



**ESKİŞEHİR TOPRAKLARINDAN ISIYA  
DİRENÇLİ *ASPERGILLUS* CİNSİ  
ÜYELERİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Fatma AYVA

Eskişehir 2020

**ESKİŞEHİR TOPRAKLARINDAN ISIYA DİRENÇLİ ASPERGİLLUS CİNSİ  
ÜYELERİNİN İNCELENMESİ**

**Fatma AYVA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Rasime DEMİREL**

**Eskişehir**  
**Eskişehir Teknik Üniversitesi**  
**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**  
**Ocak 2020**

*Bu tez çalışması ESTÜ-BAP - 1704F102 ve TÜBİTAK - 118Z359 no'lu projeler kapsamında desteklenmiştir.*

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Fatma AYVA'nın "Eskişehir Topraklarından Isıya Dirençli *Aspergillus* Cinsi Üyelerinin İncelenmesi" başlıklı tezi 15/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği" nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

Üye (Tez Danışmanı)

Üye

Üye

### Unvanı Adı Soyadı

Doç. Dr. Rasime DEMİREL

Prof. Dr. Merih KIVANÇ

Prof. Dr. Semra İLHAN

### İmza

.....

.....

.....

Prof. Dr. Murat TANIŞLI  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

## FINAL APPROVAL FOR THESIS

This thesis titled “Heat-Resistant *Aspergillus* Genus From Eskişehir Soil Examination of Its Members” has been prepared and submitted by Fatma AYVA in partial fulfillment of the requirements in “Eskişehir Technical University Directive on Graduate Education and Examination” for the Degree of Master of Science in Biology Department has been examined and approved on 15/01/2020.

<b><u>Committee Members</u></b>	<b><u>Title, Name and Surname</u></b>	<b><u>Signature</u></b>
Member (Supervisor)	Assoc. Prof. Dr. Rasime DEMİREL	.....
Member	Prof. Dr. Merih KIVANÇ	.....
Member	Prof. Dr. Semra İLHAN	.....

Prof. Dr. Murat TANIŞLI  
Director of Institute

## ÖZET

### ESKİŞEHİR TOPRAKLARINDAN ISIYA DİRENÇLİ *ASPERGILLUS* CİNSİ ÜYELERİNİN İNCELENMESİ

Fatma AYVA

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2020

Danışman: Doç. Dr. Rasime DEMİREL

Isıya dirençli *Aspergillus* cinsi üyeleri oluşturdukları askospor adı verilen eşeyli üreme yapıları sayesinde uygulanan ısı işlemlerden (75°C’de 30 dk gibi) etkilenmeyerek oda koşullarındaki depolama sırasında ürünlerde gelişmeye devam ederler ve bozulmalara neden olurlar. Isıya dirençli mikrofunguslar, ürünlerin biyokimyasal özelliklerini değiştirebilir ve büyük ekonomik kayıplara neden olurlar. *Aspergillus* cinsi üyeleri en sık karşılaşılan ısıya dirençli mikrofungus çeşitlerinden biridir. Bu organizmaların ana bulaşma kaynağı topraktır. Bu tez çalışmasında Eskişehir’deki tarım topraklarında ısıya dirençli *Aspergillus* cinsi üyelerinin biyoçeşitliliği araştırılmıştır. Eskişehir ilinin doğu, batı, kuzey ve güney bölgelerindeki nadas alanlarından dört farklı toprak örneği toplanmıştır. Toprak örneklerinde ısı işlemleri ve toprak seyreltme yöntemi kullanılarak izolasyon işlemi yapılmıştır. Safılaştırma aşamasından sonra, geleneksel yöntemler ve multilokus gen sekansı kullanılarak izolatlar teşhis edilmiştir. Isıya dirençli *Aspergillus* cinsine ait toplam 19 izolat teşhis edilmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** *Aspergillus*, Eskişehir, Isıya dirençli mikrofungus, Multilokus gen sekansı, Toprak.

## ABSTRACT

### HEAT RESISTANT *ASPERGILLUS* GENUS FROM ESKİŞEHİR SOIL EXAMINATION OF ITS MEMBERS

Fatma AYVA

Department of Biology

Programme in Basic and Industrial Microbiology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, January 2020

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Rasime DEMİREL

Heat resistant *Aspergillus* members are not affected by the heat treatments (for 30 minutes at 75 ° C) thanks to the sexual reproduction structures called as ascospore, they continue to develop in products during storage and cause deterioration. Heat resistant microfungi can alter the biochemical properties of the products and cause great economic losses. Members of the genus *Aspergillus* are one of the most common heat resistant microfungi. The main source of contamination of these organisms is soil. In this thesis, the biodiversity of members of the heat resistant *Aspergillus* genus was investigated in agricultural soils in Eskişehir province. For this purpose, four different soil samples were collected from fallow lands in east, west, north and south locations of Eskişehir Province. Isolation process was performed by using heat treatment of soil samples and the soil dilution method. After purification step, isolates were diagnosed by using conventional methods and multi locus gene sequencing. A total of 19 isolates of heat resistant *Aspergillus* were identified.

**Keywords:** *Aspergillus*, Eskişehir, Heat resistant fungi, Multi locus gene sequencing, Soil.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde, yüksek lisans eğitim süresince TÜBİTAK ve BAP projelerinde araştırmacı bursiyer olma olanağı sağlayan, çalıőmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan, ilgisi ve önerilerini göstermekten kaçınmayan, çalışma azmi ve sabrını her zaman örnek almaya çalıőtıđım değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Rasime DEMİREL'e,

Tez çalışmamın n basamaklarının gerçekleőtirilmesinden dolayı Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'ne,

Gerek eğitim hayatım gerek özel hayatım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bıraktımayan aileme ve Yiğit Söğüt'e,

Mikoloji laboratuvarındaki arkadaőlarıma, en içten teőekkürlerimi sunarım.

Fatma AYVA

## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

(İmza)

Fatma AYVA



15/01/2020

## **STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES**

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Eskişehir Technical University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

(Signature)

Fatma AYVA

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

BAŞLIK SAYFASI .....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
TABLolar DİZİNİ .....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
GRAFİKLER DİZİNİ .....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xvii
1. GİRİŞ .....	1
1.1 Genel Bilgi .....	2
1.1.1 Mikrofungusların genel özellikleri .....	2
1.1.2. Mikrofungusların yeryüzünde dağılımı ve ekosistemlerdeki rolü ....	2
1.1.3. Fungusların sınıflandırılması.....	3
1.1.3.1. <i>Chytridiomycota</i> .....	3
1.1.3.2. <i>Zygomycota</i> .....	3
1.1.3.3. <i>Ascomycota</i> .....	3
1.1.3.4. <i>Basidiomycota</i> .....	4
1.1.3.5. <i>Glomeromycota</i> .....	4
1.1.4. Mikrofungusların üremesi .....	4
1.1.5. Funguslarda eşeyli ve eşeysiz spor tipleri.....	5

1.1.5.1. Eşeyli spor tipleri.....	5
<i>Oospor</i> .....	5
<i>Zygospor</i> .....	5
<i>Ascospor</i> .....	5
<i>Basidiospor</i> .....	6
1.1.5.2. Eşeysiz Sporlar .....	6
1.1.6. Mikrofungusların karakteristik özellikleri .....	6
1.1.7. Mikrofungusların insan, hayvan ve bitki sağlığı için önemi .....	6
1.1.8. Mikrofungusların mikotoksin üretme yetenekleri .....	7
1.1.9. Toprak mikrofungusları .....	9
1.1.10. Isıya dirençli mikrofunguslar .....	11
1.1.11. <i>Aspergillus</i> cinsi üyeleri ve ısıya dirençli <i>Aspergillus</i> 'lar .....	11
1.1.12. Mikrofungusları tanımlama yöntemleri ve fungal sistematikte kullanılan moleküler yöntemler .....	12
1.1.13. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	13
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1. Materyal.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri .....</b>	<b>15</b>
2.1.1.1 <i>Dichlaren %18 gliserol agar</i> .....	15
2.1.1.2 <i>Czapek yeast autolysate agar</i> .....	15
2.1.1.3 <i>Creatin sucrose agar</i> .....	16
2.1.1.4 <i>Malt extact agar</i> .....	16
2.1.1.5 <i>Potato dextrose agar</i> .....	17
<b>2.1.2. Çalışmada kullanılan çözeltiler .....</b>	<b>17</b>
2.1.2.1 <i>Czapek concentrate</i> .....	17
2.1.2.2 <i>Agaroz jel</i> .....	17

2.1.2.3. TAE tamponu .....	18
2.2. Yöntem.....	18
2.2.1. Tarım arazisinden toprak örneklerinin alınması .....	18
2.2.2. Toprak analizi ve mikrofungusların izolasyonu .....	19
2.2.2.1. Toprak analizi .....	19
2.2.2.2. Mikrofungusların izolasyonu .....	20
2.2.3. İncelenen ısıya dirençli mikrofungusların geleneksel yöntemler ile morfolojik teşhisi .....	21
2.2.4. İncelenen ısıya dirençli mikrofungusların moleküler identifikasyonu .....	23
2.2.4.1. DNA izolasyonu .....	23
2.2.4.2. Bazı PCR reaksiyon içeriklerinin hazırlanması .....	25
Primer hazırlanması .....	25
dNTP karışımının hazırlanması .....	25
2.2.4.3. PCR ile amplifikasyon .....	25
2.2.4.4. Elektroforez .....	27
2.2.4.5. PCR ürününün saflaştırılması .....	28
2.2.4.6. DNA dizi analizi .....	28
2.2.4.7. Sekans verilerinin analiz edilmesi .....	28
3. BULGULAR .....	30
3.1. Toprak Analizi ve Mikrofungusların İzolasyonu .....	30
3.2. Morfolojik İdentifikasyon .....	34
3.3. Multi Lokus Gen İdentifikasyonu .....	41
3.4. Filogenetik Analiz Sonuçları .....	47
3.4.1. ITS gen bölgesi .....	47
3.4.2. Beta tubulin gen bölgesi .....	48

3.4.3. Kalmodulin gen bölgesi .....	49
4. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	50
4.1. Sonuç ve Tartışma.....	50
4.2. Öneriler.....	52
KAYNAKÇA.....	
ÖZGEÇMİŞ	



## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa

<b>Tablo 1.1.</b> Mikotoksin üreten bazı mikrofungus örnekleri .....	7
<b>Tablo 2.1.</b> Toprak örnekleme konumları .....	15
<b>Tablo 2.2.</b> Çalışmada kullanılan toprak örneklerine uygulanan fiziksel ve kimyasal analizler .....	19
<b>Tablo 2.3.</b> Mikrofungus teşhis dokümanı (morfolojik özelliklerine göre) .....	22
<b>Tablo 2.4.</b> Mikrofungus teşhis dokümanı (mikroskopik özelliklerine göre) .....	23
<b>Tablo 2.5.</b> Isıya dirençli <i>Aspergillus</i> üyelerinin moleküler identifikasyonunda kullanılan primerlerin hedeflenen gen bölgeleri ve ürün boyutları .....	26
<b>Tablo 2.6.</b> PCR reaksiyon içeriği .....	26
<b>Tablo 2.7.</b> Hedeflenen gen bölgelerine ait PCR reaksiyon basamakları .....	27
<b>Tablo 3.1.</b> Toprak örneklerine ait nem ölçüm sonuçları .....	30
<b>Tablo 3.2.</b> Toprak örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları .....	30
<b>Tablo 3.3.</b> İzolatların morfolojik teşhis sonuçları .....	34
<b>Tablo 3.4.</b> İzolatların NCBI veri bankasındaki tip türler ile kıyaslama sonuçları .....	43
<b>Tablo 3.5.</b> Eskişehir tarım topraklarından teşhis edilen türler .....	46

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 1.1. Örnek bir eşeyli ve eşeysiz üreme şeması .....	5
Şekil 1.2. Konidiaların oluşumu .....	6
Şekil 1.3. Mikrofungusların tarım alanlarındaki zararları .....	10
Şekil 1.4. A: ısıya dirençli <i>Aspergillus</i> sp. B: ısıya dirençli <i>Paecilomyces</i> sp. C: ısıya dirençli <i>Talaromyces</i> sp. D: ısıya dirençli <i>Penicillium</i> sp. ....	11
Şekil 1.5. <i>Aspergillus</i> sp. mikroskopik şeması .....	12
Şekil 2.1. Türkiye haritasında Eskişehir'in konumu .....	14
Şekil 2.2. Eskişehir il bölge haritası .....	14
Şekil 2.3. Planlanan örnekleme noktaları .....	18
Şekil 2.4. Nadas halindeki tarım toprağından kompozit numune oluşturmak üzere kullanılan örnekleme konumları .....	19
Şekil 2.5. Her bir örnekleme noktasından temin edilen 2 paralel toprak örneği görüntüsü .....	19
Şekil 2.6. Toprak örneklerinin steril su ile homojenizasyonu ve DG18 ile karıştırılması .....	21
Şekil 2.7. DG18 ile oluşturulan karışımın steril petrilere dökülmesi .....	21
Şekil 2.8. Fungusların üç nokta ekim tekniği ile şematize edilmiş hali .....	22
Şekil 2.9. Fungal genomik dna izolasyon basamakları .....	24
Şekil 3.1. 14 gün sonunda 1 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği.....	31
Şekil 3.2. 14 gün sonunda 2 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği.....	31
Şekil 3.3. 14 gün sonunda 3 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği.....	32
Şekil 3.4. 14 gün sonunda 4 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği.....	32
Şekil 3.5. Toprak örneklerinden saflaştırılmış olan <i>Aspergillus</i> cinsi üyeleri.....	33

Şekil 3.6. 26.03 <i>Aspergillus ruber</i> .....	35
Şekil 3.7. 26.07 <i>Aspergillus costiformis</i> .....	35
Şekil 3.8. 26.08 <i>Aspergillus costiformis</i> .....	36
Şekil 3.9. 26.12 <i>Aspergillus ruber</i> .....	36
Şekil 3.10. 26.27 <i>Aspergillus chevalieri</i> .....	36
Şekil 3.11. 26.30 <i>Aspergillus fischeri</i> .....	37
Şekil 3.12. 26.31 <i>Aspergillus costiformis</i> .....	37
Şekil 3.13. 26.32 <i>Aspergillus costiformis</i> .....	37
Şekil 3.14. 26.34 <i>Aspergillus ruber</i> .....	38
Şekil 3.15. 26.50 <i>Aspergillus costiformis</i> .....	38
Şekil 3.16. 26.56 <i>Aspergillus chevalieri</i> .....	38
Şekil 3.17. 26.57 <i>Aspergillus chevalieri</i> .....	39
Şekil 3.18. 26.59 <i>Aspergillus fischeri</i> .....	39
Şekil 3.19. 26.60 <i>Aspergillus costiformis</i> .....	39
Şekil 3.20. 26.61 <i>Aspergillus costiformis</i> .....	40
Şekil 3.21. 26.70 <i>Aspergillus fischeri</i> .....	40
Şekil 3.22. 26.71 <i>Aspergillus fischeri</i> .....	40
Şekil 3.23. DNA ekstraksiyon ürünleri .....	41
Şekil 3.24. <b>A)</b> Betatubulin gen bölgesine ait jel görüntüleri; <b>B)</b> Kalmodulin gen bölgesine ait jel görüntüleri; <b>C)</b> ITS gen bölgesine ait jel görüntüleri .....	41
Şekil 3.25. Kalmodulin gen bölgesinde çift bantlı örneklerin saflaştırma işlemi sonrasında kontrol sonuçları .....	42
Şekil 3.26. <b>A):</b> Sekans verisi(temsili); <b>B):</b> Sekans verisinin NCBI gen bankasındaki tip türler ile kıyaslanması (temsili) .....	42
Şekil 3.27. ITS dizilerinin ilişkilerini gösteren <i>Aspergillus</i> üyelerinin dizilerine dayanan en iyi maksimum olabilirlik ağacı .....	47



- Şekil 3.28.** Beta tubulin dizilerinin ilişkilerini gösteren *Aspergillus* üyelerinin dizilerine dayanan en iyi maksimum olabilirlik ağacı ..... 48
- Şekil 3.29.** Kalmodulin dizilerinin ilişkilerini gösteren *Aspergillus* üyelerinin dizilerine dayanan en iyi maksimum olabilirlik ağacı ..... 49



## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Grafik 3.1.</b> Toprak örneklerinde koloni sayım sonuçları (kob/ml) .....	30
<b>Grafik 3.2.</b> Eskişehir tarım topraklarındaki izole edilen ısıya dirençli <i>Aspergillus</i> cinsi üyelerinin dağılımları .....	46



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
bp	: Base Pair
CC	: Czapek Konsantratu
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
cm	: Santimetre
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
CREA	: Creatin Sucrose Agar
CYA	: Czapek Yeast Autolysate Agar
DG18	: Dichlaren %18 Gliserol Agar
dk	: Dakika
DMSO	: DiMetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Dinükleotittrifosfatlar
g	: Gram
gDNA	: Genomik DNA
GPS	: Global Positioning System (Küresel Konumlama Sistemi)
ITS	: Internal Transcribed Spacer
K	: Potasyum
kg	: Kilogram
m	: Metre
MEA	: Malt Ekstrat Agar
mM	: Milimolar
N	: Azot
O <sub>2</sub>	: Oksijen
OTA	: Okratoksin A
P	: Fosfor
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	: Patates Dekstroz Agar
pH	: Power Of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)

rRNA	: Ribozomal RNA
RNA	: Ribonükleik Asit
S	: Kükürt
SSU	: Küçük Alt Birim
TAE	: Tris-asetat
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV	: Ultraviyole
°C	: Santigrat Derece
β	: Beta
μM	: Mikromolar
μl	: Mikrolitre

## 1. GİRİŞ

Bakteriler, funguslar ve arkeler, toprak ekosisteminde belirli roller oynayan toprak mikrobiyal topluluklarının önemli üyeleridir. Örneğin; Gram pozitif bakteriler kompleks bileşikleri bozarken, Gram negatif bakteriler ise daha az karmaşık moleküller üzerinde etkilidirler. Fakat mikrofunguslar toprak organik maddesinin baskın ayrıştırıcıları olarak rol oynarlar (Krishnan vd., 2018).

