gunde-Cimerman et al. (2000). Previously Cronin and Post



(1977) have studied on the isolation and description of a halophilic filamentous fungus *Cladosporium* sp. from the Great Salt Lake, Utah, a hypersaline lake. In addition the isolation and identification of three fungal species from Dead Sea water samples carried out by Buchalo et al. (1998) is noteworthy. Many halotolerant/halophilic fungi isolated from various sources such as salted food, sea water and arid soils have been reported (Andrews and Pitt, 1987; Asan, 2004). The fungi, which are capable of developing in low water activity (a_w), have also been isolated from foods with high levels of salt or sugar as preservatives. Although they have being considered as food contaminants halotolerant/halophilic fungi have been discovered in hypersaline environments studied around the world (Gunde-Cimerman et al., 2009).

Natural salty lakes, solar salterns, salty drainage waters, seashore and wellsprings located within salt deposits underground are common hypersaline, thalassohaline/athalassohaline waters. Examples of such environments comprehensively examined in terms of fungal diversity are the well-recognized Great Salt Lake in Utah, the Cabo Rojo Solar Salterns set on the southwest coast of Puerto Rico and Dead Sea in Israel (Cronin and Post, 1977; Kis-Papo et al., 2001; Kis-Papo et al., 2003; Nazareth et al., 2012). Studies to date have shown that halotolerant/halophilic fungi are a component of microbial populations in hypersaline environments.

The Tuz Lake (Turkey), a Special Environmental Protection Area (SEPA), is amongst the most saline lakes in the world after Dead Sea. All of the lake surface and surrounding include waterbeds and some of the important neighboring steppe areas. The area is a unique ecosystem in terms of natural life in Turkey. The emergence of a rich plant and microbial diversity in the Salt Lake and its basin is the result of arid and extreme salty conditions. 279 plant species and 120 halophylic bacteria have been reported in the Tuz Lake ecosystem (UNESCO). So far, the Tuz Lake microbiota has mainly been studied in terms of prokaryotic diversity (Birbir et al., 2007; Mutlu et al., 2008). There are few studies supporting the Tuz Lake mycobiota, and most of them are on soil-borne fungi and include fungal species isolated for biotechnological use.

The aim of this study is to characterize the spatiotemporal species composition of the fungal community of the Tuz Lake and for this purpose it has been investigated whether the diversity and composition of fungal communities varies in the salt pans and brine of Tuz Lake. Another aim of the research has been to

determine the significance of salt in the medium used for the isolation of microfungi from hypersaline environments. In addition, the frequency and relative abundances of the isolated microfungi have been calculated and the fungal diversity in the Tuz Lake has been evaluated through the Simpson and Shannon biodiversity.

Material and Metod

Site description: The Tuz Lake, second largest in Turkey, is about 1.831 km² and is located between the borders of three cities, Ankara, Aksaray, and Konya. It lies at an altitude of 905 m above the sea level. It is a shallow lake with a tectonic origin whose depth is below 0.5 m. While most of the lake is completely dry in summer, its size changes with a maximum depth of 1.5 m in spring (Dengiz et al., 2010) (Fig 1).

Although salinity levels change with regard to seasonal fluctuations, the water of the lake is extremely saline with a salt content of 32%. The lake and its surroundings cover approximately 70% of the annual salt demand of Turkey and have a large share in salt exports (Dengiz et al., 2010).

Sampling, isolation and enumeration of fungi:

The water samples were compositely taken from three main stations, Kayacık, Yavşan and Kaldırım salterns, at Tuz Lake in June, November 2012 and February, May 2013. For each station, the water samples were taken from the salterns (Saltern Water-SW) and the lake (Lake Water-LW) (Fig 1). All the samples taken have been analyzed in terms of such variables as temperature (°C), pH, and salinity (%) (Table 1).

To isolate and enumerate the fungal species from water, 20 ml of each sample has been filtered through the sterile Cellulose Nitrate Membrane Filters (pore size 0.45µm, Ø 47 mm Sartorius) and placed onto the Petri plates containing DRBC (a_w 1.0) and DRBC17 (DRBC+17% NaCl, a_w 0.89) media with chloramphenicol (100 mg/L) (King Jr et al., 1979). For DRBC17 medium, untreated salt harvested from the Tuz Lake salterns has been used. The plates have been incubated for 5 weeks at 25°C. Fungal colony forming units (CFUs) were counted on 3rd, 5th, 7th, 14th and 30th days of incubation, and subcultures were made of all of the morphologically distinct colonies from each sample on Malt Extract Agar (Merck) slants and kept at 4°C. Individual pure strains have been deposited in the culture collection of the Department of Biology, Eskisehir Osmangazi University (Turkey).



Figure 1. Tuz Lake and the stations (Kaldırım, Kayacık and Yavşan Salterns)

Identification of fungi: For identification Potato Dextrose Agar (PDA), Czapek-Dox agar (CZ), Czapek Yeast autolysate Agar (CYA), 25% Glycerol Nitrate agar (G25N) and Malt Extract Agar (MEA) media have been used. Identifications of fungal specimens have been based on their micro and macro morphologies and upper

and lower surface colorations on CYA, CY20S, CZ, G25N, MEA and PDA. Genus identifications have been carried out following Barnett and Hunter (1999) and the identifications of species have been executed complying with related literatures (Ellis, 1965; Klich, 2002; Pitt, 1979; Pitt and Hocking, 2009; Samson et al., 2004a).

Table 1. Analyzed environmental variables for each station in the Tuz Lake. The saltern number refer to Fig 1.

Salterns	Samples type	Temp. (°C) SU/FA/WI/SP	pH SU/FA/WI/SP	Salinity (%) SU/FA/WI/SP	Coordinates
Kayacık	1	26/12/5/27	6.18/7.13/7.75/7.78	30/28/26/28	38°49'50.57"N 33°25'34.83"E
	2	26/12/5/27	5.94/7.15/7.71/7.59	33/29/26/28	38°50'12.95"N 33°24'14.05"E
Kaldırım	3	28/13/5/29	6.36/7.25/7.79/7.69	30/28/25/29	38°59'58.41"N 33°24'06.25"E
	4	30/12/6/29	6.40/7.18/7.64/7.66	28/28/26/28	39°02'59.08"N 33°23'42.04"E
Yavşan	5	29/20/7/28	6.50/7.35/7.62/7.79	28/27/25/28	38°45'50.38"N 33°10'27.33"E
	6	30/20/6/28	6.36/7.32/7.97/7.76	30/29/20/28	38°47'07.42"N 33°12'09.06"E

SU, Summer; FA, Fall; WI, Winter; SP, Spring

Water samples of three aliquots have been filtered in parallel and the average number of colonies has been calculated as CFUs/100ml. Water activities of the media have been determined using the water activity meter (Aqualab, Decagon Devices, USA).

After all these processes, their identity has been confirmed using the analysis of internal transcribed spacer regions (ITS1 and ITS2) of the ribosomal DNA operon (including the 5.8S gene) of the filamentous fungi. For the molecular study all isolates have been grown in



Malt Extract broth (Merck) of 2 mL of in 15 mL tubes and incubated at 25°C for 7 days in darkness. (Samson et al., 2004b). Genomic DNA of selected pure cultures has been extracted using CTAB following the related protocol (Graham et al., 1994; Murray and Thompson, 1980). The extracted DNAs have been stored at -20°C in a freezer. ITS region has been amplified with the universal primers forward ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG G-3') and reverse ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). Purification and sequencing analyses of amplicons have been performed by BMLabosis (Ankara, Turkey). The sequences were compared with those deposited in the NCBI GenBank Database via BLAST searches (Altschul et al., 1997; <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). The closest Blast results are reported for each taxon.

For phylogenetic analysis, the sequence alignments were performed using the Muscle in MEGA X (Kumar et al., 2018) software package, together with the other sequences of morphologically and phylogenetically related species that were obtained from NCBI GenBank. The evolutionary history was inferred by using the Maximum Likelihood method and Tamura-Nei model (Tamura and Nei, 1993) with 1000 bootstrap replications. *Allomyces arbusculus* HQ888729 (Not listed species on "The Checklist of Fungi of Turkey") was used as the out-group. The obtained sequence data have been deposited in GenBank with accession numbers (Table 2).

Data analysis: For each microfungus species, the frequency of occurrence (%) and relative abundance (%) have been calculated. The frequency of occurrence of fungi has been artificially grouped according to the percentage occurrence of fungi as very frequent (>20%), frequent (10-20%), and infrequent (<10%) (Maria and Sridhar, 2003; Sarma and Hyde, 2001).

The diversity of fungi at stations has been assessed based on two diversity indices, Simpson and Shannon. Being one of the most common methods, Simpson's Indice use the relative abundance of different species to estimate the diversity. Another index is the Shannon-Wiener Diversity index (H) that is commonly used to characterize species diversity in a community. The Shannon Index gives a value between 0 and 5. However, the results between 1.5 and 3.5 are considered as statistically significant. If the result of the calculation is closer to 5, it is inferred that the diversity is high (Magurran, 2013).

Results

In order to represent the Tuz Lake, a total of 24 water samples have been taken seasonally both from the three

salt pans and the lake. During the year, the temperature was between 5°C and 30°C. The average temperature was 28°C in summer, 15°C in the autumn, 5.5°C in winter and 28°C in spring. The pHs of the water samples at the stations were between 5.94 and 7.97. The mean pH (6.29) in summer was lower than those in autumn, winter, and spring (7.23, 7.74, 7.71), respectively. Salinity at the locations where the water samples were taken ranged between 20‰ and 30‰ according to the seasons and sampling points. The rate of salinity especially at the first station, reached a remarkable point of 33‰ in summer. The average pH, temperature and salinity of water samples have been presented in Table 1.

Enumeration and identification of fungi: With the culture-dependent counting method, fungal isolates have been enumerated and isolated using two different media having low (DRBC17, a_w 0.89) and high water activity (DRBC a_w 1.0). Then the dynamics of microfungi inhabited in hypersaline waters have been estimated. During isolation from water samples of the fungal species, when 20 ml of each sample has been filtered, optimal distribution of colonies on medium in petri dishes after incubation has been observed.

In this research, a total of 2486 fungal isolates have been recovered from 24 water samples using DRBC and DRBC17 media. While 79 % of these fungal isolates has been isolated from the DRBC, 21% of isolates has been recovered from the DRBC17 plates. For all samples, the CFU numbers on DRBC17 medium have been significantly lower than that of on the DRBC. The CFU numbers obtained on both media have reached the highest numbers in summer (195 CFUs/100ml LW on DRBC; 69 CFUs/100 ml LW on DRBC17). The mean colony numbers have been 68 CFUs/100ml and 21 CFUs/100ml for salt pan water on DRBC and DRBC17, respectively. The mean colony numbers for lake water 86 CFUs/100 ml and 21 CFUs/100ml on DRBC and DRBC17 medium, respectively (Fig 2).

Distribution of fungi identified, based on seasons and stations, has been organized by alphabetic order and presented in Table 2. While 52 different species belonging to 19 genera have been isolated on DRBC medium 28 different species belonging to 11 genera on DRBC17 have been isolated. Within the isolation process with DRBC and DRBC17 media, 54 different species in total belonging to 21 genera have been isolated. The discovered species have distributed among nine ordo: *Hypocreales* Lindau (3 spp), *Pleosporales* Luttr. ex M.E. Barr (15 spp), *Xylariales* Nannf. (3 spp), *Eurotiales* G.W. Martin ex Benny and Kimbr (24 spp), *Capnodiales* Woron (5 spp), *Dothideales* Lindau (2 spp), *Mucorales* Fr. (1 sp),



Sordariales Chadef. ex D. Hawksw. and O.E. Erikss (1 sp). The genera according to species diversity, *Penicillium* (15 spp), *Aspergillus* (8 spp), *Alternaria* (8 spp), *Cladosporium* (5 spp) and *Arthrimum* (2 spp) have been represented by more than one species. However, *Acremonium*, *Beauveria*, *Botrytis*, *Chalastospora*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Leptospora*, *Mucor*,

Nigrospora, *Phoma*, *Pringsheimia*, *Pithomyces*, *Sordaria*, *Stemphylium*, and *Talaromyces* genera have been represented by one species. Using their morphological characteristics as well as ITS data, the isolates have been identified to species level, and only sequence matches above 98.5% have been regarded as meaningful. The phylogenetic tree created is presented in Figure 3.

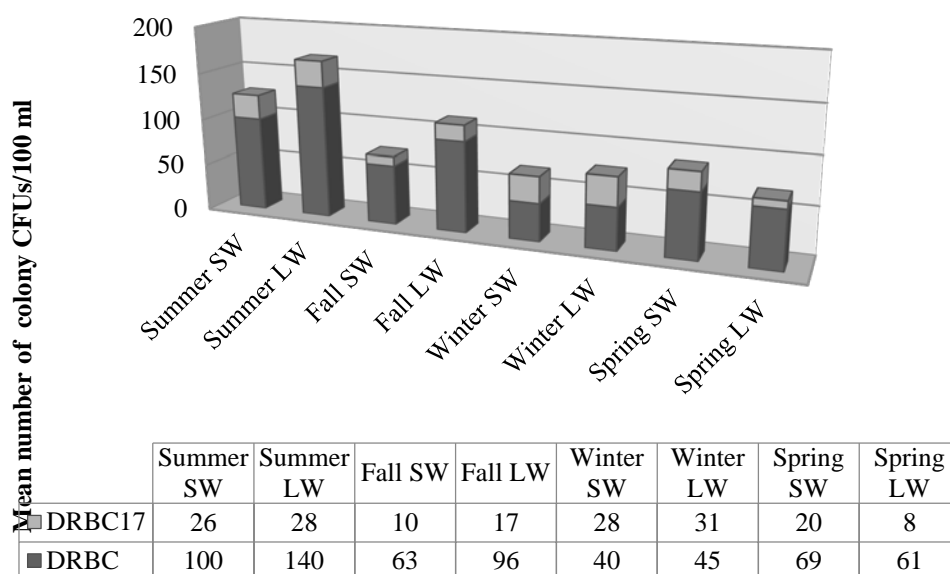


Figure 2. The mean number of colony of fungi seasonally isolated from Saltpan Water (SW) samples and Lake Water (LW) samples of Tuz Lake.

Dinamics of Fungal Population: The estimates for DRBC medium have showed that a total of 20 species including *Alternaria infectoria* E.G. Simmons (Meşeküf), *A. tenuissima* (Nees) Wiltshire (Narinküf), *Arthrimum arundinis* (Corda) Dyko and B. Sutton (Saz kütlesi), *Aspergillus flavus* Link (Cıbil asper), *A. chevalieri* (Mangin) Thom. and Church (Bey asper), *A. neoniveus* Samson, S.W. Peterson, Frisvad and Varga (Akça asper), *A. repens* (Corda) Sacc (Vuran asper), *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries (Karakökküf), *C. herbarum* (Pers.) Link (Yayginkurutan), *C. sphaerospermum* Penz. (Güllekurutan), *C. uredinicola* Speg. (Heybekurutan), *Curvularia inaequalis* (Shear) Boedijn (Çok eğişispor), *Penicillium atrovnetum* G. Sm. (Kıro penisilyum), *P. brevicompactum* Dierckx (Sağlam penisilyum), *P. citrinum* Thom (Limon penisilyum), *P. commune* Thom (Zonlu penisilyum), *P. solitum* Westling (Bir penisilyum), *P. decumbens* Thom (Sabun penisilyum), *P. hordei* Stolk (Arpa penisilyum), and *P. polonicum* K.W. Zalesky (Leh penisilyum) have been very frequent (>20%). In DRBC17, total of 7 species

including *A. amstelodami* (Mangin L.) Thom and Church (El asperi), *A. flavus*, *A. repens*, *C. sphaerospermum*, *P. commune*, *P. polonicum*, and *Mucor racemosus* Fresen. (Salkımküf) have showed very frequent occurrence. The species with very frequent occurrence for both media were *A. flavus*, *A. repens*, *C. sphaerospermum*, and *P. polonicum*.

The species with frequencies of occurrence higher than 20% in both medium and also with high abundance in DRBC17 have been *A. repens* (21.23%), *C. sphaerospermum* (9.72%), and *A. flavus* (9.52%). Whereas the frequent ones in DRBC have been *C. cladosporioides* (15.05%) *P. commune* (9.34%), *P. polonicum* (7.71%), and *C. sphaerospermum* (4.51%). Interestingly, *A. amstelodami* has only been isolated in DRBC17 and has been the species that has showed both very frequent occurrence (>20%) and high abundance (9.13%) (Table 2 and Fig 4). It has been isolated from the samples of saltpan and lake water of two stations in autumn and winter.



Table 2. Dynamics of the fungal taxa isolated from three salterns at Tuz Lake (on two media DRBC and DRBC17). Frequency of occurrence ***very frequent (>20%), **frequent (10-20%), and *infrequent (<10%)

Taxa	NCBI ACCESSION	Relative abundance (%) /Frequency of occurrence (*)	
		DRBC	DRBC17
<i>Acremonium potronii</i> Vuill. (x)	<u>KY458479</u>	-	0.60 /(*)
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. (Astmküf)	<u>KY439023</u>	2.12 /(**)	0.99 /(*)
<i>A. arborescens</i> E.G. Simmons (Tasküf)	<u>KY458470</u>	0.49 /(*)	-
<i>A. brassicae</i> (Berk.) Sacc. (Lahanaküf)		1.52 /(*)	-
<i>A. consortialis</i> (Thüm.) J.W. Groves and S. Hughes (x)	<u>KY458467</u>	1.88 /(**)	-
<i>A. infectoria</i>	<u>KY458469</u>	1.41 /(***)	1.19 /(*)
<i>A. tenuissima</i>	<u>KY439017</u>	1.41 /(***)	0.20 /(*)
<i>A. telluris</i> (E.G. Simmons) Woudenb. and Crous (x)	<u>KY439021</u>	0.27 /(**)	-
<i>A. phragmospora</i> Emden (x)	<u>KY458487</u>	0.16 /(*)	-
<i>Arthrinium arundinis</i>	<u>KY458464</u>	1.20 /(***)	0.99 /(**)
<i>A. phaeospermum</i> (Corda) M.B. Ellis (Odun kütlesi)	<u>KY439016</u>	0.87 /(**)	-
<i>Aspergillus alliaceus</i> Thom and Church (Tembel asper)		0.60 /(**)	-
<i>A. amstelodami</i>	<u>KY439027</u>	-	9.13 /(***)
<i>A. chevalieri</i>	<u>KY439032</u>	2.55 /(***)	0.99 /(**)
<i>A. flavus</i>	<u>KY458486</u>	4.24 /(***)	9.52 /(***)
<i>A. nidulans</i> (Eidam) G. Winter (Çıplak asper)	<u>KY439029</u>	0.05 /(*)	-
<i>A. neoniveus</i>	<u>KY439030</u>	2.01 /(***)	0.40 /(*)
<i>A. penicillioides</i> Speg. (Çarpık asper)	<u>KY458475</u>	0.11 /(*)	1.98 /(*)
<i>A. repens</i> .		0.38 /(***)	21.23 /(***)
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. (Böcekküf)	<u>KY439035</u>	0.16 /(*)	-
<i>Botrytis cinerea</i> Pers (Kurşuniküf)	<u>KY439019</u>	0.11 /(*)	-
<i>Chalastospora gosspii</i> E.G. Simmons (İncekatar)	<u>KY458477</u>	0.38 /(**)	0.99 /(*)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<u>KY458490</u>	15.05/(***)	2.38 /(**)
<i>C. herbarum</i>	<u>KY458497</u>	4.35 /(***)	-
<i>C. ossifragi</i> (Rostr.) U. Braun and K. Schub. (x)	<u>KY458493</u>	5.98 /(**)	6.75 /(*)
<i>C. sphaerospermum</i>	<u>KY458492</u>	4.51 /(***)	9.72 /(***)
<i>C. uredinicola</i>	<u>KY439020</u>	1.09 /(***)	-
<i>Curvularia inaequalis</i>	<u>KY439028</u>	2.55 /(***)	-
<i>Epicoccum</i> sp. Link (Boyalıküf)	<u>KY458494</u>	0.65 /(**)	0.20 /(*)
<i>Fusarium proliferatum</i> (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach and Nirenberg (Delik solduran)		1.30 /(**)	-
<i>Leptospora galii</i> N.L. de Silva and K.D. Hyde (x)	<u>KY458465</u>	0.38 /(*)	-
<i>Mucor racemosus</i>	<u>KY458466</u>	0.43 /(**)	2.58 /(***)
<i>Nigrospora oryzae</i> (Berk. and Broome) Petch (Çeltik karasporu)	<u>KY458482</u>	0.05 /(*)	-
<i>Penicillium atrovenerum</i>	<u>KY439033</u>	2.23 /(***)	4.96 /(**)
<i>P. aurantiogriseum</i> Dierckx (Çok penisilyum)	<u>KY439026</u>	0.16 /(*)	-
<i>P. brevicompactum</i>	<u>KY439015</u>	0.76 /(***)	1.98 /(*)
<i>P. canescens</i> Sopp (Verimli penisilyum)	<u>KY458474</u>	0.49 /(**)	-
<i>P. citrinum</i>	<u>KY439022</u>	7.50 /(***)	8.53 /(**)
<i>P. commune</i>	<u>KY458471</u>	9.34 /(***)	2.58 /(***)
<i>P. solitum</i>		3.20 /(***)	2.78 /(*)
<i>P. decumbens</i>	<u>KY458484</u>	2.66 /(***)	-
<i>P. expansum</i> Link (Geniş penisilyum)	<u>KY439037</u>	0.33 /(**)	-
<i>P. granulatum</i> Bainier (Yamuk penisilyum)	<u>KY439025</u>	0.87 /(**)	0.20 /(*)
<i>P. hordei</i>	<u>KY458472</u>	0.49 /(***)	0.99 /(*)
<i>P. nalgioense</i> Laxa (Bolsulu penisilyum)	<u>KY439024</u>	0.05 /(*)	0.99 /(*)
<i>P. polonicum</i>	<u>KY458478</u>	7.71 /(***)	4.96 /(***)
<i>P. raistrickii</i> G. Sm. (Pütürlü penisilyum)	<u>KY439018</u>	0.54 /(**)	0.60 /(*)



Taxa	NCBI ACCESSION	Relative abundance (%) /Frequency of occurrence (*)	
		DRBC	DRBC17
<i>P. spinulosum</i> Thom (İğneli penisilyum)	KY439036	0.22 /(**)	0.40 /(*)
<i>Pleospora bjoerlingii</i> Byford (Gömükömür)		0.76 /(*)	0.40 /(*)
<i>Pseudopithomyces chartarum</i> (Berk. and M.A. Curtis) Jin F. Li, Ariyaw. and K.D. Hyde (Benekliküf)	KY458473	0.11 /(*)	-
<i>Pringsheimia euphorbia</i> Froid. (x)	KY458476	0.05 /(*)	-
<i>Sordaria</i> sp. Ces. and De Not. (Keneküf)	KY458496	2.01 /(*)	-
<i>Stemphylium solani</i> G.F. Weber (Küt durusefil)	KY458468	0.76 /(**)	0.60 /(*)
<i>Talaromyces flavus</i> (Klöcker) Stolk and Samson (Sarı süpürge)		0.22 /(**)	-
Unidentified isolates		2.17	-

(x) Not listed species on "The Checklist of Fungi of Turkey" (Güner et al., 2020)

The species names have been updated according to the indexfungorum.org website (Index Fungorum, 2021)

The tree with the highest log likelihood (-20250.71) is shown. The percentage of trees in which the associated taxa clustered together is shown next to the branches. Initial tree(s) for the heuristic search were obtained automatically by applying Neighbor-Join and BioNJ algorithms to a matrix of pairwise distances estimated using the Tamura-Nei model, and then selecting the topology with superior log likelihood value. The tree is drawn to scale, with branch lengths measured in the number of substitutions per site. This analysis involved 100 nucleotide sequences. There were a total of 1916 positions in the final dataset.

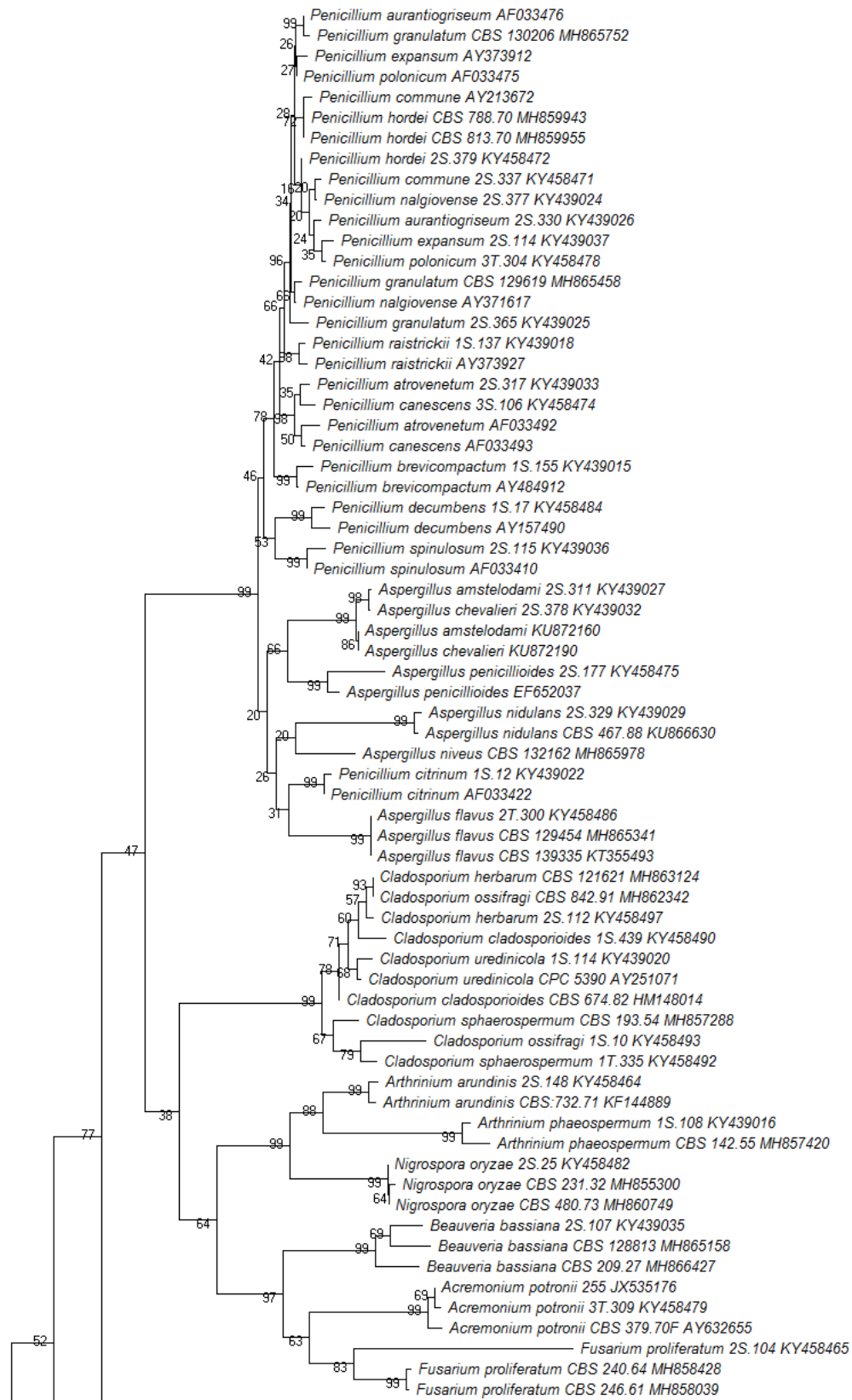
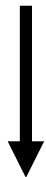
The number of species in the stations have varied from 26 to 32 on DRBC, while on DRBC17 has showed a lower number between 7-17. The values of Simpson Diversity Index and Shannon Diversity Index have varied between 0.653 and 0.908, 1.370 and 2.721 respectively. According to these indexes, no significant difference has been observed in Tuz Lake salterns and lake water in terms of diversity (Table 3).

Discussions

The oceans are the largest bodies of saline water on earth with average salinities of 3.5 % (35 g/L, 0.6 M). Hypersaline environments, denoted thalassohalines, are similar to sea water in terms of salt composition but they have a salinity of 35%, which is 10 times higher than that of seawater and this rate increases as a consequence of evaporation of nearby seawaters or salt-water lakes (DasSarma and DasSarma, 2012). In such waters including Tuz Lake, sodium and potassium ions are present at higher concentrations than calcium and

magnesium ions. Due to the high temperature in summer as evaporation of seawater proceeds, the crystalline NaCl ratio increases. As a result, sodium ions in water decreases while chlorides of Mg, Ca, and K become dominant and pH tends to be slightly acidic (Oren, 2016; Uygun and Şen, 1978). This remarkable result supports to the fact that the water samples collected in summer are slightly acidic and close to saturated salinity (Table 1).

The fungi growing below a_w 0.85 have been characterized as xerophilic/halophilic (Pitt and Hocking, 2009). Therefore, we have used DRBC medium with high salt concentration of salt (17% NaCl) for selective isolation of halotolerant and halophilic fungi. Halotolerant and halophilic fungi have been described as active inhabitants of hypersaline environments. The mycobiota that inhabit in these natural hypersaline environments consists of phylogenetically unrelated halotolerant, extremely halotolerant and halophilic fungi. Dominant representatives are different species of black yeast-like and related melanized fungi of the genus *Cladosporium*, different species belonging to the genus *Aspergillus* and *Penicillium*, some non-melanized yeast species and *Wallemia* spp.(Gunde-Cimerman and Zalar, 2014). So far, the presence of these fungi in different salterns and salt lakes around the world has been reported. Tuz Lake, which are among the few salt lakes in the world, have not been the subject of a detailed study which is carried out to determine the fungal biodiversity so far. Within the scope of this study, the fungal species that are isolated from saltpans and lake water samples seasonally taken are given in Table 2.



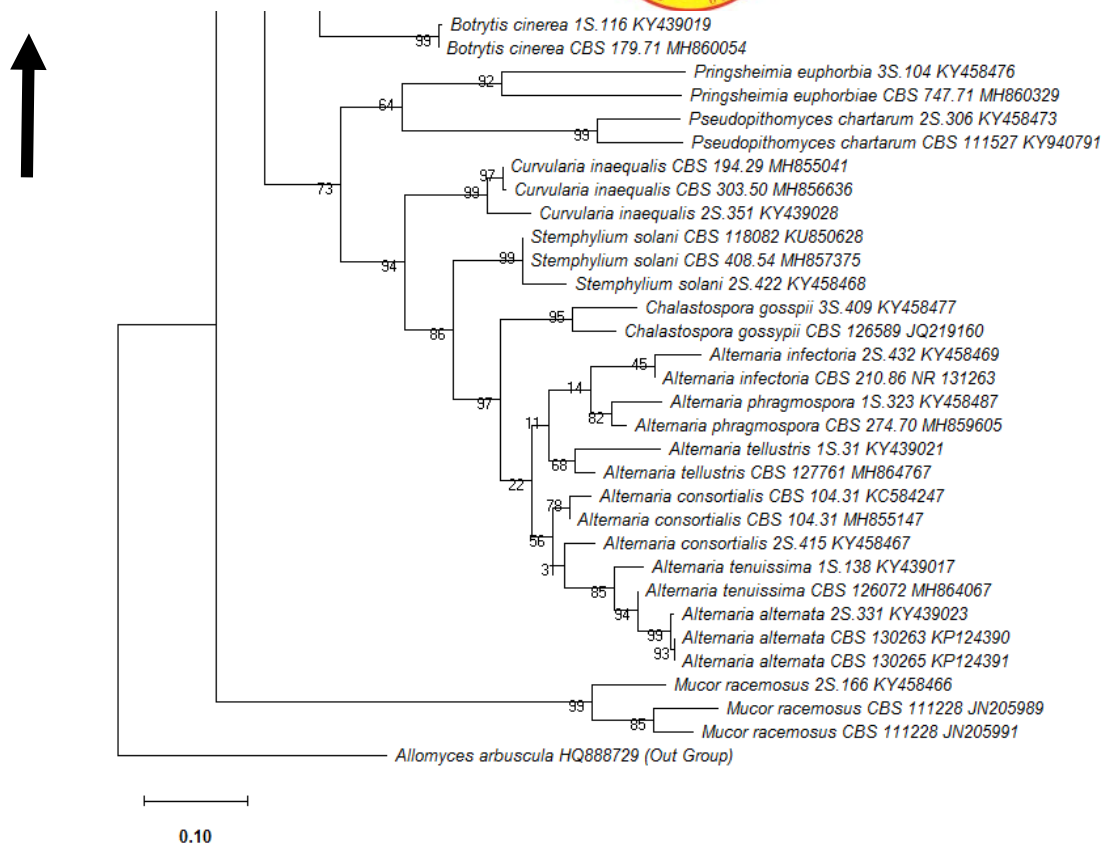


Figure 3. Best-scoring maximum likelihood tree based on ITS sequences of isolates showing the relationships of the newly generated sequences in this study with previously known taxa in the NCBI GenBank. The tree is rooted with *Allomyces arbusculus* (HQ888729) (bootstrap 1000).

The fact that most of the species isolated using DRBC medium have not followed a consistent spatial or temporal pattern indicates that most species are not unique to Tuz Lake brine. However, it is thought that species that have been isolated during at least three seasons and have a high frequency of occurrence are probably specific to Tuz Lake. These were *A. infectoria*, *A. tenuissima*, *A. flavus*, *C. cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. sphaerospermum*, *C. uredinicola*, *Curvularia inaequalis*, *P. atrovenetum*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. solitum*, *P. hordei*, and *P. polonicum*. The species isolated using DRBC17 medium are *A. amstelodami*, *A. flavus*, *A. repens*, *P. commune*, *P. polonicum* and *M. racemosus* and they all have been followed by a consistent spatial and temporal pattern (Table 2).

Some of the non-prominent species in DRBC are actually the species inhabiting in the Tuz Lake and some of them have been supported by the data obtained with DRBC17. For example, *A. potronii* and *A. amstelodami* (previously known as *Eurotium amstelodami*) have only been isolated on DRBC17 medium. *A. potronii* seems to

be an external contamination because of its low frequency of occurrence (<10%). However, the growth of *Acremonium* species in DRBC17 medium and the fact that it has been previously reported to be a natural members of hypersaline waters reveal that it is not an external contamination (Cantrell and Baez-Félix, 2010; Cantrell et al., 2013).

Aspergillus, *Penicillium* and *Talaromyces* are diverse genera which belong to the Order *Eurotiales* and contain a large number of species possessing a worldwide distribution and a huge range of ecological habitats. Some members are able to grow in extreme environments such as those with high/low temperatures, high salt/sugar concentrations, low acidities or low oxygen levels (Tsang et al., 2018). *Aspergillus* section *Restricti* together with sister section *Aspergillus* (formerly *Eurotium*) comprises xerophilic species, that are able to grow on substrates with low water activity and in extreme environments (Sklenář et al., 2017). Butinar et al. (2005b) have reported that *A. amstelodami* was detected most consistently, at salinities above 17% NaCl. The fact that



A. amstelodami was isolated in high frequency (> 20%) using DRBC17 (a_w 0.89) medium rather than in salt-free DRBC medium according to the results of present study supports its salt requirement or low water activity demand. In addition, the same study has reported that *A. repens* (formerly *Eurotium repens*) and *A. herbariorum* (formerly *E. herbariorum*), *A. rubrum* (formerly *E. rubrum*), *A. chevalieri* (formerly *E. chevalieri*) have repeatedly been isolated in a mycodiversity study of hypersaline waters

(Butinar, et al., 2005b). *A. chevalieri* and *A. repens* have been isolated from Tuz Lake with both media but *A. repens* have been found to have higher frequency (> 20%) and abundance (21.23%) in DRBC17 than in DRBC medium. As seen in *A. amstelodami* and *A. repens*, the use of selective media with high salt concentration or low water activity (17%, a_w 0.89) in fungal isolations is effective in detecting fungal diversity.

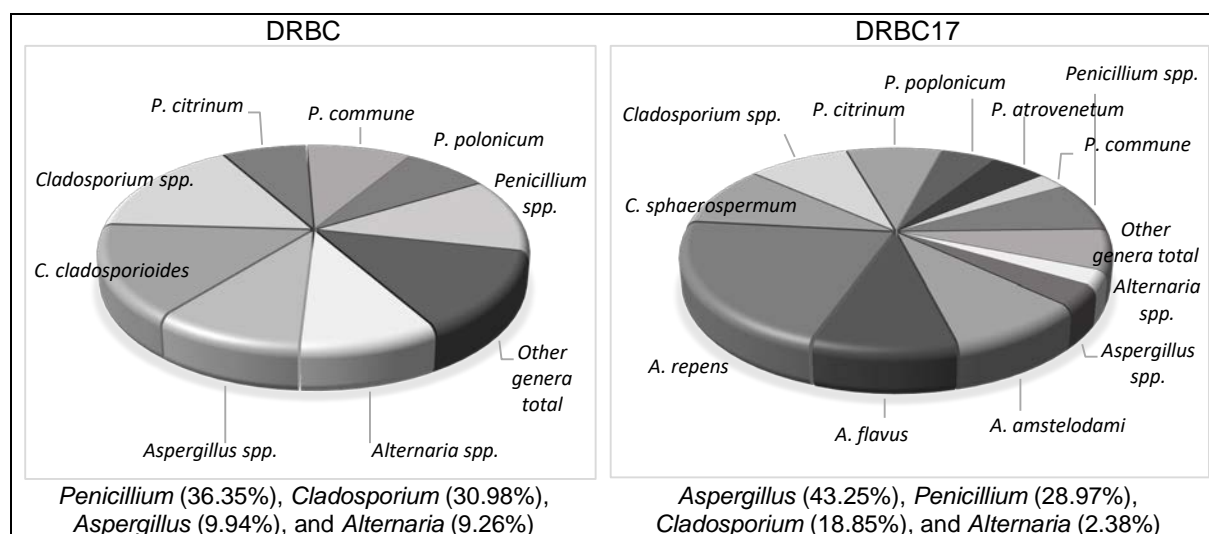


Figure 4. The abundances of dominant fungal taxa isolated from Tuz Lake on DRBC and DRBC17.

Other *Aspergillus* species isolated from Tuz Lake salterns and lake water have been *A. alliaceus*, *A. flavus*, *A. nidulans* (formerly *Emericella nidulans*), *A. neoniveus*, *A. penicillioides*. Among them, *A. flavus* has same frequency of occurrence in both medium while it has been isolated at higher abundance (9.52%) in the medium with low water activity (DRBC17). The others have formed only a small number of colonies on DRBC medium or on both media at low frequency (Table 2). *A. penicillioides*

has been found only in autumn with low frequency of occurrence and rarity (0.11% on DRBC and 1.98% on DRBC17). It is a true halophile, present in polyhaline systems, and in different geographical locations (Nazareth and Gonsalves, 2014a). It has been found in diverse habitats with low a_w , such as the Dead Sea, solar salterns, mangroves, estuary (Ali et al., 2013; Gonsalves et al., 2012; Nayak et al., 2012; Nazareth and Gonsalves, 2014b).

Table 3. Diversity parameters of the microfungi isolated from water samples on DRBC and DRBC17 media.

		STATION NAME					
	Indices	KAY-SW	KAY-LW	KAL-SW	KAL-LW	YAV-SW	YAV-LW
DRBC	(S)	31	27	32	29	27	26
	(n)	337	366	270	416	223	244
	Simpson	0.901	0.890	0.879	0.856	0.877	0.824
	Shannon	2.721	2.656	2.680	2.503	2.500	2.367
	Evenness	0.49	0.53	0.46	0.42	0.45	0.41
DRBC17	(S)	14	11	7	17	7	10
	(n)	168	141	59	74	24	36
	Simpson	0.865	0.792	0.653	0.908	0.816	0.838
	Shannon	2.221	1.843	1.370	2.558	1.813	2.038
	Evenness	0.66	0.57	0.56	0.76	0.88	0.77

(S): Number of Taxa, (n) Total number of Individuals, KAY: Kayacık, KAL:Kaldırım, YAV:Yavşan Salterns, SW: Saltpan Water, LW: Lake Water



In addition to *Aspergillus* spp., the *Penicillium* species have been isolated most frequently from diverse polar ecological niches to various saline environments (Gunde-Cimerman et al., 2005). In this study, fifteen different species of the genus *Penicillium* have been identified by being isolated from saltpans and Tuz Lake water samples. Among them, *P. atrovenetum*, *P. brevicompactum*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. solitum*, *P. granulatum*, *P. hordei*, *P. nalgiovense*, *P. polonicum*, *P. raistrickii*, and *P. spinulosum* have been isolated in both media. The other species have developed only a small number of colonies on DRBC medium at low frequency (Table 2). *P. decumbens* has been isolated only in DRBC at high frequency of occurrence (> 20%) and abundance (2.66%). Among the species with high frequency of occurrence (> 20%), *P. commune* (9. %), *P. polonicum* (7.71%) and *P. citrinum* (7.50%) have been the leading species in terms of abundance. Most of *Penicillium* species isolated from Tuz Lake, primarily *P. brevicompactum*, *P. citrinum*, *P. solitum* and *P. decumbens* have been reported in various saline environments (Cantrell et al., 2006; Gonsalves et al., 2012; Gunde-Cimerman et al., 2009).

An important group of extremophilic fungi within *Capnodiales* are members of the genus *Cladosporium*. The halophilic and halotolerant mycobiota from hypersaline aqueous habitats worldwide frequently contain these fungi (Butinar et al., 2005a; Gunde-Cimerman et al., 2000; Zalar et al., 2007). Five species belonging to the genus *Cladosporium*, which are reported as dominant representatives of the hypersaline environments, have been isolated from the Tuz Lake. *C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum*, and *C. herbarum* have been found as prominent species in terms of frequency of occurrence (>20% for all) and abundance (15.05%, 4.51%, 4.35% respectively) in DRBC medium (Table 2). In contrast to the salt-free medium (DRBC), the abundance of *C. sphaerospermum* (9.72%) in the medium containing 17% salt (DRBC17) has been higher than that of *C. cladosporioides*. This is noteworthy, Hocking et al. (1994) have reported that *C. cladosporioides* and *C. sphaerospermum* have germinated at a minimum a_w of 0.815. *C. sphaerospermum* have also grown at this a_w , but germinating conidia of *C. cladosporioides* have not produce microcolonies. Although it has been reported from various habitats including osmotically stress-free niches, this apparent osmotolerance supports that *C. sphaerospermum* prefers osmotic stressed environments

and therefore, it could be inferred that it is a permanent member of the hypersaline environments. A similar situation could be said for *C. ossifragi*, although its frequency of occurrence and relative abundance in DRBC (<10-20%, 5.98% respectively) and DRBC17 medium (<10%, 6.75% respectively) are not high.

Three of the eight *Alternaria* spp. isolated in this study, *A. alternata*, *A. infectoria*, and *A. tenuissima*, have grown on both media. Although their relative abundance and frequency of occurrence are lower, the growth of these three species in DRBC17 is a sign that they have a tolerance against high salt concentrations. *A. alternata* is the most frequently isolated species from hypersaline environments (Gunde-Cimerman et al., 2005; Özgök and İlhan, 2020) and it has been discovered in various saline environments including in hypersaline stream water in România (Diguță et al., 2018). In addition to *Alternaria* members, *Chalastospora gosspii* and *Stemphylium solani* isolated from water samples within this study belong to the three genera included in the *Alternaria* complex (Woudenberg et al., 2013). They have a low frequency and are rare species in water samples of Tuz Lake.

Diversity index values showed that fungal diversity is high in Tuz Lake saltpans and lake water and species that cause diversity between stations were quite different species.

In this study, we have determined the fungus species found in the Tuz Lake water and salterns which represents one of the extreme environments believed to be too harsh for the growth of fungi. Our results support the fact that such organisms can survive in extreme environments with low water activity, high salt concentration, and UV light from the sun, and the results obtained in this study generally comply with those of similar studies of fungi isolated from different hypersaline environments.

This study has showed that the mycobiota of the Tuz Lake has a high diversity and that the majority of the isolated species are permanent members of the saline environments. It has been found out that the adapted species to the hypersaline environments belonged to the genus *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, and *Alternaria*. The species highly represented in the mycobiota of the Tuz Lake are *P. citrinum*, *P. polonicum*, *P. atrovenetum*, *P. commune*, *A. repens*, *A. amstelodami*, *A. flavus*, *C. sphaerospermum*, *C. cladosporioides*, and *A. alternata*.

Some of the filamentous fungi species which contaminated by environmental sources constitute the



temporary inhabitants of Tuz Gölü and they survive for short periods in salt water. On the other hand, it is becoming increasingly clear that Tuz Lake has an indigenous mycobiota that has adapted to long-term survival and possibly even vegetative growth under specific conditions. The species that are isolated repeatedly in every season and in different locations, in other words, are the species with a high spatiotemporal distribution and adapted best to the harsh conditions of the lake. Studies on salt tolerance and genetic structure on these species will contribute to the understanding of true inhabitants.

The fungal diversity of hypersaline environments could be best studied with a combination of traditional and

modern techniques. Therefore, in the identification of fungal isolates obtained with culture-dependent approach, the use of molecular techniques has been complementary in cases where the traditional methods are insufficient. Furthermore, it has been revealed that the use of selective media with different salt concentration in fungal isolations is effective in detecting fungal diversity.

Acknowledgement

This study has been supported by Scientific Research Projects Commission of Eskişehir Osmangazi University with a Project number of 201219A204.

We thank Assoc. Prof. Dr. R. Demirel for her help in identifying the samples.

References

- Ali, I., Kanhayuwa, L., Rachdawong, S., and Rakshit, S. K. (2013). Identification, Phylogenetic Analysis and Characterization of Obligate Halophilic Fungi Isolated from a Man-Made Solar Saltern in Phetchaburi Province, Thailand. *Annals Microbiol.*, 63(3), 887-895.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., and Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a New Generation of Protein Database Search Programs. *Nucleic Acids Res.*, 25(17), 3389-3402.
- Andrews, S., and Pitt, J. (1987). Further Studies on The Water Relations of Xerophilic Fungi, Including Some Halophiles. *Microbiol.*, 133(2), 233.
- Asan, A. (2004). *Aspergillus, Penicillium* and Related Species Reported from Turkey. *Mycotaxon*, 89(1), 155-157.
- Barnett, H. and Hunter, B. (1999). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (4th ed.): St. Paul: APS.
- Birbir, M., Calli, B., Mertoglu, B., Bardavid, R. E., Oren, A., Ogmen, M. N., and Ogan, A. (2007). Extremely Halophilic Archaea from Tuz Lake, Turkey, and the Adjacent Kadirim and Kayacik Salterns. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23(3), 309-316.
- Buchalo, A., Nevo, E., Wasser, S., Oren, A., and Molitoris, H. (1998). Fungal Life in The Extremely Hypersaline Water of the Dead Sea: First Records. *Proc. Royal Soc. B*, 265(1404), 1461-1465.
- Butinar, L., Sonjak, S., Zalar, P., Plemenitaš, A., and Gunde-Cimerman, N. (2005a). Melanized Halophilic Fungi are Eukaryotic Members of Microbial Communities in Hypersaline Waters of Solar Salterns. *Botanica Marina*, 48(1), 73-79.
- Butinar, L., Zalar, P., Frisvad, J. C., and Gunde-Cimerman, N. (2005b). The Genus *Eurotium*—Members of Indigenous Fungal Community in Hypersaline Waters of Salterns. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 51(2), 155-166.
- Cantrell, S. A., and Baez-Félix, C. (2010). Fungal Molecular Diversity of a Puerto Rican Subtropical Hypersaline Microbial Mat. *Fungal Ecol.*, 3(4), 402-405.
- Cantrell, S. A., Casillas-Martinez, L., and Molina, M. (2006). Characterization of Fungi from Hypersaline Environments of Solar Salterns using Morphological and Molecular Techniques. *Mycol. Res.*, 110(8), 962-970.
- Cantrell, S. A., Gunde-Cimerman, N., Zalar, P., Acevedo, M., and Báez-Félix, C. (2013). Fungal Communities of Young and Mature Hypersaline Microbial Mats. *Mycologia*, 827-836.
- Cronin, E. A., and Post, F. J. (1977). Report of a Dematiaceous Hyphomycete from the Great Salt Lake, Utah. *Mycologia*, 69(4), 846-847.
- DasSarma, S., and DasSarma, P. (2012). Halophiles. In *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester: Sons Ltd.
- Dengiz, O., Ozcan, H., Koksall, E. S., Baskan, O., and Kosker, Y. (2010). Sustainable Natural Resource Management and Environmental Assessment in the Salt Lake (Tuz Golu) Specially Protected Area. *Environ. Monitor. Assess.*, 161(1-4), 327-342.
- Diguță, C. F., Proca, I. G., Jurcoane, Ș., and Matei, F. (2018). Molecular Characterization by PCR-RFLP of Indigenous Fungal Isolates from Hypersaline Stream Water in România. *Folia Microbiol.*, 1-8.
- Ellis, M. (1965). *Dematiaceous Hyphomycetes*: Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- Gonsalves, V., Nayak, S., and Nazareth, S. (2012). Halophilic Fungi in a Polyhaline Estuarine Habitat. *J. Yeast Fungal Res.*, 3(3), 30-36.
- Graham, G., Mayers, P., and Henry, R. (1994). A simplified method for the preparation of fungal genomic DNA for PCR and RAPD analysis. *Biotechniques*, 16(1), 48-50.



- Gunde-Cimerman, N., Butinar, L., Sonjak, S., Turk, M., Uršič, V., Zalar, P., and Plemenitaš, A. (2005). Halotolerant and Halophilic Fungi from Coastal Environments in the Arctics. In N. Gunde-Cimerman, A. Oren, and A. Plemenitaš (Eds.), *Adaptation to Life at High Salt Concentrations in Archaea, Bacteria, and Eukarya*. Springer.
- Gunde-Cimerman, N., Ramos, J., and Plemenitas, A. (2009). Halotolerant and Halophilic Fungi. *Mycol. Res.*, 113(11), 1231-1241.
- Gunde-Cimerman, N., and Zalar, P. (2014). Extremely Halotolerant and Halophilic Fungi Inhabit Brine in Solar Salterns Around the Globe. *Food Technol. Biotechnol.* 52(2), 170-179.
- Gunde-Cimerman, N., Zalar, P., de Hoog, S., and Plemenitaš, A. (2000). Hypersaline Waters in Salterns—Natural Ecological Niches for Halophilic Black Yeasts. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 32(3), 235-240.
- Güner, A., Akata, I., Akgül, H., Akyüz, E., Alkayış, M.F., Allı, H., Asal, D., Asan, A., Aydınkal, R.M., Aydoğdu, H., Can, M., Çingay, B., Çimen, A.Ö., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Gemici, A., Genç, S.H., Giray, G., İkinci, N., İnci, Ş., Kabaktepe, Ş., Kadioğlu, Z., Kanoğlu, S.S., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keskin, M., Kırbacı, S., Körüklü, S.T., Kültür, Ş., Özcan, A., Özkale, E., Özkan, A.M., Öztekin, M., Öztürk, C., Sarısoy, G., Selçuk, F., Sesli, E., Sevindik, M., Sözen, K.B., Tekşen, M., Ulukapı M., Yalçınkaya, R., Yaşarkan, O., (2020). Türkçe Mantar Adları. Şu eserde: Sesli, E., Asan, A. ve Selçuk, F. (edlr.). *Türkiye Mantarları Listesi*. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul.
- Hocking, A. D., Miscamble, B. F., and Pitt, J. (1994). Water Relations of *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Curvularia lunata* and *Curvularia pallescens*. *Mycol. Res.*, 98(1), 91-94.
- King Jr, A., Hocking, A., and Pitt, J. (1979). Dichloran-Rose Bengal Medium for Enumeration and Isolation of Molds from Foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37(5), 959-964.
- Kis-Papo, T., Grishkan, I., Oren, A., Wasser, S., and Nevo, E. (2001). Spatiotemporal Diversity of Filamentous Fungi in the Hypersaline Dead Sea. *Mycol. Res.*, 105(06), 749-756.
- Kis-Papo, T., Oren, A., Wasser, S., and Nevo, E. (2003). Survival of Filamentous Fungi in Hypersaline Dead Sea Water. *Microb. Ecol.*, 45(2), 183-190.
- Klich, M. (2002). *Identification of Common Aspergillus Species*. 122 pp. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- Kumar, S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35:1547-1549.
- Magurran, A. E. (2013). *Measuring biological diversity*. John Wiley and Sons.
- Maria, G., and Sridhar, K. (2003). Diversity of Filamentous Fungi on Woody Litter of Five Mangrove Plant Species from The Southwest Coast of India. *Fungal Divers.*, 14, 109-126.
- Murray, M., and Thompson, W. (1980). Rapid Isolation of High Molecular Weight Plant DNA. *Nucleic Acids Res.*, 8(19), 4321-4326.
- Mutlu, M. B., Martiez-Garcia, M., Santos, F., Pena, A., Guven, K., and Anton, J. (2008). Prokaryotic Diversity in Tuz Lake, a Hypersaline Environment in Inland Turkey. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 65(3), 474-483.
- Nayak, S. S., Gonsalves, V., and Nazareth, S. W. (2012). Isolation and Salt Tolerance of Halophilic Fungi from Mangroves and Solar Salterns in Goa-India. *Indian J. Geo-Marine Sci.*, 41, 164-172.
- Nazareth, S., Gonsalves, V., and Nayak, S. (2012). A First Record of Obligate Halophilic Aspergilli from the Dead Sea. *Indian J Microbiol.*, 52(1), 22-27.
- Nazareth, S. W., and Gonsalves, V. (2014a). *Aspergillus penicillioides*—a True Halophile Existing in Hypersaline and Polyhaline Ecniches. *Ann. Microbiol.*, 64(1), 397-402.
- Nazareth, S. W., and Gonsalves, V. (2014b). Halophilic *Aspergillus penicillioides* from Athalassohaline, Thalassohaline, and Polyhaline Environments. *Front Microbiol.*, 5, 412.
- Oren, A. (2016). Life in High-Salinity Environments. In *Manual of Environmental Microbiology*, Fourth Edition: American Society of Microbiology.
- Özgök, Ö., and İlhan, S. (2020). Diversity and Distribution of Dematiaceous Fungi in Çamaltı Saltern in İzmir Province, Turkey. *J. Fungus*, 11(1), 29-39.
- Pitt, J. (1979). *The genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces*. 634 pp. London etc.
- Pitt, J., and Hocking, A. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Springer Verlag.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., and Frisvad, J. C. (2004a). *Introduction to Food-and Airborne Fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS).
- Samson, R. A., Seifert, K. A., Kuijpers, A. F., Houbraken, J., and Frisvad, J. C. (2004b). Phylogenetic Analysis of *Penicillium* Subgenus *Penicillium* using Partial β -tubulin Sequences. *Stud. Mycol.*, 49, 175-200.
- Sarma, V., and Hyde, K. D. (2001). A Review on Frequently Occurring Fungi in Mangroves. *Fungal Diver.*, 8, 1-34.
- Sklenář, F., Jurjević, Ž., Zalar, P., Frisvad, J. C., Visagie, C. M., Kolařík, M., Houbraken, J., Chen, A. J., Yilmaz, N., Seifert, K. A., Coton, M., Déniel, F., Gunde-Cimerman, N., Samson, R. A., Peterson, S. W. Hubka, V. (2017). Phylogeny of Xerophilic Aspergilli (Subgenus *Aspergillus*) and Taxonomic Revision of Section Restricti. *Stud. Mycol.*, 88, 161-236.



- Tamura, K. and Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol.Evol.* 10:512-526.
- Tsang, C.-C., Tang, J. Y. M., Lau, S. K. P., and Woo, P. C. Y. (2018). Taxonomy and Evolution of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* in the Omics Era – Past, Present and Future. *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, 16, 197-210.
- UNESCO. (<https://whc.unesco.org/en/tentativelists/5824/>). Lake Tuz Special Environmental Protection Area (SEPA).
- Uygun, A., and Şen, E. (1978). The Salt Lake Basin and Natural Resources I: Geochemistry of the Brine of the Salt Lake (Central Anatolia-Turkey). *Bull. Geol. Soc.Turkey*, 21, 113-120.
- White, T., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In *PCR protocols: a guide to methods and applications* (pp. 315-322): Academic Press.
- Woudenberg, J., Groenewald, J., Binder, M., and Crous, P. (2013). *Alternaria* Redefined. *Stud Mycol.*, 75, 171-212.
- Zalar, P., De Hoog, G., Schroers, H.-J., Crous, P., Groenewald, J. Z., and Gunde-Cimerman, N. (2007). Phylogeny and Ecology of the Ubiquitous Saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with Descriptions of Seven New Species from Hypersaline Environments. *Stud Mycol.*, 58(1), 157-183.
- <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>.



Geliş(Received) :21.10.2020
Kabul(Accepted) :16.06.2021

Research Article
Doi: 10.30708.mantar813081

***Leratiomyces percevalii*, A New Record for Turkish Mycobiota**

İsmail ACAR¹, Yusuf UZUN², Mustafa Emre AKÇAY³, Sedat KESİCİ⁴

* Corresponding author: iacar2011@gmail.com

¹ Van Yuzuncu Yil University, Başkale Vocational High School, Department of Organic Agriculture, Van, Turkey
Orcid No:0000-0002-6049-4896 / iacar2011@gmail.com

²Van Yüzüncü Yil University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Sciences, 65080,
Van, Turkey

Orcid No: 0000-0002-0537-4517 / yusufuzun2004@yahoo.com

³Van Yüzüncü Yil Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 65080 Van, Türkiye

Orcid No: 0000-0002-9215-3383 / memreakcay@gmail.com

⁴Hakkari University, Yüksekova Vocational High School, Department of Plant and animal, Hakkari,
Turkey

Orcid No: 0000-0002-0284-1247 / kesicisedat30@gmail.com

Abstract: This study was conducted on macrofungus samples collected in Hakkari-Şemdinli and Yüksekova districts in 2014. According to field and laboratory data *Leratiomyces percevalii* (Berk. & Broome) Bridge & Spooner species which was identified for the first time in Turkey and added to the macromycota database of our country as new record. Thus, the number of species belonging to the genus in our country has increased to two. A short description of the species is given along with macroscopic and microscopic pictures.

Key words: *Basidiomycota*, Agaricales, *Leratiomyces percevalii*, Hakkari

***Leratiomyces percevalii*, Türkiye Mikobiyotası için Yeni Bir Kayıt**

Öz: Bu çalışma 2014 yılında Hakkari-Şemdinli ve Yüksekova ilçelerinde toplanan makrofungus örnekleri üzerinde yapılmıştır. Arazi ve laboratuvar verilerine göre teşhisi yapılan *Leratiomyces percevalii* (Berk. & Broome) Bridge & Spooner türü Türkiye'den ilk kez belirlenmiş ve ülke Makromikota veritabanına yeni kayıt olarak ilave edilmiştir. Böylece ülkemizdeki cinse ait tür sayısı ikiye çıkmıştır. Türün makroskobik ve mikroskobik resimleri ile birlikte kısa deskripsiyonu verilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Basidiomycota*, Agaricales, *Leratiomyces percevalii*, Hakkari

Introduction

The agaric family *Strophariaceae* Singer & A.H. Sm. includes dark-spored mushrooms inhabiting a wide diversity of substrates, including litter, decaying wood, mosses, dung, fields, pastures, gardens and swamps (Singer 1986).

Until 2008, the species belonging to *Leratiomyces* were *Stropharia*, *Hypholoma*, *Psilocybe* and *Weraroa*.

The name *Leratiomyces* Bresinsky & Manfr. Binder was first proposed by Bresinsky and Binder (1998), and it was thought that this name would replace the generic name "Le Ratia" for the secondary mushrooms Patouillard (1907) to present small mushrooms from New Caledonia.

Later, Bridge et al. (2008) adopted the name *Leratiomyces* by making changes in the identification of the genus to describe the secotiaceous mushroom species. However, it was not published under the name *Leratiomyces* proposed by Bresinsky and Binder (1998).

As a result, the name issue was published as a valid name by Redhead and McNeill (2008) by studying all the features of the genus in detail.

Species of *Leratiomyces* are saprotrophic fungi and found in soil, wood debris and decayed trees, as well as plant debris, sandy soil and dry grassland habitats (Noordeloos.2011; Ryman 2012).

Leratiomyces genera is represented by 13 species worldwide and only one species *L. squamosus* (Pers.)



Bridge & Spooner is determined in Turkey until now (Sesli et al., 2020).

The number of *Leratiomyces* taxa present in Turkey was recorded as single species according to checklist of Turkish mycota (Sesli et al., 2020) and research studies conducted in Turkey (Güngör et al. 2015; Acar et al 2017; Akata, 2017; Allı et al., 2017; Altuntaş et al., 2017; Uzun et al., 2017; Akata et al., 2018; Acar and Kalmer 2018; Acar et al., 2018; Doğan 2018; Işık and Türkekul, 2018; Sadullahoğlu and Demirel 2018; Uzun and Kaya, 2018; Acar et al., 2019; Akata et al., 2019; Dizkırıncı et al., 2019; Kalmer et al. 2019; Acar et al. 2021), and it was aimed to increase this number to 2 through findings obtained within the present study.

Material and Method

During research in 2014, the samples which were collected from Hakkâri province were identified by their microscopic and macroscopic characters. Samples were collected from the surface of the remnants of the woods in the field. Basidiocarps were photographed in their natural habitats then they were dug and carried to the laboratory. Measurements for microscopic characters (spores, basidia, pileipellis, hyphae and cheilocystidia) were made by using a Leica DM500 research microscope. Microscopic studies was conducted properly by using surface matrix of the samples collected. All measurements were done with a Leica EZ4 stereo microscope with the Leica Application Suite (version 3.4.0) program. Forty spores, 25 basidia and 25 cheilocystidia measurements were made from *L. percevalii* for microscopic measurements. The identification of the samples was performed with the help of the relevant literature (Noordeloos, 1999; Bridge et al., 2008; Noordeloos, 2011). The identified samples are kept in the Fungarium of Yüzüncü Yıl University, Science Faculty, and Department of Biology.

Results

Brief description of *L. percevalii*, basidiomata photos and microscopic photos of basidia, cheilocystidia and pileipellis are provided as follows.

Leratiomyces percevalii (Berk. & Broome) Bridge & Spooner

Syn:

Agaricus percevalii Berk. & Broome, *Fungus percevalii* (Berk. & Broome) Kuntze,

Psilocybe percevalii (Berk. & Broome) P.D. Orton

Stropharia percevalii (Berk. & Broome) Sacc.,

Stropholoma percevalii (Berk. & Broome) Ryman

Macroscopic and microscopic features

Pileus 35-75 mm, hemispherical or conical then broadly convex or broadly bell-shaped, occasionally with a wide umbo, at first with violently confused then on deflexed or almost flatwise margin, viscid when young, but this property is short-lived, honey yellow when young, quickly turns yellowish, whitish, dirty olive color, lightly pallid on drying to ochraceous brown at center, glabrous or finely hairy in places, the edges carry white to pale yellow velum remnants especially when young. Lamellae adnate to subdecurrent, white, pale cream when young, then with yellow-green, pinkish grey, dark purple from ripening spores, grey-black, eventually deep violaceous grey or violaceous brown, with white, fimbriate margin. Stipe 50-120 × 3-9 mm, usually thinner towards the base or cylindrical, infrequently with subbulbous at base, an annular zone, darkened with falling spores, whitish, reddish brown stains towards to base, usually hairy at base, with distinct mycelial threads. Spores 11-17(19.5) × 6.7-9.5 µm, smooth, brown, more or less ellipsoid, broadly oblong to elongate in side-view, has an eccentric germ pore. Basidia 22-36 × 7-12 µm, hyaline, cylindrical to subclavate, 4-spored, with clamp. Cheilocystidia 40-70 × 4-6(7) µm, narrowly clavate to subcylindrical, flexuous. Pileipellis two layered, suprapellis a 50-140 µm thick ixocutis of radially arranged, cylindrical or slightly swollen 4-9 µm, pigment pale yellowish brown (Figure 1).

Hakkâri, district exit of Şemdinli, on remnant of woods, creek edge, 37° 18'419"N - 44° 33'522"E 1372 m, 24.10.2014, Acar. 418; - Yüksekova, Köşkönu village 37° 25'524"N - 44° 09'431"E 1670 m, 26.10.2014, Acar. 545.

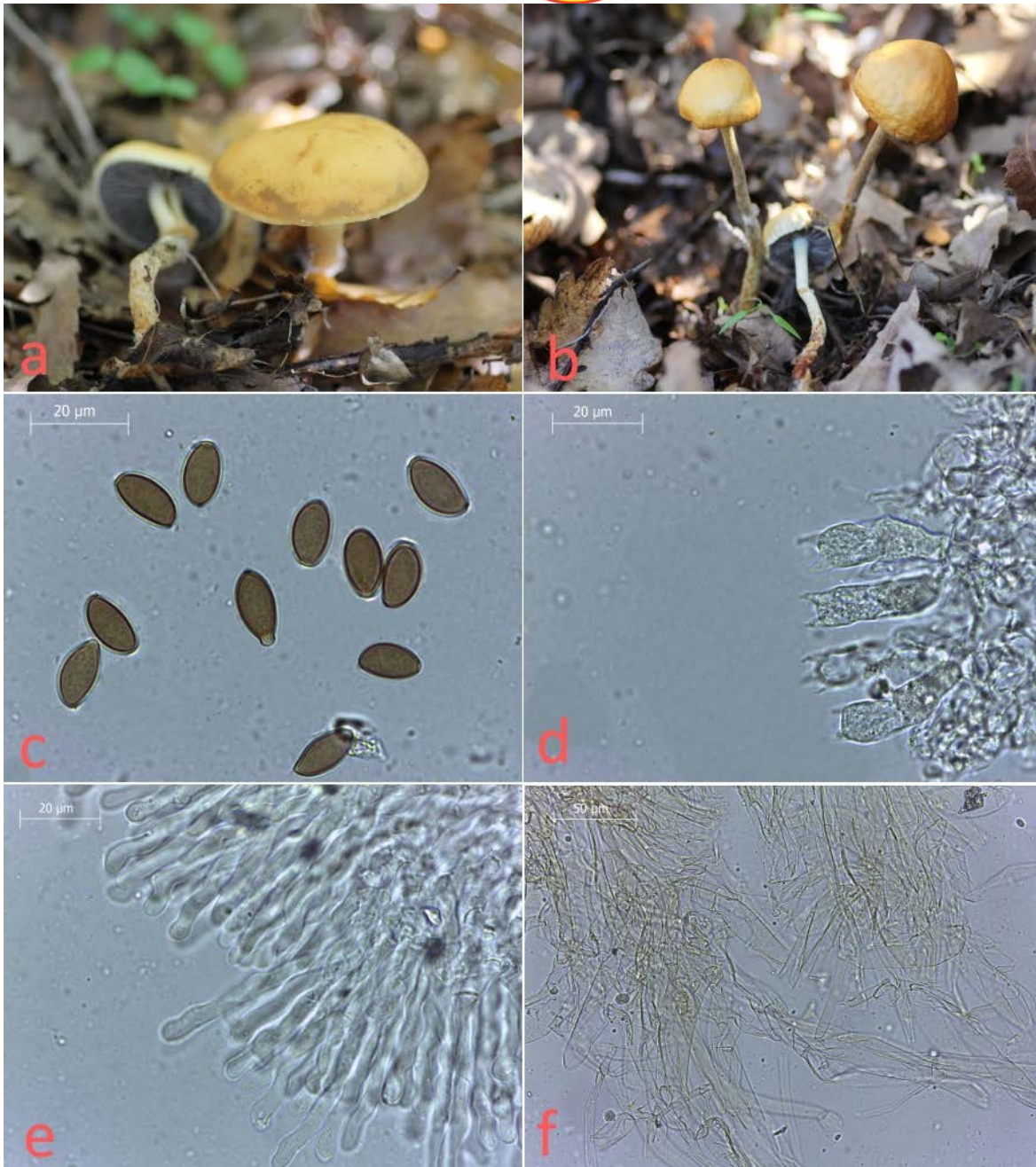


Figure1. *Leratiomyces percevalii* a-b. Basidiomata c. Basidiospores d. Basidia e. Cheilocystidia f. Pileipellis

Discussions

Leratiomyces is a genus represented by 13 species in the world (Redhead and McNeill, 2008). Species represented are *L. atrovirens* Bresinsky & Manfr. Binder, *L. ceres* (Cooke & Masee) Spooner & Bridge, *L. coccineus* (Masee & Wakef.) Bresinsky & Manfr. Binder, *L. cucullatus* (Shope & Seaver) Beever & D.C. Park, *L. erythrocephalus* (Tul. & C. Tul.) Beever & D.C. Park, *L. laetissimus* (Hauskn. & Singer) Borov., J. Stříbrný, Noordel., Gryndler & Oborník, *L. magnivelaris* (Peck) Bridge & Spooner, *L. percevalii* (Berk. & Broome) Bridge

& Spooner, *L. riparius* (A.H. Sm.) Redhead, *L. similis* (Pat. ex Sacc. & Trotter) Bresinsky & Manfr. Binder ex Redhead & McNeill, *L. smaragdinus* Pat. ex Bresinsky & Manfr. Binder, *L. squamosus* (Pers.) Bridge & Spooner and *L. tesquorum* Adamčík & Vizzini. *Leratiomyces squamosus*, the first species of *Leratiomyces* in our country, was published by Akata et al., 2010 and Uzun et al., 2017.

Leratiomyces percevalii is morphologically similar to *L. riparius* but *L. riparius* is recognized by a cream-buff cap, decorated with veil fragments when young and a



slender, typically twisted stipe and it grows under aspens, cottonwoods and alders. The dimension of *L. riparius* spores is 12-15 × 6-7.5 µm (Kuo, 2009; Desjardin et al., 2015).

In this study, *L. percevalii* was identified as a new record and so, the number of species in Turkey had risen to 2.

Acknowledgement

This study was financially supported by Van Yüzüncü Yıl University (Scientific Research Project Foundation, 2014-FBED122), Van, Turkey.

References

- Acar, İ., Dizkırıcı-Tekpınar, A., Kalmer, A., Uzun, Y. (2017). Phylogenetic relationships and taxonomical positions of two new records *Melanoleuca* species from Hakkâri province, Turkey, *Biological Diversity and Conservation* 10(3): 85-93.
- Acar, İ., Kalmer, A. (2018). Two New Records for Turkish Macromycota from Diyarbakır (Hani) Province. *Journal of the Institute of Natural & Applied Sciences* 23 (3): 212-215.
- Acar, İ., Kalmer A, Uzun Y, Dizkırıcı Tekpınar A (2018). Morphology and Phylogeny Reveal a New Record Gyromitra for Turkish Mycobiota, *The Journal of Fungus* 9(2)176-181.
- Acar, İ., Uzun Y, Keleş A, Dizkırıcı Tekpınar A (2019). *Suillellus amygdalinus*, a new species record for Turkey from Hakkâri Province, *Anatolian Journal of Botany* 3(1): 25-27.
- Acar, İ., Uzun Y, Kalmer A, Dizkırıcı Tekpınar A, Öğün Y (2021). A New Record for Turkish Mycobiota from Selim (Kars) District, *The Journal of Fungus*, 12(1)65-70
- Akata, I., Çetin, B. Işıloğlu, M. (2010). Macrofungal diversity of Ilgaz Mountain National Park and its environs (Turkey). – *Mycotaxon* 113: 287–290.
- Akata, I. (2017). Macrofungal Diversity of Belgrad Forest (İstanbul). *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 17(1): 150-164.
- Akata, I. & Uzun, Y. (2017). Macrofungi determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon). *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 18(1): 15-24.
- Akata, I., Doğan HH, Öztürk Ö, Bozok F. (2018). *Suillus lakei*, An Interesting Record For Turkish Mycobiota, *The Journal of Fungus*, 9(2)110-116.
- Akata, I., Altuntaş, D. & Kabaktepe Ş. (2019). Fungi Determined in Ankara University Tandoğan Campus Area (Ankara-Turkey). *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 20(1): 47-55.
- Akçay, ME (2019). A New Edible Macrofungus Record for Turkey, *Journal of Natural & Applied Sciences of East* 2(1): 10-15.
- Allı, H., Candar, S.S. & Akata, I. (2017). Macrofungal Diversity of Yalova Province. *Mantar Dergisi*, 8(2): 76-84.
- Altuntaş, D., Allı, H. & Akata, I. (2017). Macrofungi of Kazdağı National Park (Turkey) and its close environs. *Biological Diversity and Conservation*, 10(2): 17-25.
- Binder, M, Besl H, Bresinsky A. (1997). Agaricales oder Boletales? Molekularbiologische Befunde zur Zuordnung einiger umstrittener Taxa. *Z. Mykol.* 63: 189–196.
- Bresinsky, A., Binder M. (1998). *Leratiomyces* nom. nov. für eine bislang nicht gültig beschriebene Gattung der *Strophariaceae* (Agaricales) aus Neukaledonien. *Z. Mykol.* 64: 79–82.
- Bridge, P.D. Spooner, B.M. Beever, R.E. Park, D.C. (2008). Taxonomy of the fungus commonly known as *Stropharia aurantiaca*, with new combinations in *Leratiomyces*. *Mycotaxon.* 103:109-121.
- Desjardin, DE., Wood, M.G. & Stevens, FA. (2015). *California Mushrooms: The Comprehensive Identification Guide*. Timber Press: Portland, OR. 560 p.
- Dizkırıcı, A., Acar İ., Kalmer A, Uzun, Y. (2019). Morphological and Molecular Characterization of *Hebeloma subtortum* (*Hymenogastraceae*), a New Record Macrofungus from Bingöl Province, Turkey, *Kastamonu Uni., Orman Fakültesi Dergisi*, 19(1): 1-10.
- Doğan, HH. (2018). A new Genus, *Schenella*, Addition to Turkish Mycota from *Geastraceae*, *The Journal of Fungus*, 9(2)92-94.
- Güngör H, Solak MS, Allı H, Işıloğlu M, Kalmış E. (2015). New records for Turkey and contributions to the macrofungal diversity of Isparta Province. *Turk J Bot.* 39: 867-877.
- Işık, H. & Türkeul, İ. (2018). New additions to Turkish macrofungi from Tokat and Yozgat Provinces. *Mycotaxon*, 133(4):697-709.
- Kalmer, A., Acar İ., Dizkırıcı Tekpınar, A. (2019). Phylogenetic and Taxonomic Studies on *Cortinarius caerulescens* (Schaeff.) Fr. a New Record for Turkish Mycota. *The Journal of Fungus*, 10(1)8-16.



- Kuo, M. (2009). *Leratiomyces perzevalii*. Retrieved from the MushroomExpert.Com Web site: http://www.mushroomexpert.com/leratiomyces_perzevalii.html.
- Moncalvo, J-M, Vilgalys R, Redhead, SA., Johnson JE, James TJ, Hofstetter V, Verduin S, Larsen E, Baroni TJ, Thorn RG, Jacobsson, S., Clémençon H., Miller, OK. (2002). One hundred and seventeen clades of euagarics. *Molec. Phylog. Evol.* 23: 357–400.
- Noordeloos, M.E. (1999). *Strophariaceae*. In: Bas, C., Kuyper, T.W., Noordeloos, M.E. & Vellinga, E. (Eds.) *Flora Agaricina Neerlandica*. Vol. 4. A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 27–107.
- Noordeloos, M.E. (2011). *Fungi Europaei - Strophariaceae* s.l. 13:1-648.
- Redhead, S.A. McNeill, J. (2008). The generic name *Leratiomyces* (*Agaricales*) once again. *Mycotaxon*. 105:481-488.
- Ryman, S. (2012). *Stropharia* (Fr.) Quéf. In: Knudsen H, Vesterholt J, editors. *Funga Nordica*. Agaricoid, boletoid, clavarioid, cyphelloid and gastroid genera. Copenhagen: Nordsvamp; p. 965–970.
- Sadullahoğlu C, Demirel K. (2018). *Flammulina fennae* Bas, A new record from Karz Mountain (Bitlis). *Anatolian Journal of Botany* 2(1): 19-21.
- Sesli, E., Asan, A., and Selçuk, F. (eds) Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Haliki Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindil, M., Şen, B., Şen, İ., Türkecul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., Yoltaş, A. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi (The Checklist of Fungi of Turkey)*. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul. P. 1177.
- Uzun, Y., Acar, İ., Akçay, M.E. & Kaya A. (2017). Contributions to the macrofungi of Bingöl, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 41: 516-534.
- Uzun, Y., Kaya, A. (2018). *Leucocoprinus cepistipes*, A New Coprinoid Species Record for Turkish Macromycota, Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences Volume 22, Issue 1, 60-63.
- Walther, G., Garnica S., Weiß K. (2005). The systematic relevance of conidiogenesis modes in the gilled Agaricales. *Mycol. Res.* 109: 525–544.



Geliş(Received) :29.03.2021
Kabul(Accepted) :18.06.2021

Araştırma Makalesi
Doi: 10.30708.mantar904921

Aspergillus Türlerinin Moleküler Tanımlanması için Hızlı, Doğru ve Düşük Maliyetli Yenilikçi Yaklaşım

Yüksel GEZGİN^{1,2*}, Sibel ARSLAN¹, Zeycan NURÇE¹

*Sorumlu yazar: yukselgezgin@gmail.com, yuksel.gezgin@ege.edu.tr

¹ Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir.

² Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Moleküler Tıp Laboratuvarı, İzmir.

¹Orcid No/Orcid ID: 0000-0001-5812-1882/ yukselgezgin@gmail.com

¹Orcid No/Orcid ID: 0000-0002-0883 0207/sibelarslan740@gmail.com

¹Orcid No/Orcid ID: 0000-0002-8785-9250/znurceska@gmail.com

Öz: *Aspergillus* türlerinin bazıları ekonomik açıdan önemli tarımsal ürünleri kontamine ederek en yaygın gıda bozulmalarına sebep olan mantarlardır. Bu türler ayrıca insan sağlığını tehdit eden karsinojenik, teratojenik ve mutajenik etkilere sahip mikotoksinleri üretmektedirler. Tüm bu nedenlerden dolayı *Aspergillus* türlerinin kesin ve doğru tanımlamaları büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada Misel Doku-Polimeraz Zincir Reaksiyon (MD-PZR) temelli moleküler teknik geliştirilerek Polimeraz Zincir Reaksiyonunda kalıp olarak kullanılan genomik DNA basamağı ortadan kaldırılmıştır. Bu misel doku-PZR temelli moleküler tekniğinin pahalı ve özel donanım gerektirmemesi, proteinaz K, RNAaz veya başka enzimler gibi pahalı kimyasallara ihtiyaç duyulmaması, genomik DNA izolasyon işlemleri sırasında fenol/kloroform gibi toksik kimyasalların kullanılmaması gibi avantajları bulunmaktadır. Ayrıca sıvı kültür ile misel üretimine dayalı klasik DNA ekstraksiyon protokolleri zaman alıcıdır. Bu çalışmada *Aspergillus* izolatlarının moleküler tanımlanması için misel doku örnekleri kullanılarak iki farklı gen bölgesi (β -*tubulin*: *benA*, *Calmodulin*: *CaM*) çoğaltılmıştır. Daha sonra tüm PZR ürünleri saflaştırılıp ve dizi analizine gönderilmiştir. Sekans analiz sonuçları biyoinformatik araçlar kullanılarak incelenmiş ve izolatlar tür düzeyinde *Aspergillus tubingensis* (Divane Asper) R. Mosseray olarak tanımlanmışlardır.

Anahtar kelimeler: *Aspergillus*, *Kalmodulin Geni*, *Beta-Tubulin Geni*, Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Rapid, Accurate and Low-Cost Innovative Approach for Molecular Identification of *Aspergillus* species

Abstract: Some of *Aspergillus* species are the most common food spoilage fungi contaminating economically important agricultural products. They also produce carcinogenic, teratogenic and mutagenic mycotoxins that threaten human health. For all these reasons, precise and accurate identification of *Aspergillus* species is of great importance. In this study, the Mycelium Tissue- Polymerase Chain Reaction (MT-PCR) based molecular technique was developed and therefore the genomic DNA isolation step which used as a template in the Polymerase Chain Reaction was eliminated. The mycelium tissue PCR-based molecular technique has some advantages. For example, it does not require expensive and specialized equipment, not require expensive chemicals such as proteinase K, RNase, other enzymes and not use toxic chemicals such as phenol/chloroform during the process of DNA isolation. The classic genomic DNA extraction procedure based on mycelium from liquid cultivations is also relatively time-consuming. For molecular identification of *Aspergillus* isolates were amplified two different gene regions (β -*tubulin*: *benA*, *Calmodulin*: *CaM*) by using tissue samples in this study. Then, all PCR products were purified and were sent to base sequence analysis. Sequence analysis results



were examined using bioinformatic tools and the isolates were identified to species level as *Aspergillus tubingensis* R. Mosseray.

Key words: *Aspergillus*, *Calmodulin* Gene, *Beta-Tubulin* Gene, Polymerase Chain Reaction

Giriş

Aspergillus section *Nigri* (AsN) grubu siyah sporlara sahip olduğundan 'black Aspergilli' olarak da adlandırılmaktadır. Bu filamentöz fungusların tanımlanmış pek çok türü bulunmaktadır; (Bladt vd., 2013 ; Azeem vd., 2015; Fungaro vd., 2017; Cabañes ve Bragulat, 2018). Bu türler endüstriyel, tıbbi, farmasötik ve biyoteknolojik alanlarda kullanım potansiyeline sahiptir. Özellikle sitrik asit, glukonik asit gibi organik asitlerin üretiminde, amilaz, lipaz gibi hidrolitik enzimlerin üretiminde, yiyecek fermentasyon proseslerinde, başta ilaç ve antibiyotikler olmak üzere bir çok sekonder metabolitin üretimlerinde kullanılmaktadırlar (Wani vd., 2010; Varga vd., 2011; Priegnitz vd., 2015; Costa vd., 2016).

Avantajlı yönlerinin yanı sıra bu suşların gıda bozulmalarına neden olan ve insan sağlığını tehdit edecek mikotoksinleri (okratoksin A, fumonisin gibi) ürettikleri bilinmektedir (Frisvad vd., 2007; Frisvad vd., 2011; Frisvad, 2015; Frisvad vd., 2018; Taniwaki vd., 2018). *Aspergillus* section *Nigri* grubunun okratoksin A üreten başlıca türleri *A. carbonarius*, *A. niger* olup, fumonisin üreten türleri: *Aspergillus niger aggregatları*, *A. welwitschiae*' dir (Frisvad vd., 2011; Mutlu-İngök ve Karbancıoğlu, 2015; Aerts vd., 2018; Cabanes ve Bragulat, 2018;Freire vd.,2018; Frisvad vd., 2018; von Hertwig vd., 2018; Onami vd., 2018; Taniwaki vd., 2018). Bu mikotoksinler karsinojenik, teratojenik ve mutajenik etkiye sahip bileşikler olup; antikor yanıtını zayıflatma, kanın pıhtılaşma mekanizmasını bozmakta, hücre bağışıklık yanıtını azaltmakta ve immün sistemini zayıflatarak paraziter, viral ve bakteriyel hastalıklara neden olmaktadır (Monod vd., 2002; Gümüş ve Yılmaz, 2006).

Tüm bu nedenlerden dolayı *Aspergillus* section *Nigri* türlerinin tanımlanması oldukça önemlidir. Bu amaçla önceleri sadece morfolojik yöntemler kullanılarak tanımlanmaya çalışılmıştır. Ancak *Aspergillus* section *Nigri* türlerinin morfolojilerinin benzer olması bu yöntemi tek

başına kullanımını yetersiz kılmıştır. Bu nedenle morfolojik yöntemlerin yanında kimyasal yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (von Hertwig vd., 2018). Kimyasal yöntemlerin dezavantajı ise bu filamentöz funguslara ait sekonder metabolitlerin tek bir tür tarafından üretilmemesinden kaynaklanmaktadır. Örneğin funalenone ve tensidol A'nın her ikisinde *Aspergillus niger* ve *Aspergillus tubingensis* tarafından üretilmektedir (Perrone vd., 2007; Nielsen vd., 2009; Lamboni vd., 2016). Tüm bu nedenlerden dolayı bu iki yöntemle eş zamanlı olarak, moleküler yöntemler üzerine çalışılmaya başlanmıştır (Cabanes ve Bragulat, 2018). Günümüzde sonuçların doğruluğu ve kesinliği için her üç yöntemi de barındıran polifazik yaklaşım üzerine odaklanılmıştır (Aufauvre-Brown vd., 1993; Baquião vd., 2013; Lamboni vd., 2016; Decontardi vd., 2018; Norlia vd., 2018).