Mikrofunguslar tatlı sulardan denizlere, soluduğumuz havadan besinsel ihtiyaçlarımızı karşıladığımız toprağa kadar birçok ortamda bulunur ve büyük bir çoğunluğu topraklarda yaşar (Amaeze vd., 2010; Panek ve Frac, 2018).

Toprak, mikroorganizmaların yaşamı için gerekli olan suyu, havayı, oksijeni, mineral maddeleri, karbon ve azot kaynağını bol miktarda bulundurmaktadır ve gerek toprağın fizikokimyasal yapısı, gerek iklim değişiklikleri ve gerekse uygulanan tarımsal faaliyetler mikrofungusların dağılımını ve çeşitliliğini önemli ölçüde etkilemektedir (Kirk vd., 2004; Gams, 2007; Krishnan vd., 2017).

Isıya dirençli mikrofunguslar da toprak kaynaklı olup direkt olarak toprak teması ile tarımsal besinlerimizi kontamine ederler (Kikoku vd., 2008). Oluşan bu durum tüm besinsel ihtiyaçlarımızın toprak kaynaklı olmasından dolayı risk faktörü oluşturmaktadır.

Mikrofungus çeşitliliğinin 2,2 ila 3,8 milyon arasında olduğu tahmin edilmektedir ancak günümüzde sadece 120.000 tür bilinmektedir ve birçok tür hala tanımlanmamıştır (Hyde vd., 2019).

Yapılan bu tez çalışmasında, Eskişehir il bölge sınırı dahili toprak örneklerindeki *Aspergillus* cinsi üyelerinin tarım topraklarından izole edilerek geleneksel ve moleküler teknikleri kullanarak ısıya dirençli mikrofungusların tanımlanması ve biyoçeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 1.1. Genel Bilgi

### 1.1.1 Mikrofungusların genel özellikleri

Mikrofunguslar ökaryotik canlılar olup filamentli (ipliksi) yapıdadırlar (Martin vd., 2019). Filamentli funguslar, tatlı sulardan denizlere kadar tüm habitatlarda bulunmakla beraber büyük ölçüde toprakta yaşarlar (Tischner vd., 2019; Martin vd., 2019). Hücre duvarına sahiptirler ve spor üretirler (Martin vd., 2019).

Mikrofunguslar klorofil içermezler ve bu nedenle heterotrof beslenirler (Valík, 2001; Amaeze, 2010; Kaşık, 2010). Aerobik olarak gelişirler ve enerjiyi organik maddelerin oksidasyonundan temin ederler (Kirk vd., 2004). Fungusların çoğu saprofitik olarak yaşamakla beraber, çeşitli çürüyen bitki ve hayvan materyallerini çürütme kabiliyetine sahiptirler ve özellikle bazı mikrofungus türleri bitki ve hayvan patojenleridir (Martin vd., 2019). Fotosentetik pigment içermedikleri için ihtiyaç duydukları besinleri diğer canlıların hazırladığı organik maddelerden sağlarlar (Fokom vd., 2019).

Mikrofunguslar, kompleks organik bileşikleri monomerik bileşikler halinde parçalayabilen hücre dışı enzimler salgırlar ve bu bileşikler daha sonra funguslar tarafından enerji, karbon ve diğer besin kaynakları olarak kullanılır (Sugiharto, 2019). Ürettikleri hücre dışı hidrolaz enzimleri ile karmaşık organik molekülleri daha basit forma dönüştürebilirler (Krishnan vd., 2017).

Mikrofunguslar toksin üretme yetenekleri ile de tanınırlar ve ürettikleri toksinlere **mikotoksin** adı verilir (Oliveira vd., 2018; Sugiharto, 2019). Mikotoksinler esas olarak *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* gibi toksijenik filamentli funguslar tarafından üretilir (Oliveira vd., 2018; Sugiharto, 2019). Bazı fungus türleri, hastalık ajanları ve yem kirletici maddeler olarak dikkat çekmektedir (Sugiharto, 2019).

### 1.1.2 Mikrofungusların yeryüzünde dağılımı ve ekosistemlerdeki rolü

Mikrofunguslar yayılış şekilleri misel yapılarıyla, spor yapılarıyla, suda, havada, hayvanlar ve insanların etkileriyle yayılabilmektedir (Kaşık, 2010). Mikrofunguslar, bütün ekosistemlerde, ayrıştırıcılar, epifitler, endofitler, bitkilerin diğer simbiyontları, hayvan ve bitki patojenleri gibi rol oynarlar (Hyde vd., 2019).

Mikrofunguslar birçok farklı ortamda gelişim gösterirler. Toprak bunlar arasında büyük bir öneme sahiptir, çünkü toprak, mikrofungusların gelişimi için gerekli pH, sıcaklık, nem, organik madde gibi optimum koşulların büyük bir çoğunluğunu içerir. Toprak mikrofungusları organik maddenin bozulması için önemlidir, böylelikle bitkilerin

büyümesi için besin sağlar (Asan vd., 2009). Mikrofungusların yayılışında kültür ortamı, hava kalitesi, endüstriyel tesisler, asit yağmuru, küresel ısınma gibi mikrofungusun spor yapısı gibi etkenler de etkilidir (Asan vd., 2009; Sayed ve Morsy, 2006). Mikrofungusların dağılımında mevsimsel ve yer faktörleri de etkilidir. Mikrofungusların buna bağlı dağılımları meyve ve sebzelerde olumsuz etkilere neden olmaktadır (Paulus vd., 2006). Bitkilerde tozlaşmada arılar, böcekler, kuşlar gibi etkenlerin yanında mikrofungusların da etkisinin olduğu bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda çiçek nektarlarında bulunan mikrofungusların da mikrobiyal dağılımda etkili oldukları gözlenmiştir (Belisle vd., 2011).

### **1.1.3. Fungusların sınıflandırılması**

Funguslar üreme özelliklerine göre (eşeyli, eşeysiz) ve moleküler verilerine göre sınıflandırılmış ve 5 ana filuma ayrılmışlardır. Bunlar Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota ve Glomeromycota'dır (Kaşık, 2010; Schüßler vd., 2001)

#### **1.1.3.1. Chytridiomycota**

Chytridiomycota'daki tek sınıf Chytridiomycetes'tir. En basit ve en ilkel fungusları içerir. Yapılan birçok sucul çalışmalarda fungal topluluklar arasında göl havzaları içerisinde ve denizlerde bulunan türlerin çoğunluğunun Chytridiomycota filumuna ait olduğu görülmüştür. Bu dağılımda tuzluluğun etkisinin önemli olduğu da kaydedilmiştir (Jimenez vd., 2017). Bu grup üyeleri hücre duvarlarında kitin bulundurlar ancak bazı üyeleri hücre duvarında hem kitin hem de selüloz bulundurur.

#### **1.1.3.2. Zygomycota**

Vesiküler- arbisküler mikorizal fungusları içeren gruptur. *Rhizopus stolonifer* bu bölümün en tipik üyesidir. Eşeysiz üreme sporangioforlar üzerinde bulunan konidia veya sporangiosporlar ile gerçekleşir. Eşeyli üreme ise zygosporlar ile gerçekleşir (Spatafora vd., 2016).

#### **1.1.3.3. Ascomycota**

Ascomycota, bitki, hayvan ve insan patojenleri olarak bilinirler (Guo-liang vd., 2019). Ascomycota grup üyeleri diğer mikroorganizmaların dayanamayacağı ağır kirli koşullar gibi çevresel strese direnç göstererek bu tür ortamlarda sık olarak bulunurlar. Ascomycota fungusları nötr pH'da hızla büyüebilme özelliğine sahiptirler ve enzim üretimi için substrata ihtiyaç duymazlar (Aranda vd., 2017). Bu bölümün tipik bir özelliği

eşeyli üreme sonucu oluşan sporların (askospor) askokarp adı verilen bir kese içerisinde oluşmasıdır (Jones vd., 2015). Vejetatif evre septalı hiflerden meydana gelir.

#### **1.1.3.4. *Basidiomycota***

Bu grup üyeleri de Ascomycota üyeleri gibi bitki, hayvan ve insan patojenleri olarak bilinmektedirler (Guo-liang vd., 2019). Çoğunlukla saprofitiktirler (Gomes vd., 2019). Basidiomycota türleri 1950'den bu yana antibiyotiklerin ve diğer ikincil metabolitlerin üretimi için kullanılmışlardır (Sandargo vd., 2019). Eşeyli üremeleri basidium adı verilen ve içerisinde basidiospor taşıyan yapılar ile gerçekleşir (Kaşık, 2010). Eşeyli üreme yapılarını taşıma ve koruma özelliğine sahip basidiokarp yapısına sahiptirler (Kaşık, 2010).

#### **1.1.3.5. *Glomeromycota***

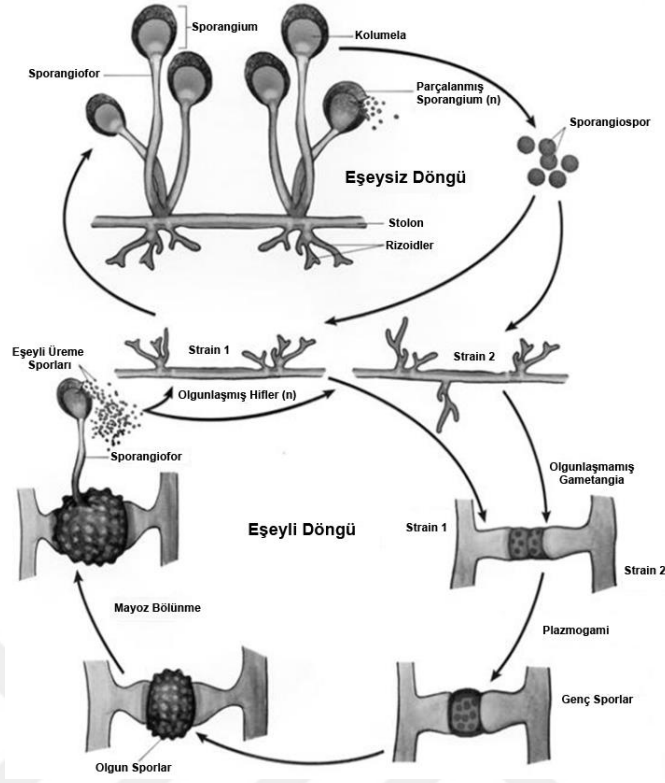
Bu grup üyeleri Ascomycota ve Basidiomycota ile aynı atadan ayrılan türleri içermektedir (Schüßler vd., 2001). Glomeromycota, otsu bitkilerin ve tropik ağaçların büyük çoğunluğunun kökleri içinde hücre içi olarak asbusküler mikorizal (AM) birleşmeleri oluşturan karşılıklı simbiyoz ilişkisi olan üyeleri içerir (Kolaczek vd., 2013). Sporların genellikle eşeysiz olarak çoğaldığı bilinmektedir.

#### **1.1.4. Mikrofungusların üremesi**

Mikrofunguslar hem eşeyli hem de eşeysiz olarak üreme özelliği gösterirler (Riley ve Corradi, 2012; Ojeda-Lopez vd., 2018). Çoğunlukla eşeysiz olarak ürerler (Kaşık, 2010; Ojeda-Lopez vd., 2018; Sugiharto, 2019). Eşeysiz üreme hif adı verilen vejetatif yapılar ve eşeysiz sporlarla gerçekleşir (Ojeda-Lopez vd., 2018). Eşeyli üreme ise iki uyumlu hücrenin (haploid) bir araya gelmesi (plazmogami), çekirdeklerin birleşmesi (karyogami) ve çekirdeğin bölünmesiyle (mayoz) gerçekleşir (Şekil 1.1) (Ojeda-Lopez vd., 2018).

Mikrofunguslarda üreme yöntemleri, büyük ölçüde beslenme ve çevresel koşullara bağlıdır (Sugiharto, 2019). Çoğu, pH 3 ila 8 arasında büyür ve bazıları çok düşük su aktivitesi seviyesinde (yani, 0.7 ila 0.8) hayatta kalabilir (Rawat, 2015; Sugiharto, 2019).





Şekil 1.1. Örnek bir eşeyli ve eşeysiz üreme şeması ([http-1](http://))

## 1.1.5. Funguslarda eşeyli ve eşeysiz spor tipleri

### 1.1.5.1. Eşeyli spor tipleri

#### *Oospor*

Oomycetes grup üyeleri tarafından oluşturulan spor tipidir. Dişi ve erkek gametlerin birleşmesi sonucu kalın çeperli, dış etkenlere dayanıklı olan oosporlar oluşur (Kaşık, 2010).

#### *Zygospor*

Zygomycetes üyelerinde görülür (Kaşık, 2010). *Rhizopus* spp. ve *Mucor* spp. zygospor üreten microfungus türlerine örnektir (Dannaoui, 2009). Hif uçlarında bulunan nükleusların bir araya gelmesi ile (gametangium) zygosporlar oluşur (Şekil 1.1) (Richardson, 2009).

#### *Ascospor*

Ascomycetes üyelerinde görülür (Kaşık, 2010). Askus adı verilen bir keseye sahiptirler ve bu kese içerisinde genellikle sekiz (bazen 2-4 olabilir) spor bulunur. Bu

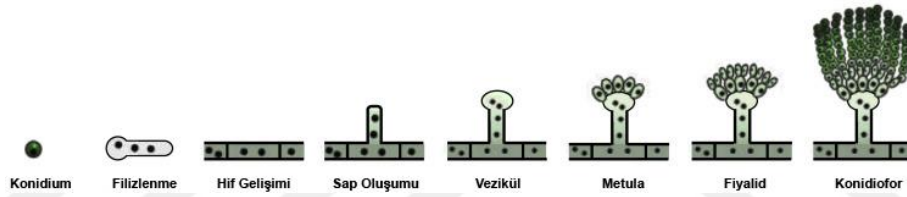
sporlara da **askospor** adı verilir. Askuslar da **askokarp** adı verilen bir yapı içerisinde bulunarak korunaklı yapı kazanırlar (Cousin, 2014).

### ***Basidiospor***

Basidiomycetes üyelerinde görülür. Basidiomycota sınıfı üyelerindeki basidiumlarda oluşan sporlardır. Makro funguslarda görülür. Bazen 4 adet olarak meydana gelirken bazen de ikili olarak meydana gelebilir (Kaşık, 2010).

#### **1.1.5.2. Eşeysiz sporlar**

Eşeysiz üremede, havaya açık olan ve hif uzantılarında bulunan konidiaforların ucundaki **konidia** adı verilen eşeysiz üreme sporları en sık görülen eşeysiz spor tipidir (Ojeda-Lopez vd., 2018). Yine hiflerin uçlarındaki sporangiumların oluşturduğu sporangiosporlar da eşeysiz üreme sporlarıdır (Dijksterhuis, 2019).