Polifazik yaklaşım ile filamentöz fungus türlerinin tanımlanmasında kullanılan moleküler yöntemlerde kalmomodulin, β -tubulin, ITS, RPB2 gibi korunmuş gen bölgelerinden yararlanılmaktadır (Varga vd., 2011; Palumbo ve O'Keeffe, 2015; Samson vd., 2014; Lamboni vd., 2016).

Moleküler tanımlama yöntemlerinde yer alan basamaklar sırasıyla genomik DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) çalışmaları ve baz dizi analizi'dir. Bu basamaklar içerisinde yer alan genomik DNA izolasyonu basamağı zaman alıcı, maliyetli ve iş gücü gerektiren bir işlem olup günümüzde moleküler tanımlama yöntemlerinin geliştirilmesine ve alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Moleküler tanımlama amacıyla yapılan çalışmalarda DNA izolasyonu için kullanılan ekipman ve sarf malzemelerin yüksek bir bütçe gerektirdiği görülmüştür.

Bu çalışmada Misel Doku-Polimeraz Zincir Reaksiyon (MD-PZR) temelli moleküler teknik geliştirilerek Polimeraz Zincir Reaksiyonunda kalıp olarak kullanılan genomik DNA izolasyonu basamağı ortadan kaldırılmıştır. MD-PZR çalışmalarına yönelik rutin bir PZR protokolü



bulunmaması sebebiyle öncelikle genomik DNA izolasyonu yapılmış, daha sonra gradient PZR denemeleri yapılarak PZR koşullarının optimize edilmesi yoluna gidilmiştir. Daha sonra bu koşullar kullanılarak Misel Doku PZR çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada, *Aspergillus section Nigri* grubunun moleküler tanımlanması amacıyla Misel Doku PZR (MD-PZR) protokolü/tekniki geliştirilerek DNA izolasyonunun sebep olduğu zaman ve maliyet kaybının önüne geçilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Fungal izolatların aktivasyonu

Çalışmada kullanılan fungal izolatlar Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Aspergillus section Nigri grubunda yer alan 10 adet izolat ile *Aspergillus brasiliensis* türü Malt Ekstrakt Agar (MEA)'a üç nokta ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan petrilerin 27°C 'de 3 gün süreyle aktivasyonu gerçekleştirilmiştir. *A. brasiliensis* SYZ 13 türü PZR çalışmalarında kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Aktivasyon sonrası %0,01 Tween 80 kullanılarak her bir izolata ait homojen spor solüsyonu hazırlanmıştır. Elde edilen spor solüsyonlarından doğrudan %1 oranında Malt Ekstrakt Broth (MEB) besiyeri içeren erlenlere aseptik koşullarda ekim yapılarak erlenler 27°C 'de 120 rpm hızındaki çalkalayıcı inkübatörde 3 gün boyunca inkübe edilmiştir.

Genomik DNA izolasyonu

MEB inkübasyon sonrasında elde edilen miseller aseptik koşullarda filtrasyon ile fermentasyon sıvısından ayrılmış ve genomik DNA izolasyonu için kullanılmıştır. Bu çalışmada manuel bir genomik DNA izolasyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır (Liu vd., 2000).

PZR Çalışmaları

A. Genomik DNA ile gerçekleştirilen PZR çalışmaları

Genomik DNA izolasyonu sonrasında *kalmodulin* ve *β tubulin* geni olmak üzere iki farklı gen bölgesi için PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. Her iki gen bölgesi için en uygun bağlanma sıcaklığının belirlenebilmesi amacıyla Gradient PZR yapılmıştır. Bu amaçla GeneMark 5X PCR Dye Master Mix II (GeneMark, Tayvan) kullanılmıştır. Son hacmi 25 µl olan PZR karışımının bileşenleri ve miktarları sırasıyla; 5 µl 5X PCR Dye Master Mix

II, 1 µl kalıp DNA (5ng/ul), 1 µl forward primer (FP) (10 µM), 1 µl reverse primer (RP) (10 µM), 17µl ddH₂O şeklindedir.

Çalışmada kullanılan primer çiftleri ve bu primerlere ait baz dizileri Tablo 1 de verilmiştir.

Gradient PZR için farklı sıcaklıklar denenmiş ve uygun PZR koşulu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan gradient PZR koşulu; 94°C 3dk, [94°C 30sn, 48-58°C 30sn, 72°C 2dk](35 döngü), 72°C 5dk, 4°C ∞ dir.

B. Misel Doku/ Miseliyal Kütle -PZR (MD-PZR)

Bu çalışmada *Aspergillus* türlerinin moleküler tanımlanmasında MD-PZR tekniği geliştirilerek kullanılmıştır, bu teknik genomik DNA izolasyonu basamağı atlanarak direk miseliyal kütle PZR işleminin gerçekleştirilmesine olanak sağlamaktadır. İzolatların MEA besiyerinde 27°C 'de 3 gün boyunca büyütülmesi sonucu petride elde edilen miseliyal kütle, MD-PZR'da kalıp olarak kullanılmıştır. MD-PZR tekniği için Takara PCR Amplification Kit (Takara Bio Group, Japonya) kullanılmıştır.

MEA besiyerinde büyütülen izolatlara ait miseller steril pipet ucu değiştirilerek alınıp içerisinde DNA polimeraz (5 U/ µl), dNTP mix (2.5 mM), DNA polimeraz tampon (5 µl), forward primer (FP) (1 µM), reverse primer (RP) (1 µM) ve ddH₂O olan 50 µl son hacimde olacak şekilde hazırlanan, PZR bileşenlerinin bulunduğu PZR eperdorf tüplerine aktarılmıştır.

MD-PZR tekniği çalışmalarında genomik DNA kullanılarak gerçekleştirilen gradient PZR çalışması sonucunda elde edilmiş en uygun PZR koşulu kullanılmıştır.

PZR ürünlerinin görüntülenmesi

Genomik DNA ve MD-PZR çalışmalarında elde edilen PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür ve G-BOX cihazında (Wise Doc) bantlar görüntülenmiştir.

Görüntüleme sonucunda seçilen PZR ürünlerine ait örnekler baz dizi analizi amacıyla Invitrogen Pure Link Quick Gel Extraction Kit (Invitrogen, ABD) kullanılarak saflaştırılmıştır.

Dizi analizi

Saflaştırma kiti kullanılarak elde edilen *kalmodulin* ve *β tubulin* gen bölgelerine ait PZR örnekleri dizi analizi yapmak üzere REFGEN'e gönderilmiştir. Her iki gen bölgesi için baz dizi analizi ile elde edilen diziler Blast yöntemi kullanılarak (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) benzerlikler karşılaştırılmıştır.



Tablo 1. PZR çalışmalarında kullanılan primerler ve baz dizileri

Gen Bölgesi	Primer isimleri	Primer Nükleotid dizisi	Kaynaklar
Kalmodulin	CMD5-Forward	CCG AGT ACA AGG AGG CCT TC	Hong vd., (2005)
	CMD6-Reverse	CCG ATA GAG GTC ATA ACG TGG	
Beta-Tubulin	Bt2a-Forward	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	Glass ve Donaldson (1995)
	Bt2b-Reverse	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	

Bulgular

Genomik DNA izolasyonu

Çalışmamızda Liu ve arkadaşları (2000) tarafından yapılmış DNA izolasyon protokolü modifiye edilerek kullanılmış ve genomik DNA'ların saflığı ile konsantrasyonları Nanodrop yardımı ile ölçülmüştür. Bu DNA'ların absorban değerlerinin ise ABS_{260} / ABS_{280} 1,6-2,0 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Konsantrasyonları belirlenen DNA'lar 5 ng/ μ L olacak şekilde seyreltilerek, hem genomik DNA ile yapılmış gradient PZR çalışmalarında hem de kontrol DNA olarak MD-PZR tekniği çalışmalarında kullanılmıştır.

Genomik DNA ile gerçekleştirilen gradient PZR çalışmaları

Gradient PZR çalışmaları sırasında *Aspergillus sp. SYZ 2* ve *SYZ 4* izolatına ait genomik DNA kullanılmıştır (Şekil 1A ve Şekil 1B). Genomik DNA izolasyonu yapılan *Aspergillus sp. SYZ 2* ve *Aspergillus sp. SYZ 4* izolatlarına ait DNA konsantrasyonları sırasıyla; 150 ng/ μ L ve 259 ng/ μ L olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmalar sonucunda elde edilen jel görüntüleri doğrultusunda *kalmodulin* ve *β tubulin* gen bölgeleri için 48°C – 54.1°C arasında parlak bant elde edildiği görülmüştür (Şekil 1A, 1B). Çalışmalara her iki gen bölgesi için de en parlak bantın elde edildiği ortak sıcaklık olan 50 °C ile devam edilmiştir (Şekil 1A, 1B). Çalışmamızda optimize koşul; 94°C 3dk, [94°C 30sn, 50°C 30sn, 72°C 2dk](35 döngü), 72°C 5dk, 4°C ∞ olarak belirlenmiştir.

Misel Doku-PZR çalışmaları

Gradient PZR çalışmaları sonucunda *kalmodulin* ve *β tubulin* gen bölgeleri için elde edilen bağlanma sıcaklığı olan 50 °C kullanılarak MD-PZR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen jel görüntüleri Şekil 2'de verilmiştir. Şekli 2A

ve 2B'deki jel görüntüsünde *Aspergillus sp. SYZ 5*, *Aspergillus sp. SYZ 6* ve *Aspergillus sp. SYZ 9* izolatlarında kalmodulin gen bölgesine ait bantlar elde edilmiştir. Kalmodulin gen bölgesi için bu izolatların bant uzunluklarının yaklaşık 600 bp olduğu görülmüştür. Bu çalışmada ayrıca PZR koşullarının çalıştığını göstermek amacıyla kontrol olarak *Aspergillus sp. SYZ 2* ye ait genomik DNA kullanılmıştır. MD-PZR sonucu elde edilen bant uzunluğunun kontrol genomik DNA ile yapılan ile karşılaştırıldığında aynı uzunlukta olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2). *Aspergillus sp. SYZ 3* izolatının, β -tubulin gen bölgesiyle yapılan tissue PZR işleminde ise çift bant elde edildiği görülmüştür. Aynı sonuç kontrol grubunda da gözlenmiştir. *Aspergillus sp. SYZ 3* izolatının tubulin gen bölgesinin uzunluğunun yaklaşık 700 bp olduğu tespit edilmiştir Şekli 2A.

PZR örneklerinin saflaştırma işlemleri

MD-PZR çalışmaları ile her iki gen bölgesine ait bant elde edilmesi sonucunda aynı koşullarda deneme tekrarlanarak *Aspergillus sp. SYZ 1*, *SYZ 3*, *SYZ6*, *SYZ7*, *SYZ8*, *SYZ9*, *SYZ 10*, *SYZ13* izolatlarına ait misel kullanılarak MD-PZR yapılmıştır. Daha sonra PZR ürünleri saflaştırılıp jelde yürütülmüştür (Şekli 3A ve 3B). Elde edilen bant boyutlarının saflaştırma öncesi bant boyutları ile eşit uzunlukta olduğu tespit edilmiştir

Dizi analizi

Seçilen PZR ürünleri dizi analizi için REFGEN'e gönderilmiştir. Daha sonra BLAST çalışmaları yapılarak benzerlikler karşılaştırılmıştır. Her iki gen bölgesine göre yapılan BLAST analizleri sonucuna göre *Aspergillus tubingensis* ile %99 benzerlik gösterdiği görülmüştür. Sonuçlar genomik DNA ile yapılan BLAST analizi sonuçlarıyla uyumlu çıkmıştır.

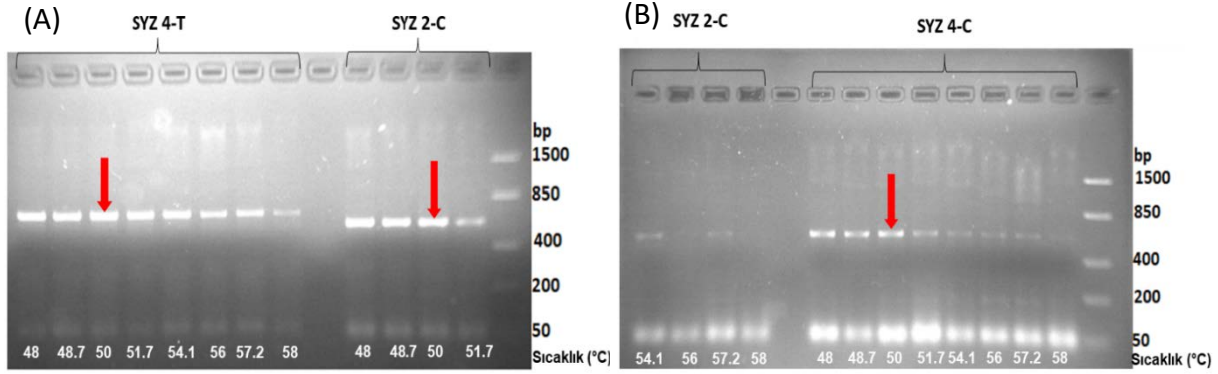


Tartışma

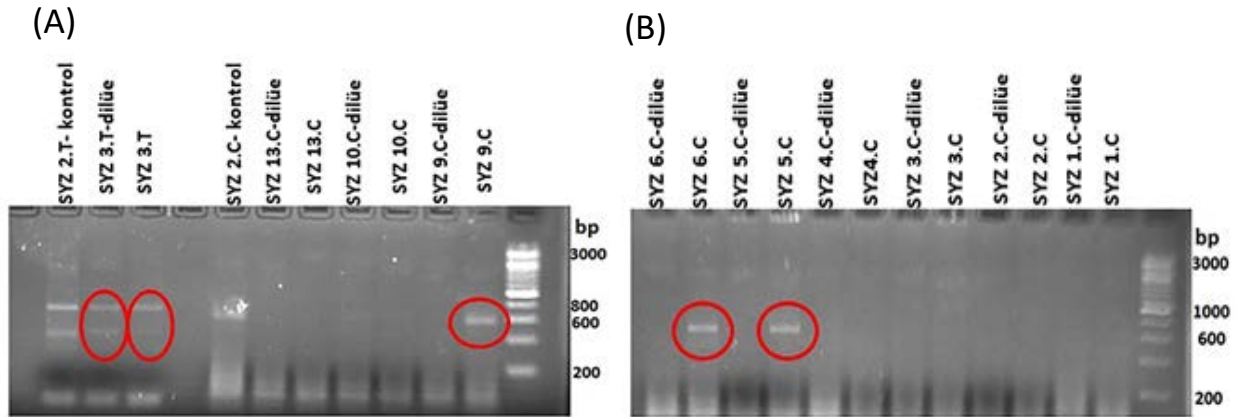
Filamentöz fungusların bir grubu olan *Aspergillus* section *Nigri* grubunun moleküler tanımlanması için yapılan çalışmalarda genomik DNA izolasyonu sırasında bazı zorluklarla karşılaşmaktadır. Bu zorlukların başında çalışılan grubun siyah sporlara sahip olması gelmektedir. Siyah spordan kaynaklanan melanin pigmenti, ekstraksiyon sırasında DNA ile birlikte çökerek PCR reaksiyonunu kuvvetle inhibe etmektedir (Séjalon-Delmas vd., 2000).

Ayrıca genomik DNA izolasyonu için gerekli olan donanım ve sarf malzemelerin yüksek bir bütçe gerektirdiği görülmektedir. Genomik DNA

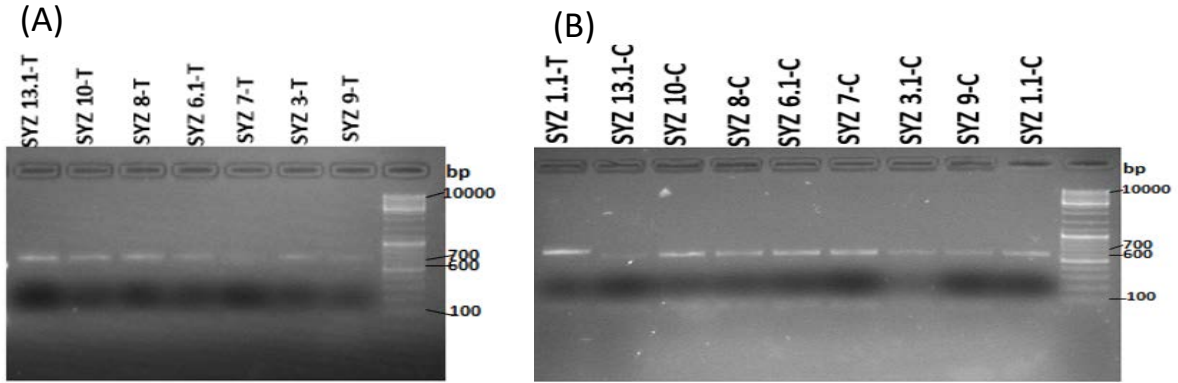
izolasyonu sırasında yaşanan zorluklar ve yüksek maliyetin yanı sıra bu işlemin oldukça zaman aldığı ve yüksek iş gücü gerektirdiği görülmektedir. Yani DNA izolasyonu hem zaman, hem maliyet hem de iş gücü kaybına neden olmaktadır (Şekil 4A). Bu sebeple bu çalışmada genomik DNA izolasyonu basamağının atlanmasını sağlayan MD-PZR çalışmaları üzerine odaklanılmıştır (Şekil 4A ve Şekil 4B). Bu teknik fungus miselinin doğrudan kullanımı sebebiyle hızlı ve kolay olması, DNA izolasyon işlemleri sırasında proteinaz K, RNA az veya başka enzimler gibi pahalı kimyasallara ihtiyaç duyulmaması, iş yükünün daha az olması gibi avantajlara sahiptir.



Şekil 1. A ve B. *Aspergillus* sp. SYZ 2 ve *Aspergillus* sp. SYZ 4 izolatlarına ait genomik DNA ile kalmodulin (C) ve β tubulin (T) gen bölgelerine yönelik gerçekleştirilen gradient PZR sonucu elde edilen PZR ürünlerine ait jel görüntüsü.



Şekil 2. A. *Aspergillus* sp. SYZ 3 izolatına ait misel dokusu kullanılarak β tubulin (T) gen bölgesine yönelik MD-PZR sonucu elde edilen PZR ürünlerinin jel görüntüsü B. Kalmodulin (C) gen bölgesi için 9 farklı *Aspergillus* sp. SYZ izolatına ait miseller kullanılarak yapılan MD-PZR sonucu elde edilen PZR ürünlerine ait jel görüntüleri



Şekil 3. A. β tubulin (T) ve B. Kalmmodulin (C) gen bölgelerine ait PZR ürünlerinin saflaştırma sonrası elde edilen agaroz jel görüntüleri

Tablo 2. Bazı *Aspergillus* section *Nigri* türlerinin β -tubulin ve kalmmodulin gen bölgesi uzunlukları

<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Grubunun Bazı Türleri	β -Tubulin Gen Bölgesi Uzunlukları (bp)* ve aksesyon numaraları	Kalmmodulin Gen Bölgesi Uzunlukları (bp)* ve aksesyon numaraları
<i>A.tubingensis</i>	510 (AY820007)	696 (AJ964876)
<i>A.brasiliensis</i>	543 (AY820006)	693 (AM295175)
<i>A.carbonarius</i>	494 (AY585532)	674 (AJ964873)
<i>A.niger</i>	538 (AY585536)	671 (AJ964872)

*Tüm değerler <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (GenBank) adresinden alınmıştır (Samson vd., 2004)



Şekil 4. Bu çalışmada *Aspergillus* türleri için A. Genomik DNA (8 basamak) ve B. MD-PZR (4 basamak) kullanılarak yapılan moleküler tanımlama basamaklarının sırayla gösterimi



Moleküler tanımlama amacıyla MD-PZR tekniğinin kullanıldığı sınırlı çalışma mevcuttur. Bu tekniğin kullanıldığı çalışmalardan biri *Trichoderma sp.* (Saroj vd., 2015)'ye aittir. Bu çalışmadan farklı olarak sıvı kültürden elde edilen misel kullanılmıştır. MD-PZR yöntemi kullanılarak yapılan bir diğer çalışma ise *Stachybotrys* ve *Chaetomium* grupları (Lewińska vd., 2016) üzerinedir. Yapılan literatür incelemesi sonucunda, çalışma konusu olan *Aspergillus* section *Nigri* grup üyelerine yönelik sadece bir çalışma bulunmaktadır (Lamboni vd., 2016). Son iki çalışmada touch-down PZR kullanılmış olup PZR koşulları 98°C 30dk, [98°C 10sn, 61-52°C 30sn, 72°C 1dk](35 döngü), 72°C 5dk, 4°C ∞ dir.

Bu nedenle *Aspergillus* türleri için kullanılabilir pratik ve hızlı rutin bir PZR protokolü içeren MD-PZR tekniğinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla bu çalışmada MD-PZR protokolü geliştirilerek Polimeraz Zincir Reaksiyonunda kalıp olarak kullanılan genomik DNA basamağı ortadan kaldırılmıştır. *AsN* grubuna ait türlerin moleküler tanımlaması amacıyla *kalmmodulin* ve *β tubulin* gen bölgelerinin kullanılarak gerçekleştirildiği çalışmalarda; *kalmmodulin* gen bölgesinin uzunluğunun literatür araştırmaları sonucunda (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (GenBank) 400 ile 700 bp arasında olduğu görülmüştür (Tablo 2). Görüntülenen jellerde, genomik DNA ile yapılan PZR kontrol grubu ve direkt miseller ile yapılan MD-PZR çalışmalarından elde edilen bantların boyutlarının (600 bp) bu aralıkta olması çoğaltılan gen bölgesinin *kalmmodulin* gen bölgesi olduğunu göstermiştir. *β Tubulin* gen bölgesinin uzunluğunun literatür araştırmaları sonucunda (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (GenBank)) 350 ile

1300 bp arasında olduğu görülmüştür (Samson vd., 2004; Samson vd., 2014). Görüntülenen jellerde, kontrol grubu ile ve direkt miseller ile yapılan MD-PZR çalışmalarından elde edilen bantların boyutlarının (700 bp) bu aralıkta olması çoğaltılan gen bölgesinin *β-tubulin* gen bölgesi olduğunu göstermiştir. Baz dizi analizleri bu sonuçları doğrulamıştır.

Aspergillus sp. SYZ 3 izolatının *β-tubulin* gen bölgesi için kontrol grubu ve direkt miseller ile yapılan MD-PZR çalışmalarından elde edilen jelde çift bant görülmektedir. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda bunun bu gen bölgesinin çoğaltılması amacıyla kullanılan primerlerden kaynaklanabileceği tespit edilmiştir. Hubka ve Kolarik, (2012) tarafından yapılan çalışmada da kullanılan primerlerden kaynaklı olarak (benA ve tubC) *β-Tubulin* paralog genler sebebiyle bazı PZR ürünlerinde çift bantlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda başarılı sonuçlar aldığımız MD-PZR tekniğinin bu grupta yer alan türler için kullanılabilirliğini göstermektedir.

Ayrıca bu çalışmada kullanılan tekniğin; diğer gen bölgeleri ve farklı fungus suşlarının moleküler tanımlaması için de kullanma potansiyelinin yüksek olduğu ve yaygınlaştırılabilirliği düşünülmektedir.

Teşekkür

Çalışmalarımız esnasında laboratuvar imkânlarını bizden esirgemeyen Prof. Dr. Elif Esin TUNA'ya, Arş. Gör. Dr. Arzu YILDIRIM'a çok teşekkür ederiz. Bu çalışma TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Yurt İçi Araştırma Projeleri Destek Programı tarafından desteklenmiştir. Finansal desteğinden ötürü TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Aerts, D., Hauer, E. E., Ohm, R. A., Arentshorst, M., Teertstra, W. R., Phippen, C., Ram, A.F., Frisvad, J.C. and Wösten, H. A. (2018). The F1bA-regulated predicted transcription factor Fum21 of *Aspergillus niger* is involved in fumonisin production. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(3), 311-322.
- Aufauvre-Brown, A., Tang, C. M. and Holden, D. W. (1993). Detection of gene-disruption events in *Aspergillus* transformants by polymerase chain reaction direct from conidiospores. *Current genetics*, 24(1), 177-178.
- Azeem, M., Terenius, O., Rajarao, G. K., Nagahama, K., Nordenhem, H., Nordlander, G. and Borg-Karlson, A. K. (2015). Chemodiversity and biodiversity of fungi associated with the pine weevil *Hylobius abietis*. *Fungal biology*, 119(8), 738-746.
- Baquião, A. C., de Oliveira, M. M. M., Reis, T. A., Zorzete, P., Atayde, D. D. and Correa, B. (2013). Polyphasic approach to the identification of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Brazil nuts. *Food Chemistry*, 139(1-4), 1127-1132.



- Bladt, T. T., Frisvad, J. C., Knudsen, P. B. and Larsen, T. O. (2013). Anticancer and antifungal compounds from *Aspergillus*, *Penicillium* and other filamentous fungi. *Molecules*, 18(9), 11338-11376.
- Cabañes, F. J. and Bragulat, M. R. (2018). Black aspergilli and ochratoxin A-producing species in foods. *Current opinion in food science*, 23, 1-10.
- Costa, C. P., Silva, D. G., Rudnitskaya, A., Almeida, A. and Rocha, S. M. (2016). Shedding light on *Aspergillus niger* volatile exometabolome. *Scientific reports*, 6(1), 1-13.
- Decontardi, S., Soares, C., Lima, N. and Battilani, P. (2018). Polyphasic identification of *Penicillia* and *Aspergilli* isolated from Italian grana cheese. *Food microbiology*, 73, 137-149.
- Freire, L., Guerreiro, T. M., Caramês, E. T., Lopes, L. S., Orlando, E. A., Pereira, G. E., Lima Pallone, J.A., Catharino, R.R. and Sant'Ana, A. S. (2018). Influence of maturation stages in different varieties of wine grapes (*Vitis vinifera*) on the production of ochratoxin A and its modified forms by *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus niger*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(33), 8824-8831.
- Frisvad, J. C., Møller, L. L., Larsen, T. O., Kumar, R. and Arnau, J. (2018). Safety of the fungal workhorses of industrial biotechnology: update on the mycotoxin and secondary metabolite potential of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(22), 9481-9515.
- Frisvad, J. C., Larsen, T. O., De Vries, R., Meijer, M., Houbraken, J., Cabañes, F. J., Cabañes, F.J., Ehrlich, K. and Samson, R. A. (2007). Secondary metabolite profiling, growth profiles and other tools for species recognition and important *Aspergillus* mycotoxins. *Studies in mycology*, 59, 31-37.
- Frisvad, J. C., Larsen, T. O., Thrane, U., Meijer, M., Varga, J., Samson, R. A. and Nielsen, K. F. (2011). Fumonisin and ochratoxin production in industrial *Aspergillus niger* strains. *PLoS one*, 6(8), e23496.
- Frisvad, J. C. (2015). Taxonomy, chemodiversity, and chemoconsistency of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* species. *Frontiers in Microbiology*, 5, 773.
- Fungaro, M. H. P., Ferranti, L. S., Massi, F. P., da Silva, J. J., Sartori, D., Taniwaki, M. H., Frisvad, J.C. and Iamanaka, B. T. (2017). *Aspergillus labruscus* sp. nov., a new species of *Aspergillus* section Nigri discovered in Brazil. *Scientific reports*, 7(1), 1-9.
- Glass, N. L. and Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and environmental microbiology*, 61(4), 1323-1330.
- Gümüş, T. and Yılmaz, İ. (2006). Mikotoksinlerin sağlık üzerine etkileri. *Türkiye*, 9, 24-26.
- von Hertwig, A. M., Sant'Ana, A. S., Sartori, D., da Silva, J. J., Nascimento, M. S., Iamanaka, B. T., Fungaro, M.H.P. and Taniwaki, M. H. (2018). Real-time PCR-based method for rapid detection of *Aspergillus niger* and *Aspergillus welwitschiae* isolated from coffee. *Journal of microbiological methods*, 148, 87-92.
- Hong, S. B., Go, S. J., Shin, H. D., Frisvad, J. C. and Samson, R. A. (2005). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species. *Mycologia*, 97(6), 1316-1329.
- Hubka, V. and Kolarik, M. (2012). β -tubulin paralogue tubC is frequently misidentified as the benA gene in *Aspergillus* section Nigri taxonomy: primer specificity testing and taxonomic consequences. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 29, 1.
- Lamboni, Y., Nielsen, K. F., Linnemann, A. R., Gezgin, Y., Hell, K., Nout, M. J., M., van Boekel, M.A., Hoof, J.B. and Frisvad, J. C. (2016). Diversity in secondary metabolites including mycotoxins from strains of *Aspergillus* section Nigri isolated from raw cashew nuts from Benin, West Africa. *PLoS One*, 11(10), e0164310.
- Lewińska, A. M., Peuhkuri, R. H., Rode, C., Andersen, B. and Hoof, J. B. (2016). Rapid detection and identification of *Stachybotrys* and *Chaetomium* species using tissue PCR analysis. *Journal of microbiological methods*, 130, 115-122.
- Liu, D., Coloe, S., Baird, R. and Pedersen, J. (2000). Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1), 471-471.
- Monod, M., Capoccia, S., Léchenne, B., Zaugg, C., Holdom, M. and Jousson, O. (2002). Secreted proteases from pathogenic fungi. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(5-6), 405-419.
- Mutlu-İngök, A. and Karbancıoğlu-Güler, H. F. (2015). Sıcaklığın *Aspergillus* section Nigri Üyelerinin Okratoksin A Oluşturması Üzerine Etkisinin İncelenmesi. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(1), 1-8.
- Nielsen, K. F., Mogensen, J. M., Johansen, M., Larsen, T. O. and Frisvad, J. C. (2009). Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 395(5), 1225-1242.
- Norlia, M., Jinap, S., Nor-Khaizura, M. A. R., Son, R. and Chin, C. K. (2018). Polyphasic approach to the identification and characterization of aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section Flavi isolated from



- peanuts and peanut-based products marketed in Malaysia. *International journal of food microbiology*, 282, 9-15.
- Onami, J. I., Watanabe, M., Yoshinari, T., Hashimoto, R., Kitayama, M., Kobayashi, N., Sugita-Konishi, Y., Kamata, Y., Takahashi, H., Kawakami, H. and Terajima, J. (2018). Fumonisin-production by *Aspergillus* section Nigri isolates from Japanese foods and environments. *Food Safety*, 6(2), 74-82.
- Palumbo, J. D. and O'Keeffe, T. L. (2015). Detection and discrimination of four *Aspergillus* section Nigri species by PCR. *Letters in applied microbiology*, 60(2), 188-195.
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J. C., Meijer, M., Noonim, P., Mahakarnchanakul, W. and Samson, R. A. (2007). Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in mycology*, 59, 53-66.
- Priegnitz, B. E., Brandt, U., Pahirulzaman, K. A., Dickschat, J. S. and Fleißner, A. (2015). The AngFus3 mitogen-activated protein kinase controls hyphal differentiation and secondary metabolism in *Aspergillus niger*. *Eukaryotic cell*, 14(6), 602-615.
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraeken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., Perrone, G., Seifert, K.A., Susca, A., Tanney, J.B. and Frisvad, J. C. (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, 78, 141-173.
- Samson, R. A., Houbraeken, J. A. M. P., Kuijpers, A. F., Frank, J. M. and Frisvad, J. C. (2004). New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section Nigri. *Studies in mycology*, 50(1), 45-56.
- Saroj, D. B., Dengeti, S. N., Aher, S. and Gupta, A. K. (2015). A rapid, one step molecular identification of *Trichoderma citrinoviride* and *Trichoderma reesei*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(6), 995-999.
- Séjalon-Delmas, N., Roux, C., Martins, M., Kulifaj, M., Bécard, G. and Dargent, R. (2000). Molecular tools for the identification of *Tuber melanosporum* in agroindustry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2608-2613.
- Taniwaki, M. H., Pitt, J. I. and Magan, N. (2018). *Aspergillus* species and mycotoxins: occurrence and importance in major food commodities. *Current Opinion in Food Science*, 23, 38-43.
- Varga, J., Frisvad, J. C., Kocsubé, S., Brankovics, B., Tóth, B., Szigeti, G. and Samson, R. A. (2011). New and revisited species in *Aspergillus* section Nigri. *Studies in Mycology*, 69, 1-17.
- Wani, M. A., Sanjana, K., Kumar, D. M. and Lal, D. K. (2010). GC-MS analysis reveals production of 2-Phenylethanol from *Aspergillus niger* endophytic in rose. *Journal of basic microbiology*, 50(1), 110-114.



Geliş(Received) :25.05.2021
Kabul(Accepted) :24.06.2021

Research Article
Doi: 10.30708.mantar942793

The Annual Variation of Allergenic *Cladosporium* and *Alternaria* Spores in the Atmosphere of Büyükorhan (Bursa), Turkey; Effects of Meteorological Factors

Semih BEKİL^{1*}, Aycan TOSUNOĞLU¹, Adem BIÇAKÇI¹

*Corresponding author: bekilsemih@gmail.com

¹ Bursa Uludag University, Science / Arts Faculty, Department of Biology, Bursa/Turkey
Orcid ID: 0000-0002-8783-1389 / bekilsemih@gmail.com
Orcid ID: 0000-0003-2303-672X / aycanbilisik@uludag.edu.tr
Orcid ID: 0000-0002-6333-3123 / abicakci@uludag.edu.tr

Abstract: Fungal spores are important bio-allergens frequently encountered in the atmosphere. *Cladosporium* Link and *Alternaria* Nees spores are generally recorded as dominant in many atmospheric fungal spore studies and have high allergic effects on susceptible individuals. The species belonging to these two genera may live as pathogens on the plants and cause low yield. This study was carried out between January 2012 to December 2013. Durham sampler, which is the device of the gravimetric method, was used in the research. A total of 10817 spores were recorded in the Büyükorhan (Bursa) atmosphere during the consecutive years. 4119 spores belonged to the first year and 6698 to the second year. The total numbers of *Cladosporium* spores were observed much higher than the total numbers of *Alternaria* spores in both years. This study aims to determine the variation of atmospheric spores in these two genera during the two years by comparing them with meteorological factors. For both spore types, the maximum spore numbers were found between the June-August term. Summer months revealed a risky period in terms of atmospheric fungal spore allergy for sensitive individuals.

Key words: Airborne fungal spores, Aeromycology, Allergy, Meteorological factors, Northwest Turkey.

Büyükorhan (Bursa), Türkiye Atmosferindeki Allerjik *Cladosporium* ve *Alternaria* Sporlarının Yıllık Değişimi; Meteorolojik Faktörlerin Etkileri

Öz: Mantar sporları, atmosferde sıkça karşılaşılan önemli biyo-allerjenlerdendir. Çoğu atmosferik mantar sporu çalışmasında, *Cladosporium* Link (Havaküfü) ve *Alternaria* Nees (Arıküfü) sporları genellikle dominant olarak kaydedilmiş olup duyarlı bireyler üzerinde yüksek allerjik etkilere sahiptirler. Bu iki cinse ait türler bitkiler üzerinde patojen olarak yaşayabilir ve bitkilerde verim düşüklüğüne sebep olabilirler. Bu çalışma, Ocak 2012 ile Aralık 2013 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışma, gravimetrik yöntemle dayalı Durham cihazı kullanılarak yapılmıştır. İki yıl süresince toplamda 10817 adet spor kaydedilmiş olup, 4119 adet spor birinci yıla, 6698 adet spor ise ikinci yıla aittir. Her iki yılda da toplam *Cladosporium* sayısının toplam *Alternaria* sayısından çok daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma, bu iki cinse ait atmosferik sporların iki yıl içindeki değişimini meteorolojik faktörlerle karşılaştırarak belirlemeyi amaçlamaktadır. Her iki spor tipi için, maksimum spor sayıları Haziran-Ağustos ayları arasında bulunmuş ve özellikle yaz aylarının atmosferik mantar sporu allerjisi açısından, duyarlı bireyler için riskli dönemler olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Anahtar kelimeler: Atmosferik mantar sporları, Aeromikoloji, Allerji, Meteorolojik faktörler, Kuzeybatı Türkiye.

Introduction

Fungi are known as cosmopolitan organisms that can live in various habitats worldwide. They reproduce through spores, and these spores are mostly dispersed

into the atmosphere generally with the help of wind (Gregory, 1961; Money, 2015; Kireççi and Alagöz, 2019). *Cladosporium* (Havaküfü) and *Alternaria* (Arıküfü) spores have been among the most common fungal spore



types in the atmosphere (D'Amato, 1981; Hjelmroos, 1993; Sesli, et al., 2020). These spores cause many allergic reactions on susceptible individuals and also damage plants and animals. They can cause respiratory diseases such as asthma and allergic rhinitis in people and may cause skin diseases in animals and yield losses in plants (D'Amato et al., 1984; Buck and Levetin, 1985; Vjay et al., 1991; Hjelmroos 1993; Angulo-Romero et al., 1999).

Since the sporulation times are different for each fungus, the periods and the number of fungi spores in the atmosphere also differ. The types and densities of atmospheric spores may vary according to geographic, ecological, meteorological factors, and the region's floristic structure. Therefore, atmospheric spore calendars should be prepared by comparing atmospheric spores and their distribution during the year with meteorological factors in the different areas. For this purpose, many aeropalynological studies were prepared around the world (Hjelmroos, 1993; Gioulekas et al., 2004; Damialis and Gioulekas, 2006; Oliveira et al., 2010; Mallo et al., 2011; Grinn-Gofron et al., 2016; Kasprzyk et al., 2016; Ding et al., 2016; Olsen et al., 2020). The first aeromycological study of Turkey was conducted by Özkaragöz in 1968 with the settle plate method using open Petri-dishes and aimed at determining atmospheric fungal spores in Ankara (Özkaragöz, 1969). Atmospheric fungal spore studies have been continuing in Turkey in the different cities by gravimetric and volumetric atmospheric particle sampling methods since 1968 (Bıçakçı et al., 2001; Ataygul et al., 2007; Potoglu Erkara et al., 2009; Akgül et al., 2016; Saatcioglu et al, 2016; Yılmazkaya et al., 2019; Kilic et al., 2020).

The purpose of atmospheric fungal spore studies is that they can benefit the people of the region and allergologists in the treatment process and in taking precautions to prevent allergies in risky periods. At the same time, it can contribute to taking the necessary measures to prevent yield losses in the economically important plants growing in the region.

This study investigated the annual variation of atmospheric *Cladosporium* and *Alternaria* spores and the effects of meteorological factors (Mean temperature, relative humidity, total rainfall, and wind speed) on them in the Buyukorhan (Bursa) atmosphere.

Material and Metod

Study area, Flora, and Climate

Büyükorhan district (Bursa) is located on the southern part of the city center and slope of Uludag Mountain (39°46'.25.0"N, 28°53'.20.0"E) at an altitude of nearly 850 m. Büyükorhan is surrounded by Harmancık district in the east, Mustafakemalpaşa district in the west, Orhaneli district in the north, and Dursunbey district (Balıkesir) in the south.

Mediterranean climate is seen in the region; summers are hot and dry, winters are cold and rainy. According to long-term meteorological data, the highest temperature in summer is 30-35°C, while in winter, the temperature drops to 4-6°C on average. According to meteorological data provided by the Turkish State Meteorological Service, for two years (2012-2013), the annual average temperature is 10.6°C. The yearly average minimum temperature is 0.12°C, observed in January, and the annual average maximum temperature is 20.6°C, in July. The annual average total rainfall is 61.5 mm; the annual average relative humidity is 69.8%, and the annual average maximum wind speed 7.39 m/s. (Figure 1).

The southern and southeastern part of the study area consists of natural forests and mostly *Pinus nigra* Arn. arid forests and *Pinus brutia* Ten. communities are dominant, but in places where these forests are destroyed, maquis vegetation is settled with the members; *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus*, *Quercus infectoria* Oliv. subsp. *infectoria*, *Phyllirea latifolia* L., *Paliurus spina-christii* Mill., *Cistus creticus* L., *Arbutus andrachne* L., *Rhus coriaria* L., *Pistacia palaestina* Boiss. (Bağcıvan and Daşkın, 2019).

Cultivated plants and crop plants have taken an essential place in the region. The following species are also frequently observed in the parks, gardens, and streets of the district: *Cupressus sempervirens* L., *Cupressus arizonica* Green, *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Carpinus betulus* L., *Castanea sativa* Mill., *Cedrus libani* A. Rich., *Cercis siliquastrum* L., *Cornus mas* L., *Elaeagnus angustifolia* L., *Juglans regia* L., *Malus domestica* Borkh., *Morus* sp. L., *Olea europaea* L., *Platanus orientalis* L., *Salix babylonica* L., and *Tilia tomentosa* Moench. The field crops grown in the town area are *Triticum* L. species, *Zea mays* L., *Helianthus* L., *Solanum tuberosum* L., and *Fragaria* L.

Aeropalynological study

This study was conducted between 01 January 2012 to 31 December 2013. Durham sampler was used



in the research; the pollen trap was placed at the top roof of a building, 3 meters above the ground level. Before being placed on the device, slides were covered with basic fuchsin added glycerine-jelly (Charpin et al., 1974) and were changed weekly. Counting was conducted on a 24 x 24 mm area of the slide and calculated to 1 cm² area later; all spore numbers were given per cm².

Results

In the two consecutive years of the study, a total of 10817 spores were recorded in the Büyükşehir (Bursa)

atmosphere. In the first year, 4119 spores were identified; 3280 (79.63%) spores belonged to the *Cladosporium* and 839 (20.37%) spores to the *Alternaria*. In the second year, 6698 spores were observed; 5615 (83.83%) spores belong to the *Cladosporium* and 1083 (16.07%) to the *Alternaria*. Annually, a total of 5409 spores were determined; 4448 (81.73%) spores belong to the *Cladosporium*, and 961 (18.27%) spores to the *Alternaria*. It was observed that the total number of *Cladosporium* spores was much higher than the total amount of *Alternaria* spores (Table 1).

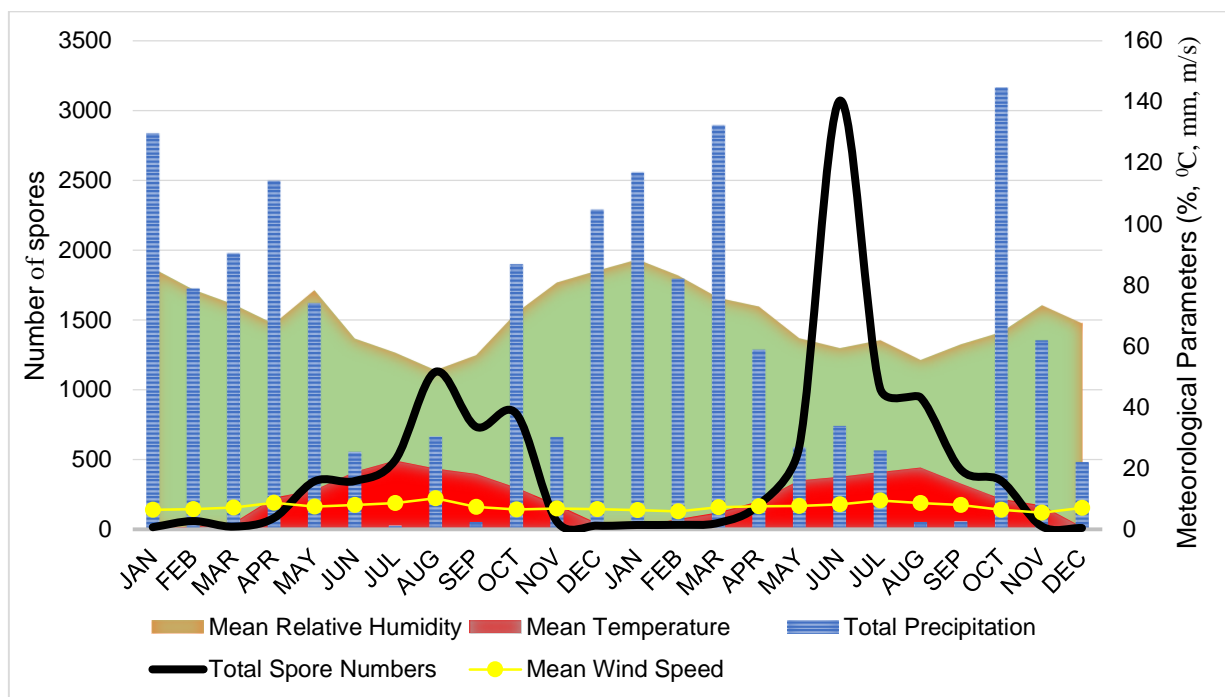


Figure 1. Monthly variation of meteorological parameters and total spore numbers in two consecutive years in Büyükşehir atmosphere.

Table 1. Total amounts of *Cladosporium* and *Alternaria* spores in Büyükşehir atmosphere in years 2012-2013 (mean and percentage values).

	2012	%	2013	%	MEAN	%	TOTAL
<i>Cladosporium</i>	3280	79.63	5615	83.83	4448	81.73	8895
<i>Alternaria</i>	839	20.37	1083	16.17	961	18.27	1922
TOTAL	4119	100	6698	100	5409	100	10817



In the atmosphere of Büyükorhan, *Cladosporium* and *Alternaria* spores were observed every month of the two years (Table 2). In both years, the total number of spores was found in low levels in January, February, and March. While the temperature was at low levels in these three months, precipitation and humidity levels were relatively high. In the year 2012, the number of spores was the lowest for the *Cladosporium* in January. However, the lowest amount of spores for *Alternaria* was recorded in March. The following year, For *Cladosporium* and *Alternaria* spores, the lowest values were recorded in December. Low temperature and heavy rain were kept the total number of spores at low levels for both (Figure 1, 2, and Table 2).

There has been a regular increase in the total number of spores from April in both years due to gradually increasing temperature. With favourable climatic conditions, the number of spores began to increase since this month in both sampling years. (Figure 1, Table 2). The total amount of spores were reached the highest level in August 2012 (1228 spores) and in July 2013 (3070 spores). For both spore types, the months in which the total number of spores reached the highest value were different in years, and at the same time, the total number of spores was more than doubled from 2013 to 2012 (Figure 1,2 and, Table 2). In both 2012 and 2013, the temperature was high, and humidity was low in the months (August 2012 and June 2013) when the total number of spores reached the highest level, and rainfall and wind-speed values were sufficient fungal spores to spread into the atmosphere. (Figure 1).

The total number of spores that peaked in August in the first year were started to decrease after this month, and the decline continued until September, were increased again, and showed the second peak in October. There was a sudden decrease in the total number of spores after October, and the total amount of spores in November and December was found very low (Figure 1,2 and, Table 2).

In the second year, after June, the total number of spores was decreased rapidly until August, but in August, the total number of spores was increased again slightly and were showed the second peak. August was the month with the highest temperature and the lowest rainfall in 2013. After August, the total number of spores was started to decrease gradually. A third small peak was observed in October. The total amount of spores in this month were less than the October peak of the previous year. As in 2012, the total number of spores belonging to

both *Cladosporium* and *Alternaria* was low in November and December. The minimum spore concentration was recorded in December 2013 (8 spores) (Figure 1,2 and Table 2).

In the study period, meteorological parameters differed monthly between the two years due to their dynamic and variable nature. As a result, the total spore amount was variable during the months of peak spore concentrations. Considering the monthly average changes of *Cladosporium* and *Alternaria* spores, the highest level was recorded in June for both years. Also, August and October were the months in which an increase in the average number of spores was observed for both spore types (Figure 3, Table 2).

When the changes in the weekly amounts of spores *Cladosporium* and *Alternaria* taxa are examined during the two consecutive years;

During the two years, spores belonging to the genus *Cladosporium* encountered every week in the atmosphere of Büyükorhan. In the first year, the number of *Cladosporium* spores was started to increase after the 17th week. The maximum level was recorded in the 35th week (last week of August 588 spores) and decreased after the 44th week. In the second year, the spore levels were beginning to increase after the 14th week and reached the highest value in the 24th week (second week of June 1244 spores) then, declined after the 41st week. The average number of spores was observed in the 24th week (649 spores) for *Cladosporium* taxa (Figure 4).

In the Büyükorhan atmosphere, *Alternaria* spores were found almost every week during the study period. In 2012, the number of *Alternaria* spores were started to increase after the 17th week. The maximum spore levels were observed in the 35th week (last week of August 59 spores) for *Alternaria*. Then decreased after the 42nd week. In the following year, *Alternaria* spore levels were began to increase after the 14th week. The maximum spore value was recorded in the 24th week (second week of June 196 spores), for *Alternaria*, declined after the 43rd week (Figure 4).

Considering the weekly average number of spore values for both taxa; While the week in which the spores belonging to the *Cladosporium* taxon were seen, the most was the 24th (average 649 spores/cm²) week. The week in which *Alternaria* spores were seen the most on average was again the same week (average 106 spores) (Figure 4).



Table 2. Monthly variation of *Cladosporium* and *Alternaria* spores in Büyükorhan atmosphere during the years 2012-2013 (Min. values shown in light, Max. values shown in dark grey font).

TAXA/MONTHS		JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	TOTAL	
<i>Cladosporium</i>	2012	9	52	14	67	273	270	360	931	569	683	37	15	3280	
	%	0.22	1.26	0.34	1.63	6.63	6.55	8.74	22.60	13.81	16.58	0.90	0.36	79.63	
	2013	25	27	43	153	521	2610	793	772	369	283	13	6	5615	
	%	0.37	0.40	0.64	2.28	7.78	38.97	11.84	11.53	5.51	4.23	0.19	0.09	83.83	
	Mean	17	40	29	110	397	1440	577	852	469	483	25	11	4448	
	%	0.30	0.83	0.49	1.96	7.20	22.76	10.29	17.06	9.66	10.40	0.55	0.23	81.73	
	<i>Alternaria</i>	2012	5	6	4	13	67	75	134	197	165	144	19	10	839
		%	0.12	0.15	0.10	0.32	1.63	1.82	3.25	4.78	4.01	3.50	0.46	0.24	20.37
2013		5	4	2	22	66	460	219	173	58	64	8	2	1083	
%		0.07	0.06	0.03	0.33	0.99	6.87	3.27	2.58	0.87	0.96	0.12	0.03	16.17	
Mean		5	5	3	18	67	268	177	185	112	104	14	6	961	
%		0.10	0.10	0.06	0.32	1.31	4.34	3.26	3.68	2.44	2.23	0.29	0.14	18.27	
TOTAL		2012	14	58	18	80	340	345	494	1128	734	827	56	25	4119
		%	0.34	1.41	0.44	1.94	8.25	8.38	11.99	27.39	17.82	20.08	1.36	0.61	100.00
	2013	30	31	45	175	587	3070	1012	945	427	347	21	8	6698	
	%	0.45	0.46	0.67	2.61	8.76	45.83	15.11	14.11	6.38	5.18	0.31	0.12	100.00	
	Mean	22	45	32	128	464	1708	753	1037	581	587	39	17	5409	
	%	0.39	0.94	0.55	2.28	8.51	27.11	13.55	20.75	12.10	12.63	0.84	0.36	100.00	



Discussion

In the district of Büyükşehir (Bursa), study was performed between 1 January 2012 and 31 December 2013, aeropalynological research carried out by gravimetric method, a total of 10817 spores were detected. An average of 5409 spores were recorded in the consecutive years. They have belonged to *Cladosporium* with 81.73% and *Alternaria* with 18.27% (Table 1). The total number of *Cladosporium* spores were found much more than *Alternaria* spores. This situation has also been noted in many atmospheric fungal spore studies in Turkey and worldwide (Mitakasis and Guest, 2001; Gioulekas et al., 2004; Herrero et al., 2006; Ataygul et al., 2007; Pyrri and Kapsanki-Gotsi, 2007; Potoglu Erkara et al., 2008; Kizilpinar and Dogan, 2011; Akgül et al., 2016; Grinn-Gofron et al., 2016; Yılmazkaya et al., 2019). Both *Cladosporium* and *Alternaria* can survive on a wide variety of substrates and in different habitats. In some fungal spore studies, it was observed that *Cladosporium* formed much more colonies than *Alternaria*. Simultaneously, the number of species included in the *Cladosporium* genus was much higher than the *Alternaria* in the systematic studies (Şen and Asan, 2001; Dugan et al., 2004; Asan, 2015; Kireççi and Alagöz, 2019). These situations may explain why *Cladosporium* is seen more than *Alternaria* in atmospheric fungal studies.

In Turkey and worldwide, spores of these two genera are usually recorded as the dominant types in the atmosphere. It is essential to know the reproduction times of fungi belonging to these two genera and to understand the changes in the number of spores (sporulation periods) in the atmosphere during the year, as they cause many respiratory diseases on humans and also have pathogenic effects on many plants of economic importance.

Geography, vegetation, and climate (weather conditions) differences between the areas and the types of fungal spore, the total numbers, and sporulation periods of them may also differ in the atmosphere. In this context, a significant emphasis should be placed on weather conditions because the weather conditions have great importance for fungal growth and the spore concentration variation in the atmosphere. Many researchers have stated this situation and in many studies (Hjelmroos, 1993; Şakıyan and İnceoğlu, 2003; Potoglu Erkara et al., 2008; İlanovici, 2016; Sindt et al., 2016; Grinn-Gofron et al., 2016; Olsen et al., 2020).

The spores belonging to the *Cladosporium* and *Alternaria* taxa varied every month during the years. In the atmosphere of Büyükşehir, and have been encountered in all months of both years. At the beginning of April in 2012 and 2013, the number of spores in the atmosphere for both genera spores increased and reached the maximum level in August and June. Considering the monthly average number of spores for both taxa in two years, the month when the number of spores reached the maximum level was recorded as of June. Increasing temperature in summer months, suitable rainfall, sufficient humidity, and increasing wind kept the total number of spores in the atmosphere higher than in other months. On the contrary, in the cold period (late autumn, winter, and early spring), the total number of spores in the atmosphere was recorded at low levels due to the climatic conditions (particularly low temperature and heavy rain) that were not formed for. (Figure 1,2 and 3, Table 1).

Among the meteorological parameters, temperature is one of the most important factors affecting fungal spores density in the atmosphere (Hjelmroos, 1993; İlanovici, 2016). In this study, it was observed that the temperature was low in the months when the total amount of spores was at the lowest levels in both years (winter, early spring, late autumn). (Figure 1, Table 2). The low temperature negatively affected the growth of species belonging to the *Cladosporium* and *Alternaria*. Therefore, spores of these two genera were less common in the atmosphere during the cold months. Similar results have been obtained in other atmospheric fungal spore studies with similar climatic conditions (Bıçakçı et al., 2001; Şakıyan and İnceoğlu, 2003; Gioulekas et al., 2004; Ataygul et al., 2007; Potoglu Erkara et al., 2008 and 2009; Kizilpinar and Dogan, 2011). Other researchers have stated that; in addition to temperature, prolonged and frequent rainfall (generally fall of snow), high humidity, and low wind speed are important meteorological factors that suppress the increase in the number of fungal spores in the atmosphere (Kramer et al., 1959; Palmas et al., 1990; Hjelmroos, 1993). Early spring and winter periods, when the number of spores is observed at low levels in the atmosphere of Büyükşehir district, can be said to be the periods when the risk is the lowest for susceptible individuals with allergies to *Cladosporium* and *Alternaria* spores.

In parallel with the temperature increase since April, the number of spores of both taxa were increased in the Büyükşehir atmosphere in both years (Figure 1 and 2). In similar studies, the spore concentration in the



atmosphere increased with rising temperature and sufficient precipitation (Kramer et al., 1959; Hjelmroos, 1993; Stepelska et al., 1999; Peternel et al., 2004; Potoglu Erkara et al., 2008; Serbes and Kaplan, 2014).

The amount of spores in the atmosphere of Büyükorhan is the highest value in the summer months in both years. The maximum spore level was observed in August for both taxa in the first year. In the second year, the top level of spores was recorded in June. In parallel with this study, in regions with similar climatic conditions, the maximum number of spores was generally reached in the summer months. (Figure 1,2,3, and Table 2). For example, in Bursa city center, maximum spore concentration was determined in June (Ataygul et al., 2007), in August in Ankara (Şakıyan and Inceoğlu, 2003), in July and August in Poland (Grinn-Gofron and Mika, 2008).

Rain is to be noted as another influential meteorological factor on atmospheric fungal spores (McCartney, 1991; Hjelmroos, 1993). In both years, when the total number of spores reached its peak, it was observed that rainfall was higher than in other summer months (August and June) (Figure 1). High temperature and sufficient rainfall can provide optimum sporulation conditions, and the concentration of spores may increase in the atmosphere after precipitation (Kramer et al., 1959; Hjelmroos, 1993). Different rainfall types are important for increasing or decreasing spore concentrations in the atmosphere. A storm with heavy rain (rainstorm, thunderstorm) may increase the spore concentration in the atmosphere. Because the spores of fungi such as *Cladosporium* and *Alternaria*, which can live on plants or in the soil, can be separated from the conidium by the storm's force and dispersed into the atmosphere. On the contrary, the light rains that fall continuously may decrease spores' concentration in the atmosphere (Rich and Waggoner, 1962). Besides, rainfall may cause a more accessible release of fungal spores to the atmosphere by splash and "tap-and-puff" mechanisms (Ho et al., 2005).

The total amount of spores after peaking in both years, but after the decreased, there were times when it increased for the second time and even for the third time. In the first year, the second peak was observed in October, while in the second year, it was in August. These peaks may be due to the relevant meteorological factors for sporulation and the sporulation time of different species belonging to both genera. Both *Cladosporium* and *Alternaria* genera are known to contain many species (Dugan et al., 2004; Asan, 2015). The reason for the low amount of total spores in October 2013 compared to 2012 was excessive rainfall. (Figure 1, Table 2).

Agricultural activities are carried out in areas where forest areas are destroyed in the region; this was another responsible for the high spore amounts in the atmosphere during the summer and early autumn months. Harvest time corresponds to between June and October in general, depending on the crop planted. Since species belonging to *Cladosporium* and *Alternaria* can live on plants as pathogens, spores of them can be separated from their conidia due to agricultural activities at harvest time. They can be released and increase the spore concentration in the atmosphere (Landecker, 1996).

In conclusion, the changes of spores belonging to the *Cladosporium* and *Alternaria* genera were observed in the Büyükorhan atmosphere during the two consecutive years. Simultaneously, the relationship between the number of spores' variation during the years and meteorological factors was investigated. Also, the effect of temperature and appropriate rainfall on the number of spores were found to be important, as well as humidity and wind speed. It has been determined that the riskiest times for susceptible individuals are summer months, especially June and August. Those who live in the region or who will visit the area have spore allergies. Besides, it has been predicted for the agriculturist in the region to take the necessary measures to prevent the loss of yield in the economically important plants growing in the area.

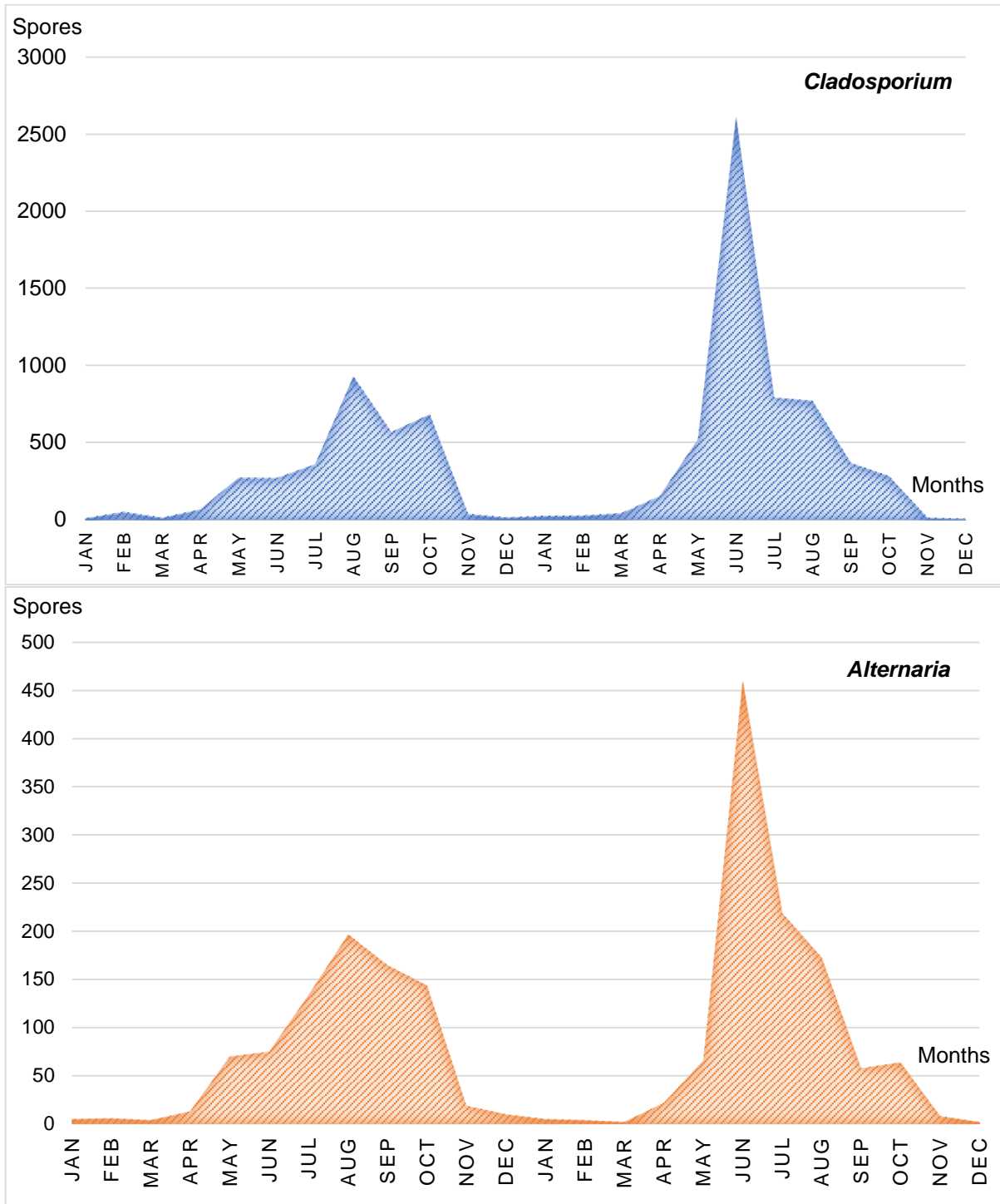


Figure 2. Monthly variation of atmospheric *Cladosporium* and *Alternaria* spores in the atmosphere of Büyükorhan during the years 2012-2013.

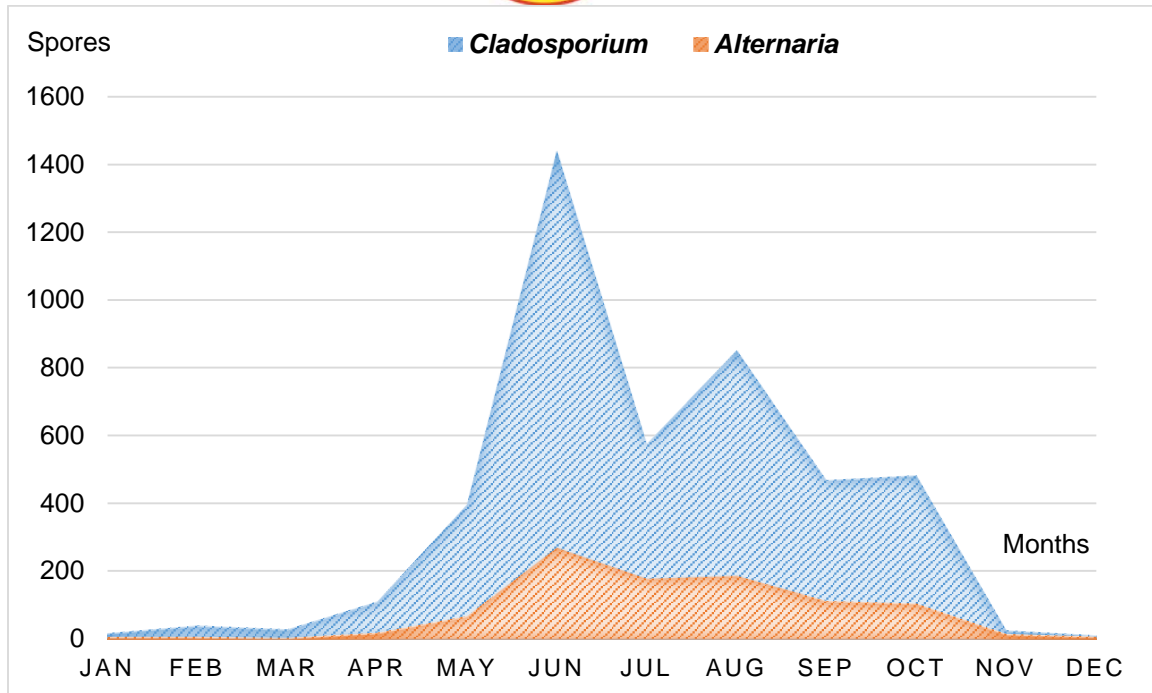


Figure 3. Monthly mean variation of atmospheric *Cladosporium* and *Alternaria* spores in the atmosphere of Büyükorhan during the years 2012-2013

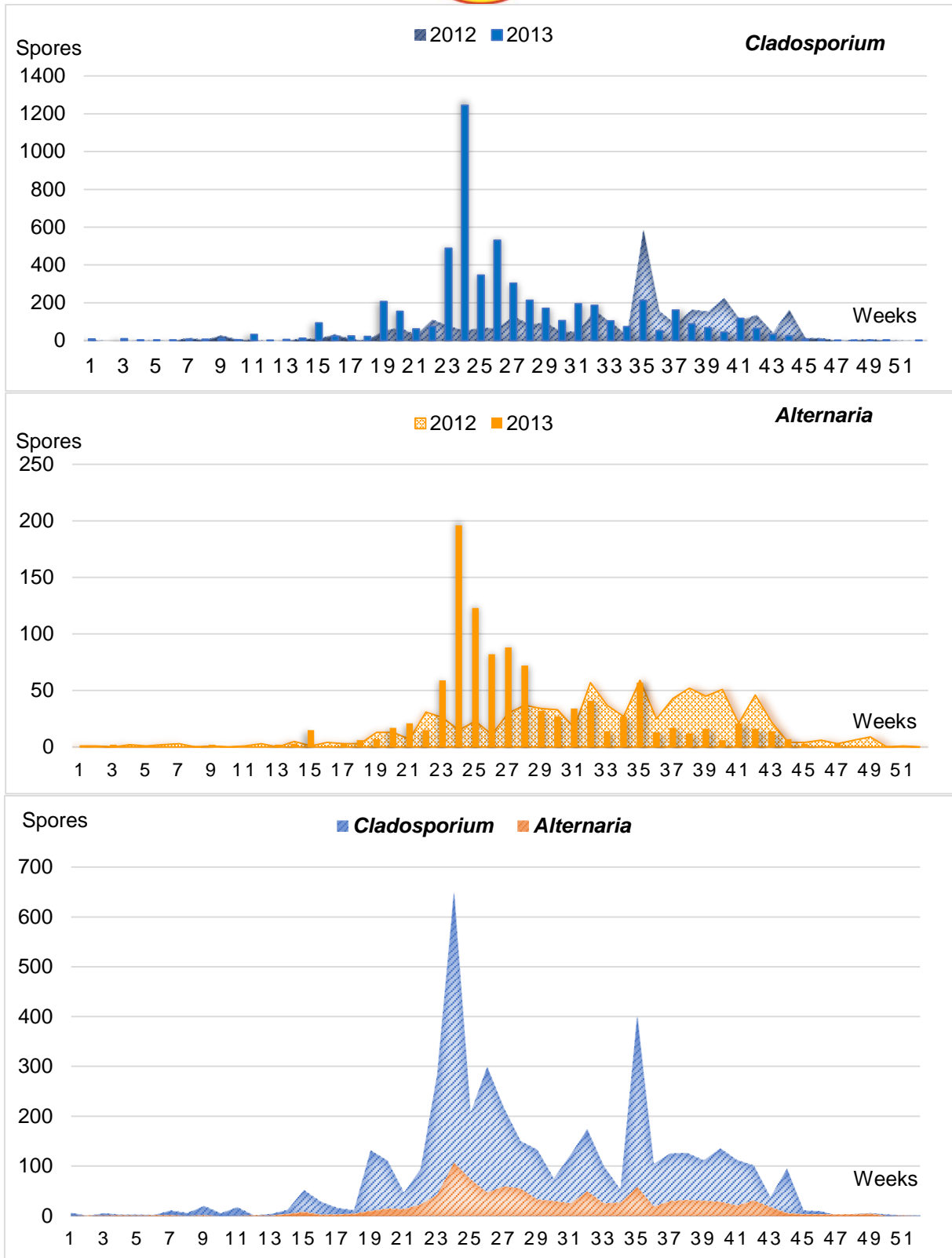


Figure 4. Weekly variation and weekly mean variation of *Cladosporium* and *Alternaria* spores in the atmosphere of Büyükorhan in the years 2012-2013.



References

- Akgül, H., Yılmazkaya, D., Akata, I., Tosunoğlu, A. and Bıçakçı, A. (2016). Determination of airborne fungal spores of Gaziantep (SE Turkey). *Aerobiologia*, 32 (3) 441-452.
- Angulo-Romero, J., Mediavilla-Molina, A. and Dominguez- Vilches, E. (1999). Conidia of *Alternaria* in the atmosphere of the city of Cordoba, Spain in relation to meteorological parameters. *Int. J. Biometeor.*, 43 45–49.
- Asan, A. (2015). Checklist of *Alternaria* Species Reported From Turkey, *Mantar Dergisi/The Journal of Fungus*, 6 (2) 43-57.
- Ataygul, E., Celenk, S., Canitez, Y., Bicakci, A., Malyer, H. and Sapan, N. (2007). Allergenic fungal spore concentrations in the atmosphere of Bursa, Turkey. *J. Biol. Environ. Sci.*, 1 (2) 3-79.
- Bağcıvan, G. ve Daşkın, R. (2019). Flora of Büyükorhan and Harmancık Districts (Bursa/Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 12 (2) 126-140.
- Bıçakçı, A., Tatlıdil, S., Canitez, Y. ve Malyer, H. (2001). Mustafakemalpaşa ilçesi (Bursa) atmosferindeki alerjen *Alternaria* sp. ve *Cladosporium* sp. sporları. *Akciğer Arşivi*, 2 69-72.
- Buck, P. and Levetin, E. (1985). Airborne pollen and mold spores in a subalpine environment. *Ann Allergy*, 55 794–801.
- Charpin, J., Surinyach, R. and Frankland A.W. (1974). *Atlas of European Allergenic Pollens*. Paris: Sandos Editions, 229 p.
- D'Amato, G., Stanzola, A.A., Cocco, G. and Melillo, G. (1984). Mold allergy: A three year investigation (1980-82) of the airborne fungal spores in Naples, Italy. *Ann Allergy.*, 52 363-367.
- D'Amato, G. (1981). *Allergia respiratoria da pollini e da miceti*. Lomhardo, Roma.
- Damialis, A. and Gioulekas, D. (2006). Airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Greece: Forecasting possibilities. *Grana*, 45 (2) 122-129.
- Ding, W., Li, L., Han, Y. and Liu, J. (2016). Site-related and seasonal variation of bioaerosol emission in an indoor wastewater treatment station: level, characteristics of particle size, and microbial structure. *Aerobiologia*, 32 (2) 211-224.
- Dugan, F.M., Schubert, K. and Braun, U. (2004). Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia*, 11 1–103.
- Gioulekas, D., Damialis, A., Papakosta, D., Spieksma, F., Giouleka, P. and Patakas, D. (2004). Allergenic fungi spore records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki- Greece. *J Invest Allergol Clin Immunol.*, 14 (3) 225-231.
- Gregory, PH. (1961). *The microbiology of the atmosphere*. New York: Interscience Publishers.
- Grinn-Gofroń, A. and Mika, A. (2008). Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004–2006. *Aerobiologia*, 24 89–97.
- Grinn-Gofroń, A., Strzelczak, A., Stępańska, D. and Myszkowska, D. (2016). A 10-year study of *Alternaria* and *Cladosporium* in two Polish cities (Szczecin and Cracow) and relationship with the meteorological parameters. *Aerobiologia*, 32 (1) 83-94.
- Herrero, B. and Zaldivar, P. (1997). Effects of meteorological factors on the levels of *Alternaria* and *Cladosporium* spore in the atmosphere of Palencia, 1990–1992. *Grana*, 36 180–184.
- Hjelmroos, M. (1993). Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables, *Cladosporium* and *Alternaria*. *Grana*, 32 40–47.
- Ho, H.M., Rao, C.Y., Hsu, H.H., Chiu, Y.H., Liu, C.M. and Chao, H.J. (2005). Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmospheric Environment*, 39 (32) 5839–5850.
- Ianovici, N. (2016). Atmospheric concentrations of selected allergenic fungal spores in relation to some meteorological factors, in Timișoara (Romania). *Aerobiologia*, 32 (1) 139-156.
- Kasprzyk, I., Kaszewski, B.M., Weryszko-Chmielewska, E., Nowak, M., Sulborska, A., Kaczmarek, J. and Jedryczka, M. (2016). Warm and dry weather accelerates and elongates *Cladosporium* spore seasons in Poland. *Aerobiologia*, 32 (1) 109-126.
- Kızılpınar, İ. and Doğan, C. (2011). Allergen *Alternaria* and *Cladosporium* concentration in the atmosphere of Çamkoru, (Ankara-Turkey) 2003-2004. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 39 (4) 427-434.
- Kilic, M., Altunoglu, M.K., Akdogan, G.E., Akpınar, S. and Taskin, E. (2020). Airborne fungal spore relationships with meteorological parameters and skin prick test results in Elazığ, Turkey. *J. Environ. Health Sci. Eng* 18 1271–1280.
- Kireççi, E. and Alagöz, G. (2019). Hava Kaynaklı Fungusların Tanısı Ve Dağılımı. "Diagnosis and distribution of fungi in the atmosphere". *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi / Balıkesir Health Sciences Journal*, 8 (2) 75-80.
- Kramer, C.L. (1959). Cansas Aeromycology VIII: Pphycomycetes. *Trans. Kans. Acad. Sci.*, 63 19-23.
- Landecker, E.M. (1996). *Fundamentals of Fungi*. Publ. Benjamin Cumings .1996.
- Mallo, A.C., Nitiu, D.S., Gardella. and Sambeth, M.C. (2011). Airborne fungal spore content in the atmosphere of the city of La Plata, Argentina. *Aerobiologia*, 27 77-84.



- McCartney, H.A. (1991). Airborne dissemination of fungal pathogens. - *J. Appl. Bacter. Symp. Suppl.*, 70 39 W8 S.
- Mitakakis, T.Z. and Guest, D.I. (2001). A fungal spore calendar for the atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993. *Aerobiologia*, 17 171–176.
- Money, NP. (2015). Spore production, discharge and dispersal. *The Fungi*. (3rd ed., pp. 67–97). London: Academic Press.
- Oliveira, M., Ribeiro, H., Delgado, L., Fonseca, J., Castel-Branco, M.G. and Abreu, I. (2010). Outdoor allergenic fungal spores: comparison between an urban and a rural area in northern Portugal. *J Investig Allergol Clin Immunol.*, 20 (2) 117-128.
- Olsen, Y., Skjøth, C., Hertel, O., Rasmussen, K., Sigsgaard, T. and Gosewinkel, U. (2020). Airborne *Cladosporium* and *Alternaria* spore concentrations through 26 years in Copenhagen, Denmark *Aerobiologia*, 36 141–157.
- Özkaragöz, K. (1969). A study of airborne fungi in Ankara area of Turkey in 1966. *Acta Allergologica*, 24 147-156.
- Palmas, F. and Cosentino, S. (1990). Comparison between fungal airspore concentration at two different sites in the South of Sardinia. *Grana*, 29 87-95.
- Peternel, R., Culig, J. and Hrga, I. (2004). Atmospheric concentrations of *Cladosporium* spp. and *Alternaria* spp. spores in Zagreb (Croatia) and effects of some meteorological factors. *Ann Agric Environ Med.*, 11 (2) 303–307.
- Potoglu Erkara, I., Asan, A., Yilmaz, V., Pehlivan, S. and Sarica Okten, S. (2008). Airborne *Alternaria* and *Cladosporium* species and relationship with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environ Monit Assess*, 144 31-41.
- Potoglu Erkara, I., Ilhan, S. and Oner, S. (2009). Monitoring and assessment of airborne *Cladosporium* Link and *Alternaria* Nees spores in Sivrihisar (Eskisehir), Turkey. *Environ Monit Assess*, 48 477–484.
- Pyri, I. and Kapsanaki-Gotsi, E. (2015). Evaluation of the fungal aerosol in Athens, Greece, based on spore analysis. *Aerobiologia*, 31 179-190.
- Rich, S. and Waggoner, P.E. (1962). Atmospheric Concentration of *Cladosporium* Spores. *Science*, 137 962-965.
- Saatcioglu, G., Tosunoglu, A., Malyer, H. and Bicakci, A. (2016). Airborne Fungal Spores Of North-West Anatolia, *Bangladesh J. Bot.*, 45 (3) 699-702.
- Serbes, A.B. ve Kaplan, A. (2014). Düzce ili atmosferinin polen ve spor dağılımının incelenmesi. *Karaelmas Sci. Eng. J.*, 4 (2) 46-58.
- Sesli, E., Asan, A. ve Selçuk, F., (Eds.) Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Haliki Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu. ve Yoltaş, A. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi (A Checklist of the Fungi of Turkey)*. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul. Sayfa: 62,258.
- Sindt, C., Besancenot, J.P. and Thibaudon, M. (2016). Airborne *Cladosporium* fungal spores and climate change in France. *Aerobiologia*. 32 53-68.
- Stepalska, D., Harmata, K., Kasprzyk, I., Myszkowska, D. and Stach, A. (1999). Occurrence of airborne *Cladosporium* and *Alternaria* spores in Southern and Central Poland in 1995–1996. *Aerobiologia*, 15 (1) 39–47.
- Şakiyan, N. and İnceoğlu, O. (2003). Atmospheric concentrations of *Cladosporium* Link and *Alternaria* Nees spores in Ankara and the effects of meteorological factors. *Turk J Bot.*, 27 78-81.
- Şen, B. and Asan, A. (2001). Airborne fungi in vegetable growing areas of Edirne, Turkey. *Aerobiologia*, 17 69-75.
- Vijay, H.M., Burton, M., Young, N.M., Copeland, D.F. and Corlett, M. (1991). Allergenic components of isolates of *Cladosporium herbarum*. *Grana*, 30 161-165.
- Yılmazkaya, D., Akgül, H., Altunoğlu, M.K., Tosunoğlu, A. and Bıçakçı, A. (2019). Fungal Spore Calendar of Yalova Province (2005). *Mantar Dergisi/The Journal of Fungus*, 10 (2) 116-123.



Geliş(Received) :20.06.2021
Kabul(Accepted) :08.07.2021

Research Article
Doi: 10.30708.mantar955067

First Record of *Elaphomyces decipiens* for the Mycobiota of Turkey

Yasin UZUN¹, Abdullah KAYA^{2*}

*Sorumlu yazar: kayaabd@hotmail.com

¹Karamanoğlu Mehmetbey University, Ermenek Uysal & Hasan Kalan Health Services Vocational School, Department of Pharmacy Services, 70400, Karaman, Turkey

²Gazi University, Science Faculty, Department of Biology, 06560 Ankara, Turkey

¹Orcid ID:0000-0002-6423-6085 / yuclathrus@gmail.com

²Orcid ID: 0000-0002-4654-1406 / kayaabd@hotmail.com

Abstract: The hypogeous ascomycete species, *Elaphomyces decipiens* Vittad., is reported as a new record from Turkey, based on the identification of the samples collected from Trabzon province. A brief description and photographs, related to the macroscopy and microscopy of the species, are provided.

Key words: Biodiversity, *Elaphomycetaceae*, hypogeous, new record, Turkey

Elaphomyces decipiens'in Türkiye Mikobiyotası İçin İlk Kaydı

Öz: Toprak altı askomiset türü olan, *Elaphomyces decipiens* Vittad., Trabzon'dan toplanan örneklerin teşhis edilmesiyle, Türkiye'den yeni kayıt olarak rapor edilmiştir. Türün kısa bir betimlemesi ve makroskopi ve mikroskobisine ilişkin fotoğrafları verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyoçeşitlilik, *Elaphomycetaceae*, toprak altı, yeni kayıt, Türkiye

Introduction

Elaphomyces T. Nees is a hypogeous, sequestrate genus of *Elaphomycetaceae* (*Ascomycota*). The genus is a widespread one, and occur in diverse forest habitats ranging from temperate and subarctic conifer forests to lowland tropics (Castellano et al. 2011, 2012, 2016; Castellano and Stephens, 2017; Paz et al. 2012). Members of the genus are also known as “the deer fungus” and form ectomycorrhizal associations with roots of many trees and shrubs around the world (Trappe et al., 2009, Castellano et al., 2018). Fruit bodies of *Elaphomyces* species form a part of the diet of some mycophagist animals. They release aromas to be detected by numerous mammal species that dig them up and consume. Meanwhile the animals help them to disperse the spores across the landscape (Cork and Kenagy 1989; Vernes et al., 2004; Castellano et al., 2018).

Seventy three members of the confirmed *Elaphomyces* are listed by Index Fungorum (2021). During last decade some of the members were also presented from Turkey. Uzun (2021) reports the existence of seven *Elaphomyces* species (*E. antracinus* Vittad., *E. citrinus* Vittad., *E. cyanosporus* Tul. & C.Tul.,

E. granulatus Fr., *E. leucocarpus* Vittad., *E. muricatus* Fr. and *E. septatus* Vittad.) in Turkey. But the check-list of Turkish Fungi (Sesli et al., 2020) and the latest contributions (Türkoğlu et al., 2015; Alkan et al., 2018; Doğan et al., 2018; Kaygusuz et al., 2018; Yakar et al., 2019; Uzun and Kaya, 2020a,b; Uzun, 2021) presenting hypogeous macromycetes from Turkey indicate that *Elaphomyces decipiens* Vittad. has not been reported from Turkey.

The study aims to make a contribution to the macrofungal biodiversity of the Trabzon and Turkey.

Material and method

The fruit bodies of *Elaphomyces decipiens* were collected from Arsin district of Trabzon province, in 2018, during a routine field study. First the fruit body samples were photographed at their natural habitat, and ecological characteristics and geographic position were noted. Then they were put in a paper box and transferred to the fungarium. The samples were dried in an air conditioned room and prepared as fungarium material. Microscopic investigations were carried out on dry samples. A trinocular light (Nikon Eclipse Ci-S) and a scanning electron microscope (Hitachi SU5000) was used for



microscopic investigation. Light microscopy images were obtained with the aid of a DS-Fi2 digital camera. The sample was identified with the help of Vittadini (1831), Dodge (1929) Montecchi and Sarasini (2000), Hobart (2015) and Paz et al. (2017).

The specimen is kept at Gazi University, Science Faculty, Department of Biology.

Results

Ascomycota Caval.-Sm.

Eurotiomycetes O.E. Erikss. & Winka

Eurotiales G.W. Martin ex Benny & Kimbr.

Elaphomycetaceae Tul. ex Paol.

Elaphomyces decipiens Vittad., Monogr. Tuberac. (Milano): 68 (1831).

Macroscopic and microscopic features:

Ascomata 16-18 mm in diameter, globose to spherical, surrounded by a crust like earthy remnants composed of mycelium and soil particles, grey-light ochre to ochre-brown, covered with flattened and irregular warts on a whitish to creamy background. Peridium marbled, white spotted, gray yellowish towards the outside, darker towards the inside. Mature gleba black somewhat with whitish radial interior walls (Figure 1). Smell typical deer truffle and unpleasant. Ascospores 19.7-25 µm in diameter, round, brown to blackish-brown, covered with short rod-like warts which aggregate to form isolated meshes (Figure 2).

Elaphomyces decipiens was reported to grow in neutral to sandy soil in deciduous forest, especially under oak trees (Montecchi and Sarazini, 2000).



Figure 1. Ascocarps of *Elaphomyces decipiens*

Specimen examined: Trabzon, Arsin, Güneyce village, in soil under *Castanea* sp., *Fagus orientalis* and *Rhododendron ponticum*, 40°51'N, 39°54'E, 880 m, 21.02.2018., Yuzun 6200.

Discussion

The deer fungus *Elaphomyces decipiens* is reported for the first time for the mycobiota of Turkey. It is the 8th member of the genus *Elaphomyces* in Turkey

(Sesli et al., 2020; Uzun and Kaya, 2020a; Uzun, 2021). Macroscopic, microscopic and habitat characteristics of Turkish collection are generally in agreement with those presented in literature (Hobart, 2015; Montecchi and Sarazini, 2000; Paz et al., 2017).

The crust like earthy remnant, surrounding the fruit body, flattened irregular warts on the surface and the marbled appearance of fleshy layer of the peridium are the main distinguishing characteristics of *E. decipiens*.



Elaphomyces muricatus also has a marbled appearance. But the flattened and irregular surface warts and bigger

spores of *E. decipiens* differs it from *E. muricatus* (Montecchi and Sarazini, 2000; Paz et al., 2017).

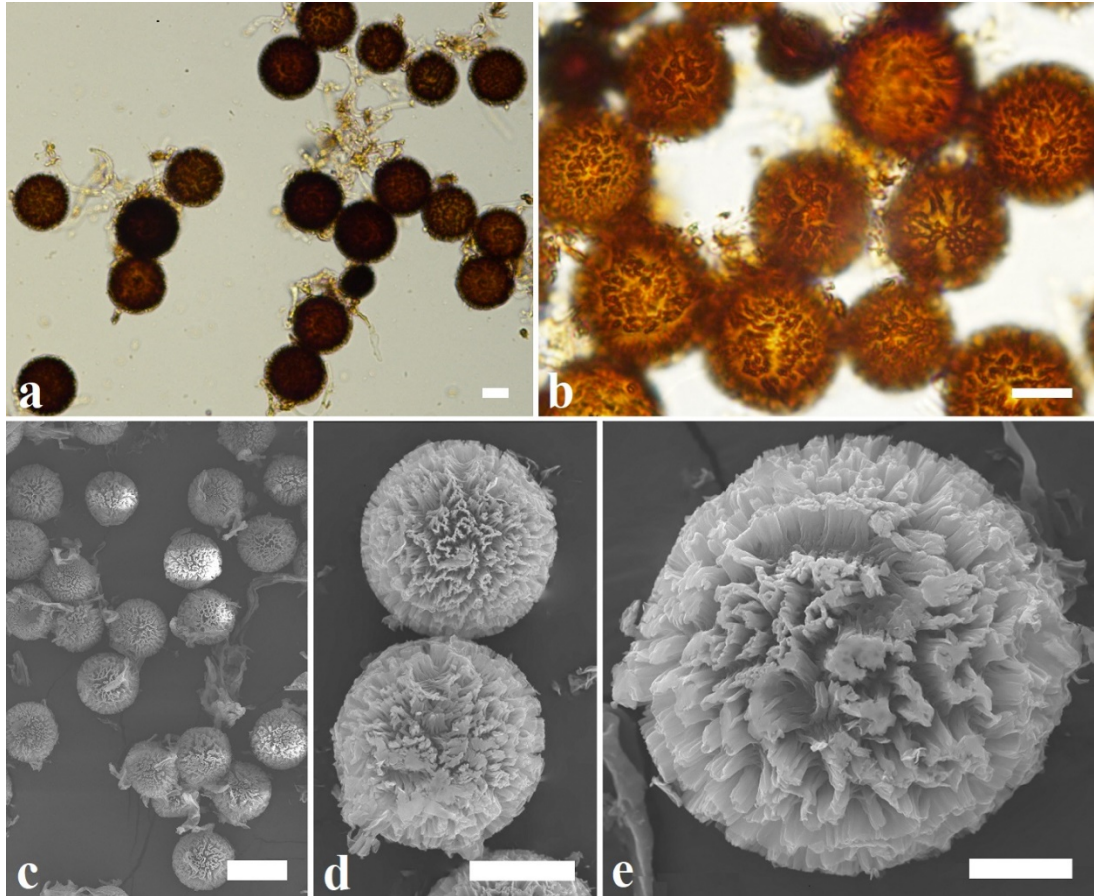


Figure 2. Light microscope (a-b) and SEM (c-e) images of ascospores of *Elaphomyces decipiens* (bars- a-b: 10 μ m, c: 20 μ m, d: 10 μ m, e: 5 μ m)

References

- Alkan, S., Aktaş, S. and Kaşık, G. (2018). *Tuber* species in Turkey and a new locality for *Tuber aestivum*. *Selçuk University Journal of Science Faculty*, 44(1): 25-29.
- Castellano, M.A. and Stephens, R.B. (2017). *Elaphomyces* species (*Elaphomycetaceae*, *Eurotiales*) from Bartlett Experimental Forest, New Hampshire, USA. *IMA Fungus*, 8(1): 49-63.
- Castellano, M.A., Beever, R.E. and Trappe, J.M. (2012). Sequestrate fungi of New Zealand: *Elaphomyces* (*Ascomycota*, *Eurotiales*, *Elaphomycetaceae*). *New Zealand Journal of Botany*, 50(4): 423-433.
- Castellano, M.A., Dentinger, B.T.M., Séné, O., Elliot, T.F., Truong, C. and Henken, T.W. (2016). New species of *Elaphomyces* (*Elaphomycetaceae*, *Eurotiales*, *Ascomycota*) from tropical rainforests of Cameroon and Guyana. *IMA Fungus*, 7(1): 59-73.
- Castellano, M.A., Elliott, T.F. and Trappe, J.M. (2018). Three new black *Elaphomyces* species (*Elaphomycetaceae*, *Eurotiales*, *Ascomycota*) from eastern North America with notes on selected European species. *Fungal Systematics and Evolution*, 1: 1-12.
- Castellano, M.A., Trappe, J.M. and Vernes, K. (2011). Australian species of *Elaphomyces* (*Elaphomycetaceae*, *Eurotiales*, *Ascomycota*). *Australian Systematic Botany* 24: 32-57.
- Cork, S.J. and Kenagy, G.J. (1989). Nutritional value of hypogeous fungus for a forest-dwelling ground squirrel. *Ecology*, 70: 577-586.
- Dodge CW (1929). The higher Plectascales. *Annales Mycologia* 27(3-4): 145-184.
- Doğan, H.H., Bozok, F. and Taşkın, H. (2018). A new species of *Barssia* (*Ascomycota*, *Helvellaceae*) from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 42(5): 636-643.



- Hobart, C. (2015). Further news from the underground: two new British hypogeous fungi. *Field Mycology*, 16(4): 121-124.
- Index Fungorum (2021).: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. Accessed 15 April 2021.
- Kaygusuz, O., Çolak, Ö.F., Matočec, N. and Kušan, I. (2018). New data on Turkish hypogeous fungi. *Natura Croatica*, 27(2): 257-269.
- Montecchi, A. and Sarasini, M. (2000). *Fungi Ipogei D'Europa*. Vicenza: Fondazione Centro Studi Micologici dell'AMB.
- Paz, A., Bellanger, J.M., Lavoise, C., Molia, A., Ławrynówicz, M., Larsson, E., Ibaráuren, I.O., Jeppson, M., Læssøe, T., Sauve, M., Richard, F. and Moreau, P.A. (2017). The genus *Elaphomyces* (Ascomycota, Eurotiales): a ribosomal DNA-based phylogeny and revised systematics of European 'deer truffles'. *Persoonia*, 38: 197-239.
- Paz, A., Lavoise, C., Barrio, L., Richard, F. and Moreau, P.A. (2012). Propuesta de dos nuevas especies del género *Elaphomyces*, dos primeras citas para la Península Ibérica y una clave de identificación de las especies del género para Europa. *Bol. Micol. FAMCAL*, 7: 85-104.
- Sesli, E., Asan, A., Selçuk, F. (eds), Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğdu, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., and Yoltaş, A. (2020). Türkiye Mantarları Listesi. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul.
- Trappe, J.M., Molina, R., Luoma, D.L., Cázares, E., Pilz, D., Smith, J.E., Castellano, M.A., Miller, S.L. and Trappe, M.J. (2009). *Diversity, ecology and conservation of truffle fungi in forests of the Pacific Northwest*. Portland: Pacific Northwest Research Station.
- Türkoğlu, A., Castellano, M.A., Trappe, J.M. and Yaratankul Güngör, M. (2015). Turkish truffles I: 18 new records for Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 39(2): 359-376.
- Uzun, Y. (2021). *Elaphomyces anthracinus*, a new hypogeous ascomycete record for Turkish mycota. *Anatolian Journal of Botany*, 5(1): 29-31.
- Uzun, Y. and Kaya, A. (2020a). *Elaphomyces citrinus* and *E. cyanosporus*, new for Turkey. *Mycotaxon*, 135(2): 339-344.
- Uzun, Y. and Kaya, A. (2020b). The checklist of the macromycetes determined in Gaziantep province. *Anatolian Journal of Botany*, 4(2): 106-115.
- Vernes, K., Blois, S.L. and Bärlocher, F. (2004). Seasonal and yearly changes in consumption of hypogeous fungi by northern flying squirrels and red squirrels in old-growth forest, New Brunswick. *Canadian Journal of Zoology*, 82(1): 110-117.
- Vittadini, C. (1831). *Monographia Tuberacearum*. Milano: Rusconi.
- Yakar, S., Uzun, Y. and Çevik, F.T. (2019). New locality records for two hypogeous basidiomycete species in Turkey. *Anatolian Journal of Botany*, 3(1): 28-33.



Geliş(Received) :01.07.2021
Kabul(Accepted) :04.08.2021

Research Article
Doi: 10.30708.mantar960666

Macrofungi Determined in Ereğli (Konya) District

Fahri Tunahan ÇEVİK¹, Yasin UZUN²,
Abdullah KAYA^{3*}

*Sorumlu yazar: kayaabd@hotmail.com

¹Yunuskent Mehmet Akif Ersoy Anatolian High School, 70100 Karaman, Turkey

²Karamanoğlu Mehmetbey University, Ermenek Uysal & Hasan Kalan Health Services Vocational School, 70400, Karaman, Turkey

³Gazi University, Science Faculty, Department of Biology, 06500 Ankara, Turkey

¹Orcid ID: 0000-0002-1307-475X / tunahancevik@gmail.com

²Orcid ID:0000-0002-6423-6085 / yuclathrus@gmail.com

³Orcid ID: 0000-0002-4654-1406 / kayaabd@hotmail.com

Abstract: This study was carried out on macrofungi samples collected from Ereğli district of Konya between 2017 and 2019. Eighty nine species, belonging to 74 genera, 41 families, 13 orders and 7 classes within Ascomycota and Basidiomycota were determined. The list of the taxa is presented together with their habitats and localities. *Tulostoma niveum* is reported as new record for the mycobiota of Turkey and presented with a short description and photographs.

Key words: Biodiversity, macrofungi, taxonomy, Turkey

Ereğli (Konya) Yöresinde Belirlenen Makromantarlar

Öz: Bu çalışma Ereğli (Konya) yöresinden 2017 ve 2019 yılları arasında toplanan örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ascomycota ve Basidiomycota bölümleri içinde yer alan 7 sınıf, 13 takım, 41 familya ve 74 cinse ait 89 tür belirlenmiştir. Türlerin listesi habitat ve lokaliteleri ile birlikte verilmiştir. *Tulostoma niveum* Türkiye mikrobiyotası için yeni kayıt olarak rapor edilmiş ve kısa betimlemesi ve fotoğraflarıyla verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyoçeşitlilik, makromantarlar, taksonomi, Türkiye

Introduction

Ereğli is a district of Konya located in Central Anatolian Region of Turkey. The research area is situated between 37°21'-38°01' north latitudes and 33°45'-34°23' east longitudes and takes place in C4 according to Davis' grid square system (Figure 1). According to Emberger's formula (Akman, 1999), the area has a Mediterranean climate. The annual precipitation is 317.7 mm, and the average temperature is 11.7 °C.

Though steppe vegetation is the dominant vegetation in the region, some naturally growing and planted *Pinus nigra* J.F. Arnold, *Juniperus oxycedrus* Hochst.), and some *Quercus* L. sp. especially of *Quercus pubescens* Szov. ex A.DC and *Quercus cerris* DC. populations are localized at higher portions of the region. *Salix* L. and *Populus* L. species are also distributed along streamsides.

In a conference paper presented in 14th National Biological Congress, Kaşık and Öztürk (1998) reported 22 macrofungi species from the region. But a detailed

research related to macrofungal biodiversity of Ereğli district haven't been conducted.

The work aims to determine the macrofungal composition of the Ereğli region and make a contribution to the mycobiota of Konya and Turkey.

Material and method

The macrofungi samples were collected between 2017 and 2019 from the region within the boundaries of Ereğli district of Konya (Figure 1). The fruit bodies were photographed at their natural habitats and required ecological characters were noted. Investigations related macroscopy and microscopy of the samples were carried out in the fungarium. Microscopic investigations were performed under a Nikon Eclipse Ci-S trinocular microscope. The samples were identified with the help of Watling (1973), Kers (1978), Phillips (1981), Moser (1983), Breitenbach and Kränzlin (1984, 1986, 1991, 1995, 2000), Miller and Miller (1988), Ellis and Ellis (1990), Buczacki (1992), Hansen and Knudsen (1992,



1997), Jordan (1995), Pegler et al. (1995), Bessette et al. (1997, 2007), Medardi (2006), Hausknecht (2009), Antonin and Noordeloos (2010), Thompson (2013) and Beug et al. (2014).

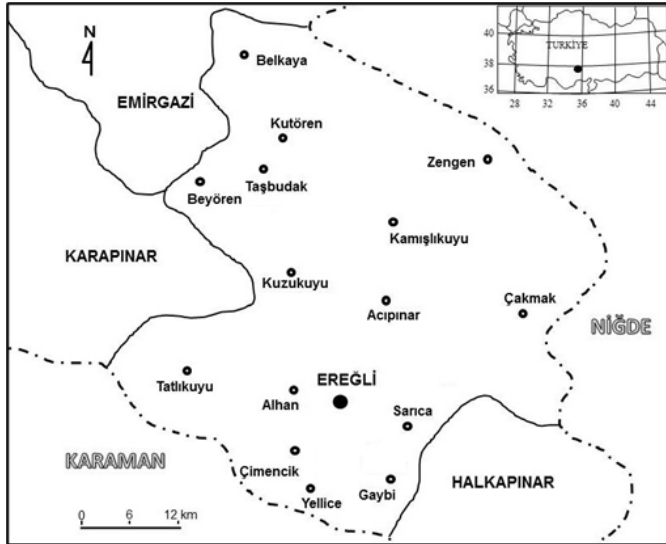


Figure 1. Map of the research area

The specimens are kept at Karamanoğlu Mehmetbey University, Kamil Özdağ Science Faculty, Department of Biology.

Results

Eighty nine macromycete taxa were determined from the research area. The taxa are listed in alphabetical order, considering the taxonomic categories from division to species. Kirk et al., (2008) and Index Fungorum (accessed on 15 June 2021) was followed for the systematics of the taxa.

Fungi R.T. Moore

Ascomycota Caval.-Sm.

Dothideomycetes O.E. Erikss. & Winka

Patellariales D. Hawksw. & O.E. Erikss.

Patellariaceae Corda

Patellaria Fr.

1. Patellaria atrata (Hedw.) Fr.: Beleağaç village, on decaying stump of *Populus* sp., along streamside, 37°28'N-34°06'E, 1060 m, 06.11.2017, FTÇ-197; Sarıca piknik area, on decaying *Populus* sp. twigs, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 09.12.2017, FTÇ-240.

Pezizomycetes O.E. Erikss. & Winka

Pezizales J. Schröt.

Helvellaceae Fr.

Dissingia K. Hansen, X.H. Wang & T. Schumach.

2. Dissingia leucomelaena (Pers.) K. Hansen & X.H. Wang: Büyükdede village, on soil, among needle litter, 37°24'N-34°07'E, 1360 m, 02.05.2018, FTÇ-365; Gaybi village, on soil, among needle litter, 37°25'N-34°08'E, 1225 m, 17.04.2019, FTÇ-408.

Helvella L.

3. Helvella acetabulum (L.) Quél.: Beyören village, on soil, among leaf litter, 37°48'N-33°52'E, 1490 m, 23.04.2019, FTÇ-410.

4. Helvella atra J. König: Belceağaç village, on soil, among leaf litter, 37°28'N-34°06'E, 1060 m, 26.08.2017, FTÇ-139.

5. Helvella fibrosa (Wallr.) Korf: Beyören village, on soil, among leaf litter under *Quercus* sp., 37°48'N-33°52'E, 1490 m, 23.04.2019, FTÇ-411.

6. Helvella lacunosa Afzel.: Gaybi village, on soil, among leaf litter, under *Populus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1220 m, 17.06.2017, FTÇ-52; Yıldızlı village, stream side, on soil, under *Populus* sp., 37°26'N-34°08'E, 1100 m, 01.10.2017, FTÇ-154.

7. Helvella spadicea Schaeff.: Büyükdede village, on soil, under *Populus* sp., 37°25'N-34°07'E, 1350 m, 01.05.2019, FTÇ-420.

Morchellaceae Rchb.

Morchella Dill. ex Pers.

8. Morchella elata Fr.: Gaybi village, on soil, among needle litter, under *Pinus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1190 m, 14.03.2018, FTÇ-351.

9. Morchella esculenta (L.) Pers.: Beyören village, among leaf litter, under *Quercus* sp., 37°48'N-33°52'E, 1490 m, 30.04.2019, FTÇ-419.

Verpa Sw.

10. Verpa bohemica (Krombh.) J. Schröt.: Yıldızlı village, among leaf litter, under *Populus* and *Salix* spp., 37°26'N-34°09'E, 1130 m, 17.04.2017, FTÇ-4.

Pezizaceae Dumort.

Peziza Dill. ex Fr.

11. Peziza succosa Berk.: Melicek village, on soil, under *Populus* sp., 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 09.06.2017, FTÇ-45.

Sarcosphaera Auersw.

12. Sarcosphaera coronaria (Jacq.) J. Schröt.: Gaybi village, among needle litter under *Pinus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1180 m, 02.05.2018, FTÇ-366.

Terfezia (Tul. & C. Tul.) Tul. & C. Tul.

13. Terfezia claveryi Chatin: Alhan village, in soil, among *Helianthemum* sp. 37°30'N-33°57'E, 1010 m, 15.04.2018, FTÇ-359; Melicek village, steppe, in soil with



Helianthemum sp., 37°26'N-33°58'E, 1150 m, 27.04.2019, FTÇ-415.

Pyronemataceae Corda

Geopora Harkn.

14. *Geopora sumneriana* (Cooke) M. Torre: Gaybi village, among needle litter, under *Pinus* sp., embedded in the ground, 37°25'N-34°07'E, 1250 m, 30.04.2017, FTÇ-24.

Geopyxis (Pers.) Sacc.

15. *Geopyxis vulcanalis* (Peck) Sacc.: Gaybi village, on soil, among leaf litter, streamside, 37°25'N-34°08'E, 1225 m, 31.03.2018, FTÇ-355; Büyükdede village, streamside, under *Salix* sp. and *Populus* sp., 37°25'N-34°07'E, 1350 m, 17.04.2019, FTÇ-409.

Humaria Fuckel

16. *Humaria hemisphaerica* (F.H. Wigg.) Fuckel: Belceağaç village, on sandy soil, streamside, 37°28'N-34°06'E, 1060 m, 26.08.2017, FTÇ-136.

Inermisia Rifai

17. *Inermisia gyalectoides* (Svrček & Kubička) Dennis & Itzerott: Sarıca village, among moss, 37°27'N-34°07'E, 1110 m, 10.12.2017, FTÇ-262.

Octospora Hedw.

18. *Octospora itzerottii* Benkert: Sarıca village, on moss, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 09.12.2017, FTÇ-235.

Otidea (Pers.) Bonord.

19. *Otidea alutacea* (Pers.) Masee: Gaybi village, among needle litter under *Pinus* sp. 37°25'N-34°08'E, 1160 m, 02.06.2018, FTÇ-381.

Parascutellinia Svrček

20. *Parascutellinia violacea* (Velen.) Svrček: Sarıca village, on soil, streamside, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 06.11.2017, FTÇ-202.

Picoa Vittad.

21. *Picoa juniperi* Vittad.: Yellice village, steppe, in soil, 37°24'N-34°01'E, 1650 m, 13.04.2019, FTÇ-407.

22. *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire: Melicek village, steppe, in soil, 37°26'N-33°58'E, 1150 m, 24.04.2019, FTÇ-412.

Pyronema Carus

23. *Pyronema omphalodes* (Bull.) Fuckel: Büyükdede village, on ash remains under *Salix* sp., 37°25'N-34°07'E, 1300 m, 17.06.2017, FTÇ-57.

Scutellinia (Cooke) Lambotte

24. *Scutellinia crinita* (Bull.) Lambotte: Büyükdede village, on soil along streamside, 37°25'N-34°07'E, 1300 m, 17.06.2017, FTÇ-59.

25. *Scutellinia scutellata* (L.) Lambotte: Büyükdede village, on soil along streamside, 37°25'N-34°07'E, 1300 m, 17.06.2017, FTÇ-85.

Trichophaea Boud.

26. *Trichophaea woolhopeia* (Cooke & W. Phillips) Boud.: Gaybi village, among needle litter under *Pinus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1170 m, 02.06.2018, FTÇ-382.

Tuberaceae Dumort.

Tuber P. Micheli ex F.H. Wigg.

27. *Tuber borchii* Vittad.: Beyören village, in soil under *Quercus* sp., 37°48'N-33°52'E, 1490 m, 30.06.2017, FTÇ-92; 23.07.2017, FTÇ-106; 29.07.2017, FTÇ-122.

Sordariomycetes O.E. Erikss. & Winka

Diaporthales Nannf.

Valsaceae Tul. Ve C. Tul.

Valsa Fr.

28. *Valsa sordida* Nitschke: Sarıca village, on alive *Populus* sp. barks, 37°27'N-34°07'E, 1090 m, 30.04.2017, FTÇ-19.

Xylariales Nannf.

Xylariaceae Tul. & C. Tul.

Xylaria Hill ex Schrank

29. *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev.: Büyükdede village, on decaying stump, 37°25'E-34°07'E, 1300 m, 03.06.2017, FTÇ-36; Yıldızlı village, on dead branches of *Corylus* L. sp., 37°27'N-34°08'E, 1110 m, 12.07.2017, FTÇ-102.

Basidiomycota R.T. Moore

Agaricomycetes Doweld

Agaricales Underw.

Agaricaceae Chevall.

Agaricus L.

30. *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach: Sarıca village, among grasses along streamside, 37°27'N-34°07'E, 1090 m, 30.04.2017, FTÇ-18.

31. *Agaricus xanthodermus* Genev.: Büyükdede village, on soil, among grasses under *Prunus* sp., 37°25'N-34°07'E, 1350 m, 01.06.2018, FTÇ-376.

Bovista Pers.

32. *Bovista plumbea* Pers.: Alhan village, on soil, among grass, 37°30'N-33°57'E, 1030 m, 28.08.2017, FTÇ-142.

Calvatia Fr.

33. *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd: Melicek village, on soil, among grass, 37°26'N-33°58'E, 1150 m, 14.06.2018, FTÇ-402.

Coprinus Pers.

34. *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers.: Sarıca village, on soil among grass, 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 17.06.2017, FTÇ-53.

Montagnea Fr.

35. *Montagnea arenaria* (DC.) Zeller: Melicek village, on soil among grass, 37°26'N-33°58'E, 1150 m, 27.04.2019, FTÇ-416.

**Tulostoma** Pers.

36. *Tulostoma brumale* Pers.: Gaybi village, on soil among moss in mixed forest, 37°25'N-34°08'E, 1190 m, 06.01.2018, FTÇ-307.

37. *Tulostoma fimbriatum* Fr.: Büyükdede village, on soil under *Pinus* sp., 37°25'N-34°07'E, 1400 m, 17.04.2017, FTÇ-11; 37°25'N-34°08'E, 1190 m, 09.12.2017, FTÇ-243.

38.Tulostoma niveum*** Kers: Melicek village, among moss in grassland, 37°26'N-33°58'E, 1150 m, 29.04.2019, FTÇ-418.

Suggested Turkish Name: İbikligözenek

Gasterocarp, stipitate, 4-8 mm in diameter, subglobose to ovoid, strictly papillate at the top with a single ostiole, white to whitish cream, somewhat flattened at the base with a slight collar around the stipe apex. Stipe 6-15 x 1-3 mm, slender, some tapered towards the base, whitish, smooth to striate, deeply immersed in moss. Capillitial hyphae 2-6 µm in diameter, septate. Basidiospores 5.5-8 µm, globose to subglobose, coarsely verruculose, some of the verruculae irregular and somewhat isolated (Fig. 2).

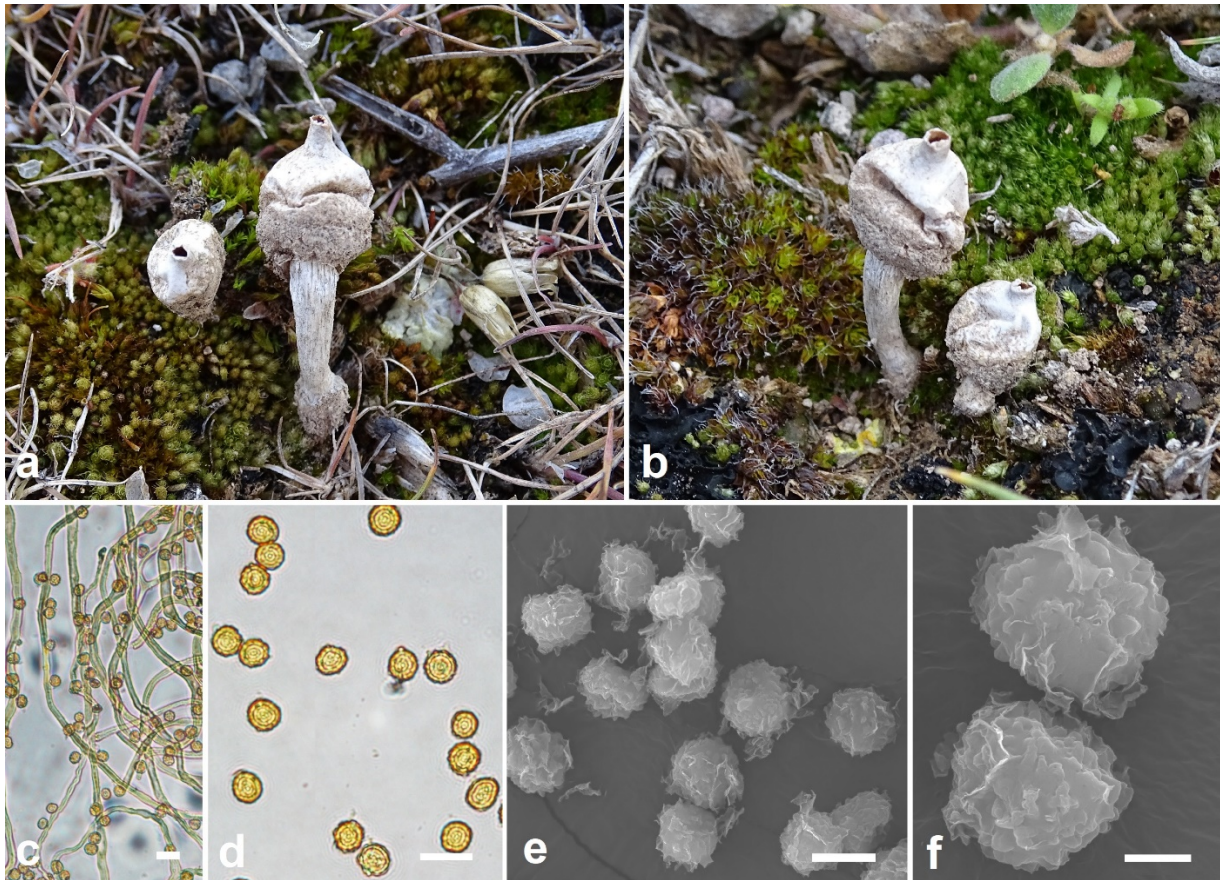


Figure 2. Gasterocarps (a,b), capillitial hyphae (c), light microscope (d) and SEM images (e,f) of basidiospores of *Tulostoma niveum* (bars: c,d: 10 µm, e: 5 µm, f: 2 µm) (c,d in Melzer)

Bolbitiaceae Singer**Conocybe** Fayod

39. *Conocybe apala* (Fr.) Arnolds: Ereğli Kültür Park, on soil among grass, 37°32'N-34°04'E, 1050 m, 02.05.2019, FTÇ-421.

Chromocyphellaceae Knudsen**Chromocyphella** De Toni & Levi

40. *Chromocyphella muscicola* (Fr.) Donk: Sarıca village, picnic area, on moss along streamside, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 10.12.2017, FTÇ-246.

Cyphellaceae Lotsy**Chondrostereum** Pouzar

41. *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar: Melicek village, on *Populus* sp. stump, 37°28'N-33°58'E, 1020 m, 12.07.2017, FTÇ-104; Sarıca village, on *Populus* sp. stump, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 09.12.2017, FTÇ-239.

**Hymenogastraceae** Vittad.**Galerina** Earle

42. *Galerina pumila* (Pers.) Singer: Yellice village, on moss, under *Juniperus* sp., 37°24'N-34°01'E, 1500 m, 06.01.2018, FTÇ-297; 06.01.2018, FTÇ-303.

Hymenogaster Vittad.

43. *Hymenogaster bulliardii* Vittad.: Gaybi village, in soil, under *Crataegus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1250 m, 17.06.2017, FTÇ-75.

Psilocybe (Fr.) P. Kumm.

44. *Psilocybe coronilla* (Bull.) Noordel.: Sarıca village, around İvriz Anatolian High School, on manured soil, 37°27'N-34°07'E, 1110 m, 17.04.2017, FTÇ-8.

Inocybaceae Jülich**Inocybe** (Fr.) Fr.

45. *Inocybe rimosa* (Bull.) P. Kumm.: Melicek village, among leaf litter, under *Populus* sp., 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 17.06.2017, FTÇ-87.

Phaeomarasmius Scherff.

46. *Phaeomarasmius erinaceus* (Fr.) Scherff. ex Romagn.: Büyükdede village, on decaying *Salix* sp. stump, along streamside, 37°25'N-34°07'E, 1350 m, 06.01.2018, FTÇ-316.

Marasmiaceae Roze ex Kühner**Calyptella** Quél.

47. *Calyptella capula* (Holmsk.) Quél.: Sarıca village, on petioles of dead *Sambucus* L. sp. leaves, 37°27'N-34°07'E, 1110 m, 06.11.2017, FTÇ-200.

Mycenaceae Overeem**Hemimycena** Singer

48. *Hemimycena lactea* (Pers.) Singer: Sarıca village, around İvriz Anatolian High School, among needle litter, 37°26'N-34°07'E, 1100 m, 10.12.2017, FTÇ-245.

Mycena (Pers.) Roussel

49. *Mycena haematopus* (Pers.) P. Kumm.: Gaybi village, on decaying wood in pine forest, 37°25'N-34°08'E, 1240 m, 30.12.2017, FTÇ-282.

50. *Mycena meliigena* (Berk. & Cooke) Sacc.: Sarıca village, on decaying bark in pine forest, 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 10.12.2017, FTÇ-257.

Omphalotaceae Bresinsky**Gymnopus** (Pers.) Gray

51. *Gymnopus dryophilus* (Bull.) Murrill: Sarıca village, around İvriz Anatolian High School, among needle litter, 37°26'N-34°07'E, 1100 m, 10.12.2017, FTÇ-259.

Physalacriaceae Corner**Flammulina** P. Karst.

52. *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer: Büyükdede village, around *Salix* sp. stump, 37°25'N-34°07'E, 1350 m, 30.12.2017, FTÇ-285; 30.12.2017, FTÇ-288.

Pleurotaceae Kühner**Pleurotus** (Fr.) P. Kumm.

53. *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél.: Yellice village, on soil with *Ferula* sp. remains, 37°25'N-34°06'E, 1330 m, 17.04.2017, FTÇ-7; Melicek village, 37°26'N-33°58'E, 1200 m, 10.01.2018, FTÇ-327.

54. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.: Sarıca village picnic area, on *Populus* sp. stump, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 09.12.2017, FTÇ-242; Büyükdede village, 37°25'N-34°07'E, 1350 m, 30.12.2017, FTÇ-287.

Pluteaceae Kotl. & Pouzar**Pluteus** Fr.

55. *Pluteus romellii* (Britzelm.) Sacc.: Melicek village, kavaklık, around decaying *Populus* sp. stump, 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 09.06.2017, FTÇ-49; Belceağaç village, 37°28'N-34°06'E, 1080 m, 17.06.2017, FTÇ-81.

Volvariella Speg.

56. *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer: Yıldızlı village, on decaying *Populus* sp. stump, 37°27'N-34°08'E, 1120 m, 17.06.2017, FTÇ-63; Sarıca village, 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 23.08.2017, FTÇ-133; Melicek village, 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 29.10.2017, FTÇ-184.

57. *Volvariella murinella* (Quél.) M.M. Moser ex Dennis, P.D. Orton & Hora: Beyören village, on soil under *Quercus* sp., 37°48'N-33°52'E, 1490 m, 13.05.2018, FTÇ-371.

Psathyrellaceae Vilgalys, Moncalvo & Redhead**Coprinellus** P. Karst.

58. *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E. Lange: Yıldızlı village, around decaying *Salix* sp. stump, 37°27'N-34°08'E, 1100 m, 17.06.2017, FTÇ-60; Belceağaç village, 37°28'N-34°06'E, 1060 m, 02.08.2017, FTÇ-123.

59. *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson: Gaybi village, on decaying *Populus* sp. stump, 37°25'N-34°08'E, 1250 m, 23.04.2017, FTÇ-13; Yıldızlı village, 37°26'N-34°08'E, 1150 m, 26.05.2017, FTÇ-27; Melicek village, 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 03.06.2017, FTÇ-28; Büyükdede village, 37°24'N-34°07'E, 1350 m, 17.06.2017, FTÇ-76; Sarıca village, 37°27'N-34°08'E, 1100 m, 05.06.2018, FTÇ-396.

Coprinopsis P. Karst.

60. *Coprinopsis atramentaria* (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo: Büyükdede village, along streamside, around decaying *Populus* sp. stump, 37°25'N-34°07'E,



1300 m, 09.06.2017, FTÇ-48; Yıldızlı village, 37°27'N-34°08'E, 1100 m, 17.06.2017, FTÇ-67; Belceağaç village, 37°28'N-34°06'E, 1060 m, 30.10.2017, FTÇ-186.

Parasola Redhead, Vilgalys & Hopple

61. Parasola auricoma (Pat.) Redhead, Vilgalys & Hopple: Yıldızlı village, on soil among grass, under *Populus* sp., 37°26'N-34°09'E, 1130 m, 17.04.2017, FTÇ-6.

Psathyrella (Fr.) Quél.

62. Psathyrella candolleana (Fr.) Maire: Ereğli Kültür Park, around decaying stump, 37°32'N-34°04'E, 1050 m, 28.04.2018, FTÇ-361.

Schizophyllaceae Quél.

Schizophyllum Fr.

63. Schizophyllum amplum (Lév.) Nakasone: Sarıca village picnic area, on decaying *Populus* sp. stump, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 09.12.2017, FTÇ-241.

Strophariaceae Singer & A.H. Sm.

Agrocybe Fayod

64. Agrocybe pediades (Fr.) Fayod: Melicek village, on soil among grass, 37°26'N-33°58'E, 1150 m, 29.04.2019, FTÇ-417.

Pholiota (Fr.) P. Kumm.

65. Pholiota populnea (Pers.) Kuyper & Tjall.-Beuk.: Yıldızlı village, on *Salix* sp. stump, 37°27'N-34°08'E, 1110 m, 30.10.2017, FTÇ-187; Sarıca village, picnic area, 37°28'N-34°07'E, 1060 m, 06.11.2017, FTÇ-203; 11.11.2017, FTÇ-217.

Tricholomataceae R. Heim ex Pouzar

Myxomphalia Hora

66. Myxomphalia maura (Fr.) Hora: Yellice village, on soil among grass, 37°24'N-34°01'E, 1600 m, 06.01.2018, FTÇ-309.

Tricholoma (Fr.) Staude

67. Tricholoma fracticum (Britzelm.) Kreisel: Gaybi village, among needle litter, under *Pinus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1160 m, 21.05.2018, FTÇ-374.

Tubariaceae Vizzini

Cyclocybe Velen.

68. Cyclocybe cylindracea (DC.) Vizzini & Angelini: Melicek village, on *Populus* sp. stump, 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 09.06.2017, FTÇ-47; Yıldızlı village, 37°27'N-34°08'E, 1100 m, 17.06.2017, FTÇ-70; Belceağaç village, 37°28'N-34°06'E, 1080 m, 17.06.2017, FTÇ-88; Ereğli Kültür Park area, 37°31'N-34°03'E, 1050 m, 29.07.2017, FTÇ-121; Burhaniye village, 37°28'N-33°59'E, 1040 m, 30.10.2017, FTÇ-191.

Boletales E.-J. Gilbert

Diplocystidiaceae Kreisel

Astraeus Morgan

69. Astraeus hygrometricus (Pers.) Morgan: Gaybi village, on soil among leaf litter, 37°25'N-34°08'E, 1225 m, 20.11.2017, FTÇ-225; 06.01.2018, FTÇ-301; Büyükdede village, 37°24'N-34°07'E, 1360 m, 09.06.2018, FTÇ-400.

Gomphidiaceae Maire ex Jülich

Chroogomphus (Singer) O.K. Mill.

70. Chroogomphus rutilus (Schaeff.) O.K. Mill.: Gaybi village, among needle litter, under *Pinus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1250 m, 30.06.2017, FTÇ-96; 01.10.2017, FTÇ-161; 06.10.2017, FTÇ-163; 08.11.2017, FTÇ-212; 02.06.2018, FTÇ-394; Ereğli Kültür Park, 37°31'N-34°03'E, 1050 m, 02.06.2018, FTÇ-379.

Paxillaceae Lotsy

Melanogaster Corda

71. Melanogaster broomeanus Berk.: Beyören village, in soil, under *Quercus* sp., 37°48'N-33°52'E, 1480 m, 27.06.2017, FTÇ-90; Beyören village, 37°48'N-33°52'E, 1490 m, 23.07.2017, FTÇ-105; Gaybi village, in soil, under *Pinus* and *Cedrus* spp., 37°25'N-34°08'E, 1220 m, 06.11.2017, FTÇ-209; 21.06.2018, FTÇ-404.

Rhizopogonaceae Gäum. & C.W. Dodge

Rhizopogon Fr.

72. Rhizopogon roseolus (Corda) Th. Fr.: Yıldızlı village, in soil, among needle litter, 37°26'N-34°08'E, 1200 m, 23.06.2017, FTÇ-89; Gaybi village, 37°25'N-34°08'E, 1250 m, 30.06.2017, FTÇ-95; Büyükdede village, 37°25'N-34°08'E, 1350 m, 26.07.2017, FTÇ-115; 08.08.2017, FTÇ-128; Sarıca village, around İvriz Anatolian High School, 37°26'N-34°07'E, 1220 m, 21.08.2017, FTÇ-132; 01.10.2017, FTÇ-160; Sarıca village, 37°27'N-34°07'E, 1120 m, 23.12.2017, FTÇ-269; Ereğli Kültür Park, 37°25'N-34°08'E, 1050 m, 24.04.2018, FTÇ-360; 02.06.2018, FTÇ-378.

Sclerodermataceae Corda

Pisolithus Alb. & Schwein.

73. Pisolithus arhizus (Scop.) Rauschert: Çimencik village, on soil, roadside, around *Pinus* sp., 37°28'N-34°00'E, 1060 m, 06.11.2017, FTÇ-211; Sarıca village, picnic area, around *Pinus* sp., 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 19.11.2017, FTÇ-224.

Scleroderma Pers.

74. Scleroderma cepa Pers.: Melicek village, on soil, under *Populus* sp., 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 25.07.2017, FTÇ-107; Sarıca village, 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 28.08.2017, FTÇ-143.

**Suillaceae** Besl & Bresinsky**Suillus** Gray

75. *Suillus collinitus* (Fr.) Kuntze: Büyükdede village, among needle litter, under *Pinus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1380 m, 30.06.2017, FTÇ-97; Gaybi village, 37°25'N-34°08'E, 1225 m, 08.11.2017, FTÇ-214; 10.12.2017, FTÇ-254; 02.05.2018, FTÇ-362.

Geastrales K. Hosaka & Castellano**Geastraceae** Corda**Geastrum** Pers.

76. *Geastrum fimbriatum* Fr.: Sarıca village, around İvriz Anatolian High School, on soil, among needle litter, 37°26'N-34°07'E, 1100 m, 10.12.2017, FTÇ-255.

77. *Geastrum minimum* Schwein.: Beyören village, on soil, under *Quercus* sp., 37°48'N-33°52'E, 1490 m, 06.01.2018, FTÇ-310.

Schenella T. Macbr.

78. *Schenella pityophila* (Malençon & Rioussset) Estrada & Lado: Sarıca village, under decaying needle litter, 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 26.12.2017, FTÇ-270; Gaybi village, 37°25'N-34°08'E, 1235 m, 30.12.2017, FTÇ-274; 02.06.2018, FTÇ-387.

Hymenochaetales Oberw.**Hymenochaetaceae** Donk**Phellinus** Quél.

79. *Phellinus igniarius* (L.) Quél.: Sarıca village, on *Salix* sp. stump, 37°28'N-34°07'E, 1090 m, 03.06.2017, FTÇ-30; Yıldızlı village, 37°27'N-34°08'E, 1120 m, 17.06.2017, FTÇ-69; Alhan village, 37°30'N-33°59'E, 1020 m, 02.08.2017, FTÇ-127; Belceağaç village, 37°28'N-34°06'E, 1060 m, 06.11.2017, FTÇ-198.

Polyporales Gäum.**Fomitopsidaceae** Jülich**Fomes** (Fr.) Fr.

80. *Fomes fomentarius* (L.) Fr.: Belceağaç village, on *Populus* sp. stump, 37°28'N-34°06'E, 1100 m, 29.10.2017, FTÇ-183.

Laetiporaceae Jülich**Laetiporus** Murrill

81. *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill: Sarıca village picnic area, on *Salix* sp. stump, 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 06.11.2017, FTÇ-199; 02.06.2018, FTÇ-380.

Polyporaceae Fr. ex Corda**Lentinus** Fr.

82. *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr.: Melicek village, around decaying *Populus* sp. stump, 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 09.06.2017, FTÇ-51.

Polyporus P. Micheli ex Adans.

83. *Polyporus tuberaster* (Jacq. ex Pers.) Fr.: Sarıca village, around İvriz Anatolian High School, on decaying wood, 37°27'N-34°07'E, 1110 m, 17.04.2017, FTÇ-10.

Trametes Fr.

84. *Trametes trogii* Berk.: Melicek village, on decaying *Populus* sp. stump, 37°28'N-33°58'E, 1050 m, 03.06.2017, FTÇ-29.

Russulales Kreisel ex P.M. Kirk, P.F. Cannon & J.C. David**Auriscalpiaceae** Maas Geest.**Artomyces** Jülich

85. *Artomyces pyxidatus* (Pers.) Jülich: Gaybi village, on pine needles, 37°25'N-34°08'E, 1200 m, 30.12.2017, FTÇ-294.

Stereaceae Pilát**Stereum** Hill ex Pers.

86. *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers.: Yıldızlı village, on wood remnants under *Populus* and *Corylus* spp., 37°26'N-34°09'E, 1110 m, 17.04.2017, FTÇ-3; 12.07.2017, FTÇ-103.

Dacrymycetes Doweld**Dacrymycetales** Henn.**Dacrymycetaceae** J. Schröt.**Dacrymyces** Nees

87. *Dacrymyces stillatus* Nees: Sarıca village, on decaying wood under *Pinus* sp., 37°27'N-34°07'E, 1100 m, 10.12.2017, FTÇ-252.

Pucciniomycetes R. Bauer, Begerow, J.P. Samp., M. Weiss & Oberw.**Pucciniales** Caruel**Pucciniaceae** Chevall.**Gymnosporangium** R. Hedw. ex DC.

88. *Gymnosporangium clavariiforme* (Wulfen) DC.: Yellice village, on *Juniperus* sp. branches, 37°24'N-34°01'E, 1600 m, 31.03.2018, FTÇ-354.

Tremellomycetes Doweld**Tremellales** Fr.**Tremellaceae** Fr.**Tremella** Pers.

89. *Tremella mesenterica* Retz.: Gaybi village, on decaying wood under *Pinus* sp., 37°25'N-34°08'E, 1230 m, 30.12.2017, FTÇ-272.

Discussions

A list of 89 macromycete taxa were presented from Ereğli district of Konya. Twenty nine of them (26 *Pezizales*, 1 *Diaporthales*, 1 *Patellariales*, 1 *Xylariales*) belong to *Ascomycota* and 60 of them (39 *Agaricales*, 7



Boletales, 5 *Polyporales*, 3 *Geastrales*, 2 *Russulales*, 1 *Diaportales*, 1 *Hymenochaetales*, 1 *Pucciniales*, 1 *Tremellales*) belong to *Basidiomycota*.

Pyronemataceae was found to be the most crowded family in the region with 13 species. *Agaricaceae*, *Helvellaceae* and *Psathyrellaceae* followed the *Pyronemataceae* with 9, 6 and 5 taxa respectively. Seven of the families (*Geastraceae*, *Hymenogastraceae*, *Morchellaceae*, *Mycenaceae*, *Pezizaceae*, *Pluteaceae*, *Polyporaceae*) are resembled with 3 taxa, 5 of them (*Inocybaceae*, *Pleurotaceae*, *Pezizaceae*, *Sclerodermataceae*, *Strophariaceae*, *Tricholomataceae*) are resembled with 2 taxa, while the rest of the 25 families are resembled with only one taxon in the region.

Helvella L. was found to be the most crowded genus in the research area with 5 taxa. *Tulostoma* is the second crowded one with 3 taxa. Nine genera (*Agaricus*, *Coprinellus*, *Geastrum*, *Morchella*, *Mycena*, *Picoa*, *Pleurotus*, *Scutellinia*, *Volvariella*) are resembled with 2 taxa while the rest of the 62 genera are resembled with only one taxon in the research area.

According to literature 27 of the determined taxa are edible, 58 are inedible and 5 are more or less poisonous. Among the edible taxa, only *Pleurotus ostreatus*, *Terfezia clavaryi*, *Morchella elata* and *Morchella esculenta*, are collected and consumed by locals with the local Turkish names “kavak mantarı”, “domalan/keme” and “kuzu göbeği” respectively. *Morchella elata*, *M. esculenta* and *T. clavaryi* also have commercial value in the region. They are collected and sold during especially May and June. *Agaricus*

xanthodermus, *Coprinopsis atramentaria*, *Helvella lacunosa*, *Inocybe rimosa* and *Sarcosphaera coronaria* are the poisonous species determined in the region.

Eight of the determined taxa (*Coprinellus micaceus*, *Coprinopsis atramentaria*, *Cyclocybe cylindracea*, *Fomes fomentarius*, *Phellinus igniarius*, *Pholiota populnea*, *Pleurotus eryngii*, *P. ostreatus*) were also presented by Kaşık and Öztürk (1998) from the region before. The rest of the taxa (81 species) are reported for the first time from the region. Among the determined taxa *Tulostoma niveum* was presented from Turkey for the first time (Sesli et al., 2020).

Together with the macrofungi taxa previously reported by Kaşık and Öztürk (1998) (*Agaricus bitorquis* (Qué.) Sacc., *Fomes* (Fr.) Fr. sp., *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *Marasmius oreades* (Bolton) Fr., *Mycena* (Pers.) Roussel sp., *Mycena* sp., *Mycena epipterygia* (Scop.) Gray, *Mycena pura* (Pers.) P. Kumm., *Panaeolus rickenii* Hora, *Pholiota adiposa* (Batsch) P. Kumm., *Protostropharia semiglobata* (Batsch) Redhead, Moncalvo & Vilgalys, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, *Tricholoma inocyboides* Corner, *Vitreoporus dichrous* (Fr.) Zmitr.) and Uzun (2021) (*Trichoglossum walteri* (Berk.) E.J. Durand) the determined macrofungi taxa number within the boundaries of Ereğli district increased to 104.

The determined taxa were also compared with the studies carried out in close environs and some similarities were observed. These studies and the similarity percentages are given in Table 1. The reason for this similarity may be the common climate and vegetation.

Table 2. Similarity percentages of neighbouring studies with Ereğli and its close environs

	# of Identical taxa	Total taxa	Similarity (%)
Kaşık et al. (2001)	11	32	34.36
Aktaş et al. (2003)	19	74	29.03
Doğan and Öztürk (2006)	26	202	12.87
Doğan et al. (2007)	22	95	23.16
Türkoğlu et al. (2007)	9	31	29.03
Alkan et al., (2010)	20	134	14.92
İleri et al. (2020)	33	84	39.29
Çetinkaya et al. (2021)	36	74	48.64



References

- Akman, Y. (1999). *İklim ve Biyoiklim*. Kariyer Matbacılık Ltd., Ankara.
- Aktaş, S., Öztürk, C., Kaşık, G., Sabahlar, Ş. and Doğan, H.H. (2003). Macrofungus flora of Bozkır District (Konya). *Turkish Journal of Botany*, 27(1): 37-43.
- Alkan, S., Kaşık, G. and Aktaş, S. (2010). Macrofungi of Derebucak district (Konya, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 34(4): 335-350.
- Antonin, V. and Noordeloos, M.E. (2010). *A monograph of marasmioid and collybioid fungi in Europe*. IHW-Verlag, Berchtesgaden-Germany.
- Besette, A.E., Roody, W.C., Besette, A.R. and Dunaway, D.L. (2007). *Mushrooms of the Southeastern United States*. Syracuse University Press, Syracuse-New York.
- Bessette, A.E., Bessette, A.R. and Fischer, D.W. (1997). *Mushrooms of Northeastern North America*. Syracuse University Press, Hong Kong.
- Beug, M.W., Bessette, A.E. and Bessette, A.R. (2014). *Ascomycete Fungi of North America. A Mushroom Reference Guide*. University of Texas Press, Austin, USA.
- Breitenbach, J. and Kränzlin, F. (1984-2000). *Fungi of Switzerland, Vols. 1-5*. Lucerne, Verlag Mykologia.
- Buczacki, S. (1992). *Mushrooms and Todstools of Britain and Europe*. Harper Collins Publishers, Glasgow.
- Çetinkaya, A., Uzun, Y. and Kaya, A. (2021). Macrofungi Determined in Ayrancı and Yeşildere (Karaman) Districts. *Mantar Dergisi*, 12(1): 42-49.
- Doğan, H.H. and Öztürk, C. (2006). Macrofungi and Their Distribution in Karaman Province, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 30(3): 193-207.
- Doğan, H.H., Öztürk, C., Kaşık, G. and Aktaş, S. (2007). Macrofungi Distribution of Mut Province in Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, 38(1): 293-308.
- Ellis, B.M. and Ellis, P.J. (1990). *Fungi without Gills (Hymenomyces and Gasteromyces): An Identification Handbook*. Chapman and Hall, London.
- Hansen, L. and Knudsen, H. (1992). *Nordic Macromycetes. Volume 2. Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales*. Nordsvamp, Copenhagen, Denmark.
- Hansen, L. and Knudsen, H. (1997). *Nordic Macromycetes. Volume 3. Heterobasidoid, Aphyllophoroid, and Gastromycetoid Basidiomycetes*. Nordsvamp, Copenhagen, Denmark.
- Hausknecht, A. (2009). *A monograph of the genera Conocybe Fayod and Pholiotina Fayod in Europe*. Alassio SV, Italia.
- Index Fungorum (2021). <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. Accessed 15 June 2021.
- İleri, R., Uzun, Y. and Kaya, A. (2020). Macromycetes of Karadağ (Karaman) and its environs. *The Journal of Fungus*, 11(1): 57-63.
- Jordan, M. (1995). *The Encyclopedia of Fungi of Britain and Europe*. David & Charles Book Co. Devon.
- Kaşık, G. and Öztürk, C. (1998). Some macrofungi growing in Ereğli (Konya) District. 14th National Biological Congress, 7-10 September 1998, Samsun, Pp. 185-191.
- Kaşık, G., Öztürk, C. and Toprak, E. (2001). Macrofungi of Niğde Province (Turkey). *The Herb Journal of Systematic Botany*, 8(2): 137-142.
- Kers, L.E. (1978). *Tulostoma niveum* sp. nov. (Gasteromyces), described from Sweden. *Botaniska Notiser*, 131: 411-417.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. and Stalpers, J.A. (2008). *Dictionary of the Fungi*, 10th ed., Wallingford: CAB International.
- Medardi, G. (2006). *Atlante fotografico degli Ascomiceti d'Italia*. A.M.B. Fondazione, Centro Studi Micologici, Italia.
- Miller, O.K. and Miller, H.H. (1988). *Gasteromyces: Morphological and Development Features with keys to the Orders, Families and Genera*. Mad River Press, California-USA.
- Moser, M. (1983). *Keys to agarics and boleti (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales)*. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag.
- Pegler, D.N., Læssøe, T. and Spooner, B.M. (1995). *British Puffballs, Earthstars and Stinkhorns*. Royal Botanic Garden, Kew.



- Phillips, R. (1981). *Mushrooms and Other Fungi of Great Britain, Europe*. Pan Books, London.
- Sesli, E., Asan, A., Selçuk, F. (eds), Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkeul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., and Yoltaş, A. (2020). Türkiye Mantarları Listesi. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul.
- Thompson, P.I. (2013). *Ascomycetes in Colour*. Found and Photographed in Mainland.
- Türkoğlu, A., Kaşık, G., Öztürk, C. and Doğan, H.H. (2007). Some macrofungi of Ihlara Valley. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1): 1-9.
- Uzun, Y. (2021). *Spathularia nigripes* and *Trichoglossum walteri* newly recorded from Turkey. *Mycotaxon*, 136(1): 229-234.
- Watling, R. (1973). *Identification of the larger fungi*. Hulton Educational Publications Ltd. Amersham.



Geliş(Received) :15.04.2021
Kabul(Accepted) :13.08.2021

Araştırma Makalesi
Doi: 10.30708.mantar916649

Adaklı (Yüksekova/Hakkâri) ve Çevre Köylerde Belirlenen Makromantarlar

Sedat KESİCİ*¹ Yusuf UZUN²

*Sorumlu yazar: sedatkesici@hakkari.edu.tr

¹* Hakkâri Üniversitesi Yüksekova Meslek Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü
Orcid No: 0000-0002-0284-1247 /sedatkesici@hakkari.edu.tr

² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Meslek Bilimleri Bölümü
Orcid No: 0000-0002-0537-4517 /yusufuzun2004@yahoo.com

Öz: Bu çalışma, Hakkâri ilinin Yüksekova ilçesi sınırları içerisinde yer alan Adaklı ve çevresindeki köylerde doğal olarak yetişen ve 2012-2014 yılları arasında toplanan makromantar örnekleri üzerinde yapılmıştır. Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda teşhisleri yapılan örneklerin *Leotiomyces*, *Pezizomyces* ve *Agaricomycetes* sınıflarına ait 10 ordo ve 30 familya içerisinde dağılım gösteren toplam 109 makromantar türü olduğu tespit edilmiştir. Bunların 35'i yenen, 65'i yenmeyen ve 9 tanesi ise zehirlidir.

Ayrıca 5 makromantar türü ilk defa bu çalışma ile saptanarak ülkemiz makromantar çeşitliliğine ilave edilmiştir. Bunlar; *Hymenoscyphus repandus* (W. Phillips) Dennis (*Helotiaceae*), *Helvella corium* (O. Weberb.) Masee (*Helvellaceae*) ve *Cheilymenia megaspora* (Gamundi) J. Moravec (*Pyronemataceae*)'dir.

Anahtar Kelimeler: *Basidiomycota*, *Ascomycota*, yeni kayıt, Hakkâri

Macrofungi Determined in Adaklı (Yüksekova / Hakkâri) and Surrounding Villages

Abstract: This study was carried out on macrofungi samples that grow naturally in Adaklı and its surroundings villages, located within the boundaries of Yüksekova district of Hakkâri province and collected between 2012-2014. According to field and laboratory studies, the total of 109 taxa belonging to 30 families and 10 orders stated in *Leotiomyces*, *Pezizomyces* and *Agaricomycetes* classis were identified. 35 of them are edible, 65 of them are inedible, 9 of them are poisonous.

In addition, 5 macrofungi species were determined for the first time in this study and added to our country's macrofungi variety. These are; *Hymenoscyphus repandus* (W. Phillips) Dennis (*Helotiaceae*), *Helvella corium* (O. Weberb.) Masee (*Helvellaceae*), *Cheilymenia megaspora* (Gamundi) J. Moravec (*Pyronemataceae*).

Key words: *Basidiomycota*, *Ascomycota*, new record, Hakkâri

Giriş

Araştırma alanını oluşturan Adaklı ve köyü çevresindeki köyler, Yüksekova'nın 10 km güneybatısında Cilo dağı'nın eteklerine kurulan yerleşim yerleridir. Adaklı köyü Yüksekova'nın en kalabalık köylerinden biri olup, deniz seviyesinden ortalama 1880 m yükseklikindedir. Doğu Anadolu Bölgesi'nde 44° 10' 10" doğu boylamı ve 37° 31'

32" kuzey enlemi üzerinde yer alan arazi alanının, güneyinde Dağlıca, batısında Cilo dağı, doğusunda ise Nehil sazlıkları bulunmaktadır (Anonim, 2015). (Şekil 1).

Araştırma yöresinde yaygın olarak yetişen ve makromantarların yayılışında doğrudan etkili olan ağaç ve çalı türleri; *Populus* sp., *Salix* sp., *Malus* sp., *Rosa* sp., *Cotoneaster* sp. ve *Juglans*



sp.' dir. Orman örtüsü yok denecek kadar az olan ilçe'nin bitki örtüsü ise step karakteri taşır.

Türkiye makrofungal çeşitliliği konusunda bugüne kadar çok sayıda çalışma yapılmış ve belirlenen türler farklı zamanlarda gerek münferit gerekse listeler halinde verilmiştir. Türkiye'de konu ile ilgili 2019' a kadar yapılan çalışmalar Sesli ve ark., (2020); tarafından kitap halinde yayımlanmıştır. Burada da görüldüğü gibi ülkemiz makrofungal çeşitliliği tam olarak tespit edilmiş değildir. Bundan sonra da konu ile ilgili çalışmalara devam edilmiştir. Araştırma alanına yakın ve ülkemizde yapılan çalışmaların bazıları şunlardır; Acar ve Uzun 2016; Acar ve ark., 2018; Acar ve ark., 2019; Acar ve ark., 2020; Akata ve ark., 2020; Akçay, 2020; Çağlı ve Öztürk., 2020; Çelik ve ark., 2020; Çetinkaya ve ark., 2020; Işık, 2020; Işık ve Türkekul., 2020; İleri ve ark., 2020; Kaplan ve ark., 2020; Kaygusuz ve ark., 2020; Sesli, 2020; Sesli ve Bandini., 2020; Şengül Demirayak ve Işık, 2020; Uzun ve ark., 2020a; Uzun ve ark., 2020b; Uzun ve Kaya., 2020a; Uzun ve Kaya., 2020b; Uzun ve Kaya., 2020c; Yeşil ve ark., 2020.

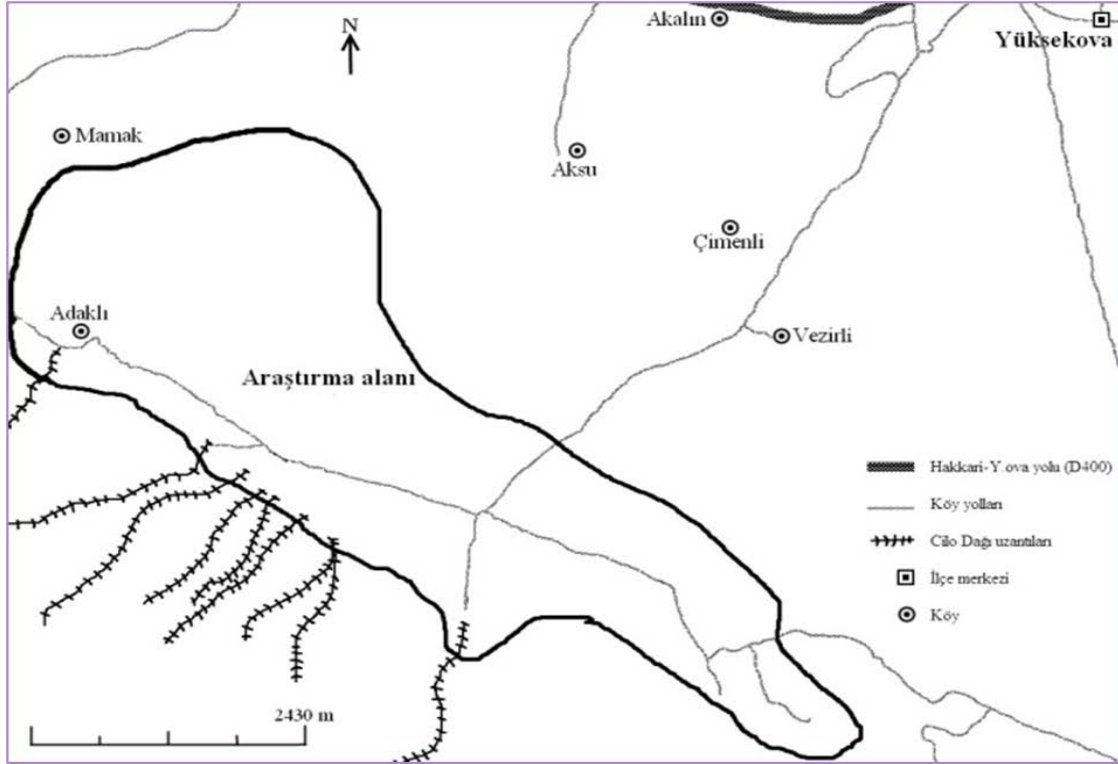
Bu çalışmanın amacı araştırma alanı olarak seçilen Adaklı köyü ve çevresinde doğal olarak yetişen makromantar çeşitliliğinin belirlenmesinin yanında yeni kayıt ve lokalitelerin

tespit edilmesiyle ülkemiz mikobiyotasına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Çalışmanın materyalini oluşturan makromantar örnekleri 2012-2014 yılları arasında Hakkâri iline bağlı Yüksekova ilçe sınırları içerisindeki Adaklı ve çevresindeki köylerden toplanmıştır. Mantar örnekleri yetişmelerinin uygun olduğu ilkbahar ve sonbahar aylarında toplanmıştır. Toplanan örneklerin morfolojik ve etnomikolojik özellikleri arazi çalışmaları sırasında not edilerek örneklerin teşhisinde veri olarak kullanılmıştır. Araziden laboratuvara taşınan mantar örneklerine gerekli mikolojik teknikler uygulanarak fungaryum materyali haline getirilmiştir.

Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ilgili literatürler (Phillips, 1981; Moser, 1983; Buczacki, 1989; Bresinsky ve Besl, 1990; Ellis ve Ellis, 1990; Breitenbach ve Kranzlin, 1986, 1991, 1995; 2000; Jordan, 1995; Dähncke, 2004; Jordan, 2004; Kränzlin, 2005) ile karşılaştırılarak örneklerin teşhisleri yapılmıştır. Teşhis edilen örnekler Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Fungaryumunda saklanmaktadır.



Şekil 1. Araştırma yöresinin haritası

Bulgular

Bu çalışma Adaklı (Yüksekova/Hakkâri) ve çevre köylerde doğal olarak yetişen makromantarların tespit edilmesi amacı ile yapılmıştır. Teşhis edilen türler Sesli ve ark., (2020) ve <http://indexfungorum.org>., <http://www.mycobank.org>. veri tabanları baz alınarak sistematik sıraya dizilmiştir.

Ascomycota

Leotiomycetes

Helotiales

Helotiaceae Rehm.

1. *Hymenoscyphus calyculus* (Fr.) W. Phillips, *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 21.11.2013. Kesici. 246.

2. **Hymenoscyphus repandus* (W. Phillips) Dennis, **Mih Mantarı**

Salix sp., kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m. 03.11.2012, Kesici. 028.

Fruktifikasyon organı: 0.5-1 mm çapında, fincan şeklinde, himeniyum kirlili beyaz renkli, düz, dış yüzeyi aynı renkte, kenarları beyazımsı renkte ve

bazen aşağıya doğru incilir. Sap yaklaşık olarak 0.05x0.1 mm çapında, açık sarı renğinde, askokarptan aşağı doğru incilir. Sporları askus içerisinde düzensiz, silindirik, yüzeyi düz, hiyalin, bazen küçük damlalı, 8-10x2-2.5 µm boyutlarında, askus 8 sporlu ve parafiz silindiriktir. Mayıs ve ekim aylarında çok yaygın, nemli yerlerde geniş yapraklı ağaçların dalları üzerinde, çürümüş yaprakları üzerinde ve yanmış alanlarda yetişir. *Hymenoscyphus repandus*, ekolojisi, mikro ve makromorfolojisi nedeniyle *Hymenoscyphus robustior* 'a benzerdir. Her iki tür de çeşitli otsu gövdelerde büyür, apotesyum ve spor şekilleri benzerdir, ancak *H. repandus* daha küçük askus, daha kısa gövdeli ve sarı ile turuncu sarı apotesyuma sahip iken *H. robustior* kahverengiden turuncuya apotesyuma sahiptir (Şekil 2).

Sclerotiniaceae Whetzel

3. *Ciboria amentacea* (Balb.) Fuckel, *Salix* sp. ağacı kalıntısı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 30'42.88", D: 44° 11'47.49", 1881 m., 03.05.2013, Kesici. 067.

**Pezizomycetes****Pezizales****Helvellaceae Fr.**

4. *Helvella acetabulum* (L.) Quél., *Populus* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 25.05.2013. Kesici. 147.

5. **Helvella corium* (O. Weberb.) Masee, **Semer Mantarı**

Populus sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'08.90" D: 44° 12'51.64" 1900 m., 03.11.2013. Kesici. 197. Fruktifikasyon organı: 10-50 mm arası, fincan şeklinde, fincan tabağı şeklinde veya neredeyse düz; üst yüzey düz veya merkeze yakın pürüzlü, tüysüz; alt yüzey siyah, bazen kenar boşluğunda beyazımsı, çok hafif tüylü. Sap: 10-30 mm uzunluğunda; 02-12 mm kalınlığında; siyah veya koyu kahverengi, bazen tabana yakın grimsi; tüysüz veya çok hafif tüylü, bazen olgunlaştığında çok ince damarlara sahip olabilir. Sporlar: 16.5-21×9-15 µm eliptik, pürüzsüz; genellikle büyük bir yağ damlacığına sahip, parafizler klavat uçlu, silindirik, kahverengi, 3.5-9 µm genişliğinde. Askuslar 8 sporlu. Mayıs ve ağustos ayları arasında söğüt ve kavak ağaçları altında, kumlu topraklarda ve yanmış alanlarda yetişir. *Helvella corium* mikroskobik ve makroskobik özellikleriyle *Helvella alpina*' ya benzese de apotesyum yüzeyindeki pudramsı yapısıyla diğer türden kolaylıkla ayırt edilebilir (Şekil 3).

6. *Helvella leucopus* Pers., *Populus* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 34° 31'24.68", D: 44° 10'19.82", 1917 m., 24.05.2013. Kesici. 117.

7. *Paxina queletii* Bres., *Populus* sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'57.64", D: 44° 10'19.76", 1828 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., 24.05.2013. Kesici. 107.

Morchellaceae Rchb.

8. *Morchella esculenta* (L.) Pers., *Populus* sp. ağaçları altı, Bulaklı köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 05.05.2014, Kesici. 298.

9. *Morchella semilibera* DC., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'50.12", D: 44° 11'53.55", 1916 m., Bulaklı köyü, 24.05.2013, Kesici. 128.

10. *Verpa conica* (O.F. Müll.) Sw., *Populus* sp. ve *Salix* sp. ağaçları altı, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., 06.05.2014, Kesici. 319.

Pezizaceae Dumort.

11. *Peziza arvernensis* Cooke, *Salix* sp., ağacı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Salix* sp. ağaçları altı, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., 23.05.2013, Kesici. 075.

12. *Peziza repanda* Wahlenb. *Populus* sp. ağacı üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., 24.05.2013, Kesici. 132.

13. *Peziza sepiatra* Cooke, *Populus* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71" 1889 m., 25.11.2013, Kesici. 279.

14. *Peziza varia* (Hedw.) Fr., Yosun tutmuş *Populus* sp. kökü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'57.64", D: 44° 10'19.76", 1828 m., 24.05.2013, Kesici. 108.

15. *Peziza vesiculosa* Bull., Sığır gübresi üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., 03.11.2012, Kesici. 036.

Pyronemataceae Corda

16. *Cheilymenia granulata* (Bull.), Sığır gübresi üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'08.90", D: 44° 12'51.64", 1900 m., 05.05.2014, Kesici. 304.

17. **Cheilymenia megaspora* (Gamundí) J. Moravec, **Tüylü Tepsi Mantarı**

Sığır gübresi üzeri, Bataklık köyü, K: 37° 30'42.88", D: 44° 11'47.49", 1881 m., 03.05.2013, Kesici. 066.

Fruktifikasyon organı: 2-5 (10) mm çapında, gençken düz veya çanak şeklinde, sonra tabak şeklini alır, kenarları dişli, substrata sapsız bir şekilde bağlanır, turuncu renkte olup kalın ve etlidir.

Sporlar, 19-21×11-13 µm boyutlarında, hyalin, genişçe elipsoit, yüzeyi düz ve damlasızdır.

Askuslar, 180-200×18-20 µm boyutlarında ve sekiz sporludur. *Cheilymenia megaspora* (Gamundí) J. Moravec, makroskobik ve mikroskobik özellikleri ile *Cheilymenia granulata*' ya benzetilse de sporlarının daha büyük olmasından dolayı *C. Granulata*'dan ayırt edilebilir özelliğindedir (Şekil 4).



18. *Geopora arenicola* (Lév.) Kers, *Populus* sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 03.11.2013, Kesici.208.

19. *Geopora arenosa* (Fuckel) S. Ahmad, *Populus* sp., ağaçları altı, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 24.05.2013, Kesici.134.

20. *Scutellinia scutellata* (L.) Lambotte, *Populus* sp., ağacı kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Populus* sp. ağacı kütüğü üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., *Populus* sp. yaprağı üzeri, Karlı köyü, K: 37° 29'28.11", D: 44° 14'28.37", 1941 m., 24.05.2013, Kesici.133.

Basidiomycota

Agaricomycetes

Agaricales

Agaricaceae Chevall.

21. *Agaricus arvensis* Schaeff., *Populus* sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., 03.11.2013, Kesici. 019.

22. *Agaricus campestris* L., Çayırılık, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 05.05.2014. Kesici. 305.

23. *Cyathus olla* (Batsch) Pers., Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 30'50.12", D: 44° 11'53.55", 1916 m., 05.10.2014, Kesici. 356.

24. *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers., *Salix* sp., ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m, 05.10.2014, Kesici. 367.

25. *Coprinus xerophilus* Bogart., Çayırılık, Batakılık köyü, K: 37° 30'58.71", D: 44° 12'32.10", 1868 m., 03.05.2013, Kesici. 068.

26. *Lepiota cristata* (Bolton) P. Kumm., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 24.11.2013, Kesici. 267.

27. *Macrolepiota excoriata* (Schaeff.) Wasser, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 34° 31'24.68", D: 44° 10'19.82", 1917 m., Çayırılık, Batakılık köyü, K: 37° 30'49.31", D: 44° 12'26.06", 1870 m., Çayırılık,

Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2012, Kesici. 009.

Bolbitiaceae Singer

28. *Conocybe apala* (Fr.) Arnolds, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 04.11.2012, Kesici. 060.

29. *Conocybe aporos* Kits van Wav., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'08.90", D: 44° 12'51.64", 1900 m., 24.11.2013, Kesici. 253.

30. *Conocybe arrhenii* (Fr.) Kits van Wav., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 180.

31. *Conocybe aurea* (Jul. Schäff.) Hongo, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 34° 31'24.68", D: 44° 10'19.82", 1917 m., *Populus* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'08.90", D: 44° 12'51.64", 1900 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 03.11.2012, Kesici. 006.

32. *Conocybe fuscimarginata* (Murrill) Singer, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 04.11.2012, Kesici. 065.

33. *Conocybe subovalis* Kühner & Watling, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m, Batakılık alan, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 23.05.2013 Kesici. 081.

34. *Conocybe subpubescens* P.D. Orton, *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'08.90", D: 44° 12'51.64", 1900 m., 24.11.2013 Kesici. 274.

Cyphellaceae Lotsy

35. *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar, *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2012, Kesici. 15.

Entolomataceae Kotl. & Pouzar

36. *Entoloma sericeoides* (J.E. Lange) Noordel. *Populus* sp. ve *Salix* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.202013, Kesici. 103.

Hygrophoraceae Lotsy

37. *Cuphophyllus virgineus* (Wulfen) Kovalenko, *Populus* sp. ve *Salix* sp. ağaçları altı, Gürdere



köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 25.05.2013, Kesici. 140.

Hymenogastraceae

38. *Hebeloma alpinum* (J. Favre) Bruchet, *Salix* sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2012, Kesici. 002.

39. *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quél, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 03.11.2012, Kesici. 004.

40. *Hebeloma gigaspermum* Gröger & Zschiesch, *Salix* ve *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 178.

41. *Hebeloma leucosarx* P.D. Orton, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 03.11.2012, Kesici. 032.

42. *Hebeloma populinum* Romagn *Populus* sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37°29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 03.11.2012, Kesici. 021.

43. *Hebeloma pusillum* J.E. Lange, *Populus* sp. ağaçları altı, Karlı köyü, K: 37° 29'28.11", D: 44° 14'28.37", 1941 m., 25.05.2013, Kesici. 152.

44. *Psilocybe coronilla* (Bull.) Noordel., Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., Karışık ağaçlık alan, Adaklı köyü, K: 34° 31'24.68", D: 44° 10'19.82", 1917 m., 23.05.2013, Kesici.070.

Inocybaceae Jülich

45. *Inocybe dulcamara* (Pers.) P. Kumm, *Populus* sp. ve *Salix* sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 03.11.2012, Kesici. 014.

46. *Inocybe flocculosa* Sacc, *Populus* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 31'08.58", D: 44° 11'08.73", 1874 m., 03.11.2012, Kesici. 017.

47. *Mallochybe perbrevis* (Weinm.) Matheny & Esteve-Rav., in Matheny, Hobbs & Esteve-Raventós, *Populus* sp. ağacı kovuğundaki toprak üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 14.05.2014, Kesici. 331.

Lycoperdaceae

48. *Bovista aestivalis* (Bonord.) Demoulin, Çayırılık, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 20.10.2013, Kesici. 176.

49. *Bovista plumbea* Pers. Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 30'48.69", D: 44° 10'48.62", 1920 m., 14.05.2014, Kesici. 341.

50. *Bovistella utrififormis* (Bull.) Demoulin & Rebriev, Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 30'48.69", D: 44° 10'48.62", 1920 m., 20.10.2013, Kesici. 175.

Lyophyllaceae Jülich

51. *Lyophyllum semitale* (Fr.) Kühner, *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 24.11.2013, Kesici. 273.

Mycenaceae Roze

52. *Mycena acicula* (Schaeff.) P. Kumm, *Salix* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 25.05.2013, Kesici. 138.

53. *Mycena galericulata* (Scop.) Gray, *Salix* sp., kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'57.64", D: 44° 10'19.76", 1828 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", *Salix* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 23.05.2013, Kesici. 102.

54. *Mycena renati* Quél., *Salix* sp., kütüğü üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'06.04", D: 44° 11'14.96", 1875 m., 06.05.2014, Kesici. 310.

Physalacriaceae Corner

55. *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Salix* sp., ağacı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.22", D: 44° 11'14.22", 1869 m., *Salix* sp., ağacı üzeri, Bataklik köyü, K: 37° 30'58.71", D: 44° 12'32.10", 1868 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'08.90", D: 44° 12'51.64", 1900 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37°



29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 03.11.2012, Kesici. 026.

Pleurotaceae Kühner

56. *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél., Heliz bitkisi kalıntısı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'57.64", D: 44° 10'19.76", 1828 m., Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., 24.05.2013, Kesici. 113.

57. *Pleurotus nebrodensis* (Inzenga) Quél., Çayırılık alan, bitki kalıntısı üzeri, Karlı köyü, K: 37° 29'28.11", D: 44° 14'28.37", 1941 m., 25.05.2013, Kesici. 151.

58. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Populus* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., *Populus* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'57.64", D: 44° 10'19.76", 1828 m., *Populus* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Populus* sp., kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Populus* sp. kütüğü üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'06.04", D: 44° 11'14.96", 1875 m., *Populus* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., *Populus* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 03.11.2012, Kesici. 030.

Pluteaceae Kotl. & Pouzar

59. *Pluteus podospileus* Sacc. & Cub., Ağaç kalıntısı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 25.05.2013, Kesici. 143.

60. *Pluteus romellii* (Britzelm.) Sacc., *Salix* sp., kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 05.05.2014, Kesici. 306.

Psathyrellaceae Vilgalys, Moncalvo & Redhead

61. *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E. Lange, *Populus* sp. ve *Salix* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Populus* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., *Populus* sp., ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 08.06.2013, Kesici. 156.

62. *Coprinellus flocculosus* (DC.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson, Hayvan gübresi üzeri

(tezek), Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.2013, Kesici. 089.

63. *Coprinellus heterothrix* (Kühner) Redhead, Vilgalys & Moncalvo, *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.2013, Kesici. 101.

64. *Coprinellus impatiens* (Fr.) J.E. Lange, *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., 08.06.2013, Kesici. 155.

65. *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson, A *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 23.05.2013, Kesici. 082.

66. *Coprinellus xanthothrix* (Romagn.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson, ağaç kalıntıları üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.2013, Kesici. 104.

67. *Coprinopsis alopecia* (Lasch) La Chiusa & Boffelli, *Populus* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., 08.06.2013, Kesici. 162.

68. *Coprinopsis atramentaria* (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo, *Salix* ve *Populus* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., Karışık ağaçlık alan, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., *Salix* sp., ağacı üzeri, Bataklik köyü, K: 37° 30'58.71", D: 44° 12'32.10", 1868 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2012, Kesici. 011.

69. *Coprinopsis cinerea* (Schaeff.) Redhead, *Salix* sp. kütüğü etrafı, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 04.11.2012, Kesici. 053.

70. *Coprinopsis marcescibilis* (Britzelm.) Örstadius & E. Larss., *Salix* sp., kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Salix* sp. ağaçları altı, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 31'06.04", D: 44° 11'14.96", 1875 m., 03.11.2012, Kesici. 025.

71. *Parasola conopilea* (Fr.) Örstadius & E. Larss., Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 03.11.2012, Kesici. 027.

72. *Parasola plicatilis* (Curtis) Redhead, Vilgalys & Hopple., Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 23.05.2013, Kesici. 078.



73. *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire, *Salix* sp., ağacı altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., 23.05.2013, Kesici. 087.

74. *Psathyrella lutensis* (Romagn.) Bon, *Salix* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.2013, Kesici. 092.

75. *Psathyrella panaeoloides* (Maire) Arnolds, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.2013, Kesici. 096.

76. *Psathyrella picta* (Romagn.) Romagn. ex Bon, *Populus* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 04.11.2012, Kesici. 044.

77. *Psathyrella prona* (Fr.) Gillet, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 34° 31'24.68", D: 44° 10'19.82", 1917 m., 03.11.2012, Kesici. 008.

78. *Psathyrella pseudogracilis* (Romagn.) M.M. Moser, Ağaç kalıntısı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 24.11.2013, Kesici. 263.

79. *Psathyrella tephrophylla* (Romagn.) M.M. Moser, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., Çayırılık, Adaklı köyü., K: 34° 31'24.68", D: 44° 10'19.82", 1917 m., 23.05.2013, Kesici.095.

Schizophyllaceae Quéf.

80. *Schizophyllum commune* Fr., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'57.64", D: 44° 10'19.76", 1828 m., 24.05.2013, Kesici. 116.

Strophariaceae Singer & A.H. Sm.

81. *Agrocybe dura* (Bolton) Singer, Çayırılık, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 25.05.2013, Kesici. 144.

82. *Agrocybe molesta* (Lasch) Singer, Çayırılık, Karlı köyü, K: 37° 29'28.11", D: 44° 14'28.37", 1941 m., 25.05.2013, Kesici. 150.

83. *Agrocybe pediades* (Fr.) Fayod, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Populus* sp., ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 34° 31'24.68", D: 44° 10'19.82", 24.05.2013, Kesici. 118.

84. *Pholiota aurivella* (Batsch) P. Kumm *Salix* sp. ağacı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44°

10'27.45", 1907 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2011, Kesici. 010.

85. *Pholiota conissans* (Fr.) M.M. Moser, Çayırılık, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 192.

86. *Pholiota gummosa* (Lasch) Singer, *Salix* sp., ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., *Salix* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 04.11.2012, Kesici. 047.

87. *Pholiota populnea* (Pers.) Bon, *Salix* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 193.

88. *Melanoleuca brevipes* (Bull.) Pat., Ağaç kalıntısı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 25.05.2013 Kesici. 149.

89. *Melanoleuca subalpina* (Britzelm.) Bresinsky & Stangl, Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.2013, Kesici. 100.

Tubariaceae Vizzini

90. *Tubaria furfuracea* (Pers.) Gillet, *Salix* sp. ağacı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., 23.05.2013, Kesici.094.

Tricholomataceae R. Heim ex Pouzar

91. *Clitocybe rivulosa* (Pers.) P. Kumm., Çayırılık, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 23.05.2013, Kesici. 069.

92. *Lepista nuda* (Bull.) Cooke, *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 25.05.2013, Kesici. 141.

93. *Lepista personata* (Fr.) Cooke, *Populus* sp. ve *Salix* sp. ağaçları altı, Adaklı köyü, K: 37°31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., Çayırılık, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., *Salix* sp., ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 24.05.2013, Kesici. 130.

94. *Tricholoma populinum* J.E. Lange, *Populus* sp. ağaçları altı, Bulaklı köyü, K: 37° 31'06.04", D: 44° 11'14.96", 1875 m., Karışık ağaçlık alan, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 188.

95. *Tricholoma scalpturatum* (Fr.) Quéf., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 04.11.2012, Kesici. 043.

96. *Tricholoma sciodes* (Pers.) C. Martín, *Populus* sp., ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37°



30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 05.05.2014, Kesici. 299.

97. *Tricholoma stiparophyllum* (N. Lund) P. Karst., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 14.05.2014, Kesici. 334.

Boletales

Paxillaceae Lotsy

98. *Paxillus involutus* (Batsch) Fr., *Populus* sp., ağaçları altı, Bulaklı köyü, K: 37° 31'08.58", D: 44° 11'08.73", 1874 m., *Populus* sp. ağaçları altı, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 04.11.2013, Kesici. 217.

Cantharellales

Hydnaceae Chevall

99. *Sistotrema brinkmannii* (Bres.) J. Erikss., *Salix* sp., kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 24.11.2013, Kesici. 277.

Gomphales

Gomphaceae Donk

100. *Ramaria lutea* Schild, Odun kalıntısı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 205.