Şekil 1.2. Konidia oluşumu (Ojeda-Lopez vd., 2018)

#### **1.1.6. Mikrofungusların karakteristik özellikleri**

Tipik olarak filamentli (ipliksi) yapıda olup her bir ipliksi yapı **hif** olarak adlandırılır ve hiflerin oluşturduğu topluluklara ise **misel** denilmektedir (Sarıözlü ve Demirel, 2010). Misel veya hiflerin tamamına da **miselyum** adı verilir (Sugiharto, 2019). Miseller **septa** adı verilen bölmelerle ayrılmış hücrelerden oluşur. Hifler zarar gördüğü zaman eğer tür bölmeli hif yapısına sahip ise sadece zarar gören kısım bu durumdan etkilenir fakat bölmelere sahip değil ise tüm hif zarar görür. Bazı fungus türleri kitin çeper özelliği gösterirken bazı türlerin çeper yapısı selülozdan oluşur (de Vries vd., 2017).

#### **1.1.7. Mikrofungusların insan, hayvan ve bitki sağlığı için önemi**

Mikrofunguslar, biyoteknolojik potansiyelin artırılmasında, bazı enzim ve bileşiklerin üretiminde, biyoyakıt üretiminde ve pek çok alanda önemli rol oynarlar. Ayrıca mikrofunguslar insanlar için önemli bir besin kaynağıdır ve doğrudan tüketilebilir

veya peynir ve alkollü içecekler gibi ürünlerin üretiminde de kullanılırlar (Schuster ve Kahmann, 2019).

Mikrofungusların atmosferde her yerde oldukları bilinmektedir (Barberan vd., 2015). Havadaki mikrofungus çeşitliliği insan, hayvan ve bitki sağlığı üzerinde çok çeşitli etkenlere sahiptir ve insanların, hayvanların ve bitkilerin önemli patojenleridir (Barberan vd., 2015; Schuster ve Kahmann, 2019). Mikotoksin üretme yetenekleri ile birçok gıdanın bozulmasına neden olurlar. Örneğin, bir sığır yeminde oluşan mikotoksin, sığırın bu yemi yemesi ile hayvanın sağlığı açısından tehdit oluştururken diğer yandan sütüne karışır ve insanların gereksinimi olan süt ve süt ürünlerine geçerek insan sağlığı açısından da tehdit oluşturur (Alonso vd., 2013).

### 1.1.8. Mikrofungusların mikotoksin üretme yetenekleri

Mikotoksinler, insansal, hayvansal ve bitkisel gıdalarda ve yemlerde gelişmiş bazı mikrofungusların oluşturduğu düşük molekül ağırlıklı ikincil metabolitler olarak bilinirler. 350'den fazla olan ve her geçen gün sayısı artan mikotoksin üretici olarak bilinen mikrofungus türleri bulunmaktadır (Alonso vd., 2013; Mutlu-İngök ve Karbancıoğlu Güler, 2015). Mikotoksin üretici olan bazı fungus türleri Tablo 1.1.'de verilmiştir.

**Tablo 1.1.** Mikotoksin üreten bazı mikrofungus örnekleri (Sugiharto, 2019)

Mikrofungus	Mikotoksin Türü
<i>A. flavus</i>	Aflatoksin B1 ve B2, siklopiazonik asit, kojik asit, beta-nitropropionik asit, aspertoksin, aflatrem ve aspergillik asit
<i>A. parasiticus</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. pseudotamarii</i>	Aflatoksin B1, B2
<i>A. togoensis</i>	Aflatoksin B1, B2
<i>A. aflatoxiformans</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. cerealis</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. austwickii</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2

**Tablo 1.1. (Devamı) Mikotoksin üreten bazı mikrofungus örnekleri (Sugiharto, 2019)**

<b>Mikrofungus</b>	<b>Mikotoksin Türü</b>
<i>A. arachidicola</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. minisclerotigenes</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. mottae</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. luteovirescens</i>	Aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve tenuazonik asit
<i>A. nomius</i>	Aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve tenuazonik asit
<i>A. novoparasiticus</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. pseudocaelatus</i>	Aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve tenuazonik asit
<i>A. pseudonomius</i>	Aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve tenuazonik asit
<i>A. sergii</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. transmontanensis</i>	Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2
<i>A. alliaceus s. str.</i>	Okratoksin A
<i>A. neoalliaceus</i>	Okratoksin A
<i>A. vandermerwei</i>	Okratoksin A
<i>A. bertholletius</i>	Tenuazonik asit
<i>A. caelatus</i>	Tenuazonik asit
<i>A. pseudotamarii</i>	Tenuazonik asit
<i>A. tamari</i>	Tenuazonik asit
<i>Penicillium viridicatum</i>	Okratoksin A
<i>A. ochraceus</i>	Okratoksin A
<i>A. carbonarius</i>	Okratoksin A
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fumonisin
<i>F. graminearum</i>	Deoksinivalenol, nivalenol, trikotesenler, zearalenon
<i>Penicillium citrinum</i>	Sitrinin
<i>Penicillium expansum</i>	Patulin
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fusarik asit, fumonisin ve moniliformin

**Tablo 1.1. (Devamı) Mikotoksin üreten bazı mikrofungus örnekleri (Sugiharto, 2019)**

<b>Mikrofungus</b>	<b>Mikotoksin Türü</b>
<i>Fusarium langsethiae</i>	T-2 toksin
<i>F. poae</i>	T-2 toksin
<i>F. sporotrichioides</i>	T-2 toksin
<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Fomopsin
<i>Claviceps purpurea</i>	Ergot alkaloidleri
<i>Neotyphodium coenophialum</i>	Ergopeptin alkaloidler
<i>Penicillium citreoviride</i>	Sitreoviridin
<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisin
<i>Cochliobolus kusanoi</i>	Oosporein

Mikotoksin oluşumunda birçok etken bulunmaktadır. Bunlar ürünün nemi, ortamın bağıl nemi, ürüne uygulanan işlemler, ortamdaki CO<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> oranı gibi birçok etkenden oluşmaktadır (Mutlu-İngök ve Karbancıoğlu-Güler, 2015; Sugiharto, 2019)

Günümüzde tanımlamaları yapılmış önde gelen mikotoksinler; aflatoksinler, okratoksin A (OTA), patulin, deoksinivalenol, zearalenon, T-2, HT-2 toksinleri ve fumonisinler olarak bilinmektedir (Mutlu-İngök ve Karbancıoğlu-Güler, 2015; Frisvad vd., 2019).

### **1.1.9. Toprak mikrofungusları**

Toprak, prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizma içeren büyük bir biyolojik çeşitlilik deposunu temsil eden değerli ve karmaşık bir doğal kaynaktır (Kazerooni vd., 2017). Besinleri yetiştirme teknikleri, yönetim uygulamaları, ürün rotasyonu, toprak işleme, hayvan otlatma, bitki türleri ve iklimsel değişiklikleri doğrudan veya dolaylı olarak mikrobiyal çeşitliliği etkiler. Toprak sıcaklığı, yağış ve toprak pH'sındaki değişiklikler topraktaki mikrofungus çeşitliliğini etkilemektedir (Chen vd., 2017; Kazerooni vd., 2017).

Toprak mikrofungusları karbon ve besin döngüsünde rol oynayan önemli mikro canlılardır (Krishnan vd., 2018). Dünya üzerinde yaklaşık 75.000 çeşit toprak mikrofungusun olduğu bilinmektedir (Seth vd., 2016). Toprak mikrofungusları canlı

organizmaları ve ölü organik maddeleri tüketirler, bitki çeşitliliği ekosisteminde de önemli rol oynarlar (Tedersoo vd., 2014). Toprak mikrofungusları, toprak derinliğine ve besin koşullarına bağlı olarak tipik olarak bakterilerden daha fazla toprak biyokütlesini oluşturan toprak mikrobiyotasının önemli bir bileşenidir. Mikrofungusların toprakta dağılımı, toprağın organik içeriğinden ve doğasından, ayrıca diğer toprak ve iklim koşullarından, yüzey bitki örtüsünden ve toprak dokusundan etkilenir (Devi vd., 2012). Toprak mikrofungusları toprağın ekosistem yapısını ve işleyişini güçlü bir şekilde etkileyerek önemli bir rol oynar (Seth vd., 2016). Yüksek sıcaklık ve bağıl nem, hasat sonrası organizmaların gelişimini destekler ve bu nedenle tarım alanında hasat sonrası dönemde meyve ve sebze kaybının önemli bir kısmı mikrofungusların neden olduğu hastalıklara bağlanmaktadır (Rawat, 2015).



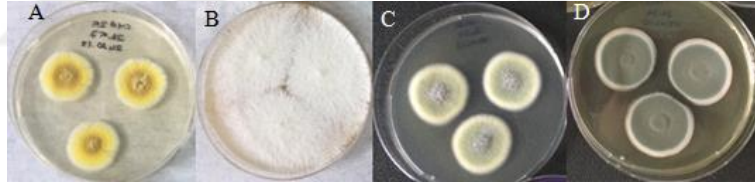
**Şekil 1.3.** Mikrofungusların tarım alanlarındaki zararları (<http-2>)

Toprak mikrofunguslarının yararlı ve zararlı birçok etkisi vardır. Toprak mikrofungusları orman ekosistemlerinde önemli bir canlı grubudur. Ekosistem içindeki temel görevleri; organik maddenin ayrıştırılması, N, P, K, S ve diğer iyonların mineralizasyonu, simbiyoz ortaklıklara katılmak, humik maddeler sentezlemek, besin elementlerini sitoplazma içinde tutarak topraktan yağış suları ile yıkanmalarını ve kök zonundan dışarı çıkmalarını engellemek, toprakların kırıntılı bir yapı kazanmasını sağlamak, toprak oluşum ve gelişim olaylarına katılmak, antibiyotik üretmek, zararlı toprak mikroorganizmaları ile mücadele etmek, zehirli maddeleri ayrıştırmak şeklinde özetlenebilir (Oskay ve Şimşek, 2017; Hyde vd., 2019; Martin vd., 2019). Toprak mikrofunguslarının yararlı faaliyetleri yanında, ne yazık ki çok çeşitli zararları da vardır. Toprak mikrofunguslarının bir kısmı insan, hayvan ve bitkilerde parazit olarak yaşamaktadırlar. Bu canlılarda çeşitli hastalıklara hatta ölümlere sebep olmaktadır. Bazı mikrofunguslar özellikle kültür bitkilerine kontamine olarak büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Tarımsal hammaddelerde oluşan kontaminasyon büyük çoğunlukla toprak ile temasın bir sonucudur (Tedersoo vd., 2014; Frac vd., 2015).

### 1.1.10. Isıya dirençli mikrofunguslar

Isıya dirençli mikrofunguslar ürünlere uygulanan ısı işlemlerden (75 °C’de 30 dk gibi) etkilenmeyerek bozulmalara neden olan, kısa sıcaklık uygulamalarına ve gıda üretim proseslerindeki çeşitli ısı işlemlere direnç göstererek yaşamlarını sürdüren mikroorganizmalardır (Demirci ve Arıcı, 2006; Yaguchi vd., 2012; Frac vd., 2015; Santos vd., 2018). Bu mikroorganizmalar ısıya karşı direnci askosporları, klamidosporeleri veya sklerotiaları sayesinde kazanırlar ve uygulanan ısı işlemlerden etkilenmeyerek gıdalarda kontaminasyona neden olurlar (Valík, 2001).

Isıya dirençli mikrofunguslar meyve yapısını tahrip edebilir, ürünlerin biyokimyasal özelliklerini değiştirebilir ve büyük ekonomik kayıplara neden olur (Tranquillini vd., 2017). Isıya dirençli mikrofunguslar, ısı işlem görmüş meyve ve meyve ürünlerini çürütme yetenekli patojenler olarak pek çok ülkede kaydedilmiştir (Kikoku vd., 2008). Yapılan araştırmalar sonucunda *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium* ve *Talaromyces* cinsi üyeleri en sık karşılaşılan ısıya dirençli mikrofungus çeşitlerinden biri olmuştur (Kikoku vd., 2008; Yaguchi vd., 2012). Bu mikroorganizmaların ana bulaşma kaynağı topraktır.



Şekil 1.4. A: Isıya dirençli *Aspergillus* sp. B: Isıya dirençli *Paecilomyces* sp. C: Isıya dirençli *Talaromyces* sp. D: Isıya dirençli *Penicillium* sp.

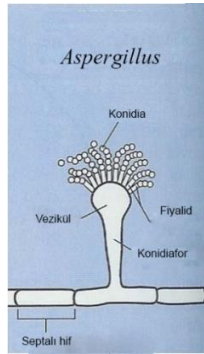
### 1.1.11. *Aspergillus* cinsi üyeleri ve ısıya dirençli *Aspergillus*'lar

*Aspergillus* cinsi üyeleri, tıbbi alanda, yiyeceklerin bozulmasında ve endüstriyel alanda en çok çalışılan filamentöz fungus cinsinden biridir (de Vries vd., 2017). Funguslar aleminin en kalabalık familyası olan Ascomycetes üyeleridir. Üçyüz kırk takson içerir ve bunların yaklaşık 40'ının sağlık sorunlarına neden olduğu bilinmektedir. *Aspergillus* sporları hava, toprak, gıda ürünleri, iç mekan ve bitki kalıntılarında bol miktarda bulunur (Shishodia vd., 2019).

*Aspergillus* 'lar hif olarak adlandırılan hücre zincirlerinden oluşan iplikli fungus türleridir. Spor yapılarını askuslar içinde üretirler. Askus içerisinde de mitoz ve mayoz bölünmeler sonucunda 8 adet eşeyli üreme yapısı olan askospor üretirler. Bu sporlar olumsuz tüm etkilere karşı oldukça dayanıklı bir yapıya sahiptirler (Shishodia vd., 2019).

Isıya dirençli mikrofunguslar 75°C’de 30 dk’lık ısı uygulaması sonrasında hayatta kalırlar ve organik madde çürütülmesine devam ederler (Kikoku vd., 2008). Bunun yanı sıra toksik metabolik olarak adlandırılan mikotoksin üretmeye devam ederler. Düşük su aktivitesine sahip gıdaların bozulmasında da önemli bir yer tutmakta ve toksik etki oluşturmaktadırlar (Ali vd., 2009; Mutlu-İngök ve Karbancıoğlu-Güler, 2015). Isıya dirençli mikrofunguslar özellikle ısı işlem görmüş meyve ve meyve ürünlerini (meyve suları gibi) çürütme yetenekleri ile önemli bir yere sahiptirler (Frac vd., 2015; Tranquillini vd., 2017).

*Aspergillus* cinsi üyelerinin tanımlanması için ilk olarak koloni rengi, mm cinsinden koloni çapı, koloni arka rengi, misel rengi, eksuda, çözünür pigment özellikleri gibi gözle görülür özellikleri karşılaştırılarak ayırt edilebilirler. Türler arasında fenotipik farklılıklar bulunur, bu nedenle bu türlerin genetik temellere dayalı ayırt edilmesi oldukça önemlidir. Tür tanımı için, üreme yapısı özellikleri, askokarplarının bulunup bulunmama durumları, askospor ve konidia yapıları gibi özellikleri değerlendirilir (Klich, 2002). *Aspergillus* cinsi üyeleri farklı renklere ve yünlü bir yapıya sahiptirler. Yoğun spor oluştururlar. Mikroskopik olarak incelendikleri zaman septalı hifler oluşturdukları görülür. Bu hif bölümlerinin bazıları konidiofor şeklinde farklılaşır (Mousavi vd., 2016). Konidioforların ucu yuvarlaklaşarak vezikül şeklini alır ve veziküllerin ucunda fiyalitler bulunur. Fiyalitlerin ucunda da havaya açık bir şekilde konidialar bulunmaktadır (de Vries vd., 2017).