Hymenochaetales

Hymenochaetaceae Donk

101. *Phellinus igniarius* (L.) Quél., *Salix* sp. ağacı üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'12.74", D: 44° 11'03.16", 1873 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 19.10.2013, Kesici. 166.

Polyporales

Phanerochaetaceae Jülich

102. *Bjerkandera fumosa* (Pers.) P. Karst., *Salix* sp. ağacı üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'67.34", D: 44° 10'07.71", 1889 m., *Salix* sp., ağacı üzeri,

Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2012, Kesici. 037.

Polyporaceae Fr. ex Corda

103. *Cerioporus squamosus* (Huds.) Quél., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 181.

104. *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Salix* sp. ağacı üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'06.04", D: 44° 11'14.96", 1875 m., 21.05.2014, Kesici. 352.

105. *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'63.83", D: 44° 09'58.19", 1801 m., *Salix* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 23.05.2013, Kesici. 088.

106. *Trametes trogii* Berk., *Salix* sp. ağacı üzeri, Bulaklı köyü, K: 37° 31'08.58", D: 44° 11'08.73", 1874 m., *Populus* sp., kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., *Salix* sp. ağacı üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'56.84", D: 44° 12'52.05", 1922 m., 03.11.2013, Kesici. 184.

107. *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, *Prunus* sp., kütüğü üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., *Populus* sp. kütüğü üzeri, Gürdere köyü, K: 37° 29'52.43", D: 44° 12'52.13", 1925 m., 03.11.2012, Kesici 029.

Russulales

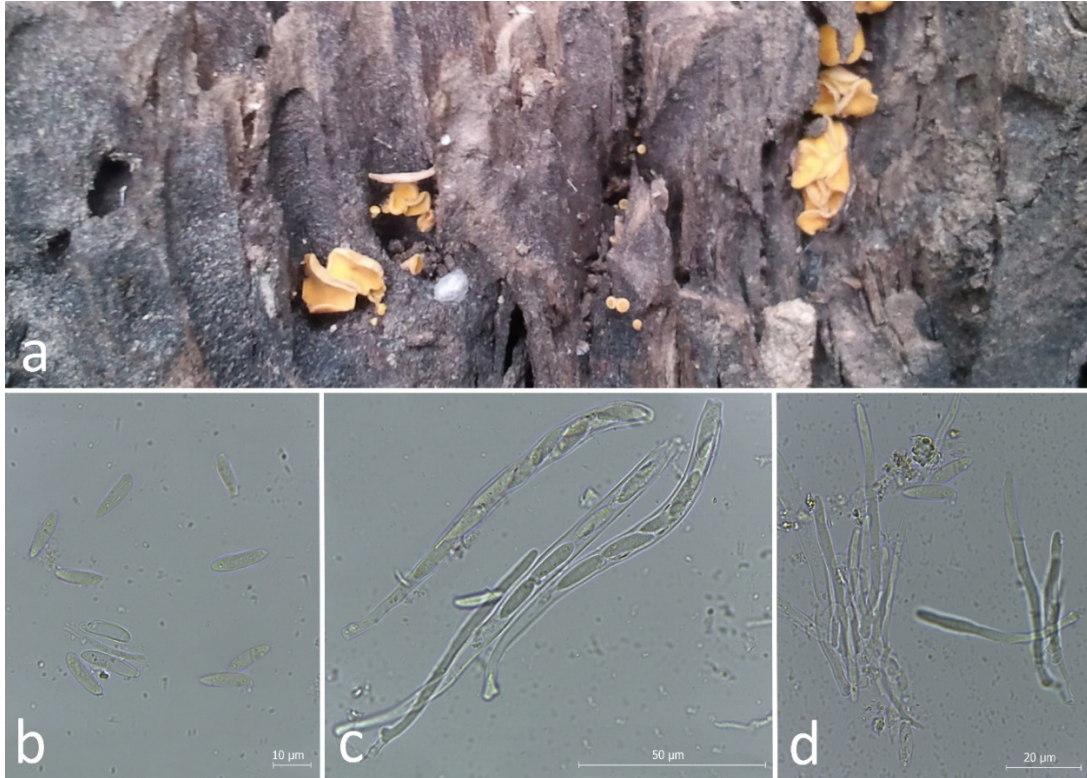
Russulaceae Lotsy

108. *Lactifluus bertillonii* (Neuhoff ex Z. Schaef.) Verbeken, Çayırılık, Gürdere köyü, K: 37° 30'12.62", D: 44° 12'52.64", 1896 m., 03.11.2013, Kesici. 209.

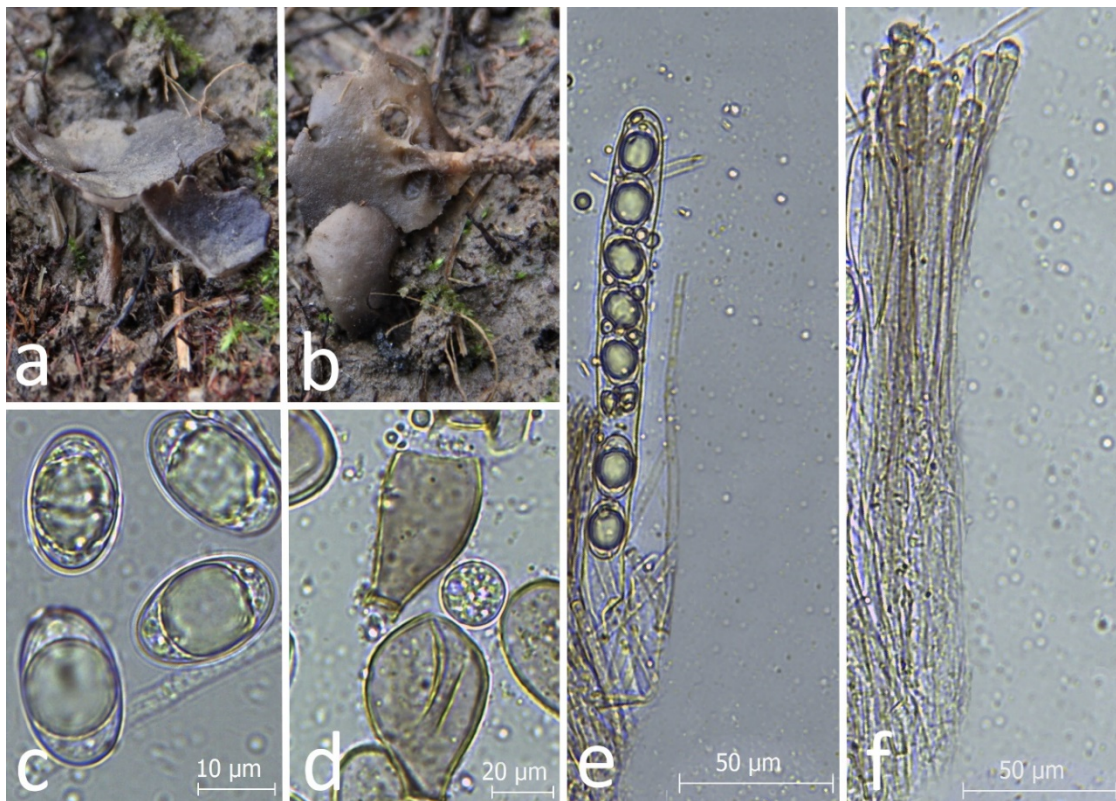
Thelephorales

Thelephoraceae Chevall

109. *Thelephora terrestris* Ehrh., Ağaç kalıntıları üzeri, Adaklı köyü, K: 37° 31'31.43", D: 44° 10'27.45", 1907 m., 03.11.2012, Kesici. 013.



Şekil 2. *Hymenoscyphus repandus* (W. Phillips) Dennis a. Askokarp, b. Askospor, c. Askus, d. Parafiz



Şekil 3. *Helvella corium* (O. Weberb.) Masee a, b. Askokarp, c. Askospor, d. Şapka yüzeyi elemanları, e. Askus, f. Parafiz



Şekil 4. *Cheilymenia megaspora* (Gamundi) J. Moravec **a.** Askokarp, **b.** Askospor, **c.** Askus, **d.** Parafiz

4. Tartışma ve Sonuç

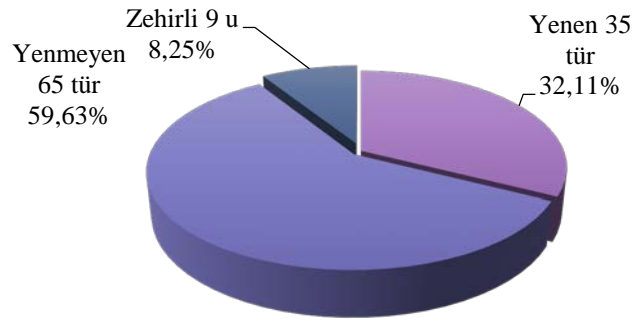
Adaklı ve çevresindeki köylerde (Yüksekova/Hakkâri) yetişen makromantarlar üzerinde yapılan bu çalışma ile 31 familya'ya ait toplam 109 makromantar türü tespit edilmiştir. Tespit edilen toplam 109 türün 35 'şi yenen, 65'i yenmeyen ve 9'u zehirli olarak belirlenmiştir. Yenen türler toplam türlerin %32.11'ini, yenmeyenler %59.63'ünü ve zehirli türler ise %8.25'sini oluşturmaktadır (Grafik 1).

Yenen türlerden; *Agaricus arvensis* ve *A. campestris*, türleri yörede "kivarka giya (çayır mantarı)" adı ile tanınır ve yenir, *Pleurotus eryngii* türü "kivarqa çiya (dağ mantarı)" ya da "kivarka helizi (heliz mantarı)" adı ile tanınır ve yenir. Özellikle *Pleurotus eryngii* yöre halkı tarafından sıkça toplanıp pazarlarda çok satılan ve lezzetle yenen bir türdür. 2020 yılında kg fiyatı yöre pazarlarında 65 TL' ye satıldığı tespit edilmiştir (Şekil 5).

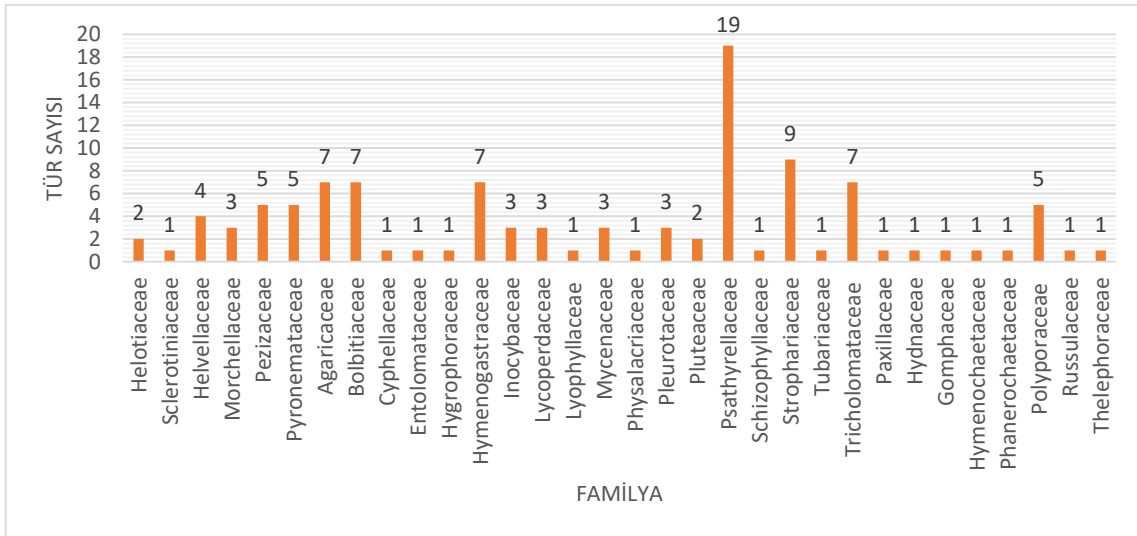
Yörede; Cimşit Kesici' nin verdiği bilgilere göre; *Bovista*, *Calvatia* ve *Lycoperdon* cinslerine ait türlere "fıse gırg (kurt yellemesi)" adını verir ve bu makromantarları binek ve büyükbaş hayvanlarının açık yaralarına tentürdiyot ile karıştırılıp sürülerek yaraların daha çabuk kabuk bağlayıp iyileştiğini bildirmiştir.

Yörede özellikle *Coprinus*, *Coprinellus* ve *Coprinopsis* cinslerine ait türlere "kivarka kerı (eşek mantarı)" adını verip bu mantarların zehirli olduğunu düşünülmektedir.

Yörede belirlenen 109 makromantar içinde en fazla tür içeren familyalar sırasıyla; *Psathyrellaceae* 19, *Strophariaceae* 9, *Agaricaceae*, *Bolbitiaceae*, *Tricholomataceae* ve *Hymenogastraceae* 7, *Pezizaceae*, ve *Polyporaceae* 5'er tür ile temsil edilmektedir. Bu familya üyelerinin fazla yayılış göstermesi özellikle bölgenin iklimsel özellikleri ve bitki örtüsünden kaynaklandığı düşünülmektedir (Grafik 2).



Grafik 1. Tespit edilen türlerin yenilebilirlik durumları

Şekil 5. Yöre pazarlarında satılan *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél.

Grafik 2. Tespit edilen makrofungus türlerinin familyalara göre dağılımı.



Tespit edilen türlerin habitat ve substratlarının ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda belirtilen türlerle uyum içinde olduğu görülmektedir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi bu çalışmada tespit edilen mantarlar çalışma alanına yakın bölgelerde yapılan benzer çalışmalarla, Yüksekova-Hakkâri (Uzun ve ark., 2008), Şırnak (Aksak, 2009), Uludere-Şırnak (Abay, 2010), Karz Dağı (Bitlis-Tatvan) (Sadullahoğlu, 2013), Zilan Vadisi (Van-Erciş) (Koçak, 2014), Yüksekova-

Şemdinli (Hakkâri) (Acar ve ark., 2020) ile karşılaştırılmış ve Yüksekova %61.7, Şırnak % 14,1, Uludere-Şırnak'la %15.8, Karz Dağı (Bitlis-Tatvan) %27.2, Zilan Vadisi (Van-Erciş) % 40.3, Yüksekova-Şemdinli (Hakkâri) % 28.5, oranında benzerlik gösterdiği görülmektedir. Bu benzerlik ve farklılıkların iklim ve bitki örtüsünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Araştırma bölgesinin orman formasyonu açısından zengin olmamasına karşın yakın bölgelerle karşılaştırıldığında makromantar çeşitliliği bakımından zengin olduğu söylenebilir.

Tablo 1. Belirlenen türlerin araştırma yöresine yakın bölgelerde yapılmış olan çalışmalarla benzerlik durumu

Araştırma Yöresi	Belirlen toplam tür sayısı	Benzer tür sayısı	Benzerlik oranı
Yüksekova-Hakkâri (Uzun ve ark., 2008)	47	29	%61.7
Şırnak (Aksak, 2009)	45	16	%14.1
Uludere-Şırnak (Abay, 2010)	46	18	%15.8
Karz Dağı (Bitlis-Tatvan) (Sadullahoğlu, 2013)	79	31	%27.2
Zilan Vadisi (Van-Erciş) (Koçak, 2014)	98	46	%40.3
Yüksekova-Şemdinli (Hakkâri) (Acar ve ark., 2020)	203	58	%28.5

Ayrıca bu çalışma ile *Hymenoscyphus repandus*, *Helvella corium* ve *Cheilymenia megaspora* türleri ülkemizde ilk kez tespit edilerek Türkiye makromantarları için yeni kayıt olarak eklenmiştir. Böylece çalışmamızın esas amaçlarından biri olan hem yörenin hem de ülkemiz mikobiyotasının zenginleştirilmesine katkı sağlanmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2013-FBE-YL025 no'lu proje ile desteklenmiştir. Katkılarından dolayı bütün çalışanlarına teşekkür ederiz.

Kaynaklar.

- Acar, İ ve Uzun, Y. (2016). *Peziza granularis* Donadini Türkiye Mikobiyotası için Yeni Bir Kayıt. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21(1): 39-42.
- Acar, İ, Kalmer, A., Uzun Y ve Dizkırıcı Tekpınar A. (2018). Morphology and Phylogeny Reveal a New Record *Gyromitra* for Turkish Mycobiota, Mantar Dergisi, 9(2): 176-181.
- Acar, İ., Uzun, Y., Keleş, A. ve Dizkırıcı Tekpınar, A. (2019). *Suilellus amygdalinus*, a new species record for Turkey from Hakkari Province, Anatolian Journal of Botany, 3(1): 25-27.
- Acar, İ., Uzun, Y. ve Akata, I. (2020). Some Macrofungi Determined in Şemdinli and Yüksekova Districts (Hakkâri-Turkey) *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (1): 157-167.
- Akata, I., Altuntaş, D. ve Şahin, E., (2020). *Callistosporium* Singer, A New Genus Record For Turkish Mycobiota, *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 21 (1): 33-37.
- Akçay. M.E. (2020). A new record for the Mycota of Turkey, *Anatolian Journal of Botany*, 4(1): 8-10.
- Anonim, (2015). http://tr.wikipedia.org/wiki/Adakl%C4%B1_Y%C3%BCksekova. Yüksekova Ticaret ve Sanayi Odası, Erişim tarihi: 09.03.2015.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (1984). *Fungi of Switzerland*. Vol.1, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (1986). *Fungi of Switzerland*. Vol.2, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland.



- Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (1991). *Fungi of Switzerland*. Vol.3, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (1995). *Fungi of Switzerland*. Vol.4, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (2000). *Fungi of Switzerland*. Vol.5, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland.
- Breitenbach, J., Kränzlin, F. (2005). *Fungi of Switzerland*. Vol.6, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland.
- Bresinsky, A. ve Besl, H., (1990). *A Color Atlas of Poisonous Fungi*. Wolfe Publishing, London.
- Buczacki, S. (1989). *Fungi of Britain and Europe*. William Collins Sons & Co Ltd. Glasgow. 320s.
- Çağlı, G. ve Öztürk, A. (2020). Macromycetes determined in Muradiye (Van) district, *Anatolian Journal of Botany*, 4(1): 57-64.
- Çelik, A., Uzun, Y. ve Kaya, A., (2020). Macrofungual Biodiversity of Güneysınır District (Konya-Turkey), *Mantar Dergisi*, 11 (1)75-83.
- Çetinkaya, A., Uzun, Y. ve Kaya, A. (2020). Thecotheus lundqvistii, A New Coprophilous Ascomycete Record for Turkey, *Mantar Dergisi*, 11 (2)138-141.
- Dähncke, M.R. (2004). *1200 Pilze in Farbfotos*. AT Verlag Aarau, Schweiz.
- Ellis, MB. ve Ellis, J.P. (1990). *Fungi Without Gills (Hymenomyces and Gasteromyces) An Identification Handbook*. Chapman and Hall, London. 315s.
- Işık, H. (2020). *Agaricus, Steccherinum, and Typhula* species new for Turkey, *Mycotaxon*, 135(1) 213-222.
- Işık, H. ve Türkekul, İ. (2020). New additions to Turkish macrofungi from Tokat and Yozgat Provinces, *Mycotaxon*, 133 (4) 697-709.
- İleri, R., Uzun, Y., ve Kaya, A., (2020). Macromycetes of Karadağ (Karaman) and its Environs, *Mantar Dergisi*, 11 (1)57-63.
- Jordan, M. (1995). *The Encyclopedia of Fungi of Great Britain and Europe*, David & Charles Book Co., UK. 384s.
- Jordan, M. (2004). *The Encyclopedia of Fungi of Britain and Europe*, Frances Lincoln, London, UK.
- Kaplan, D., Uzun, Y., ve Kaya, A., (2020). Phylloscypha boltonii, A New Record for the Mycobiota of Turkey, *Mantar Dergisi*, 11 (2)158-161.
- Kaygusuz, O., Knudsen, H., Türkekul, İ., ve Çolak, Ö.F. (2020). *Volvariella turcica*, a new species from Turkey, and a multigene phylogeny of *Volvariella*, *Mycologia*, 112:3, 577-587.
- Keleş, A. (2020). Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Cins (*Gerronema* Singer) Kaydı, *Mantar Dergisi*, 11 (2)168-171.
- Kränzlin, F. (2005). *Fungi of Switzerland*. Vol.6, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland.
- Moser, M., (1983). *Keys to Agarics and Boleti*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 535
- Müderrişoğlu, C., Karakullukçu, F., Orka, E., Beydilli, A. ve Mat, A. (1992). Mantar zehirlenmelerinde hemoperfüzyonun yeri ve önemi. *Türk Tıp Dergisi*, 58 (9-12); 261-268.
- Phillips, R. (1981). *Mushrooms and Other Fungi of Great Britain and Europe*. Pan Books Ltd., London. 287.
- Sesli, E. ve Denchev, C.M. (2014). 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.
- Sesli, E., (2020). *Clitopilus cystidiatus (Entolomataceae)*, Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt, *Mantar Dergisi*, 11 (1)90-93.
- Sesli, E. ve Bandini, D. (2020). First Record of *Inocybe nothomixtilis* (Basidiomycota, Inocybaceae) Outside Europe, *Mantar Dergisi*, 11 (1)64-67.
- Sesli, E., Asan, A., ve Selçuk, F. Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Haliki Ustan, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., Yoltaş, A. (2020). Türkiye Mantarları Listesi (*The Checklist of Fungi of Turkey*). Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul. 1177 sayfa.
- Solak, M.H., Işiloğlu, M., Kalmış, E. ve Allı, H. (2015). Macrofungi of Turkey, Checklist, Volume- II. İzmir: Üniversiteler Ofset.
- Şengül Demirayak, M.Ş. ve Işık, H., (2020). *Cortinarius rapaceoides*, a new record for Turkey, *Mycotaxon*, 135(3) 559-568.
- Uzun, Y., Demirel, K., Kaya, A. ve Keleş, A., 2008. Yüksekova (Hakkâri) Yöresinde Belirlenen Bazı Makrofunguslar. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran 2008, Trabzon. Bildiri Özetleri, S.171.
- Uzun, Y., Acar, İ., Akçay, M.E. ve Sadullahoğlu, C. (2020a). Kağızman (Kars) Yöresi Makrofungusları, *Mantar Dergisi*, 11 (1)19-28.
- Uzun, Y., Berber, O. ve Kaya, A., 2020b. First record of *Trappea darkeri* from Turkey, *Mycotaxon*, 135(3) 613-616.



- Uzun, Y. ve Kaya. A., (2020a). *Pulvinula alba*, a new record for the Macromycota of Turkey, *Biological Diversity and Conservation*, 13(1): 62-65.
- Uzun, Y. ve Kaya. A. (2020b). *Wakefieldia*, A New Hypogeous Basidiomycete Genus Record for Turkey, *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (1): 168-171.
- Uzun, Y. ve Kaya, A. (2020c). *Elaphomyces citrinus* and *E. cyanosporus*, new for Turkey, *Mycotaxon*, 135(2) 339-344.
- Yeşil, A., Uzun, Y., Akçay, M.E., Sadullahoğlu, C., ve Acar, İ. (2020). Siirt (Merkez) Yöresinde Belirlenen Makromantarlar, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25(1) 32-40.



Geliş(Received) :23.06.2021
Kabul(Accepted) :01.09.2021

Araştırma Makalesi
Doi: 10.30708.mantar956602

Saleplerden (Orkide) İzole Edilen Endofitik *Fusarium* spp.'nin Moleküler Tanımlanması ve Filogenetik Çeşitlilik Analizleri

Yüksel GEZGİN^{1,2}

*Sorumlu yazar: yukselgezgin@gmail.com, yuksel.gezgin@ege.edu.tr

¹ Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

² Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Moleküler Tıp Laboratuvarı, İzmir

^{1,2}Orcid ID: 0000-0001-5812-1882/ yukselgezgin@gmail.com

Öz: Türkiye'nin endemik bitkisi Salep (orkide) kök ve yumrularından izole edilmiş endofitik fungus türlerinin moleküler teknikler kullanılarak tanımlanması son derece önemlidir. Bu çalışmada Salep (*Orchid*) bitkisinden izole edilen endofitik *Fusarium* Link türlerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla *beta-tubulin* (β -*tubulin*: *benA*), *Internal Transcribed Spacer* (ITS) ve *Translation Elongation Factor* (EF) gen bölgeleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile özel primerler kullanılarak çoğaltılmıştır. Daha sonra tüm PZR ürünlerinin dizi analizi yapılmış ve GenBank'daki diğer ilgili diziler ile karşılaştırılmıştır. *Fusarium* izolatları tür düzeyinde *Fusarium redolens* Wollenw. (n=7) ve *Fusarium oxysporum* Schlecht. (n=3) olarak tanımlanmışlardır. Filogenetik analizler the β -*tubulin*, ITS ve EF gen dizilerini temel alarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, ilk olarak üç farklı gen bölgesinin çoğaltılması içeren moleküler tanımlama yöntemleri kullanılarak Türkiye'deki saleplerden (orkidelerden) izole edilen endofitik *Fusarium* spp. izolatları tür düzeyinde tanımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Salep, Orkide, Endofitik fungus, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, *Fusarium redolens*, *Fusarium oxysporum*

Phylogenetic Diversity Analysis and Molecular Identification of Endofitic *Fusarium* spp. Isolated From Salep (*Orchid*)

Abstract: The endophytic fungi species isolated from Salep (*Orchid*) roots and tubers, endemic plants of Turkey, their identification using the molecular techniques is utmost important. The aim of the present study was to identify the species of endophytic *Fusarium* Link isolated from Salep (*Orchid*). For this purpose, *beta-tubulin* (β -*tubulin*: *benA*), *Internal Transcribed Spacer* (ITS) and *Translation Elongation Factor* (EF) gene regions were amplified by Polymerase Chain Reaction using specific primers. Then, all PCR products were sequenced and compared with the other related sequences in GenBank. The *Fusarium* isolates were identified to species level as *Fusarium redolens* Wollenw. (n=7) and *Fusarium oxysporum* Schlecht. (n=3). The phylogenetic analysis was carried out based on the β -*tubulin*, ITS and EF gene sequences. In the present study, *Fusarium* spp. isolated from Saleps (*Orchids*) in Turkey were firstly identified by molecular identification methods including amplification of the three different gene region.

Key words: Salep, Orchid, Endophytic fungi, Polymerase Chain Reaction, *Fusarium redolens*, *Fusarium oxysporum*

Giriş

Endofitik funguslar ilk olarak 1904'de Freeman tarafından *Lolium temulentum* Linnaeus, bitkisinden izole edilmiştir ve daha sonrasında konu ile ilgili çalışmalar devam etmiştir. Son olarak Antartik yosununda (Melo vd., 2014) tanımlanmış olan endofitik funguslar yüzyılı aşkın

bir süredir botanikçi, ekolog, mikolog, bitki patoloğu ve farmakologların dikkatini çekmeye devam etmektedir. Neredeyse 300.000 bitkinin bir veya birden fazla endofit barındırdığı tahmin edilmektedir.

Günümüzde endofitik funguslardan rapor edilen pek çok antifungal (Tan ve Zou, 2001) antibakteriyel



bileşik (Deshmukh vd., 2015) bulunmaktadır. Endofitik funguslar ürettikleri primer ve sekonder metabolitler ile endüstriyel biyoteknolojide yaygın olarak kullanılan önemli bir endüstriyel mikroorganizma grubudur. Fungal sekonder metabolitler her ne kadar onu üreten organizmanın yaşaması için elzem olmasa da diğer organizmalara karşı rekabette üstünlük sağlanması veya UV radyasyonuna direnç geliştirme gibi durumlarda savunma mekanizmasına oldukça katkıda bulunduğu bilinmektedir (Osborn, 2010). Ülkemizin sahip olduğu oldukça geniş biyoçeşitliliği gözönünde bulundurulacak olursa değişik kaynaklardan izole edilen endofitik funguslar son derece önem taşımaktadır.

Orkidelerin bağımlı oldukları simbiyotik yaşam şekli (orkid mikoriza olarak isimlendirilmektedir) oldukça dikkat çekmektedir. Orkide kök hücreleri içerisinde yer alan fungal hifler bitkiye topraktan mineral ve su temin ederler. Ülkemizde, toplam 24 cins ve 90 tür orkide türü bulunmaktadır (Sandal ve Söğüt, 2010; Sandal Erzurumlu ve Doran, 2011). Türkiye'nin oldukça önemli olan bu endemik bitkileri koruma altına alınmalıdır. Bununla beraber nesli tükenme tehlikesiyle karşı karşıya olduğu için bu türlerin çimlendirilmesinde simbiyotik döngüde yer alan veya Ülkemiz salep kök ile yumrularından elde edilmiş mikorizal ve endofitik funguslarla ilgili detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Orkid mikorizal ve endofitik funguslar orkide tohum çimlenmesi ve vejetatif büyüme için gereklidir (Jiang vd., 2018). Literatürde Orkidelerden izole edilen *Fusarium oxysporum* KB-3 türü ile yapılan çalışmada bu türün *Bletilla striata* (Thunb.) Rchb.f. orkide tohumlarını çimlenmesini teşvik ettiği ve orkid mikorizal fungus gibi davranış sergilediği belirlenmiştir (Jiang vd., 2018). Bunun yanı sıra Endofitik *Fusarium* türleri biyolojik aktiviteye sahip sekonder metabolitlerin zengin bir kaynağıdır. Bu metabolitlerin (mikotoksin gibi) bir kısmı insanlar üzerinde zararlı etkilere sahip olup bazıları ise ilaç geliştirme, biyoteknolojik ürün (hormon, pigment vs) elde etme açısından oldukça büyük bir potansiyele sahiptir (Hansen vd., 2015). Orkid-ilişkili *Fusarium proliferatum* Matsush.'un gibberellin üreticisi olduğu bilinmektedir (Tsavkelova vd., 2008). Bitki büyümesini uyarıcı rolleri sebebiyle *Fusarium verticillioides* türü tarımda çay bahçeleri, bağcılık ve bahçecilikte yaygın kullanıma eğilimi göstermektedir. Bu sebeple bitki büyümesini teşvik etme yeteneğine sahip yeni fungal endofitlerin tanımlanması ve potansiyel sekonder metabolitlerin keşfi ile ilgili çalışmaların artırılması gerekmektedir. Bu endofitik funguslar ekonomik olarak son derece önemli olup aynı zamanda da fitopatojen ve insan patojenlerini de içerdiğinden sistematik olarak

doğru tanımlanmaları oldukça gerekli olan zorlu bir gruptur (O'Donnell vd., 2013). Bu sebeple tarımsal ve tıbbi olarak önemli endofitik *Fusarium* türlerinin karşılaştırmalı filogenetik ve genomik analizlerinin yapılması önemlidir.

Çalışmamızda Ülkemiz endemik bitki türü olan Salep (Orkide) bitkisinin kök ve yumrularından elde edilen endofitik *Fusarium* izolatlarının moleküler yöntemler kullanılarak tür düzeyinde tanımlanması ve filogenetik analizlerinin yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla üç farklı gen bölgesi (*beta-tubulin* (β -*tubulin*: *benA*), *Internal Transcribed Spacer* (*ITS*) ve *Translation Elongation Factor* (*EF*)) kullanılmıştır.

Bu çalışma sözkonusu bu endofitik funguslar ile salep yumrularının çimlendirilmesi konularında yapılacak ileri çalışmalara katkı sağlayacak bilgilere ulaşılması yanısıra biyoteknolojik öneme sahip potansiyel sekonder metabolitler açısından önem taşımaktadır.

Materyal ve Metot

Fungal izolatların aktivasyonu

Önceki çalışmalarda Salep (*Orchis sancta* Linneo ve *Ophrys fusca* Link) kök ve yumrularından elde edilmiş endofitik *Fusarium* izolatlarını (n=10 adet) içeren Malt Ekstrakt Agar (MEA) yatık tüplerinden MEA içeren petrilere üç nokta ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan petrilere 27°C 'de 5 gün süreyle aktivasyonu gerçekleştirilmiştir (Gezgin ve Eltem, 2009). Aktivasyon sonrası elde edilen miselyum kütlesinden 6 mm çapında plaklar alınarak doğrudan Malt Ekstrakt Broth (MEB) besiyeri içeren erlenlere aseptik koşullarda ekim yapılmıştır. Daha sonra erlenler 27°C 'de 120 rpm hızındaki çalkalayıcı inkübatörde 3 gün boyunca inkübe edilmiştir (Gezgin ve Eltem, 2009).

Genomik DNA izolasyonu

Bu çalışmada manuel bir genomik DNA izolasyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır (Liu vd., 2000). Bu amaçla MEB besiyeri içeren erlenlerin inkübasyonu sonrasında elde edilen miseller aseptik koşullarda filtrasyon ile besiyerinden ayrılmış ve genomik DNA izolasyonu için kullanılmıştır.

PZR Çalışmaları

Genomik DNA izolasyonu sonrasında β *tubulin*, *ITS* ve *EF* geni olmak üzere üç farklı gen bölgesi için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) işlemi yapılmıştır. Her üç gen bölgesi için en uygun bağlanma sıcaklığının belirlenebilmesi amacıyla öncelikle gradient PZR çalışmaları yapılmıştır. Gradient PZR için farklı sıcaklıklar denenmiş ve uygun PZR koşulu belirlenmiştir. Çalışmada iki farklı deneme aralığı kullanılmış olup, kullanılan gradient PZR koşulu; 94°C 3dk, [94°C 30sn, 48-58°C (1.



deneme aralığı) ile **50-64 °C** (2. deneme aralığı) 30sn, 72°C 2dk] (35 döngü), 72°C 5dk, 4°C ∞ dir. Bu amaçla GeneMark 5X PCR Dye Master Mix II (GeneMark, Tayvan) kullanılmıştır. Son hacmi 25 µl olan PZR karışımının bileşenleri ve miktarları sırasıyla; 5 µl 5X PCR Dye Master Mix II, 1 µl kalıp DNA (5ng/ul), 1 µl forward primer (FP) (10 µM), 1 µl reverse primer (RP) (10 µM), 17µl ddH₂O şeklindedir.

Çalışmada kullanılan üç farklı gen bölgesine (*ITS*, *EF* ve *β-tubulin*) ait primer çiftleri ve bu primerlere ait baz dizileri sırasıyla şöyledir: **ITS1-F**: TTA CGT CCC TGC CCT TTG TA, **ITS2-R**: GCA TTC CCA AAC AAC TCG ACT C (Van Den Ende ve De Hoog 1999). **TEF1**: F-ATG GGT AAG GA(A/G) GAC AAG AC, **TEF2-R**: GGA (G/A) GT ACC AGT (G/C) AT CAT GTT (O'Donnell vd. 1998; Geiser vd. 2004; Herron, vd. 2015) ve **Bt2a-F**:GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC, **Bt2b-R**: ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC (Glass ve Donaldson, 1995).

PZR ürünlerinin görüntülenmesi

Görüntüleme sonucunda seçilen PZR ürünlerine ait örnekler baz dizi analizi amacıyla Invitrogen Pure Link Quick Gel Extraction Kit (Invitrogen, ABD) kullanılarak saflaştırılmıştır. Genomik DNA ve PZR çalışmalarında elde edilen PZR ürünleri sırasıyla %1 ve %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Daha sonra G-BOX jel görüntüleme cihazında (G-Box Syngene, UK) bantlar görüntülenmiştir.

Dizi analizi

Saflaştırma kiti ile saflaştırılan *ITS*, *EF* ve *β tubulin* gen bölgelerine ait PZR örnekleri dizi analizi yapmak üzere REFGEN Biyoteknoloji Limited Şirketine (Ankara) gönderilmiştir.

Biyoinformatik araçlar kullanılarak tür tayini yapılması

Her üç farklı gen bölgesine ait baz dizi analizleri için NCBI (National Center of Biotechnology Information) veri tabanı aracılığıyla BLAST (<http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov>) analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte her bir gene ait DNA dizileri MEGA X (Tamura ve Nei 1993; Kumar vd, 2018) versiyonu kullanılarak ClusterW programı (Thompson vd., 1994) ile align edilip ve türler arasında korunmuş bölgeler tespit edilmiş ve her bir gene ait DNA dizisi birbirleriyle karşılaştırılarak benzerlikler karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Genomik DNA izolasyonu

Çalışmamızda elde edilen genomik DNA'ların saflığı ile konsantrasyonları Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) yardımı ile ölçülmüştür. Bu DNA'ların absorbans değerlerinin ise ABS₂₆₀ /ABS₂₈₀ 1,6-2,0 aralığında olduğu belirlenmiştir. Konsantrasyonları belirlenen DNA'lar 5

ng/µL olacak şekilde seyreltilerek, gradient PZR çalışmalarında kullanılmıştır.

Genomik DNA ile gerçekleştirilen gradient PZR çalışmaları

Gradient PZR çalışmaları sonucunda elde edilen jel görüntüleri doğrultusunda *ITS*, *EF* ve *β tubulin* gen bölgeleri için 48°C -54,1°C arasında parlak bant elde edildiği görülmüştür. Çalışmalara *ITS* ve *EF* gen bölgesi için de en parlak bandın elde edildiği ortak sıcaklık olan **51,7 °C** olarak belirlenmiştir. *β-Tubulin* gen bölgesi ile yapılan denemelerde annealing için 50-64 sıcaklık aralığı denenmiş ve 58,5-64 °C arası bant elde edilmiş olup çalışmalarda **58 °C** kullanılmıştır.

Bu sebeple çalışmamızda *ITS* ve *EF* gen bölgesi için optimize koşul; 94°C 3dk, [94°C 30sn, **52°C** 30sn, 72°C 2dk](35 döngü), 72°C 5dk, 4°C ∞ , *β-tubulin* gen bölgesi için optimize koşul; 94°C 3dk, [94°C 30sn, **58°C** 30sn, 72°C 2dk](35 döngü), 72°C 5dk, 4°C ∞ olarak belirlenmiştir.

PZR ürünlerinin saflaştırma işlemler

Görüntülenen jellerde, genomik DNA ile yapılan PZR çalışmaları sonucu ilgili gen bölgeleriyle elde edilen bantların boyutlarının yaklaşık 600-700 bp uzunlukta olduğu görülmüştür (Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3). Her üç gen bölgesine ait bant elde edilmesi sonucunda elde edilen PZR ürünleri saflaştırılıp jelde yürütülmüştür. Elde edilen bant boyutlarının saflaştırma öncesi bant boyutları ile eşit uzunlukta olduğu doğrulanmıştır.

Dizi analizi

Elde edilen PZR ürünleri dizi analizi için REFGEN'e (Ankara) gönderilmiştir. Daha sonra BLAST çalışmaları yapılarak benzerlikler karşılaştırılmıştır. Her üç gen bölgesine göre yapılan BLAST analizleri sonucuna göre izolatlar *Fusarium redolens* "kokuluküf" (Sesli vd., 2020) ve *Fusarium oxysporum* "sebzeküf" (Sesli vd., 2020) olarak tanımlanmıştır. Buna göre her üç gen bölgesi ile doğrulanarak yapılan analizler sonucunda 3 adet *Fusarium oxysporum* ve 7 adet *Fusarium redolens* türü belirlenmiştir. *Orchis sancta* (Çeşme-İzmir) Salep bitkisinden izole edilen endofitik *Fusarium* izolatlarından 5'nin *Fusarium redolens*, 1'nin *Fusarium oxysporum* olduğu belirlenmiştir. *Ophrys fusca* (İzmir) den izole edilen iki izolatın ise *Fusarium oxysporum* olduğu görülmüştür (Tablo 1).

Endofitik *Fusarium* türlerine ait *β-tubulin*, *ITS* ve *EF* gen bölgelerini baz alan filogenetik analizler ve filogenetik ağaçların çizilmesi

Filogenetik ağaçlar MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 10 da yer alan Maximum Likelihood metodu ile Tamura-Nei model kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Kumar vd, 2018; Tamura



ve Nei, 1993) (Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6). Filogenetik ağaç üzerindeki numaralar Bootstrap değerleridir. 1000 tekrarlı Bootstrap analizi ile gerçekleştirilmiştir.

β -tubulin, ITS ve EF gen bölgesi temelli filogenetik sınıflandırma

Bu çalışmada yer alan türlerin birbirleriyle filogenetik açıdan benzerlik karşılaştırması yapabilmek için β -tubulin gen bölgesi için GenBanka kayıtlı *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* strain ATCC 52422 (Aksesyon numarası: DQ092474.1, 616 bp) (Lee ve Min 2005, unpublished), *Fusarium redolens* strain CBS: 743.97 (Aksesyon numarası: MT011043.1, 1668 bp) (Yand vd., 2020) seçilmiştir (Şekil 4).

Moleküler tanımlama sonucunda belirlediğimiz çalışmadaki türlerle filogenetik benzerlik karşılaştırması yapabilmek için *ITS* gen bölgesi için GenBanka kayıtlı *Fusarium redolens* strain NRRL_22901 (Aksesyon numarası: MT435063.1, 1107 bp) (Gargouri vd., 2020), *Fusarium* sp. isolate DSM100403_C41_RLCS05 (Aksesyon numarası: MT453291, 1150 bp) (Santos vd., 2019) ve *Fusarium oxysporum* isolate RL836 (Unpublished) (Aksesyon numarası: MT557532.1, 700 bp) seçilmiştir (Şekil 5).

Bu çalışmada yer alan türlerin birbirleriyle filogenetik açıdan benzerlik karşılaştırması yapabilmek için *EF* gen bölgesi için GenBanka kayıtlı *Fusarium oxysporum* isolate Foa 72 (Aksesyon numarası: MK968952.1, 688 bp) (Meghatli vd., 2020, unpublished) ve *Fusarium redolens* strain NRRL 52814 (Aksesyon numarası: GU250585.1, 697 bp) seçilmiştir (Balmasvd., 2010) (Şekil 6).

Tartışma

Fusarium genusu doğada oldukça yaygın olup tarım, tıp ve veterinerlik bilimlerinde oldukça önemlidir (Asan, 2011). *Fusarium* genusunda yer alan bazı türler

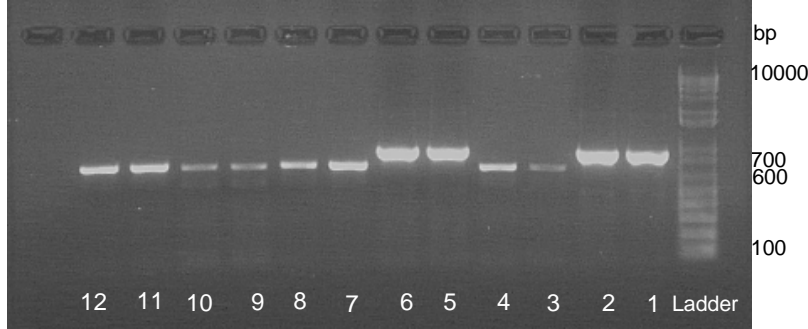
mikotoksin üretirler ve bu mikotoksinler insanlar ve hayvanlar için zararlıdır (Girgin vd., 2001, Asan, 2011). Mikotoksin üretmeleri ve bitkilerde hastalık yapan türlerin yanı sıra *Fusarium* genusunda yer alan bazı türlerin önemli endüstriyel uygulamaları da bulunmaktadır. Bunlardan biri doğal pigment üretimidir. Örneğin *Fusarium* pigmenti benzokininin meme kanseri tedavisinde antiproliferatif ajan olarak kullanım potansiyeli belirlenmiştir (Zheng vd., 2017). Diğer bir çalışmada *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis* P.G. Xiao and K.C. Hsia'den izole edilen endofitik *Fusarium redolens* 6WBY3'den steroidal-alkaloid (peimisine ve imperialine-3 β -D-glucoside) üretimi gerçekleştirilmiştir (Pan vd., 2015). Bu sebeple biyoteknolojik öneme sahip endofitik *Fusarium* türlerinin doğru moleküler tanımlanmalarının yapılması ile ilgili çalışmalar son derece önem taşımaktadır.

Bu çalışmada Salep kök ve yumrularından izole edilmiş endofitik *Fusarium* türlerinin moleküler tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla β -tubulin, ITS ve EF olmak üzere üç gen bölgesi kullanılmış olup bu gen bölgeleri PZR ile kısmi çoğaltılıp baz dizi analizi yapılmıştır. Genomik DNA ile yapılan PZR çalışmaları sonucu ilgili gen bölgeleriyle elde edilen bantların boyutlarının yaklaşık 600-700 bp uzunlukta olduğu görülmüştür.

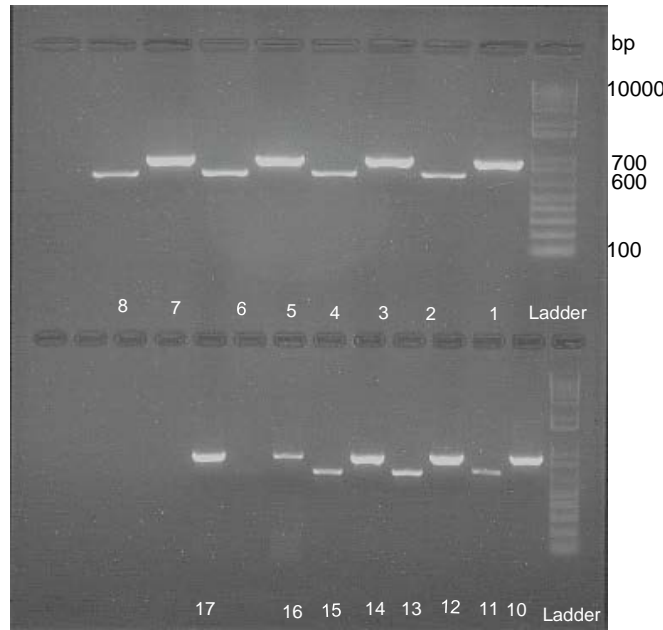
Çalışmamızda ilk olarak üç farklı gen bölgesinin çoğaltılması içeren moleküler tanımlama yöntemleri kullanılarak saleplerden (orkidelerden) izole edilen endofitik *Fusarium* spp. izolatları *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium redolens* olarak tür düzeyinde tanımlanmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda bu üç gen bölgesinin birlikte *Fusarium* türlerinin moleküler tanımlanmalarının yapılması amacıyla kullanılabilceğini göstermektedir.

Tablo 1. Endofitik *Fusarium* türleri ve izolasyon kaynağı Salep (Orkide) bitkisi

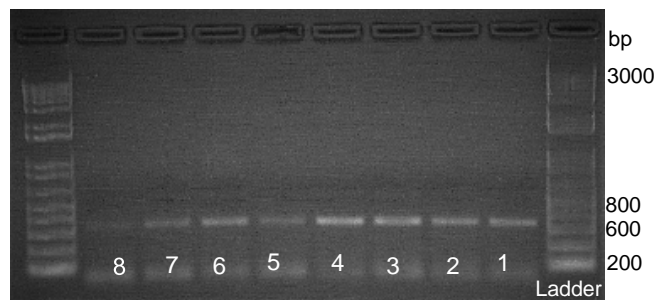
Fungus İzolat İsmi	Fungus Tür İsmi	Salep (Orkide) İsmi
YG-F-izolat-1	<i>Fusarium redolens</i>	<i>Orchis sancta</i> (Çeşme-İzmir)
YG-F-izolat-2	<i>Fusarium redolens</i>	<i>Orchis sancta</i> (Çeşme-İzmir)
YG-F-izolat-3	<i>Fusarium redolens</i>	<i>Orchis sancta</i> (Çeşme-İzmir)
YG-F-izolat-4	<i>Fusarium redolens</i>	<i>Orchis sancta</i> (Çeşme-İzmir)
YG-F-izolat-5	<i>Fusarium redolens</i>	<i>Orchis sancta</i> (Çeşme-İzmir)
YG-F-izolat-7	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Orchis sancta</i> (Çeşme-İzmir)
YG-F-izolat-8	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Ophrys fusca</i> (İzmir)
YG-F-izolat--9	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Ophrys fusca</i> (İzmir)
YG-F-izolat-13	<i>Fusarium redolens</i>	-
YG-F-izolat-14	<i>Fusarium redolens</i>	-



Şekil 1. ITS ve EF gen bölgesi için farklı endofitik *Fusarium* izolatlarına ait genomik DNA kullanılarak yapılan PZR sonucu elde edilen PZR ürünlerine ait jel görüntüleri (1 ve 2: ITS-YG-F-izolat-9, 3 ve 4: EF-YG-F-izolat-9, 5 ve 6: ITS-YG-F-izolat-14, 7 ve 8: EF-YG-F-izolat-14, 9 ve 10: EF-YG-F-izolat-1; 11 ve 12: EF-YG-F-izolat-13).



Şekil 2. ITS ve EF gen bölgesi için farklı endofitik *Fusarium* izolatlarına ait genomik DNA kullanılarak yapılan PZR sonucu elde edilen PZR ürünlerine ait jel görüntüleri (Alt sıra Ladder, ITS-YG-F-izolat-1, EF-YG-F-izolat-1, ITS-YG-F-izolat-2, EF-YG-F-izolat-2, ITS-YG-F-izolat-3, EF-YG-F-izolat-3, ITS-YG-F-izolat-4, EF-YG-F-izolat-4, üst sıra Ladder, ITS-YG-F-izolat-5, EF-YG-F-izolat-5, ITS-YG-F-izolat-7, EF-YG-F-izolat-7, ITS-YG-F-izolat-8, EF-YG-F-izolat-8).



Şekil 3. β -tubulin gen bölgesi için farklı endofitik *Fusarium* izolatlarına ait genomik DNA kullanılarak yapılan PZR sonucu elde edilen PZR ürünlerine ait jel görüntüleri



Türkiyedeki farklı habitat ve substratlardan elde edilmiş *Fusarium* türleriyle ilgili yapılan çalışmaların sonucuna göre en yaygın bulunan türler *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Fusarium equiseti* Schlecht. ve *Fusarium moniliforme* (Sacc.) Nirenberg'dir (Asan, 2011).

Türkiye'de nohutta solgunluğa neden olan *Fusarium* spp.'nin moleküler tanımlamasıyla ilgili yapılan diğer bir çalışmada *Fusarium redolens*'in nohutta solgunluk benzeri hastalığa neden olduğu ilk kez raporlanmıştır (Tekeoğlu vd., 2017). Bu çalışmadaki *Fusarium* izolatların tür seviyesinde tanımlamaları *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ve *F. redolens* için spesifik PZR primerleri ve *Translation Elongation Factor* gen bölgesinin sekanslanması ile gerçekleştirilmiştir (Tekeoğlu vd., 2017).

Orkide *Bletilla striata* köklerinden izole edilmiş *Fusarium* izolatu morfolojik karakterizasyon ve filogenetik analizlerin sonucuna göre *Fusarium oxysporum* olarak tanımlanmıştır (Jiang vd., 2018). Orkid endofitik *Fusarium oxysporum* KB-3 kullanılarak yapılan bu çalışmada, bu türün orkide tohumlarını çimlenmesini teşvik ettiği ve orkid mikorizal fungus gibi davranış sergilediğinin gözlenmesi orkide bitkisi yetiştirilmesi açısından oldukça umut vericidir (Jiang vd., 2018).

Ülkemizde endemik ve ekonomik öneme sahip bitkiler arasında yer alan salep, kültürü yapılamadığı için

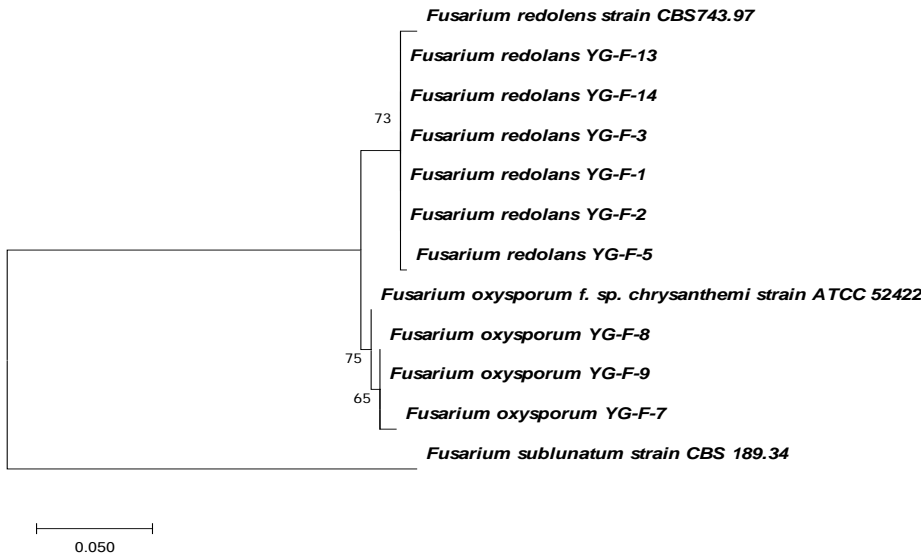
doğadan toplanarak tahrip edilmektedir. Salep bitkisinin tür bazında korunması ve üretiminin gerçekleştirilmesi için salep tohumlarının *in-vitro* çimlendirilmesi gerekmektedir. Türkiye orkideleri (Salepler) ile ilgili yapılan literatüre/literatürlere bakıldığında salep orkidelerinin üretimine olanak sağlayacak çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görülmektedir (Sandal ve Söğüt, 2010).

Çalışmamız özellikle salep kök ve yumrularından izole edilmiş endofit *Fusarium* türlerinin üç farklı gen bölgesi kullanılarak moleküler tanımlamalarının yapılması ve tanımlamaları yapılan bu türlerin simbiyotik kültür yöntemiyle salep bitkisi yetiştirilmesine yönelik ilerisi için yapılacak çalışmalara katkı sağlayacak/rehberlik edecek olması açısından önemlidir.

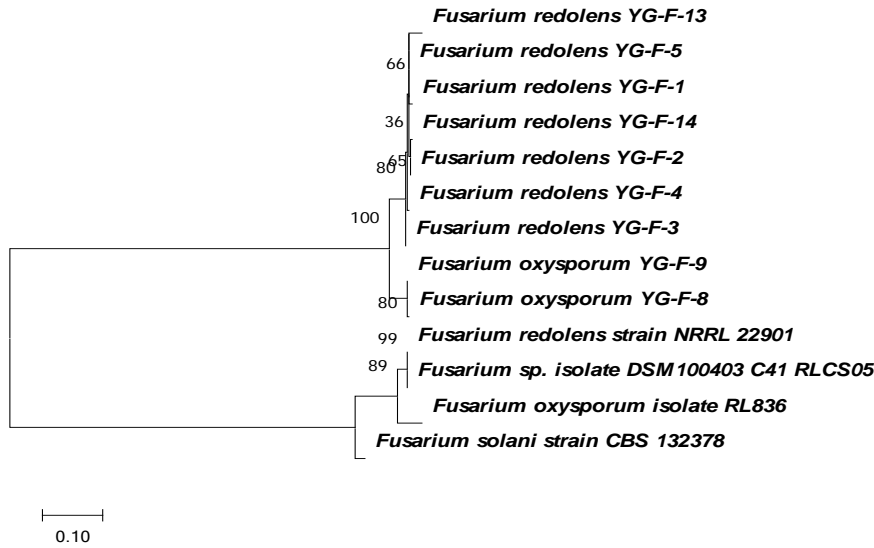
İleri çalışmalarda ilgili gen bölgelerine ait aksesyon numarası alınacak ve bu türlerin sekonder metabolitleri detaylı olarak incelenecektir. Daha sonra elde edilen bilgiler ışığında Salep (Orkide) tohumlarının çimlendirilmesiyle ilişkili detaylı çalışmalar yapılması planlanmaktadır.

Teşekkür

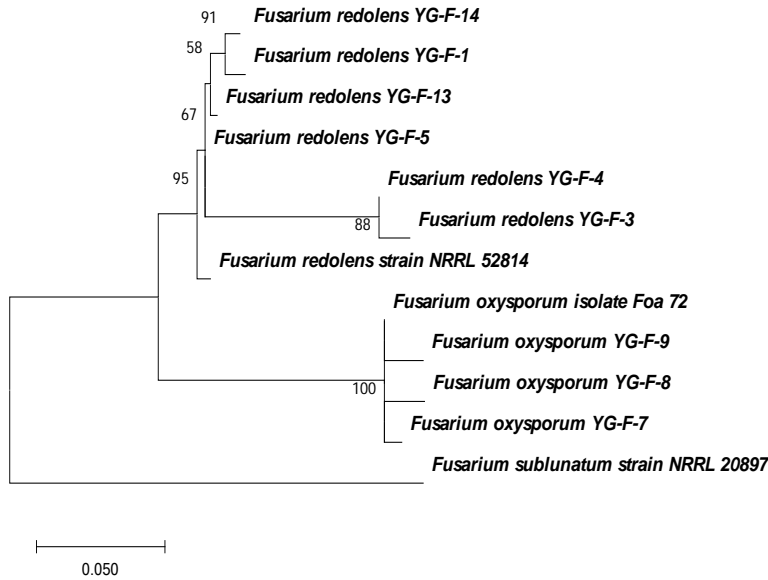
Çalışmalarım esnasında laboratuvar imkânlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Dr. Arzu YILDIRIM'a çok teşekkür ederim.



Şekil 4. Endofitik *Fusarium* türlerine ait β -*tubulin* gen bölgelerini baz alan filogenetik ağacın görünümü ve β -*tubulin* gen temelli filogenetik sınıflandırma. YG-F-izolat 4 sekansı çalışmamıştır. Bu sebeple filogenetik ağaçta yer almamaktadır. Bunun yanısıra bizim türler dışında yer alan bir dış grup olması açısından analizlerde *Fusarium subclunatum* strain CBS 189.34 (Aksesyon numarası: KM232076.1, 622 bp) (Lombard vd., 2015) kullanılmıştır.



Şekil 5. Endofitik *Fusarium* türlerine ait ITS gen bölgelerini baz alan filogenetik ağacın görünümü ve ITS Gen Temelli Filogenetik Sınıflandırma. YG-F-izolat 7 sekansı çalışmamıştır. Bu sebeple filogenetik ağaçta yer almamaktadır. Bunun yanısıra bizim türler dışında yer alan bir dış grup olması açısından analizlerde *Fusarium solani* strain CBS 132378 (Aksesyon numarası: MH866005, 567 bp) (Vu vd., 2019) kullanılmıştır.



Şekil 6. Endofitik *Fusarium* türlerine ait EF gen bölgelerini baz alan filogenetik ağacın görünümü ve EF Gen Temelli Filogenetik Sınıflandırma. YG-F-izolat 2 sekansı çalışmamıştır. Bu sebeple filogenetik ağaçta yer almamaktadır. Bunun yanısıra bizim türler dışında yer alan bir dış grup olması açısından analizlerde *Fusarium subglutinatum* strain NRRL 20897 (Aksesyon numarası: KX302919.1, 698 bp) (Lupien vd., 2016, unpublished) kullanılmıştır



Kaynaklar

- Asan A. (2011). Checklist of *Fusarium* Species Reported from Turkey. *Mycotaxon*. 116 (1): 479.
- Balmas, V., Migheli, Q., Scherm, B., Garau, P., O'Donnell, K., Ceccherelli, G., Kang, S. and Geiser, D.M., (2010). Multilocus phylogenetics show high levels of endemic fusaria inhabiting Sardinian soils (Tyrrhenian Islands). *Mycologia*, 102(4), 803-812.
- Deshmukh, S.K., Verekar, S.A. and Bhave, S.V., (2015). Endophytic fungi: a reservoir of antibacterials. *Frontiers in microbiology*, 5, 715.
- Erzurumlu, G. ve Doran, İ. (2011). Türkiye'de salep orkideleri ve salep kültürü. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 15(1), 29-34.
- Gargouri, S., Balmas, V., Burgess, L., Paulitz, T., Laraba, I., Kim, H.S., Proctor, R.H., Busman, M., Felker, F.C., Murray, T. and O'Donnell, K., (2020). An endophyte of *Macrochloa tenacissima* (esparto or needle grass) from Tunisia is a novel species in the *Fusarium redolens* species complex. *Mycologia*, 112(4), 792-807.
- Geiser, D.M., del Mar Jiménez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A. and O'donnell, K., (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: a DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5), 473-479.
- Gezgin, Y. and Eltem, R., (2009). Diversity of endophytic fungi from various Aegean and Mediterranean orchids (saleps). *Turkish journal of Botany*, 33(6), 439-445.
- Girgin, G., Başaran, N., ve Şahin, G. (2001). Dünyada Ve Türkiye de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 58(3), 97-118.
- Glass, N.L. and Donaldson, G.C., (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and environmental microbiology*, 61(4), 1323-1330.
- Hansen, F.T., Gardiner, D.M., Lysøe, E., Fuertes, P.R., Tudzynski, B., Wiemann, P., Sondergaard, T.E., Giese, H., Brodersen, D.E. and Sørensen, J.L. (2015). An update to polyketide synthase and non-ribosomal synthetase genes and nomenclature in *Fusarium*. *Fungal genetics and biology*, 75, 20-29.
- Herron, D.A., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D., Rodas, C.A., Marincowitz, S. and Steenkamp, E.T., (2015). Novel taxa in the *Fusarium fujikuroi* species complex from *Pinus* spp. *Studies in Mycology*, 80, 131-150.
- Jiang, J., Zhang, K., Cheng, S., Nie, Q., Zhou, S.X., Chen, Q., Zhou, J., Zhen, X., ting Li, X., wen Zhen, T. and Xu, M., (2019). *Fusarium oxysporum* KB-3 from *Bletilla striata*: an orchid mycorrhizal fungus. *Mycorrhiza*, 29(5), 531-540.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35,1547-1549.
- Lee, H.J. and Min, B.R. (2005). RFLP and partial DNA sequence analysis of beta-tubulin gene in the genus *Fusarium*. Direct Submission, GenBank. Unpublished.
- Lombard, L., Van der Merwe, N.A., Groenewald, J.Z. and Crous, P.W., (2015). Generic concepts in Nectriaceae. *Studies in Mycology*, 80, 89-245.
- Lupien, S.L., Dugan, F.M., Ward, K. and O'Donnell, K. (2016). Wilt, crown and root rot of common rose mallow (*Hibiscus moscheutos*) caused by a novel *Fusarium* sp. Direct Submission, GenBank. Unpublished.
- Meghatli, M., Krimi, Z., Tunali, B. and Kansu, B. (2020). *Fusarium oxysporum* isolate Foa 72 translation elongation factor 1-alpha (EF 1-alpha) gene, partial cds, Direct Submission, GenBank. Unpublished.
- Melo, I.S., Santos, S.N., Rosa, L.H., Parma, M.M., Silva, L.J., Queiroz, S.C. and Pellizari, V.H., (2014). Isolation and biological activities of an endophytic *Mortierella alpina* strain from the Antarctic moss *Schistidium antarctici*. *Extremophiles*, 18(1), 15-23.
- O'Donnell, K., Rooney, A.P., Proctor, R.H., Brown, D.W., McCormick, S.P., Ward, T.J., Frandsen, R.J., Lysøe, E., Rehner, S.A., Aoki, T. and Robert, V.A. (2013). Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology*, 52, 20-31.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E. and Nirenberg, H.I., (1998). Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90(3), 465-493.
- Osborn, A., (2010). Secondary metabolic gene clusters: evolutionary toolkits for chemical innovation. *Trends in Genetics*, 26(10), 449-457.
- Pan, F., Su, X., Hu, B., Yang, N., Chen, Q. and Wu, W. (2015). *Fusarium redolens* 6WBY3, an endophytic fungus isolated from *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis*, produces peimisine and imperialine-3 β -d-glucoside. *Fitoterapia*, 103, 213-221.
- Sandal, G. ve Söğüt, Z. (2010). Türkiye orkideleri (salepler). *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2), 109-116.
- Santos, A.G., da Rocha, G.O. and de Andrade, J.B., (2019). Occurrence of the potent mutagens 2-nitrobenzanthrone and 3-nitrobenzanthrone in fine airborne particles. *Scientific reports*, 9(1), 1-13.
- Sesli, E., Asan, A. ve Selçuk, F. (edlr.) Abacı Günay, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A.,



- Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkel, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu ve Yoltaş, A. (2020). Türkiye Mantarları Listesi (The Checklist of Fungi of Turkey). 1177 Sayfa. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul. ISBN: 978-605-70004-2-2.
- Tamura, K. and Nei, M., (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular biology and evolution*, 10(3), 512-526.
- Tan, R.X. and Zou, W.X., (2001). Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural product reports*, 18(4), 448-459.
- Tekeoğlu, M., Özkılınç, H., Tunalı, B., Küsmenoğlu, İ. and Chen, W. (2017). Molecular identification of *Fusarium* spp. causing wilt of chickpea and the first report of *Fusarium redolens* in Turkey. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 30(1), 27-33.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J., (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22(22), 4673-4680.
- Tsavkelova, E. A., Bömke, C., Netrusov, A. I., Weiner, J. and Tudzynski, B. (2008). Production of gibberellic acids by an orchid-associated *Fusarium proliferatum* strain. *Fungal genetics and Biology*, 45(10), 1393-1403.
- Van Den Ende, A.G. and De Hoog, G.S., 1999. Variability and molecular diagnostics of the neurotropic species *Cladophialophora bantiana*. *Stud Mycol*, 43,151-162.
- Vu, D., Groenewald, M., De Vries, M., Gehrmann, T., Stielow, B., Eberhardt, U., Al-Hatmi, A., Groenewald, J.Z., Cardinali, G., Houbraken, J. and Boekhout, T., (2019). Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Studies in mycology*, 92,135-154.
- Yang, M., Zhang, H., van der Lee, T.A., Waalwijk, C., van Diepeningen, A.D., Feng, J., Brankovics, B. and Chen, W., (2020). Population genomic analysis reveals a highly conserved mitochondrial genome in *Fusarium asiaticum*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 839.
- Zheng, L., Cai, Y., Zhou, L., Huang, P., Ren, X., Zuo, A., Meng, X., Xu, M. and Liao, X. (2017). Benzoquinone from *Fusarium* pigment inhibits the proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 cells through the NF-κB pathway via estrogen receptor signaling. *International journal of molecular medicine*, 39(1), 39-46.
- <http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov> (Son erişim tarihi: Ağustos 2021)



Geliş(Received) :31.03.2021
Kabul(Accepted) :22.09.2021

Araştırma Makalesi
Doi: 10.30708.mantar904803

Bazı Kullanılmış Kozmetik Ürünlerinde Fungal Çeşitlilik

Döndü GÜMÜŞKAYA ELBASAN¹, Ahmet ASAN², Suzan ÖKTEN³

Sorumlu yazar: ahmetasan84@gmail.com

¹Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 22030 Edirne. Orcid ID: 0000-0003-2214-8041/ dondugumuskaya@hotmail.com

²Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü. 22030 Edirne. Orcid ID: 0000-0002-4132-3848/ ahmetasan84@gmail.com

³Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 22030 Edirne. Orcid ID: 0000-0003-3372-5617/ suzanokten@hotmail.com

Öz: Bu çalışmada, çeşitli saklama koşullarında kullanılmış kozmetik ürünlerde bulunan mikrofungal morfolojik yöntemlerle cins düzeyinde tanımlamaları yapılarak, ürünlerdeki mikrofungal çeşitliliğin tespiti amaçlanmıştır. Çalışmada; farklı süre ve koşullarda kullanılmış kozmetik ürünler kullanıcılardan temin edilmiştir. Bu ürünlerin her birinden 5'er adet olmak üzere ruj, allık, rimel, göz farı, göz kalemi, pudra, göz makyaj temizleme ürünü ve roll-on olarak gruplandırılmış ve toplam 40 adet ürün incelenmiştir. Mikrofungus izolatları saf kültür olarak elde edilip yatık PDA besiyerine pasaj alınarak 25°C'de 7 gün inkübe edilmiş ve daha sonra stok kültür olarak +4°C'de saklanmıştır. İnkübasyon sonucunda izole edilen mikrofungal makroskopik ve mikroskopik incelemeleri yapılarak cins düzeyinde tespiti yapılmıştır. Çalışma sonucunda baskın fungus % 57.9 oranında *Penicillium* (Penisilyum) cinsi, % 23.5 oranında *Aspergillus* (Asper), % 10.3 oranında *Cladosporium* (Havaküfü) ve % 8.3 oranında *Alternaria* (Ariküfü) cinsleri tespit edilmiştir. Çalışmada incelenen kozmetik ürünlerden en fazla fungal üreme görülen ürün grupları sırasıyla 76 koloni ile far, 50 koloni ile ruj ve 49 koloni ile pudradır.

Anahtar kelimeler: Kozmetik ürünler, fungi, Fungal çeşitlilik.

Fungal Diversity in Some Used Cosmetic Products

Abstract: Determination of the microfungus variety in cosmetic products that have been used is aimed in this study via defining microfungi on cosmetic products used in different storage conditions at the genus level by means of morphological methods. In the study, the cosmetic products used under different conditions for a different period of time were obtained from various consumers. In total, forty products were investigated in groups of blushers, lipsticks, mascaras, eyeshadows, eyeliners, powders, roll-ons and eye-cleaners where each group had five instances. Isolated microfungi obtained in pure culture were incubated at 25°C on PDA medium and then stored as stock culture at +4°C. The microfungi isolated as a result of incubation are identified to the genus level by microscopic and macroscopic examination. The study showed that the dominant genus were *Penicillium* (Penisilyum) (% 57.9) whereas the others were *Aspergillus* (Asper) (23.5%), *Cladosporium* (Havaküfü) (10.3%) and *Alternaria* (Ariküfü) (8.3%). The product groups in which the most fungal reproduction were seen were eyeshadows (76 colonies), lipsticks (50 colonies) and powders (49 colonies), respectively.

Key words: Cosmetic products, fungi, Fungal diversity.

Giriş

Sağlık Bakanlığının 24/3/2005 tarihli ve 25823 sayılı Kozmetik Yönetmeliğine göre, kozmetik ürün: İnsan vücudunun epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlar gibi değişik dış kısımlarına, dişlere ve ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek,

görünümünü değiştirmek ve/veya vücut kokularını düzeltmek ve/veya korumak veya iyi bir durumda tutmak olan bütün preparatlar veya maddeler olarak ifade edilmektedir (Anonim, 2005).

Güzellik anlayışı çağlara ve toplumlara göre değişse de çağlar boyu güzel görünmek temiz ve bakımlı bir cilde sahip olmak insanlar için son derece önemli



olmuştur. Bu durum kozmetik kullanımını günümüze kadar devam ettirmiştir (Yavaşal Çarıkçı ve Ark., 2008). Kozmetik ürünlerin ve ürün hammaddelerinin mikrobiyolojik uygunluğu ürün kalite ve stabilite uygunluğu açısından olduğu kadar tüketicilerin sağlığı ve ürünlerin güvenli kullanımı yönünden de son derece önemlidir (Naki ve Ark., 2006).

Steril olma zorunluluğu bulunmayan piyasaya arz edilen kozmetik ürünler üretici tarafından önerilen makul kullanım şartları altında uygulandığında insan sağlığına zarar vermeyecek nitelikte olması gerekmektedir (Sağlık Bakanlığı Kozmetik Yönetmeliği, 2005). Kozmetik ürünlerde mikrobiyal kirliliğe neden olan flora; ham maddeden, imalat işlemlerinden, paketlenme materyallerinden, personelden, çevreden ve depo şartlarından kaynaklanabildiği gibi kullanıcıların kullanım ve saklama koşullarından da kaynaklanabilir. Kozmetik ürünlerin kontaminasyonu, kullanım sırasında kontamine eller veya yüzeylerle teması halinde, koruyucu veya antifungal içermelerine rağmen kaçınılmazdır. Kontamine kozmetik ürünlerin vücut yüzeyine uygulanması sonucu kozmetik ürün içeriğindeki mikrobiyal flora derideki kesik, çatlak ve yarıklardan derin dokulara ve kana geçebilir. Ve bunun sonucu olarak ciltte aşınma, iritasyon ve alerji gibi hastalıklar oluşabilir (Özyaral ve Ark., 1993). Bu çalışmada, farklı kullanıcılar tarafından çeşitli saklama koşullarında kullanılan bazı kozmetik ürünlerde bulunan mikrofungal morfolojik yöntemlerle cins düzeyinde tanımlanması yapılarak, kullanılmış kozmetik ürünlerindeki mikrofungal çeşitliliğin tespiti amaçlanmıştır.

Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik standardizasyonu ile ilgili kurallar Dünya'da Cosmetic Toiletry and Fragrance Association (CTFA), Food and Drug Administration (FDA) ve Avrupa Komisyonu gibi kuruluşlar tarafından yayınlanan raporlarla düzenlenmiştir. Bu raporlara göre kozmetikler göz çevresine uygulanan ürünler, bebek ürünleri ve diğer ürünler olmak üzere gruplandırılmıştır. Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı tarafından 1998 yılında Resmi Gazetede yayınlanan Kozmetik Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmeliğe göre kozmetik ürünler bebek ürünleri, göz çevresi veya gözle temas edecek ürünler ağız çevresine uygulanan ürünler ve diğer ürünler olarak gruplandırılmıştır (Tüysüz, 2010).

Modern kozmetik ürün içerikleri; mineraller, üreme faktörleri ortam asitliği ve nem ile mikroorganizma üremesi için uygun ortam sağlamaktadır. Geleneksel kozmetik ürünlerinde bulunan; karbonhidratlar, şeker alkoller, yağ asitleri, proteinler, aminoasitler, glikozidler, yağ alkoller, steroidler, peptitler, vitaminler ve bitkisel

hammadeler mikroorganizmalar için besin teşkil ederler ve aynı zamanda mikroorganizmaların çoğalmasında desteklemede potansiyel oluştururlar, kısaca genel olarak, uygun fizikokimyasal koşullar altında su ve organik / inorganik bileşikler içeren kozmetikler dahil tüm ürünler mikrobiyal kontaminasyona maruz kalır. (Naki ve Ark., 2006; Halla ve Ark. 2018). Kozmetik ürünlerin modifikasyonu mikroorganizmaların varlığından kaynaklanabilir çünkü kozmetik bileşiminde bulunan maddeler mikroorganizmalar tarafından metabolize edilebilir ve ortamda biriken metabolik atıklar; preparatın stabilitesini bozarak renginin değişmesine, kokuşmasına, deride iritasyon veya alerjik reaksiyonların oluşmasına neden olur. Ayrıca atmosferik oksijene maruz kalmadan kaynaklanabilir (Durak, 1998; Halla ve Ark. 2018).

Kozmetik ürünler üç şekilde kontamine olabilirler:

- Steril olmayan hammaddenin bileşen olarak uygulanması,
- Üretim sürecinde veya
- Kozmetik kullanımı sırasında.

Mikrobiyal kontaminasyon ve oluşumu kozmetik kaynaklı cilt kontaminasyonu, hala dünyadaki ürün geri çağırılmalarının başlıca nedenlerinden biridir (Dadashi ve Dehghanzadeh 2016). Kozmetik ürünlerin mikroorganizmalarla kontamine olabildikleri ilk kez 1946 yılında Yeni Zelanda'da, *Clostridium tetani* (Flügge 1886) D.H.Bergey, F.C.Harrison, R.S.Breed, B.W.Hammer, F.M.Huntoon (editors): Bergey's Man. Det. Bact., 1st ed., The Williams & Wilkins Co, Baltimore, 330 (1923) ile kontamine talk pudrasının kullanılması sonucu meydana gelen bebek ölümleri ile fark edilmiştir. 1969 yılında İsveç'te Prof. Kallings tarafından yapılan bir çalışmada ilk kez kozmetiklerin kontamine olabildikleri belirlenmiştir. 1970'li yıllardan itibaren *Pseudomonas aeruginosa* (Schröter 1872) W.Migula, System der Bakterien, Vol. 2. Gustav Fischer, Jena, 884 (1900)ve *Klebsiella* V.Trevisan, Atti della Accademia Fisica Medica Statistica in Milano (ser 4). 3: 105 (1885) türleri ile kontamine kozmetik ürünlerin kullanımına bağlı olarak gelişen nazokomiyal infeksiyonlar ve epidemilerin bildirilmesi ve konu üzerinde yapılan çalışmalar, kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik analizlerinin yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur (Tüysüz, 2010).

Materyal ve Metot

Bu çalışmada farklı kullanıcılardan temin edilen bazı kullanılmış kozmetik ürünlerde bulunan mikrofungal; Amerikan Farmakopesi (United States Pharmacopeia-USP) tarafından önerilen yöntemler ile mikroskopik ve morfolojik tanı yöntemleri kullanılarak cins düzeyinde tespit edilmiştir.



Kozmetik örnekleri

Çalışmada; farklı süre ve koşullarda kullanılmış kozmetik ürünler kullanıcılardan temin edilmiştir. Ürünler kullanım amaçlarına göre gruplandırılarak sayıları belirlenmiştir. Buna göre ruj, allık, rimel, göz farı, göz kalemi, pudra, göz makyaj temizleme ürünü ve roll-on olarak gruplandırılan her bir üründen 5'er adet olmak üzere toplam 40 adet ürün incelenmiştir. Çalışmada incelenen ürünlerin kullanım süreleri ve saklanma koşulları Tablo 1. de gösterilmiştir.

Besiyeri ve çözeltiler:

Patato Dextrose Agar (PDA) (Merck) özellikle Dematiaceous'ların teşhisinde kullanılan besiyeridir kontaminasyon testleri sırasında fungusların üremesi için kullanılmıştır. Kozmetik örneklerin dilüsyonu için, pH 7 Fosfat Tamponu kullanılmıştır. Cam tüplere 9'ar ml olarak dağıtılan fosfat tamponu içerisine çözünürlüğü arttırmak amaçlı 0,09 ml Tween 80 ilave edilerek otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Mikroskopta inceleme ortamı olarak Lakto Pamuk Mavis Çözeltisi kullanılmıştır.

Kozmetik ürünlerin hazırlanması

Kozmetik ürünler Amerikan Farmakopesi (United States Pharmacopeia-USP) tarafından önerilen yöntemlerine göre hazırlanmıştır. Steril ortamda her üründen 1 gr örnek alınmış ve daha önceden hazırlanan pH 7 fosfat tampon çözeltisi bulunan tüplere eklenerek dilüsyonu yapılmıştır. Dilüsyon sıvısından 0,1ml alınarak PDA besiyeri içeren plaklara aktarılmıştır. Steril cam baget yardımı yayma plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. Ters çevrilen plaklar 25°C'lik etüvde 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır (Tüysüz, 2010).

Kozmetik ürünlerde bulunan fungusların saflaştırılması ve tanımlanması

İnkübasyona bırakılan plaklar 7 günün sonunda kontrol edilmiştir. Saflaştırma için üremenin olduğu plaklarda her bir koloniden yatık PDA besiyerine pasaj alınarak 25°C'de 7 gün inkübe edilmiş ve daha sonra stok kültür olarak +4°C'de saklanmıştır.

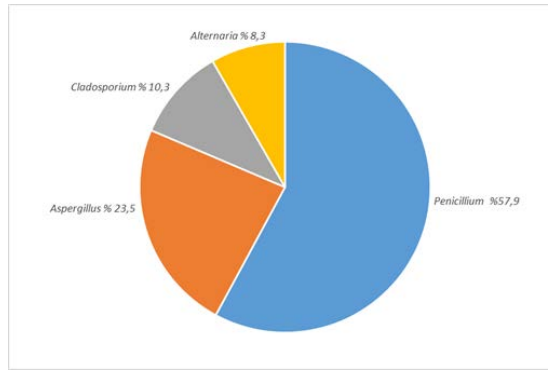
İnkübasyon süresinin sonunda mikrofungusların cins düzeyinde tespitinde makroskobik veri sağlaması için saflaştırılan örneklerden üç nokta ekimi yaparak cinslerin koloni görüntüleri elde edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda plaklardaki kolonilerin makroskobik olarak büyüklüğü (mm cinsinden), şekli, üstten ve alttan rengi, eksudasyon ve pigmentasyon olup olmadığı araştırılmıştır. Mikroskobik özellikleri ise Stereo mikroskop ile koloni tekstürü, konidial başlıkların tipi incelenmiştir. Işık mikroskobu ile konidiaforun uzunluğu, genişliği, çeper özelliği, fiyalitlerin uzunluğu ve genişliği, konidinin şekli, büyüklüğü, çeper özelliği tespit edilmiştir. Tüm bu özellikler değerlendirilmiş ve cins düzeyinde tanımlama yapılmıştır.

Fungus cinslerinin makroskobik ve mikroskobik tanımlanması PDA besiyerinde 25°C de 7 günlük inkübasyon sonucunda oluşan koloni morfolojileri, "Klich,

2002; Samson ve Ark., 2010; Pitt, 1979; Hasenekoğlu, 1991; Asan, 2004; Bensch, 2012; Samson ve Ark., 2002; Woundenberg, 2013; Kaynak Onurdağ, 2010; Özyaral ve Ark., 1994; Özyaral ve Johansson, 1994; Özyaral ve Ark., 1993; Özyaral ve Johansson, 1987" kitapları kullanılarak yapılmıştır. Türkçe fungus türleri için Sesli ve Ark. (2020) tarafından hazırlanan "Türkiye Mantarları Listesi" adlı kitap kullanılmıştır.

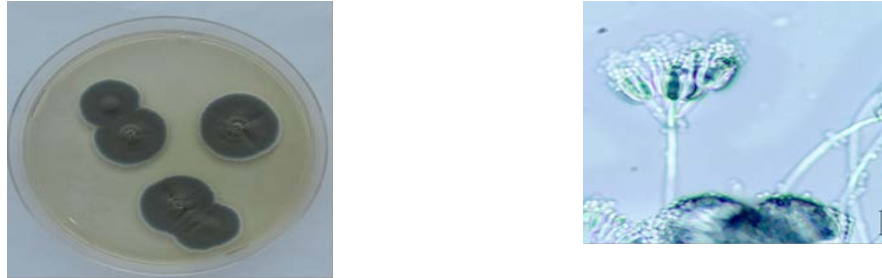
Bulgular

Bu çalışmada incelenen 40 adet kullanılmış kozmetik üründen 30 adedinde fungal kontaminasyon tespit edilmiştir. İnkübasyon sonucunda toplam 10 adet kullanılmış kozmetik üründe herhangi bir üreme görülmemiştir. Mikrofungus üremesi görülen kullanılmış kozmetik ürünlerdeki baskın cins % 57.9 *Penicillium* (Link, Mag. Gesell. Naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16 (1809) cinsidir. Diğer üreyen cinsler % 23.5 *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, Hist. stirp. Helv. 3: 113 (1768) %10.3 *Cladosporium* Link, Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 7: 37 (1816) % 8.3 *Alternaria* cinsleridir. İzole edilen cinslerin bulunma oranları Şekil 1'de gösterilmiştir. İnkübasyon sonucunda mikrofungus kontaminasyonu görülen kozmetik ürünlerden 16 adet üründe toplam 118 koloni *Penicillium*, 7 adet üründe toplam 48 koloni *Aspergillus*, 14 adet üründe toplam 21 koloni *Cladosporium* ve 3 adet üründe toplam 17 koloni *Alternaria* olmak üzere toplam 204 koloni tespit edilmiş olup tablo 2'de gösterilmiştir. Çalışmada incelenen kullanılmış kozmetik ürün gruplarından en fazla mikrofungus üremesi 76 koloni ile far grubunda; en az üreme ise 3 koloni ile allık grubunda gözlenmiştir. Üremesi tespit edilen cinsler ve ürün grupları tablo 3' de gösterilmiştir. Çalışmada incelenen 40 adet kozmetik üründen inkübasyon süresi sonunda üremeler incelendiğinde *Penicillium* üremesi, 4 adet far, 2 adet rimel, 3 adet ruj, 3 adet göz makyaj temizleme ürünü, 3 adet pudra ve 1 adet göz kalemi olmak üzere toplamda 16 adet üründe gözlenmiştir. *Penicillium* üremesinin en fazla olduğu ürün nemli ortamda 3 yıl beklemiş ruj numunesidir. *Aspergillus* üremesi, 4 adet far, 1 adet göz makyaj temizleme ürünü, 1 adet pudra ve 1 adet göz kalemi olmak üzere toplamda 7 adet üründe görülmüştür. *Aspergillus* üremesinin en fazla olduğu ürün nem oranının yüksek olduğu belirtilmiş evin banyosundan temin edilen 5 yıllık bir fardır. *Cladosporium* (Havaküfü) üremesi, 4 adet far, 1 adet göz makyaj temizleme ürünü, 1 adet pudra ve 1 adet göz kalemi olmak üzere toplamda 7 adet üründe tespit edilmiştir. *Cladosporium* üremesinin en fazla olduğu ürünler nemli olduğu belirtilen evden alınan 1 yıllık bir roll-on ve 3 yıllık bir ürün olan rimeldir. *Alternaria* üremesi ise sadece far, pudra ve göz makyaj temizleme ürün gruplarından birer adet üründe görülmüştür. *Alternaria* üremesinin en fazla olduğu ürün 5 yıllık bir ürün olan pudradır.