Şekil 1.5. *Aspergillus* sp. mikroskopik şeması (<http-3>)

#### 1.1.12. Mikrofungusları tanımlama yöntemleri ve fungal sistematikte kullanılan moleküler yöntemler

Mikrofungusların tanımlanmasında morfolojik ve koloni özellikleri önemli ölçüde taksonomik kriterleri oluşturmaktadır. Morfolojik ve koloni özelliklerine dayanarak



geçmişten günümüze kadar tanımlanan tüm mikrofungusların fenotipik özellikleri önemli bir kriter olmuştur (Tuney vd, 2018). Mikrofungusların substrat ve çevresel koşullara bağlı olarak morfolojilerinde önemli ölçüde değişimler olduğundan dolayı tanımlamada morfolojik özelliklerin yetersiz olduğu görülmüştür (Fischer ve Dott, 2002). İlerleyen yıllarda mikrofungus çeşitliliğinin ve yayılımının ortaya koyulması için moleküler yöntemler kullanılarak organizmalar arasındaki evrimsel sürecin ve birbirleriyle olan ilişkilerin belirlenmesi amacıyla filogenetik ağaçlar sayesinde sistematik sistemler oluşturulmuştur. Mikrofungusların sınıflandırılmasındaki temel kriterler, oluşturdukları eşeyli veya eşeysiz üreme yapıları olmuştur. Fakat sadece üreme özelliklerine göre sınıflandırma yapmak çok faydalı olamamış bazı karışıklıklara neden olmuştur. Moleküler yöntemler ile bu karışıklığın ortadan kaldırılması amaçlanmıştır (Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). Daha sonraki çalışmalarda morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal karakterlere dayanan bir sistematik amaçlanmıştır. 2000’li yıllardan itibaren SSU rRNA filogenisine dayanarak tanımlamalar yapılmaya başlanmıştır. Multilokus DNA dizilerine dayanarak yeniden tanımlamalar yapılmıştır (Zhang vd., 2017). Mikrofungusların şuan ki sınıflandırılması morfolojik, fizyoloji ve moleküler verileri birleştirerek polifazik taksonomiye dayanmaktadır (Restrepo vd., 2017).

### **1.1.13. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)**

PCR işlemi, organizmaların moleküler karakterizasyonu için kullanılır (Khan ve Bhadauria, 2018). PCR, fungus spesifik primer olarak adlandırılan oligonükleotid diziler ile organizmanın gDNA’sının hedeflenen gen bölgeleri ile çoğaltılması işlemidir (Levin, 2012).

PCR işlemi temelde denatürasyon (94-95 °C), bağlama (annealing, 55-65 °C) ve uzama (72 °C) olmak üzere 3 basamaktan oluşmaktadır. İlk basamak DNA kompleksinin ayrılmasıdır. İkinci basamakta gDNA üzerindeki hedef gen bölgesine spesifik primerlerin yerleşmesi ve son basamakla polimerizasyonun devam ederek uzaması gerçekleşir (Kahya vd., 2013).

Hedef DNA (templeyt), taq DNA polimeraz enzimi, primerler, deoksiniükleotitler, tampon sıvı, pH, Mg<sup>+2</sup> iyonları, PCR reaksiyonunun temel bileşenleri olarak kullanılır (Kahya vd., 2013).

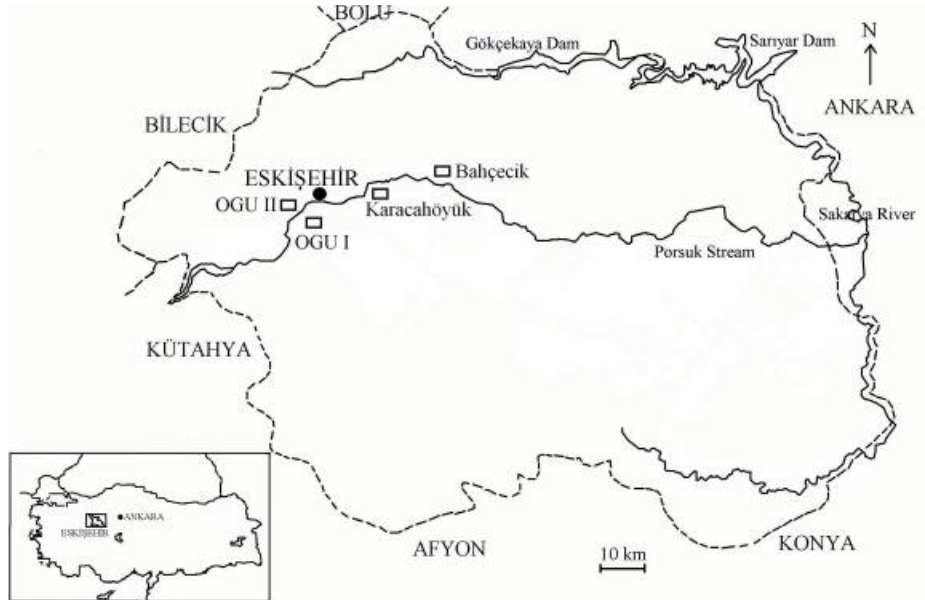
## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

Çalışma materyali Eskişehir ilindeki (Şekil 2.1. ve Şekil 2.2) tarım topraklarından seçilmiş ve seçilen alanlardan örnekleme yapılmıştır. Örnekleme yapılan alanlar Tablo 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Türkiye haritasında Eskişehir'in konumu (<http-4>)



Şekil 2.2. Eskişehir il bölge haritası (Demirel vd., 2005)

**Tablo 2.1.** Toprak örnekleme konumları

Şehir	Örnek No	GPS kayıtları (derece ve ondalık dakika) (DMM)		Rakım (m)
		Kuzey	Doğu	
Eskişehir	1 (Batı)	39 46.8429	30 24.9482	767
	2 (Kuzey)	39 50.2406	30 30.6429	762
	3 (Güney)	39 43.5098	30 29.6615	954
	4 (Doğu)	39 45.8257	30 35.5961	753

### 2.1.1 Çalışmada kullanılan besiyerleri

#### 2.1.1.1 Dichlaren %18 gliserol agar (DG18 Merck 1.04092)

Pepton	5 g
Glikoz	10 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
Dichloran	0.002 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.5 g
Klormfenikol	0.1 g
Agar	15 g
Gliserol	175 ml
Distile Su	825 ml

Yukarıdaki besiyeri ısıya dirençli *Aspergillus* cinsi üyelerini topraktan izolasyonu için kullanılmıştır. DG18 besiyeri içerikte belirtilen miktarlarda tartılıp distile suda çözüldürüldükten sonra 121 °C’de 15 dk 1.5 atm. basıncında otoklavlanarak steril edilmiştir.

#### 2.1.1.2. Czapek yeast autolysate agar (CYA, Samson vd., 2010)

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
Czapek Concentrate (CC)	10 ml
Yeast autolysate veya extract	5 g
Sukroz	30 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Yukarıdaki besiyeri ısıya dirençli *Aspergillus* cinsine ait türlerin morfolojik teşhisi için kullanılmıştır. CYA besiyeri içerikte belirtilen miktarlarda tartılıp distile suda çözündürüldükten sonra 121 °C'de 15 dk 1.5 atm. basıncında otoklavlanarak steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra, standart boyutlardaki steril petrilere dökülmüştür.

#### **2.1.1.3. Creatin sucrose agar (CREA, Samson vd., 2010)**

Kreatin	3 g
Sucrose	30 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	1.3 g
Bromocresol purple	0.05 g
KCl	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.01 g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.01 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.005 g
Agar	15 g
Distile su	1000

Yukarıdaki besiyeri ısıya dirençli *Aspergillus* cinsine ait türlerin morfolojik teşhisi için kullanılmıştır. CREA besiyeri içerikte belirtilen miktarlarda tartılıp distile suda çözündürüldükten sonra 121 °C'de 15 dk 1.5 atm. basıncında otoklavlanarak steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra, standart boyutlardaki steril petrilere dökülmüştür.

#### **2.1.1.4. Malt extract agar (MEA Samson vd., 2010)**

Malt extract	50 g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.01 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.005 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

Yukarıdaki besiyeri ısıya dirençli *Aspergillus* cinsine ait türlerin morfolojik teşhisi için kullanılmıştır. MEA besiyeri içerikte belirtilen miktarlarda tartılıp distile suda çözündürüldükten sonra 121 °C'de 15 dk 1.5 atm. basıncında otoklavlanarak steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra, standart boyutlardaki steril petrilere dökülmüştür.

#### **2.1.1.5. *Potato dextrose agar (PDA Merck 1.10130)***

Potato dextrose	39 g
Distile su	1000 ml

Yukarıdaki besiyeri ısıya dirençli *Aspergillus* cinsine ait türlerin DNA ekstaksiyonu için kullanılmıştır. PDA besiyeri içerikte belirtilen miktarlarda tartılıp distile suda çözündürüldükten sonra 121 °C'de 15 dk 1.5 atm. basıncında otoklavlanarak steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra, standart boyutlardaki steril petrilere dökülmüştür.

#### **2.1.2. Çalışmada kullanılan çözeltiler**

##### **2.1.2.1. *Czapek concentrate (CC, Samson vd., 2010)***

NaNO <sub>3</sub>	3 g
KCl	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.01 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.005 g
Distile su	10 ml

Hazırlanan çözelti CYA besiyeri içeriğinde kullanılmıştır.

##### **2.1.2.2. *Agaroz jel***

%'1 lik agaroz	1 g
TAE (Tris-Asetat EDTA)	100 ml

Hazırlanan çözelti PCR ürünlerinin kontrolü amaçlı kullanılmıştır.

### 2.1.2.3. TAE tamponu (50X) (Sambrook ve Russell, 2001)

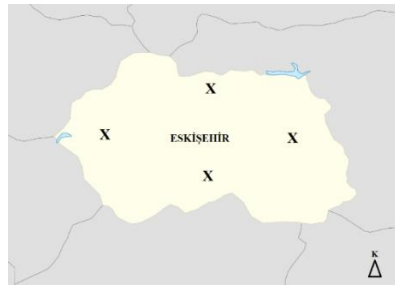
Tris Base	242 g
Na <sub>2</sub> EDTA (2H <sub>2</sub> O)	37,5 g
Distile su	900 ml
Asetik asit	57.1 ml

Hazırlanan çözelti 49 ml distile suya 1 ml oranında ilave edilerek seyreltilmiş ve agarozun çözünmesi için kullanılmıştır.

## 2.2. Yöntem

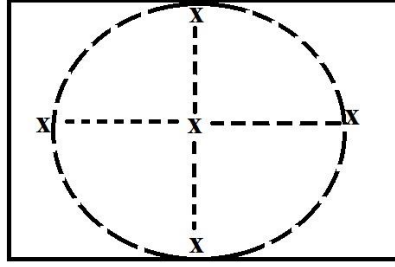
### 2.2.1. Tarım arazisinden toprak örneklerinin alınması

Toprak örneklerinin alınmasında Brown yöntemi (Brown, 1958) kullanılmıştır ve örnekleme ESTÜ-BAP-1704F102 ve TÜBİTAK-118Z359 no'lu projeler kapsamında gerçekleştirilmiştir. Örnekleme işlemi Eskişehir ilinin kuzey, güney, doğu ve batı bölgelerinden olmak üzere 4 farklı noktasından (Şekil 2.3) ve her bir noktaya ait ayrı ayrı kompozit numune oluşturma esaslarına göre yapılmıştır. Nadas halindeki şahsa ait tarlalardan toprak örnekleri alınırken arazi üzerinde dairesel olarak yaklaşık 50 m aralıklarla biri merkez olmak üzere 5 profil açılmıştır (Şekil 2.4). Her bir profilin hava ile temas eden yüzeyinden steril bir çapa ile bir miktar toprak uzaklaştırıldıktan sonra 10 cm derinlikten alınan topraklar (yaklaşık toplam 3 kg), steril polietilen torbalara konulmuştur. Toprak örnekleri mikrofungus izolasyonu ve toprak analizlerine kullanılmak üzere 2 paralel halinde alınmıştır (Şekil 2.5). Örnekler +4 °C' de muhafaza edilmiştir. Örnekleme noktalarının enlem, boylam ve yükseklik değerleri FENIX 5 (Garmin, İsviçre) kullanılarak kaydedilmiştir (Tablo 2.1). Toprak örneklerinin bir paraleli fiziksel ve kimyasal analizleri yapılmak üzere Eskişehir Orman Genel Müdürlüğü Araştırma Enstitüsü Müdürlükleri Laboratuvarlarına ulaştırılmıştır.



Şekil 2.3. Planlanan örnekleme noktaları. Her bir noktadan 4 adet kompozit toprak örneği temin

edilmiştir (X; Örnekleme noktaları)



**Şekil 2.4.** Çalışma kapsamında örnekleme yapmak üzere belirlenen illerin her bir kuzey, güney, doğu ve batı noktalarındaki nadas halindeki tarım toprağından kompozit numune oluşturmak üzere kullanılan örnekleme konumları. Örnekleme yapılacak olan ilin kuzey, güney, doğu ve batı bölgesinden ayrı ayrı olmak üzere belirtilen şekilde örnekleme yapılmış ve sonuç olarak 4 adet kompozit toprak örneği temin edilmiştir (X; Örnekleme noktaları, - - - - ; 50 m'lik mesafe)



**Şekil 2.5.** Örnekleme noktasından temin edilen 2 paralel toprak örneği görüntüsü

## 2.2.2. Toprak analizi ve mikrofungusların izolasyonu

### 2.2.2.1. Toprak analizi

Doku, nem, pH, organik madde, fosfor, azot, potasyum, tuzluluk, sertlik gibi toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden bazıları, “Eskişehir Orman Genel Müdürlüğü Araştırma Enstitüsü Müdürlükleri Laboratuvarları”nda ölçülmüştür. Çalışmada kullanılan toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal analizinde uygulanan yöntemler Tablo 2.2’ de verilmiştir (Anonymous, 1994).

**Tablo 2.2.** Çalışmada kullanılan toprak örneklerine uygulanan fiziksel ve kimyasal analizler

	Yapılacak Toprak Analizleri	Kullanılacak Yöntemler
1	pH	Potansiyometrik pH tayini
2	Organik Madde Miktarı	Modifiye Walkley-Black Yöntemi
3	Azot	Organik madde miktarından hesaplanmıştır

**Tablo 2.2. (Devamı)** Çalışmada kullanılan toprak örneklerine uygulanan fiziksel ve kimyasal analizler

	Yapılacak Toprak Analizleri	Kullanılacak Yöntemler
4	Fiziksel Analiz (Tekstür)	Bouyoucus Hidrometre Yöntemi.
5	Kullanılabilir Fosfor Miktarı	Sodyum Bikarbonat (Olsen) Yöntemi
6	Potasyum tayini	Spectro Flym Fotometre Yöntemi
7	Elektriksel iletkenlik ve Tuzluluk tayini	Saturasyon Ekstraktının Conductivity Bridge Aletinde Ölçümü
8	Toplam Kireç (CaCO <sub>3</sub> ) Tayini	Scheibler Kalsimetresinde Ölçüm

### 2.2.2.2. Mikrofungusların izolasyonu

Mikrofungusların topraktan izolasyonu için çok sayıda spor üreten mikrofungusların izolasyonunda etkili olan “Toprağı Seyreltme Yöntemi” (Waksman, 1922; Martin, 1950; Warcup, 1955) kullanılmıştır ve incelenen ısıya dirençli mikrofungusların geleneksel yöntemler ile morfolojik teşhisi aşamasına kadar olan laboratuvar çalışmaları Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nde gerçekleştirilmiştir.

Her toprak örneği alındığı gün içerisinde 10 g tartılmış ve 105°C’ lik sıcaklıkta 24 saat bekletildikten sonra tekrar tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Bu şekilde her örneğin nem oranı % olarak hesaplanmış ve 25 g kuru toprağı verecek yaş toprak miktarının kaç gram olduğu belirlenmiştir. Ölçülen ağırlıklardan, toprak örneklerinin % nem miktarının belirlenmesinde  $\% = (c - g) / g$  formülü kullanılmıştır. Burada c, ıslak toprağın ağırlığıdır ve g, 24 saat boyunca 105 °C’de kurutulmuş toprağın ağırlığıdır.

Isıya dirençli mikrofungusların topraktan izolasyonu için Houbraken ve Samson (2006) tarafından geliştirilmiş olan modifiye yöntem kullanılmıştır. Örneklerin topraktan izolasyonu için her bir toprak örneğinin % nem miktarı göz önüne alınarak tartılmıştır.

Tartım işlemi yapılan toprak örnekleri stomacher torbalarında steril su ile homojenize edilmiştir ve bu torbalar 75 °C’de su banyosunda 30 dk süre boyunca ısı ile muamele edilmiştir. Süre sonunda torbalar 55 °C’ye kadar soğutulmuştur. Bu işlemden sonra Dichlaren %18 Gliserol (DG18) agar ortamına ilave edilmiştir. (Şekil 2.6.)

Oluşan karışım 15 cm çaplı steril petrilere dökülerek 30 °C’de 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 2.7.) İnkübasyon süresince gelişen mikrofungusların



sayımları yapılmış ve bu organizmalar izole edildikleri aynı kültür ortamında saflaştırılmışlardır.