Şekil 1. İzole edilen cinslerin bulunma oranları.

Tanımlanan Bazı cinslerin makroskobik ve mikroskobik görüntüleri (Şekil 2-5).



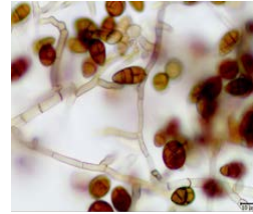
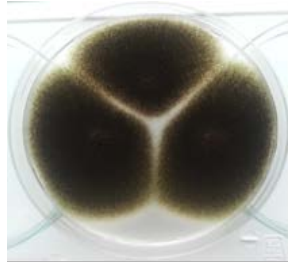
Şekil 2. Makroskobik PDA besiyerinde 7-14 günlük üreme görüntüleri *Penicillium sp.* (Solda makroskobik, 7-14 günlük koloni, sağda mikroskobik, x 400 büyütmede Lakto pamuk mavisi ile boyanmış).



Şekil 3. Makroskobik PDA besiyerinde 7-14 günlük üreme görüntüleri *Aspergillus sp.* (Solda makroskobik, 7-14 günlük koloni, sağda mikroskobik, x 400 büyütmede Lakto pamuk mavisi ile boyanmış).



Şekil 4. Makroskobik PDA besiyerinde 7-14 günlük üreme görüntüleri *Cladosporium sp.* (Solda makroskobik, 7-14 günlük koloni, sağda mikroskobik, x 400 büyütmede Lakto pamuk mavisi ile boyanmış).



Şekil 5. Makroskobik PDA besiyerinde 7-14 günlük üreme görüntüleri *Alternaria sp.* (Solda makroskobik, 7-14 günlük koloni, sağda mikroskobik, x 400 büyütmede Lakto pamuk mavisi ile boyanmış).

Tablo 1. Toplanılan ürünlerin kullanım süreleri ve saklanma koşulları.

Ürünler	1.ürün	2.ürün	3.ürün	4.ürün	5.ürün
Far	7 yıl oda	5 yıl oda	5 yıl oda	5 yıl nemli ev (oda)	5 yıl nemli ev (banyo)
Rimel	3 yıl oda	2 yıl nemli ev (oda)	3 yıl oda	3 yıl oda	3 yıl oda
Ruj	5 yıl oda	5 yıl oda	3 yıl oda	3 yıl nemli ev	2 yıl oda
Göz Makyaj Temizleme Ürünü	2,5 yıl nemli ev (banyo)	3 yıl oda	2 yıl banyo	5 yıl nemli ev	1 yıl oda
Allık	3 yıl nemli ev (oda)	3 yıl nemli ev (oda)	4 yıl oda	3 yıl oda	3 yıl oda
Pudra	2 yıl oda	3 yıl oda	5 yıl oda	5 yıl oda	5 yıl oda
Roll-on	1 yıl nemli ev (oda)	2 yıl oda	3 yıl oda	1 yıl oda	4 yıl oda
Göz Kalemi	1,5 yıl oda	3yıl	3 yıl oda	3 yıl oda	6 yıl oda

Tablo 2. Tespit edilen cinslerin koloni sayıları, bulunma yüzdeleri ve izole edildikleri toplam ürün sayıları

	Koloni Sayısı	% (CFU/g)	Ürün Sayısı
<i>Penicillium sp.</i>	118	57.9	16
<i>Aspergillus sp.</i>	48	23.5	7
<i>Cladosporium sp.</i>	21	10.3	14
<i>Alternaria sp.</i>	17	8.3	3



Tablo 3. Kozmetik Ürün Gruplarında Üreyen Cinsler ve Koloni Sayıları (CFU/g).

	Far	Rimel	Ruj	Göz Mak. Tem.Ürünü	Allık	Pudra	Roll-on	Göz Kalemi
<i>Penicillium sp.</i>	30	2	49	3	-	32	-	2
<i>Aspergillus sp</i>	44	-	-	1	-	2	-	1
<i>Cladosporium sp</i>	1	7	1	2	3	-	5	2
<i>Alternaria sp</i>	1	-	-	1	-	15	-	-
Toplam	76	9	50	7	3	49	5	5

Tartışma

Çalışmamızda örnekleme yapılan 40 adet kullanılmış kozmetik ürünlerdeki üreme sonuçlarını değerlendirdiğimizde izole edilen cinslerin sırası ile % 57.9 oranında *Penicillium*, % 23.5 oranında *Aspergillus*, % 10.3 oranında *Cladosporium* ve % 8.3 oranında *Alternaria* olduğu görülmüştür. Özyaral ve Ark.'nın 1993 yılında yapmış olduğu çalışmada incelenen 45 adet örnekte baskın küf florası, örneklerin % 46.7'sinde bulunma sıklığı ile birinci sırada *Penicillium rugulosum* Thom, Bull. U.S. Department of Agriculture 118: 60 (1910) (Dikenli süpürge) ikinci sırada % 42.2 ile *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tirab., Ann. Bot., Roma 7: 9 (1908) (Renkli asper) ve üçüncü sırada %35.6 ile Dematiaceous grubu olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da yine *Penicillium* ve *Aspergillus* ilk iki sırada yer almış olup bu çalışma ile benzerlik göstermektedir (Özyaral ve Ark., 1993).

Çalışmamızda izole edilen mantarların çoğu Kim ve arkadaşlarının 2020, çalışmasında izole ettikleri fungus türleri gibi patojenik değildir, ancak bu çalışma ile benzer olarak bizim çalışmamızda da tespit edilen *Aspergillus* türleri gibi göz, burun ve boğaz tahriş gibi semptomlara neden olabilir (Kim ve Ark., 2020). Ev, hastane ve dış ortam havasında bulunan mikroorganizma florasının incelendiği farklı çalışmalarda iç-dış ortam havasında en sık izole edilen mikrofungus cinsleri *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* olarak tespit edilmiştir (Şen ve Asan, 2009; Ökten ve Ark., 2007, Yoltaş ve Ark., 2010; Aydoğdu ve Ark., 2005; Ökten ve Asan, 2012). Belirtilen çalışmalarda tespit edilen cinslerin bizim çalışmamızda da ilk sırada yer alması bu çalışmalarda belirtilen nem faktörünün bizim çalışmamızda da *Penicillium* üremesinin en fazla olduğu ürün, dördüncü ruj örneğinin nemli bir evden ve üç yıllık bir üründen elde edilmesini açıklayabilir. Aynı gerekçenin *Aspergillus* üremesinin en fazla olduğu nemli olduğu belirtilen bir evin banyosunda saklanan beş yıllık bir far örneğinden elde edilmesinin tesadüfi bir sonuç olmadığına göstergesi olabilir.

Naki ve Ark. (2006), Türkiye piyasasında mevcut bazı kozmetiklerin gama radyasyonla dekontaminasyonu isimli çalışmada pudra içeriğini oluşturan talk, diğer absorban özelliği olan tozlar gibi çevresel kontaminantları ve mikroorganizmaları tutabildiğini, pudra formundaki ürünlerin bozulmalarının en fazla nemli koşullarda oluşan gözle görülür küf üremesi ile bağlantılı olduğunu ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da incelenen kullanılmış kozmetik ürün gruplarından en fazla fungal üreme, birinci sırada 76 koloni ile far grubunda, ikinci sırada 50 koloni ile ruj grubunda ve üçüncü sırada 49 koloni ile pudra grubunda gözlenmesi özellikle pudra grubu kozmetiklerin absorban özellikleri ile ilişkilendirilebilir. Yine Dadashi & Dehghanzadeh 2016'da yaptıkları çalışmada fungal izolatlardan *Penicillium*'u sadece pudradan izole etmişlerdir. Aynı çalışma grubu, genellikle koruyucu içeren dudak boyalarının bazılarında küf loststalığı olan keratomikoziz'e neden olması bu cinsin rimel örneğinden izole edilmesinin önemini bir kat daha arttırmıştır (Zbang ve Ark., 2012; Chew ve Ark., 2009; Thomas ve Kaliamurthy, 2013, Cheng ve Ark 2015).

Geleneksel kozmetik ürünlerinde bulunan; karbonhidratlar, şeker alkoller, yağ asitleri, proteinler, aminoasitler, glikozidler, yağ alkoller, steroidler, peptitler, vitaminler ve bitkisel hammaddeler mikroorganizmalar için besin teşkil ederler ve aynı zamanda mikroorganizmaların çoğalmasını desteklemede potansiyel oluştururlar (Naki ve Ark., 2006). Bunu engellemek için birçok koruyucu madde kullanılmaktadır. Kozmetik ürün serisi içindeki koruyucular, mikroorganizmaların yok edilmesi süresince azalır. Sonunda üründeki koruyucu tamamen tükenir ve ürün kontamine olabilir. Koruyucuların etkinliğinin azalması, mikroorganizmaların direncini artırır ve ömrünü uzatır. Pek çok organik koruyucu bakteri ve mantarlar tarafından metabolize edilir ve mikroorganizmalara büyüme substratı olarak davranır. Ürünü kontamine eden pek çok saprofit mikroorganizma, koruyucunun etkisiz olduğu durumlarda, ürün içinde bulunan eser elementleri kullanarak ürer (Abbasoğlu ve Çevikbaş, 2011).



Çalışmamızda son kullanma tarihleri belli olmayan ve uzun süre kullanılan kozmetik ürünlerde mikrofungus üreme oranlarının yüksek çıkması belirtilen nedenlerle bağlantılı olabileceğini göstermektedir.

Kozmetik ürünlerinin kullanımı kişileri mutlu etse de bu ürünlerin yönetmeliklere uygun koşullarda üretilmediği veya doğru kullanılmadığı durumlarda sağlık açısından riskli olabileceği unutulmamalıdır. Kozmetik ürünlerin içinde bulunan koruyucuların etkinliğinin zamanla azaldığı bilinmektedir. Bu nedenlere bağlı olarak bir kozmetik ürününü tercih ederken ve kullanırken,

i)Kozmetik ürünün içeriği,

ii)Kozmetik ürünün son kullanma tarihi,

iii)Kozmetik ürünün içeriğinde özellikle koruyucu madde miktarı,

iv)Kozmetik ürünün saklama koşulları göz önünde bulundurulmalıdır.

Ülkemizde yapılan kozmetik çalışmalarında kozmetiklerin mikrobiyal kontaminasyon ve koruyucu madde aktivitesi yönünden araştırılmış çalışmalar mevcuttur (Kaynak Onurdağ ve Ark., 2010). Çalışmamızda, kullanılmış kozmetik ürünlerde bulunan mikrofungusları belirlemeye yönelik incelemeler yapılmıştır, ancak bu tür çalışmalarda mikroorganizma izole edilirken FDA, USP raporlarında ve ülkemizde Kozmetik Yönetmelikleri'nde belirtildiği üzere eş zamanlı olarak incelenen kozmetik ürünlerin içeriğindeki koruyucu madde miktarlarının ve mikrofunguslara etkinliklerinin araştırılması önerilmektedir.

Kaynaklar

- Abbasoğlu, U. ve Çevikbaş, A. (2011). *Farmasötik Mikrobiyoloji*. Elif Yayınevi.
- Anonim (2005). T.C. Sağlık Bakanlığı. Kozmetik Yönetmeliği. Resmi Gazete, Sayı 25823, 23 Mayıs 2005.
- Asan, A. (2004). *Aspergillus, Penicillium* and related species reported from Turkey. *Mycotaxon*. 89 (1): 155-157, 2004.
- Asan, A., Şen, B. and Sarıca, S. (2002). Airborne fungi in urban air of Edirne City (Turkey). *Biologia*. 57 (1): 59-68.
- Aydogdu, H. and Asan, A. (2008). Airborne fungi in the child day-care centers in Edirne City, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*. 147 (1-3): 423-444.
- Aydogdu, H., Asan, A., Tatman Otkun, M. and Türe, M. (2005). Monitoring of microorganisms in the indoor air of primary schools in Edirne City, Turkey. *Indoor Built Environment*. 14 (5): 411-425.
- Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J.Z. and Crous, P.W. (2012). The genus *Cladosporium*. *Studies In Mycol*. 72: 1-401.
- Cheng, S.C.H., Lin, Y.Y., Kuo, C.N. and Lai, L.J. (2015). *Cladosporium keratitis* - A case report and literature review. *BMC Ophthalmol*. 15: 106.
- Chew, F.L., Subrayan, V., Chang, P.P., Goh, M.C. and Kee Peng, N.G. (2009). *Cladosporium cladosporioides* keratomycosis: A case report. *Japan J. Ophthalmol*. 53: 648-668.
- Dadashi, L. and Dehghanzadeh, R. (2016). Investigating incidence of bacterial and fungal contamination in shared cosmetic kits available in the women beauty salons. *Health Promot. Perspect*. 6(3):159-163.
- Durak, Y. (1998). Dudak boyalarının mikrobiyal kontaminasyon ve biyostatik etkinlik yönünden incelenmesi. *Kükem Derg*. 21 (3): 25-32.
- Halla, N., Fernandes, I.P., Heleno, S.A., Costa, P., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Rodrigues, A.E., Ferreira, I.C.F.R. and Barreiro, M.F. (2018). Cosmetics preservation: A review on present strategies, *Molecules*. 23: 1571.
- Hasenekoğlu, İ. (1991). *Toprak Mikrofungusları*. Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 689 Erzurum.
- Kaynak Onurdağ, F., Özgen, S. and Abbasoğlu, D. (2010). Microbiological investigation of used cosmetic samples. *Hacettepe Univ. J. Fac. Pharm*. 30 (1): 1-16.
- Kim, H.W., Seok, Y.S., Cho, T.J. and Rhee, M.S. (2020). Risk factors influencing contamination of customized cosmetics made on-the-spot: Evidence from the national pilot project for public health. *Sci. Rep*. 10: 1561.
- Klich, M.A. (2002). *Identification of common Aspergillus species*. 122 pp. Published by The Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands.
- Naki, N., Yekta, A., Özalp, M., Atakan, N. and Polat M. (2006). Decontamination of cosmetic products and raw materials by gamma irradiation. *FABAD J. Pharm. Sci*. 31: 198-209.
- Ökten, S. and Asan, A. (2012). Airborne fungi and bacteria in indoor and outdoor environment of the Pediatric Unit of Edirne Government Hospital. *Environmental Monitoring and Assessment*. 184 (3): 1739-1751.
- Ökten, S.S., Asan, A., Sabuncuoğlu, Y. and Yavuz, E. (2007). Airborne fungal concentrations of morning and evening in east patch of Edirne city using two sampling methods. *Trakya Univ. J. Sci*. 8(1): 15-20.
- Özyaral, O. ve Johansson C.B. (1987). Ambalajları açılmış ve evlerde kullanılmış tablet örneklerinde küf kontaminasyonunun incelenmesi (Investigation of mould contamination on tablet samples in opened packages). *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg*. 17 (3-4): 172-179.
- Özyaral, O. and Johansson, C.B. (1994). Evaluation of the quality of packaging materials of stored surgical strings. *İst. Ecz. Fak. Mec*. (30): 11-18.
- Özyaral, O., Çevikbaş, A. and Ergin, E. (1993). Microbial investigation in non-sterile pharmaceutical and cosmetic products I. The detection of mycotic contamination in eye cosmetics. *J. Pharm. Univ. Marmara*. 9 (1): 141-155.



- Özyaral, O., Johansson, C.B. ve Çevikbas, A. (1993). Bebek pudralarında alerjik küf mantarı kontaminasyonunun incelenmesi (The investigation of allergic mould contaminants on baby powders). *Marmara Üniv. Ecz. Derg.* 9 (1): 59-66.
- Özyaral, O., Tarkan, O., Çevikbaş, A. ve Johansson, C.B. (1994). Farmasotik onemi olan bazı droglarda mikolojik analizler. *Mikrobiyoloji Bült.* 28 (4): 359-365.
- Pitt, J.I. (1979). *The Genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*. 634 pp. Academic Pres. Inc. London.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. and Filtenborg, O. (2002). *Introduction to food- and airborne fungi*. 389 pp., Centraalbureau voor Schimmelcultures-Utrecht.
- Samson, R.A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C. and Andersen, B. (2010). *Food and Indoor Fungi*. 390 pp. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre Utrecht, The Netherlands.
- Sesli, E., Asan, A. ve Selçuk, F. (edlr.); Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu. Ve Yoltaş, A. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi (The Checklist of the Fungi of Turkey)*. XVII + 1177 Sayfa (XVII + 1177 pp). Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul.
- Şen, B. and Asan, A. (2009). Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag City (Turkey): Seasonal distribution and relationship with climatic factors. *Environmental Monitoring and Assessment*. 151: 209-219.
- Thomas, P.A. and Kaliamurthy, J. (2013). Mycotic keratitis: Epidemiology, diagnosis and management. *Clin. Microbiol. Inf.* 19(3): 210-220.
- Tüysüz, M. (2010). Piyasada bulunan bazı kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içeriğinin ve koruyucu etkinliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniv. Sağ. Bil. Enst. İstanbul.
- Woundenberg, J.H.C., Groenewald, J.Z., Binder, B. and Crous, P.W. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies In Mycol.* 75: 171-212.
- Yavaşal, Çarıkçı, A.İ., Uçar F. ve Yalçın H.T. (2008). Kozmetik ürünlerde bakteriyel ve fungal kompozisyonun klasik yöntemler ve PCR yöntemi kullanılarak saptanması. *Elektronik Mikrobiyol. Derg.* TR. 6: 1-16.
- Yoltaş A., Yücelmiş U., Çiftçi H.M., Utlı S. ve Haliki Uztan, A. (2010). Alerji problemi yaşanan evlerde hava kökenli potansiyel alerjen mikrofungus florası ve dağılımının incelenmesi. *Biyoloji Bil. Araşt. Derg.* 3 (1): 7-17.
- Zbang, X., Sun, X., Wan, Z., Zbang, Y. and Hou, W. (2012). Keratitis-associated fungi form biofilms with reduced antifungal drug susceptibility. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53(12): 7774-7778.



Geliş(Received) :30.06.2021

Kabul(Accepted) :04.10.2021

Research Article

Doi: 10.30708.mantar959869

Scutellinia kerguelensis, A New Ascomycete Record for Turkey

Yasin UZUN^{1*}, Abdullah KAYA²

*Sorumlu yazar: yuclathrus@gmail.com

¹Karamanoğlu Mehmetbey University, Ermenek Uysal & Hasan Kalan Health Services Vocational School, Department of Pharmacy Services, 70400, Karaman, Turkey²Gazi University, Science Faculty, Department of Biology, 06560 Ankara, Turkey¹Orcid ID:0000-0002-6423-6085 / yuclathrus@gmail.com²Orcid ID: 0000-0002-4654-1406 / kayaabd@hotmail.com

Abstract: *Scutellinia kerguelensis* (Berk.) Kuntze, is reported as a new record from Turkey, based on the samples collected from Trabzon province. A brief description and photographs, related to the macroscopy and microscopy of the species, are provided.

Key words: Biodiversity, new record, *Pyronemataceae*, Turkey

Scutellinia kerguelensis, Türkiye İçin Yeni Bir Askomiset Kaydı

Öz: *Scutellinia kerguelensis* (Berk.) Kuntze, Trabzon'dan toplanan örneklerin teşhis edilmesiyle, Türkiye'den yeni kayıt olarak rapor edilmiştir. Türün kısa bir betimlemesi ile makroskopi ve mikroskobisine ilişkin fotoğrafları verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyoçeşitlilik, yeni kayıt, *Pyronemataceae*, Türkiye

Introduction

Scutellinia (Cooke) Lambotte is an operculate discomycete genus within the family *Pyronemataceae* (*Pezizales*). It is a cosmopolitan genus and contains the group of fungi characterized by a shield-like or dish-like bright red, orange-red, reddish-brown or brownish apothecial ascomata, globose to subglobose or ellipsoid to fusiform ascospores generally with evident wall ornamentation, and stiff, brown or bluish-brown hairs that arises from ectal excipulum (Breitenbach and Kränzlin, 1981; Yao and Spooner, 1996; Hansen and Knudsen, 2000; Cantrell and Hanlin, 2010; Han et al., 2010; Choi et al., 2013). Members of the genus are generally known as saprobic on wood and humus (Han et al., 2010).

Kirk et al. (2008) gives the known *Scutellinia* members as 66, but Index Fungorum (2021) list 123 conformed species name. Seven of them, *S. armatospora* Denison, *S. barlae* (Boud.) Maire, *S. crinita* (Bull.) Lambotte, *S. legaliae* Lohmeyer & Häffner, *S. scutellata* (L.) Lambotte, *S. trechispora* (Berk. & Broome) Lambotte and *S. umbrorum* (Fr.) Lambotte, known from Turkey (Pekşen and Karaca, 2003; Allı et al., 2011; Çolak and Kaygusuz, 2018; Keleş, 2019).

But the latest check-list on Turkish Fungi (Sesli et al., 2020; Uzun and Kaya, 2020) indicate that *Scutellinia kerguelensis* (Berk.) Kuntze. has not been reported from Turkey.

The study aims to make a contribution to the macrofungal biodiversity of the Trabzon and Turkey.

Material and method

Scutellinia samples were collected from Tonya district of Trabzon province, in 2014, during a routine field study. Fruit bodies were photographed at their natural habitat, and ecological characteristics and geographic position were noted. Then they were transferred to the fungarium in a paper box. The samples were dried in an air conditioned room and prepared as fungarium material. Microscopic investigations were carried out under a Nikon Eclipse Ci-S trinocular light microscope. Photographs related micromorphology were obtained with the aid of a DS-Fi2 digital camera. The sample was identified with the help of Breitenbach and Kränzlin (1984), Huhtinen (1984), Palacios et al. (1991), Yao and Spooner (1996), Hansen and Knudsen (2000), Medardi (2006), Zhuang (2005), Cantrell and Hanlin (2010), Thompson (2013), Jeannerot (2019).



The specimen is kept at Gazi University, Science Faculty, Department of Biology.

Results

Ascomycota Caval.-Sm.

Pezizomycetes O.E. Erikss. & Winka

Pezizales J. Schröt.

Pyronemataceae Corda

Scutellinia kerguelensis (Berk.) Kuntze

Syn: [*Lachnea kerguelensis* (Berk.) Sacc., *Peziza kerguelensis* Berk., *Scutellinia kerguelensis* var. *microspora* W.Y. Zhuang]

Macroscopic and microscopic features:

Apothecia 4-8 mm in diameter, cupuliform when young, discoid to flattened or somewhat wavy, sessile, hymenial surface orange to orange-red, outer surface covered with

dark brown bristle-like hairs which are also concentrated at the margin (Figure 1). Hairs 200-320 × 15-30 μm, brown, thick walled, slightly ventricose, generally pointed at the apex, septate (Figure 2a,b), rarely forked at the base. Asci 220-280 × 18-23 μm, cylindrical, 8-spored (Figure 2c,d). Paraphyses cylindrical to filiform, clavately thickened at the apex up to 7.5-9.5 μm (Figure 2c,d). Ascospores 19.5-25.5 × 13-17.2 μm, elliptical to broadly ellipsoid, hyaline, finely verrucose, multiguttulate or with 2 (rarely 1) obvious guttules (Figure 2e-g).

Scutellinia kerguelensis was reported to grow on damp soil and wet wood singly or gregariously (Breitenbach and Kränzlin, 1984; Medardi, 2006; Thompson, 2013).



Figure 1. Ascocarps of *Scutellinia kerguelensis*

Specimen examined: Trabzon, Tonya, Çayırıcı village, on damp soil and wet wood, under mixed forest, 40°51'N, 39°17'E, 890 m, 07.09.2014, Yuzun 1613.

Discussion

Scutellinia kerguelensis is reported for the first time for Turkish mycobiota as the 8th member of the genus *Scutellinia* in Turkey (Pekşen and Karaca, 2003; Allı et al., 2011; Çolak and Kaygusuz, 2018; Keleş, 2019; Sesli et al., 2020). Macroscopic and microscopic characteristics

of the investigated samples are generally in agreement with those presented in literature (Breitenbach and Kränzlin, 1984; Huhtinen, 1984; Palacios et al., 1991; Yao and Spooner, 1996; Hansen and Knudsen, 2000; Medardi, 2006; Zhuang, 2005). Among the previously reported *Scutellinia* taxa, *S. armatospora*, *S. barlae*, *S. legaliae* and *S. trechispora* have globose ascospores while *S. crinita*, *S. scutellata* and *S. umbrorum* have ellipsoidal ascospores, like *S. kerguelensis*. *Scutellinia crinita* (880-1550 μm) and *S. scutellata* (1500-2000 μm)



have very long marginal hairs. *Scutellinia umbrorum* also have longer marginal hairs of up to 400 μm , but also have coarser warts as ascospore ornamentation. Comparatively shorter marginal hairs and rather fine (up to 0.5 μm) spore ornamentation of *S. kerguelensis* differ this species from the other Turkish *Scutellinia* with ellipsoidal spores.

Regarding the micro verrucose spore wall ornamentation, *S. kerguelensis* is somewhat similar to *S. ahmadiopsis* W.Y. Zhuang. But the longer marginal hairs and the larger ascospores of *S. kerguelensis* easily

differentiates it from *S. ahmadiopsis* (Choi et al., 2013; Zhuang, 2005). *Scutellinia jejuensis* J.G. Han, Y.J. Choi & H.D. Shin also possess broadly ellipsoidal to subglobose ascospores. But the aculeolate-reticulate to truncate-conical warts with ridged appearance, and comparably smaller spores differs it from *S. kerguelensis* (Han et al., 2010).

Though Huhtinen (1984) reports one third of the hairs of *S. kerguelensis* as forked at the base, we observed the forked hairs were very rarely.

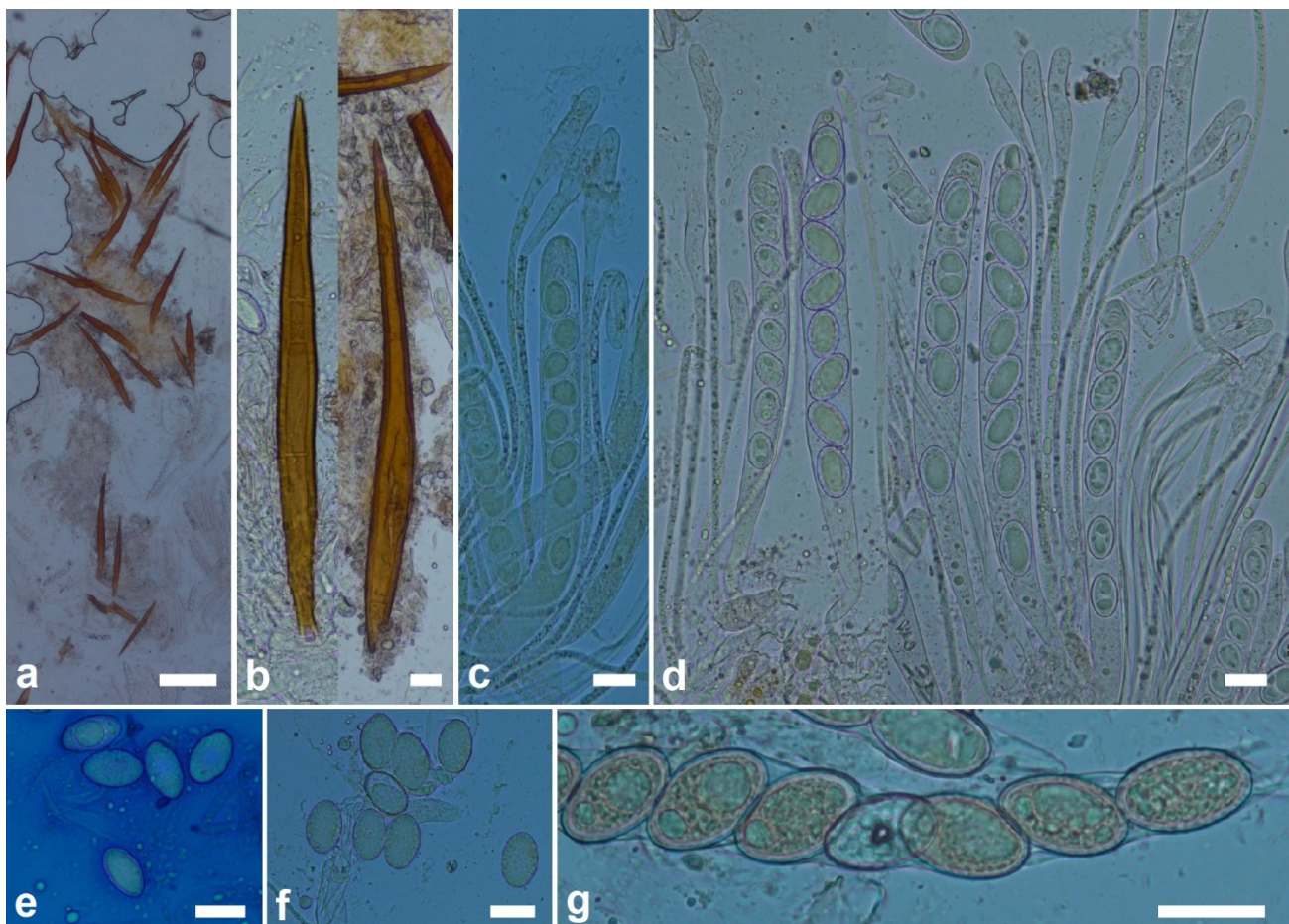


Figure 2. Marginal hairs (a,b), asci and paraphyses (c,d) and ascospores (e-g) of *Scutellinia kerguelensis*. (bars- a: 200 μm , b-g: 20 μm) (a,b,c,d,f,g in water, e in Lactophenol Blue Solution)

References

- Allı, H., Işıloğlu, M. and Solak, M.H. (2011). New ascomycete records for the macrofungi of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 35(3): 315-318.
- Breitenbach, J. and Kränzlin, F. (1984). *Fungi of Switzerland Volume 1*. Lucerne, Switzerland: Verlag Mykologia.
- Cantrell, S.A. and Hanlin, R.T. (2010). Color variation in two neotropical species of *Scutellinia*. *Caribbean Journal of Science*, 46(1): 96-101.
- Choi, Y.J., Shin, H.D., Han, J.G. and Pfister, D.H. (2013). *Scutellinia* (Pezizales) in Korea, with a new species and eight new records. *Nova Hedwigia*, 97(3-4): 457-476.



- Çolak, Ö.F. and Kaygusuz, O. (2018). First record of *Scutellinia legaliae* (Ascomycota, Pyronemataceae) from relict endemic *Liquidambar orientalis* forest in Turkey. *Czech Mycology*, 70(1): 57-65.
- Han, J.G., Choi, Y.J., Pfister, D.H. and Shin, H.D. (2010). *Scutellinia jejuensis* (Pezizales), a new species from Korea. *Mycotaxon*, 112: 47-53.
- Hansen, L. and Knudsen, H. (2000). *Nordic Marcomycetes Volume 1 Ascomycetes*. Copenhagen: Nordsvamp.
- Huhtinen, S. (1984). Additions to the ascomycetous flora of the Canadian North. *Karstenia*, 24: 1-11.
- Index Fungorum (2021).: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. Accessed 22 June 2021.
- Jeannerot, B. (2019). European key to genus *Scutellinia*. *Ascomycete.org*, 11(6): 297-308.
- Keleş, A. (2019). New records of *Hymenoscyphus*, *Parascutellinia*, and *Scutellinia* for Turkey. *Mycotaxon*, 134(1): 169-175.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. and Stalpers, J.A. (2008). *Dictionary of the Fungi*, 10th ed. CAB International, Wallingford.
- Medardi, G. (2006). *Atlante Fotografico degli Ascomiceti d'Italia*. Vicenza, Italy: Centro Studi Micologici.
- Palacios, D., Laskibar, X. and Albizu, J.L. (1991). *Plectania rhytidia* (Berk.) Nannf. & Korf, platensis shape (Speg.) and *Scutellinia kerguelensis* (Berk.) Kuntze, two new quotations of *Ascomycetes* for the Iberian Mycological Catalogue. *Munibe (Ciencias Naturales-Natur Zientziak)*, 43: 109-114.
- Pekşen, A. and Karaca, G.H. (2003). Macrofungi of Samsun Province. *Turkish Journal of Botany*, 27(3): 173-184.
- Sesli, E., Asan, A., Selçuk, F. (eds), Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., and Yoltaş, A. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi*. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul.
- Thompson, P. (2013). *Ascomycetes in color found and photographed in Mainland Britain*. UK: Xlibris Corporation
- Uzun, Y. and Kaya, A. (2020). The checklist of the macromycetes determined in Gaziantep province. *Anatolian Journal of Botany*, 4(2): 106-115.
- Yao, Y.J. and Spooner, B.M. (1996). Notes on British species of *Scutellinia*. *Mycological Research*, 100(7): 859-865.
- Zhuang, W.Y. (2005). Re-disposition of specimens filed under *Lachnea* in HMAS. *Fungal Diversity*, 18: 211-224.



Geliş(Received)
Kabul(Accepted)

RetractedArticle
Doi:10.30708.mantar.

RETRACTED: Investigation of Bacterial and Fungal Load of Five Printing House in Kahramanmaraş City

Ufuk YILMAZ^{1*}, Ferudun KOÇER²
Ahmet TUTUŞ³, Sinan SÖNMEZ⁴

*Sorumlu yazar:kufu27@hotmail.com

¹Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Forest Industry Engineering
Orcid ID: 0000-0001-8240-1294/kufu27@hotmail.com

²Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Bioengineering Sciences
Orcid ID: 0000-0002-8749-7106/kocerferudun@gmail.com

³Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Forest Industry Engineering
Orcid ID: 0000-0003-2922-4916/atutus@ksu.edu.tr

⁴Marmara University - School of Applied Sciences / Department of Printing Technologies
Orcid ID: 0000-0003-3126-9590/ssonmez78@gmail.com

Abstract: It has been determined that the article titled "Investigation of Bacterial and Fungal Load of Five Printing House in Kahramanmaraş City" published in our journal on Year 2021, Vol 12, Issue:1, page10-14, 30.04.2021 was previously published in different media. This situation caused a violation of the rules stated on the page of our journal (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/mantar/policy>). Therefore, this article has been retracted by the decision of the Board of Directors of the Selçuk University Mushroom Application and Research Center.

Keywords:

GERİ ÇEKİLEN: Kahramanmaraş'taki Beş Matbaanın Bakteri ve Mantar Yükünün İncelenmesi

Öz: Dergimizde Yıl 2021, Cilt 12, Sayı 1, sayfa 10-14, 30.04.2021 tarihinde basılan "Investigation of Bacterial and Fungal Load of Five Printing House in Kahramanmaraş City" isimli makalenin daha önceden farklı ortamlarda yayımlandığı tespit edilmiştir. Bu durum dergimiz sayfasında belirtilen kuralların (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/mantar/policy>) ihlaline neden olmuştur. Bu nedenle, bu makale S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Yönetim Kurulu Kararı ile geri çekilmiştir.

Anahtar kelimeler:



Geliş(Received) :19.06.2020
Kabul(Accepted) :21.11.2020

ResearchArticle
Doi:10.30708.mantar.754723

Investigation of Bacterial and Fungal Load of Five Printing House in Kahramanmaraş City

Ufuk YILMAZ^{1*}, Ferudun KOÇER²
Ahmet TUTUŞ³, Sinan SÖNMEZ⁴

*Sorumlu yazar:kufu27@hotmail.com

¹Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Forest Industry Engineering
Orcid ID: 0000-0001-8240-1294/kufu27@hotmail.com

²Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Bioengineering Science
Orcid ID: 000-0002-8749-7106/kocerferudun@gmail.com

³Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Forest Industry Engineering
Orcid ID: 0000-0003-2922-4916/atutus@gmail.com

⁴Marmara University - School of Applied Sciences / Department of Nanotechnology
Orcid ID: 0000-0003-3126-9590/ssonmez78@gmail.com

Abstract: Employee health is one of the most important issues in the printing sector as well as in all sectors. In addition to the chemical substances used in printing, some of the pathogenic bacteria and fungi that are formed in the environment may threaten the working health if factors such as the printing materials used, humidity, temperature in the environment can not be controlled. In our study, it was aimed to determine the bacterial and fungal load in the internal environment of the printing houses operating in different regions in Kahramanmaraş Province. In the scope of the study, petri plate method was used for indoor sampling. Rose Bengal Streptomycin Agar (RSBA) was used for bacterial sampling, incubation was performed at 27°C for 7 days. After incubation, morphological characteristics of fungal colonies were examined and pure cultures were transferred to selective media. Fungus colonies were identified as genus and species level with morphological characteristics. According to the results of the study, it was determined that the printing houses were exposed to indoor pathogens intensely. The most fungi are *Penicillium* and *Aspergillus* species, were found to be followed by *Cladosporium* and *Alternaria* species. Among these species, species known as allergy sources have been identified. In such environments, it is necessary to take preventive measures for these microorganisms.

Keywords: Printing house, fungus, bacteria, allergy

Kahramanmaraş'taki Beş Matbaanın Bakteri ve Mantar Yükünün İncelenmesi

Çalışma, sağlık tüm sektörlerde olduğu gibi matbaacılık sektöründe de en önemli konulardan biridir. Matbaacılıkta kullanılan kimyasal maddelerin yanı sıra kullanılan baskı altı malzemelerindeki nem, sıcaklık gibi etkenlerin kontrol altında tutulmaması durumunda ortamda bulunan bazı patojen bakteriler ve mantarlar çalışan sağlığını tehdit edebilir. Bu çalışmada Kahramanmaraş ilinde bulunan farklı mahallelerde faaliyet gösteren matbaaların iç ortamında bakteri ve mantar yükünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında iç ortamdan petri plak yöntemi ile örnekleme yapılmıştır. Örnekleme için Rose Bengal Streptomisin Agar (RSBA) kullanılmıştır. Örnekleme sonrası laboratuvarında 7 gün süre ile bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası fungal koloniler morfolojik özellikleri incelenerek seçici besiyerlerine saf kültürleri elde edilmiştir. Fungus kolonileri morfolojik kriterler doğrultusunda cins ve tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre matbaalarda birçok fungus türüne maruziyet olduğu belirlenmiştir. Bu fungus türlerinin başında *Penicillium* ve *Aspergillus* türlerinin yer aldığı, bunları *Cladosporium* ve *Alternaria* türlerinin takip ettiği belirlenmiştir. Bu türler içerisinde alerji kaynağı olarak bilinen türler tespit edilmiştir. Bu gibi ortamlarda bu mikroorganizmaları önleyici tedbirler alınması gerekliliği ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Matbaa, mantar, bakteri, alerji



Introduction

With the developing industrialization in the world, the number of diseases caused by industrial working environments has increased. For this reason, studies are carried out to determine occupational diseases originating from the working environment. With the development of technology, the printing industry has become connected with almost all sectors (Yavuz, 2016). According to social security Institution statistics, Turkey in the printing industry in 2012 395 cases of occupational diseases were observed. 395 occupational disease cases were seen in the printing sector in 2012. 173 employees have become permanently incapacitated as a result of occupational disease. The causes of these diseases are the pathogen and allergen bacteria and fungi that are constantly growing in the printing house as well as the hazardous chemicals used in the facility environment. There are many studies examining the bacterial and fungal concentrations for the determination of indoor air quality (Adams et al 2014; Jafari et al, 2015; Adams et al,2015; Hanson et al, 2016; Nevalainen et al, 2015; Güneş Et al, 2016; Weigl et al, 2016; Ogbu et al, 2016; Benammar et al, 2017; Pokhum et al, 2018). Bacterial infections and fungal allergens constitute a significant expense in developed countries' health expenditures.

The purpose of this study determine the bacterial and fungal load in different printing houses. Determination of indoor air fungal and bacterial load is important in determining the microorganisms that cause the spread of disease and taking necessary precautions.

Material and method

Sampling was made during the working hours of the staff in 5 different printing houses operating intensively in Kahramanmaraş center.

Preparation of media: Rose-bengal-Streptomycin Agar (RBA) was used as first medium for the isolation and diagnosis of bacteria (Gökalp et al, 2011a). The isolates obtained after incubation were inoculated into flat agar tubes for determination on special media (Malt Extract Agar, Czapek Dox Agar) for diagnosis (Biyik et al. 2005). Gram stain (GSA) was used to determine bacterial load.

Sampling from the station: In the samples, Gravity based Petri Plate Method was used. Simultaneously at all stations, it is taken from a height of 1.5 meters above the ground. Five (5) petri plates containing the appropriate medium were provided to contact with air by leaving the lid open for 15 minutes. The closed plates were wrapped with stretch film and brought to the laboratory for incubation. Incubation was performed

for 48 hours at 37 °C for growth of bacteria and 7-10 days at 27 °C for growth of fungi (Sarıca et al, 2002).

Identification: The total number of microfungi was determined according to the macroscopic appearance obtained at the end of incubation. The following sources were used for identification of microfungi (Ogulu (1991), Samson and Pitt (2000), Çarpanal and Jönsson (2013) and Walsh et al. (2018). Based on these sources, identification of genus and species level was performed under light microscope and microscopic and macroscopic structures.

Results

The number of bacteria in indoor air of the printing houses at the general and species level of microfungi identification were made. The following Table 1 shows the percentage of bacteria and microfungi.

Table 1. Percentage of bacteria and microfungi determined in the study

Station	Bacteria (%)	Microfungi (%)
1	35,90	7,14
2	14,53	39,29
3	5,98	0,00
4	39,32	53,57
5	4,27	0,00

When Table 1 was examined, it was seen that the highest bacterial load was in station number 4 and the least bacterial load was in station number 5. At the same time, microfungi were not found in stations 3. and 5. while fungal diversity was determined to be the highest in station 4. When the table was examined, it was determined that the bacteria rate was the highest (39.32%) and the microfungus percentage was the highest (53.57%) in the 4th station. It was determined that the stations with the lowest bacterial density are stations 3 and 5. The majority of bacteria and microfungus organisms were found to be in the paper stack area in the printing house. It should be noted that the higher the bacterial flora in the indoor air of the studied facility, the higher the number of microfungi. Therefore, ventilation systems should be developed and widespread use in working environments.

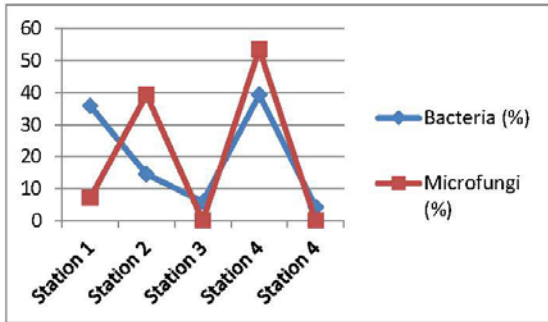


Figure 1. Graphical representation of bacteria and fungi

Table 2 below shows the microfungus species identified in the study.

Table 2. Microfungus species identified in the study

Mikrofungi genus and species	
Aspergillus P. Micheli ex Haller	Samson and Pitt, (2000)
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	(2000)
<i>Aspergillus flavus</i> Link	Campbell and Johnson, (2013)
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	(2013)
Alternaria Nees	
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	Hasenekoğlu, (1991)
<i>Alternaria brassicicola</i> (Schwein.) Wiltshire	(1991)
Penicillium Link	
<i>Penicillium</i> sp.	
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	Samson and Pitt, (2000)
<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx	Pitt, (2000)
<i>Penicillium commune</i> Link	
<i>Penicillium thomii</i> Maire	
Mucor Fresen.	
<i>Mucor hiemalis</i> Wehm.	Hasenekoğlu, (1991)
Cladosporium Link	
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) A. de V.	Hasenekoğlu, (1991)
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk.	
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk. Curtis	

In our country, many studies have been conducted to determine the indoor air fungal and bacterial load (Imali et al, 2011a; Sarıca et al, 2002; Aydogdu et al, 2005;). The determination of indoor air fungal and bacterial concentration is important for the prevention of parameters affecting human health in different working environments. Demirel et al. (2017) reported that *Aspergillus* fungus is a thermotolerant and may be a pathogenic agent. In our study, *Aspergillus* species were identified in the sampling area. *Aspergillus* spores, which are common allergen sources and other diseases were identified (Sugeçti et al. 2018) [Table 2]. *Aspergillus* species, which is a dominant species in the study, is intensively by many scientist Pitt and Taylor (2000), Samson and Pitt (2000), İmalı et al.(2011b), Özgün et al. (2016), Nascimento et al. (2019).

Alabbasy (2019) stated that *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. were found in his study on paper mill. *Penicillium* species were found to be the most common species in the printing facilities where sampling is taken within the scope of the study. This was followed by *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* and *Mucor* respectively. Some species belonging to these genera are found to be common in the air and spores have air-borne spores (İmalı et al, 2011b)[Fig. 1]. It can also be concluded that the paper origin used also contributes to the reproductive environment of the microfungi. The sampling Figure 1, shows the images of the microfungi identified in the study.

Routine health screening of working people is important as an indicator of immune system parameters, early detection and prevention of bacteria and fungal infections. In addition, improvement of working conditions (air filtration (Burrell, 1991) removal of biological resources (Nevalainen et al, 2015) etc.) is necessary to protect employee health. It is possible to develop immunoprotective antifungal strategies (prophylaxis, empirical and preventive).

Conclusion

Identifying and identifying microfungi in the workplace is important for eliminating employee exposure. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* and *Mucor* species which are commonly found in airborne microfungi have been reported to be allergen. It has been demonstrated that the necessary controls of the personel working in closed environments should be made and that they should be included in the diseases list such as COPD, asthma and allergy..

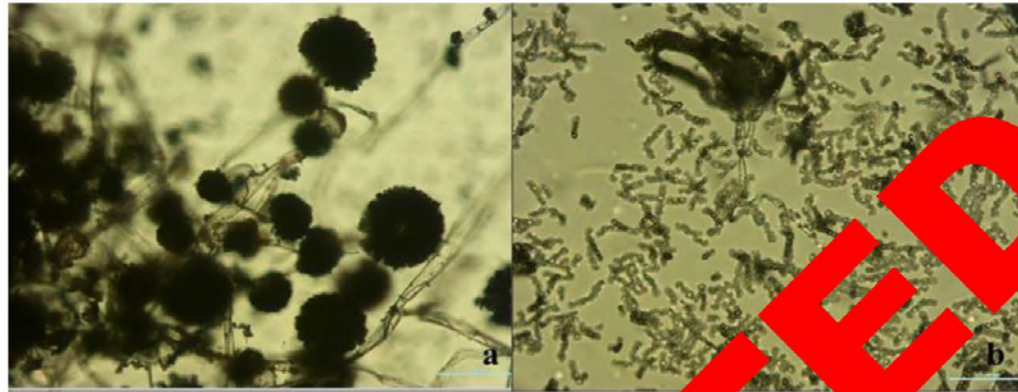


Figure 2. Images of microfungi obtained in the study [a: *Aspergillus*; b: *Penicillium*] (40x)

References

- Adams, R.I., Miletto, M., Lindow, S.E., Taylor, J.W. and Bruns, T.D. (2015). Airborne bacterial communities in residences: similarities and differences with fungi. *PLoS One*, 9(3), e91222.
- Adams, R.I., Bhangar, S., Pasut, W., Arens, E.A., Taylor, J.W., Lindow, S.E., Nazaroff, W.W. and Bruns, T.D. (2015). Chamber bioaerosol study: outdoor air and human occupancies source indoor airborne microbes. *PLoS One*, 10(5), e0128022.
- Alabbasy, A.J. (2019). A Literature review on microbial contamination frequency. *IJEC*, 18, 22.
- Burrell, R. (1991). Microbiological agents as health risks in indoor air. *Environmental Health Perspectives*, 95, 29-34.
- Andayani, S.J., Amanah, A. and Permatasari, T.O. (2019). Effect of *Sansevieria trifasciata* L on aerial pathogenic microfungi in tutorial rooms. In *Proceedings of the 1st International Conference on Applied Science and Health* (No. 3, pp. 279-286).
- Aydogdu, H., Asan, A., Okten, M.T. ve Turek, M. (2005). Monitoring of fungi and bacteria in the indoor air of primary schools in Edirne city, Turkey. *Indoor Built Environment*, 14, 411-414.
- Benamar, L., Menasria, T., Chergui, M., Benali, S. and Ayachi, A. (2017). Indoor fungal contamination of traditional public baths (Hammams). *International Journal of Biodegradation*, 117, 115-122.
- Biyik, H., Imali, A., Atalan, E., Tuşkan, M. and Oğuz, M. (2005). Diversity of microfungi in soil polluted by cement factory. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14, 130-137.
- Campbell, C.K. and Johnson, J. (2013). *Identification of pathogenic fungi*. John Wiley & Sons.
- Demirel, R., Sen, B., Kadıoğlu, Y., Yoltas, A., Okten, S., Ozkale, E., Berikten, D., Samson, R.A., Uztan, A.H., Yilmaz, N., Gunyar, Ö.A., Aydoğdu, H., Asan, A., Kivanc, M., Ozdil, S. and Sakartepe, E. (2017). Indoor airborne fungal pollution in newborn units in Turkey. *Environmental monitoring and assessment*, 189(7), 362.
- Do, Nascimento, M., López, A.M. and Andrade, M. (2019). Airborne fungi in indoor hospital environments. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 8(1), 2749-2772.
- Güneş, G., Fırat, F., Özgenç, S. and Erdiç, N. (2016). An investigation of the indoor air quality in libraries: *Marmara University Journal of Library and Information World*. 16(2), 222-241.
- Hanson, B., Zhang, B., Bailey, E.J., Urch, B., Speck, M., Silverman, F., Mulienberg, M., Phipatanakul, W., Weinstock, G., Hansen, J., Warren, D.R., Joanne, E. and Sordillo, J.E. (2016). Characterization of the bacterial and fungal microbiome in indoor dust and outdoor air samples: a pilot study. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 18, 719-724.
- Imali, A. (2011). *Soil microfungi*. Cilt:1-7. Atatürk University Publications. 689. Erzurum.
- Imali, A., Kocer, S. and Yalcinkaya, B. (2011a). Microfungus flora of indoor and outdoor air in primary schools, Corum, Turkey. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(9), 2274-2278.
- Imali, A., Çiğdem, F. and Yalcinkaya, B. (2011b). Microfungus flora in buttons of ATM's and some GSM phones in Çorum. *Journal of TUBAV Science*. 4(4) 214-218.
- Jafari, A.A., Aminipour, M.R., Ahmadieh, M.H. and Mirzaee, F. (2015). The Rate of airborne fungal contamination in Yazd Textile Factories in 2007. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*.
- Mahfouz, T. and Anaissie, E. (2003). Prevention of fungal infections in the immunocompromised host. *Current opinion in investigational drugs* (London, England: 2000), 4(8), 974-990.
- Nevalainen, A., Täubel, M. and Hyvärinen, A. (2015). Indoor fungi: companions and contaminants. *Indoor Air*, 25(2), 125-156.



- Ogbu, K.I., Pam, V.A., Chukwudi, I.C., Momoh, A.H. and Agwu, E.O. (2016). Survey of bacterial and fungal contamination on beef suya sold in jos and environs. *International Journal of Science and Applied Research* (ISSN: 2504-9070), 1(1).
- Pitt, J.I. and Taylor, J.W. (2014). *Aspergillus*, its sexual states, and the new international code of nomenclature. *Mycologia* 106(5):1051–1062.
- Pokhum, C., Intasanta, V., Yaipimai, W., Subjalearndee, N., Srisitthiratkul, C., Pongsorrarith, V., Phangphong, S. and Chawengkijwanich, C. (2018). A facile and cost-effective method for removal of indoor airborne fungi and bacteria by silver and zinc oxide nanoparticles decorated on fibrous air filter. *Atmospheric Pollution Research*, 9(1), 172-177.
- Samson, R.A. and Pitt, J.I. (2000). *Integration of modern taxonomic methods for Penicillium and Aspergillus classification*, (4rd ed.) Singapore: Harwood Academic Publisers, p:510.
- Sarıca, S., Asan, A., Okten, M.T. and Türe, M. (2002). Monitoring indoor airborne fungi and bacteria in the different areas of Trakya University Hospital, Edirne, Turkey. *Indoor Built Environ.* 11, 285-292.
- Sugeçti, S., İmalı, A. and Koçer, F. (2018). Molecular methods used in the purification of *Aspergillus* species. *International Anatolia Academic Online Journal.* 4(2), 13-28
- Walsh, T.J., Hayden, R.T. and Larone, D.H. (2018). *Larone's medically important fungi: a guide to identification* (No. Ed. 6). ASM Press. 553p.
- Weigl, F., Tischler, C., Probst, A.J., Heinrich, J., Markevych, I., Jochner, S., et al. (2016). Fungal and bacterial communities in indoor dust follow different environmental determinants. *PLoS One* 11(4), e0154131.
- Yang, C., Pakpour, S., Klironomos, J. and Li, D.W. (2016). Microfungi in indoor environments: What is known and what is not. *In Biology of Microfungi* (pp. 373-412). Springer, Cham.
- Yavuz, V. (2016). Integration of digital printing technologies in printing sector. *5th International Printing Technologies Symposium*, 251-262.

RETRACTED



Geliş(Received) :01.02.2021
Kabul(Accepted) :15.05.2021

Derleme
Doi: 10.30708.mantar872258

Anaerobik Funguslarda Hidrojenozomlar: Hidrojen Üreten Organeller

Ferit Can YAZDIÇ^{1*}, Fadime YAZDIÇ², Bülent KAR³, Emin ÖZKÖSE⁴, Mehmet Sait EKİNCİ⁵

*Sorumlu yazar: fcanyazdic@munzur.edu.tr

¹ Munzur Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoteknoloji ABD, Tunceli
Orcid No/Orcid ID: 0000-0002-2762-3027/ fcanyazdic@munzur.edu.tr

² Bingöl Üniversitesi, Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bingöl
Orcid No/ Orcid ID: 0000-0002-2515-9400/ fyazdic@bingol.edu.tr

³ Munzur Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoteknoloji ABD, Tunceli
Orcid No/ Orcid ID: 0000-0002-8839-2605/ bkar@munzur.edu.tr

⁴ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, K.maraş
Orcid No/ Orcid ID: 0000-0001-5710-4175/eozkose@ksu.edu.tr

⁵ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, K.maraş
Orcid No/ Orcid ID: 0000-0001-7994-0203/ sekinci@ksu.edu.tr

Öz: Funguslar ökaryotlar içerisinde birçok farklı grubu oluştururlar. Çoğu fungus mitokondri içerir ve oksidatif fosforilasyon yapabilir. Diğer taraftan herbivor memelilerin sindirim sistemindeki *Neocallimastigomycota* fungusları mitokondri yerine hidrojenozom olarak bilinen bir organel bulundurulur. Anaerobik çevreye uyumun anahtarı olma özelliğine sahip bu organel eşsizdir. Bu derlemede, bu önemli organellerin işlevi, yapısı, biyokimyası, genetik özellikleri ve kalıtımı hakkında bilinenleri kısaca özetlemek istiyoruz.

Anahtar kelimeler: Hidrojenozom, anaerobik funguslar, rumen

Hydrogenosomes in the Anaerobic Fungi: Hydrogen-Producing Organelles

Abstract: Fungi form a very diverse group in eukaryotes. Most of the fungi contain mitochondria and capable of oxidative phosphorylation. On the other hand, anaerobic *Neocallimastigomycota* fungi are in the gastrointestinal tract of many herbivorous mammals, they contain an organelle known as hydrogenosome instead of mitochondria. These organelles capable of being the key to adaptation to an anaerobic environment that is is unique. In this review, we wish to briefly summarize what is known about function, structure, biochemistry, genetics properties and inheritance of these important organelles.

Key words: Hydrogenosome, anaerobic fungi, rumen

Giriş

Doğadaki birçok anaerobik habitatta mitokondriden yoksun çok sayıda ökaryotik canlı bulunur (van der Giezen ve ark., 2003). Bu habitatların en önemlilerinden birisi de ruminant hayvanlardaki rumendir. Rumen, ruminant sindirim sisteminin hacim olarak en büyük kısmını oluşturur. Ayrıca redoks potansiyeli oldukça düşük olan anaerobik bir ortama sahiptir. Bu durum konak hayvan tarafından kullanılan enerjinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Rumende fermentasyonun

gerçekleştirilebilmesi için oksijensiz ortam gereklidir. Çünkü düşük seviyelerdeki O₂ dahi rumende bulunan birçok mikroorganizma için öldürücü olabilmektedir.

Anaerobik funguslar (AF) herbivor memelilerin bir çoğunun sindirim sisteminde görülen önemli simbiyontlardır (Trinci ve ark., 1994). Anaerobik fungusların, rumen içerisindeki en büyük katkıları bitkisel materyalin sindirilmesini sağlayan enzimlere sahip olmalarıdır. Bu ökaryotik mikroorganizmalar mitokondriden yoksundur. Bu organizmalarda mitokondri



yerine ATP üreten organel olarak “hidrojenozomlar” bulunur (Yarlett ve ark., 1986; Müller, 1993). Bu fungal hidrojenozomlar ATP'ye ilaveten hidrojen, CO₂, asetat ve format üretirler (Marvin-Sikkema ve ark., 1990; Akhmanova ve ark., 1999).

Hidrojenozomlar, filogenetik olarak üç gruba ayrılabilir. Bunlar parabasalian flagellatlar, anaerobik

siliatlar ve anaerobik funguslardaki hidrojenozomlardır (Roger, 1999). Ayrıca bu hidrojenozomların ultrastrüktürel yapıları ve fizyolojileri de birbirinden farklılık gösterir (Boxma ve ark., 2004). Karbon ve enerji metabolizmalarına göre ise hidrojenozomlar, Tip I ve Tip II şeklinde ayrılabilir (Tablo 1).

Tablo 1. Mitokondri içermeyen protozoonlar ve funguslardaki hidrojenozomlar ile ökaryot mitokondrilerdeki karbon ve enerji metabolizması (Hackstein ve ark., 1999).

	Mitokondri içermeyen Anaerob (Entamoeba) Tip I, Sitoplazma	Mitokondri içermeyen Anaerob (Protozoonlar) Tip II		Mitokondri içermeyen Anaerob (Funguslar) Tip II		Aerobik Mitokondri	
		Sitoplazma	Hidrojenozom	Sitoplazma	Hidrojenozom	Sitoplazma	Mitokondri
Pirüvattan Sorumlu Enzim	Piruvat-fosfat dikinaz	PK	Malat DH	PK	Malik Enzim	PK	Malik Enzim
Asetil-CoA Sorumlu Enzim	PFO	Bulunmaz	PFO	PFL	PFL	İzositrat liyaz	PDH
Son Elektron Alıcısı	Asetil CoA asetaldehit	Pirüvat	Ferredoksin	Pirüvat, Asetil CoA, Fumarat	H ⁺	Pirüvat	O ₂
Fermentasyon Ürünleri	Asetat, Etanol, Alanin	Ethanol, Malat, Süksinat, Laktat, Alanin, Gliserol	Asetat, H ₂ , Malat	Asetat, Format, Süksinat, Laktat, Etanol	Asetat, Format	Etanol, Laktat	CO ₂ , H ₂ O
Etanol Oluşumu	Asetil-CoA redüktaz/ ACDH yardımıyla Asetil CoA'dan	Asetaldehitten	Bulunmaz	Asetil CoA/ACDH yardımıyla Asetil CoA'dan	Bulunmaz	Asetaldehitten	Bulunmaz
ATP Oluşumunda Görevli Enzim	PGK, Asetat thiokinaz, Piruvat-fosfat dikinaz	PGK, PK, PEPCK	ASCT, STK	PGK, PK, PEPCK	ASCT, SK	PGK, PK	ASCT, STK
[Fe]-Hidrojenaz	Yok	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Yok
Elektron Taşıma Zinciri	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var
PMF(Proton Hareket Gücü)/delta pH	Yok	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var

Kısaltmalar: ACDH: Asetaldehit dehidrojenaz, ASCT: Asetat-Süksinat-CoA transferaz, DH: Dehidrojenaz, PDH: Piruvat dehidrojenaz, PEPCK: Fosfoenol piruvat karboksikinaz, PFL: Piruvat-format liyaz, PFO: Piruvat-ferredoksin oksidoredüktaz, PGK: Fosfogliserat kinaz, PK: Pirüvat kinaz, STK: Süksinil-CoA sentetaz.

Organizmaların, özellikle de anaerobik ekosistemde yaşayanların yüksek bir oranı, oksijensiz hayata adapte olabilmişlerdir. Anaerobik solunum sistemlerinin görüldüğü prokaryotlar ve ökaryotların birçoğunda, oksijen yerine elektron alıcısı olarak nitrat, sülfat, karbonat veya demir gibi alternatifleri kullanabilmek için evrimleşmiştir (Martin ve Russell, 2003). Anaerobik şartlar altında mitokondri son elektron alıcısı olarak oksijeni kullanamazlar ve temel görevleri olan ATP üretimi ile enerjinin korunumunu gerçekleştiremezler. Bu yüzden anaerobik ökaryotların birçoğunda mitokondri yerine farklı bir organelin bulunması şaşırtıcı değildir. Ancak mitokondrinin eksikliği fonksiyonlarının yerine getirilmeyeceği anlamına

gelmemektedir. İlk zamanlar mitokondrisiz anaerobik ökaryotlar ilkel organizmalar olarak görülmüşlerdir. Bu yüzden “archaezoa” olarak tanımlanmışlardır (Cavalier-Smith, 1983). *Giardia* veya *Entamoeba* gibi organizmalar bu hipoteze örnek olarak gösterilebilir. Birçok çalışma bu organizmaların genomunda mitokondrial genlerin yanında mitokondrial metabolik yolların da bulunduğunu göstermektedir (Hashimoto ve ark; 1998; Vanacova ve ark., 2003 ve Timmis ve ark., 2004). Diğer taraftan tek hücreli olan bu organizmalar Tip I anaerobların en iyi örneğini oluştururlar (Müller, 1998; Tovar ve ark., 2003). Bu organizmaların enerji metabolizması, sitozolde bulunan fermentasyon enzimlerine bağlıdır (Rosenthal ve ark., 1997; Müller, 1998). Belirlenen birçok genin



anaerobik ökaryot ve arkealara yatay gen transferiyle geçtiği düşünülmektedir (Koonin, 2015). *Giardia lamblia* ve *Entamoeba histolytica*'nın fermentasyon enzimlerinin bazısının filogenetik analizleri, yatay gen transferinin olabileceğini göstermiştir (Rosenthal ve ark., 1997; Field ve ark., 2000). Fakat prokaryotik bir organizmadan ökaryotik bir organizmaya yatay gen transferi konusu hala tartışmalıdır (Koonin, 2015).

Bazı protistler ve anaerobik funguslar anoksik nişlere adaptasyonlarını, hidrojenozomlarına borçludurlar (Martin ve Müller, 1998). Tip II olarak sınıflandırılan bu grubun en önemli karakteristik özelliği, hidrojenozomlara alınan pirüvat (veya malat) oksidatif olarak pirüvat:ferredoksin oksidoredüktazın (PFO) hareketiyle asetil CoA için dekarboksile edilmesidir. Trikomonadlar ve anaerobik fungusların hidrojenozomları karşılaştırıldığında, bunlar arasındaki en önemli farkın, trichomonadlarda pirüvatın asetil Co-A'ya dekarboksilasyonunda, pirüvat-ferredoksin oksidoredüktaz (PFO) kullanılırken (Lindmark ve Müller, 1973; Müller, 1998), anaerobik funguslar olan *Neocallimastix* sp. L2 ve *Piromyces* sp. E2'nin pirüvat metabolizmasında en önemli enzimatik aktivitenin pirüvat-format liyaz (PFL) enzimi ile sağlanmasıdır (Marvin-Sikkema ve ark., 1993; Akhmanova ve ark., 1999). Anaerobik funguslarda hala PFO tam anlamıyla aydınlatılmamıştır. *Neocallimastix* sp. L2 ve *N. patriciarum*'da düşük miktarda PFO aktivitesi ölçülmüştür (Yarlett ve ark., 1986; Marvin-Sikkema ve ark., 1993), fakat ne *N. frontalis* ne de diğer anaerobik funguslarda PFO aktivitesi henüz tam olarak aydınlatılabilmıştır (O'Fallon ve ark., 1991). Özellikle kitridlerde varsayılan PFO aktivitesi için, ne bu enzimin saflaştırılması ne de PFO geninin tanımlanması mümkün olmamıştır. Diğer taraftan *Neocallimastix* sp. L2 ve *Piromyces* sp. E2'deki sitoplazmik ve hidrojenozomal pirüvat-format liyaz (PFL)'in bir multigen ailesi tarafından kodlandığı bilinmektedir (Akhmanova ve ark., 1999). Bu durum ökaryotlar için sıradışıdır. PFL aktivitesi özellikle fakültatif anaerobik *Enterobacteria* ve *Firmicutes*'in karakteristik bir özelliğidir. Bu bakteriler tıpkı anaerobik *Chytridiomycete* fungusları gibi anaerobik şartlar altında karışık asit fermentasyonu gerçekleştirirler (Marvin-Sikkema ve ark., 1990; Jullian ve ark., 1998). Nükleotit dizileme çalışmaları ile henüz bir PFO DNA dizisi elde edilmemişken, farklı çalışmalarda PFL nükleotit dizileri elde edilmiştir (Durand ve ark., 1995; Gelius-Dietrich ve Henze, 2004).

Hidrojenozomların, mitokondrilerle beraber gözlemlenmesine dair henüz hiçbir bilgi yoktur. Ayrıca bitkilerde, çok hücreli hayvanlarda ve

mikroorganizmalarda gözlenmemişlerdir. Bununla birlikte hidrojenozomların filogenetik olarak bağlantısız organizmalarda bulunması, benzer olup olmadıkları, aynı atadan evrilip evrilmedikleri veya evrimlerinin nasıl olduğu ile ilgili soruları artırmaktadır. Bu çalışmada anaerobik funguslardaki enerji merkezi olarak bilinen hidrojenozomlar hakkında mevcut bilgilerden faydalanılarak, henüz tam olarak anlaşılammış bu organelin yapısı, biyokimyası ve genetik özellikleri hakkında bilgiler derlenmeye çalışılmıştır.

Morfolojisi

Hidrojenozomların morfolojileri gruplar arasında farklılık gösterir. Morfolojik olarak bu gruplar parabasalid flagetlar (*Trichomonas vaginalis*) (Benchimol ve ark., 1996), rumen siliatları (*Isotricha ruminantum*) (Yarlett ve ark., 1984), rumen fungusları (*Neocallimastix* sp.) (van der Giesen, 1997) ve tatlısu siliatları (*Trimyema* sp.) (Finlay ve Fenchel, 1989) şeklinde ayırılabilir. Fakat morfolojik olarak yapılan bu ayırım hidrojenozomlar için yeterli değildir. İlk olarak Trikomonad ve diğer parabasalidlerde görülen hidrojenozomlar tek membranlı görünüşleri, nispeten uniform matriksli oluşları ve geniş intraorganel membran sisteminin eksikliği nedeniyle mikrosimcik olarak tanımlanmışlardır (Müller, 1973). İlk yıllarda anaerobik funguslarının 5 cinsinin hidrojenozomu ultrastrüktürel olarak incelenmiş ve tek üniteli bir membrana sahip oldukları belirtilmiştir (Heath ve ark., 1983; Li ve ark., 1990; Li ve ark., 1991). Bu öneri, Benchimol (1997) ve van der Giesen (1997b)'nin *Neocallimastix* sp.'de hidrojenozomun iki membrandan oluştuğunu gösterene kadar kabul edilmiştir (Şekil 1). Bu zarlar birbirlerine çok yakın ve çok ince oluşlarından ayırımı yapmak çok zordur. Genellikle iki zar arasındaki boşluk fark edilememektedir. Her bir membran 6 nm arasında bir kalınlığa sahiptir ve belirli dalgalanmalar göstermektedir (Benchimol ve De Souza, 1983; Benchimol ve ark., 1996).

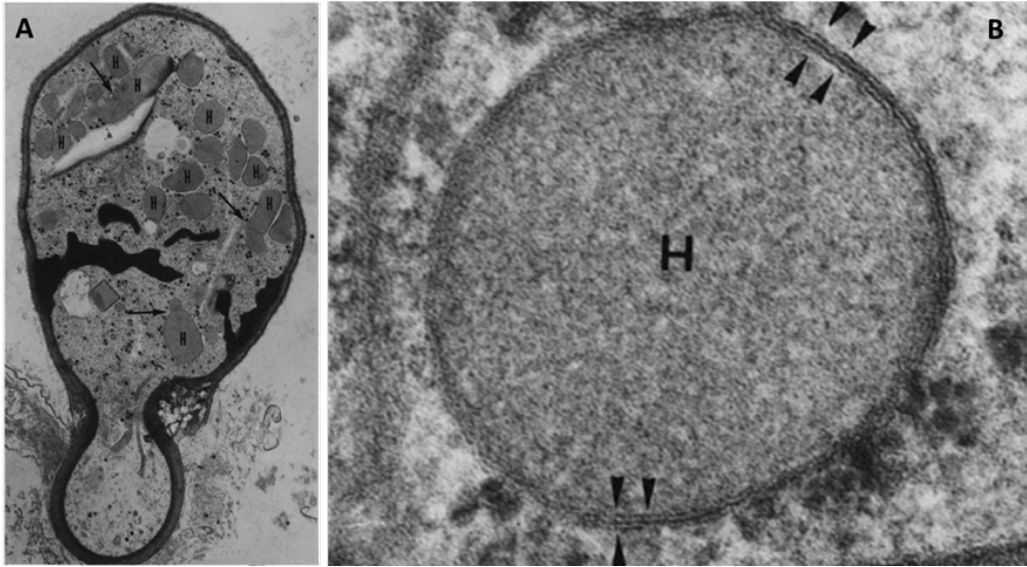
Çoğunlukla hidrojenozomlarda bir veya birden fazla kalsiyum içeren periferel vezikül bulunmaktadır. Bu periferel veziküller hidrojenozomun matriksinden izole edilmiş bölümler olarak kabul edilirler. Fonksiyonsuz hidrojenozomlar otofajik süreçle çıkartılır ve lizozomlarda parçalanırlar (Benchimol, 2007). Morfolojik olarak rumen siliatlarındaki organeller trikomonadlardaki organellerle benzerlik gösterirler (Yarlett ve ark., 1984; Paul ve ark., 1990).

Rumen funguslarındaki hidrojenozomlar, organizmaların hayat döngüsü safhalarına bağlı olarak farklı morfolojilerde görülebilirler (Marvin-Sikkema ve ark., 1992). Bununla beraber anaerobik funguslardaki



hidrojenozomlar trikomonad protozoaninkine çok benzerdir. Zoosporların çimlenmesiyle oluşan hiflerde mikrocisimcik gibi görünmektedirler (Marvin-Sikkema ve ark., 1992). Işık mikroskopunda bazen gerek siliat gerekse fungus örneklerinde hidrojenozomlar genellikle tek membranla çevrelenmiş şekilde görülebilirler. Bu yüzden mikrocisimcik olarak tanımlanırlar (Marvin-

Sikkema ve ark., 1992). Ancak *Polyplastron multivesiculatum* siliatındaki hidrojenozomun, belirgin bir şekilde çift membranlı olduğu görülür (Paul ve ark., 1990). Hidrojenozomlar yaklaşık 1-2 µm büyüklüğünde küresel veya hafif uzatılmış granüller şeklindedirler (Benchimol, 2000).



Şekil 1. *Neocallimastix frontalis*'in rizoidlerindeki hidrojenozomların genel dağılımını (A) ve zoosporlarındaki hidrojenozomların genel görüntüsünü göstermektedir (B). Oklar, bölünme sürecinde olan hidrojenozomları (A) ve birbirine yakın iç ve dış zarları göstermektedir (B) (Benchimol ve ark., 1997).

Metabolik Süreç ve Biyokimyası

Hidrojenozomlar, kimyasal enerji üretmek için oksijene gerek duymayan ve karmaşık bir yapıya sahip olduğu bilinen bir organeldir. Hidrojenozomlar hidrojen üretebilme yetenekleriyle bilinirler ve bunu yapabilecek biyokimyaya sahiptirler. Bu özelliklerinden dolayı mitokondrilere benzedikleri söylenmektedir (van der Giezen ve ark., 1997b; Martin, 2005). Tam bir ATP üretim merkezi gibi işlev gösterirler. Hidrojenozom ismi, protozoada bu organelin metabolizma sırasında gaz haldeki serbest H₂ moleküllerinin oluşmasının gözlenmesi sonucunda verilmiştir.

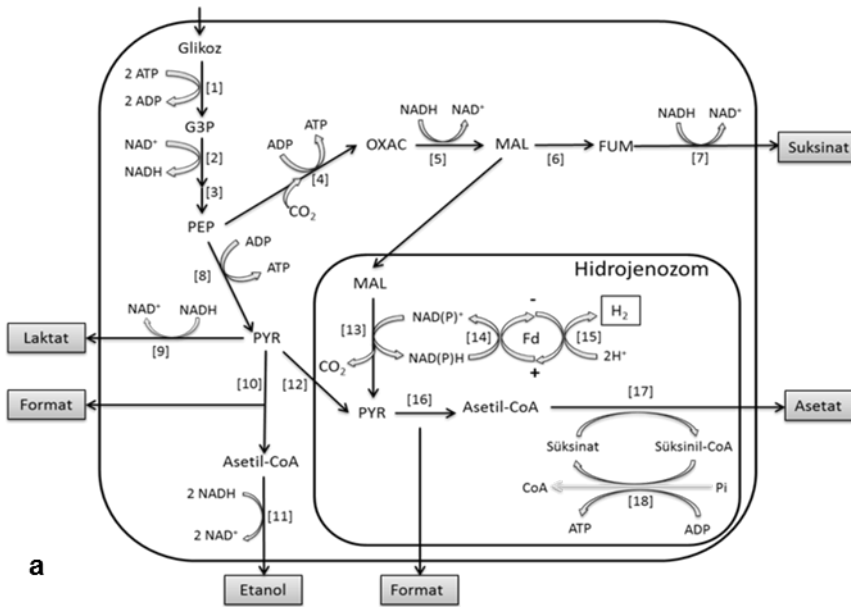
Neocallimastix cinsinden izole edilen birçok hidrojenozom çalışmasında çok küçük farklılıklar dışında hidrojenozomların temel yapısı ve biyokimyasal özelliklerinin aynı olduğu görülmüştür. Zorunlu anaerobik funguslar ve zorunlu anaerobik protozoa ATP sentezleyebilmek için glukoz fermentasyonunu kullanırlar. Sitozolde bulunan enzimlerin kimyasal katalizasyonu ile glukozu laktik asit veya etanole dönüştürürler. Hidrojenozom enzimleri hidrojen gazı üretimi ile glukoz fermentasyonu için alternatif yollar sağlamaktadır (Gleason ve Gordon, 2004).

Anaerobik *Neocallimastigomycota* fungusları hidrojenozomlarında prokaryotik tipte karışık asit fermantasyon yolunu kullanırlar (Boxma ve ark., 2004). Bununla birlikte anaerobik funguslar mitokondri, sitokromlar ve oksidatif fosforilasyon yolunun diğer biyokimyasal özelliklerinden yoksundurlar. Sitozolde glikoliz için birçok enzime ihtiyaç vardır (Şekil 2). Glikoz EMP (Embden-Meyerhof-Parnas) yolu ya da "fruktoz-1,6-bisfosfat yolu" ile pürüvat üzerinden laktata kadar parçalanır. Bu işlemler birden fazla basamakta gerçekleşir. Her basamak birbirinden bağımsız olup ayrı enzimler tarafından katalize edilir (Yarlett ve ark., 1986; O'Fallon ve ark., 1991) (Şekil 2). *Piromyces* ve *Neocallimastix* funguslarındaki format üretimi aktif bir şekilde bulunan pirüvat:format liyaz (PFL; format C-Asetil transferaz, EC 2.3.1.54) (Boxma ve ark., 2004) sayesinde gerçekleşmektedir. PFL sitozol ve hidrojenozomlarda bulunduğu için asetil-CoA her iki bölümde de oluşur. PFL format üretimini sağlayan oksijene duyarlı bir enzimdir. Reaksiyon mekanizması bir glisil radikaline bağlıdır. PFL'yi aktif hale getiren PFL protein zinciri içerisindeki glisil radikalidir. Birçok ökaryotta heterotrofik ATP sentezinin son ürünü olarak format üretildiği bilinmektedir.



Fermentatif format üretiminin bilinen sadece bir yolu vardır. Bu da pirüvat format liyaz aktivitesiyle gerçekleşmektedir (PFL: syn, Format C-asetiltransferaz; EC 2.3.1.54), bu enzim 85 kDa alt ünitesi olan homodimer bir yapıya sahiptir. Pirüvatı homolitik yolla parçalayarak pirüvat ve koenzim A'yı, format ve asetil-CoA'ya dönüştürür. Enzim mekanizması iki korunmuş sistein kalıntısı ve bir glisil radikalini kapsar. PFL aktivitesi aktif bölgedeki serbest radikaller yüzünden oksijene karşı son derece duyarlıdır. Sitozolde bi-fonksiyonel aldehit/alkol dehidrojenaz (ADHE) ile asetil-CoA etanol ve CoASH

(Koenzim A)'ya dönüşür. Hidrojenozomda asetil-CoA'nın CoA kısmı ASTC (asetat: süksinat CoA-transferaz) vasıtasıyla süksinatta transfer edilir. Genellikle son ürün asetat (Boxma ve ark., 2004) ve süksinil-CoA'dır. Bunlar CoASH'ın rejenarasyonunda ve substrat düzeyinde fosforilasyonda süksinil-CoA sentetaz (SCS) için substrat olarak görev yaparlar (Dacks ve ark., 2006). Bilinen tüm hidrojenozomlar ATP üretimini substrat düzeyinde fosforilasyon yoluyla asetat:süksinat CoA transferaz (ASCT) ve süksinil-CoA sentetaz ile gerçekleştirirler (Müller ve ark., 2012).



Kısaltmalar: Fd: Ferrodoksin, G3P: Gliseraldehid-3-fosfat, PEP: Fosfoenolpirüvat, PYR: Pirüvat, OXAC: oksaloasetat, MAL: Malat, FUM: Fumarat, [1]: Hekzokinaz, glüköz-6-fosfat izomeraz, fosfofruktokinaz, aldolaz ve trioz fosfat izomeraz, [2]: Gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz, [3]: Fosfogliserat kinaz, fosfogliserat mutaz ve enolaz, [4]: Fosfoenol pirüvat karboksikinaz, [5]: Malat dehidrojenaz, [6]: Fumaraz, [7]: Fumarat redüktaz, [8]: Pirüvat kinaz, [9]: Laktat dehidrojenaz, [10]: Sitozolik pirüvat:format liyaz, [11]: Alkol dehidrojenaz E, [12]: Pirüvatın hidrojenozomun içerisine taşınması, [13]: Malik enzim, [14]: NAD(P)H:Ferrodoksin oksidoredüktaz, [15]: Hidrojenaz, [16]: Hidrojenozomal pirüvat:format liyaz, [17]: Asetat:süksinat CoA transferaz, [18]: Süksinil CoA-sentetaz.

Şekil 2. Rumende bulunan *Neocallimastigomycota*'ya ait anaerobik fungus olan *Piromyces* sp. E2'nin hidrojenozomundaki karışık-asit fermentasyon metabolizması (a) (Boxma ve ark., 2004) ve kültür koleksiyonumuzdaki *Piromyces* sp. (GMLF-17) anaerobik fungus örneği (b).

Hidrojenozomal DNA

Şimdiye kadar ki yapılan çalışmalarda herhangi bir hidrojenozomal genoma rastlanmazken çekirdekte kodlanan organel genlerinin filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir (Embley ve ark., 2003; Dyall ve ark., 2004). Ancak mitokondri içermeyen anaeroblar içerisinde sadece *Nyctotherus ovalis* siliatının bir hidrojenozomal genoma sahip olduğu bulunmuştur (Boxma ve ark., 2005). Bu hidrojenozomun genom verileri, atasının bir mitokondri olduğunu gösterse de, metabolik aktivite yönünden mitokondriye benzememektedir (Shiflett ve Johnson, 2010). Bununla birlikte DNA nükleotit dizileme çalışmaları birçok hidrojenozomal proteinin dizisini

belirlememize yardımcı olmuştur (Shiflett ve Johnson, 2010). Hidrojenozomla ilgili NCBI'da yapılan arama sonucunda şimdiye kadar toplam 173 nükleotit dizisi ve 266 protein dizisi bulunduğu bunlardan anaerobik funguslar için 13 adet protein (Ac. No: P78715.1, AAC49572.1, AAP70004.1, AAK61605.1, AAP33147.1, AAL80023.1, AAL80022.1, AAL80021.1, ABG47413.1, AAN04660.1, CAA12057.1, CAA12056.1, CAA12055.1) ve 12 adet nükleotit (Ac.No: U62041.1, AF419853.1, AY033884.1, AF426026.1, AY078244.1, AY078243.1, AY078242.1, DQ662599.1, AF340168.1, AJ224660.1, AJ224659.1, AJ224658.1) dizisinin belirlendiği bildirilmiştir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Bu dizilerden



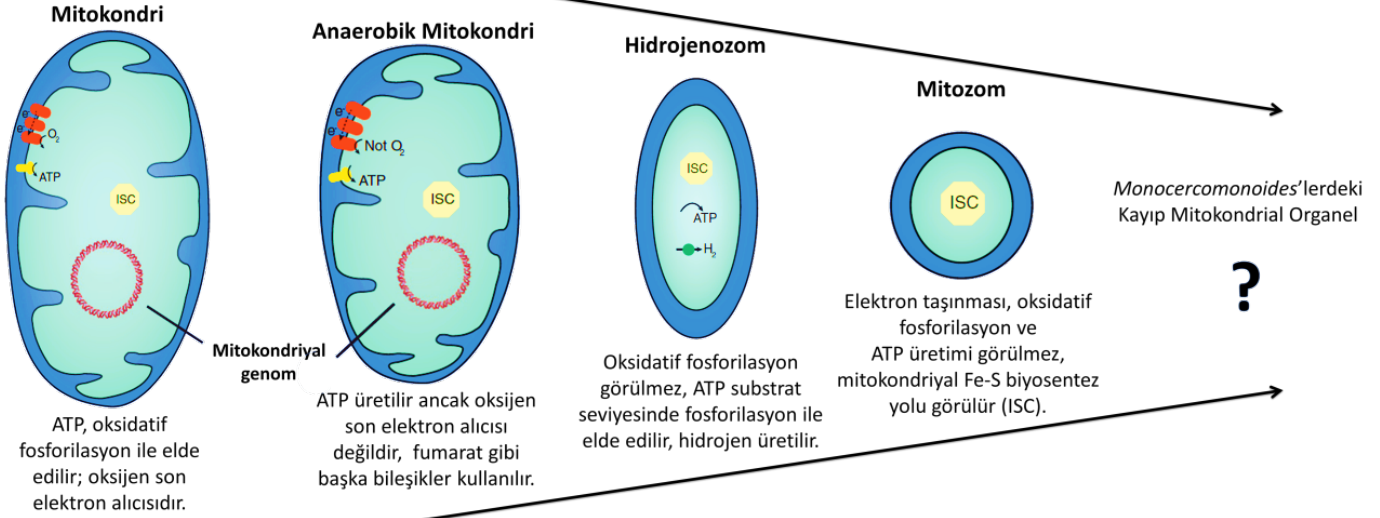
bazıları; *Neocallimastix frontalis*'de hidrojenozomal malik enzim (van der Giezen ve ark., 1997a), ATP/ADP taşıyıcısı (van der Giezen ve ark., 2002), adenilat kinaz, ornitin karbamoiltransferaz (Gelius-Dietrich ve ark., 2007) ve ısı şok proteini 60 (Hsp60) dizileridir. *Neocallimastix patriciarum*'da görülen ısı şok proteini 70 (Hsp70) ve 60 (Hsp60) şeklindeyken, *Piromyces* sp. E2 için ısı şok proteini 60 (Hsp60) ve adenilat kinaz şeklinde görülmektedir (van der Giezen ve ark., 2003). Isı şok proteinleri sitozolde ve hidrojenozomlarda bulunur (van der Giezen ve ark., 2003). Temel görevleri protein agregasyonunu engellemektir. Hidrojenozomlar tarafından üretilen ATP hücre tarafından kullanılabilmesi için sitozole taşınmalıdır. Bu nedenle hidrojenozom bulunduran organizmalarda tıpkı mitokondrilerdeki gibi ADP/ATP taşıyıcılarının görülmesi şaşırtıcı değildir. Bunlara en iyi örnek *T. vaginalis*'de belirlenen Hmp31 proteindir. Biyokimyasal analizler iç membranda bulunan bu proteinin homooligomer bir formda olduğunu ve mitokondrilerdeki taşıma proteinlerine benzediğini göstermiştir (Dyall ve ark., 2000). Benzer özelliklere sahip ADP/ATP taşıyıcıları *Neocallimastix frontalis*'de gözlemlenmiştir (van der Giezen ve ark., 2002).