Şekil 2.6. Toprak örneklerinin steril su ile homojenizasyonu ve DG18 ile karıştırılması

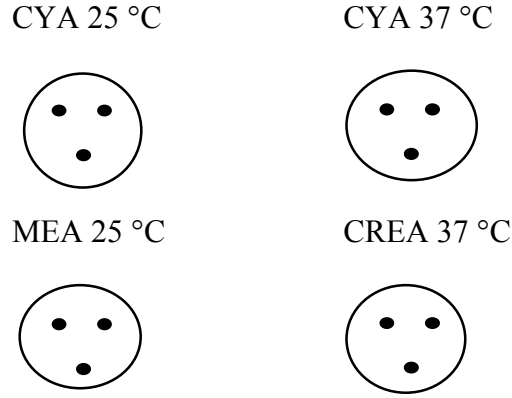


Şekil 2.7. DG18 ile oluşturulan karışımın steril petrilere dökülmesi

İnkübasyon süresince gelişen mikrofungusların sayımları yapılmış ve bu organizmalar izole edildikleri aynı kültür ortamında saflaştırılmışlardır.

### 2.2.3. İncelenen ısıya dirençli mikrofungusların geleneksel yöntemler ile morfolojik teşhisi

14 gün sonunda saflaştırılan tüm izolatların cins düzeyinde morfolojik olarak teşhisleri “Identification of Common *Aspergillus* Species” (Klich, 2002) ve “Food and Indoor Fungi” (Samson vd., 2010) literatürleri kullanılarak yapılmıştır. Bu literatürlere göre *Aspergillus* cinsi üyeleri için teşhis besiyerleri olan CYA 25 °C, CYA 37 °C, MEA 25 °C, CREA 25 °C ortamına üç nokta ekim yöntemi ile inoküle edilmiş (Şekil 2.8) ve 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 2.8. Fungusların üç nokta ekim tekniği ile şematize edilmiş hali

7 günlük inkübasyon süreci sonucunda her bir örneğin ilk olarak koloni rengi, mm cinsinden koloni çapı, koloni arka rengi, misel rengi, eksuda bulundurması, çözünür pigment oluşturması, sklerotyum veya kleistotesyum bulundurması gibi makromorfolojik özellikleri incelenmiş ve mikrofungus teşhis dokümanı tablosuna (Tablo 2.3) not edilmiştir.

Tablo 2.3. Mikrofungus teşhis dokümanı (morfolojik özelliklerine göre)

	CYA25°C	CYA37°C	MEA25°C	CREA25°C
KOLONİ RENGİ				
KOLONİ ÇAPI				
MİSEL RENGİ				
EKSUDA				
KOLONİ ARKA RENGİ				
ÇÖZÜNÜR PİGMENT				
SKLEROTYUM				
KLEİSTOTESYUM				

Daha sonra MEA besiyerinden preparat hazırlanmıştır. Preparat hazırlığında steril koşullarında transfer iğnesi ile alınan örnek bir damla laktik asit bulunan lam üzerine transfer edilmiştir. Sonrasında örnek üzerine 1 damla % 96'lık alkol damlatılmış ve fazla sporların uzaklaşması sağlanmıştır. Son olarak laktofenol-blue damlatılıp lamel kapatılmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir.

Mikroskopik incelemede seriat/dal özelliği, µm cinsinden vezikül çapı, vezikül şekli, µm cinsinden konidia çapı, konidia şekli, µm cinsinden konidiafor boyu, kleistotesyal duvar özelliği, askospor şekli, µm cinsinden askospor çapı gibi yapıları incelenmiş ve yine mikrofungus teşhis dokümanı tablosuna (Tablo 2.4) not edilmiştir.

**Tablo 2.4.** *Mikrofungus teşhis dokümanı (mikroskopik özelliklerine göre)*

SERİAT/DAL ÖZELLİĞİ:	
VEZİKÜL ÇAPI:	
VEZİKÜL ŞEKLİ:	
KONİDİA ÇAPI:	
KONİDİA ŞEKLİ:	
KONİDİOFOR BOYU:	
KLEİSTOTESYAL DUVAR ÖZELLİĞİ:	
ASKOSPOR ŞEKLİ:	
ASKOSPOR ÇAPI:	

İncelemeler sonucunda tür isimleri not edilmiştir. Tür isimlerinin güncel bilgisi ve yazar bilgileri <http-5> sayfasından kontrol edilmiştir. Morfolojik identifikasyon sürecinde her bir izolata ait teşhis petripleri ön ve arka görüntüleri arşivlenmiştir.

## **2.2.4. İncelenen ısıya dirençli mikrofungusların moleküler identifikasyonu**

### **2.2.4.1. DNA izolasyonu**

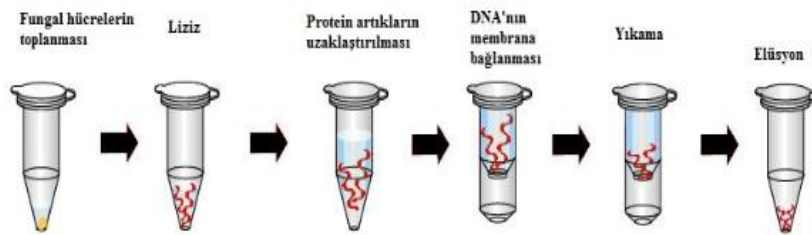
Morfolojik teşhis sonucu aynı tür olduğu belirlenen izolatlardan temsili izolatlar seçilerek moleküler identifikasyon uygulamasına alınmıştır. DNA izolasyonu için izolatlar PDA besiyeri ortamına üç nokta ekim tekniği ile inoküle edilmiş ve 25 °C’de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinden sonra saflık kontrolü yapılarak DNA ekstraksiyon işlemine alınmıştır.

DNA izolasyon işlemi için “Ultraclean Microbial DNA Isolation Kit” (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA, USA)’ i kullanım kılavuzu takip edilerek kullanılmıştır. Uygulanan işlem basamakları şu şekildedir (Şekil 2.9):

1. 300 µl “MicroBeed Solüsyonu” “MicroBead” tüpüne aktarılmıştır.
2. Üzerine önceden 60 °C’lik su banyosunda bekletilerek çözdürülmüş olan MD1 solüsyonundan 50 µl ilave edilmiştir.

3. Üzerine DNA izolasyonu yapılacak küf kültüründen transfer edilmiş ve bu amaç için steril, geniş uçlu kürdan kullanılmıştır.
4. 10 dakika boyunca vorteksleme yapılmış ve sonrasında 10.000g x 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj yapılmıştır.
5. Santrifüj sonrasında oluşan süpernatant temiz bir ependorf tüpüne transfer edilmiştir. (Alınabilecek yaklaşık süpernatant hacmi 300-350 µl'dir.)
6. 100 µl MD2 ilave edilmiş, 5 saniye vortekslenmiş ve 4 °C'de 5 dakika bekletilmiştir. 10.000 g x 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir.
7. Santrifüj sonrasında oluşan beyaz renkli pellete dokunmaktan kaçınılarak süpernatant temiz bir ependorf tüpüne aktarılmıştır. (Yaklaşık hacim 450 µl'dir)
8. 900 µl MD3 solüsyonu ilave edilmiş ve 5 dakika vortekslenmiştir. Elde edilen hacmin 700 µl'si "Spin Filter" (kolona) aktarılmış ve 10.000 g x 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Alt tüpe geçen hacim atık kutusuna boşaltılmıştır. Geri kalan numune hacmi tekrar aynı "Spin Filter" (Kolon) içerisine aktarılmış ve santrifüj işlemi tekrar edilmiştir.
9. 300 µl MD4 solüsyonu kolona ilave edilmiştir. 10.000 g x 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj yapılmıştır. Sonrasında alt tüpe geçen hacim boşaltılmış ve herhangi bir solüsyon ilavesi olmadan boş kolon 10.000 g x 1 dakika tekrar santrifüj edilmiştir.
10. Kolon yeni bir tüpe aktarılmış, üzerine 50 µl MD5 solüsyonu ilave edilmiştir. Solüsyon ilavesi yapılırken kolondaki filtreye dokunmadan, orta kısmına solüsyonun ilave edilmesine dikkat edilmiştir. 10.000 g x 30 saniye santrifüj yapılmıştır.

Tüpte elde edilen hacim DNA örneğini içermektedir. -20 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.9. Fungal genomik DNA izolasyon basamakları (<http-6>)

#### **2.2.4.2. Bazı PCR reaksiyon içeriklerinin hazırlanması**

##### **Primer hazırlanması**

Mevcut  $\mu\text{mol}$  konsantrasyonun 100  $\mu\text{m}$  stok vermesi için  $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$  formülü ile hesaplama yapılmış ve daha sonra hazırlanan ana stok yarı yarıya dilüe edilerek 50  $\mu\text{m}$  ara stok oluşturulmuştur. 50  $\mu\text{m}$  ara stok primerden kullanılacak 2,5  $\mu\text{m}$  primer hazırlığı  $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$  formülü ile hesaplanarak hazırlanmıştır.

Örneğin; mevcut primer konsantrasyonu 103,7 nmol ise öncelikle bu değer  $\mu\text{mol}$ 'e çevrilir ve 0,1037  $\mu\text{mol}$  olur. 100  $\mu\text{m}$  stok hazırlamak için,

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$  formülü ile  $100 \times V = 1000 \times 0.1037 = 1,037$  mL olarak bulunur.

Yarı yarıya dilüe edilerek 50  $\mu\text{m}$  ara stok oluşturulur.  $M_1.V_1 = M_2.V_2$  formülü ile hesaplama yapılarak oluşturulan ara stoktan kullanılacak olan 2,5  $\mu\text{m}$  primer hazırlanır.

Oluşturulan karışım PCR içeriğinde kullanılmıştır.

##### **dNTP karışımının hazırlanması**

2,5 mM dNTP karışım içeriği elde etmek için;

25  $\mu\text{l}$  Adenin (100 mM)

25  $\mu\text{l}$  Timin (100 mM)

25  $\mu\text{l}$  Guanin (100 mM)

25  $\mu\text{l}$  Sitozin (100 mM) karıştırılarak 900  $\mu\text{l}$  nükleaz içermeyen su ilave edilir.

Oluşturulan karışım PCR mix içeriğinde kullanılmıştır.

#### **2.2.4.3. PCR ile amplifikasyon**

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen gDNA'lar kalıp olarak kullanılmış ve hedeflenen gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır. *Aspergillus* türlerinin moleküler identifikasyonu için  $\beta$ -Tubulin, Kalmodulin, ITS gen bölgeleri kullanılmıştır.  $\beta$ -Tubulin bölgesinin primerleri olan Bt2a, Bt2b, Kalmodulin bölgesinin primerleri olan CL, CL2 ve ITS bölgesinin primerleri olarak VG9, LS266 (Tablo 2.5) kullanılmıştır.

**Tablo 2.5.** Isıya dirençli *Aspergillus* üyelerinin moleküler identifikasyonunda kullanılan primerlerin hedeflenen gen bölgeleri ve ürün boyutları

Primerler	Baz dizisi (5'-3')	Bölge	Ürün boyutu	Kaynak
V9G-F	TTACGTCCCTGCCCTTTGTA	ITS	1100 bp	De Hoog ve Gerrits van den Ende, 1998
LS266-R	GCATTCCCAAACAACCTCGACTC			Masclaux vd., 1995
Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC	$\beta$ -Tubulin	550 bp	Glass ve Donaldson, 1995
Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC			Glass ve Donaldson, 1995
CL1	GA(AG)T(AT)CAAGGAGGCCTTCTC	Kalmodulin	500-700 bp	Hong vd., 2005
CL2	TTTTGCATCATGAGTTGGAC			Hong vd., 2005

Gen bölgelerinin amplifikasyonu sırasında her bir örnek için 25  $\mu$ l PCR içeriği hazırlanmıştır (Tablo 2.6).

**Tablo 2.6.** PCR reaksiyon içeriği

Bileşen	Kullanılacak Hacim ( $\mu$ l) (1 PCR örneği için)
10X Taq Buffer (+KCl, -MgCl <sub>2</sub> )	2.5
25 Mm MgCl <sub>2</sub>	2.5
dNTP Karışımı (2.5 mM)	2
İleri Primer (2.5 $\mu$ M)	2.5
Geri Primer (2.5 $\mu$ M)	2.5
DMSO	1.3
Nükleazsız su	10.4
Taq DNA Polimeraz	0.3
gDNA	1

PCR reaksiyon içerikleri oluşturulurken gDNA haricindeki içerik (Tablo 2.6) aynı oranlarda artırılarak ependorf tüpünde bir araya getirilerek karışım oluşturulmuş,

hazırlanan karışım 24 µl hacminde PCR tüplerine dağıtılmış ve son olarak 1 µl gDNA ilave etmek kaidesi ile uygulanmıştır. PCR cihazında (Verity®) PCR işlem basamakları uygulanarak PCR işlemi başlatılmıştır. Hazırlanan PCR reaksiyonunun koşulları Tablo 2.7. 'de verilmiştir.

**Tablo 2.7.** *Hedeflenen gen bölgelerine ait PCR reaksiyon basamakları*

<b>V9G-LS266</b>	<b>β-Tubulin</b>	<b>Kalmodulin</b>
95 °C'de 5 dk (Denatürasyon)	95 °C'de 3 dk (Denatürasyon)	94 °C'de 10 dk (Denatürasyon)
35 döngü	30 döngü	35 döngü
94 °C 45 sn 56 °C 30 sn 72 °C 2 dk	95 °C 1 dk 65 °C 55 sn 72 °C 1 dk	94 °C 50 sn 55 °C 50 sn 72 °C 1 dk
72 °C 6 dk 4 °C Süresiz (Samson vd., 2010)	72 °C 10 dk 4 °C Süresiz (Glass ve Donaldson, 1995)	72 °C 7 dk 4 °C Süresiz (Serra vd., 2006)

#### **2.2.4.4. Elektroforez**

PCR işlemi tamamlanınca %1'lik agaroz jel hazırlanarak elektroforez ile PCR ürünleri kontrol edilmiştir. Bu aşamadaki amaç PCR ile çoğaltılan ve hedeflenen gen bölgesine ait olan DNA parçalarının jelde boyutlarına göre ayrılmasıdır. Agaroz jelin hazırlanmasında %1'lik agaroz TAE tamponu içerisinde ısıtma işlemi ile çözündürülmüştür. Agaroz jel elektroforez tabağına dökülüp tarak aparatı yerleştirilerek donması ve kuyucuk içeren agaroz jelin oluşması sağlanmıştır. Donma işlemi tamamlanınca PCR ürünlerinin jeldeki kuyucuklara yüklemesi yapılmıştır. PCR ürünlerini jele yüklemek için, 5 µl PCR ürünü 3 µl yüklemeye boyası (Gelred (floresan boya) boyası içeren) ile karıştırılmıştır. Agaroz jeldeki ilk kuyucuğa jel analizi sırasında hedeflenen boyutta ürün elde edilmesinin değerlendirilebilmesi için uygun boyutlarda DNA parçaları içeren marker (1 Kb) yüklemesi yapılmıştır. Yükleme işlemi tamamlanınca elektrotlar negatif (-) yönünden pozitif (+) yönüne doğru yerleştirilmiş ve 90 V'da 50 dk boyunca yürütme işlemi yapılmıştır. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra PCR ürünlerinin UV illuminator (Uvtech)'de jel görüntüsü incelenmiştir.

Jel görüntüleme sonucunda gerekli görülen ürünler saflaştırma işlemine alınırken, tek bant ve istenilen boyutta elde edilen ürünler sekans işlemine hazırlanmıştır.

#### **2.2.4.5. PCR ürününün saflaştırılması**

PCR işlemi sonucunda spesifik olmayan bantlaşma parçaları elektroforez işlemi sonucunda UV görüntülemeye çift bant olarak görülmüştür ve çift bantlı olan bu örneklerin saflaştırma işlemi yapılmıştır. Saflaştırma işlemi uygulanacak örnekler agaroz jelden kesilerek işleme alınmıştır. Bunun için “Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit” (GE Healthcare Life Sciences)’i kullanılmıştır. Uygulanan işlem basamakları şu şekildedir:

1. Kesilen jelin ağırlığı kadar Capture buffer type 3 solüsyonu ilave edilmiş ve su banyosunda 60 °C’de jelin çözünmesi sağlanmıştır.
2. Elde edilen hacmin 600 µl’si filtreli tüpe (GFX Microspin) aktarılmış ve 16000 g x 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Alt tüpe geçen hacim atık kutusuna boşaltılmıştır. Geri kalan numune hacmi tekrar aynı GFX Microspin içerisine aktarılmış ve santrifüj işlemi tekrar edilmiştir.
3. 500 µl Wash buffer type 1 solüsyonu kolona ilave edilmiş ve 16000 g x 30 saniye santrifüj edilmiştir. İşlem sonucunda kolon yeni bir ependorf tüpe aktarılmıştır.
4. 50 µl Elution buffer type 4 kolona ilave edilmiş ve 16000 g x 60 saniye santrifüj edilmiştir.

Elde edilen hacim saflaştırılmış PCR ürününü içermektedir. -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

#### **2.2.4.6. DNA dizi analizi**

Elde edilen PCR ürünleri REFGEN-Gen Araştırma ve Biyoteknoloji Merkezinde ([http-7](http://7)) hizmet alımı yolu ile Applied Biosystems (3130 XL Genetic Analyser) kullanılarak sekanslanmıştır.

#### **2.2.4.7. Sekans verilerinin analiz edilmesi**

İncelenen izolatların gen bölgelerine ait dizi bilgileri NCBI “National Center for Biotechnology Information”, ([http-8](http://8)) gen bankasındaki verilerle BLAST (Altschul vd., 1997) programı üzerinden karşılaştırılarak benzerlikleri incelenmiştir. Hizalamalar, MEGA X yazılım paketindeki Muscle kullanılarak ve NCBI GenBank’tan elde edilen morfolojik ve filogenetik olarak ilgili tip türlerin diğer dizileriyle birlikte



gerçekleştirilmiştir (Tamura vd., 2013). Hizalanan veri setleri, MEGA X' te 1000 tekrarlı olarak (1000 bootstrap), Tamura-Nei modeline (Tamura ve Nei, 1993) dayalı Maksimum Likelihood (ML) analizi kullanılarak incelenmiştir. Boşluklar ve eksik veriler içeren tüm pozisyonlar elimine edilmiştir. Dış grup olarak *Aspergillus clavatoflavus* (EF669713, EF669686, EF669700) kullanılmıştır.

İzolatlara ait yazar ve güncel tür isimleri, Index Fungorum web sitesine ([http-5](http://5)) göre standardize edilmiştir.



### 3. BULGULAR

#### 3.1. Toprak Analizi ve Mikrofungusların İzolasyonu

Çalışma kapsamında incelenen toprak örneklerinin nem (%) oranları ve bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin sonuçları Tablo 3.1 ve 2' de verilmiştir.

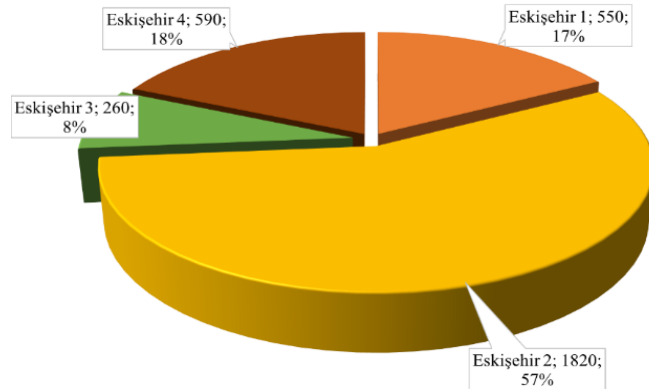
**Tablo 3.1.** Toprak örneklerine ait nem ölçüm sonuçları

Örnek Adı	İlk Ağırlık	Son Ağırlık	Fark	% Kuru Ağırlık Miktarı	% Su Miktarı
Eskişehir 1	30,2	27,45	2,75	90,89	9,11
Eskişehir 2	30,1	28,7	1,4	95,35	4,65
Eskişehir 3	30	26,8	3,2	89,33	10,67
Eskişehir 4	30,05	27,92	2,13	92,91	7,09

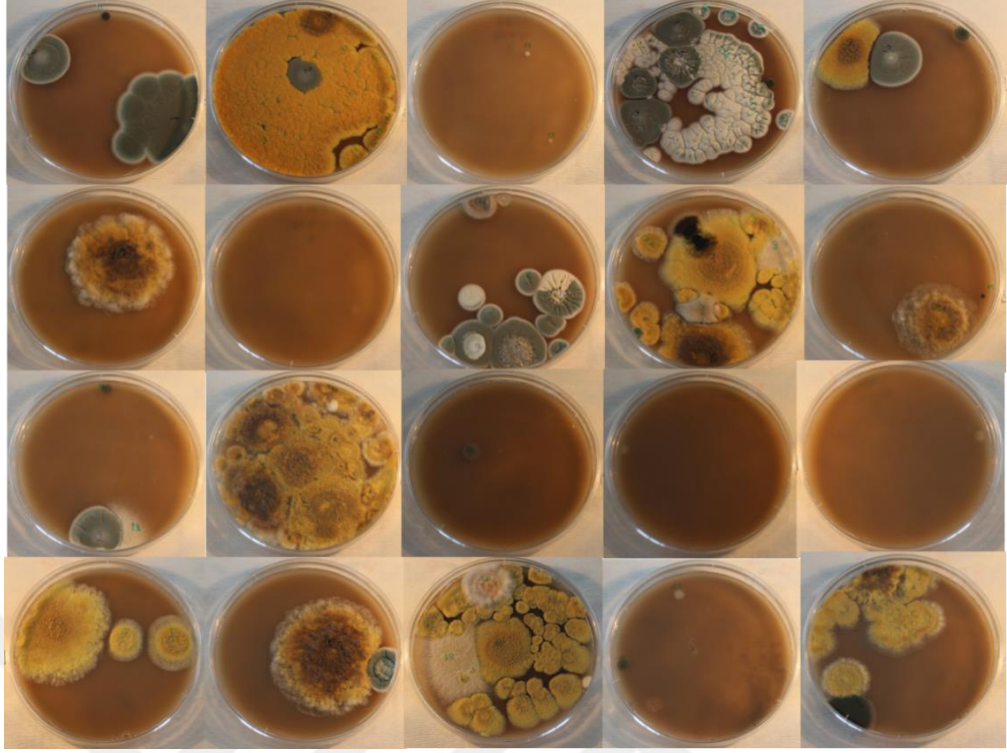
**Tablo 3.2.** Toprak örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Örnek Adı	Toprak Tipi	pH	Tuzluluk (%)	Organik Karbon (%)	Organik Madde (%)	Elektrik iletkenliği mS/cm
Eskişehir 1	Kil	7,89	6,70	1,12	1,94	0,21
Eskişehir 2	Killi toprak	8,14	13,07	0,93	1,60	0,23
Eskişehir 3	Kil	7,96	21,36	1,41	2,43	0,18
Eskişehir 4	Kil	8,12	31,65	1,09	1,88	0,21

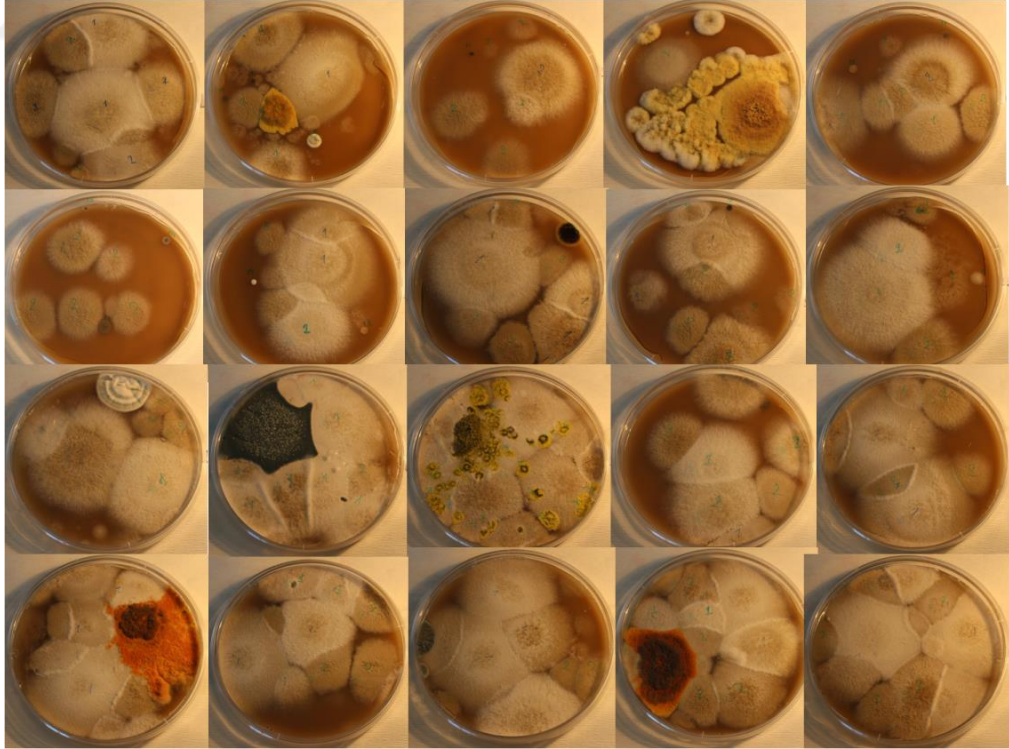
Topraktan izole edilen ısıya dirençli *Aspergillus* cinsine ait izolasyon çalışması sonucunda elde edilen koloni sayıları grafik 3.1'de paylaşılmıştır. İzolasyon sürecinde oluşan petri görüntüleri Şekil 3.1-4'de, izolatların 14 gün süre sonundaki gelişimleri Şekil 3.5'te verilmiştir.



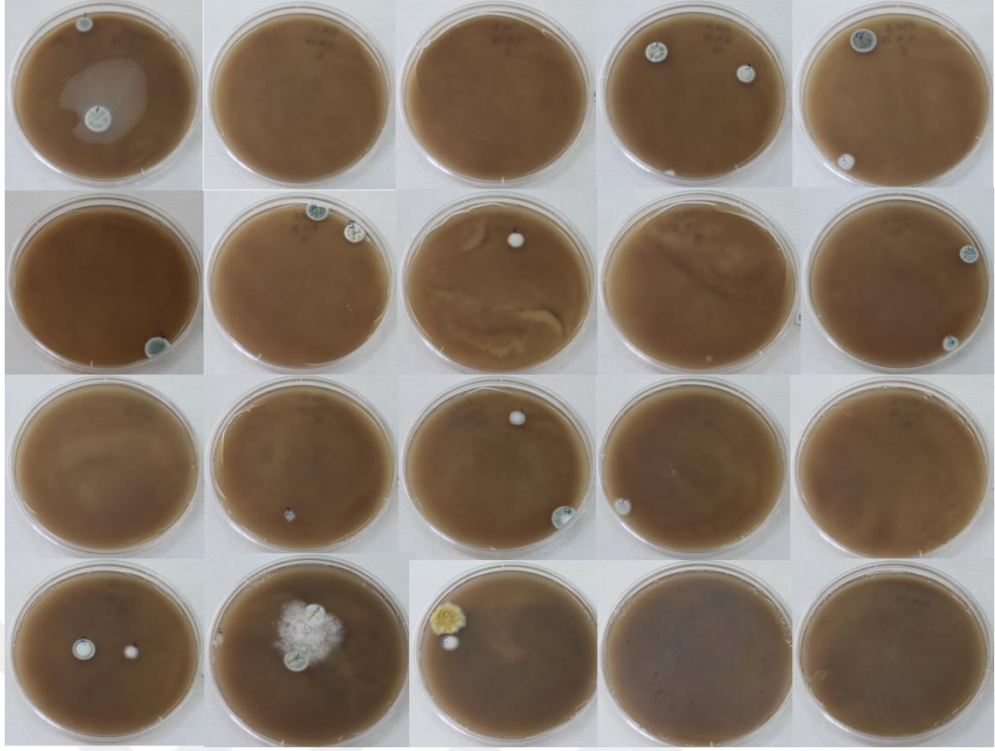
**Grafik 3.1.** Toprak örneklerinde koloni sayım sonuçları (kob/ml)



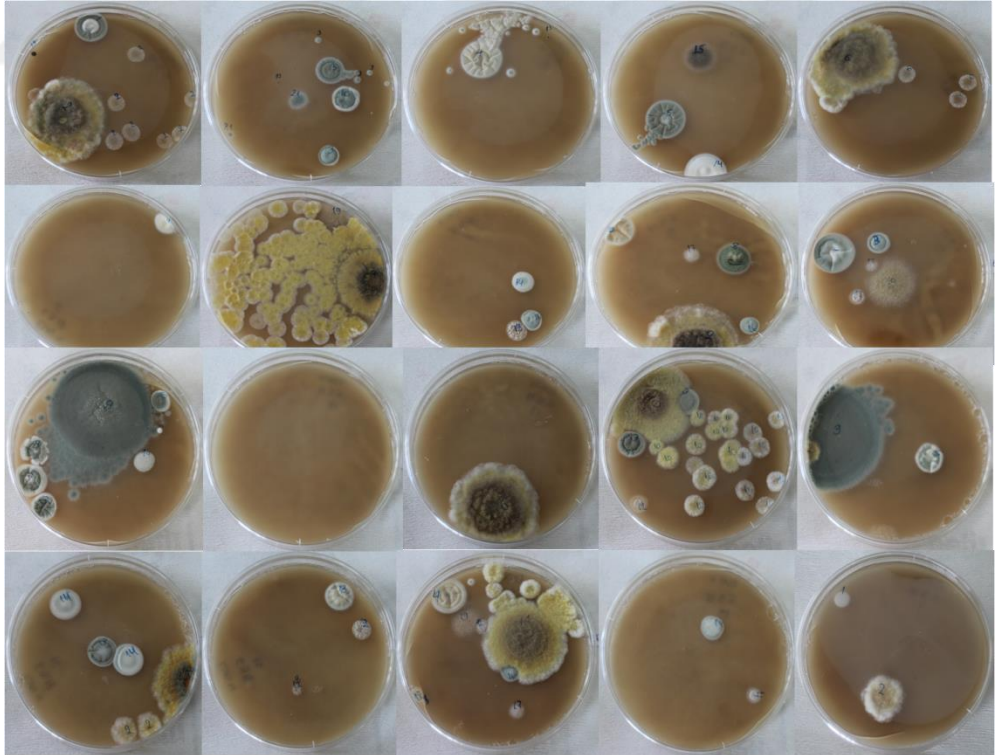
Şekil 3.1. 14 gün sonunda Eskişehir 1 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği



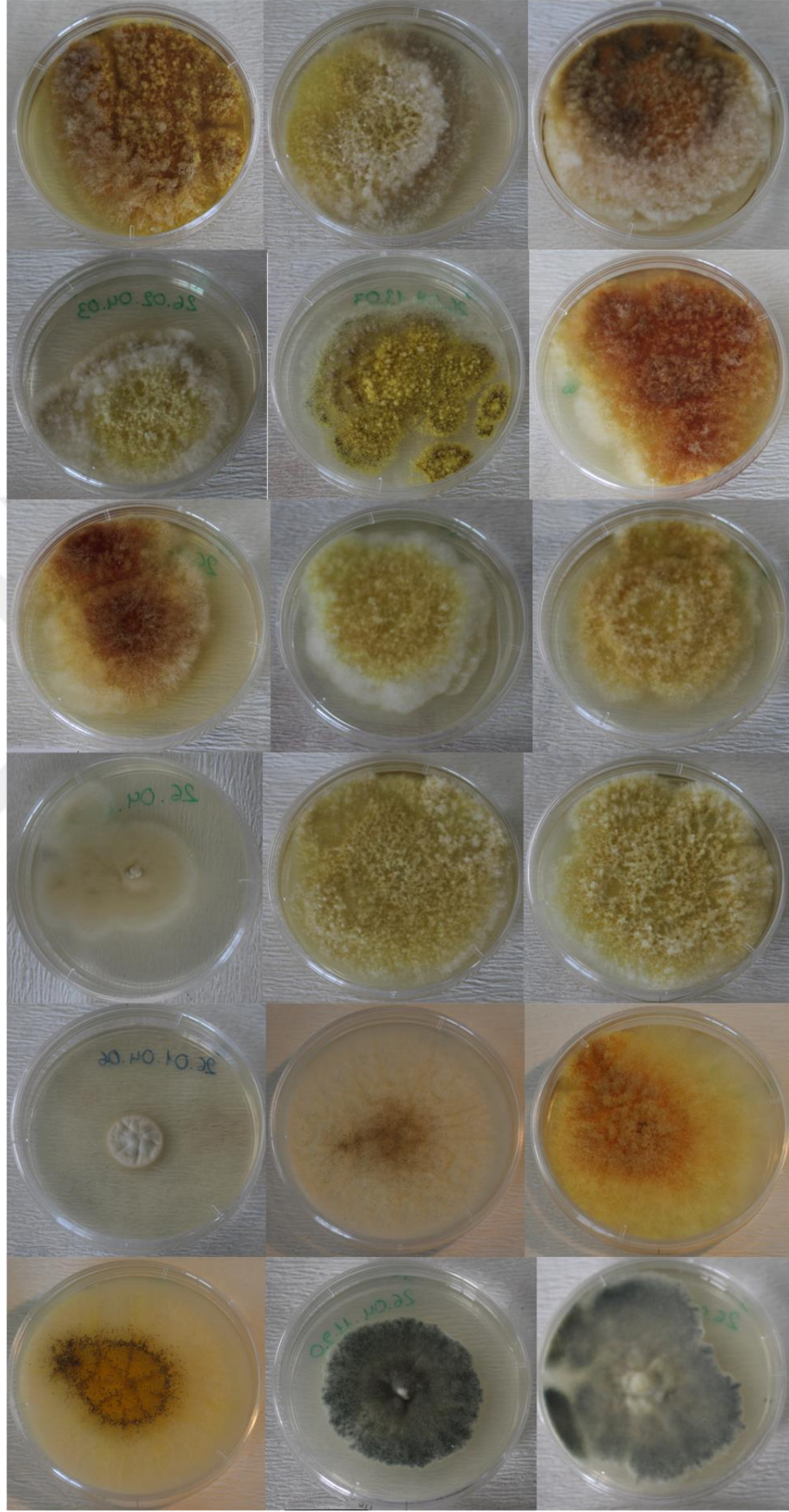
Şekil 3.2. 14 gün sonunda Eskişehir 2 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği



**Şekil 3.3.** 14 gün sonunda Eskişehir 3 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği



**Şekil 3.4.** 14 gün sonunda Eskişehir 4 numaralı toprak örneğindeki mikrofungus çeşitliliği



Şekil 3.5. Toprak örneklerinden saflaştırılmış olan *Aspergillus* cinsi üyeleri

### 3.2. Morfolojik İdentifikasyon

Saflaştırılan her bir izolatın cins düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır ve *Aspergillus* cinsi üyeleri olduğu tanımlanan izolatların daha sonra mikroskopik ve koloni özelliklerine göre tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır (Tablo 3.3). İnkübasyon süresi sonunda tanımlamaları yapılan tüm *Aspergillus* örneklerinin ön ve arka petri görüntüleri ve tanımlanmış olan tür isimleri sırasıyla şekil 3.6-22’de verilmiştir.