Hidrojenozomun Evrimsel Kökeni

Mitokondri, farklı yaşam koşulları altında ökaryotların evrimleri sırasında şekil ve işlev bakımından çeşitlenen, ökaryotik hücrelerin atalarından kalma, farklı proteom ve fenotiplere sahip homolog organellerden oluşan geniş bir tanımla ifade eder (Embley ve Martin 2006; Müller ve ark., 2012). Bu mitokondriyal homologların en ilginçleri arasında anaerobik serbest yaşayan ve parazitik mikrobiyal ökaryotlarda bulunan hidrojenozomlar yer alır (Müller, 1993; Lewis ve ark., 2020). Hidrojenozomlar, tipik olarak ökaryotlardan ziyade bakterilerle ilişkilendirilen bir tür metabolizma olan Fe-Fe-hidrojenaz enzimini kullanarak H₂ üretirler (Müller, 1993; Embley ve ark., 1997; Horner ve ark., 2000; Müller ve ark., 2012; Stairs ve ark., 2015). Hidrojenozomların evrimi ve anaerobik metabolizmalarının kökenleri hakkındaki tartışmalar hala devam etmektedir (Martin ve Müller, 1998; Martin ve ark., 2015; Stairs ve ark., 2015; Spang ve ark., 2019).

Hidrojenozomların evrimsel olarak kökeni pek açık değildir. Bu konuda 3 farklı görüş vardır. İlk görüş hidrojenozomların mitokondriden köken aldıkları, ikinci

görüş bu iki organelin ortak bir atasal organelden evrimleştikleri yönündedir. Son görüş ise bu organellerin birbirinden bağımsız olarak evrimleştiğini önermektedir. Anaerobik çevrede yaşamın adaptasyonu ve aynı atadan evrimleşmiş endosimbiyotlar olarak görülen hidrojenozomlar, mitokondrinin alternatifi olarak kabul edilirler (Martin ve Müller, 1998; Tielens ve ark., 2002). Müller (1988) hidrojenozomların tıpkı mitokondri ve kloroplastlar gibi endosimbiyotik olarak orjinlendiklerini kabul eder. Mitokondrial bir kökenin olabilmesi için piruvat oksidasyon yolunun olması gereklidir. Henüz böyle bir kanıt bulunmamıştır. Bu fikrin aksine Finlay ve Fenchel (1989) ise hidrojenozomların sekonder bir adaptasyonun sonucu olduğunu dile getirmişlerdir. Buna göre hidrojenozomlar, oksijensiz bir yaşam stili kabul eden aerobik protozoonların ihtiyaçlarını karşılamak için modifiye edilmiş bir organeldir. Aslında mitokondrinin kökeni, ökaryot evriminde belirleyici olaylardan birisidir (Burki ve ark., 2016; Poole ve Gribaldo, 2014; Pittis ve Gabaldón, 2016). Moleküler evrim ve hücre biyolojisi araştırması, mitokondrinin kökeninin bilinen tüm ökaryotların ayrışmasından önce olduğunu göstermiştir (Burki ve ark., 2016). Bu durum tüm mevcut ökaryotların veya en azından atalarından kalma soylarının, bir şekilde mitokondri barındırdığı anlamına gelir. Bu güne kadar incelenen tüm türler aerobik mitokondri, anaerobik mitokondri, hidrojenozom ve mitozom veya başka bir ifadeyle evrimsel olarak mitokondri ile ilişkili bir organel bulunmuştur (Burki ve ark., 2016) (Şekil 3). Ancak yapılan bir çalışmada *Monocercomonoides*'in, mitokondri ile ilişkili organelin en indirgenmiş formundan bile yoksun bir ökaryotun ilk örneği olduğunun gösterilmesi, mevcut görüşlerin tekrar elden geçirilmesi gerektiğini göstermiştir (Burki ve ark., 2016). Mitokondri içermeyen ökaryotların birbirinden farklı büyük sistematik gruplarda bulunması, bunlardaki evrimsel ilerlemenin tek bir yolla gerçekleşmediğini göstermektedir (Göçmen, 2003). Müller'e göre (1988) mitokondrial fonksiyonların eksikliği ya primer bir özellik ya da sekonder bir adaptasyondur. Hidrojenozomsuz organizmalar evrimsel sürecin ilkel basamağını temsil ederler (Göçmen, 2003). Bu yüzden, *Entamoeba histolytica* ve *Monocercomonoides* gibi canlılar yaşayan fosiller olarak kabul edilirler (Göçmen, 2003; Burki ve ark., 2016).



Şekil 3. Mitochondri ve ilgili organellerin çok basitleştirilmiş görünümü. Başlıca ayırt edici özellikler gösterilmiştir (Burki ve ark., 2016).

Siliatlar, mitokondriden hidrojenozomlara evrimsel geçişi incelemek için mükemmel bir örnektir. Bunun en önemli nedeni hidrojenozom içeren anaerobik siliatların evrimsel ağaçtaki aerobik mitokondri taşıyan formlar arasına girmiş olmaları gösterilebilir (Embley ve ark., 1995; Fenchel ve Finlay 1995) (Şekil 4). Daha da dikkat çekiçi olan ise, yapılan bir çalışmada, anaerobik siliat *Nyctotherus ovalis*'in hidrojenozomlarının, mitokondriyal atalarının doğrudan moleküler kanıtını sağlayan mitokondriyal bir genoma sahip olduğunun belirlenmiş olmasıdır (Akhmanova ve ark., 1998; Boxma ve ark., 2005; de Graaf ve ark., 2011). Elde edilen veriler, *N. ovalis*'in hidrojenozomlarının, aerobik siliatların gerçek mitokondrileriyle ortak bir atayı paylaşan bir tür anaerobik mitokondriyi temsil ettiğini göstermektedir (van Hoek ve ark., 2000). Buna karşılık, *Trichomonas* spp. mitokondriye sadece zayıf bir morfolojik benzerlik gösterir ve daha da önemlisi, evrimsel bir kanıt sağlayabilecek herhangi bir genom şimdiye kadar belirlenmemiştir (Benchimol ve ark., 1996; Clemens ve Johnson, 2000). Ayrıca, *Psalteriomonas*'in hidrojenozomları üst üste yığılmış kümeler halinde görülürken (Broers ve ark., 1990), *Neocallimastix*'in mikroskop altında tespit edilmesi zor hidrojenozomları (Marvin-Sikkema ve ark., 1992; 1993) mitokondriye benzemezler. Bu hidrojenozomlarda da henüz bir genom belirlenmemiştir (Palmer, 1997; van der Giezen ve ark., 1997b). Bu açıdan bu organellerde

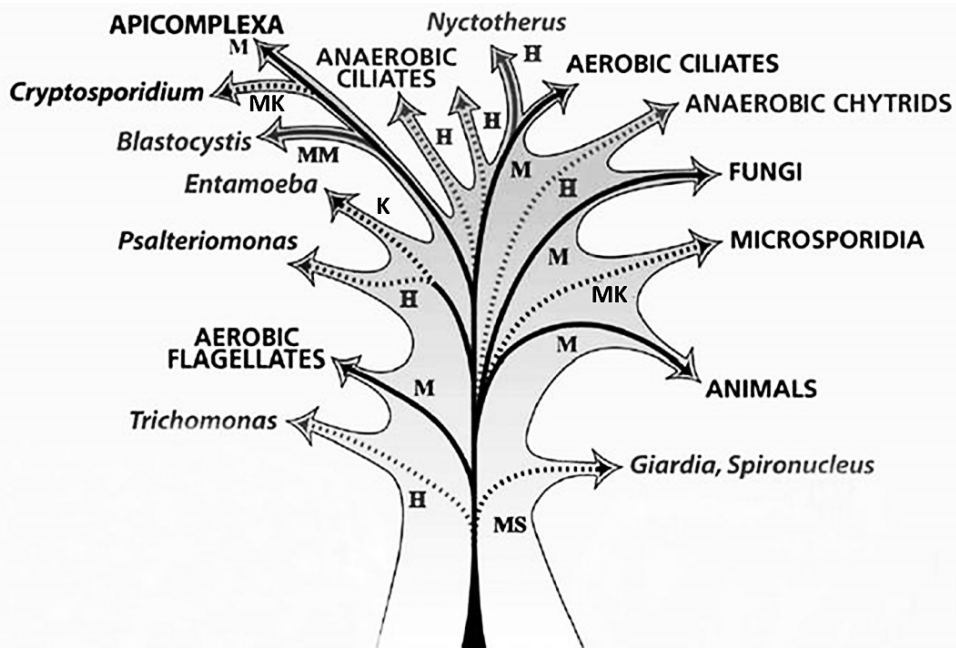
mitokondriyal soyunu doğrudan doğrulamak imkânsızdır. Dahası, çekirdekte kodlanan birkaç hidrojenozomal proteinin filogenetik analizi, mitokondriyal ata için doğrudan kanıt sağlamada yetersiz kalmaktadır. Daha ziyade, mitokondriyal ve mitokondriyal olmayan soyların bir mozaikini ortaya çıkarmıştır (Bui ve ark., 1996; Germot ve ark., 1996; Akhmanova ve ark., 1998; Hackstein ve ark., 1999; Horner ve ark., 1999; 2000; Voncken ve ark., 2002).

Şimdiye kadar elde edilen veriler, tanımlanmış tüm hidrojenozomların mitokondri ile ilgili olduğu hipotezini desteklemektedir (Embley ve ark., 2003). Fungal hidrojenozomlarının başka bir ökaryotik organel olan peroksizomla ilişkili olduğuna dair daha önce de önerilmiş olan hipotez son çalışmalarla pek mümkün görünmemektedir (Embley ve ark., 2003). Hidrojenozomların mitokondri ile ilişkili olduğuna dair en ikna edici kanıtlar, her iki organelde de aynı karmaşık yolların kullanılarak proteinlerin konakçı tarafından ifade edildiğini gösteren deneyler ile olmuştur (Embley ve ark., 2003). Hidrojenozomlarda görevli herhangi bir protein öncelikle sitozolde sentezlenmeli ve daha sonrasında doğru bir şekilde hedef organel içerisine aktarılmalıdır (Embley ve ark., 2003). Mitokondriler bir genom içerseler de, proteinlerinin birçoğu konakçı çekirdek genomu tarafından kodlanır. Şimdiye kadar mitokondrilerde, iki ana protein taşıma yolu belirlenmiştir (Pfanner ve



Geissler, 2001). Mitokondrilerin zarında görevli proteinler, dahili hedefleme sinyalleri tarafından varış yerlerine yönlendirilir. Diğer bir taşıma yolunu kullanan mitokondriyal matriste görevli proteinler ise, organel içerisine taşıma sırasında parçalanan amino terminallerinde bir hedefleme dizisi taşıyan ön proteinler olarak sentezlenerek taşınırlar (Embley ve ark., 2003). Mitokondrilerde protein taşıma sistemlerinin geliştirilmesi, organelin evrimindeki ilk ve önemli bir adım olarak görülür ve endosimbiyotik bir bakteri olarak alfa-proteobakteriyel soydan geldiği kabul edilir (Gray ve ark., 1999; Embley

ve ark., 2003). Mitokondriyal protein taşıma mekanizması karmaşıktır ve taşımanın doğruluğu son derece önemlidir. Bu metabolik yolların farklı organellerden evrimleşmiş olma olasılığı çok düşüktür. Aslında, yanlış proteinin yanlış organelde gönderilmesi, hücre için korkunç sonuçlar doğurabilir. Örneğin, öldürücü insan hastalığı olan primer hiperoksalüri tip I, alanin:glioksalat aminotransferaz enziminin, normalde işlev gördüğü peroksizomlardan ziyade mitokondriye yanlış yönlendirilmesinden kaynaklanır (Embley ve ark., 2003).



Şekil 4. Çeşitli moleküler verilere dayanarak oluşturulmuş aerobik ve anaerobik protistler arasındaki filogenetik ilişkiyi göstermek için mitokondri, modifiye edilmiş mitokondri, mitokondriyal kalıntılar ve hidrojenozomlardan oluşan evrim ağacıdır. Düz çizgiler, mitokondriyal genomların analizine dayanan filogenetik ilişkileri gösterir. Kesikli çizgiler, organel genom kaybını gösterir. Kısaltmalar: K, kripton; H, hidrojenozomlar; M, mitokondri; MM, modifiye edilmiş mitokondri; MK, mitokondriyal kalıntı; MS, mitozom (Hackstein'dan (2005) uyarlanmıştır).

Anaerobik fungusların hidrojenozomlardan ADP/ATP taşıyıcılarının fonksiyonel ve filogenetik analizi, bu organeller için bir fungal mitokondriyal kökeninin olduğunu açıkça gösterir (Voncken ve ark., 2002; Tjaden ve ark., 2004). AF hidrojenozomlarının bir genomdan yoksun olduğu göz önüne alındığında, ADP/ATP taşıyıcıları ve HSP60, bu organellerin evrimsel tarihinin izini sürmek için en iyi belirteçler olarak görülmektedir. Her iki genin filogenetik analizi fungal mitokondriyal soyunu ortaya çıkarabilir (Voncken ve ark. 2002).

AF hidrojenozomları, ökaryotik hücrenin evrimi için Martin-Müller hidrojen hipotezinin temelini oluşturan *Trichomonas*'ın hidrojenozomlarından açıkça farklıdır (Tablo 1). Hem organelin kökeni hem de anoksik

ortamlara uyum sağlamak için evrimsel stratejileri birbirlerinden farklı gibi gözükmektedir. *Trichomonas*'ın hidrojenozomlarında bir genomdan yoksun oluşu, hidrojenozomal ADP/ATP taşıyıcılarının analizi, hidrojen hipotezi lehine veya aleyhine ipuçları sağlayabilir. Bununla birlikte, trikomonad hidrojenozomları, mitokondriyal tip ADP/ATP taşıyıcılarını barındırmaz (Tjaden ve ark., 2004). Bunun yerine, mitokondriyal taşıyıcı ailesinin farklı bir üyesi olan HMP31'i kullanır. Bu protein mitokondriyal tip ADP/ATP taşıyıcılarından filogenetik ve biyokimyasal olarak farklıdır (Dyall ve ark., 2000; Tjaden ve ark., 2004).

Hidrojenozomların, yalnızca yukarıda tartışılan trichomonadlarda, siliatlarda ve AF'larda değil, aynı



zamanda diğer geniş ölçüde ayrılmış ökaryot soylarında da tekrar tekrar evrimleşmiş olabileceğine dair bazı kanıtlar vardır. Hidrojenozomlar, amiplerde (*Monopylocystis*, *Sawyeria*) ve *Trimastix*, oksimonadlar ve trikomonadlar gibi çeşitli kamçılı ökaryotlarda tanımlanmıştır (Embley ve Martin 1998; Roger, 1999; Hackstein ve ark., 2001; Martin ve ark., 2001; Embley ve ark., 2003). Hayat Ağacı'na baktığımızda hidrojenozom taşıyan organizmaların düzensiz dağıldığını görürüz (Şekil 4). Hayat Ağacı, bir 18S rRNA filogenisine dayanmaktadır ve bu ağaç belirli evrimsel ilişkileri çözmek için pek uygun görünmemektedir (Embley ve ark., 2003). Belirli özelliklerin ortaya çıkartılmasında daha ayrıntılı ağaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle mitokondrinin monofiletiği, yalnızca tam mitokondriyal genomlar temelinde kurulabilir (Gray ve ark., 1999). Ancak *N. ovalis* dışında hidrojenozomlarda bir genomun tespit edilememiş olması filogenetik ilişkilerin ortaya çıkartılmasını zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte konakçı filogenileri, hidrojenozomların tekrar tekrar mı evrimleştiği, aynı veya farklı endosimbiyotik atalardan mı evrimleştiği gibi soruları ele alırken yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, tüm hidrojenozomların mitokondriden veya hem mitokondri hem de hidrojenozomlarda ortak olan bir atadan evrimleştiğine dair açık bir kanıt henüz belirlenmemiştir (Gabaldon ve Huynen 2003; Dyall ve ark., 2004).

Hidrojenozomal genomların eksikliğinden dolayı, potansiyel bir mitokondriyal soy, yalnızca çekirdekte kodlanan "organel" genlerin filogenetik analizinden çıkarılabilir (van der Giezen ve ark., 1997b; Clemens ve Johnson 2000; Hackstein ve ark., 2001; Embley ve ark., 2003; Dyall ve ark., 2004). Bu tür proteinler ise sitoplazmada sentezlenir ve ardından hidrojenozoma aktarılır. Bu bilginin tam olarak aydınlatılması için, hidrojenozom içeren konakçıların tüm genom ve proteomları ortaya çıkartılmalıdır. Aksi takdirde sadece teoride kalacaktır. Dahası, bu proteinleri kodlayan genlerin filogenetik analizi hatalı bilgi verebilir. Çünkü mitokondriyal proteinlerin çoğu farklı atalara sahiptir (Yarlett ve Hackstein, 2005).

Sonuç olarak AF hidrojenozomlarının evrimsel geçmişi hakkında çözülmesi gereken pek çok soru güncelliğini korumaktadır. Elde edilen bilgi ve bulgular ışığında AF hidrojenozomlarının mitokondrilerle yakından ilişkili oldukları hatta mitokondrilerin anaerobik çevreye adaptasyonunun bir yansıması olduğu söylenebilir. Ancak hidrojenozomların mitokondriler gibi münferit bir genomdan yoksun oluşu bu sonuç için gerekli kanıtların başka kaynaklardan elde edilmesini gerekli kılmaktadır. Hidrojenozomları barındıran konakçıların tüm genom ve

proteom bilgilerinin ortaya çıkarılması konunun daha fazla aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

Omik'ten Gelen Veriler

AF'ların lignoselülolitik yetenekleri biyoteknolojik açıdan ilgi uyandırıcıdır. Ancak sıcaklığa duyarlılıkları, sitrik anaerobik oluşları, nispeten yavaş büyümeleri ve özel besiyeri gereksinimleri, bunlara olan ilgiyi azaltan zorluklardır (Wilken ve ark., 2021). Dahası, genomları yüksek oranda AT içerir ve tekrar zenginidir, bu da DNA nükleotit dizi analizini ve genetik mühendisliğinin işini zorlaştıran noktalardır (Youssef ve ark., 2013; Haitjema ve ark., 2014). Anaerobik funguslar için henüz iyi bir genetik mühendislik aracı geliştirilmemiştir. Buna ek olarak metabolizmalarını araştırmak, anlamak ve düzenlemek için kullanılacak klasik moleküler biyoloji teknikleri de yetersizdir. Ancak günümüzde yaygın olarak kullanılmaya başlayan –omik yaklaşımlar, fizyolojilerini incelemede kantitatif araçların yetersiz olduğu, büyük ölçüde karakterize edilememiş olan AF hidrojenozomunun fizyolojik ve metabolik özelliklerini anlamamıza yardımcı olabilir. Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomiklerin saf/karışık kültürler ve çevresel örneklerdeki çalışmalara uygulanması bu süreçte paha biçilmez olacaktır.

Aerobik funguslara nazaran çalışılması daha zor olan AF'ların genomik analizler kullanılarak tüm nükleotit dizisi açığa çıkarılmıştır. AF'ların funguslar arasında hem en fazla sayıda hem de en yüksek çeşitlilikte lignoselülolitik enzimlere sahip olduğunu, bunların lignoselüolitik substratları, örneğin tarımsal atıkları fermente edilebilir şekerlere ayrıştırma yeteneklerinin diğer enzimlere oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Edwards ve ark., 2017; Wilken ve ark., 2021).

Ortolog protein gruplarının kümelenmesi şeklinde yapılan transkriptomik analizlerle birlikte bazı hidrojenozomal metabolik yollarda yer alan proteinler tanımlanmıştır (Edwards ve ark., 2017). Yakın zamanda yapılan transkriptomik ve genomik analizler, bu mantarların, lignoselüolitik bitki biyokütlesini ayrıştırmada mükemmel şekilde tasarlanmış inanılmaz bir karbonhidrat-aktif enzim (CAZymes) çeşitliliği barındırdığını ortaya çıkarmıştır (Wilken ve ark., 2021).

Proteomikler, transkriptomikler ve metabolomikler arasındaki boşluğu doldurur ve proteinlerin büyük ölçekli analizine izin verir. Proteomikler, doğal veya çevrilmiş proteom analizi olarak sınıflandırılabilir (Chang ve Park, 2020). Protein tanımlaması, her proteinin elde edilen peptit kütlesi sonuçlarının bir veri tabanına göre araştırılmasıyla gerçekleştirilir; protein veri tabanı, bir proteinin tanımlanmasında başarı için anahtar faktördür.



NCBI veri tabanında halihazırda mevcut olan 452 protein dizileri içinde (rumen bakteriyel protein dizilerinin % 0.3'ünden daha azını oluşturur) şu anda sadece dört AF cinsi temsil edilmektedir (*Anaeromyces robustus*, *Neocallimastix californiae*, *Pecoromyces ruminatum* ve *Piromyces finnis*). 452 protein dizisinden 109 heksoz parçalayıcı enzim ve 46 pentoz parçalayıcı enzim varken, diğer dizilerin sadece 102'si glikoliz, hidrojenozom metabolizması ve pseudo-TCA döngüsü dahil hücre içi karbonhidrat metabolizması ile ilgilidir (Kwon ve ark., 2009). Özellikle, enerji ve hidrojen metabolizmasında rol oynayan mitokondri benzeri bir organel olan hidrojenozomların metabolik yolları hakkında net bir fikir birliği yoktur (Wilken ve ark., 2021). Mevcut hipotezler ise H₂ üretmek için piruvat format liyazı içeren, enerjik olarak elverişsiz bir yolun kullanıldığını veya piruvat ferredoksin oksidoredüktazı içeren hücre dışı metabolit ölçümleri tarafından desteklenmeyen bir yol kullanıldığını göstermektedir (Marvin-Sikkema ve ark., 1994; Boxma ve ark., 2004).

Potansiyellerine rağmen, karmaşık yaşam döngüleri, yeterince çalışılmamış metabolizmaları ve zorlu anaerobik kültür gereksinimleri nedeniyle bu organizmalar için mühendislik yöntemlerinin geliştirilmesi yavaş olmuştur. Ancak son yıllardaki omik temelli çalışmalar bu süreci hızlandıracak gibi görünmektedir. Bu açıdan Wilken ve ark., (2021) yaptıkları bir çalışmada AF *Neocallimastix lanati* genomunu ortaya çıkararak, lignoselülolitik enzim özelliklerini tanımlamanın ötesinde, bu genomu AF'ların ilk genom ölçekli metabolik modelini oluşturmak için kullanmışlardır. Bu çalışmada yapılan karşılaştırmalı genomik analizler *N. lanati*'nin metabolik olarak diğer nükleotit dizilemesi gerçekleştirilmiş *Neocallimastigomycota*'ya benzediğini ortaya çıkarmıştır. Ek olarak birçok CAZymes (~1,788 CAZymes) de dâhil, genomunun anlaşılmasından elde edilen ön görü, diğer AF türlerine genellenebilir olduğunu göstermiştir. Elde ettikleri model deneysel olarak doğrulanmıştır ve AF'ların çözülmemiş metabolik özelliklerine ışık tutmaktadır. Bu model, gelecekte yapılacak çalışmalarda analizlerin derinleştirmesine ve bu organizmaların biyoteknolojik kullanımı için suş mühendisliği çabalarına rehberlik edecek sistematik bir çerçeve sağlayacaktır (Wilken ve ark., 2021). Dahası elde edilen model, AF'ların hidrojenozom metabolizmasına ilişkin önceki hipotezleri doğrular ve genişletir niteliktedir. Hem model hem de deneysel veriler, piruvat format liyazın (PFL), hidrojenozomdaki piruvat ferredoksin oksidoredüktazdan (PFO) önemli ölçüde daha aktif olduğunu, ancak hidrojen oluşumunun yalnızca ikinci yolla gerçekleşebildiğini göstermiştir. İleriye dönük olarak, ilgili modelin AF

metabolizmasının belirsiz kalan ve metabolik mühendisliğinde kullanılabilmesinin yolunu açacak çalışmalara rehberlik etmesi için kullanılabilir. Aslında, model tabanlı analiz, AF'lar ile endüstriyel olarak kullanılan diğer organizmalar arasında yapılacak çalışmalarda paha biçilmez olabilir (Ranganathan ve ark., 2017; Gilmore ve ark., 2019). Bununla birlikte, endüstriyel uygulamalar için AF metabolizmasını anlamak ve düzenlemek için bu verileri sistematik bir şekilde birleştirecek bir model mevcut değildir. Genom ölçekli metabolik modeller (GEM'ler), çoklu omik veri setlerini entegre etmek için bilgi tabanı platformlar olarak hareket etmeye çok uygundur (Blazeck ve Alper, 2010; Wilken ve ark., 2021). Ayrıca hem prokaryotlardaki hem de ökaryotlardaki mühendislik yaklaşımlarında başarıyla kullanılabilme potansiyeli bu eksikliği giderebilmek için kullanılabilir (Blazeck ve Alper, 2010; Wilken ve ark., 2021). Dahası, bir GEM'in tahminlerini deneysel olarak test ederek, bir organizmanın metabolizmasının anlaşılmasını sistematik olarak geliştirmek mümkündür. İn-siliko analizlerin metabolizmayı inceleme yeteneği, doğrudan metabolik manipülasyonun zor olduğu AF'lar gibi model olmayan organizmalar açısından dikkat çekicidir (Wilken ve ark., 2021).

Hidrojenozom İçeren Organizmaların Tarım ve Biyoteknoloji Açısından Önemi

Çiftçilik faaliyetlerinin ekonomik yönden iyileştirilmesinde biyoteknolojik yöntemler son zamanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yönden anaerobik fungusların (AF) çeşitli metabolik aktivitelerinin doğrudan kullanılabilir olduğu söylenebilir (Flad ve ark., 2020). AF'lar sığır, keçi ve koyun gibi önemli herbivor çiflik hayvanlarının lif bakımından zengin yemleri sindirebilmesinin ve verimsel üretiminin ayrılmaz bir parçasıdır (Gruninger ve ark., 2014). Bu nedenle biyoteknolojik yöntemler kullanılarak yemlerden yararlanılma oranlarının artırılabilmesi için hayvan sindirim sistemi değiştirilebilir veya geliştirilebilir (Gordon ve Phillips 1998; Flad ve ark., 2020). Benzer bir durum tarımsal atıklardan etanol üretimi ve metanojenlerle birlikte kullanılarak metan (biyogaz) oluşum süreçleri için de geçerlidir. Buna göre AF'ların tarım ve biyoteknolojik açıdan önemini üç başlık altında elde alabiliriz.

1. Herbivor Hayvan Sindirim Sistemi Üzerine Etkisi: AF'lardaki güçlü Karbonhidrat-Aktif enzimleri, herbivordalarda lignoselülozik biyokütlenin kullanımını artırma potansiyeline sahiptir (Flad ve ark., 2020). Bunun için iki farklı strateji önerilmiştir; bunlardan ilki hayvan yemlerinin AF'lar kullanılarak ön işlemden geçirilmesi şeklinde iken diğeri ise AF'ların tıpkı bir probiyotik takviye



gibi hayvan yemlerine dahil edilmesidir (Flad ve ark., 2020). AF'ların Bufalo ve Holstein-Friesian buzağlarında probiyotik olarak doğrudan yemlerde kullanılması, rumen fermantasyon özelliklerini (pH, uçucu yağ asitleri ve nitrojen içeriği), ruminal mikrobiyal popülasyonunu ve CAZyme aktivitelerini geliştirmiştir (Dey ve ark., 2004; Tripathi ve ark., 2007; Paul ve ark., 2011). Bunun sonucunda hayvanlarda büyüme hızı, besinlerin sindirilebilirliği ve nitrojen oranında artış görülmüştür (Flad ve ark., 2020). Emziren bufalolarda, anaerobik mantarların uygulanması da süt yağını % 6'ya kadar artırmıştır (Saxena ve ark., 2010). Benzer bir durum koyunlarda kullanılan *Orpinomyces* sp. kültürleri için de geçerlidir. *Orpinomyces* sp. tarafından üretilen hidrolazlar fermantasyon parametrelerine pozitif yönde etki etmiştir (Lee ve ark., 2000). Bu çalışmalar, AF'ların hayvansal üretim açısından önemli olan yemlerden yararlanma oranını artırmak için bir probiyotik olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Ancak ekonomik kazanımları ve istenilen etkiyi sürdürebilmek için AF'ların oral dozlarda hayvanlara tekrar tekrar uygulanmasını göz ardı etmemek gereklidir (Ribeiro ve ark., 2016; Flad ve ark., 2020).

2. Biyoetanol Üretiminde Kullanımı: Biyoetanol üretimi son yıllarda önemli ölçüde artmıştır (Balat ve Balat 2009). Biyoetanol üretiminde ticari olarak, lignoselülozu sindiremeyen ancak genetik olarak değiştirilmiş *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* ve *Escherichia coli* suşları kullanılmaktadır (Yang ve ark., 2007). Biyoetanol üretimindeki sınırlayıcı faktör, fermente olabilen şekerlerin dayanıklı lignoselülozik biyokütleden uzaklaştırılmasıdır (Dashtban ve ark., 2009; Flad ve ark., 2020). Bu süreç genellikle öğütme, alkali veya asit hidrolizi, iyonik sıvılar ile yapılan ön işlem veya buhar basıncı gibi maliyetli mekanik ve/veya kimyasal işlemler uygulanarak aşılmaya çalışılmaktadır (Sharma ve ark., 2019; Flad ve ark., 2020). AF'ların ön işlem görmemiş lignoselülozik biyokütleyi fiziksel ve enzimatik olarak parçalama yetenekleri, biyoetanol üretiminde bitki biyokütlesinin alternatif bir mikrobiyal dönüşümü için önemli bir aday haline getirmektedir (Flad ve ark., 2020). AF'ların bu süreçlerde kullanılmasının önündeki en büyük engel zorunlu anaerob olmalarıdır (Bauchop ve Mountfort, 1981). Biyoteknolojideki gelişmeler ile bu süreç aşılmaya çalışılmaktadır. Başlangıçta lignoselüloolitik enzimlerin üretiminin artırılması için fiziksel ve kimyasal mutasyonlardan yararlanılırken, günümüzde rekombinant DNA teknolojisi, CRISPR (düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri) ve protein mühendisliği kullanılarak oldukça güçlü etkin fibrolitik enzimleri üretmemizi sağlayan modern

yaklaşımlar bulunmaktadır (Akyol ve ark., 2009; Hooker ve ark., 2019). Bu açıdan AF'lardaki fibrolitik enzim genlerinin DNA ve amino asit dizilerine ait verilerinin hızlı bir şekilde ortaya çıkartılması, enzimleri kodlayan genlerin klonlanması ve heterolog olarak *E. coli* gibi bir konakta ifade edilmesi, etanol üretiminde artışa neden olacaktır (Warren, 1996; Akyol ve ark., 2009). Seçilmiş ve değiştirilmiş suşların kullanılmasıyla biyoetanol üretiminde maliyeti düşürmesinin yanında üretime katkı sağlama potansiyeline sahip olduğu açıktır (Ranganathan ve ark., 2017; Flad ve ark., 2020). Lignoselülozik biyokütleden biyoetanol üretimindeki bir başka sınırlama, birçok etanol üreten mayanın, hemiselülozda bol miktarda bulunan ksiloz ve arabinoz gibi 5-karbonlu şekerleri fermente edememesidir (Flad ve ark., 2020). Mayalar tarafından pentoz şekerlerini fermente etme yeteneğinin kazanılması, ikinci nesil enerji üretim şekillerinden olan biyoetanol üretimi için önemli bir önceliktir (Yang ve ark., 2007). AF'ların hemiselülozu parçaladığı ve hem pentoz hem de heksoz şekerleri fermente ettiği uzun zamandır bilinmektedir (Theodorou ve ark., 1996). Yapılan bir çalışmada *Piromyces* sp. E2'deki ksiloz izomeraz genin *Saccharomyces cerevisiae*'de başarıyla ifade edilebilir olduğunu göstermiştir (Yang ve ark., 2007). Bunun sonucu olarak gerek *E. coli* gerekse *Saccharomyces cerevisiae* gibi biyoetanol üretiminde kullanılan mikroorganizmaların manipülasyonunda AF genlerin kullanılabilir olduğu söylenebilir.

3. Biyogaz Oluşumu Üzerine Etkisi:

Günümüzde, bitkisel biyokütlenin anaerobik olarak sindirilmesiyle birlikte ortaya çıkan biyogaz ve sindirim ürünleri, yenilenebilir enerjinin yanında gübre ve toprak besleyici olarak kullanılmaktadır (Strzalka ve ark., 2017; Flad ve ark., 2020). Ancak ticari açıdan önemli olan bu süreçlerde AF'lar göz ardı edilmektedir (Flad ve ark., 2020). Anaerobik sindirim sistemlerinde bakteriler ve metanojenik arkelerden oluşan karma bir mikrobiyal karışım, lignoselülozik atıklar, hayvan gübresi ve gıda işleme atıkları gibi substratları biyogaza dönüştürür (Schnürer, 2018; Flad ve ark., 2020). Biyogaz, metan (% 50-75) ve karbondioksit (% 25-50) ile eser miktardaki hidrojen, hidrojen sülfid ve amonyak gibi gazların bir karışımıdır (Flad ve ark., 2020). Biyogaz, elektrik üretiminden evsel, ticari ve endüstriyel ısıtmada yakıt olarak kullanılmak üzere çeşitli şekillerde biyo-metana dönüştürülebilir (Schnürer, 2016).

Biyogaz tesislerinde üretilen gazın yeterli miktarda ve kalitede olabilmesi için uygulanan koşulların mümkün olduğu kadar rumene benzemesi gerekmektedir (Flad ve ark., 2020). Çünkü yüksek bir metan verimliliği için bu şarttır. Rumen sabit bir sıcaklıkta (~39 °C), düşük redoks



potansiyeli (-0.4 V), neredeyse nötr pH değeri, oksijensiz ve sürekli bir yem akışının olduğu dinamik bir ortamdır (Weimer ve ark. 2009; Flad ve ark., 2020). Ancak rumen ortamını biyogaz reaktörleri ile kıyasladığımızda hammaddelerin veya yemlerin yeterli bir şekilde parçalanması için daha kısa bir süre gereklidir (Stern ve ark., 1983; Mohamed ve Chaudhry, 2008). Bir diğer fark ise AF'lar genellikle biyogaz üreten mikrobiyal popülasyonda bulunmazlar (Flad ve ark., 2020). Bunun en önemli nedenlerinden birisi AF'ların fermentasyon sonucu biyo-metan üretmemeleridir. Ancak AF'lar metanojenik arkeler tarafından kullanılabilen biyokimyasal substratlar üretirler (Cheng ve ark., 2009). Bu nedenle, biyogaz reaktörlerine AF'ların eklenmesi lignoselülozun biyogaza dönüşümünü artırmaya ve hızlandırmaya yardımcı olabilir (Nagler ve ark., 2019; Flad ve ark., 2020). Bugüne kadar yapılan çoğu araştırma, laboratuvar ölçekli biyoreaktörlere AF'ların eklenmesi ile yapılmıştır. Ferraro ve ark., (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *Neocallimastix* sp. ve *Orpinomyces* sp. karışık fungus kültürü ile yine karşılık rumen bakteri kültürünün kullandıkları biyoreaktörde buğday samanından yüksek oranda metan üretilebilir olduğunu göstermişlerdir.

Tabi bu özelliklerin yanında bazı dezavantajları da söz konusudur. Örneğin ısı, oksijen ve pH gibi ortam değişikliklerinden çabuk etkilendikleri gibi hızla büyüyen prokaryotik rakiplere göre daha kısa hayatta kalma süreleri önemli sorunları ortaya çıkarmaktadır. Çeşitli çalışmalarda AF'ların reaktörlerdeki hayatta kalma süreleri moleküler yollarla izlenmiştir (Procházka ve ark., 2012; Dollhofer ve ark., 2018). AF'ların reaktör çamurunda zamanla azaldığı ve 7-10 gün sonra tesbit edilemediği bulunmuştur (Procházka ve ark., 2012; Dollhofer ve ark., 2018; Flad ve ark., 2020). Bir diğer çalışmada %30 sığır gübresi ile çalışan tam ölçekli tarımsal biyogaz tesislerinde AF'ların varlığı transkripsiyonel aktivite yoluyla belirlenmeye çalışılmıştır (Dollhofer ve ark., 2017; Young ve ark., 2018). Bu ticari biyogaz tesislerinde, *Anaeromyces*, *Neocallimastix*, *Orpinomyces*, *Caecomyces*, *Cyllamyces* ve *Piromyces* cinslerine ait AF DNA'sının yanında henüz tanımlanmamış dört adet AF sınıfı birlikte tespit edilmiştir. Ayrıca, mRNA seviyesinde AF GH5 endoglukanazlarının sınırlı transkripsiyonu da belirlenmiştir. Bu sonuçlar, potansiyel olarak aktif AF'ların reaktöre dışkı yoluyla geçtiğinin, ancak biyogaz tesislerindeki koşullar göz önüne alındığında fungusların muhtemelen hayatta kalamadığını göstermektedir (Flad ve ark., 2020).

AF'ların biyogaz üretiminde kullanılması için alternatif yolların bulunması gereklidir. Alternatif bir yol olarak

görülen AF'lar ve metanojenlerin ortak kültürlerinin kullanıldığı çalışmalarda, fungal rizoidlerinin ve sporangianın yüzeyine yapışmış halde metanojenlerin olduğu görülmüştür (Bauchop ve Mountfort 1981; Leis ve ark., 2014). Bu AF hidrojenozomlarından metanojenlere türler arası hidrojen vb. ürünlerin transferini ve fungal canlılığının korunmasında metanojenlerin destek sağladığını göstermektedir. Şimdiye kadar *Piromyces*, *Neocallimastix*, *Orpinomyces*, *Caecomyces* ve *Anaeromyces* cins örnekleri ile birlikte *Methanobrevibacter* ve *Methanobacterium*'un ortak kültürlerde yaşayabildiği bildirilmiştir (Jin ve ark., 2011; Swift ve ark., 2019). Ortak kültürler, fungal monokültürü ile karşılaştırıldığında daha fazla hidrojen, format, asetat, metan üretir ve genellikle enzim aktivitesini artırır (Bauchop ve Mountfort 1981; Jin ve ark., 2011; Li ve ark., 2016). Bu nedenle, birlikte kültürlen metanojenler, AF'ların metabolizmasını ve lignoselüloz parçalayıcı aktivitesini değiştirebilir. Ortak kültürlerin parçalama ve metan üretme yeteneği stabildir (Bauchop ve Mountfort 1981; Li ve ark., 2016). Anaerobik mantarların ve metanojenlerin kararlı ortak kültürleri ve daha hızlı biyogaz üretim oranları ticari biyogaz üretimi için önemli bir avantajdır (Flad ve ark., 2020). Bununla birlikte, anaerobik mantarların doğal biyogaz süreçlerindeki rolleri ve hayatta kalmasına ilişkin bilgilerimiz henüz tam olarak yeterli düzeye ulaşamamıştır. Bu nedenle, bu araştırma alanı büyük olasılıkla gelecekte daha fazla ilgi görecektir.

Gelecekte Beklentiler

Hidrojenozomların evrimi ve anaerobik metabolizmalarının kökenleri hala tartışılan konulardır (Martin ve Müller, 1998; Martin ve ark., 2015; Stairs ve ark., 2015; Spang ve ark., 2019). Bunun en önemli nedenlerinden birisi hidrojenozomal bir genomun belirlenememiş olmasıdır (van der Giezen ve ark., 1997b, Clemens ve Johnson 2000, Hackstein ve ark., 2001). Potansiyel bir mitokondriyal ata yalnızca çekirdekteki genomun filogenetik analizinden çıkarılabilir (Embley ve ark., 2003, Dyal ve ark., 2004). Çekirdekte kodlanan organel genlerin ifade edilmesiyle proteinler stoplazmada sentezlenir ve ardından hidrojenozoma aktarılır (Lewis ve ark., 2020). Tabi bu görüş tüm hidrojenozomların proteomları ve konakçılarının tüm genomları çözülene kadar eksik olarak kalacaktır. Dahası, bu proteinleri kodlayan genlerin filogenetik analizleri hatalı bilgiler sağlayabilir, bunun en önemli nedeni mitokondriyal proteinlerin bir çoğunun farklı kökenlere sahip olması gösterilebilir (Lewis ve ark., 2020). Ayrıca hidrojenozomal fonksiyon için çok önemli olan proteinler (hidrojenazlar, piruvat: ferredoksin oksidoredüktazlar veya piruvat format



liyazlar), aerobik bir ökaryotik hücrenin veya organellerinin proteinlerine benzemezler (Lewis ve ark., 2020). Bu açıdan önümüzdeki yıllarda bu konuların aydınlatılması gereklidir.

Hidrojenozomlar, tipik olarak ökaryotlardan ziyade bakterilerle ilişkilendirilen bir metabolizma türü olan Fe-Fe-hidrojenaz enzimini kullanarak H₂ üretirler (Müller, 1993; Embley ve ark., 1997; Horner ve ark., 2000; Müller ve ark., 2012; Stairs ve ark., 2015). AF tarafından üretilen fazla H₂'ye karşılık, metanojenler AF büyümesi ve aktivitesi üzerinde yararlı bir etkiye sahiptir. Tek başına AF kültürlerinden ziyade metanojenler ile yapılan ortak kültürlerin selüloolitik enzim aktivitesi ve kuru maddenin sindirilmesi açısından daha etkili olduğu kanıtlanmıştır (Bauchop and Mountfort, 1981; Jin ve ark., 2011). AF ve metanojen ortak kültürlerinin, bitki materyalini içeren lignoselülozu hızla metana dönüştürme yeteneği, biyoteknolojik uygulamalar için de iyi bir potansiyele sahiptir (Cheng ve ark., 2009; Jin ve ark., 2011; Peng ve ark., 2016). Geviş getiren hayvanlarda metan üretimi, fermantasyonun olumsuz bir sonucu olarak görülmektedir. Geviş getiren hayvanlarda, H₂'nin büyük miktarlarda metan formuna dönüşmesi, önemli bir antropojenik metan kaynağı olmanın yanı sıra hayvan için de bir enerji kaybına neden olur. AF'lar ve arkeler arasındaki etkileşimin tam olarak aydınlatılması veya değiştirilebilir olması birçok teknoloji için kullanılabilir. Örneğin, çiftlik hayvanlarında metanojenez, küresel metan üretimine ve dolayısıyla sera gazı emisyonlarına önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir (Li ve ark., 2006). AF'ların genom mühendisliği araçları kullanılarak yeniden yapılandırılabilir. Bunun sonucunda hayvanlarda metan üretimi engellenebilir veya biyogaz üretimini artırmak için AF metabolomu kullanılabilir. Şöyle ki biyogaz üretimi substrat kompozisyonu ve AF suşuna bağlı olarak %4–22 oranında arttığı belirlenmiştir (Callaghan ve ark., 2015, Henske ve ark., 2018). Bu süreç hayvancılık faaliyetlerinde uygulanabilir olmasıyla birlikte ekonomik etkiyi artırırken sera gazı emisyonlarını azaltabilir (Callaghan ve ark., 2015, Henske ve ark., 2018). Biyogaz üretimi hammadde bileşiminden önemli ölçüde etkilenebileceğinden, bileşim değişikliklerine dayanıklı mikrobiyal konsorsiyum geliştirmek, üretim istikrarını ve

verimliliğini korumak için kritik öneme sahip olacaktır (Gold ve ark., 1988). Alternatif olarak, metabolik mühendisliği, AF'lar tarafından biyolojik hidrojen üretimini arttırmak için kullanılabilir. Bununla birlikte, biyolojik hidrojen üretimi veya biyogaz platformları için anaerobik mantarların geliştirilmesi, genom, metabolik ve organel mühendisliğinde önemli ilerlemeler gerektirecektir (Chang ve Park, 2020).

Sonuç

Şimdiye kadar hidrojenozomlar hakkında elde edilen bilgilerin büyük çoğunluğu protozoa ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Rumen funguslarında *Neocallimastix* ve *Piromyces* dışındakilerde herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Diğer 18 cins'te (*Orpinomyces*, *Anaeromyces*, *Caecomyces*, *Cyllamyces*, *Buwchfawromyces*, *Oontomyces*, *Liebetanzomyces*, *Pecoromyces*, *Feromyces*, *Ghazallomyces*, *Aklioshbomyces*, *Agriosomyces*, *Capellomyces*, *Joblinomyces*, *Khoyollomyces*, *Tahromyces*, ve *Aestipascuomyces*, *Paucimyces*) (Fliegerova ve ark., 2021; Hanafy ve ark., 2021) yapılacak çalışmalar ile birlikte hidrojenozomlardaki kayıp halkalarının tamamlanması öngörülmektedir. Bununla birlikte rumen funguslarının PFO yerine neden PFL'yi tercih ettiği, ayrıca PFL'nin hem sitoplazmada hem de hidrojenozomda aktivite göstermesinin nedenleri hala belirsizliğini korumaktadır. Hidrojenozomların hücre bölünmesinden hemen önce ikiye bölünme şeklinde çoğaldıkları düşünülmektedir. Bölünmeleri hakkındaki bilgiler çok azdır ve hala çözülmeyi bekleyen önemli sorulardan birisidir. *T. vaginalis* hidrojenozomları üzerinde yapılan proteom çalışmaları 200 farklı proteinin belirlenmesini sağlarken, benzer proteinlerin sayısının mayalara ait mitokondrilerde 700 olduğu gösterilmiştir (Henze, 2007). Burdan yola çıkılarak, *Neocallimastigomycota* içerisindeki rumen funguslarının metabolik yeteneklerini, hücresel süreçlerini, evrimsel geçmişlerini ve adaptasyonlarını anlamamız için -omics (genomik, transkriptomik ve proteomik) yöntemlerinin değerli bilgiler vereceği söylenebilir.

Kaynaklar

- Akhmanova, A., Voncken, F., van Aalen, T., van Hoek, A., Boxma, B., Vogels, G. ... and Hackstein, J. H. (1998). A hydrogenosome with a genome. *Nature*, 396(6711), 527-528.
- Akhmanova, A., Voncken, F. G., Hosea, K. M., Harhangi, H., Keltjens, J. T., Op Den Camp, H. J. ... and Hackstein, J. H. (1999). A hydrogenosome with pyruvate formate-lyase: Anaerobic chytrid fungi use an alternative route for pyruvate catabolism. *Mol. Microbiol.*, 32(5), 1103-1114.
- Akyol, I., Comlekcioglu, U., Kar, B., Ekinci, M. and Ozkose, E. (2009). Cloning of a xylanase gene xyn2A from rumen fungus *Neocallimastix* sp. GMLF2 in *Escherichia coli* and its partial characterization. *Biologia*, 64(4), 664-670.



- Balat, M. and Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Applied energy*, 86(11), 2273-2282.
- Bauchop, T. and Mountfort, D. O. (1981). Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogens. *Appl Environ Microbiol*, 42(6), 1103-1110.
- Benchimol, M., Leal, D., Mattos, A. and Diniz, J.A.P. (1997). Fine structure of *Trichomonas gallinae*. *Biocell*, 21, 47-58.
- Benchimol, M., Almeida, J.C.A. and de Souza, W. (1996). Further studies on the organization of the hydrogenosome of *Tritrichomonas foetus*. *Tissue Cell*, 28, 287-299.
- Benchimol, M. and De Souza, W. (1983). Fine Structure and Cytochemistry of the Hydrogenosome of *Tritrichomonas foetus* 1. *J. Protozool*, 30(2), 422-425.
- Benchimol, M. (2000). Ultrastructural characterization of the isolated hydrogenosome in *Tritrichomonas foetus*. *Tissue Cell*, 32, 1-9.
- Benchimol M. (2007). *Structure of the Hydrogenosomes* (in this volume). Springer, Heidelberg.
- Blazeck, J. and Alper, H. (2010). Systems metabolic engineering: Genome-scale models and beyond. *Biotechnology journal*, 5(7), 647-659.
- Boxma, B., Voncken, F., Jannink, S., Van Alen, T., Akhmanova, A., Van Weelden, S. W. ... and Hackstein, J. H. (2004). The anaerobic chytridiomycete fungus *Piromyces* sp. E2 produces ethanol via pyruvate: formate lyase and an alcohol dehydrogenase E. *Mol. Microbiol.*, 51(5), 1389-1399.
- Boxma, B., de Graaf, R. M., van der Staay, G. W., van Alen, T. A., Ricard, G., Gabaldón, T. ... and Hackstein, J. H. (2005). An anaerobic mitochondrion that produces hydrogen. *Nature*, 434(7029), 74-79.
- Broers, C. A., Stumm, C. K., Vogels, G. D. and Brugerolle, G. (1990). *Psalteriomonas lanterna* gen. nov., sp. nov., a free-living amoeboflagellate isolated from freshwater anaerobic sediments. *Eur J Protistol*, 25(4), 369-380.
- Bui, E. T., Bradley, P. J. and Johnson, P. J. (1996). A common evolutionary origin for mitochondria and hydrogenosomes. *Proc Natl Acad Sci*, 93(18), 9651-9656.
- Burki, F. (2016). Mitochondrial evolution: going, going, gone. *Current Biology*, 26(10), 410-412.
- Callaghan, T. M., Podmirseg, S. M., Hohlweck, D., Edwards, J. E., Puniya, A. K., Dagar, S. S. and Griffith, G. W. (2015). *Buwchfawromyces eastonii* gen. nov., sp. nov.: a new anaerobic fungus (*Neocallimastigomycota*) isolated from buffalo faeces. *MycKeys*, 9, 11-28.
- Cavalier-Smith, T. (1983). A 6-kingdom classification and a unified phylogeny. *Intracellular space as oligogenetic ecosystem*, 1027-1034.
- Chang, J. and Park, H. (2020). Nucleotide and protein researches on anaerobic fungi during four decades. *J Anim Sci Technol*, 62(2), 121.
- Cheng, Y. F., Edwards, J. E., Allison, G. G., Zhu, W. Y. and Theodorou, M. K. (2009). Diversity and activity of enriched ruminal cultures of anaerobic fungi and methanogens grown together on lignocellulose in consecutive batch culture. *Bioresour Technol*, 100(20), 4821-4828.
- Clemens, D. L. and Johnson, P. J. (2000). Failure to detect DNA in hydrogenosomes of *Trichomonas vaginalis* by nick translation and immunomicroscopy. *Mol Biochem Parasitol*, 106(2), 307-313.
- Dacks, J. B., Dyal, P. L., Embley, T. M. and van der Giezen, M. (2006). Hydrogenosomal succinyl-CoA synthetase from the rumen-dwelling fungus *Neocallimastix patriciarum*; an energy-producing enzyme of mitochondrial origin. *Gene*, 373, 75-82.
- Dashtban, M., Schraft, H. and Qin, W. (2009). Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. *Int J Biol Sci*, 5(6), 578.
- De Graaf, R. M., Ricard, G., Van Alen, T. A., Duarte, I., Dutilh, B. E., Burgdorf, C. ... and Hackstein, J. H. (2011). The organellar genome and metabolic potential of the hydrogen-producing mitochondrion of *Nyctotherus ovalis*. *Mol Biol Evol*, 28(8), 2379-2391.
- Dey, A., Sehgal, J. P., Puniya, A. K. and Singh, K. (2004). Influence of an anaerobic fungal culture (*Orpinomyces* sp.) administration on growth rate, ruminal fermentation and nutrient digestion in calves. *Asian Australas J Anim Sci*, 17(6), 820-824.
- Dollhofer, V., Callaghan, T. M., Griffith, G. W., Lebuhn, M. and Bauer, J. (2017). Presence and transcriptional activity of anaerobic fungi in agricultural biogas plants. *Bioresour Technol*, 235, 131-139.
- Dollhofer V., Dandikas V., Dorn-In S., Bauer C., Lebuhn M. and Bauer J. (2018). Accelerated biogas production from lignocellulosic biomass after pre-treatment with *Neocallimastix frontalis*. *Bioresour Technol*, 264, 219-227.
- Durand, R., Fischer, M., Rasclé, C. and Fevre, M. (1995). *Neocallimastix frontalis* enolase gene, enol: first report of an intron in an anaerobic fungus. *Microbiology*, 141(6), 1301-1308.
- Dyall, S. D., Koehler, C. M., Delgado-Correa, M. G., Bradley, P. J., Plümper, E., Leuenberger, D. ... and Johnson, P. J. (2000). Presence of a member of the mitochondrial carrier family in hydrogenosomes: conservation of membrane-targeting pathways between hydrogenosomes and mitochondria. *Mol Cell Biol*, 20(7), 2488-2497.



- Dyall, S. D., Yan, W., Delgadillo-Correa, M. G., Lunceford, A., Loo, J. A., Clarke, C. F. and Johnson, P. J. (2004). Non-mitochondrial complex I proteins in a hydrogenosomal oxidoreductase complex. *Nature*, 431(7012), 1103-1107.
- Edwards, J. E., Forster, R. J., Callaghan, T. M., Dollhofer, V., Dagar, S. S., Cheng, Y. ... and Smidt, H. (2017). PCR and omics based techniques to study the diversity, ecology and biology of anaerobic fungi: insights, challenges and opportunities. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1657.
- Embley, T. M., Finlay, B. J., Dyal, P. L., Hirt, R. P., Wilkinson, M. and Williams, A. (1995). Multiple origins of anaerobic ciliates with hydrogenosomes within the radiation of aerobic ciliates. *Proc Roy Soc B*, 262(1363), 87-93.
- Embley, T. M., Horner, D. A. and Hirt, R. P. (1997). Anaerobic eukaryote evolution: hydrogenosomes as biochemically modified mitochondria?. *Trends Ecol Evol*, 12(11), 437-441.
- Embley, T. M. and Hirt, R. P. (1998). Early branching eukaryotes?. *Curr Op Genet Dev*, 8(6), 624-629.
- Embley, M., der Giezen, M. V., Horner, D. S., Dyal, P. L. and Foster, P. (2003). Mitochondria and hydrogenosomes are two forms of the same fundamental organelle. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 358(1429), 191-203.
- Embley, T. M. and Martin, W. (2006). Eukaryotic evolution, changes and challenges. *Nature*, 440(7084), 623-630.
- Fenchel, T. and Finlay, B. J. (1995). Ecology and evolution in anoxic worlds. *Oxford; New York: Oxford University Press*.
- Ferraro, A., Dottorini, G., Massini, G., Miritana, V. M., Signorini, A., Lembo, G. and Fabbicino, M. (2018). Combined bioaugmentation with anaerobic ruminal fungi and fermentative bacteria to enhance biogas production from wheat straw and mushroom spent straw. *Bioresour Technol*, 260, 364-373.
- Field, J., Rosenthal, B. and Samuelson, J. (2000). Early lateral transfer of genes encoding malic enzyme, acetyl-CoA synthetase and alcohol dehydrogenases from anaerobic prokaryotes to *Entamoeba histolytica*. *Mol Microbiol*, 38(3), 446-455.
- Finlay, B.J. and Fenchel, T. (1989). Hydrogenosomes in some anaerobic protozoa resemble mitochondria. *FEMS Microbiol Lett*, 65, 311-314.
- Flad, V., Young, D., Seppälä, S., Hooker, C., Youssef, N., Podmirseg, S. M. ... and Theodorou, M. K. (2020). 17 The Biotechnological Potential of Anaerobic Gut Fungi. *In Genetics and Biotechnology*, 413-437.
- Fliegerova, K. O., Podmirseg, S. M., Vinzelj, J., Grilli, D. J., Kvasnová, S., Schierová, D. ... and Moniello, G. (2021). The Effect of a High-Grain Diet on the Rumen Microbiome of Goats with a Special Focus on Anaerobic Fungi. *Microorganisms*, 9(1), 157.
- Gabaldón, T. and Huynen, M. A. (2003). Reconstruction of the proto-mitochondrial metabolism. *Science*, 301(5633), 609-609.
- Gelius-Dietrich, G. and Henze, K. (2004). Pyruvate Formate Lyase (PFL) and PFL Activating Enzyme in the Chytrid Fungus *Neocallimastix frontalis*: A Free-Radical Enzyme System Conserved Across Divergent Eukaryotic Lineages 1. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(4), 456-463.
- Gelius-Dietrich, G., Ter Braak, M. and Henze, K. (2007). Mitochondrial steps of arginine biosynthesis are conserved in the hydrogenosomes of the Chytridiomycete *Neocallimastix frontalis*. *J Eukaryot Microbiol*, 54, 42-4.
- Germot, A., Philippe, H. and Le Guyader, H. (1996). Presence of a mitochondrial-type 70-kDa heat shock protein in *Trichomonas vaginalis* suggests a very early mitochondrial endosymbiosis in eukaryotes. *Proc Natl Acad Sci*, 93(25), 14614-14617.
- Gilmore, S. P., Lankiewicz, T. S., Wilken, S. E., Brown, J. L., Sexton, J. A., Henske, J. K. ... and O'Malley, M. A. (2019). Top-down enrichment guides in formation of synthetic microbial consortia for biomass degradation. *ACS Synth Biol*, 8(9), 2174-2185.
- Gleason, F.H. and Gordon, G.L.R. (2004). The ultrastructure of hydrogenosomes in thin sections and in freeze fracture replicas from the anaerobic chytrid fungus *Caecomyces* sp. *Australasian Mycologist*, 22 (3), 92-98.
- Gold, J. J., Heath, I. B. and Bauchop, T. (1988). Ultrastructural description of a new chytrid genus of caecum anaerobe, *Caecomyces equi* gen. nov., sp. nov., assigned to the *Neocallimasticaceae*. *Biosystems*, 21(3-4), 403-415.
- Gordon, G. L. and Phillips, M. W. (1998). The role of anaerobic gut fungi in ruminants. *Nutr Res Rev*, 11(1), 133-168.
- Göçmen, B. (2003). Anaerobik Protozoonlarda (Protista) Solunum ve Detoksifikasyon Organeli: Hidrogenozom. *Turkish Journal of Parasitology*, 27, 71-74.
- Gray, M. W., Burger, G. and Lang, B. F. (1999). Mitochondrial evolution. *Science*, 283(5407), 1476-1481.
- Gruninger, R. J., Puniya, A. K., Callaghan, T. M., Edwards, J. E., Youssef, N., Dagar, S. S. ... and Elshahed, M. S. (2014). Anaerobic fungi (phylum *Neocallimastigomycota*): advances in understanding their taxonomy, life cycle, ecology, role and biotechnological potential. *FEMS Microbiol Ecol*, 90(1), 1-17.
- Hackstein, J. H., Akhmanova, A., Boxma, B., Harhangi, H. R. and Voncken, F. G. (1999). Hydrogenosomes: eukaryotic adaptations to anaerobic environments. *Trends in microbiology*, 7(11), 441-447.
- Hackstein, J. H., Akhmanova, A., Voncken, F., van Hoek, A., van Alen, T., Boxma, B. ... and Veenhuis, M. (2001). Hydrogenosomes: convergent adaptations of mitochondria to anaerobic environments. *Zoology*, 104(3-4), 290-302.



- Hackstein J.H. (2005). Eukaryotic Fe-hydrogenases—old eukaryotic heritage or adaptive acquisitions? *Biochemical Society Transactions*, 33, 47–50.
- Haitjema, C. H., Solomon, K. V., Henske, J. K., Theodorou, M. K. and O'Malley, M. A. (2014). Anaerobic gut fungi: advances in isolation, culture, and cellulolytic enzyme discovery for biofuel production. *Biotechnol Bioeng*, 111(8), 1471-1482.
- Hanafy, R. A., Youssef, N. H. and Elshahed, M. (2021). *Paucimyces polynucleatus* gen. nov., sp. nov., a novel polycentric genus of anaerobic gut fungi from the feces of a wild blackbuck antelope. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.03.04.433954>
- Hashimoto, T., Sánchez, L. B., Shirakura, T., Müller, M. and Hasegawa, M. (1998). Secondary absence of mitochondria in *Giardia lamblia* and *Trichomonas vaginalis* revealed by valyl-tRNA synthetase phylogeny. *Proc Natl Acad Sci*, 95(12), 6860-6865.
- Heath, I. B., Bauchop, T. and Skipp, R. A. (1983). Assignment of the rumen anaerobe *Neocallimastix frontalis* to the *Spizellomyces* (*Chytridiomycetes*) on the basis of its polyflagellate zoospore ultrastructure. *Can J Bot*, 61(1), 295-307.
- Henske, J. K., Gilmore, S. P., Haitjema, C. H., Solomon, K. V. and O'Malley, M. A. (2018). Biomass-degrading enzymes are catabolite repressed in anaerobic gut fungi. *AIChE Journal*, 64(12), 4263-4270.
- Henze, K. (2007). The proteome of *T. vaginalis* hydrogenosomes. In *Hydrogenosomes and mitosomes: mitochondria of anaerobic eukaryotes* (pp. 163-178). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Hooker, C. A., Lee, K. Z. and Solomon, K. V. (2019). Leveraging anaerobic fungi for biotechnology. *Curr Opin Biotechnol*, 59, 103-110.
- Horner, D. S., Hirt, R. P. and Embley, T. M. (1999). A single eubacterial origin of eukaryotic pyruvate: ferredoxin oxidoreductase genes: implications for the evolution of anaerobic eukaryotes. *Mol Biol Evol*, 16(9), 1280-1291.
- Horner, D. S., Foster, P. G. and Embley, T. M. (2000). Iron hydrogenases and the evolution of anaerobic eukaryotes. *Mol Biol Evol*, 17(11), 1695-1709.
- Jin, W., Cheng, Y. F., Mao, S. Y. and Zhu, W. Y. (2011). Isolation of natural cultures of anaerobic fungi and indigenously associated methanogens from herbivores and their bioconversion of lignocellulosic materials to methane. *Bioresour Technol*, 102(17), 7925-7931.
- Julliard, V., Riondet, C., de Vaux, A., Alcaraz, G. and Fonty, G. (1998). Comparison of metabolic activities between *Piromyces citronii*, an equine fungal species, and *Piromyces communis*, a ruminal species. *Anim Feed Sci Technol*, 70(1-2), 161-168.
- Koonin, E. V. (2015). Origin of eukaryotes from within archaea, archaeal eukaryome and bursts of gene gain: eukaryogenesis just made easier?. *Philos Trans R Soc B: Biological Sciences*, 370(1678), 20140333.
- Kwon, M., Song, J., Ha, J. K., Park, H. S. and Chang, J. (2009). Analysis of functional genes in carbohydrate metabolic pathway of anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis* PMA02. *Asian-Aust J Anim Sci*, 22(11), 1555-1565.
- Lee, S. S., Ha, J. K. and Cheng, K. J. (2000). Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. *Anim Feed Sci Technol*, 88(3-4), 201-217.
- Leis, S., Dresch, P., Peintner, U., Fliegerová, K., Sandbichler, A. M., Insam, H. and Podmirseg, S. M. (2014). Finding a robust strain for biomethanation: anaerobic fungi (*Neocallimastigomycota*) from the *Alpine ibex* (*Capra ibex*) and their associated methanogens. *Anaerobe*, 29, 34-43.
- Lewis, W. H., Lind, A. E., Sendra, K. M., Onsbring, H., Williams, T. A., Esteban, G. F. ... and Embley, T. M. (2020). Convergent evolution of hydrogenosomes from mitochondria by gene transfer and loss. *Mol Biol Evol*, 37(2), 524-539.
- Li, J., Heath, I. B. and Bauchop, T. (1990). *Piromyces mae* and *Piromyces dumbonica*, two new species of unflagellate anaerobic chytridiomycete fungi from the hindgut of the horse and elephant. *Can J Bot*, 68(5), 1021-1033.
- Li, J., Heath, I. B. and Cheng, K. J. (1991). The development and zoospore ultrastructure of a polycentric chytridiomycete gut fungus, *Orpinomyces joyonii* comb. nov. *Can J Bot*, 69(3), 580-589.
- Li, Q., Li, L., Rejtar, T., Lessner, D. J., Karger, B. L. and Ferry, J. G. (2006). Electron transport in the pathway of acetate conversion to methane in the marine archaeon *Methanosarcina acetivorans*. *Journal of Bacteriology*, 188(2), 702-710.
- Li, Y., Jin, W., Cheng, Y. and Zhu, W. (2016). Effect of the associated methanogen *Methanobrevibacter thaueri* on the dynamic profile of end and intermediate metabolites of anaerobic fungus *Piromyces* sp. F1. *Curr Microbiol*, 73(3), 434-441.
- Lindmark, D. G. and Müller, M. (1973). Hydrogenosome, a cytoplasmic organelle of the anaerobic flagellate *Tritrichomonas foetus*, and its role in pyruvate metabolism. *J Biol Chem*, 248(22), 7724-7728.
- Martin, W. (2005). The missing link between hydrogenosomes and mitochondria. *Trends in microbiology*, 13(10), 457-459.



- Martin, W. and Russell, M.J. (2003). On the origins of cells: a hypothesis for the evolutionary transitions from abiotic geochemistry to chemoautotrophic prokaryotes, and from prokaryotes to nucleated cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 358, 59-83.
- Martin, W. and Müller, M. (1998). The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. *Nature*, 392(6671), 37-41.
- Martin W., Hoffmeister M., Rotte C. and Henze K. (2001). An overview of endosymbiotic models for the origins of eukaryotes, their ATP producing organelles (mitochondria and hydrogenosomes), and their heterotrophic lifestyle. *Biological Chemistry*, 382, 1521–1539.
- Martin, W. F., Garg, S. and Zimorski, V. (2015). Endosymbiotic theories for eukaryote origin. *Philos Trans R Soc B*, 370(1678), 20140330.
- Marvin-Sikkema, F.D., Richardson, A.J., Stewart, C.S., Gottschal, J.C. and Prins, R.A. (1990). Influence of hydrogenconsuming bacteria on cellulose degradation by anaerobic fungi. *Appl Environ Microbiol*, 56, 3793-3797.
- Marvin-Sikkema, F.D., Lahpor, G.A., Kraak, M.N., Gottschal, J.C. and Prins, R.A. (1992). Characterization of an anaerobic fungus from llama faeces. *J General Microbiol*, 138, 2235-2241.
- Marvin-Sikkema, F.D., Pedro Gomes, T.M., Grivet, J.P., Gottschal, J.C. and Prins, R.A. (1993). Characterization of hydrogenosomes and their role in glucose metabolism of *Neocallimastix* sp. L2. *Arch Microbiol*, 160, 388-396.
- Marvin-Sikkema F.D., Driessen A.J.M., Gottschal J.C. and Prins R.A. (1994). Metabolic energy generation in hydrogenosomes of the anaerobic fungus *Neocallimastix*: evidence for a functional relationship with mitochondria. *Mycol Res*, 98, 205–212.
- Mohamed, R. and Chaudhry, A. S. (2008). Methods to study degradation of ruminant feeds. *Nutrition Research Reviews*, 21(1), 68-81.
- Müller, M., Mentel, M., van Hellemond, J. J., Henze, K., Woehle, C., Gould, S. B. ... and Martin, W. F. (2012). Biochemistry and evolution of anaerobic energy metabolism in eukaryotes. *Microbiol Mol Biol Rev*, 76(2), 444-495.
- Müller, M. (1973). Biochemical cytology of trichomonad flagellates: I. Subcellular localization of hydrolases, dehydrogenases, and catalase in *Tritrichomonas foetus*. *The Journal of cell biology*, 57(2), 453-474.
- Müller, M. (1993). The hydrogenosome. *J Gen Microbiol*, 139(12), 2879-2889.
- Müller, M. (1998). Enzymes and compartmentation of core energy metabolism of anaerobic protists—a special case in eukaryotic evolution?. *Evolutionary relationships among protozoa*, 109-132.
- Müller, M., Mentel, M., van Hellemond, J. J., Henze, K., Woehle, C., Gould, S. B. ... and Martin, W. F. (2012). Biochemistry and evolution of anaerobic energy metabolism in eukaryotes. *Microbiol Mol Biol R*, 76(2), 444-495.
- Müller, M. (1988). Energy metabolism of protozoa without mitochondria. *Annual Reviews in Microbiology*, 42(1), 465-488.
- Nagler, M., Kozjek, K., Etemadi, M., Insam, H. and Podmirseg, S. M. (2019). Simple yet effective: microbial and biotechnological benefits of rumen liquid addition to lignocellulose-degrading biogas plants. *J Biotechnol*, 300, 1-10.
- O'Fallon, J. V., Wright Jr, R. W. and Calza, R. E. (1991). Glucose metabolic pathways in the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. *Biochem J*, 274(2), 595-599.
- Palmer, J. D. (1997). Organelle Genomes--Going, Going, Gone. *Science*, 275(5301), 790-790.
- Paul, R.G., Williams, A.G. and Butler, R.D. (1990). Hydrogenosomes in the rumen entodiniomorphid ciliate *Polyplastron multivesiculatum*. *J Gen Microbiol*, 136, 1981-1989.
- Paul, S. S., Deb, S. M., Punia, B. S., Das, K. S., Singh, G., Ashar, M. N. and Kumar, R. (2011). Effect of feeding isolates of anaerobic fungus *Neocallimastix* sp. CF 17 on growth rate and fibre digestion in buffalo calves. *Arch Anim Nutr*, 65(3), 215-228.
- Peng, X. N., Gilmore, S. P. and O'Malley, M. A. (2016). Microbial communities for bioprocessing: lessons learned from nature. *Curr Opin Chem Eng*, 14, 103–109.
- Pfanner, N. and Geissler, A. (2001) Versatility of the mitochondrial protein import machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2, 339 – 349.
- Pittis, A. A. and Gabaldón, T. (2016). Late acquisition of mitochondria by a host with chimaeric prokaryotic ancestry. *Nature*, 531(7592), 101-104.
- Poole, A. M. and Gribaldo, S. (2014). Eukaryotic origins: how and when was the mitochondrion acquired?. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 6(12), a015990.
- Procházka, J., Mrázek, J., Štrosová, L., Fliegerová, K., Záborská, J. and Dohányos, M. (2012). Enhanced biogas yield from energy crops with rumen anaerobic fungi. *Eng Life Sci*, 12(3), 343-351.
- Ranganathan, A., Smith, O. P., Youssef, N. H., Struchtemeyer, C. G., Atiyeh, H. K. and Elshahed, M. S. (2017). Utilizing anaerobic fungi for two-stage sugar extraction and biofuel production from lignocellulosic biomass. *Frontiers in microbiology*, 8, 635.
- Ribeiro, G. O., Gruninger, R. J., Badhan, A. and McAllister, T. A. (2016). Mining the rumen for fibrolytic feed enzymes. *Anim Front*, 6, 20–26.
- Roger, A.J., (1999). Reconstructing early events in eukaryotic evolution. *Am Nat*, 154, 146–163.



- Rosenthal, B., Mai, Z., Caplivski, D., Ghosh, S., de la Vega, H., Graf, T. and Samuelson, J. (1997). Evidence for the bacterial origin of genes encoding fermentation enzymes of the amitochondriate protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *J Bacteriol*, 179(11), 3736-3745.
- Saxena, S., Sehgal, J., Puniya, A. and Singh, K. (2010). Effect of administration of rumen fungi on production performance of lactating buffaloes. *Benef Microbes*, 1(2), 183-188.
- Schnürer, A. (2016). Biogas production: microbiology and technology. *Anaerobes in biotechnology*, 195-234.
- Schnürer, A. (2018). Microbiology of the biogas process. *Swedish University of Agricultural Sciences: Uppsala, Sweden*.
- Sharma, H. K., Xu, C. and Qin, W. (2019). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and bioproducts: an overview. *Waste and Biomass Valorization*, 10(2), 235-251.
- Shiflett, A. M. and Johnson, P. J. (2010). Mitochondrion-related organelles in eukaryotic protists. *Annu Rev Microbiol*, 64, 409-429.
- Spang, A., Stairs, C. W., Dombrowski, N., Eme, L., Lombard, J., Caceres, E. F. ... and Ettema, T. J. (2019). Proposal of the reverse flow model for the origin of the eukaryotic cell based on comparative analyses of Asgard archaeal metabolism. *Nat Microbiol*, 4(7), 1138-1148.
- Stairs, C. W., Leger, M. M. and Roger, A. J. (2015). Diversity and origins of anaerobic metabolism in mitochondria and related organelles. *Philos Trans R Soc B: Biol Sci*, 370(1678), 20140326.
- Stern, M. D., Ortega, M. E. and Satter, L. D. (1983). Retention time in rumen and degradation of protein supplements fed to lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Sci*, 66(6), 1264-1271.
- Strzalka, R., Schneider, D. and Eicker, U. (2017). Current status of bioenergy technologies in Germany. *Renew Sustain Energy Rev*, 72, 801-820.
- Swift, C. L., Brown, J. L., Seppälä, S. and O'Malley, M. A. (2019). Co-cultivation of the anaerobic fungus *Anaeromyces robustus* with *Methanobacterium bryantii* enhances transcription of carbohydrate active enzymes. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 46(9-10), 1427-1433.
- Theodorou, M. K., Mennim, G., Davies, D. R., Zhu, W. Y., Trinci, A. P. and Brookman, J. L. (1996). Anaerobic fungi in the digestive tract of mammalian herbivores and their potential for exploitation. *Proc Nutr Soc*, 55(3), 913-926.
- Tielens, A. G., Rotte, C., van Hellemond, J. J. and Martin, W. (2002). Mitochondria as we don't know them. *Trends Biochem Sci*, 27(11), 564-572.
- Timmis, J.N., Ayliffe, M.A., Huang, C.Y. and Martin, W. (2004). Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nat Rev Genet*, 5, 123-135.
- Tjaden, J., Haferkamp, I., Boxma, B., Tielens, A. G., Huynen, M. and Hackstein, J. H. (2004). A divergent ADP/ATP carrier in the hydrogenosomes of *Trichomonas gallinae* argues for an independent origin of these organelles. *Molecular Microbiology*, 51(5), 1439-1446.
- Tovar, J., Leon-Avila, G., Sanchez, L.B., Sutak, R., Tachezy, J., van der Giezen, M., Hernandez, M., Müller, M. and Lucocq, J.M. (2003). Mitochondrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur protein maturation. *Nature*, 426, 172-176.
- Trinci, A.P., Davies, D.R., Gull, K., Lawrence, M.I., Bonde Nielsen, B., Rickers, A. and Theodorou, M.K. (1994). Anaerobic fungi in herbivorous animals. *Mycol. Res.*, 98, 129-152.
- Tripathi, V. K., Sehgal, J. P., Puniya, A. K. and Singh, K. (2007). Effect of administration of anaerobic fungi isolated from cattle and wild blue bull (*Boselaphus tragocamelus*) on growth rate and fibre utilization in buffalo calves. *Archives of Anim Nutr*, 61(5), 416-423.
- van der Giezen, M., Rechinger, K. B. R., Svendsen, I., Durand, R., Hirt, R. P., Fevre, M. ... and Prins, R. A. (1997a). A mitochondrial-like targeting signal on the hydrogenosomal malic enzyme from the anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*: support for the hypothesis that hydrogenosomes are modified mitochondria. *Mol Microbiol*, 23(1), 11-21.
- van der Giezen, M., Sjollem, K. A., Artz, R. R., Alkema, W. and Prins, R. A. (1997b). Hydrogenosomes in the anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* have a double membrane but lack an associated organelle genome. *FEBS letters*, 408(2), 147-150.
- van der Giezen, M., Slotboom, D. J., Horner, D. S., Dyal, P. L., Harding, M., Xue, G. P. ... and Kunji, E. R. (2002). Conserved properties of hydrogenosomal and mitochondrial ADP/ATP carriers: a common origin for both organelles. *The EMBO journal*, 21(4), 572-579.
- van der Giezen, M., Birdsey, G. M., Horner, D. S., Lucocq, J., Dyal, P. L., Benchimol, M. ... and Embley, T. M. (2003). Fungal hydrogenosomes contain mitochondrial heat-shock proteins. *Mol Biol Evol*, 20(7), 1051-1061.
- van Hoek, A.H.A.M., Akhmanova, A.S., Huynen, M.A. and Hackstein, J.H.P. (2000) A mitochondrial ancestry of the hydrogenosomes of *Nyctotherus ovalis*. *Mol Biol Evol*, 17, 202-206.
- Vanacova, S., Liston, D. R., Tachezy, J. and Johnson, P. J. (2003). Molecular biology of the amitochondriate parasites, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*. *Int J Parasitol*, 33(3), 235-255.



- Voncken, F., Boxma, B., Tjaden, J., Akhmanova, A., Huynen, M., Verbeek, F. ... and Hackstein, J. H. (2002). Multiple origins of hydrogenosomes: functional and phylogenetic evidence from the ADP/ATP carrier of the anaerobic chytrid *Neocallimastix* sp. *Molecular microbiology*, 44(6), 1441-1454.
- Warren, R. A. J. (1996). Microbial hydrolysis of polysaccharides. *Ann Rev Microbiology*, 50(1), 183-212.
- Weimer, P. J., Russell, J. B. and Muck, R. E. (2009). Lessons from the cow: what the ruminant animal can teach us about consolidated bioprocessing of cellulosic biomass. *Bioresource technology*, 100(21), 5323-5331.
- Wilken, S. E., Monk, J. M., Leggieri, P. A., Lawson, C. E., Lankiewicz, T. S., Seppälä, S. ... and Lindemann, S. R. (2021). Experimentally validated reconstruction and analysis of a genome-scale metabolic model of an anaerobic *Neocallimastigomycota* fungus. *Msystems*, 6(1).
- Yang, S. T., Liu, X. and Zhang, Y. (2007). Metabolic engineering—applications, methods, and challenges. In *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources* (pp. 73-118). Elsevier.
- Yarlett, N., Coleman, G.S., Williams, A.G. and Lloyd, D., (1984). Hydrogenosomes in known species of rumen entodiniomorphid protozoa. *FEMS Microbiol Lett*, 21, 15–19.
- Yarlett, N., Orpin, C. G., Munn, E. A., Yarlett, N. C. and Greenwood, C. A. (1986). Hydrogenosomes in the rumen fungus *Neocallimastix patriciarum*. *Biochem J*, 236(3), 729-739.
- Yarlett, N. and Hackstein, J. H. (2005). Hydrogenosomes: one organelle, multiple origins. *Bioscience*, 55(8), 657-668.
- Young, D., Dollhofer, V., Callaghan, T. M., Reitberger, S., Lebuhn, M. and Benz, J. P. (2018). Isolation, identification and characterization of lignocellulolytic aerobic and anaerobic fungi in one-and two-phase biogas plants. *Bioresource technology*, 268, 470-479.
- Youssef N.H., Couger M.B., Struchtemeyer C.G., Liggenstoffer A.S., Prade R.A., Najjar F.Z., Atiyeh H.K., Wilkins M.R. and Elshahed M.S. (2013). The genome of the anaerobic fungus *Orpinomyces* sp. strain C1A reveals the unique evolutionary history of a remarkable plant biomass degrader. *Appl Environ Microbiol*, 79, 4620–4634.



Geliş(Received) :12.04.2021
Kabul(Accepted) :25.05.2021

Review Article
Doi: 10.30708.mantar914962

Comparison of Quartile Scores of Mycology Journals Covered by Web of Science and SCImago SCOPUS Databases

Ahmet ASAN¹,Gülay GİRAY²

*Sorumlu yazar: ahmetasan84@gmail.com

¹Trakya University Faculty of Science Department of Biology. 22030 Edirne, Turkey.
Orcid ID: <http://orcid.org/0000-0002-4132-3848/> fax: +90 284 2354010, e-mail: ahmetasan84@gmail.com

²Kastamonu University Ihsangazi Vocational College. 37150 Kastamonu, Turkey.
Orcid ID: <http://orcid.org/0000-0002-8703-6465/> /gulaygiray74@gmail.com

Abstract: Millions of papers are published in scientific journals every year. For example, 3,194,821 papers were published only in the Clarivate Analytics Web of Science Core Collection Database in 2020. However, the citation rates, h index and Q scores of journals are different from each other. While important scientific results are published in some journals, which are the basis of the literature, other journals may be weak and their citation rates may low. The data used in this study are taken from Clarivate Analytics Web of Science and SCImago SCOPUS databases. In this study, we tried to take attention some data about Q scores of scientific journals. The Q scores of scientific journals have become important in academic appointments in Turkey and also become one of the quality indicators of journals. For this purpose, some data of 30 mycology journals were taken from Clarivate Analytics Web of Science and SCImago SCOPUS databases. Q scores, h index, impact factor scores and some other data of these mycology journals were given in table and analyzed. While there are 8 journals in the Q1 category covered by Web of Science, there are 20 journals in the Q1 category covered SCImago SCOPUS. This is due to the different number of journals and subject categories in both databases. Among 30 mycology journals, Fungal Diversity was the journal with the highest impact factor and Q1 category with 15.39 in the year of 2019. The journal with the highest h index score is Mycologia with a score of 128. In addition, number of papers with Turkey addressed published in 30 mycology journals are given (790 publications, 638 full article) in this study.

Key words: Journal, Quartile Scores, Web of Science, Mycology, SCImago SCOPUS.

Web of Science ve SCOPUS Veritabanları Kapsamında olan Mikoloji Dergilerinin Q Değerleri Analizi

Öz: Her yıl bilimsel dergilerde milyonlarca yayın çıkmaktadır. Örneğin 2020'de Sadece Clarivate Analytics Web of Science Core Collection Veritabanında 3,194,821 yayın çıkmıştır. Ancak dergilerin atıf alma oranları, h indeks ve Q değerleri birbirinden farklıdır. Önemli bilimsel sonuçlar literatürün temeli olan bazı dergilerde yayınlanırken, diğer dergiler daha zayıf kalabilmekte ve atıf oranları da düşük olmaktadır. Bu çalışmada kullanılan veriler, Clarivate Analytics Web of Science ve SCImago SCOPUS veritabanlarından alınmıştır. Bu çalışmada, bilimsel dergilerin Q değerleriyle ilgili bazı verilere dikkat çekilmeye çalışılmıştır. Bilimsel dergilerin Q değerleri, Türkiye'de akademik atamalarda önemli hale gelmiş ve ayrıca dergilerin kalite göstergelerinden biri olmuştur. Bu amaçla 30 mikoloji dergisinin bazı verileri, Clarivate Analytics Web of Science ve SCImago SCOPUS veritabanlarından alınmıştır. Bu mikoloji dergilerinin Q, h indeks, etki faktörü değerleri ve diğer bazı veriler tablo halinde verilip analiz edilmiştir. Web of Science kapsamında Q1 kategorisinde 8 dergi varken, SCImago SCOPUS kapsamında Q1 kategorisinde 20 dergi vardır. Bu durum, her iki veritabanındaki dergi sayısının ve konu kategorilerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. 30 mikoloji dergisi içinde Q1 kategorisinde olan ve impact factor değeri en yüksek dergi, 2019 yılında 15.39 ile Fungal Diversity olmuştur. h indeks değeri en yüksek olan dergi ise 128 değeri ile Mycologia'dır. Ayrıca, bu çalışmada 30 mikoloji dergisinde çıkan Türkiye adresli yayın sayıları da verilmiştir (790 yayın, 638 tam makale).

Anahtar kelimeler: Dergi, Çeyreklik Değer, Web of Science, Mikoloji, SCImago SCOPUS.



Introduction

Millions of scientific studies are published annually in periodicals and scientific books (including proceeding books). 3,194,821 papers were published only in Clarivate Analytics Web of Science (WOS) (https://ssl.trakya.edu.tr:10443/proxy/12a10750/http/apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch_input.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&SID=D3hEE9ZziRqTKwBKfzP&preferencesSaved). Core Collection Database in 2020. When only journals covered by Science Sication Expanded (SCI-Expanded), Social Science Citation Index (SSCI), Arts and Citation Citation Index (AH&CI) and Emerging Science Citation Index (ESCI) are taken into account, the number of papers for the same year were 3,070,825. There are 21,470 journals (April 4, 2021) (<https://mjl.clarivate.com/search-results>) within the scope of these four indexes (in reality this number be less because of sometimes a journal can be in two different databases) and the number of journals is increasing day by day. However, some questions may be asked on the subject: Are all of these journals of the same value? What does it mean to be of the same value or not? Can this be measured? It is difficult to give clear answers to these questions. Some analytical sources such as impact factor (IF), h index, immediacy index, etc. were evaluated for measure of journal's quality. However, mentioned analytical sources are controversial among researchers. It was determined by Bradford in 1935 that not all scientific journals are of the same quality. Bradford examined around 1000 scientific journals in 1935 and saw that important scientific results appeared only in a small number of journals that form the basis of the literature (Bradford Law) (Asan et al., 2020). Also Garfield (1972) argued that Gross and Gross's work in 1927 contributed to Bradford's work. At the end of the 1950s, the founder of Institute for Scientific Information (ISI) (now Clarivate Analytics), Dr. Eugene Garfield mentioned the concept of citation indexing and since 1963 SCI content has become commercially available (<https://clarivate.com/webofsciencegroup/essays/history-of-citation-indexing/>).

The concept of impact factor was first introduced in 1955 by Eugene Garfield. Garfield published an analysis in 1972 that mentioned the importance of citation analysis in the development of a journal. Web of Science-Journal Citation Reports (WOS-JCR) has been published since 1975 (<https://clarivate.com/webofsciencegroup/essays/journal-self-citation-jcr/>). Then some analytical indexes have been further developed such as immediacy index, cited half-life, eigenfactor score, etc

(https://goums.ac.ir/files/sci/files/Citation_Analysis.pdf).

In 2005, the concept of h index was introduced by Hirsch and it has been widely used. The purpose of the analytical sources is to measure scientific productivity. The concept of Quartile Score (Q Score) of scientific journals (see Asan & Aslan, 2020 for detailed information) is also used by WOS and SCOPUS databases. In fact, even when data on Q scores of scientific journals were not yet used, citation analyzes were conducted for scientific journal rankings; for example, Vishwanatham (1998) mentioned citation analysis in journal rankings. Garfield indicated that about the use of journal citation reports and journal performance indicators in the measurement of journal impact in the short and long term in 2000 and he explained the subject by giving examples of journals such as The Review of Scientific Instruments, Cell, Nature, Science and J. Biol. Chem.

The Q values of the journals are related to the IF score (Figure 1). If a journal's impact factor score is not calculated (for example, the impact factor scores of journals covered by AH&CI and ESCI within WOS are not published), there is also no Q value. Because journals are ranked according to their impact factor scores, while the first 25% slice is Q1, while the last 25% slice is Q4 (Figure 1).

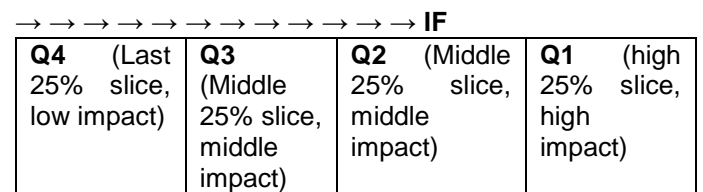
WOS-JCR and SCImago SCOPUS databases use the Q scores of scientific journals, but since the journals covered by these databases are different, the same journal in both databases can receive different Q or h index scores (Table 1). The use of the WOS database requires subscription, while the SCImago SCOPUS database is open access. Discussions on the subject are also ongoing. Are the distributions of papers published in journals in WOS and SCOPUS databases homogeneous or heterogeneous according to Q categories? Studies have shown that the distribution is not homogeneous. For example Liu et al. (2016), when they examined the JCR 2015 data, they saw that 33% of the papers for this year were published in Q1 journals and 16.5% in Q4 journals. Miranda and Garcia-Carpintero (2019) stated that 45.7% of the papers in the WOS database were published in journals in the Q1 category, although this rate varied between 25.4% and 85.6% according to the subject category, and that the citations received by Q1 journals were 2.07 times higher to Q2 journals and according to the subject category, they stated that this ratio varies between the 0.9-6.1. Orbay et al. (2020) indicated that the 14.32% of papers in Q1 Journals published in an university in Turkey, while 36.49% in Q4 journals are published and citations in Q1 journals approximately 6 times more than Q4 journals.



There are 30 mycology journals in the WOS database (<https://mjl.clarivate.com>). However, since there is no mycology subject category in the SCImago SCOPUS database, so the number of journals in this database could not be given. As a matter of fact, Abrizah et al. (2013) stated that it is not correct to categorize the subject of journals in both databases. In our study, after determining the mycology journals within the WOS database, it was seen that all of these journals were also found in the SCImago SCOPUS database, and the data of the journals were obtained using both databases. The most recent data retrieved is for the year of 2019 because of 2020 data will be released at the end of June 2021.

The purpose of this study is to inform for researchers about mycology journals covered by WOS-SCI-Expanded, ESCI, Clarivate Analytics Biological Abstracts-BIOSIS Previews and SCImago SCOPUS databases and to make a comparative analysis of Q values of mycology journals under SCI-Expanded, ESCI and SCImago SCOPUS databases. In addition, to raise awareness among researchers that there are mycology journals within the covered in indexes other than SCI-Expanded and ESCI. In addition, in Table 1, impact factor scores are given in each 2 database of journals, from 1900 in the journal covered by WOS until April 8, 2021 are given information about Turkey addressed publications numbers (it can be see about WOS mycology journals with addressed of Turkey in Asan, 2016).

Number of papers published in mycology journals for August 5, 2015 are 529 (473 full articles), but this number was 790 for April 8, 2021 (638 full articles). During this period, there was an increase of 49.34% in the total number of papers and 34.88% in the number of full articles. However, the distribution of these publications to journals is not homogeneous. For example, There is no any paper in a journal and only one for each publication was published in four journals. 52.02% of the papers (411 papers) were published in only 2 journals (Mycoses and Mycotaxon). The data used in this study were taken from Clarivate Analytics Web of Science (<https://mjl.clarivate.com> and WOS databases needs subscription) and SCImago SCOPUS (SCImago Journal Rank-SJR) (<https://www.scimagojr.com/>) databases.



IF ← ← ← ← ← ← ← ← ← ← ← ← ←

Figure 1. As the IF value of a journal increases, the journal approaches to Q1 category, and as its IF value decreases, it approaches to Q4 category (Drawn by changing from the website: <<http://eng.unn.ru/images/files/pages/Research/research/Quartile-corr.pdf>> Access: April 8, 2021).

Table 1. List of mycology journals covered by Clarivate Analytics Web of Science (WOS) SCI-Expanded and SCImago SCOPUS, Q, IF and h index scores of journals and the number of papers with Turkey addressed (<https://mjl.clarivate.com>, <https://www.scimagojr.com/>).

Title of Journal (In alphabetical order)	WOS 2019 Q score and subject category	WOS 2019 impact factor score-IF	SCImago SCOPUS 2019 Q score	SCImago SCOPUS 2019 impact factor score	WOS and SJR h index scores (The first number is for WOS and the second number is for SJR)	Number of papers with Turkey addressed between the January 1, 1900 – April 8, 2021 in the 30 mycology journals
Cryptogamie Mycologie	Q3: Mycology (19 of 29)	2.245	Q1 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics)	1.20	28 24	9 (9 full papers)
Fems Yeast Research	Q2: Biotechnology & Applied Microbiology (61 of 156), Q2: Microbiology (58 of 136), Q2: Mycology (8 of 29)	3.193	Q1 (Applied Microbiology and Biotechnology; Medicine), Q2 (Microbiology)	1.28	88 86	8 (6 full papers)
Fungal Biology	Q2: Mycology (14 of 29)	2.789	Q1 (Ecology, Evolution, Behavior)	0.94	49 98	2 (2 full papers)



			and systematics; Plant Science), Q2 (Genetics; Infectious Diseases)			
Fungal Biology Reviews	Q1: Mycology (4 of 29)	4.806	Q1 (Plant Sciences; Microbiology)	1.43	28 48	1 (0 full paper)
Fungal Diversity	Q1: Mycology (1 of 29)	15.386	Q1 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Ecology; Plant Science)	6.95	96 88	5 (4 full papers)
Fungal Ecology	Q2: Ecology (57 of 169), Q3: Mycology (15 of 29)	2.656	Q1 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Ecology; Plant Science; Ecological modeling)	1.40	54 48	1 (1 full paper)
Fungal Genetics and Biology	Q2: Genetics & Heredity (80 of 178), Q2: Mycology (11 of 29)	3.071	Q1 (Microbiology), Q2 (Genetics)	1.30	106 104	5 (4 full papers)
İma Fungus	Q1: Mycology (6 of 29)	3.636	Q1 (Agricultural and Biological Sciences; Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Ecology; Plant Science)	1.42	37 29	4 (3 full papers)
International Journal of Medicinal Mushrooms	Q4: Mycology (25 of 29), Q4: Pharmacology & Pharmacy (223 of 267)	1.423 (2018)	Q3 (Applied Microbiology and Biotechnology; Drug Discovery, Pharmacology)	0.41	28 27	32 (32 full papers)
Journal de Mycologie Medicale	Q4: Mycology (24 of 29)	1.56	Q3 (Infectious Diseases)	0.45	28 29	31 (29 full papers)
Journal of Fungi	Q1: Mycology (5 of 29), Q1: Microbiology (31 of 136)	4.621	Q1 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Microbiology, Plant Science)	1.42	29 17	13 (9 full papers)
Lichenologist	Q4: Mycology (26 of 29), Q3: Plant Sciences (133 of 234)	1.36	Q2 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics)	0.56	56 47	11 (11 full papers)
Medical Mycology	Q3: Infectious Diseases (47 of 92), Q2: Mycology (13 of 29), Q1: Veterinary Sciences (8 of 141)	2.822	Q1 (Medicine; Veterinary) Q2 (Infectious Diseases)	1.03	85 83	74 (59 full papers)
Mycobiology	Q2: Agronomy (42 of 91), Q4: Mycology (25 of 29)	1.416	Q2 (Plant Science)	0.38	20 21	1 (1 full paper)



			Q3 (Infectious Diseases) Q4 (Microbiology)			
Mycocokeys	Q3: Mycology (16 of 29)	2.525	Q1 (Plant Science; Ecology, Evolution, Behavior and systematics)	1.00	21 11	3 (3 full papers)
Mycologia	Q3: Mycology (20 of 29)	2.149	Q1 (Plant Science; Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Medicine) Q2 (Genetics, Molecular Biology, Physiology) Q3 (Cell Biology)	1.06	128 104	9 (9 full papers)
Mycological Progress	Q3: Mycology (20 of 29)	2.149	Q1 (Plant Science; Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Agricultural and Plant Sciences)	1.20	37 33	5 (5 full papers)
Mycopathologia	Q3: Mycology (17 of 29)	2.452	Q1 (Agronomy and Crop Science; Plant Science; Veterinary) Q2 (Applied Microbiology and Biotechnology) Q3 (Microbiology)	0.76	80 68	91 (84 full papers) (Eski ismiyle: Mycopathol. Mycol. Appl.: 3 (2 full papers))
Mycorrhiza	Q2: Mycology (12 of 29)	3.069	Q1 (Plant Science; Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Medicine) Q2 (Genetics; Molecular Biology)	0.99	85 85	3 (3 full papers)
Mycoscience	Q4: Mycology (27 of 29)	1.172	Q2 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics)	0.66	28 41	1 (1 full paper)
Mycoses	Q1: Mycology (7 of 29), Q1: Dermatology (14 of 68)	3.575	Q1 (Dermatology; Medicine) Q2 (Infectious Diseases)	1.18	70 65	254 (148 full papers)
Mycosphere	Q4: Mycology (22 of 29)	2.092	Q1 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Plant Science)	1.15	27 17	9 (9 full papers)
Mycotaxon	Q4: Mycology (29 of 29)	0.538	Q2 (Plant Science) Q3 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics)	0.42	60 40	157 (156 full papers)



Mycotoxin Research	Q2: Mycology (9 of 29), Q2: Toxicology (35 of 92)	3.164	Q2 (Biotechnology; Toxicology) Q3 (Microbiology)	0.72	23 34	6 (6 full papers)
Persoonia	Q1: Mycology (3 of 29)	8.227	Q1 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Plant Science)	4.26	61 52	0
Revista Iberoamericana de Micología	Q4: Mycology (23 of 29)	1.627	Q3 (Infectious Diseases; Microbiology)	0.44	27 42	5 (4 full papers)
Studies In Mycology	Q1: Mycology (2 of 29)	9.027	Q1 (Agricultural and Biological Sciences; Plant Science)	3.41	92 88	2 (2 full papers)
Sydowia	Q4: Mycology (28 of 29)	0.80	Q2 (Ecology, Evolution, Behavior and systematics; Plant Science)	0.69	28 27	5 (5 full papers)
World Mycotoxin Journal	Q3: Mycology (18 of 29), Q3: Toxicology (61 of 92), Q2: Food Science & Technology (62 of 139)	2.306	Q2 (Food Science; Public Health, Environmental and Occupational Health) Q3 (Toxicology)	0.52	40 32	11 (11 full papers)
Yeast	Q2: Mycology (10 of 29), Q2: Microbiology (59 of 136), Q2: Biotechnology & Applied Microbiology (62 of 156), Q3: Biochemistry & Molecular Biology (150 of 297)	3.143	Q1 (Medicine; Biotechnology; Bioengineering; Biochemistry; Applied Microbiology and Biotechnology) Q2 (Genetics)	1.38	125 99	32 (20 full papers)
The average Impact Factor of mycology journals and number of total papers with Turkey addressed	-	3.41	-	1.38	-	790 (638 full papers) [5.8.2015: 529 (473 full papers)]

A Mycology Journal Covered by Clarivate Analytics Web of Science ESCI Database (<https://mjl.clarivate.com>)

Medical Mycology Journal (SCImago Journal Rank-SJR) 2019 impact factor and Q score: 0.41, Q3)

Mycology Journals Covered by Clarivate Analytics Biological Abstracts-BIOSIS Previews

(Some mycology journals covered by SCI-Expanded are not included here because they are included in Table 1)
(<https://mjl.clarivate.com>).

Acta Mycologica*

Asian Journal of Mycology*

Bulletin de La Societe Mycologique de France*

Current Research In Environmental & Applied Mycology-Journal of Fungal Biology*

Czech Mycology (SJR 2019 impact factor and Q scores: 0.33, Q3)

Field Mycology (SJR 2019 impact factor and Q scores: 0.15, Q4)



Fungal Systematics and Evolution*
 Italian Journal of Mycology*
 Journal of Fungal Research*
 Journal of Mycology and Plant Pathology*
 Karstenia (SJR 2019 impact factor and Q scores: 0.46, Q2 and Q3)
 Microbial Biosystems Journal-MBJ*
 Mikologiya I Fitopatologiya (SJR 2019 impact factor and Q scores: 0.25, Q3 and Q4)
 Muellera (SJR 2019 impact factor and Q scores: 0.18, Q4)
 Mycology-An International Journal on Fungal Biology*
 Mycopath*
 Nippon Kingakukai Kaiho*
 Scientia Fungorum*
 Studies In Fungi*
 Zeitschrift Fuer Mykologie*

*(Means no covered by SCOPUS).

Data Analysis

While the number of mycology journals in the WOS database was 27 in 2015 (Asan, 2016), this number was 30 in April 8, 2021. It is seen that the number of journals in the area of mycology did not change more in this period (i.e. 2015-2021). There is no any mycology journal originated from Turkey in WOS database. While Studies In Mycology Journal ranked first in 2016 in terms of impact factor (IF) score (2016 IF score was 13.25; 2019 IF score was 9.025), it left its place to Fungal Diversity (2019 IF score: 15.386) and ranked second (Asan, 2016), (Table 1). The average of 2019 impact factor scores of journals in both databases was 3.41 for WOS IF and 1.38 for SCOPUS. The 2019 scores of Fungal Diversity and Studies In Mycology journals, which rank first and second, are well above these averages. While 8 journals in the field of mycology in the WOS are in the Q1 category, the number of mycology journals in Q1 in SCOPUS is 20. The two most important reasons for this difference are that the subject categories in which the journals are included and therefore the number of journals are different [WOS has 21470 (<https://mjl.clarivate.com>) and SCOPUS has approximately 25000 journals (April 8, 2021) (https://www.elsevier.com/solutions/scopus?dgcid=RN_AGCM_Sourced_300005030)]. These differences show that care should be taken in using journals Q scores in academic appointment. Because the Q values of scientific journals may differ in WOS and SCImago SCOPUS databases, it is more useful to clearly specify which database score will be taken into account when making an academic appointment. For a more discussion of this situation, it can be see Asan and Aslan (2020).

There are two databases regularly publish the Q scores of journals in the world by WOS and SCOPUS. However, since the number of journals and subject categories in these databases are different, IF, Q, h index, etc. scores of the journals may be different as well. A journal can be covered WOS and SCOPUS, as well as journals in one but not in the other. However, all 30

journals covered by WOS are also included in the SCOPUS database. 15 journals covered by Clarivate Analytics Biological Abstracts-BIOSIS Previews are not available in SCOPUS.

There are also studies comparing SJR with WOS IF; for example Falagas et al. (2008) published a study on this comparison by examining 100 journals. The researchers provided detailed information about both databases. The researchers stated that while WOS is updated weekly, SJR is updated daily; they provided the country and language numbers of the journals; While self-references are taken into account in WOS, it is not taken into account in SJR; While there are 224 subject categories in WOS, there are 295 subject categories in SJR; they pointed out that some analytical sources used were also different. In our study, due to the difference between the two databases, the impact factor score of the same journal may be different in two databases, for example, Ca-A Cancer Journal of Clinicians is ranked first in WOS and 19th in SJR in terms of impact factor score. Also Jacso (2010) indicated that the comparison of two databases in his study. Jacso (2010) stated the effects of databases on the ranking of journals. There are other studies on comparison of these two databases; for example, Chirici (2012) studied the scientific efficiency of Italian forest researchers using the two databases but stated that they could not find any significant difference. Delgado-López-Cózar and Cabezas-Clavijo (2013) made a comparison of the journal rankings of Google Scholar starting in 2012, Journal Citation Reports (JCR) starting in 1975 and SJR databases starting in 2007. Google Scholar is open access, there is no any limitation in terms of its coverage, does not choose to include resources such as journals, books and proceeding books, and covers whatever document is available on the internet. Google Scholar is quite different from JCR and SJR in this respect alone. Cantín et al. (2015) made a comparison of the status of anatomy and morphology journals in terms



of IF, eigenfactor score and SJR and suggested that all 3 indexes be used for anatomy and morphology journals.

One of the striking data is that the IF scores of mycology journals within the scope of WOS are higher than the SCOPUS scores (Table 1). Journals' impact factor and h index scores may be different in both databases. For example, Mycologia has highest h index score among mycology journals covered by WOS and SCOPUS. While Mycologia ranks 20th among 29 mycology journals with in terms of IF score of 2.149, but it is first in terms of h index score because of analytical sources such as impact factor and h index measure different situations. Mycologia is a fairly old journal (published since 1909: <https://www.tandfonline.com/loi/umyc20>). The 2019 h index score of Mycologia is 128. (h index 128 means that each of the 128 articles published in this journal has been cited at least 128 times separately). If an article takes more citations, it can not increase h index score but it contribution to the IF score of journal. As the number of articles in a journal increases and time passes, the h index value has the potential to increase, but this depends on the articles being cited.

Also there are mycology journals in other indexes not covered by SCI-Expanded but within Clarivate Analytics. While there is one journal (Medical Mycology Journal) covered by ESCI, there are 20 mycology journals covered by Biological Abstracts-BIOSIS Previews.

However, as far as it can be reached, the impact factor and h index scores of these journals are lower than the journals covered by SCI-Expanded. López-Illescas et al. (2008) also take attention to this situation and, by comparing the oncology journals covered by WOS and SCOPUS, stated that the impact factor scores of WOS oncology journals were higher than the oncology journals covered by SCOPUS. They indicated the 94% of journals in the first 25% (Q1) of SCOPUS are included in WOS, but only 6% of journals in the last 25% (Q4) are in WOS.

Journals with improved performance over time have the potential to be included in the more specific index, SCI-Expanded, and vice versa. Namely, If the performance of a mycology journal covered by SCI-Expanded decreases (the number of citations decreases over time), the journal can be transferred to other indexes.

Although Q scores are useful in measuring the quality of journals, there are also controversial situations. For example, Garcia et al. (2012) argued that journals in the Q1 category do not always have a high impact score in terms of citation. Asan and Aslan (2020) also takes attention to the controversial issues regarding Q scores in their studies. Viu and Păunescu (2021) argued that there are no significant limit values in the Q grouping (for example, the journal with an IF score of 2.057 may be Q1, whereas the another journal with an IF score of 2.029 may be Q2; see also Asan and Aslan, 2020) and even that the Q grouping system should be abandoned.

References

- Abri zah, A., Zainab, A.N., Kiran, K. and Raj, R.G.. (2013). LIS journals scientific impact and subject categorization: A comparison between Web of Science and Scopus. *Scientometrics*. 94: 721-740.
- Asan, A. (2016). Web of Science (SCI-Expanded+SSCI+AHCI) Kapsamındaki 27 mikoloji dergisinde çıkan Türkiye adresli yayınların analizi, 1.1.1900-5.8.2015 (Analyses of publications originated from Turkey published in 27 mycology journals covered by SCI-Expanded database, 1.1.1900-5.8.2015). *Mantar Dergisi – The Journal of Fungus*. 7 (1): 1-17.
- Asan, A. and Aslan, A. (2020). Quartile scores of scientific journals: Meaning, importance and usage (Bilimsel dergilerin Q değerleri: Anlamı, önemi ve kullanımı). *Acta Medica Alanya*. 4 (1): 102-108.
- Asan, A., Sezgin, M. and Giray, G. (2020). Web of Science veritabanı kapsamındaki dergilerde Türkiye adresli tam makalelerin analizi: 1900-2019 (Analysis full articles addressed Turkey in journals covered by Web of Science Database: 1900-2019). *Social Sciences (NWSASOS)*. 15 (4): 1-15.
- Cantin, M., Munoz, M. and Roa, I. (2015). Comparison between Impact Factor, Eigenfactor Score, and SCImago Journal Rank Indicator in anatomy and morphology journals. *Int. J. Morphol.* 33(3): 1183-1188.
- Chirici, G. (2012). Assessing the scientific productivity of Italian forest researchers using the Web of Science, SCOPUS and SCIMAGO databases. *iForest*. 5: 101-107.
- Delgado-López-Cózar, E. and Cabezas-Clavijo, A. (2013). Ranking journals: Could Google Scholar Metrics be an alternative to Journal Citation Reports and Scimago Journal Rank? *Learned Publishing*. 26: 101-114.
- Falagas, M.E., Kouranos, V.D., Arencibia-Jorge, R. and Karageorgopoulos, D.E. (2008). Comparison of SCImago journal rank indicator with journal impact factor. *FASEB J*. 22: 2623-2628.
- Garcia, J.A., Rodriguez-Sanchez, R., Fdez-Valdivia, J. and Martinez-Baena, J. (2012). On first quartile journals which are not of highest impact. *Scientometrics*. 90: 925-943.
- Garfield, E. (1955). Citation indexes to science: A new dimension in documentation through association of ideas. *Science*. 122 (3159): 108-111.
- Garfield, E. (1972). Citation analysis as a tool in journal Evaluation. *Science*. 178 (4060): 471-479.
- Garfield, E. (2000). Use of journal citation reports and journal performance indicators in measuring short and long term journal impact. *Croat. Med. J*. 41 (4): 368-374.
- Hirsch, J.E. (2005). An index to quantify an individual's scientific research output. *PNAS-Proceedings of the National Academy of Sci*. 102 (46): 16569-16572.



- Jacso, P. (2010). Comparison of journal impact rankings in the SCImago Journal & Country Rank and the Journal Citation Reports databases. *Online Information Review*. 34(4): 642-657.
- Liu, W., Hu, G. ve Gu, M. (2016). The probability of publishing in first-quartile journals. *Scientometrics*. 106: 1273-1276.
- López-Illescas, C., de Moya-Anegón, F. and Moed, H.F. (2008). Coverage and citation impact of oncological journals in the Web of Science and Scopus. *J. Informetrics*. 2: 304-316.
- Miranda, R. ve Garcia-Carpintero, E. (2019). Comparison of the share of documents and citations from different quartile journals in 25 research areas. *Scientometrics*. 121: 479-501.
- Orbay, K., Miranda, R. and Orbay, M. (2020). Building journal impact factor quartile into the assessment of academic performance: A Case Study. *Participatory Educational Research (PER)*. 7(2): i-xiii.
- Viiu, G.A. and Păunescu, M. (2021). The lack of meaningful boundary differences between journal impact factor quartiles undermines their independent use in research evaluation. *Scientometrics*. 126: 1495–1525.
- Vishwanatham, R. (1998). Citation analysis in journal rankings: medical informatics in the library and information science literature. *Bull. Med. Libr. Assoc.* 86 (4): 518-522.

<http://eng.unn.ru/images/files/pages/Research/research/Quartile-corr.pdf>
<https://clarivate.com/webofsciencegroup/essays/history-of-citation-indexing/>
<https://clarivate.com/webofsciencegroup/essays/journal-self-citation-jcr/>
https://goums.ac.ir/files/sci/files/Citation_Analysis.pdf
<https://mjl.clarivate.com>
<https://mjl.clarivate.com/search-results>
<https://www.scimagojr.com/>
<https://www.tandfonline.com/loi/umyc20>
https://www.elsevier.com/solutions/scopus?dgcid=RN_AGCM_Sourced_300005030



Geliş(Received) :31.03.2021
Kabul(Accepted) :30.05.2021

Derleme
Doi: 10.30708.mantar906977

Fonksiyonel Bir Gıda: Shiitake Mantarı (*Lentinula edodes*)

Duygu KIRMIZIKUŞAK^{1*}, Fulya SARPER²

*Sorumlu yazar:duygukirmizikusak@karabuk.edu.tr

¹Karabük Üniversitesi, Safranbolu Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü
Orcid ID: 0000-0002-7686-1160 / duygukirmizikusak@karabuk.edu.tr

²Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları
Bölümü
ORCID:0000-0001-6386-9385 fulya.sarper@hbv.edu.tr

Öz: Mantarlar, zengin besin içeriği ile insan sağlığını en çok destekleyen gıdalardan biri olarak bilinmektedir ve sıklıkla ilaç olarak kullanılmaktadır. Shiitake mantarı (*Lentinula edodes*(Berk.) Pegler), Basidiomycetes sınıfına ait, şapkalı yenilebilir bir mantar türüdür. Shiitake, başlangıçta sadece Uzak Doğu'da yetiştirilen ve satılan, son zamanlarda ise Avrupa pazarlarında yaygın olarak görülen bir mantar çeşididir. Bu çalışmada nitel araştırma yöntemlerinden derleme tekniği kullanılmıştır. Sonuç olarak Shiitake'nin insan sağlığına olan faydalarına vurgu yapılmış, gastronomi çerçevesinde değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Shiitake, Fonksiyonel Gıda, Mantar, Glukan, *Lentinula edodes*

A Functional Food: Shiitake Mushroom (*Lentinula edodes*)

Abstract: Mushrooms are known as one of the foods that support human health with their rich nutritional content and are often used as a medicine. Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*(Berk.) Pegler) is a type of capped edible mushroom belonging to the class Basidiomycetes. Shiitake is a mushroom that was originally grown and sold only in the Far East, but more recently in European markets. In this study, one of the qualitative research methods, compilation technique was used. As a result, the benefits of Shiitake to human health were emphasized and evaluated within the framework of gastronomy.

Keywords: Shiitake, Functional Food, Mushroom, Glukan, *Lentinula edodes*

Giriş

Mantarlar klorofil olmayan eşeyli-eşeysiz sporlar oluşturarak üreyen canlılardır. Mantar tüm canlılarla benzer özellik göstermektedir. Bu sebeple ne bitki ne de hayvan aleminden sayılmaktadır. Dünyanın her yerinde bulunmaktadır. Mantarlar hayvanlar gibi besinlerini dışarıdan temin etmektedirler. Ölü atıklardan beslenmektedirler (Wasser, 2005; Akgül vd., 2016).

Mantarlar, insan sağlığını en çok destekleyen gıdalardan biri olarak bilinmektedir. Kalori bakımından düşük olmakla birlikte lif ve protein kaynağıdır (Helena vd., 2010; Sevindik vd., 2016a). Ayrıca önemli miktarda vitamin (B1, B2, B12, C, D ve E), esansiyel aminoasitler, mineral (selenyum, potasyum ve bakır) içermektedirler (Reis vd., 2012; Sevindik vd., 2016b). Doymamış yağ asitleri, fenolik bileşikler, tokoferoller, askorbik asit ve karotenoid içeriği ile iyi bir nutrasötik kaynağıdır (Palacios vd., 2011). Yenilebilir mantarlarda antioksidan, anti-tümör, antiviral, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, anti-

diyabetik ve immün düzenleyici etkiler vardır (Zhang vd., 2016; Sevindik vd., 2018).

Shiitake mantarı (*Lentinula edodes*(Berk.) Pegler), Basidiomycetes sınıfına ait, Çinlilerin "kokulu mantar" olarak adlandırdıkları şapkalı bir mantar türüdür (Ağaoğlu vd., 1991). Çin, Kore ve Japonya'daki ailelerin yemek masalarında yer alan değerli ve geleneksel bir yiyecektir. Dünyada en yaygın olarak yetiştirilen ikinci mantar türüdür (Food Agriculture Organization, 2004). Shiitake, Japonya ve Çin'de antikarsinogenik, antihipertansif ve serum kolesterolü düşürme özellikleri nedeniyle binlerce yıldır gıda ve ilaç olarak tanınmaktadır (Borchers vd., 2004). Günümüzde Fransa'da büyük ölçüde yetiştirilmekte ve satılmaktadır. Bu mantarın tüketimi sonucu alerjik reaksiyonlar yaşanabilmektedir (Nakamura, 1992; Herault vd., 2010; Adriano vd., 2013).

Shiitake mantarı zeytinyağlı hafif bir yemek olarak veya soğan ile kavularak tüketime sunulabilmektedir. Shiitake mantarı makarna soslarında da



kullanılabilmektedir (Jones, 1995; Zhang vd., 2016). Shiitake mantarı, internet üzerinden organik ürün satışı yapan online mağazalardan satın alınabilmektedir (Lindequist vd., 2005).

Bu çalışma, nitel araştırma yöntemlerinden derleme tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, ikincil veriler belli bir anlam bütünlüğü içinde nitel olarak bir araya getirilmiş ve sunulmuştur. Araştırmada, Shiitake'nin insan sağlığına faydalarına vurgu yapılmış, besin değeri, günlük kullanım dozuna ilişkin bilgi verilmiş, Shiitake mantarının üretimi, işlenmesi- saklanmasıyla yönelik açıklamalarda bulunulmuş ve fonksiyonel bir gıda olan Shiitake mantarı gastronomi çerçevesinde değerlendirilmiştir.



Şekil 1: Shiitake Mantarı (Jones, 1995; Zhang vd., 2016).

Shiitake Mantarı'nın Üretimi, İşlenmesi, Saklanması ve Tüketimi

Doğadan geleneksel olarak mantar toplama işlemi sırasında, toplanacak mantarın çok küçük olmamasına, tüm özelliklerini yansıtacak biçimde gelişmiş olmasına dikkat edilmesi önem arz etmektedir. Mantar zarara uğramayacak şekilde kesilebilir veya kazılabilmektedir (Adriano vd., 2013). Genelde sepet veya ahşap kutularda depolanmaktadır. Kuru muhafaza edilmelidir. Mantar toplama alanından bütün mantarlar alınmamalıdır. Özellikle 2-3 adet bırakmak üremelerini kolaylaştıracak ve ürünün devamlılığını sağlayacaktır (Jones, 1995). Shiitake mantarı, doğada nemli alanlarda ağaç diplerinde doğal olarak yetişmesine karşın sentetik olarak da üretilmektedir. Mantar, tahta bloklar veya kütükler üzerinde Shiitake substratı ve bir miktar talaşla desteklenerek kontrollü olarak üretilmektedir. Mantar kütüklerin bir kısmı güneş ışığı alacak şekilde diğer tarafı ise gölgede kalacak şekilde döndürülmelidir. Bu sistemle

üretimden 6 ay ila 12 ay içerisinde 1 kg'a yakın mahsul alınmaktadır. Shiitake mantarı üretim tesisinin ortalama nem oranının %60.0 olması sıcaklığının ise 20-25 °C derece olması gerekmektedir. Uzakdoğu'da çiftçilerin %95.0'i Shiitake yetiştirme geleneğini sürdürmektedir ancak bugün %80'i talaş torbası kullanırken %20.0'si odun tomruk kullanmaktadır (Wasser, 2005).

Dünya'nın en büyük Shiitake mantarı üreticisi olan Japonya, toplam dünya üretiminin yaklaşık % 83'ünü oluşturmaktadır. Mantarın toplam dünya üretiminin %60'ından fazlası tüketimden önce kurutulmaktadır. Tayvan, Güney Kore ve Çin'de, neredeyse tüm Shiitake mantarları kurutulmuş formda kullanılmaktadır. Çoğu Shiitake doğal kütüklerde üretilmektedir. Bununla birlikte, ABD, Tayvan, Kanada ve Singapur'daki birçok çiftlik şu anda sentetik bir substrat üzerinde Shiitake üretmektedir. Sentetik tomruk yetiştirmenin doğal tomruk yöntemine göre ana avantajları zamandan tasarruf ve verimliliğidir. Shiitake yetiştiriciliğinde talaşın miktarının ve inkübasyon süresinin artırılması biyolojik verimliliği arttırmaktadır (Royse, 1992).

Gıdaların korunmasında çeşitli kurutma yöntemleri önemli rol oynamaktadır. Mikrodalgada vakumla kurutma tekniği, yüksek kaliteli kurutulmuş mantar elde etmek için iyi bir yöntemdir (Tian vd., 2016). Özellikle, ön kurutma işleminin, kurutulmuş Shiitake mantarlarının genel kalitesi üzerinde önemli etkileri olduğu gösterilmektedir (Xu vd., 2019).

Shiitake mantarları diğer mantar türlerine göre daha duyarlıdır. Çünkü yüksek CO₂ konsantrasyonları (% 9'dan yüksek) mantar bozulmasını hızlandırmaktadır (Ares vd., 2006).

Mantar işleme sırasında Shiitake mantarının yan ürünleri (bağ dokusu şeritleri olarak adlandırılan mantar sapı) genellikle atılmasına karşın sapın lif, karbonhidrat ve kalsiyum içeriğinin şapkadakinden daha besleyici olduğu ve sağlık yararları için diyet bileşenleri olarak kullanılabileceği öngörülmektedir (Li vd., 2018).

Shiitake mantarı, şeker kaplı tablet, kapsül ve konsantre halde kullanılabilir. Toz, şurup, çay, şarap ve yemek olarak tüketilebilmektedir. Kurutulmuş meyvenin standart dozu çayda veya mantarlı yemeklerde vücut ağırlığına göre 6-16 gr olarak verilir, bu da yaklaşık 90 gr taze meyve gövdesine eşdeğerdir. Tablet olarak kullanımında dozaj genellikle 2 gr şeklindedir. Yemeklerde taze biçimde veya likörlerde sıvı şekilde oldukça işlevsel olarak kullanılabilmektedir (Mizuno vd., 1995).



Shiitake'nin Sağlık Etkileri

İnsanlık tarihi boyunca hastalıkları tedavi etmek ve/veya önlemek için doğal ürünler kullanılmıştır. Mantarlar bağışıklık fonksiyonlarını geliştirme özelliğine sahip olan glukani içermektedir. β -glukanlar çözümlü diyet lifi biçimidir ve bu sebeple doyumluk hissi oluşturmaktadır. Bu bağlamda kilo kontrolüne yardımcı olmaktadır (Palacios vd., 2011; Vetvicka ve Vetvickova, 2014; Zhang vd., 2016).

Shiitake iyi bir antioksidandır. Shiitake'nin kan kolesterolünü düşürme yeteneği tespit edilmiştir. *L. edodes*'un kurutulmuş ve öğütülmüş hali ile desteklenen bir diyetin sıçanlara uygulandığında ortalama plazma kolesterolünü düşürdüğü keşfedilmiştir (Jong ve Birmingham, 1993; Fukushima vd., 2001).

Shiitake (*L. edodes*) mantarında bulunan lentinan adlı protein kanseri önleyici özelliklere sahiptir. Kanser tedavisi için ilaç kullanımında oluşan kromozom hasarını iyileştirmekte bir yardımcıdır (Fang vd., 2006). Bu konuya ilişkin yapılan çalışmada, Shiitake ile beslenen farelerde %57.9 ila 78.6 oranında tümör büyümesinin azaldığı görülmüştür (Nanba vd., 1987; Mah-Lee ve Ann-Teck, 2002).

Japonya'daki en popüler yenilebilir mantar olan Shiitake'den (*L. edodes*) elde edilen ekstraktın çürük önleyici etkisi vardır. Shiitake mantarı tüketimi dişlerde plak oluşumunu azaltmakta veya engellemektedir (Shouji vd., 2000).

Kardiyovasküler hastalık, Batı dünyasında en yaygın ölüm nedenlerinden biridir ve yüksek düzeyde kan kolesterolü bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Yenilebilir mantar, Shiitake mantarı (*L. edodes*), hipokolesterolemik ajan eritadenin, 2 (R), 3 (R) - dihidroksi-4- (9-adenil) -bütirik asit içermektedir. Kan kolesterolüne karşı potansiyel bir doğal ilaç arayışında olan bilim adamları, Shiitake mantarlarının kolesterol düşürücü etkilerini saptamıştır (Enman vd., 2007).

Antibiyotikler 20. yüzyılda keşfedilmelerinden bu yana yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, çoklu ilaca dirençli patojenlerin ortaya çıkışı, insan sağlığı için sorun teşkil etmektedir. Antimikrobiyal direnç oluşturan patojen tehdidini en aza indirmek için yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine ihtiyaç olduğu kabul edilmektedir. Antibakteriyel etki ile ilgili olarak, Shiitake'nin bazı patojenik bakterilere karşı aktiviteye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Kitzberger vd., 2009).

Shiitake mantarının, maya ve küf türlerinin % 85.0'ine karşı kapsamlı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Hearst vd., 2009).

Shiitake tüketiminin insan sağlığını olumsuz yönde etkilediği bazı istinai durumlar da mevcuttur. Shiitake dermatiti, kırbaç izlerine benzeyen ve çiğ Shiitake mantarlarının tüketilmesinden sonra ortaya çıkan bir deri döküntüsüdür. Shiitake'den etkilenen bireylerde, çiğ veya pişmiş Shiitake mantarlarının tüketilmesinden sonraki 1 ila 2 gün içinde vücutlarında kamçı benzeri, doğrusal, eritemli kabartılar oluşmaktadır. Shiitake dermatiti, tipik özelliklerle ortaya çıktıktan sonra günler ila haftalar içinde kendi kendine geçmektedir (Chu vd., 2013).

Shiitake'nin Bir Fonksiyonel Gıda Olarak Kullanımının Gastronomi Çerçevesinde Değerlendirilmesi

Shiitake kendine özgü aroması ile oldukça değerli bir Asya mantarıdır. Dünyanın farklı köşelerinde, kozmopolit şehirlerde gurme restoranlar menülerinde Shiitake yemekleri sunmaktadır (Jones, 1995). Shiitake mantarı genel olarak taze tüketilmektedir. Mevsim sebzeleriyle karıştırılarak zeytinyağlı hafif bir yemek hazırlanabilmektedir. Çok pişirildiğinde içeriğinde yer alan vitamin ve mineraller azalmakta ve lezzeti kaybolmaktadır. Shiitake mantarının en az 7 dk pişirilmesi gerekmektedir. Genel olarak soğan ile kavularak tüketime sunulan Shiitake mantarı makarna soslarında da kullanılabilir. Fırınlanması, ızgarası, tavada kızartılması yapılabilen Shiitake mantarına en çok yakışan baharat biberiye ve sarımsaktır. Fırında Shiitake mantarı pişirilirken üzerine zeytinyağı ve limon eklenmesi mantarın lezzetini arttırmaktadır. Shiitake mantarı, büyük alışveriş merkezlerinde ve internet üzerinden organik ürün satışı yapan online mağazalardan satın alınabilmektedir. Shiitake mantarı sağlık faydasından dolayı ise genel olarak kurutulmuş formda paketler halinde satın alınarak ya da çayı içilerek tüketilmektedir. Shiitake mantarı tohumu alınarak ev ortamında yetiştirilebilmektedir. Shiitake mantarı kapsül şeklinde de bulunmaktadır (Bambu Filizli Shiitake Mantarı, 2019).

Reçete Örneği

Shiitakeli Salata (2 kişilik servis)

- 200 gram marul
- 1/2 bardak taze Shiitake mantarı
- 1 diş rendelenmiş sarımsak
- 1/4 bardak salata sosu (Zeytinyağı ve limon oranı isteğe göre ayarlanabilir.)
- 1/2 bardak jülyen soğan
- 2 yemek kaşığı zeytinyağı

İşlem Basamakları: Soğan, mantar, sarımsak bir tavada zeytinyağı ile sotelenir. Soğanlar renk değişince



diğer malzemeler eklenir, karıştırılır ve salata servise alınmaktadır (Jones, 1995).

Sonuç

Shiitake mantarı (*L. edodes*), *Basidiomycetes* sınıfına ait, şapkalı yenilebilir bir mantar türüdür. Shiitake mantarının üretimi ve tüketimi 1945'ten beri istikrarlı bir şekilde artmıştır. Shiitake, antikarsinojenik, antihipertansif ve serum kolesterolü düşürme özellikleri nedeniyle Asya

tibbinde uzun süredir kullanılmaktadır. Bu nedenle, Shiitakenin gıda takviyesi olarak çevrimiçi satışları hızla artmıştır. Bu mantarların özleri de bağışıklık sistemini iyileştirmek için tasarlanmış besin takviyelerine dahil edilmektedir. Shiitake, çay, şarap ve yemek olarak tüketilebilmektedir. Shiitake'nin sağlık faydalarının yanı sıra gastronomi açısından incelendiğinde de öneminin büyük olduğu anlaşılmıştır.

Kaynaklar

- Ağaoğlu Y.S., İlbay M.E. ve Güler, M. (1991). Doğal ve Kültür Alınabilir Mantar Türleri: III. Shiitake Yetiştiriciliği. Türkiye Cumhuriyeti Orman Genel Müdürlüğü.
- Adriano, AR., Acosta, ML, Azulay, DR., Quiroz, CD. and Talarico, SR. (2013). Shiitake dermatitis: the first case reported in Brazil. *An Bras Dermatol*, 88, 417-9.
- Akgül, H., Nur, A.D., Sevindik, M. ve Doğan, M. (2016). *Tricholoma terreum* ve *Coprinus micaceus*' un bazı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 17(2), 158-162.
- Ares, G., Parentelli, C., Gámbaro, A., Lareo, C. and Lema, P. (2006). Sensory shelf life of Shiitake mushrooms stored under passive modified atmosphere. *Postharvest biology and technology*, 41(2), 191-197.
- Bambu Filizli Shiitake Mantarı (2019). <https://www.nefisyemektarifleri.com/bambu-filizli-shiitake-mantarlari/>, 13.3.2021.
- Borchers, A.T., Keen, C.L., Gershwin, M.E. (2004). Mushrooms, tumors, and immunity: an update. *Exp Biol Med (Maywood)* 229, 393–406.
- Chu, E. Y., Anand, D., Dawn, A., Elenitsas, R. and Adler, D. J. (2013). Shiitake dermatitis: a report of 3 cases and review of the literature. *Cutis*, 91(6), 287.
- Enman, J., Rova, U. and Berglund, K. A. (2007). Quantification of the bioactive compound eritadenine in selected strains of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(4), 1177-1180.
- Fang, N., Li, Q., Yu, S., Zhang, J., He, L., Ronis, M. J. and Badger, T. M. (2006). Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by an ethyl acetate fraction from Shiitake mushrooms. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 12(2), 125-132.
- Food Agriculture Organization (2004), Wild Edible fungi a global overview of their use and importance to people by Eric Boa, Rome: Non-Wood Forest Products, 17.
- Fukushima, M., Ohashi, T., Fujiwara, Y., Sonoyama, K., and Nakano, M. (2001). Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, Shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Experimental Biology and Medicine*, 226(8), 758-765.
- Hearst, R., Nelson, D., McCollum, G., Millar, B. C., Maeda, Y., Goldsmith, C. E. and Moore, J. E. (2009). An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 15(1), 5-7.
- Heleno, S.A., Barros, L., Sousa, M. J., Martins. A. and Ferreira. ICFR., (2010). Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. *Food Chem*, 119, 1443– 1450 .
- Herault, M, Waton J, Bursztejn, A.C., Schmutz, J.L. and Barbaud, A. (2010). Shiitake dermatitis now occurs in France. *Ann Dermatol Venereol*, 137, 290–293.
- Jones, K. (1995). *Shiitake*, Healing Arts Press Rochester, Vermont.
- Jong, S.C. and Birmingham, J.M. (1993). Medicinal and Therapeutic Value of the Shiitake Mushroom, *Advances in Applied Microbiology*, 39, 53-184.
- Kitzberger, C. S., Lomonaco, R. H., Michielin, E. M., Danielski, L., Correia, J. and Ferreira, S. R. (2009). Supercritical fluid extraction of Shiitake oil: curve modeling and extract composition. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 35-43.
- Li, S., Wang, A., Liu, L., Tian, G., Wei, S. and Xu, F. (2018). Evaluation of nutritional values of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) stipes. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 2012-2019.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T.H., Julich, W.D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *Evid Based Complement Alternat Med*; 2, 285–299.
- Mah-Lee, N. ve Ann-Teck, Y. (2002). Inhibition of Human Colon Carcinoma Development by Lentinan from Shiitake Mushrooms (*Lentinus edodes*), *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 581-589.
- Mizuno, T., Sakai T. and Chihara G. (1995). Health foods and medicinal usages of mushrooms, *Food Reviews International*, 11:1, 69-81, DOI: 10.1080/87559129509541020



- Nakamura T. (1992). Shiitake (*Lentinus edodes*) dermatitis. *Contact Dermatitis*, 27, 65-70.
- Nanba, H., Mori, K., Toyomasu, T. and Kuroda, H. (1987). Antitumor action of Shiitake (*Lentinus edodes*) fruit bodies orally administered to mice. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 35(6), 2453-2458.
- Palacios, I., Lozano, M., Moro, C., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A., Martinez, JA. (2011). Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chem*, 128, 674– 678.
- Reis, F.S., Barros, L., Martins, A. and Ferreira, ICFR (2012). Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study. *Food Chem Toxicol*, 50, 191– 197 .
- Royse, D. J. (1992). Recycling of spent Shiitake substrate for production of the oyster mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. *Applied microbiology and biotechnology*, 38(2), 179-182.
- Sevindik, M., Akgül, H., Günal, S. ve Doğan, M (2016a). *Pleurotus ostreatus*' un doğal ve kültür formlarının antimikrobiyal aktiviteleri ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 16(1), 153-156.
- Sevindik, M., Akgül, H., Akata, I., Altuntaş, D., Bal, C. ve Doğan, M. (2016b). *Macrolepiota procera* (Scop.) Singer. Mantarının Ağır Metal İçeriklerinin ve Oksidatif Stres Durumunun Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(3), 504-508.
- Sevindik, M., Akgul, H., Korkmaz, A. I. and Sen, I. (2018). Antioxidant Potentials of *Helvella leucomelaena* and *Sarcosphaera coronaria*. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 6(2), 00173.
- Shouji, N., Takada, K., Fukushima, K. and Hirasawa, M. (2000). Anticaries effect of a component from Shiitake (an edible mushroom). *Caries Research*, 34(1), 94-98.
- Tian, Y., Zhao, Y., Huang, J., Zeng, H. and Zheng, B. (2016). Effects of different drying methods on the product quality and volatile compounds of whole Shiitake mushrooms. *Food Chemistry*, 197, 714-722.
- Vetvicka, V. and Vetvickova, J. (2014). Immune-enhancing effects of Maitake (*Grifola frondosa*) and Shiitake (*Lentinula edodes*) extracts. *Annals of translational medicine*, 2(2).
- Wasser, S. P. (2005). Shiitake (*Lentinus edodes*). *Encyclopedia of dietary supplements*, 653-664.
- Xu, L., Fang, X., Wu, W., Chen, H., Mu, H. and Gao, H. (2019). Effects of high-temperature pre-drying on the quality of air-dried Shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*). *Food chemistry*, 285, 406-413.
- Zhang, J.J., Li, Y., Zhou, T., Xu DP., Zhang, P. and Li, S. (2016). Bioactivities and health benefits of mushrooms mainly from China. *Molecules*, 21, 1– 16.



Geliş(Received) :04.01.2021

Derleme

Kabul(Accepted) :15.06.2021

Doi: 10.30708.mantar853146

***Alternaria* Genusu Üyelerinin Meyve ve Sebzeler Üzerine Etkileri**

Burcu KAYA¹, Nükhet Nilüfer ZORBA^{1*}

*Sorumlu yazar: dnukhet@comu.edu.tr

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği,
Çanakkale/Türkiye
Orcid No/ Orcid ID: 0000-0001-6851-6474 / dnukhet@comu.edu.tr
0000-0003-1755-7705 / burcu.kaya@comu.edu.tr

Öz: *Alternaria* yağlı tohumlar, tahıllar, meyve ve sebzelerde bozulmaya neden olan mikotoksijenik bir mikrofungus cinsidir. Gıdaları hasat öncesi ve hasat sırasında çeşitli yollarla enfekte ederek yanıklık, siyah çürüklük olarak adlandırılan bozulmalara neden olmaktadır. Ayrıca düşük sıcaklıklarda gelişim göstermesinden dolayı hasat sonrası depolama ve taşıma sırasında da bozulmaya neden olarak gıda endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Günümüzde *Alternaria* genusuna ait türlerin 70 'den fazla sekonder metabolit ürettiği bilinmektedir. Ancak bu sekonder metabolitlerin bazıları insan sağlığına olumsuz yönde etki eden mikotoksinlerdir. Yapılan birçok çalışmada rapor edilen alternariol (AOH), alternariol metil eter (AME), tenuazonik asit (TeA), tentoksin (TEN) ve altenuen (ALT), *Alternaria* cinsine ait türlerinin ürettiği en önemli mikotoksinlerdir. Bu derlemede *Alternaria* türleri, önemli mikotoksinleri, gelişimi ve toksin oluşumuna etki eden faktörleri ve meyve ve sebzelerdeki önemi hakkında yapılan çalışmalar bir araya getirilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Alternaria*, Metabolit, Mikotoksin, Meyve, Sebze

Effects of Genus *Alternaria* Members on Fruit and Vegetables

Abstract: *Alternaria* is a mycotoxigenic microfungus genus that causes deterioration in oilseeds, grains, fruits and vegetables. It infects foods before and during harvest in various ways, causing spoilage called blight, black rot. Besides, due to its development at low temperatures, it causes deterioration during post-harvest storage and transportation, leading to significant economic losses in the food industry. Today, it is known that *Alternaria* species are producing more than 70 secondary metabolites. However, some of these secondary metabolites are mycotoxins that negatively affect human health. Alternariol (AOH), alternariol methyl ether (AME), tenuazonic acid (TeA), tentoxin (TEN), and altenuene (ALT) reported in many studies are the most critical mycotoxins produced by species belong to Genus *Alternaria*. In this review, the studies on *Alternaria* species, their mycotoxins, factors affecting their growth and toxin formation are combined with the studies about their importance in fruit and vegetables.

Key words: *Alternaria*, Metabolite, Mycotoxin, Fruit, Vegetable

Giriş

Alternaria, saprofitik, endofitik ve patojenik türleri içeren ve her yerde bulunabilen bir mikrofungus cinsidir (Roberts ve ark., 2012). Tohumlar, bitkiler, tarım ürünleri, hayvanlar, toprak

ve atmosfer dahil olmak üzere çok çeşitli substratlarda varlığı belirlenmiştir. *Alternaria* türleri, önemli bitki patojenleri olarak bilinmektedir ve geniş bir ürün yelpazesinde büyük kayıplara neden olabilmektedir. *Alternaria* türlerinin insanlar ve



çevre üzerindeki önemli olumsuz sağlık etkileri nedeniyle, doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanması büyük önem taşımaktadır. *Alternaria*, Dothideomycetes sınıfından Ascomycota mikrofungus cinsidir (Sesli ve ark., 2020; Lawrence ve ark., 2013). *Alternaria* cinsi ilk olarak 1816 yılında Nees von Esenbeck tarafından *A. tenuis* türü ile tanımlanmıştır (Lawrence ve ark., 2013). Bu türün en belirgin özelliği boyuna ve enine septalı gittikçe incelen uç kısımları ile, koyu renkli zincir şeklinde sporlara sahip olmasıdır (Lawrence ve ark., 2013). Fries yayınladığı *Systema Mycologicum* (1832) adlı eserinde Nees'in tanımladığı *A. tenuis* türünü tanımlamamıştır. Bunun yerine eş anlamlısı olarak *Torula alternata*'dan bahsetmiştir (Lawrence ve ark., 2013). 1912'de Keissler hem Nees hem de Fries'in tanımlamalarını tekrar değerlendirerek her iki tanımında aynı olduğunu tespit etmiştir ve bugün bu tür *Alternaria alternata* olarak bilinmektedir (Woudenberg ve ark., 2013). Daha sonra bu mikrofungus grubunda iki ek cins, *Stemphylium* ve *Ulocladium* tarif edilmiştir. Bu cinslerin tanımlanma kriterleri gözden geçirilmiş ve artan sayıda yeni tür ile sonuçlanmıştır (Woudenberg ve ark., 2013). Daha sonraki çalışmalarda da *Alternaria* türleri yaygın olarak tanımlanmış, türler arasındaki spor biçimi ve boyut, büyüme ve sporülasyon gibi değişikliklerden dolayı, koloni ve konidial morfolojiye (boyut, şekil, renk, bölme, gaga) dayalı olarak yeniden sınıflandırılmaları yapılmıştır (Lawrence ve ark., 2013). Morfolojik özelliklere dayanan *Alternaria* taksonomisi üzerine yapılan bir çalışmanın sonuçları, 275 *Alternaria* türünün tanımlandığı Simmons (2007)'da özetlenmiştir. Bir tür *Prathoda* cinsine aktarılmış ve üç yeni nesil *Alternariaster*, *Chalastospora* ve *Teretispora*, *Alternaria*'dan ayrılmıştır. *Alternaria* türlerinin fenotipik olarak tanımlanmasında kullanılan örnek tanımlama tablosu Tablo 1'de gösterilmiştir. Fakat fenotipik tanımlama yeni türlerin tanımlanmasıyla birlikte karmaşıklığa neden olduğundan günümüzde bu sınıflandırmalar tercih edilmemektedir. Bu karışıklığı önlemek için moleküler filogenetik (protein ve DNA dizileri) analizler kullanılmaktadır. Moleküler çalışmalar, *Alternaria* kompleksi ve *Alternaria* tür klapeleri içinde, morfolojik özelliklere dayanan tür gruplarıyla her zaman ilişkili olmayan birden fazla cinsi ortaya çıkarmıştır (Pryor ve Gilbertson, 2000; Chou ve Wu, 2002; de Hoog ve Horr , 2002; Pryor ve Bigelow, 2003; Hong ve ark., 2005; Inderbitzin

ve ark., 2006; Runa ve ark., 2009). Önceden *Alternaria* içerisinde tanımlanan bazı türler  c yeni cins *Crivellia* (Inderbitzin ve ark., 2006; Lawrence ve ark., 2012), *Undifilum* (Pryor ve ark., 2009) ve *Sinomyces* (Wang ve ark., 2011) altına alınmıştır. *Alternaria*'nın en son moleküler revizyonu Lawrence ve ark. (2013), tarafından yapılmış ve *Alternaria* cinsi altında sekiz tür grubu olmuştur (Tablo 2). Bu sınıflandırmalarda ACT (actin), pazma membran ATPaz (plasma membrane ATPase), kalmodulin (calmodulin), TEF (translation elongation factor 1-alpha), RPB2 (the second largest subunit of RNA polymerase II), kitin sentaz (chitin synthase), ve Tsr1 (TsR1, Ribosome Maturation Factor) gen bölgeleri kullanılmıştır (Lawrence ve ark., 2013). Woudenberg ve ark. (2015), ise 168 *Alternaria* izolatını 9 gen bölgesi (ITS, SSU, LSU, *gapdh*, *rpb2*, *tef1*, *Alt a 1*, *endoPG*, OPA10-2), kullanarak tür bazında tanımlamaya çalışmıştır. Çoklu gen bölgeleri dikkate alınan bir filogeni de bile ayırt edilemeyen 35 morfo türü *A. alternata* altında eşanamlı hale getirdiğini bildirmiştir. Ancak başka bir çalışmada 11 filogenetik tür ve bir tür kompleksindeki 26 *Alternaria* türünün farklı gen bölgeleri kullanılarak tekrar sınıflandırılması gerektiği bildirilmiştir (Sanzani ve ark., 2016).

Alternaria  r yeyen ağaç, bitki, gıda ve farklı toprak türlerinde saprofitik veya patojenik organizma olarak gelişmektedir (Amirmajdi ve ark., 2010). Çoğu türü bitki hastalıklarına neden olmakla birlikte düşük sıcaklıklarda da gelişebildikleri için soğutulmuş koşullar altındaki gıdalarda bozulmadan sorumludur (Broggi, 2013). Ayrıca tarlada ve hasat sonrası aşamada meyve ve sebzelerde önemli ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Bununla birlikte *Alternaria* spp. tarafından üretilen mikotoksinler halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Tahıllar, domates, elma, üzüm, yağlı bitkiler, yağlı tohumlar, portakal, limon, kavun, salatalık, karnabahar, biber ve mandalina sıklıkla *Alternaria* türleri ile kontamine olan gıdalardır (Escriv  ve ark., 2017). Gıdalarda yaygın olarak karşılaşılan türleri arasında *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens*, *A. radicina*, *A. brassicae*, *A. brassicicola* ve *A. infectoria* bulunmaktadır.

Bu derleme ile gıdalardan izole edilen *Alternaria* türleri, mikotoksinleri, gelişimi ve toksin oluşumuna etki eden faktörleri, patojen olarak meyve ve sebzelerdeki önemi hakkında yapılan çalışmalar bir araya getirilmiştir.



Tablo 1. *Alternaria* türlerinin fenotipik tanımlanması (Samson ve ark., 2010; Tančinová ve ark., 2015; Rahimloo ve Ghosta, 2015)

Kod	Özellik	
1a	Konidia değişen uzunlukta dallanmış birincil konidiaforda üretilmektedir.	2
1c	Konidia sıklıkla dallanmamış zincirli kısa birincil konidiaforda üretilmektedir.	3
2a	Birincil konidiafor uzun, ikincil konidiafor sıklıkla kısadır ve koloniler DRYES 'da yeşildir, CYA 'da üç boyutlu çiçek açan bir görünüm vermektedir.	<i>A. aborescens</i>
2b	Birincil konidiafor kısadır, ikincil konidiaspor sıklıkla uzundur ve koloniler DRYES 'da gri ve beyazdır, konidiajenik lokuslar 50-100 µm uzunluğundadır.	<i>A. infectoria</i>
2c	Birincil konidiafor düz ve basittir, nispeten uzun ikincil konidiafora sahiptir. Konidia 25-45 x 8-16 µm 'dir. Enine septalı, dış konidial duvar daha yoğun kahverengidir. 23-25 °C 'de 7 gün inkübasyonla PCA 'da koloni çapı 40 mm ve koloni rengi gridir.	<i>A. arbusti</i>
2d	Birincil konidiafor 125 µm uzunluğundadır, Bir zincirdeki genç konidia 12-25x6-8 µm 'dir. 5- 7 enine septaya sahiptir fakat bunlar uzunlamasına değildir (1-2 uzunlamasına/eğik septa). 23-25 °C'de 7 gün inkübasyonla PCA 'da ortalama koloni çapı 55 mm ve koloni rengi yeşilimsi koyu kahverengiye değişmektedir.	<i>A. brassicicola</i>
2e	Birincil konidiafor doğrudan agar yüzeyinden 125 µm 'ye kadar uzunluktadır ikincil konidiaforlar kısa veya daha yaygın olarak 150 µm ye kadar uzundur. Konidia oval açık kahverengidir, 2- 3 enine septalıdır nadiren bir uzunlamasına septa görülebilir, konidia'lar 13-35x8-12 µm 'dir. 23- 25°C 'de 7 gün inkübasyonla PCA 'da ortalama koloni çapı 55 mm ve koloni rengi açık gridir.	<i>A. vaccinii</i>
3a	Konidyanın zincir halinde görünümü gagasızdır. Konidia elipsoid- oval, koyu kahverengi 20-40 x 8-12 µm ölçülerindedir. 3-5 enine septalı, nadiren uzunlamasına septa içermektedir. 60 µm 'ye kadar uzun sekonder konidiafora sahiptir. 23- 25 °C 'de 7 gün inkübasyonla PCA 'da ortalama koloni çapı 57 mm ve koloni rengi kahverengidir.	<i>A. destruens</i>
3b	Tek konidiafor altından çıkan kısa ikincil konidiaforlara sahiptir.	<i>A. alternata</i>
3c	Konidia basit uzun zincirlerle üretilir, uzun dar elipsoid şeklinde ve 17-40 x 6-8 µm 'dir. 3-5 enine septalı nadiren 1 uzunlamasına septalıdır. 23-25 °C 'de 7 gün inkübasyonla PCA 'da ortalama koloni çapı 64 mm ve koloni rengi kahverengidir.	<i>A. perangusta</i>
3d	Birincil konidiaforlar kısa ve doğrudan agar yüzeyinde, 65 µm'ye kadar uzunluktadır. Konidia basit uzun zincirlerle üretilmektedir, geniş bölümü sarımsı kahverengidir ve 15-50 x 8-10 µm'dir. 23- 25 °C 'de 7 gün inkübasyonda PCA 'da ortalama koloni çapı 55 mm ve koloni rengi kahverengidir.	<i>A. turkisafrina</i>
3e	Konidia 20-45 x 8-12 µm'dir. Birincil konidiafor doğrudan agar yüzeyinde 70 µm'ye kadar uzunluktadır. 3-5 enine septa ve 1-2 uzunlamasına septalıdır. 23-25 °C 'de 7 gün inkübasyonla PCA 'da ortalama koloni çapı 62 mm ve koloni rengi kahverengidir.	<i>A. tenuissima</i>

*DRYES: dichloran rose bengal yeast extract sucrose, CYA: czapek yeast extract agar, PCA: potato carrot agar

Tablo 2. *Alternaria* türlerine ait mevcut gruplandırma (Lawrence ve ark., 2013)

<i>Brassicicola</i> grubu	<i>Alternata</i> grubu
<i>Radicina</i> grubu	<i>Alternantherae</i> grubu
<i>Gypsophilae</i> grubu	<i>Porri</i> grubu
<i>Sonchi</i> grubu	<i>Panax</i> grubu

Alternaria türlerinin gelişimini etkileyen faktörler

Alternaria türlerinin gelişimini özellikle sıcaklık, su aktivitesi (a_w) ve pH gibi abiyotik faktörler etkilemektedir. Genel olarak *Alternaria* türleri için optimum büyüme sıcaklıklarının 22-30°C arasında olduğu bilinmektedir. Ancak daha soğuk

bölgelerde 2,5–6,5°C ve hatta daha düşük sıcaklıklarda 0 ile –5°C arasında değişen minimum büyüme sıcaklıklarının da olduğu bildirilmiştir (Escrivá ve ark., 2017). Bazı türlere ait çimlenme büyüme ve sporülasyon için gerekli optimum sıcaklık ve su aktivitesi değerleri değişiklik göstermektedir (Tablo 3).

Tablo 3. Bazı *Alternaria* türlerinin filizlenme, büyüme ve sporülasyonu için gerekli optimum sıcaklık ve su aktivitesi (Lopez ve Cabral, 1999; Sesli ve ark., 2020).

Türler	Çimlenme		Büyüme		Sporülasyon	
	Optimum Sıcaklık (°C)	Su Aktivitesi	Optimum Sıcaklık (°C)	Su Aktivitesi	Optimum Sıcaklık (°C)	Su Aktivitesi
<i>A. alternata</i> (*Astım küfü)	15-30	0,84	25-30	0,85	25-27	0,90
<i>A. brassicae</i> (*Lahanaküfü)	21-28	0,84-0,90	22-24		22-23	
<i>A. brassicicola</i> (*Hardalküfü)	28-35		20-27		22	
<i>A. citri</i> (*Turunçküfü)			25	<0,91		
<i>A. cucumerina</i>	25-28		27-30		27	
<i>A. dauci</i> (*Havuçküfü)	22-24				25-30	0,96
<i>A. helianthi</i>	25-28		25		15-20	
<i>A. longipes</i> (*Boylüküf)	22-25		25-29			
<i>A. porri</i> (*Pırasaküfü)	21-30		23-30		25	0,75-0,80
<i>A. ricini</i>	25-30		28		20	
<i>A. solani</i> (*Pataküfü)	20-28	0,92	19-28		20-26	
<i>A. triticina</i>	15-27				25	

*Türkçe isimlendirmeler Sesli ve ark. (2020) referans alınarak tabloya eklenmiştir.

Alternaria türleri tarafından üretilen toksinler

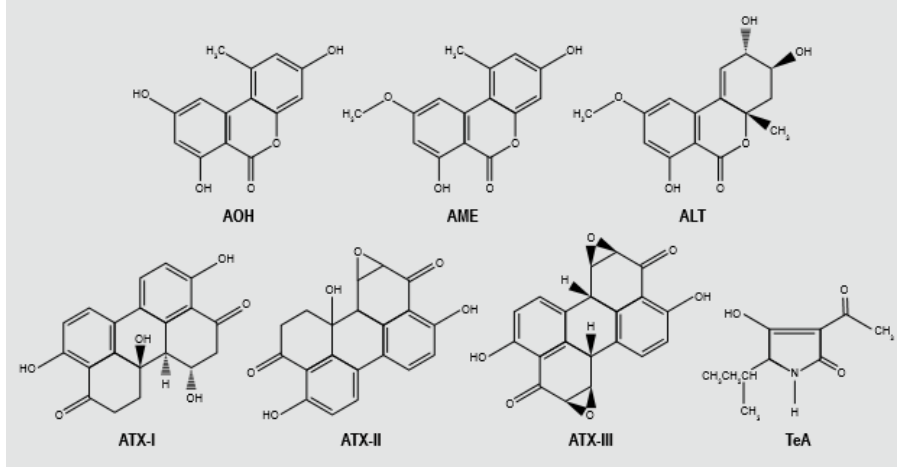
Alternaria türleri yetmişten fazla sekonder metabolit üretebilmektedir. Bu metabolitlerden

yaklaşık otuz tanesi insan ve hayvanlara toksik olarak rapor edilmiştir (Barkai- Golan, 2008; Lopez ve ark., 2016; Hyang, 2015; Sanzani ve ark., 2016).



Alternaria mikotoksinleri denildiğinde akla gelen başlıca toksinler tenuazonik asit (TeA), alternariol monometil eter (AME), alternariol (AOH), altenuen (ALT), altertoksin -I, -II ve -III 'tür (Dall'Asta ve ark., 2014). Bu mikotoksinler içerdikleri steroidler, terpenoidler, fenolikler gibi çeşitli bileşimlerine göre üç farklı yapı sınıfına

ayrılmaktadır. (Sanzani ve ark., 2019). Dibenzopiron türevleri AOH, AME ve altenuen; tetramik asit türevi TeA, siklik tetrapeptid yapısında TEN; peruen türevleri ise altertoksin I (ATX-I), altertoksin II (ATX-II) ve altertoksin III (ATX-III) 'tür (Sanzani ve ark., 2019; Hajnal ve ark., 2016; Da Cruz Cabral ve ark., 2016) (Şekil 1).



Şekil 1. AOH, AME, ALT, ATX-I, -II, -III ve TeA'nın kimyasal yapısı (Ostry, 2008).

TeA sitotoksik, böcek öldürücü, zootoksik, antibakteriyel ve antiviral aktivite sergilemektedir (Oviedo ve ark., 2013). Ayrıca TeA insanda hematolojik bozukluk olan Onyalai hastalığının bir risk faktörü olarak da bilinmektedir. Bunun dışında üç ayrı memeli hücre hattı ile yapılan bir çalışma TeA'nın, memeli hücre hattında protein üretimini ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini bildirmiştir (Somma ve ark., 2011). Genellikle kombinasyon halinde bulunan AOH ve AME ise genotoksik ve mutajenik aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir (Sanzani ve ark., 2019; Asam ve ark., 2011; Somma ve ark., 2011). Ayrıca yapılan bazı çalışmalar AOH ve AME toksinlerinin teratojenik ve fetotoksik etkisinin varlığını da bildirmiştir. Altertoksin I sitotoksik ve mutajenik olarak; altertoksin II ise memelilerde AOH ve AME'den çok daha güçlü bir mutajen ve DNA ipliği kırıcı bir mikotoksin olarak tespit edilmiştir (Lopez ve ark., 2016). EFSA'nın 2011 yılında hazırladığı bir raporda insanların AOH, AME, TeA ve TEN toksinlerine maruz kalma risk değerlendirilmesi yapılmış ve bu toksinler için Toksikolojik Endişe Eşiği (TTC-Threshold of Toxicological Concern) yayınlanmıştır. Rapora göre AOH ve AME için TTC değeri günde 2,5 ng / kg, TeA ve TEN için ise

günde 1500 ng / kg vücut ağırlığıdır (Solfrizzo, 2017; Lopez ve ark., 2016).

2011 ve 2014 yıllarında Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından yayınlanan bir rapora göre *Alternaria* toksinlerinin oluşumu, toksisitesi ve toksikokinetiği hakkında bazı bilgi eksikliklerinin olduğu açıklanmıştır (Fraeyman ve ark., 2017). Fraeyman ve ark. (2017), yaptıkları derlemede *Alternaria* mikotoksinleri hakkında üç önemli konunun literatürde eksik olduğunu bildirmişlerdir. Bu konulardan ilki *Alternaria* mikotoksinlerinin gıdalarda oluşumu ile ilgilidir. Özellikle hayvansal kaynaklı ürünlerde ortaya çıkan toksinler ve farklı gıda örneklerinde konjuge formda bulunan *Alternaria* mikotoksinlerine ilişkin herhangi bir verinin bulunmadığı belirtilmiştir. İkinci konu *Alternaria* mikotoksinlerinin in-vitro çalışmalarda üreme sağlığı ve bağışıklık sistemi üzerinde belirlenen olası etkisinin, in-vivo olarak doğrulanmamış olmasıdır. Bundan dolayı *Alternaria* mikotoksinlerinin insanlarda olası kanserojen riskinin Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından değerlendirilmesi tavsiye edilmiştir. Üçüncü konu ise özellikle bebek mamalarındaki TeA'nın sağlık için olası risk faktörü olabileceğinin göz ardı edilmemesinin gerekliliğidir. *Alternaria* türleri arasında en önemli mikotoksin



üreten tür *Alternaria alternata* türüdür. Bu türün AOH, AME, ATX-I, ATX -II, ATX-III mikotoksinlerini ürettiği bildirilmiştir (Ostry, 2008). *A. alternata* dışında önemli mikotoksin üretici türler ve ürettikleri toksinler Tablo 4. 'de verilmiştir. Mikotoksin üretimi genel olarak mikrofungusun suşuna, büyüdüğü substrata ve çevresel büyüme koşullarına bağlıdır (Barkai-Golan, 2008; Sanzani ve ark., 2016). Genellikle AOH, AME ve diğer *Alternaria* toksinlerinin doğal olarak hasat öncesinde oluştuğu bilinmektedir (Ostry, 2008; Scott, 2012). Ayrıca yüksek sıcaklık ve yüksek su aktivitesinin mikotoksin üretimi için elverişli bir ortam olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir. Örneğin Sanchis ve Magan (2004), *A. alternata* türünün mikotoksinlerinin (AME ve AOH) gelişmeye başlayıp, büyümesi ve üretmesi için gereken su aktivitesinin 0,86 a_w 'dan büyük ya da ona eşit olduğunu bildirmiş olup toksinlerin optimum üretiminin 0,97 a_w 'den büyük olduğunu bildirmiştir (Jackson ve Al-Taher, 2008). Buna ek olarak *Alternaria* türüne ait toksinlerin asidik pH 'da stabil kalabilirken, alkali pH 'da kolaylıkla bozunabileceği bilinmektedir (Dall'Asta ve ark., 2014). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise 9 farklı tarım bölgesinden (Merkezi Kuzey Anadolu, Ege, Marmara, Akdeniz, Kuzey Doğu Anadolu, Güney Doğu Anadolu, Karadeniz, Merkezi Doğu Anadolu ve Merkezi Güney Anadolu) yapılan gıda örneklemelerinden izole edilen *Alternaria* izolatlarının alternariol monometil eter ve altertoksin üreticisi olduğu bildirilmiştir (Topal, 2003).

Önemli bazı *Alternaria* türleri

Alternaria alternata

Alternaria alternata, *Alternaria* türleri arasında *Alternata* grubunda yer almaktadır (Woudenberg ve ark., 2013). Sesli ve ark. (2020), *Alternaria alternata* 'ya Türkçe isim olarak Astımküfü ismini uygun görmüştür. Domates, domates ürünleri, yaban mersini, elma, çilek, şeftali, tahıllar, zeytin, fındık ve yağlı tohumlar gibi gıda ürünlerinde siyah çürüklüğe neden olmaktadır (Ostry ve ark., 2007; Somma ve ark., 2011; Greco ve ark., 2012; Graf ve ark., 2012; Nishikawa ve Nakashima, 2019). Dünyadaki birçok çalışmada tahıllarda baskın tür olduğu bildirilmektedir (Hyang ve ark., 2015). Buna ek olarak Mutlu ve Üstüner (2017) Türkiye'de yaptıkları çalışmada, domates yapraklarında görülen fungal hastalık etmeninin en çok *Alternaria alternata* (%27,23) olduğunu tespit

etmiş ve bu suşun hastalık şiddetinin %47,5 olduğunu bildirmiştir. Kaya ve Karaca (2020) ise, Antalya ilindeki çilek ekim alanlarında hastalığa neden olan fungal türleri tespit ettikleri çalışmada, yaprak örneklerinde en yaygın *Alternaria alternata* (%96,43) tespit etmiştir. Buna karşın *Alternaria alternata* 'nın toprak örneklerinde düşük yaygınlık oranı gösterdiğini bildirmiştir. Özgönen ve Çulal Kılıç (2009), Isparta ilinde soğuk hava depolarında bulunan elmalarda hasat sonu hastalıklara neden olan etmenlerden birinin *Alternaria alternata* olduğunu bildirmiştir. Gravesen ve ark. (1994), bu türün büyümesi için sıcaklık gereksinimlerinin minimum 2°C, maksimum 32°C olduğunu ve optimum sıcaklık 25-28°C arasında olduğunu bildirmiştir. Büyüme için 25°C 'de minimum a_w 'si ihtiyacı 0,88 olarak verilmiştir. Optimal büyüme pH 4-5,4 aralığında gerçekleşmekte ve gelişmesi için pH aralığı 2,7-8,0 arasında tespit edilmiştir. Yüzey dışında gelişme sıcaklık ve su aktivitesine (a_w değeri) bağlı olmaktadır. Örneğin domates meyvelerinden izole edilen *Alternaria alternata* suşlarının besiyerinde gelişimi 21°C'de 0,982 su aktivitesinde gerçekleşmektedir (Noser ve ark., 2011). *Alternaria alternata* AOH, AME, TeA, ALT gibi çeşitli mikotoksinleri üretmektedir (Graf ve ark., 2012). Farklı mikotoksinler farklı sıcaklık ve su aktivitesi değerlerinde farklı miktarlarda üretilebilmektedir (Graf ve ark., 2012). Maksimum AOH, AME ve ALT üretiminin, 25°C 'de ve 0,98 a_w 'de gerçekleştiği bildirilmiştir.

Alternaria tanımlama çalışmalarında en belirgin özellik konidial boyuttur ve birçok araştırmacı küçük konidial boyuttaki *Alternaria* türlerini *Alternaria alternata* olarak tanımlamıştır. Bundan dolayı *A. longipes*, *A. gaisen* (syn.*A. kikuchiana*), *A. citri* ve *A. mali*, *A. alternata* 'nın patotipleri arasında yer almaktadır (Andersen ve ark., 2001). Günümüzde *A. alternata* patotipleri arasına *A. toxicogenica*, *A. limoniasperae* ve *A. arborescens* ilave edilerek toplam yedi adet konakçıya özgü toksin üreten *A. alternata* patotipi tanımlanmıştır. Bunlar AM-toksini üreterek elmadaki (*Malus domestica* Borkh) *Alternaria* lekelerine, AK-toksini üreterek Japon armutlarında (*Pyrus pyrifolia* Burm. f.; Nakai var. *culta* Makino, Nakai) siyah lekeler, ACT-toksini üreterek mandalinada (*Citrus reticulata* Blanco) kahverengi lekeler, ACR-toksini üreterek limon (*C.jambhiri*



Lush.) yapraklarının lekelenmesine, AAL-toksini üreterek domateste (*Solanum lycopersicum* L.) gövde yanıklığına, AT-toksin üreterek tütünde (*Nicotiana tabacum* L.) kahverengi lekeler ve AF-toksin üreterek çilek yapraklarındaki siyah lekelerin oluşumuna neden olmaktadır (Nishikawa ve Nakashima, 2019).

Alternaria tenuissima

Alternaria tenuissima, *Alternaria* türleri arasında *Alternata* grubunda yer almaktadır (Woudenberg ve ark., 2013). Sesli ve ark. (2020), *Alternaria tenuissima* 'ya alternatif Türkçe isim olarak Narinküf 'ü uygun görmüştür. Danimarka 'da yapılan bir çalışmaya göre *A. tenuissima* küflü domateslerde en yaygın mikrofungus olarak bildirilmiştir *Alternaria tenuissima* ile enfekte olan domateslerde TA, AME ve AOH toksinlerinin varlığını tespit etmiştir. (Somma ve ark. 2011). Buna ek olarak Greco ve ark. (2012) 'da aynı toksinleri yaban mersininden elde edilen izolatlarda da tespit etmiştir.

A. tenuissima, *A. alternata* ve *A. arborescens*'in yer fıstıklarında geç yanıklığa

neden olduğu California 'da yapılan bir çalışmada bildirilmiştir. Hastalık bitkinin yeşil kısmını ve meyveyi etkilemektedir (Avenot ve ark., 2016). Aynı şekilde Çin ve İran 'da yapılan farklı iki çalışmada da patateslerdeki hastalık nedeninin *A. tenuissima* türüne ait olduğu bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2013). Türkiye'de Kırbağ ve Turan (2005) tarafından yapılan bir çalışmada ise, hıyarlar da *A. tenuissima* tespit edilmiştir.

Alternaria porri

Alternaria porri (Ellis) Cif., *Alternaria* türleri arasında *Porri* grubunda yer almaktadır (Woudenberg ve ark., 2013). Sesli ve ark. (2020), *Alternaria porri* 'ye alternatif Türkçe isim olarak Pırasaküfü 'nü uygun görmüştür. Soğan ve sarımsaklarda mor leke hastalığına neden olan kritik bir patojendir (Prajapati ve ark., 2019a). Soğanın yaprak, çiçek ve sap kısmını enfekte ederek ciddi lezyonlara neden olmakta ve bu yüzden soğan üretiminde %30-70 oranında kayba neden olmaktadır (Phuwapraisrisan ve ark., 2009).

Tablo 4. Bazı *Alternaria* türlerinin ürettikleri önemli mikotoksinler

Türler	Mikotoksin*	Kaynaklar
<i>A. tenuissima</i>	AME, AOH, TeA, ALT, ATX	Barkai-Golan, 2008; Andersen ve Thrane, 2006
<i>A. alternata</i>	AME, AOH, TeA, ALT	Oviedo ve ark., 2013; Graf ve ark., 2012
<i>A. brassicae</i>	AME, AOH	Ostry, 2008
<i>A. capsici-annui</i>	AME, AOH, TeA	Barkai-Golan, 2008
<i>A. citri</i>	AME, AOH, TeA	Ostry, 2008; Barkai-Golan, 2008
<i>A. cucumerina</i>	AME, AOH	Ostry, 2008; Barkai-Golan, 2008
<i>A. kikuchiana</i>	AME, AOH, TeA	Ostry, 2008
<i>A. longipes</i>	AME, AOH, TeA	Barkai-Golan, 2008
<i>A. porri</i>	AME, AOH, TeA	Barkai-Golan, 2008
<i>A. solani</i>	AME, AOH	Barkai-Golan, 2008
<i>A. tomato</i>	AME, AOH, TeA, ATX-I, -II, -III	Ostry, 2008
<i>A. japonica</i>	TeA	Ostry, 2008; Barkai-Golan, 2008
<i>A. radicina</i>	ATX- I, -II, -III, TeA	Ostry, 2008
<i>A. infectoria</i>	AME, AOH	Oviedo ve ark., 2013
<i>A. arborescens</i>	AOH, TeA, ATX, ALT	Andersen ve Thrane, 2006

*Alternariol metil eter (AME), alternariol (AOH), tenuazonik asit (TeA), altenuen (ALT) ve altertoksin (ATX)

Sarımsakta ise sarı lezyonlar, soluk ve yumuşak lekeler şeklinde başlayan enfeksiyon ürünün kaybı ile sonuçlanmaktadır (Prajapati ve ark., 2019b).

Mohsin ve ark. (2016), Bangladeş 'in soğan yetiştiren farklı bölgelerindeki hastalıklı yapraklardan izole ettiği 27 adet *Alternaria porri* izolatu üzerinde çalışmışlar ve *A. porri* izolatlarının,



ürün ve coğrafi durumdan bağımsız olarak gelişme, sporülasyon ve konidial morfolojisinin farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca tüm izolatların ilgili konağa karşı patojenik olduğunu bildirmişlerdir.

Alternaria solani

Alternaria solani, *Alternaria* türleri arasında *Porri* grubunda yer almaktadır (Woudenberg ve ark., 2013). Sesli ve ark. (2020), *Alternaria solani* 'ye alternatif Türkçe isim olarak Pataküfü 'nü uygun görmüştür. *Alternaria* türünün bilinen en iyi patojenlerinden biridir. Çapraz ve uzunlamasına septalı konidyalar ve koyu renkli (melanize) hücrelere sahiptir. Melaninler hidrolitik enzimler gibi istenmeyen çevre koşullarına karşı türü korumaktadır (Chaerani ve ark., 2006). Domates ve patates bitkilerini hem kuru hem de yaş ortamda enfekte ederek bu ürünlerde erken ölüm hastalığına neden olmaktadır (Ravikumar ve ark., 2016; Walters ve ark., 2018). Özellikle hafif yağış, yüksek nem ve sıcaklığın 24–29°C olduğu bölgelerde domateslere zarar verici etkisi olduğu bildirilmiştir (Chaerani ve ark., 2006). Ozan ve Maden (2005), domates yapraklarında *A. solani* tespit edildiğini bildirmiştir. Buna ek olarak Kırbağ ve Turan (2005), kavunlarda *A. solani* tespit ettiğini bildirmiştir.