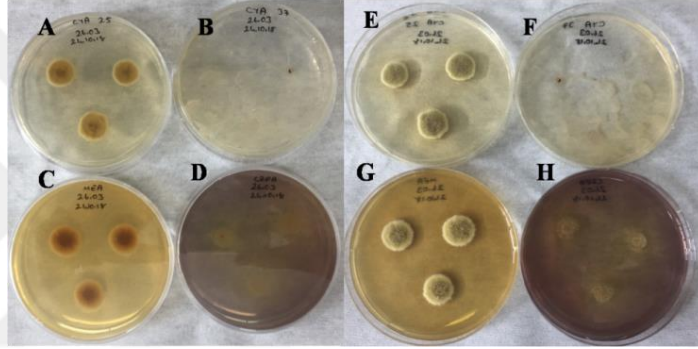
**Tablo 3.3.** İzolatların morfolojik teşhis sonuçları

İzolat No	Morfolojik Teşhis Sonucu	Güncel Tür Adı
26.03	<i>A. herbariorum</i> (Weber ex F.H. Wigg.) E. Fisch. 1897	<i>Aspergillus glaucus</i> (L.) Link, Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16 (1809)
26.07	<i>A. chevalieri</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 111 (1926)
26.08	<i>A. amstelodami</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus amstelodami</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 113 (1926)
26.10	<i>A. amstelodami</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus amstelodami</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 113 (1926)
26.12	<i>A. herbariorum</i> (Weber ex F.H. Wigg.) E. Fisch. 1897	<i>Aspergillus glaucus</i> (L.) Link, Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16 (1809)
26.27	<i>A. chevalieri</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 111 (1926)
26.30	<i>A. fisheri</i> Wehmer 1907	<i>Aspergillus fisheri</i> Wehmer, Centbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I 18: 390 (1907)
26.31	<i>A. amstelodami</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus amstelodami</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 113 (1926)
26.32	<i>A. amstelodami</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus amstelodami</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 113 (1926)
26.34	<i>A. herbariorum</i> (Weber ex F.H. Wigg.) E. Fisch. 1897	<i>Aspergillus glaucus</i> (L.) Link, Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16 (1809)
26.50	<i>A. amstelodami</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus amstelodami</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 113 (1926)
26.52	<i>A. chevalieri</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 111 (1926)
26.56	<i>A. chevalieri</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 111 (1926)
26.57	<i>A. chevalieri</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 111 (1926)
26.59	<i>A. fisheri</i> Wehmer 1907	<i>Aspergillus fisheri</i> Wehmer, Centbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I 18: 390 (1907)
26.60	<i>A. chevalieri</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 111 (1926)
26.61	<i>A. chevalieri</i> Thom & Church 1926	<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church, The Genus <i>Aspergillus</i> : 111 (1926)

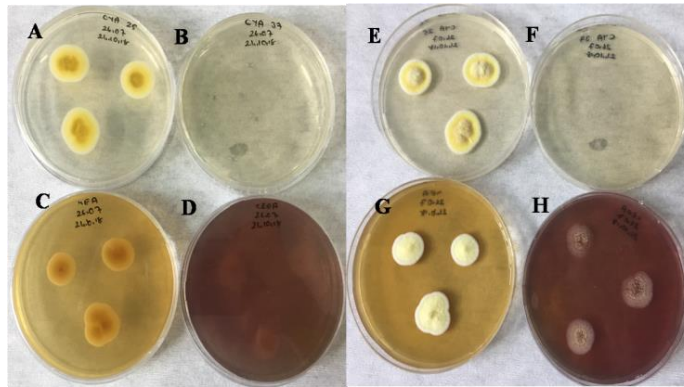
**Tablo 3.3.(Devamı) İzolatların morfolojik teşhis sonuçları**

İzolat No	Morfolojik Teşhis Sonucu	Güncel Tür Adı
26.70	<i>A. fisheri</i> Wehmer 1907	<i>Aspergillus fisheri</i> Wehmer, Centbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I 18: 390 (1907)
26.71	<i>A. fisheri</i> Wehmer 1907	<i>Aspergillus fisheri</i> Wehmer, Centbl. Bakt. ParasitKde, Abt. I 18: 390 (1907)

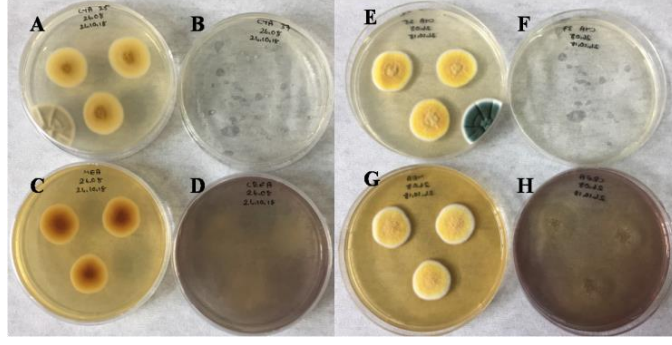
Tablo 3.3'te verilen 26.08, 26.31, 26.32 ve 26.50 kodlu örnekler mikroskobik teşhis sonucunda tek bir tür özelliği gösterdikleri için 4 örneği temsilen yalnızca 26.08 kodlu örnek DNA izolasyonuna alınmıştır.



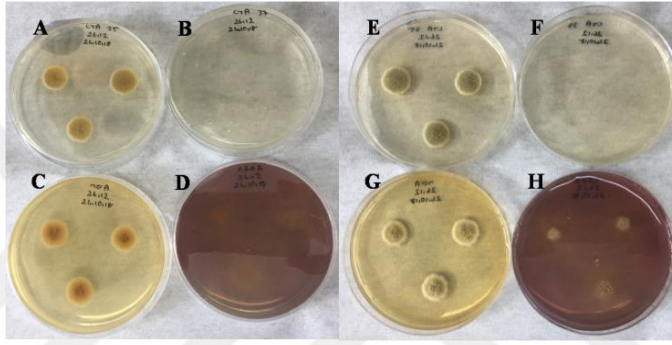
**Şekil 3.6.** 26.03, *Aspergillus glaucus* A) CYA25 petri arka görüntüsü B) CYA37 petri arka görüntüsü C) MEA25 petri arka görüntüsü D) CREA25 petri arka görüntüsü E) CYA25 petri ön görüntüsü F) CYA37 petri ön görüntüsü G) MEA25 petri ön görüntüsü H) CREA25 petri ön görüntüsü



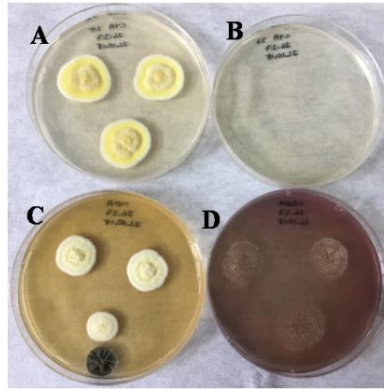
**Şekil 3.7.** 26.07 *Aspergillus chevalieri* A) CYA25 petri arka görüntüsü B) CYA37 petri arka görüntüsü C) MEA25 petri arka görüntüsü D) CREA25 petri arka görüntüsü E) CYA25 petri ön görüntüsü F) CYA37 petri ön görüntüsü G) MEA25 petri ön görüntüsü H) CREA25 petri ön görüntüsü



**Şekil 3.8.** 26.08 *Aspergillus amstelodami* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü

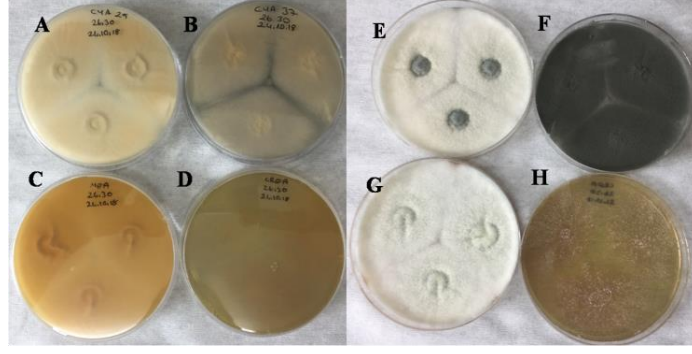


**Şekil 3.9.** 26.12 *Aspergillus glaucus* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü

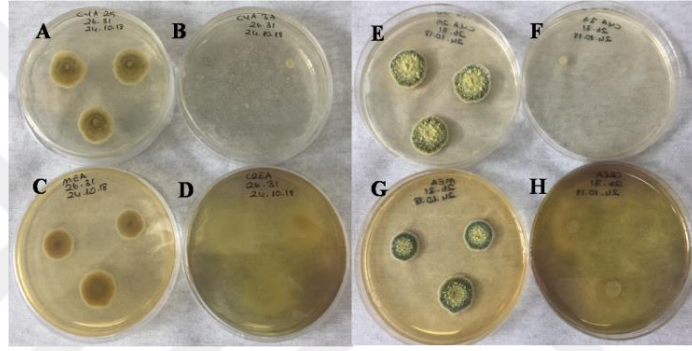


**Şekil 3.10.** 26.27 *Aspergillus chevalieri* **A)** CYA25 petri ön görüntüsü **B)** CYA37 petri ön görüntüsü **C)** MEA25 petri ön görüntüsü **D)** CREA25 petri ön görüntüsü

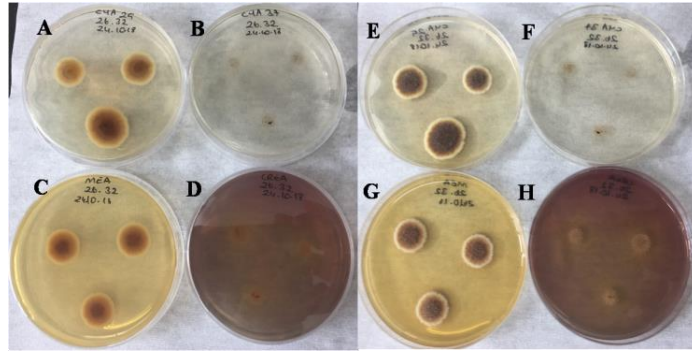




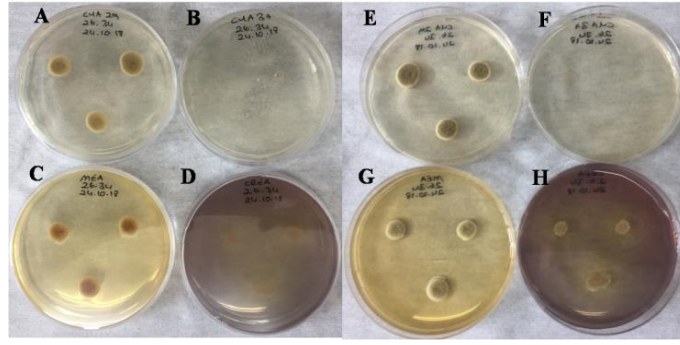
**Şekil 3.11.** 26.30 *Aspergillus fischeri* **A)** petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



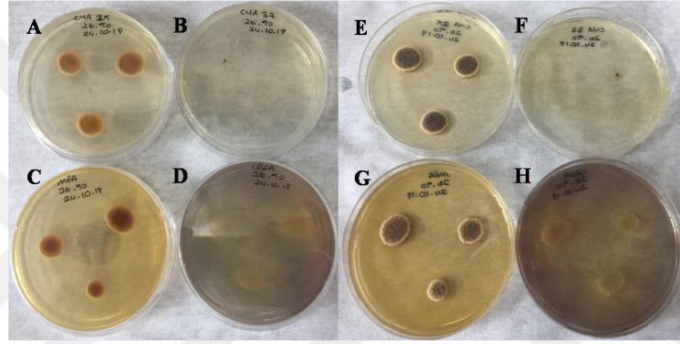
**Şekil 3.12.** 26.31 *Aspergillus amstelodami* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



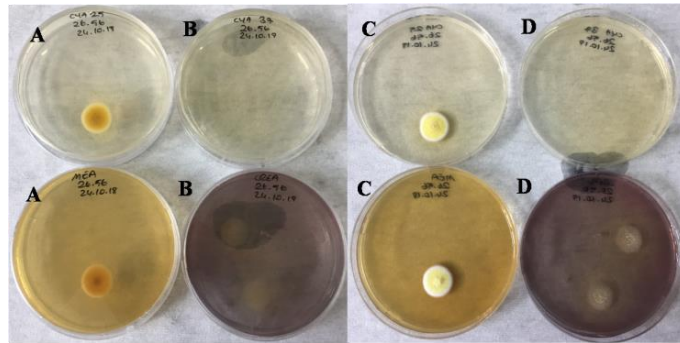
**Şekil 3.13.** 26.32 *Aspergillus amstelodami* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



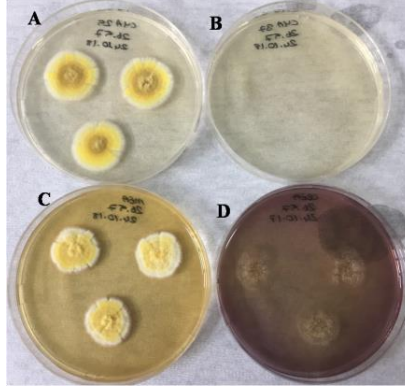
**Şekil 3.14.** 26.34 *Aspergillus glaucus* **A)** petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



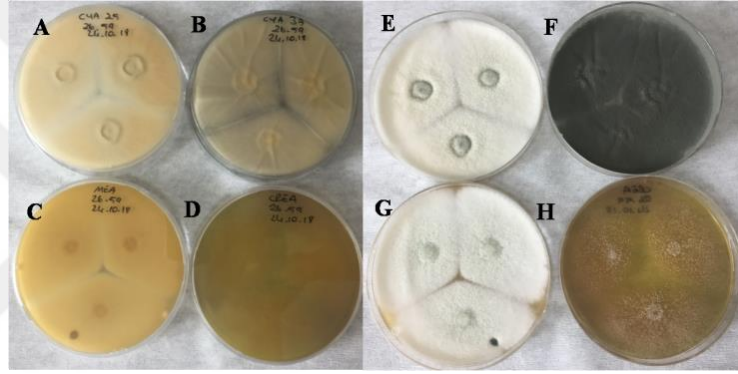
**Şekil 3.15.** 26.50 *Aspergillus amstelodami* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