Alternaria solani yaşam döngüsü boyunca toprak ve hava yoluyla taşınmaktadır. Kontaminasyon olması durumunda sanitasyon yoluyla kontrol edilmesini zorlaştırmaktadır (Escuredo ve ark., 2011). Ayrıca 4-36°C gibi geniş sıcaklık aralığında gelişebilmektedir (Ravikumar ve ark., 2016). *A. solani* suşlarının ürettiği tespit edilen en önemli toksin alternarik asittir (Chaerani ve ark., 2006).

Meyve ve sebzelerde *Alternaria* spp. ve toksinlerinin varlığı

Alternaria cinsinin birçok patojenik türü, tarlada çeşitli mahsul ve ürünlerini etkileyerek kök ve yaprak hastalıklarına neden olurken patojenik

olmayan türler hasat sonrası dönemde bitki meyvelerini ve çekirdeklerini bozarak çürüklüğe neden olmaktadır (Ostry, 2008; Sanzani ve ark., 2016). Hasat öncesi dönemde *Alternaria* türlerinin büyüme ve gelişimi toprakta gerçekleşmektedir (Van de Perre ve ark., 2015). Bundan dolayı gıda endüstrisinde önemli derecede ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Estiarte, 2016).

Alternaria türleri düşük sıcaklıklarda depolanan meyve sebzelerde de bozulmaya neden olmaktadır (Jackson ve Al-Taher, 2008).

Düşük sıcaklık ve düşük su aktivitesi gibi istenmeyen koşullar altında bile üremesi ve toksin üretme özelliği, *Alternaria* türlerinin soğutulmuş meyveler, sebzeler ve depolanan yemlerde risk oluşturmaktadır (Mikula ve ark., 2013).

Hasat edilmiş ürüne bulaşan en yaygın tür olan *Alternaria alternata* genellikle konakçı bitkiye direkt olarak bitki kütikulası veya epidermisten girememekte; içeri girmek için yaralı bir dokuya ihtiyacı bulunmaktadır. Kabakgillerde özellikle gövde yarası veya kabuk yaralarından enfekte eden bir patojendir. Elma, çilek, armut, kavun, narenciye ve domates gibi çeşitli spesifik bitki patotipleri olduğu bildirilmiştir (Sanzani ve ark., 2016).

A. alternata, *A. brassicae*, *A. solani*, *A. capsici*, *A. dauci*, *A. longipes*, *A. porriand* *A. tenuissima*, *A. alternata* ve *A. solani* türleri sıklıkla biberden izole edilen *Alternaria* türleri olarak bildirilmiştir (Da Cruz Cabral ve ark., 2016) (Şekil 2).

Alternaria alternata domatesin başlıca patojenlerinden biridir. Olgun domates meyvelerinin enfeksiyonları, çürümüş uç kısımlardan veya meyve yüzey yaralanmalarından başlayan siyah-kahverengi çürüklüğe neden olan lekeler şeklinde görülmektedir (Pane ve ark., 2015). *Alternaria alternata* ayrıca turunçgillerde nokta şeklindeki kahverengi lekelerin nedeni olarak tespit edilmiştir (Sanzani ve ark., 2016).



Şekil 2. Biberde *Alternaria* türlerinin neden olduğu bozulma (UMass Extension Vegetable Program, 2020).

Toprakta saprofitik olarak yaşayan nekrotrofik fungal hastalık etmeni *Alternaria solani* başta domates, patates, fasulye gibi sebzeleri, süs bitkilerini (karanfil) ve meyve türlerini (elma, portakal) enfekte etmektedir (Çalış ve Yazar, 2011). *Alternaria solani* patatese hasat sırasında oluşan yaralara bulaşarak sap, yaprak ve yumruyu enfekte etmektedir. Sporlar toprak ve yaprak

yüzeyinden patatese nüfuz etmektedir. Lezyonlar koyu kahverengi 1-2 mm çapında küçük lekeler halinde görülmektedir (Escuredo ve ark., 2011) (Şekil 3). *Alternaria dauci* ve *Alternaria radicina* havuçları enfekte ettiği ve siyah çürümeye neden olduğu bildirilmiştir (Sanzani ve ark., 2016) (Şekil 4).



Şekil 3. *Alternaria solani* tarafından enfekte olan patates (Jense, 2020; Clarke, 2016; Ocamb, 1998).



Şekil 4. *Alternaria radicina* tarafından enfekte olan havuç (Anonymous, 2020).

A. citri turunçgillerde başlıca kök patojenlerinden biridir ve özellikle meyve tabanında görülmektedir. Ancak enfeksiyonun ortaya çıkabilmesi için meyvenin yaralanmış veya olumsuz gelişme koşullarına fizyolojik açıdan maruz kalmış olması gerekmektedir (Barkai-Golan,

2008) (Şekil 5). *Alternaria* türleri Arjantin başta olmak üzere dünyanın diğer bölgelerinde yetiştirilen soya fasulyelerinden en çok izole edilen küf mantarlarından biridir. Oviedo ve ark. (2011), soya fasulyeleriyle yaptıkları çalışmada yüksek oranda *Alternaria* türüne rastlamışlar ve soya



fasulyelerinin olgunlaşması, hasat edilmesi ve depolanması sırasında bu türün gelişme ve mikotoksin üretme yönünden risk oluşturabileceğini bildirmişlerdir *Alternaria* türleri birçok elmada hasat sonrası bir hastalık olan çekirdek çürümesine neden olmaktadır. Elmada *Alternaria* çekirdek çürümesi sıklıkla *A. alternata* ile ilişkilendirilse de Ntasiou ve ark. (2015), Yunanistan 'da yaptıkları bir çalışmada *A. arborescens* ve *A. tenuissima* türlerinin de elma da çekirdek çürümesine neden olabileceği bildirilmiştir (Şekil 6).

Alternaria türleri nar kabuğunda bazı bölgelerde zarar oluşturarak, bu bölgelerde esnemelere neden olmaktadır. Oluşan esnemeler ise özellikle olgunlaşma sırasında narda oluşacak çatlama zemin hazırlamaktadır (Yılmaz ve Özgüven, 2012). Bu konu hakkında, Yıldız ve ark. (2018), Aydın ilinde hasat edilen narların hastalıklı meyvelerinden en fazla *Alternaria spp.* izole edildiğini bildirmiştir.



Şekil 5. *Alternaria citri* tarafından enfekte olan mandalina ve portakal (Decco Iberica Post Cosecha S.A.U., 2020; Anonymous, 2018).



Şekil 6. Elmada *Alternaria* türlerinin neden olduğu çekirdek çürümesi (Rosenberger, 2014).

Alternaria mikotoksinlerine turuncgiller, elma, domates, zeytin, biber, patates gibi birçok meyve ve sebze sıklıkla rastlanmaktadır (Ntasiou ve ark., 2015) (Tablo 5). Özellikle bitkilerin yenilebilir kısımlarında biriken mikotoksinlere, meyve ve sebzelerin ürünü olan domates püresi, elma suyu, üzüm suyu, kuru erik ve kızılıklık nektarı gibi işlenmiş ürünlerde de rastlanmaktadır (Gambacorta ve ark., 2018; Barkai-Golan, 2008; Patriarca ve ark., 2007).

Tournas ve Stack (2001), iki *Alternaria alternata* suşunu kullanarak farklı meyvelerin depolanması sırasında AOH ve AME üretimini

araştırmıştır. Meyve türlerine bağlı olarak *A. alternata*'nın AOH ve AME üretiminin farklılık gösterdiğini bildirmiştir. Örneğin çilek üzerinde AOH üretimi gerçekleşmemiş, üzümde ise AOH ve AME üretimi gerçekleşmiştir. Solfrizzo ve ark. (2005) ise, *A. alternata* suşlarının pirinç besi ortamında TeA, AOH, AME ve albertoksin-I (ATX-I), havuç besi ortamında ise AOH ve AME ürettiğini bildirmiştir. Doğal olarak enfekte olmuş elma ve elma sularında AOH ve AME gibi en az iki *Alternaria* metabolitine rastlanmaktadır. (Andersen ve Thrane, 2006). Ntasiou ve ark. (2015), farklı elma çeşitlerinde *Alternaria* türlerinin duyarlılığını



belirlemek ve elma meyvesinde mikotoksijenik olma durumunu belirlemek için çalışmışlardır. Çalışma sonucunda sıklıkla *A. tenuissima* ve *A. arborescens* türleri ile karşılaşmışlar ve çalıştıkları 4 farklı türdeki elmalardan (Fuji, Golden Delicious, Granny Smith ve Red Delicious) Fuji çeşidinin bu iki patojene karşı en dirençli olduğunu, Golden Delicious çeşidinin ise en duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Toksin üretiminde ise her iki türünde in vivo ya da in vitro ortamda alternariol (AOH), alternariol monometil eter (AME) ve tentoksini (TEN) üretebildiğini, elma meyvesinde *A. tenuissima* izolatlarının, *A. arborescens* izolatlarından daha fazla AOH ürettiğini bildirmişlerdir. Pose ve ark. (2010), siyah küf hastalığından etkilenen domateslerden izole edilen *A. alternata* türünü kullanarak optimum AOH üretiminin 21 °C de 28 gün inkübasyon sonucu 0,954 a_w 'de gerçekleştiğini ayrıca tüm su aktivitesi değerleri için optimum gelişim sıcaklığının 21 °C olduğunu belirlemişlerdir. En yüksek AME üretimi için ise 0,954 a_w ve 35 °C gelişim sıcaklığının optimum değerler olduğunu tespit etmişlerdir. Domates meyvesi ve yüksek nemli domates ürünlerinde 6°C veya daha düşük bir depolama sıcaklığının *Alternaria* toksinleri açısından güvenli depolama sıcaklığı olduğu bildirilmiştir.

Sanzani ve ark. (2019), ise yaptıkları çalışmada taze ve kurutulmuş domateslerin en çok TeA, AME, TEN ve AOH ile kontamine olduğunu, taze ürüne oranla özellikle kurutulmuş ürünlerin toksin içeriğinin daha fazla olduğunu bildirmiştir. Oviedo ve ark. (2011), ışınlanmış soya fasulyesi üzerinde *A. alternata* türünün sıcaklık, su aktivitesi

ve gelişimine bağlı olarak AME ve AOH üretimini incelemişlerdir. Maksimum AOH üretim miktarı farklı iki suş için farklı sıcaklıklarda 0.98 a_w 'de gerçekleşmiş, maksimum AME üretimi ise her iki suşta 30 °C 'de 0,98 a_w 'sinde tespit edilmiştir. Sonuç olarak her iki toksin üretimi için sıcaklık (15-30 °C) ve su aktivitesi etkileşiminin önemli derecede farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

Vaquera ve ark. (2014) domatesi besin ortamı olarak kullanarak *A. arborescens* türünün mikotoksin üretimi üzerinde sıcaklık (6, 15, 20, 25 ve 30 °C) ve su aktivitesinin (a_w , 0,995-0,975-0.950) etkileşimini incelemişlerdir. Optimum AOH ve AME üretimi için 0.975 a_w 'de 30 °C de 40 günlük inkübasyon, maksimum tenuazonik asit üretimi için ise 25 °C ve 0,975 a_w 'si gerektiğini belirlemişlerdir.

Sonuç

Meyve ve sebzelerde *Alternaria* genusu bozulma etmeni ve mikotoksin üreticisi olmasından dolayı önemli bir mikrofungusdur. *Alternaria spp.* üründe ekonomik kayıplara yol açmasının yanı sıra, özellikle gıdanın yenilebilir kısımlarında biriken mikotoksinler açısından halk sağlığını ciddi derecede tehdit etmektedirler. Yapılan çalışmalar mikotoksinlerin akut toksisitenin ötesinde, mutajenik ve kanserojenik etkilere neden olabileceğini göstermiştir (Sanzani ve ark., 2019; Asam ve ark., 2011; Somma ve ark., 2011). Bundan dolayı *Alternaria* türlerinin doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanması ve toksinlerinin hızlı bir şekilde belirlenmesi halk sağlığı için önem taşımaktadır.

Tablo 5. Bazı meyve veya sebzelerde oluşabilecek *Alternaria* türleri, mikotoksinleri ve neden olabileceği hastalıklar

Ürün	Tür	Mikotoksin	Neden Olduğu Hastalık	Kaynaklar
Portakal	<i>A. alternata</i> <i>A. arborescens</i> <i>A. citri</i>	ACT-toksin ACR-toksin AOH, AME, TeA	Yaprak ve meyvede kahverengi leke hastalığı	Aiello ve ark., 2020; Barkai- Golan, 2008
Limon	<i>A. alternata</i> <i>A. arborescens</i> <i>A. citri</i>	ACT-toksin, ACR-toksin, AOH, AME, TeA	Yaprak ve meyvede kahverengi leke hastalığı	Aiello ve ark., 2020; Barkai- Golan, 2008
Kayısı	<i>A. alternata</i>		Siyah çürüme	Zhang ve ark., 2020; Li ve ark., 2019
Acı biber (<i>Capsicum frutescens</i>)	<i>A. alternata</i>		Kahverengi yaprak lekenmesi	Garibaldi ve ark., 2019
Tatlı biber (<i>Capsicum annuum</i>)	<i>Alternaria spp.</i>	TeA, TTX, AOH, AME, ALT	Kahverengi leke hastalığı	Gambacorta ve ark., 2018
Hünnap	<i>A. alternata</i>		Yeşil ve kırmızı halka	Yuan ve ark., 2019
Havuç	<i>A. radicina</i>		Siyah çürüme	Kathe ve ark., 2017
Patates	<i>A. solani</i> <i>A. grandis</i> <i>A. protenta</i>		Erken yaprak dökümü	Landschoot ve ark., 2017
Elma	<i>A. alternata</i> <i>A. tenuissima</i> <i>A. arborescens</i>	AOH, AME, TEN	Elma lekelenmesi, Çekirdek çürümesi	Andersen ve ark., 2006; Ntasiou ve ark., 2015
Üzüm	<i>A. alternata</i>	AOH, AME, TeA	Salkım çürümesi	Lorenzini ve Zapparoli, 2014
Yaban mersini	<i>A. alternata</i> <i>A. tenuissima</i> <i>A. arborescens</i>	AOH, AME, TeA	Meyve çürümesi	Greco ve ark., 2012
Domates ve domates püresi	<i>A. alternata</i> <i>A. tenuissima</i> <i>A. arborescens</i>	AOH, AME, TeA	<i>Alternaria</i> buhar yarası (steamcanker)	Somma ve ark., 2011; Lopez ve Cabral, 1999
Çilek	<i>A. alternata</i>	AF toksin I, II, III	Siyah leke hastalığı	Lopez ve Cabral, 1999

*Alternariol metil eter (AME), alternariol (AOH), tenuazonik asit (TeA), altenuen (ALT) ve altertoksin (ATX)



Kaynaklar

- Aiello, D., Guarnaccia, V., Azzaro, A. and Polizzi, G. (2020). *Alternaria* brown spot on new clones of sweet orange and lemon in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 59(1), 131-145.
- Amirmajdi, M. M., Amirmajdi, N. A. M., Mashhadi, I. E., Azad, F. J., Afshari, J. T. and Shakeri, M. T. (2011). *Alternaria* in patients with allergic rhinitis. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 221-226.
- Andersen, B. and Thrane, U. (2006). Food-borne Fungi in Fruit and Cereals and Their Production of Mycotoxins, *Advances in Food Mycology*. Boston: Springer.
- Andersen, B., Krøger, E. and Roberts, R. G. (2001). Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen* and *A. longipes*. *Mycological Research*, 105(3), 291-299.
- Anonymous. (2018). I cut open an orange to find this black decay coming from its center [reddit]. Retrieved from https://www.reddit.com/r/mildlyinteresting/comments/6oq3ur/i_cut_open_an_orange_to_find_this_black_decay/
- Anonymous. (2020). Carrot black rot (204). Retrieved from http://www.pestnet.org/fact_sheets/carrot_black_rot_204.htm
- Asam, S., Konitzer, K. and Rychlik, M. (2011). Precise determination of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether in cereal, fruit and vegetable products using stable isotope dilution assays. *Mycotoxin research*, 27(1), 23-28.
- Avenot, H. F., Solorio, C., Morgan, D. P. and Michailides, T. J. (2016). Sensitivity and cross-resistance patterns to demethylation-inhibiting fungicides in California populations of *Alternaria alternata* pathogenic on pistachio. *Crop Protection*, 88, 72-78.
- Barkai-Golan, R., 2008. *Alternaria* Mycotoxins, *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*. San Diego: Academic Press.
- Broggi, L., Reynoso, C., Resnik, S., Martinez, F., Drunday, V. and Bernal, Á. R. (2013). Occurrence of alternariol and alternariol monomethyl ether in beverages from the Entre Rios Province market, Argentina. *Mycotoxin research*, 29(1), 17-22.
- Chaerani, R. and Voorrips, R. E. (2006). Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance. *Journal of general plant pathology*, 72(6), 335-347.
- Chou, H.H. and Wu, W.S. (2002). Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer regions of the genus *Alternaria*, and the significance of filament-beaked conidia. *Mycological Research*, 106(2), 164-169.
- Clarke A. (2016, 8 March). How to stop 'stealth' potato disease sneaking under the radar. Retrieved from <https://www.fwi.co.uk/arable/stop-stealth-potato-disease-sneaking-radar>
- Çalış, Ö. ve Yazar, Ç. (2011). Fare kulağı teresi, *Arabidopsis Thaliana*'da konukçu dışı dayanıklılığın erken yanıklık hastalık etmeni *Alternaria Solani*'nin kontrolü için araştırılması. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, (2), 179-186.
- Da Cruz Cabral, L., Terminiello, L., Pinto, V. F., Nielsen, K. F. and Patriarca, A. (2016). atural occurrence of mycotoxins and toxigenic capacity of *Alternaria* strains from mouldy peppers. *International Journal of Food Microbiology*, 236, 155-160.
- Dall'Asta, C., Cirlini, M. and Falavigna, C. (2014). Mycotoxins from *Alternaria*: toxicological implications, *Advances in Molecular Toxicology* (pp. 107-121). Elsevier.
- De Hoog, G. S. and Horre, R. (2002). Molecular taxonomy of the *Alternaria* and *Ulocladium* species from humans and their identification in the routine laboratory. *Mycoses*, 45(7-8), 259-276.
- Decco Iberica Post Cosecha S.A.U. (2020). *Alternaria citri* sobre mandarina [Pinterest]. Retrieved from <https://pl.pinterest.com/pin/501377370987984665/>
- Escrivá, L., Oueslati, S., Font, G. and Manyes, L. (2017). *Alternaria* mycotoxins in food and feed: an overview. *Journal of Food Quality*, 1569748.
- Escuredo, O., Seijo, M. C., Fernández-González, M. and Iglesias, I. (2011). Effects of meteorological factors on the levels of *Alternaria* spores on a potato crop. *International Journal of Biometeorology*, 55(2), 243-252.
- Estiarte, N., Lawrence, C. B., Sanchis, V., Ramos, A. J. and Crespo-Sempere, A. (2016). LaeA and VeA are involved in growth morphology, asexual development, and mycotoxin production in *Alternaria alternata*. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 153-164.
- Fraeyman, S., Croubels, S., Devreese, M. and Antonissen, G. (2017). Emerging *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins: occurrence, toxicity and toxicokinetics. *Toxins*, 9(7), 228.
- Gambacorta, L., Magistà, D., Perrone, G., Murgolo, S., Logrieco, A. F. and Solfrizzo, M. (2018). Co-occurrence of toxigenic moulds, aflatoxins, ochratoxin A, *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins in fresh sweet peppers (*Capsicum annuum*) and their processed products. *World Mycotoxin Journal*, 11(1), 159-174.



- Garibaldi, A., Gilardi, G., Matic, S. and Gullino, M. L. (2019). First Report of *Alternaria alternata* on Chili Pepper (*Capsicum frutescens*) in Italy. *Plant Disease*, 103(5), 1024.
- Graf, E., Schmidt-Heydt, M. and Geisen, R. (2012). HOG MAP kinase regulation of alternariol biosynthesis in *Alternaria alternata* is important for substrate colonization. *International Journal of Food Microbiology*, 157(3), 353-359.
- Gravesen, S., Frisvad, J. C. and Samson, R. A. (1994). *Microfungi*, Copenhagen: High Tech PrePres A/S.
- Greco, M., Patriarca, A., Terminiello, L., Pinto, V. F. and Pose, G. (2012). Toxicogenic *Alternaria* species from Argentinean blueberries. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 187-191.
- Hajnal, E. J., Čolović, R., Pezo, L., Orčić, D., Vukmirović and Đ., Mastilović, J. (2016). Possibility of *Alternaria* toxins reduction by extrusion processing of whole wheat flour. *Food Chemistry*, 213, 784-790.
- Hong, S.G., Cramer, R.A., Lawrence, C.B. and Pryor, B.M. (2005). Alt a1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. *Fungal Genetics and Biology*, 42, 119-129.
- Hyang B. L., Patriarca A. and Magan N. (2015). *Alternaria* in food: ecophysiology, mycotoxin production and toxicology. *The Korean Journal of Mycology*, 43(2), 93-106.
- Inderbitzin, P., Shoemaker, R. A., O'Neill, N. R., Turgeon, B. G. and Berbee, M. L. (2006). Systematics and mating systems of two fungal pathogens of opium poppy: the heterothallic *Crivellia papaveracea* with a *Brachycladium penicillatum* asexual state and a homothallic species with a *Brachycladium papaveris* asexual state. *Botany*, 84(8), 1304-1326.
- Jackson, L. S. and Al-Taher, F. (2008). Factors Affecting Mycotoxin Production in Fruits. In: Barkai-Golan, R. And Paster, N. (Ed.), *Mycotoxins in fruits and vegetables* (pp. 75-104). San Diego: USA.
- Jensen, S. (2020). Early blight (*Alternaria solani*). Retrieved from <https://www.weedimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5492320>
- Kathe, L., Nothnagel, T., Krämer, R., Budahn, H., Rabenstein, F. and Pillen, K. (2017). Characterisation of *Alternaria radicina* isolates and assessment of resistance in carrot (*Daucus carota* L.). *Journal für Kulturpflanzen*, 69, 277-290.
- Kaya F. ve Karaca G. (2020). Antalya ilinde yetiştirilen çileklerde hastalığa neden olan fungal etmenler. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(1), 21-26.
- Kırbağ, S. ve Turan, N. (2005). Malatya'da yetiştirilen bazı sebzelerde görülen mikrofungusların tespiti. *Science and Engineering Journal of Fırat University*, 17(3), 559-564.
- Landschoot S., Vandecasteele M., De Baets B., Höfte M., Audenaert K. and Haesaert G. (2017). Identification of *A. arborescens*, *A. grandis*, and *A. protenta* as new members of the European *Alternaria* population on potato. *Fungal Biology*, 121(2), 172-188.
- Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Peever, T. L. and Pryor, B. M. (2013). The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. *Mycologia*, 105(3), 530-546.
- Lawrence, D. P., Park, M. S. and Pryor, B. M. (2012). *Nimbya* and *Embellisia* revisited, with nov. comb for *Alternaria celosiae* and *A. perpunctulata*. *Mycological Progress*, 11(3), 799-815.
- Li, Y., Ma, Y., Zhang, T., Bi, Y., Wang, Y. and Prusky, D. (2019). Exogenous polyamines enhance resistance to *Alternaria alternata* by modulating redox homeostasis in apricot fruit. *Food Chemistry*, 301, 125303.
- Lopez, P., Venema, D., Mol, H., Spanjer, M., de Stoppelaar, J., Pfeiffer, E. and de Nijs, M. (2016). *Alternaria* toxins and conjugates in selected foods in the Netherlands. *Food Control*, 69, 153-159.
- Lopez, S. E. and Cabral, D. (1999). *Alternaria*, *Encyclopedia of Food Microbiology*. London: Academic Press.
- Lorenzini, M. and Zapparoli, G. (2014). Characterization and pathogenicity of *Alternaria* spp. strains associated with grape bunch rot during post-harvest withering. *International Journal of Food Microbiology*, 186, 1-5.
- Mikula, H., Skrinjar, P., Sohr, B., Ellmer, D., Hametner, C. and Fröhlich, J. (2013). Total synthesis of masked *Alternaria* mycotoxins-sulfates and glucosides of alternariol (AOH) and alternariol-9-methyl ether (AME). *Tetrahedron*, 69(48), 10322-10330.
- Mohsin, S. M., Islam, M. R., Ahmmed, A. N. F., Nisha, H. A. C. and Hasanuzzaman, M. (2016). Cultural, morphological and pathogenic characterization of *Alternaria porri* causing purple blotch of onion. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1), 222-227.
- Mutlu, G., ve Üstüner, T. (2017). Elazığ ili domates alanlarında fungal hastalıkların yaygınlığı ve şiddetinin saptanması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 4(4), 416-425.
- Nishikawa, J. and Nakashima, C. (2019). Morphological and Molecular characterization of the strawberry black leaf spot pathogen referred to as the strawberry pathotype of *Alternaria alternata*. *Mycoscience*, 60(1), 1-9.



- Noser, J., Schneider, P., Rother, M. and Schmutz, H. (2011). Determination of six *Alternaria* toxins with UPLC-MS/MS and their occurrence in tomatoes and tomato products from the Swiss market. *Mycotoxin Research*, 27(4), 265-271.
- Ntasiou, P., Myresiotis, C., Konstantinou, S., Papadopoulou-Mourkidou, E. and Karaoglanidis, G. S. (2015). Identification, characterization and mycotoxigenic ability of *Alternaria* spp. causing core rot of apple fruit in Greece. *International Journal of Food Microbiology*, 197, 22-29.
- Ocamb C. M. (1998). Ranger Russet' with severe early blight symptoms. Retrieved from <https://pnwhandbooks.org/plantdisease/host-disease/potato-solanum-tuberosum-early-blight>
- Ostry, V. (2008). *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal*, 1(2), 175-188.
- Ostry, V., Skarkova, J., Prochazkova, I., Kubatova, A. and Ruprich, J. (2007). Mycobiota of Czech wine grapes and occurrence of ochratoxin A and *Alternaria* mycotoxins in fresh grape juice, must and wine. *Czech Mycology*, 59(2), 241.
- Oviedo, M. S., Ramirez, M. L., Barros, G. G. and Chulze, S. N. (2011). Influence of water activity and temperature on growth and mycotoxin production by *Alternaria alternata* on irradiated soya beans. *International Journal of Food Microbiology*, 149(2), 127-132.
- Oviedo, M. S., Sturm, M. E., Reynoso, M. M., Chulze, S. N. and Ramirez, M. L. (2013). Toxigenic profile and AFLP variability of *Alternaria alternata* and *Alternaria infectoria* occurring on wheat. *Brazilian journal of Microbiology*, 44(2), 447-455.
- Ozan, S., ve Maden, S. (2005). Ankara ili domates ekiliş alanlarında yapraklarda hastalık oluşturan fungal etmenler, yaygınlıkları ve çıkış zamanları. *Bitki Koruma Bülteni*, 45(1-4), 45-54.
- Özgönen, H. ve Çulal Kılıç, H. (2009). Isparta ilinde elmalarda sorun olan hasat sonrası hastalıkların ve yaygınlık oranlarının belirlenmesi. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 2(2), 53-60.
- Pane, C. and Zaccardelli, M. (2015). Evaluation of *Bacillus* Strains isolated from Solanaceous Phylloplane for biocontrol of *Alternaria* early blight of tomato. *Biological Control*, 84, 11-18.
- Patriarca, A., Azcarate, M. P., Terminiello, L. and Pinto, V. F. (2007). Mycotoxin production by *Alternaria* strains isolated from Argentinean wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 119(3), 219-222.
- Phuwapraisirisan, P., Rangsan, J., Siripong, P. and Tip-pyang, S. (2009). New antitumour fungal metabolites from *Alternaria porri*. *Natural Product Research*, 23(12), 1063-1071.
- Pose, G., Patriarca, A., Kyanko, V., Pardo, A. and Pinto, V. F. (2010). Water activity and temperature effects on mycotoxin production by *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. *International Journal of Food Microbiology*, 142(3), 348-353.
- Prajapati, M. K., Simon, S. and Faisal, M. (2019a). Efficacy of organic amendments against the purple blotch of garlic (*Alternaria porri*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 1896-1898.
- Prajapati, M. K., Simon, S. and Khan, K. Z. (2019b). Efficacy of organic amendments against the purple blotch of garlic caused by *Alternaria porri* (Ellis) Cif. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 08-10.
- Pryor B. M. and Bigelow D. M. (2003). Molecular characterization of *Embellisia* and *Nimbya* species and their relationship to *Alternaria*, *Ulocladium* and *Stemphylium*. *Mycologia*, 95, 1141-1154.
- Pryor B. M., Creamer R., Shoemaker R. A., McLain-Romero J. and Hambleton S. (2009). *Undifilum*, a new genus for endophytic *Embellisia oxytropis* and parasitic *Helminthosporium bornmuelleri* on Legumes. *Botany*, 87(2), 178-194.
- Pryor, B. M. and Gilbertson, R. L. (2000). Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. *Mycological Research*, 104, 1312-1321.
- Rahimloo, T. and Ghosta, Y. (2015). The occurrence of *Alternaria* species on cabbage in Iran. *Zemdirbyste*, 102(3).
- Ravikumar, M. C., Singh, H. and Garampalli, R. H. (2016). Comparative evaluation of long-term storage techniques on viability and virulence of *Alternaria solani*. *Journal of Taibah University for Science*, 10 (4), 607-613.
- Roberts, R. G., Bischoff, J. F. and Reymond, S. T. (2012). Differential gene expression in *Alternaria gaisen* exposed to dark and light. *Mycological Progress*, 11(2), 373-382.
- Rosenberger, D. (2014, 14 May). Tree fruit diseases: observations and archives. Retrieved from <https://blogs.cornell.edu/plantpathhvl/2014/05/14/apple-disease-control-at-petal-fall/>
- Runa, F., Park, M. S. and Pryor, B. M. (2009). *Ulocladium* systematics revisited: phylogeny and taxonomic status. *Mycological Progress*, 8(1), 35.



- Samson, R. A., Houbaken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C. and Andersen, B. (2010). *Food and Indoor Fungi*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Sanchis, V. and Magan, N. (2004). Environmental Conditions Affecting Mycotoxins. *Mycotoxins in food: Detection and Control*, Boca Raton: CRC Press.
- Sanzani, S. M., Gallone, T., Garganese, F., Caruso, A. G., Amenduni, M. and Ippolito, A. (2019). Contamination of fresh and dried tomato by *Alternaria* toxins in southern Italy. *Food Additives and Contaminants*, 36(5), 789-799.
- Sanzani, S. M., Reverberi, M. and Geisen, R. (2016). Mycotoxins in harvested fruits and vegetables: insights in producing fungi, biological role, conducive conditions, and tools to manage postharvest contamination. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 95-105.
- Scott, P. M., Zhao, W., Feng, S. and Lau, B. P. Y. (2012). *Alternaria* toxins alternariol and alternariol monomethyl ether in grain foods in Canada. *Mycotoxin Research*, 28(4), 261-266.
- Sesli, E., Asan, A. ve Selçuk, F. (edlr.) Abacı Günay, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kirbağ, S., Kivanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., Yoltaş, A. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi (The Checklist of Fungi of Turkey)*. İstanbul: Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını.
- Simmons, E.G., (2007). *Alternaria: an Identification Manual*. Utrecht: CBS Fungal Diversity Centre.
- Solfrizzo, M. (2017). Recent advances on *Alternaria* mycotoxins. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 17, 57-61.
- Solfrizzo, M., Girolamo, A. D., Vitti, C., Tylkowska, K., Grabarkiewicz-Szcześna, J., Szopińska, D. and Dorna, H. (2005). Toxigenic profile of *Alternaria alternata* and *Alternaria radicina* occurring on Umbelliferous plants. *Food Additives and Contaminants*, 22(4), 302-308.
- Somma, S., Pose, G., Pardo, A., Mulè, G., Pinto, V. F., Moretti, A. and Logrieco, A. F. (2011). AFLP variability, toxin production and pathogenicity of *Alternaria* species from Argentinean tomato fruits and puree. *International Journal of Food Microbiology*, 145(2-3), 414-419.
- Tančinová, D., Felšöciová, S., Rybárik, L., Mašková, Z. and Císarová, M. (2015). Colonization of grapes berries and cider by potential producers of patulin. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 9(1), 138-142.
- Topal, R. Ş. (2003). Türkiye'nin tarımsal ürün ve bölgelerine göre dominant mikoflora dağılımları ve mikotoksin profilleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(12), 7-21.
- Tournas, V. H., Stack, M. E. (2001). Production of alternariol and alternariol methyl ether by *Alternaria alternata* grown on fruits at various temperatures. *Journal of Food Protection*, 64(4), 528-532.
- UMass Extension Vegetable Program. (2020). *Alternaria alternata* infecting pepper tissue that had been weakened by sunscald. Retrieved from <https://ag.umass.edu/vegetable/fact-sheets/solanaceous-alternaria-fruit-rot/>
- Van de Perre, E., Jacxsens, L., Liu, C., Devlieghere, F. and De Meulenaer, B. (2015). Climate impact on *Alternaria* moulds and their mycotoxins in fresh produce: The Case of the Tomato Chain. *Food Research International*, 68, 41-46.
- Vaquera, S., Patriarca, A. and Pinto, V. F. (2014). Water activity and temperature effects on growth of *Alternaria arborescens* on tomato medium. *International Journal of Food Microbiology*, 185, 136-139.
- Wang Y., Geng Y., Ma J., Wang Q. and Zhang X. (2011). Sinomyces: a new genus of anamorphic Pleosporaceae. *Fungal Biology*, 115, 188-195.
- Wolters, P. J., Faino, L., Van Den Bosch, T. B., Evenhuis, B., Visser, R. G., Seidl, M. F. and Vleeshouwers, V. G. (2018). Gapless genome assembly of the potato and tomato early blight pathogen *Alternaria solani*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(7), 692-694.
- Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M. and Crous, P. W. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies Mycology*, 75, 171-212.
- Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., De Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P. H. J. and Crous, P. W. (2015). *Alternaria* section *Alternaria*: species, formae speciales or pathotypes. *Studies Mycology*, 82, 1-21.
- Yıldız, A., Benlioğlu, S., Benlioğlu, K., Başpınar, N., Çaçamer, A. ve Özyılmaz, Ü. (2018). Aydın ilinde nar plantasyonlarında görülen hastalıklar ve yaygınlık durumları. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 47(1), 11-20.
- Yılmaz, C. ve Özgüven, A. I. (2012). Narda (*Punica granatum* L.) meyve çatlaması. *Alatarım*, (2), 4-9.



- Yuan, S., Yan, J., Wang, M., Ding, X., Zhang, Y., Li, W., Jiang, W. (2019). Transcriptomic and metabolic profiling reveals 'Green Ring' and 'Red Ring' on jujube fruit upon postharvest *Alternaria alternata* infection. *Plant Cell Physiology*, 60(4), 844-861.
- Zhang, S., Wang, Q., Guo, Y., Kang, L. and Yu, Y. (2020). Carbon monoxide enhances the resistance of jujube fruit against postharvest *Alternaria* rot. *Postharvest Biology and Technology*, 168, 111268.
- Zheng, H. H. and Wu, X. H. (2013). First report of *Alternaria* blight of potato caused by *Alternaria tenuissima* in China. *Plant Disease*, 97(9), 1246-1246.



Geliş(Received) :13.07.2021
Kabul(Accepted) :27.09.2021

Derleme
Doi: 10.30708.mantar970777

Deniz Orjinli Fungus Kaynakları ve Lakkaz Üretimi

Ali KOÇYİĞİT^{*1}, Sultan Kübra TOKER²

*Sorumlu yazar: kocyigitali@gmail.com

Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bornova-İzmir, Turkey

¹Orcid No/Orcid ID: 0000-0002-2960-6722 /kocyigitali@gmail.com

²Orcid No/Orcid ID: 0000-0002-7088-6690 /sultankubratoker@gmail.com

Öz: Lakkazlar (EC 1.10.3.2) ek bir kofaktöre ihtiyaç duymamaları, kararlı yapıda olmaları, fenolik ve fenolik olmayan bileşiklerde dahil olmak üzere geniş bir substrat aralığına sahip olmaları gibi önemli özelliklere sahiptir. Endüstriyel süreçlerde kullanılmak üzere lakkaz enziminin elde edildiği birçok tür bulunur. Ancak bu süreçler için hala yüksek redoks potansiyeli, tuz toleransı ve sıcak-soğuk adaptiflik gibi özelliklere sahip yeni lakkaz kaynakları araştırılmaktadır. Fungal lakkazların kalıcı ve zor bozulan bileşiklerin parçalanmasındaki etkinliği de birçok kez rapor edilmiştir. Karasal sistemlerden çok sayıda lakkaz üretici fungus araştırılmış, üretim süreci optimize edilmiş, endüstriyel ve çevresel proseslere uygulanmış olmasına karşın deniz orjinli funguslardan lakkaz araştırmaları ve uygulamaları sınırlıdır. Fakat deniz orjinli fungusların denizel çevrelerdeki stres faktörlerine (değişken pH, sıcaklık, basınç, güneş ışığının farklı derinliğe sahip bölgelere nüfuz etmesindeki değişkenlik, düşük besin elementi koşulları gibi) adaptasyonları onların karasal muadillerinden daha farklı, keşfedilmemiş ve aktif metabolit üreticileri yapmaktadır. Bu derlemede lakkazın üretimi, optimizasyon çalışmaları, deniz orjinli lakkaz kaynaklarının önemi ve gelişen uygulama alanları hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Lakkaz, Deniz orjinli fungus, Optimizasyon, Parçalanma

Marine-Derived Fungal Sources and Laccase Production

Abstract: Laccases (EC 1.10.3.2) have important properties such as not requiring an additional cofactor, significant stability, and a wide range of substrate including phenolic and non-phenolic compounds. There are many fungi from which the laccase enzyme is obtained for using in industrial processes. However, new laccase sources with properties such as high redox potential, salt tolerance and hot-cold adaptivity are still being investigated for these the processes. The efficacy of fungal laccases in degradation of persistent and hardly degradable compounds has also been reported many times. Although many laccase-producing fungi from terrestrial systems have been researched, the production process has been optimized and applied to industrial and environmental processes, laccase research and applications from marine origin fungi are limited. However, the adaptation of marine origin fungi to stress factors in marine environments (such as variable pH, temperature, pressure, variability in the penetration of sunlight to different depths, low nutrient conditions) makes them different, unexplored and active metabolite producers than their terrestrial equivalents. In this review, information was given about laccase production, optimization studies, importance of marine laccase sources and developing application areas.

Key words: Laccase, Marine-derived fungi, Optimization, Degradation

Giriş

Lakkaz enzimi (benzendiol, oksijen oksidoredüktaz, EC 1.10.3.2) polifenol oksidaz ailesine ait olup birçok organik bileşiğin oksidasyonunu katalizler (Mainardi et al., 2018). Bunun yanında hem fenolik ve fenolik olmayan lignoselülozik bileşenleri hem de çevreyi kirleten kimyasal maddeleri okside edebilirler (Wikee et

al., 2019). Ek olarak, bitkisel lignifikasyon ve delignifikasyon, yara iyileşmesi, pigment sentezi, anti-stres regülasyonu ve fungal morfogenez gibi birçok fizyolojik fonksiyonları da bulunur.

Lakkaz enzimi bitkilerde, funguslarda, prokaryotlarda ve böceklerde bulunur (Mainardi et al., 2018). Bu organizmalar içerisinde en etkili lakkaz üretimi



yapan tür Basidiomycota filumuna ait funguslarda görülmüştür. Bu funguslar, lignini parçaladıktan sonra kalan odun üzerinde beyaz toz bir kalıntı bırakmasından dolayı genelde beyaz-çürükçül fungusları olarak adlandırılırlar. Son yıllarda, bu enzimler özellikle tekstil boyalarının biyoparçalanma ve biyoyileştirmelerinde kullanılmaktadır. Boyalar sentetik aromatik bileşikler olup, tekstil, kağıt, kağıt hamuru gibi endüstrilerde kullanılır (Barathikannan et al., 2017). Özellikle tekstil endüstrisinin atık suları sulu ortamlar için ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Tekstilde kullanılan bazı boyalar bu sulu ortamda yaşayan mikroorganizmalar, bitkiler ve balıklar

için zararlı olabileceği gibi insan hayatını tehdit edebilecek derecede organları etkileyebilir ve sağlık problemlerine yol açabilir (Bonugli-Santos et al., 2016).

Bu zararlı etkilerini gidermek üzere lakkaz enzimlerinin özellikle deniz orijinli funguslardan elde edilmesi önemli olabilir, çünkü deniz kökenli mikroorganizmalar doğal olarak okyanuslardaki ekstrem sıcaklığa, asiditeye, basınca ve/veya tuz konsantrasyonuna adapte olmuştur. Bu çalışmada da lakkaz enziminin elde edildiği denizel ortamlarda yaşayan funguslar ve kullanım alanları irdelenmiştir.

Tablo 1. 2015 yılından beri lakkaz üretimi için kullanılan bazı fungus türleri, yöntem ve verim artışı

Fungus adı	Kullanılan yöntem	Verimlilik	Referans
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm. (İstiridyemantarı) (Sesli ve ark., 2020)	Katı Faz Fermantasyonu- Plackett–Burman tasarımı ve Merkezi Kompozit dizaynı-Şeker Kamışı Küspesi	5.7 kat artış	Karp et al., 2015
<i>Tricholoma giganteum</i> Massee AGHP	Katı Faz Fermantasyonu- Proses parametrelerinin optimizasyonu ve saflaştırma	10.8 kat artış	Patel and Gupte, 2016
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai HZN10 (Üç yeşilküf) (Sesli ve ark., 2020)	Katı Faz Fermantasyonu- Plackett–Burman tasarımı ve Yüzey-Yanıt metodoloji	8.09 kat artış	Bagewadi et al., 2017
<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd (Hindikuyruğu) (Sesli ve ark., 2020)	Katı Faz Fermantasyonu- Buharla ön işleminden geçirilen mısır sapı	2.1 kat artış	Adekunle et al., 2017
<i>Aspergillus flavus</i> Link PUF5 (Cıbil asper) (Sesli ve ark., 2020)	Batık Kültür Fermantasyonu- "her seferinde bir değişken" dizaynı ve Merkezi Kompozit dizaynı	4.6 kat artış	Ghosh and Ghosh, 2017
<i>Marasmiellus palmivorus</i> Sharples LA1	Katı Faz Fermantasyonu- Taguchi tasarımı (DOE) metodolojisi	17.6 kat artış	Chenthamarakshan et al., 2017
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst (Reyşi) (Sesli ve ark., 2020)	Batık kültür ve Katı Faz fermantasyonu- Plackett–Burman tasarımı	16.0 kat artış	Rodrigues et al., 2019
<i>Myrothecium verrucaria</i> (Alb. & Schwein.) Ditmar ITCC-8447 (Beyazvirgül) (Sesli ve ark., 2020)	Batık Kültür Fermantasyonu- Yüzey-Yanıt metodolojisi	1.45 kat artış	Agrawal et al., 2019
<i>Trametes versicolor</i>	Katı Faz Fermantasyonu- Merkezi Kompozit dizaynı - Çay kalıntıları	4.0 kat artış	Xu et al., 2020

1. Lakkaz Enzimi ve Aktivitesi

Lakkaz enzimi 1883 yılında dünyada ilk tanımlanan enzimlerden bir tanesidir. Geniş bir substrat spektrumu

vardır ve son elektron alıcısı olarak moleküler oksijeni kullanır. Lakkaz ile katalizlenen bir oksidasyon tepkimesinde ilk elektron alıcısı enzimin yüzeyine yakın



yerde bulunan bakır T1 molekülüdür. Fenolik bileşikler fenoksil radikallere okside eder. Lakkazlar hem katabolik (lignin ve humus parçalanması) hem de anabolik (polimerik pigment sentezi, kütikül sklerotizasyonu, lignifikasyon, toprak organik materyalinin humidifikasyonu) reaksiyonları katalizler. Redoks potansiyellerine göre düşük ve yüksek redoks potansiyelli enzimler olarak iki gruba ayrılır. Düşük redoks potansiyeline sahip lakkaz enzimleri bakterilerde, bitkilerde ve böceklerde bulunurken, yüksek redoks potansiyeline sahip lakkaz enzimleri funguslarda bulunur (Janusz et al., 2020).

Lakkaz enziminin hem organik hem de inorganik substratları bulunur. Bunlar fenoller, ketonlar, fosfatlar, askorbatlar, aminler ve lignindir. Özellikle fungal lakkaz enziminin lignin parçalanmasında rol oynadığı düşünülmektedir ve bu sebeple de Basidiomycota (beyaz-çürükçül funguslar) grubuna ait fungal lakkaz enzimleri oldukça önem taşır. Fungal lakkaz enzimleri ekstraselüler enzimlerdir ve yaklaşık 520-550 amino asitlik monomerik glikoproteinlerdir (glikozillenmiş formları 60-70 kDa'dır). Üç farklı kupredoksin benzeri domain içerirler (Mehra et al., 2018).

Çok geniş çapta substrat kullanabilme yetenekleri ve koenzim ihtiyaç duymadan yüksek etkinlik gösterebilmeleri sayesinde delignifikasyonda, kağıt hamuru yapımında ve biyoyakıt yapımı için biyokütlenin ön işlenmesi esnasında, atık su uygulamalarında, ksenobiyotiklerin parçalanmasında ve boyalar için renk giderimi ajanı olarak da başarılı bir şekilde kullanılır. Özellikle renk gideriminde lakkazlar ucuz, güvenilir ve etkili bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Góralczyk-Bińkowska et al., 2020).

1.1 Funguslardan Lakkaz Üretimi

Lakkaz üretimi en çok Basidiomycete grubunda görülür. Fungal lakkazların üretiminde en iyi üretim yapan fungus türünün seçilmesi ve kültür koşullarının optimizasyonu ile yüksek verim elde edilebilir (Rodrigues et al., 2019). Lakkazların üretim maliyeti ve etkinliği büyük ölçekli uygulama alanları için önemlidir. Lakkazların üretim oranlarını arttırmak için ortam bileşenlerinin optimizasyonu sağlanabilir veya çeşitli

lignin içeren materyaller substrat olarak kullanılabilir (Góralczyk-Bińkowska et al., 2020). Endüstriyel amaçla kullanmak üzere lakkaz enziminin elde edildiği birçok tür bulunur. Son yıllarda özellikle istatistiksel dizaynların lakkaz üretim optimizasyonu için kullanıldığı görülmektedir. Bu istatistiksel yöntemler üretim sürecindeki varyasyonları da hesaplarken; klasik tek faktörün çalışıldığı optimizasyon yöntemi zaman alıcıdır ve yetersiz bir seçim olduğu bildirilmiştir (Chenthamarakshan et al., 2017). 2017 yılında Taguchi tasarımı (DOE) metodolojisi ile *Marasmiellus palmivorus* LA1 suşunda 17.6 kata varan lakkaz üretim verimi sağlanmıştır. Ek olarak Merkezi Kompozit dizaynı, Plackett–Burman tasarımı, Yüze-Yanıt metodolojisi kullanılan diğer yöntemler arasında sayılabilir (Tablo 1). Wang ve ark. (2019) tarımsal atıklardan lakkaz üretiminde batık kültür ve katı faz fermentasyon yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Ürün verimliliği kullanılan substrata göre farklılık göstermiştir. Junior ve ark. (2020) *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer (Yaman kaplanmantarı) (Sesli ve ark., 2020) türünden 3. günde 539.3 U/L verimlilikte lakkaz üretimini sağlamışlardır. Elde ettikleri lakkazı saflaştırmak için de sıvı iki fazlı sistem kullanmışlardır ve potansiyel olarak bu yöntemin kullanılabilirliğini öne sürmüşlerdir. Başka bir çalışmada, *Marasmiellus palmivorus* LA1 suşundan katı faz fermentasyonu ile lakkaz üretiminde Taguchi yöntemiyle optimizasyon yapmışlar ve başarılı olmuşlardır (Chenthamarakshan et al., 2017). Rodrigues ve ark. (2019) ise *Ganoderma lucidum* 'dan yarı batık ve katı faz fermentasyon yöntemleriyle önemli derecede lakkaz üretebildiklerini bildirmişlerdir.

Son yıllarda karasal bölgelerde funguslardan lakkaz elde edilmesi ve bunların endüstrideki kullanımlarına ilişkin çok fazla çalışma bulunurken, denizel ortamlarda yaşayan funguslardan lakkaz elde edilmesi üzerine çok ayrıntılı çalışma bulunmamaktadır. Halbuki, bu funguslardan elde edilecek lakkaz enzimi ekstrem pH, basınç, sıcaklık, vb. gibi koşullara dayanıklı olacaktır. Dolayısıyla kalıcı bileşiklerin biyoyileştirmeleri için uygulama potansiyelleri oldukça yüksektir

2. Deniz Orijinli Funguslar ve Lakkaz

2.1 Denizel çevrelerde funguslar

Denizel ortamlar mikroorganizma (tahminen $3,67 \times 10^{30}$) açısından çok zengin çevrelerdir (Theerachat et al., 2018). Bu ortamdaki mikrobiyal toplulukların (bakteriler, funguslar, algler, planktonlar ve virüsler) önemli birer ekolojik görevi olduğu düşünülmektedir (Bonugli-Santos et al., 2015).

Deniz orijinli funguslar süngerler ve sölentelerle ilişkilidirler ve organik bileşiklerin parçalanmasından sorumlu oldukları düşünülmektedir (Wikee et al., 2019). Deniz kıyısız çevrelerinde lignoselülozik substratların parçalanmasında da etkin rolleri bulunmaktadır. Denizel funguslar deniz suyu varlığında büyümelerine göre obligat veya fakültatif olarak iki grupta toplanabilir. Obligat

olan fungusların büyümesi ve sporulasyonu denizel ortamda veya nehir ağızlarında gerçekleşirken, fakültatif olanlar karasal ortamda veya tatlı suda yaşarken denizel ortamda da büyümeleri ve sporulasyonları gerçekleşebilir. "Deniz orijinli fungus" denmesinin bir sebebi de denizel örneklerden izole edilen fungusların obligat veya fakültatif olarak sınıflandırılmamasından kaynaklanır. Deniz orijinli funguslar genellikle mangrov, deniz çayırları, sediment örnekleri, süngerler veya alglerden izole edilmiştir (Bonugli-Santos et al., 2015; Mainardi et al., 2018; Ben Ali et al., 2020; Jia et al., 2020).

Deniz orijinli funguslar yüksek tuz konsantrasyonlarına, oligotrofik koşullara, ekstrem pH ve sıcaklıklara karşı dirençlidir. Bu organizmaların



kullanılmasının diğer bir avantajı da tekstil boyası atıkları gibi tuzlu ve alkali proseslerde kullanılabilirlerdir. Ayrıca Dünya'daki su rezervlerinin tükenmesi ve kuraklığın artması sebebiyle üretimde deniz suyunun kullanılacak olması da diğer bir avantaj olarak görülebilir (Mainardi et al., 2018). Günümüzde denizel ortamlardan izole edilen suşlardan aljinat liyaz, amilaz, selülaz, kitinaz, glukosidaz, inulinaz, keratinaz, ligninaz, lipaz, nükleaz, fitaz, proteaz, lakkaz ve ksilanaz gibi enzimler elde edilmiştir. Bu enzimlerin yüksek miktarda üretimleri çoğunlukla yarı batık fermentasyonla gerçekleştirilmiştir (Bonugli-Santos et al., 2015).

2.2 Deniz orjinli funguslardan lakkaz üretimi ve uygulama alanları

Denizel ortamlardaki funguslardan elde edilmiş olan lakkaz enzimlerinin bildirilen optimum çalışma pH aralığı lakkazın kendi özelliğine göre değişmektedir. pH 3 gibi asidik ortamda aktivite gösteren lakkaz enzimi de bulunurken, pH 8 gibi alkali ortamda aktivite gösteren lakkaz enzimi de mevcuttur. Aktivite gösterdiği optimum sıcaklığı 45 °C olan lakkaz enzimi bildirilmişken, 70 °C'de belirli bir süre aktivite gösterebilen lakkaz enzimleri de mevcuttur (Theerachat et al., 2018). Bu sebeple de izole edilen suştan üretilen lakkaz enziminin optimum koşulları da belirlenmelidir.

Fungal lakkaz üretimini laboratuvar ortamında sağlamak ve hatta arttırmak için en önemli basamaklardan birisi besiyeri optimizasyonudur. Bunun için de karbon kaynakları ve bakır iyonları en önemli uyarılardır (Passarini et al., 2015), ancak besiyerinin tuzluluk oranı ve azot kaynağı da oldukça önemlidir (Theerachat et al., 2018). Bazı çalışmalarda farklı oranlarda yapay veya doğal deniz suyu içeren ortamlarda lakkaz üretim çalışmaları yapılmıştır. Deniz suyu içeren ortamlardaki lakkazların üretimi ve fungal kolonilerin gelişiminin incelenmesi; deniz orjinli fungusların çevreye adaptasyonunu test etmek için önemli bir noktadır. Çeşitli çalışmalarda deniz suyu içeren ortamlarda deniz orjinli fungusların parçalayıcı enzimleri ürettiği gösterilmiştir (D'Souza et al., 2006; Raghukumar et al., 1999).

Deniz orjinli funguslardan lakkaz üretiminin varlığını katı besiyerinde test etmek için çeşitli indikatör bileşikler kullanılır. Bu indikatör bileşikler guaiacol, ABTS (2,2'-azino bis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulphonic acid)), siringaldizin olabilir. Enzimlerin üretimi fungal koloninin etrafında veya altında renk değişimlerinin (yeşil, kırmızı, kahverengi) oluşması ile tespit edilir (Patel and Bhaskaran, 2016; Atalla et al., 2010; D'Souza et al., 2006). Lakkaz aktivitesi ise daha çok ABTS oksidasyonuna bağlı olarak ölçülmektedir. Yöntemler ve kullanılan besiyerleri genellikle karasal sistemlerden izole edilen funguslar için kullanılanlar ile benzer olmakla birlikte; besiyerine değişen oranlarda deniz suyunun eklenmesiyle modifiye ortamlarda kullanılabilir.

Denizel funguslardan lakkaz enziminin üretimine ilişkin çalışmalar mevcuttur. 2015 yılında Passarini ve ark. deniz orjinli *Nigrospora* Zimm. (Karaspor) ve *Arthopyrenia*

A. Massal. (Karabenli) (Sesli ve ark., 2020) cinslerinden lakkaz üretebildiklerini bildirmişlerdir. Abeer ve ark. (2015) deniz orjinli *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire (Narinküf) (Sesli ve ark., 2020) NRC 9 suşunun lakkaz üretiminde oldukça aktif olduğunu ve bu organizmadan elde edilen lakkazın birçok biyoproseste kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Mainardi ve ark. (2018) *Peniophora* Cooke (Dalsüsü) (Sesli ve ark., 2020) CBMI 1063 suşundan lakkaz üretimini hem çalkalamalı tankta hem de airlift biyoreaktörlerde gerçekleştirmişlerdir. Çalkalamalı tankta daha yüksek seviyede ürettiklerini bildirmişlerdir. Bu suşun endüstriyel anlamda lakkaz üretimi için kullanılabilceğini öne sürmüşlerdir.

Deniz orjinli lakkazların özellikle çevre biyoteknolojisi alanında uygulanabilirliği yüksektir. Polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH'lar) parçalanması buna örnek verilebilir. PAH'lar iki veya daha fazla benzen halkası içeren aromatik hidrokarbonlar olup ekosistemi ciddi şekilde tehdit eden kiroleticilerdir. Bunun yanında toksisiteleri, karsinogenisiteleri, mutajenisiteleri ve biyoparçalanmaya karşı olan dirençlilikleri sebebiyle bu moleküllerin doğada parçalanması çok önemlidir. Bu maddelerin kaynakları fosil yakıtlar, katran, odun, çöpler, atıklar, kullanılmış motor yağları ve yağ filtreleri, çöplerin/atıkların yakılması ile petrol dökülmesi veya boşaltılmasıdır. PAH aynı zamanda denizel ortamda bulunabilir. Derin denizlerde bu maddenin biyoparçalanması yüksek basınçta ve düşük sıcaklıkta metabolik aktivitenin azalması veya bakterilerin büyümesini sınırlaması sebebiyle oldukça zordur (Theerachat et al., 2019). Dolayısıyla da bu ekstrem koşullara adapte olabilen veya tolerans gösterebilen denizel funguslardan elde edilecek enzimler bu amaçla kullanılabilir. Yakın zamanlı bir çalışma olan Atlantik okyanusu kıyılarından izole edilen *Mucor irregularis* Stchigel, Cano, Guarro & Ed. Álvarez bpo1 suşu ile PAH parçalanması yüksek miktarda lakkaz ve mangan peroksidaz üretimine bağlı olarak doğrulanmıştır (Bankole et al., 2021a). Son yıllarda denizel funguslardan lakkaz enziminin üretilmesi oldukça ilgi çekici hale gelmiştir ve bu fungusların çevredeki kalıcı bileşikleri parçalama potansiyeli ile ilgili raporlar artmaktadır. Çeşitli endüstrilerin yoğun renkli atıklarının dekolorizasyon çalışmalarında da deniz orjinli funguslar uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu renkli atıkların özellikle sucul çevrede meydana getirdikleri sorunlar (toksik ve mutajenik etki, güneş ışığının alt tabakalara ulaşmasının engellenmesi, birincil üretimin azalışı gibi) düşünüldüğünde deniz orjinli fungal lakkazların önemi ve çevresel proseslere entegrasyonunun gerekliliği anlaşılmaktadır. Tablo 2'de denizel çevrelerden izole edilen bazı funguslar ve lakkaz enzimlerinin uygulama alanları yer almaktadır. Dekolorizasyon çalışmalarıyla başlayan deniz orjinli fungal lakkaz araştırmaları günümüzde, PAH'ların ve hatta ilaçların parçalanmasına kadar uzanmaktadır.



Tablo 2. Lakkaz üretici deniz orjinli funguslar ve uygulamaları

Deniz orjinli fungus	Uygulama	Referans
<i>Flavodon flavus</i> Klotzsch	Poly-R, Poly B-411, Azure B, Brilliant green, Congo red, ve Remazol brilliant blue R- Dekolorizasyon	Raghukumar et al., 1999
<i>Cerrena unicolor</i> (Bull.) Murrill (Katmerlimantar) (Sesli ve ark., 2020)	Congo red, Trypan blue, Methylen blue, Aniline blue- Dekolorizasyon	D'Souza-Ticlo et al., 2009
<i>Cerrena unicolor</i> , <i>Corioliopsis byrsina</i> (Mont.) Ryvarden, <i>Diaporthe</i> sp. (Nitschke) (Gürgeçibani) (Sesli ve ark., 2020), <i>Pestalotiopsis</i> sp. Steyaert	Boya içeren tekstil atıklarının giderimi ve detoksifikasyonu	Verma et al., 2010
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc. (Patates solduran) (Sesli ve ark., 2020) (mangrov)	Antrasen ve benz[a]antrasen parçalanması	Wu et al., 2010
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. (Astımküfü) (Sesli ve ark., 2020)	Reactive black ve Crystal violet- Dekolorizasyon	Abd El Aty and Mostafa, 2013
<i>Trichoderma</i> sp. Pers. (Yeşilküf) (Sesli ve ark., 2020)	Malachite green- Biyoparçalanma	Saravanakumar et al., 2014
<i>Alternaria tenuissima</i>	Congo red ve Crystal violet - Dekolorizasyon	Abd El Aty et al., 2016
<i>Peniophora</i> sp.	Reactive Black 5- Dekolorizasyon	Bonugli-Santos et al., 2016
<i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg (Kaba Yeşilküf) (Sesli ve ark., 2020)	Remazol Brilliant Blue R, Reactive Black 5, Direct Red 75, Acid Orange 51 ve Turquoise Blue- Dekolorizasyon	Ben Ali et al., 2020
<i>Alternaria</i> sp. Nees D21 (Arıküfü) (Sesli ve ark., 2020)	Methyl orange, Acid green 3, Methylene blue, Remazol Brilliant Blue R, Crystal violet ve Congo red	Toker et al., 2021
<i>Mucor irregularis</i> bpo1	Floren (PAH) parçalanması	Bankole et al., 2021 (a)
<i>Aspergillus aculeatus</i> Lizuka (Sivri asper) (Sesli ve ark., 2020)	Olsalazin (anti-inflamatuar ilaç) parçalanması	Bankole et al., 2021 (b)

Sonuç

Deniz ortamları oligotrofik koşullar, değişken sıcaklık, pH, basınç, ağır metaller, güneş ışığının farklı derinliğe sahip bölgelere nüfuz etmesindeki değişkenlik gibi birçok stres faktörünü içermektedir. Burada yaşayan deniz orjinli fungusların hücre dışı enzimlerinin bu koşullar altında uzun süre aktivitesini koruması beklenir. Bu enzimlerden lakkaz, çevrede inatçı ve kalıcı bileşiklerin parçalanması prosesleri için oldukça uygundur. Bu durumun nedenleri arasında ek bir kofaktör gerektirmemesi, aktivite için basit gereksinimlerinin bulunması ve substrat aralıklarının oldukça geniş olması sayılabilir. Lakkazların bu özellikleri deniz gibi ekstrem ortamlardaki stabiliteleri ile birleşince umut vaadedici

sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Örneğin endüstriyel atık sular global bir çevre sorunudur. Denizden izole edilen fungal suşların lakkaz enzimlerinin yine alkalın ve yüksek tuz içeriğine sahip endüstri atıklarının gideriminde deşarj öncesi kullanımı ileri çalışmalar için önerilmektedir. Ancak her organizmanın lakkaz enziminin oksidatif gücü değişkendir. Deniz orjinli lakkaz enzimleri henüz tam olarak tanımlanmamıştır ve bu nedenle daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Deniz orjinli funguslar, çok sayıda henüz keşfedilmemiş enzim ve biyomolekül ile donatılmıştır. Denizel fungusların çeşitliliğini keşfetmek, enzimlerini ve sekonder metabolitlerini tanımlamak; gelecekteki uygulamalar için önem arz etmektedir.



Kaynaklar

- Abd El Aty, A.A., Hamed, E.R., El-Beih A.A. and El-Diwany, A.I. (2016). Induction and enhancement of the novel marine-derived *Alternaria tenuissima* KM651985 laccase enzyme using response surface methodology: Application to Azo and Triphenylmethane dyes decolorization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (4), 006-014.
- Abd El Aty, A.A. and Mostafa, F.A. (2013). Effect of various media and supplements on laccase activity and its application in dyes decolorization. *Malaysian Journal of Microbiology*, 9(2), 166-175.
- Abeer, A.A.E.A., Aliaa, R.E.S., Sherien, M.M.A., El-Diwany, A.I. and Eman, R.H. (2015). Screening of Fungal Isolates for Laccase Enzyme Production from Marine Sources. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(1), 221.
- Adekunle, A.E., Zhang, C., Guo, C., and Liu, C.Z. (2017). Laccase Production from *Trametes versicolor* in Solid-State Fermentation of Steam-Exploded Pretreated Cornstalk. *Waste Biomass Valor*, 8, 153–159.
- Agrawal, K., Bhardwaj, N., Kumar, B., Chaturvedi, V., and Verma, P. (2019). Process optimization, purification and characterization of alkaline stable white laccase from *Myrothecium verrucaria* ITCC-8447 and its application in delignification of agroresidues. *International Journal of Biological Macromolecules*, 15;125, 1042-1055.
- Atalla, M.M., Zeinab, H.K., Eman, R.H., Armani, A.Y., and Abeer, A.A.E.A. (2010). Screening of some marine-derived fungal isolates for lignin degrading enzymes (LDEs) production. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 591–599.
- Bagewadi, Z.K., Mulla, S.I., and Ninnekar, H.Z. (2017). Optimization of laccase production and its application in delignification of biomass. *International Journal of Recycling Organic Waste in Agriculture*, 6, 351-365.
- Bankole, P.O., Semple, K.T., Jeon, B.H., and Govindwar, S.P. (2021a). Biodegradation of fluorene by the newly isolated marine-derived fungus, *Mucor irregularis* strain bpo1 using response surface methodology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111619.
- Bankole, P.O., Semple, K.T., Jeon, B.H., and Govindwar, S.P. (2021b). Impact of redox-mediators in the degradation of olsalazine by marine-derived fungus, *Aspergillus aculeatus* strain bpo2: Response surface methodology, laccase stability and kinetics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111742.
- Barathikannan, K., Ramasamy, K.P., Manohar, C.S., and Meena, R.M. (2017). Diversity and decolorization potential of fungi isolated from the coral reef regions off Kavaratti. India. *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, 46(03), 497-503.
- Ben Ali, W., Chaduli, D., Navarro, D., Lechat, C., Turb -Doan, A., Bertrand, E., Faulds, C.B., Sciara, G., Lesage-Meessen, L., Record, E. and Mechichi, T. (2020). Screening of five marine-derived fungal strains for their potential to produce oxidases with laccase activities suitable for biotechnological applications. *BMC Biotechnology*, 20, 27.
- Bonugli-Santos, R.C., Vasconcelos, M.R.S., Passarini, M.R.Z., Vieira, G.A.L., Lopes, V.C.P., Mainardi P.H., dos Santos J.A., Duarte, L.A., Otero, I.V.R., Yoshida, A.M.S., Feitosa, V.A., Pessoa, Jr. A., and Sette, L.D. (2015). Marine-derived fungi: diversity of enzymes and biotechnological applications, *Frontiers in Microbiology*, 6, 269.
- Bonugli-Santos, R.C., Vieira, G.A.L., Collins, C., Fernandes, T.C.C., Marin-Morales, M.A., Murray, P., and Sette, L.D. (2016). Enhanced textile dye decolorization by marine-derived basidiomycete *Peniophora* sp. CBMAI 1063 using integrated statistical design. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 8659-8668.
- Chenthmarakshan, A., Parambayil, N., Miziriya, N., Soumya, P.S., Kiran Lakshmi, M.S., Ramgopal, A., Dileep, A., and Nambisan, P. (2017). Optimization of laccase production from *Marasmiellus palmivorus* LA1 by Taguchi method of Design of experiments. *BMC Biotechnology*, 17(1), 12.
- D'Souza, D. T., Tiwari, R., Sah, A. K., and Raghukumar, C. (2006). Enhanced production of laccase by a marine fungus during treatment of colored effluents and synthetic dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 504– 511.
- D'Souza-Ticlo, D., Sharma, D., and Raghukumar, C. (2009). A Thermostable Metal-Tolerant Laccase with Bioremediation Potential from a Marine-Derived Fungus. *Marine Biotechnology*, 11, 725-737.
- Ghosh, P. and Ghosh, U. (2017). Statistical optimization of laccase production by *Aspergillus flavus* PUF5 through submerged fermentation using agro-waste as cheap substrate. *Acta Biologica Szegediensis*, 61(1), 25-33.
- Goralczyk-Bińkowska, A., Jasińska, A., Długoński, A., Płociński, P., and Długoński, J. (2020). Laccase activity of the ascomycete fungus *Nectriella pironii* and innovative strategies for its production on leaf litter of an urban park. *PLOS ONE*, 15(5): e0233553.
- Janusz, G., Pawlik, A., S  widerska-Burek, U., Polak, J., Sulej, J., Jarosz-Wilkolazka, A., and Paszczyn  ski, A. (2020). Laccase Properties, Physiological Functions, and Evolution. *International Journal of Molecular Science*, 21, 966.
- Jia, S.L., Chi, Z., Liu, G.L., Hu, Z., and Chi, Z.M. (2020). Fungi in mangrove ecosystems and their potential applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40:6, 852-864.
- Junior, J.A., Vieira, Y.A., Cruz, I.A., da Silva Vilar, D., Aguiar, M.M., Torres, N.H., Bharagava, R.N., Lima,  .S., de Souza, R.L., and Romanholo Ferreira, L.F. (2020). Sequential degradation of raw vinasse by a laccase enzyme producing fungus *Pleurotus sajor-caju* and its ATPS purification. *Biotechnol Rep (Amst)*, 13, 25:e00411.



- Karp, S.G., Faraco, V., Amore, A., Junior Letti, L.A., Soccol, V.T., and Soccol, C.R. (2015). Statistical Optimization of Laccase Production and Delignification of Sugarcane Bagasse by *Pleurotus ostreatus* in Solid-State Fermentation. *BioMed Research International*, Volume 2015, Article ID 181204, 8.
- Mainardi, P.H., Feitosa, V.A., Brenelli de Paiva, L.B., Bonugli-Santos, R.C., Squina, F.M., Jr, A.P., and Sette, L.D. (2018). Laccase production in bioreactor scale under saline condition by the marine-derived basidiomycete *Peniophora* sp. CBMAI 1063. *Fungal Biology*, 122, 302-309.
- Mehra, R., Muschiol, J., Meyer, A.S., and Kepp, K.P. (2018). A structural-chemical explanation of fungal laccase activity. *Scientific Reports*, 8, 17285.
- Passarini, M. R., Ottoni, C. A., Santos, C., Lima, N., and Sette, L. D. (2015). Induction, expression and characterisation of laccase genes from the marine-derived fungal strains *Nigrospora* sp. CBMAI 1328 and *Arthopyrenia* sp. CBMAI 1330. *AMB Express*, 5, 19.
- Patel, H. and Gupte, A. (2016). Optimization of different culture conditions for enhanced laccase production and its purification from *Tricholoma giganteum* AGHP. *Bioresources and Bioprocessing*, 3, 11.
- Patel, R.J., and Bhaskaran, L., (2016). Screening of novel Ascomycetes for the production of laccase enzyme using different lignin model compounds. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 7(4), 452-458.
- Raghukumar, C., D'Souza, T. M., Thorn, R. G., and Reddy, C. A. (1999). Lignin- Modifying Enzymes of *Flavodon flavus*, a basidiomycete Isolated from a Coastal Marine Environment, *Applied and Environmental Microbiology*, 65(5), 2103-2111.
- Rodrigues, E.M., Karp, S.G., Malucelli, L.C., Helm, C.V., and Alvarez, T.M. (2019). Evaluation of laccase production by *Ganoderma lucidum* in submerged and solid-state fermentation using different inducers. *Journal of Basic Microbiology*, 59, 784-791.
- Saravanakumar, K., and Kathiresan, K. (2014). Bioremoval of the synthetic dye malachite green by marine *Trichoderma* sp. *SpringerPlus*, 3, 631.
- Sesli, E., Asan, A., Selçuk, F. (eds), Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kirbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkeul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., ve Yoltaş, A. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi*. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul.
- Toker, S.K., Evlat, H., and Koçyiğit, A. (2021). Screening of newly isolated marine-derived fungi for their laccase production and decolorization of different dye types. *Regional Studies in Marine Science*, 45, 101837.
- Theerachat, M., Guieysse, D., Morel, S., Remaud-Siméon, M., and Chulalaksananukul, W. (2019). Laccases from Marine Organisms and Their Applications in the Biodegradation of Toxic and Environmental Pollutants: a Review. *Appl Biochem Biotechnol*, 187, 583-611.
- Verma, A.K., Raghukumar, C., Verma, P., Shouche, Y.S., and Naik, C.G. (2010). Four marine-derived fungi for bioremediation of raw textile mill effluents. *Biodegradation*, 21(2), 217-33.
- Wang, F., Xu, L., Zhao, L., Ding, Z., Ma, H., and Terry, N. (2019). Fungal laccase production from lignocellulosic agricultural wastes by solid-state fermentation: A review. *Microorganisms*, 9, 7(12), 665.
- Wikee, S., Hatton, J., Turbé-Doan, A., Mathieu, Y., Daou, M., Lomascolo, A., Kumar, A., Lumyong, S., Sciara, G., Faulds C.B., and Record, E. (2019). Characterization and Dye Decolorization Potential of Two Laccases from the Marine-Derived Fungus *Pestalotiopsis* sp. *International Journal of Molecular Science*, 20, 1864.
- Wu, Y.R., Luo, Z.H., and Vrijmoed, L.L.P. (2010). Biodegradation of anthracene and benz[a]anthracene by two *Fusarium solani* strains isolated from mangrove sediments. *Bioresource Technology*, 101(24), 9666-72.
- Xu, L., Sun, K., Wang, F., Zhao, L., Hu, J., Ma, H., and Ding, Z. (2020). Laccase production by *Trametes versicolor* in solid-state fermentation using tea residues as substrate and its application in dye decolorization. *Journal Environment Management*. 15, 270:110904.



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2021 / Cilt:12/ Sayı:2
October 2021 / Volume:12 / Issue:2

YAYIN İLKELERİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ'nin yayınladığı **MANTAR DERGISİ (e-ISSN 2147 6845)**; Ulusal veya Uluslararası Mikoloji alanıyla ilgili araştırma sonuçlarını içeren orijinal araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı elektronik HAKEMLİ bir dergidir.

Dergiye yayınlanmak üzere sunulan makaleler, Baş Editör tarafından konusu açısından dergide yayınlanmasının uygunluğuna karar verildikten sonra, derginin yazım kurallarına göre ön kontrolden geçirilir. Sonra Editör Kurulu aracılığı ile ilgili uzmanlık alanındaki hakemlere bilimsel yönden değerlendirilmek üzere gönderilir. Baş Editör, Bilimsel Hakemlerin eleştiri ve önerileri ile yazarın bunlara verdiği cevaplar doğrultusunda eserin yayınlanıp, yayınlanamayacağına karar verir. Yayınlanması uygun görülmeyen eserler hakkında yazarlara bilgi verilir. Yayınlanması uygun görülen eserlerin 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.

Mantar Dergisi [Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası Lisansı](#) ile lisanslanmıştır.

• Yazar eserin telif hakkını elinde tutar ve ilk yayımlama hakkını dergiye verir. Eser, yazarının belirtilmesi ve ilk yayımının bu dergide yapıldığının belirtilmesi koşuluyla diğerleri tarafından paylaşılmasına olanak veren Creative Commons lisansı altında lisanslanır.

• Yazarlar, makalenin yayımlandığı dergiye atıf yaparak makalelerinin yayımlandığı versiyonunu kurumsal bir arşive, kütüphaneye gönderebilirler.

• Lisans sahibine atıfta bulunarak eseri dağıtabilir, kopyalayabilir, üzerinde çalışmalar yapabilir, yine sahibine atıfta bulunarak türevi çalışmalar yapabilir veya buna benzer işler yapabilirsiniz.

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; "Hakem Öneri Formu" ve "Son Kontrol Formu" renkli olarak taranmış şekilde sisteme ek dosya olarak yüklenmelidir.

MAKALE YAZIM KURALLARI

Makale, **A4 boyutunda**, kenarlarda **2 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(sorumlu yazar belirtilmelidir) ve adresleri, E-postaları, Orcid numaraları, Öz, Anahtar kelimeler, İngilizce Başlık, Abstract, Key words, Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma, Kaynaklar.

(İngilizce makaleler için);

İngilizce Başlık, yazarlar(sorumlu yazar belirtilmelidir) ve adresleri, E-postaları, Orcid numaraları, Abstract ve Key words, Türkçe Başlık, Öz ve Anahtar kelimeler, Introduction, Material and Method, Results, Discussion, References.

Derleme çalışmalarda da mevcut başlıkların (materyal ve metot hariç) kullanılması gerekir. Bulgular ve Tartışma başlıkları tek başlık altında verilebilir.

Yazar gerekli görürse alt başlıklar kullanabilir. 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, İngilizce makalelerde ise İngilizce başlık 14 punto, Türkçe başlık 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 özlü 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 tam metin yayımlanmış bildiri isimlerinin ilk harfleri büyük yazılmalıdır. **Lisansüstü tezler kaynak olarak gösterilemez.**

Kaynak künyeleri **APA stiline** aşağıdaki sıraya uygun olarak yazılmalıdır (2019'dan itibaren).

Periyodik ise aşağıdaki örneğe uygun olarak:

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

Kitap ise aşağıdaki örneğe uygun olarak:

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

Bilimsel Toplantı kitabı ise aşağıdaki örneğe uygun olarak:

Önay, A. O., Kaşık, G., Alkan, S. ve Öztürk, C. (2018). *Pleurotus ostreatus*'un Misel Gelişmesine Humik Maddelerin Etkisinin Araştırılması. Ö. Türkmen ve M. Paksoy (Ed.), *II. International Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress Book of Full Text*, (ss.22-29). Bakü-Azerbaycan.

Tablo ve şekiller: Tablo bulundurmeyen bütün görüntüler (fotoğraf, çizim, grafikler, harita vb.) şekil olarak isimlendirilmelidir. Bütün şekil ve tablolar metin içinde ardışık olarak numaralandırılmalıdır. Tablo ve şekillerin boyutları 14x20 cm.' den büyük olmamalıdır. Şekiller mutlaka orijinal olmalıdır. Fotoğraflar en az 600 dpi çözünürlükte olmalı veya taranmış olmalıdır. Şekiller mutlaka ana makalede yer almalı ve **"jpeg"** dosyası olarak ayrıca sisteme yüklenmelidir. 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.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 B Blok Zemin Kat42079 Kampüs/KONYA

E-posta: mantarcilik@gmail.com



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2021 / Cilt:12/ Sayı:2
October 2021 / Volume:12 / Issue:2

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.

The Journal of Fungus is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

• Authors retain copyright and grant the journal right of first publication with the work simultaneously licensed under a Creative Commons Attribution License that allows others to share the work with an acknowledgement of the work's authorship and initial publication in this journal.

• Authors are able to enter into separate, additional contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the journal's published version of the work (e.g., post it to an institutional repository or publish it in a book), with an acknowledgement of its initial publication in this journal.

• Licensees may copy, distribute, display and perform the work and make derivative works and remixes based on it only if they give the author or licensor the credits (attribution) in the manner specified by these.

The author must upload the Reviewer Suggestion Form, contained at least 5 experts related to his / her article with the contact information (mobile tlf, e-mail address) as an additional file to the system.

To start the process of the Articles as soon as possible; Article, Reviewer Suggestion Form and Article Final Control Form should be uploaded to the system.

Articles preparation Rules

The article must be 1.5 spaced in A4 size, 2 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, E-mails, Orcid number(s), 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, E-mails, Orcid number(s), 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 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 10 points in alphabetical order. Names of books, articles and announcements initial letters should be big. The first letters of the names of the book, the article and the published submission should be written in large. Master's theses are not shown as a reference. References should be written in **APA style** in the following order (from 2019).

For Article:

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

For Books:

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

For Congress Book:

Önay, A. O., Kaşık, G., Alkan, S. and Öztürk, C. (2018). *Pleurotus ostreatus'un Misel Gelişmesine Humik Maddelerin Etkisinin Araştırılması*. Ö. Türkmen ve M. Paksoy (Ed.), *II. International Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress Book of Full Text*, (ss.22-29). Bakü-Azerbajjan.

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. Figures must be separate from the main article "jpeg" should be sent to the file. Figure name should be written under figure and should be 10 points. Table name should be written on top of the table and should be 10 points.

Works are sent online at "http://dergipark.gov.tr/mantar". Unspecified subjects must comply with scientific rules.

Contact Address:

S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü

Mantar Dergisi Editörlüğü

Fen Fakültesi Binası B Blok Zemin Kat42079 Kampüs/KONYA/TÜRKİYE

E-posta: mantarcilik@gmail.com

Saleplerden (Orkide) İzole Edilen Endofitik *Fusarium* spp.'nin
Moleküler Tanımlanması ve Filogenetik Çeşitlilik Analizleri.....163
Phylogenetic Diversity Analysis and Molecular Identification
of Endofitic *Fusarium* spp. Isolated From Salep (Orchid)
Yüksel GEZGİN

Bazı Kullanılmış Kozmetik Ürünlerinde Fungal Çeşitlilik.....172
Fungal Diversity in Some Used Cosmetic Products
Döndü GÜMÜŞKAYA ELBASAN, Ahmet ASAN, Suzan ÖKTEN

Scutellinia kerguelensis, A New Ascomycete Record for Turkey.....180
Scutellinia kerguelensis, Türkiye İçin Yeni Bir Askomiset Kaydı
Yasin UZUN, Abdullah KAYA

RETRACTED: Investigation of Bacterial and Fungal Load
of Five Printing House in Kahramanmaraş City.....184

GERİ ÇEKİLEN: Kahramanmaraş'taki Beş Matbaanın Bakteri ve Mantar Yükünün İncelenmesi
Ufuk YILMAZ, Ferudun KOÇER, Ahmet TUTUŞ, Sinan SÖNMEZ

DERLEME MAKALELERİ / REVIEW ARTICLES

Anaerobik Funguslarda Hidrojenozomlar: Hidrojen Üreten Organeller.....190
Hydrogenosomes in the Anaerobic Fungi: Hydrogen-Producing Organelles
Ferit Can YAZDIÇ, Fadime YAZDIÇ, Bülent KAR,
Emin ÖZKÖSE, Mehmet Sait EKİNCİ

Comparison of Quartile Scores of Mycology Journals Covered
by Web of Science and SCImago SCOPUS Databases.....209
Web of Science ve SCOPUS Veritabanları Kapsamında olan
Mikoloji Dergilerinin Q Değerleri Analizi
Ahmet ASAN, Gülay GİRAY

Fonksiyonel Bir Gıda: Shiitake Mantarı (*Lentinula edodes*).....218
A Functional Food: Shiitake Mushroom (*Lentinula edodes*)
Duygu KIRMIZIKUŞAK, Fulya SARPER

Alternaria Genusu Üyelerinin Meyve ve Sebzeler Üzerine Etkiler.....223
Effects of Genus *Alternaria* Members on Fruit and Vegetables
Burcu KAYA, Nükhet Nilüfer ZORBA

Deniz Orjinli Fungus Kaynakları ve Lakkaz Üretimi.....240
Marine-Derived Fungal Sources and Laccase Production
Ali KOÇYİĞİT, Sultan Kübra TOKER



İÇİNDEKİLER(CONTENTS)

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

Kültür Mantarı *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer Üzerine Bir Araştırma:
Taksonomik Durumunun ve Doğru Adının İncelenmesi.....87

A Study on thef Its Taxonomical Status and the Correct Name
İsmail ORUK, Mehmet AKYÜZ

Diversity and Distribution of Microfungi in Tuz Lake, Turkey94
Tuz Gölü (Türkiye) Mikrofungus Çeşitliliği ve Dağılımı
Yaşar Erçin KOCABIYIK, Semra İLHAN

Leratiomyces percevalii, A New Record for Turkish Mycobiota..... 108
Leratiomyces percevalii, Türkiye Mikobiyotası için Yeni Bir Kayıt
İsmail ACAR, Yusuf UZUN, Mustafa Emre AKÇAY, Sedat KESİCİ

Aspergillus Türlerinin Moleküler Tanımlanması için Hızlı,
Doğru ve Düşük Maliyetli Yenilikçi Yaklaşım..... 113
Rapid, Accurate and Low-Cost Innovative Approach
for Molecular Identification of *Aspergillus* species
Yüksel GEZGİN, Sibel ARSLAN, Zeycan NURÇE

The Annual Variation of Allergenic *Cladosporium* and *Alternaria* Spores
in the Atmosphere of Büyükorhan (Bursa), Turkey; Effects of Meteorological
Factors..... 122
Büyükorhan (Bursa), Türkiye Atmosferindeki Allerjik *Cladosporium* ve *Alternaria* Sporlarının
Yıllık Değişimi; Meteorolojik Faktörlerin Etkileri
Semih BEKİL, Aycan TOSUNOĞLU, Adem BIÇAKÇI

First Record of *Elaphomyces decipiens* for the Mycobiota of Turkey..... 134
Elaphomyces decipiens'in Türkiye Mikobiyotası İçin İlk Kaydı
Yasin UZUN, Abdullah KAYA

Macrofungi Determined in Ereğli (Konya) District..... 138
Ereğli (Konya) Yöresinde Belirlenen Makromantarlar
Fahri Tunahan ÇEVİK, Yasin UZUN, Abdullah KAYA

Adaklı (Yüksekova/Hakkâri) ve Çevre Köylerde Belirlenen Makromantarlar.148
Macrofungi Determined in Adaklı (Yüksekova / Hakkâri) and Surrounding Villages
Sedat KESİCİ, Yusuf UZUN

Devamı kapak içindedir.



Ekim 2021

Cilt:12

Sayı:2

e-ISSN 2147-6845

E-DERGİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ-KONYA-TÜRKİYE