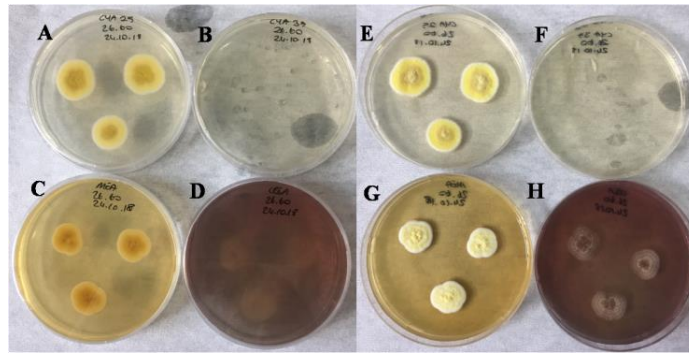
**Şekil 3.16.** 26.56 *Aspergillus chevalieri* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



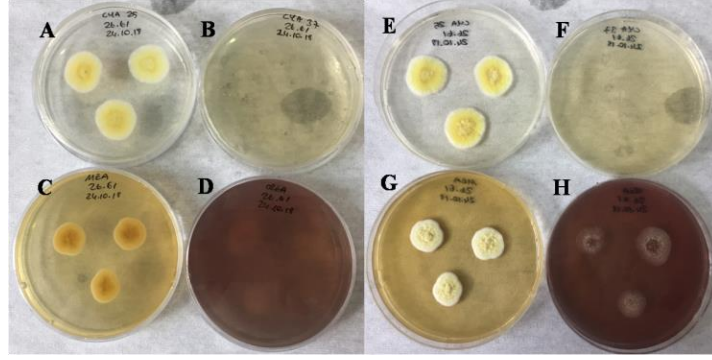
**Şekil 3.17.** 26.57 *Aspergillus chevalieri* A) CYA25 petri ön görüntüsü B) CYA37 petri ön görüntüsü C) MEA25 petri ön görüntüsü D) CREA25 petri ön görüntüsü



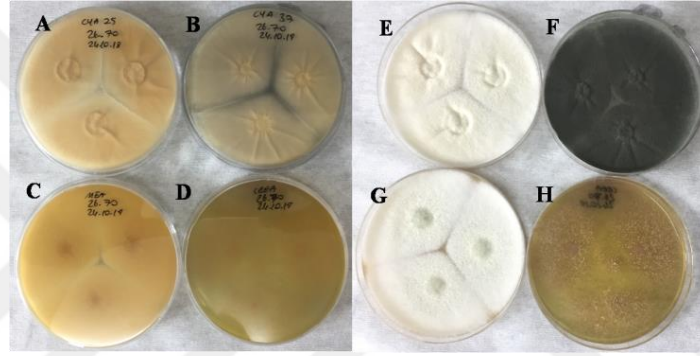
**Şekil 3.18.** 26.59 *Aspergillus fischeri* A) CYA25 petri arka görüntüsü B) CYA37 petri arka görüntüsü C) MEA25 petri arka görüntüsü D) CREA25 petri arka görüntüsü E) CYA25 petri ön görüntüsü F) CYA37 petri ön görüntüsü G) MEA25 petri ön görüntüsü H) CREA25 petri ön görüntüsü



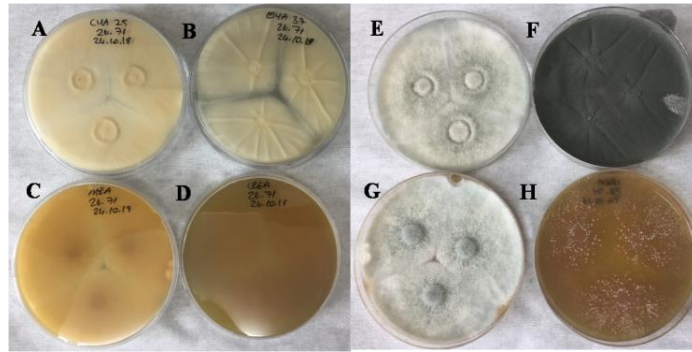
**Şekil 3.19.** 26.60 *Aspergillus chevalieri* A) CYA25 petri arka görüntüsü B) CYA37 petri arka görüntüsü C) MEA25 petri arka görüntüsü D) CREA25 petri arka görüntüsü E) CYA25 petri ön görüntüsü F) CYA37 petri ön görüntüsü G) MEA25 petri ön görüntüsü H) CREA25 petri ön görüntüsü



**Şekil 3.20.** 26.61 *Aspergillus chevalieri* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



**Şekil 3.21.** 26.70 *Aspergillus fischeri* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü



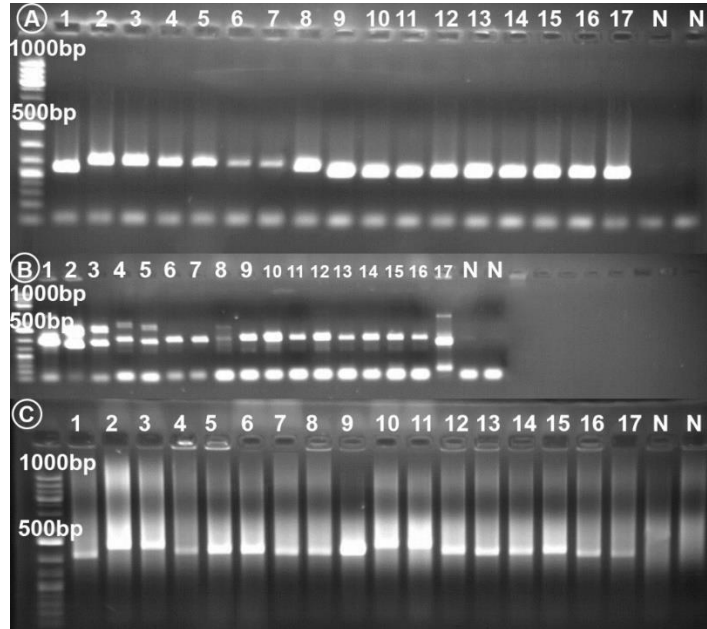
**Şekil 3.22.** 26.71 *Aspergillus fischeri* **A)** CYA25 petri arka görüntüsü **B)** CYA37 petri arka görüntüsü **C)** MEA25 petri arka görüntüsü **D)** CREA25 petri arka görüntüsü **E)** CYA25 petri ön görüntüsü **F)** CYA37 petri ön görüntüsü **G)** MEA25 petri ön görüntüsü **H)** CREA25 petri ön görüntüsü

### 3.3. Multi Lokus Gen İdentifikasyonu

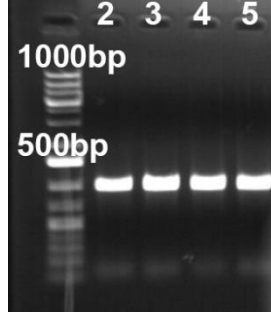
Mikroskobik ve koloni özelliklerine göre tanımlamaları yapılan tüm izolatların daha sonra DNA izolasyonları (Şekil 3.23) yapılmış ve devamında yapılan PCR ve elektroforez işlemleri sonucunda UV cihazında oluşan profiller Şekil 3.24'te gösterilmiştir. Burada kalmodulin gen bölgesinde PCR işlemi sonucunda bazı örneklerin reaksiyona girmemiş, amplifikasyon sonucu çift bantlı DNA'ların oluştuğu görülmektedir. Çift bantlı olan bu DNA örneklerin saflaştırılması yapılmış ve saflaştırma sonucu yeniden agaroz jel elektroforez işlemi yapılarak kontrol sağlanmıştır (Şekil 3.25).



Şekil 3.23. DNA ekstraksiyon ürünleri



Şekil 3.24. A) *Betatubulin* gen bölgesine ait jel görüntüleri; B) *Kalmodulin* gen bölgesine ait jel görüntüleri; C) *ITS* gen bölgesine ait jel görüntüleri (ilk kuyucuk marker olarak, N yazan kuyucuklar negatif kontrol amaçlı kullanılmıştır)



**Şekil 3.25.** *Kalmmodulin gen bölgesinde çift bantlı örneklerin saflaştırma işlemi sonrasında kontrol sonuçları(ilk kuyucuk marker olarak kullanılmıştır)*

Her bir gen bölgesine ait istenilen boyutta bantlaşmalar elde edildikten sonra tüm örnekler sekans analizi için RefGen Biyoteknoloji Laboratuvar Merkezi'ne gönderilmiş ve sekans analizleri geri primerler kullanılarak tek yönlü gerçekleştirilmiştir. Daha sonra oluşan sekans verileri NCBI (http -8) veri bankasındaki tip türler ile kıyaslanmış ve kıyaslamalar sonucu filogenetik analizleri yapılmıştır.



**Şekil 3.26.** *A): Sekans verisi(temsili); B): Sekans verisinin NCBI gen bankasındaki tip türler ile kıyaslanması (temsili)*

Tüm izolatların NCBI veri bankasındaki tip türleri ile kıyaslamaları sonuçları her takson için en yakın Blast sonuçlarına ait veriler sekans değerlendirme dökümanı tablosuna not edilmiştir.

**Tablo 3.4.** İzolatların NCBI veri bankasındaki tip türler ile kıyaslama sonuçları

Sekans No	İzolat No	Dizi Analizi İçin Seçilen Primer	Elde Edilen Dizin Uzunluğu	Eşleşen Baz Sayısı	NCBI Gen Bankasındaki En Yakın Karşılığı
1	26.03	BT2B	350	350/350(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> MH644028.1
		CL2	507	507/507(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> MF185907.1
		ITS	519	519/519(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> MH858702.1
2	26.07	BT2B	352	352/352(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801338.1
		CL2	403	403/403(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801320.1
		ITS	419	419/419(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> LT627256.1
3 4 5 6	26.08= 26.31= 26.32= 26.50	BT2B	345	344/345(99%)	%99 <i>Aspergillus costiformis</i> LT627281.1
		CL2	518	513/518(99%)	%99 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801320.1
		ITS	430	430/430(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> LT627256.1
7	26.10	BT2B	353	352/353(99%)	%99 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801338.1
		CL2	483	478/483(99%)	%99 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801320.1
		ITS	467	466/467(99%)	%99 <i>Aspergillus amstelodami</i> MK267406.1
8	26.12	BT2B	311	307/311(99%)	%99 <i>Aspergillus ruber</i> MH644028.1
		CL2	484	484/484(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> MF185907.1
		ITS	528	528/528(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> MH858702.1

**Tablo 3.4. (Devamı) İzolatların NCBI veri bankasındaki tip türler ile kıyaslama sonuçları**

Sekans No	İzolat No	Dizi Analizi İçin Seçilen Primer	Elde Edilen Dizinin Uzunluğu	Eşleşen Baz Sayısı	NCBI Gen Bankasındaki En Yakın Karşılığı
9	26.27	BT2B	355	355/355(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801338.1
		CL2	440	440/440(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801320.1
		ITS	507	506/507(99%)	%99 <i>Aspergillus chevalieri</i> MH752443.1
10	26.30	BT2B	417	417/417(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> KY808692.1
		CL2	265	264/265(99%)	%99 <i>Aspergillus fischeri</i> XM_001264942.1
		ITS	518	518/518(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> MH858711.1
11	26.34	BT2B	355	355/355(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> MH644028.1
		CL2	454	454/454(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> FR751444.2
		ITS	463	463/463(100%)	%100 <i>Aspergillus ruber</i> MH858702.1
12	26.52	BT2B	DEVAM ETMEKTEDİR		
		CL2	385	369/385(96%)	%96 <i>Aspergillus amstelodami</i> HE97444 2.1
		ITS	479	478/479(99%)	%99 <i>Aspergillus amstelodami</i> MK267406.1
13	26.56	BT2B	358	357/358(99%)	%99 <i>Aspergillus costiformis</i> FR837970.1
		CL2	491	486/491(99%)	%99 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801320.1
		ITS	530	529/530(99%)	%99 <i>Aspergillus chevalieri</i> MH752443.1
14	26.57	BT2B	358	350/358(98%)	%98 <i>Aspergillus chevalieri</i> KF499571.1
		CL2	512	488/512(95%)	%95 <i>Aspergillus chevalieri</i> MG199956.1
		ITS	474	474/475(99%)	%99 <i>Aspergillus chevalieri</i> MH859013.1



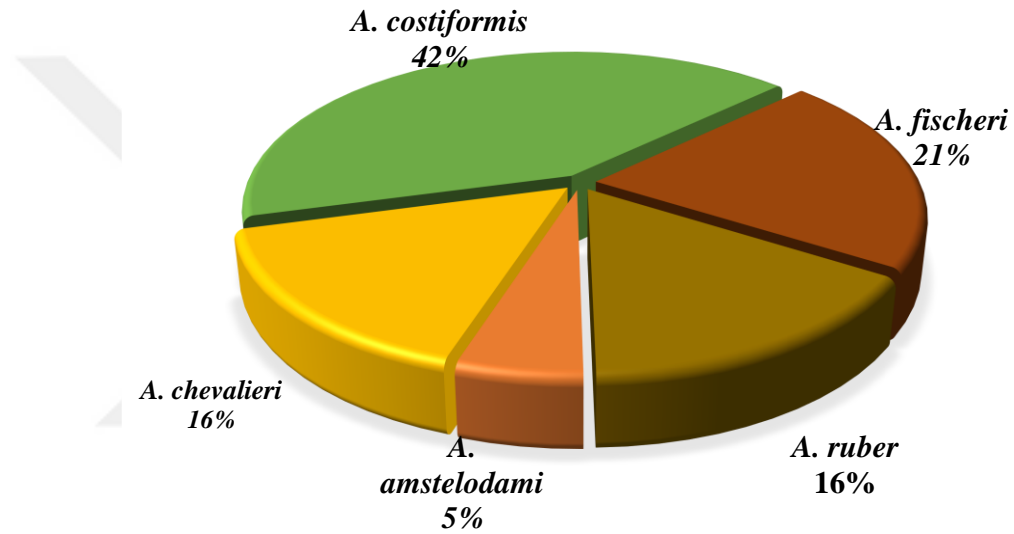
**Tablo 3.4. (Devamı) İzolatların NCBI veri bankasındaki tip türler ile kıyaslama sonuçları**

Sekans No	İzolat No	Dizi Analizi İçin Seçilen Primer	Elde Edilen Dizin Uzunluğu	Eşleşen Baz Sayısı	NCBI Gen Bankasındaki En Yakın Karşılığı
15	26.59	BT2B	386	386/386(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> KY808692.1
		CL2	309	309/309(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> XM_001264942.1
		ITS	453	453/453(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> MH858711.1
16	26.60	BT2B	349	349/349(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801338.1
		CL2	457	457/457(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801320.1
		ITS	460	459/460(99%)	%99 <i>Aspergillus amstelodami</i> MK267406.1
17	26.61	BT2B	358	358/358(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801338.1
		CL2	421	421/421(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> HE801320.1
		ITS	437	437/437(100%)	%100 <i>Aspergillus costiformis</i> LT627256.1
18	26.70	BT2B	446	446/446(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> KY808692.1
		CL2	321	314/321(98%)	%98 <i>Aspergillus fischeri</i> XM_001264942.1
		ITS	377	377/377(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> MG925212.1
19	26.71	BT2B	457	457/457(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> KY808692.1
		CL2	312	311/312(99%)	%99 <i>Aspergillus fischeri</i> XM_001264942.1
		ITS	484	484/484(100%)	%100 <i>Aspergillus fischeri</i> MH858711.1

Eskişehir tarım topraklarında teşhis edilen örneklerin dağılımları Tablo 3.5'te gösterilmiştir. Bu örneklerin yüzdeler oranları da Grafik 3.2.'de şematize edilmiştir

**Tablo 3.5.** Eskişehir tarım topraklarından teşhis edilen türler

Tür Adı	İzolat numarası	Yüzelik oranı(%)	İzolat Sayısı
<i>Aspergillus amstelodami</i> Thom & Church 1926	26.52	5	1
<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church 1926	26.27, 26.56, 26.57	16	3
<i>A. costiformis</i> H.Z. Kong & Z.T. Qi 1995	26.07, 26.08, 26.10, 26.31, 26.32, 26.50, 26.60, 26.61	42	8
<i>A. fischeri</i> Wehmer 1907	26.30, 26.59, 26.70, 26.71	21	4
<i>A. ruber</i> (Jos. König, Spieck. & W. Bremer) Thom & Church 1926	26.03, 26.12, 26.34	16	3

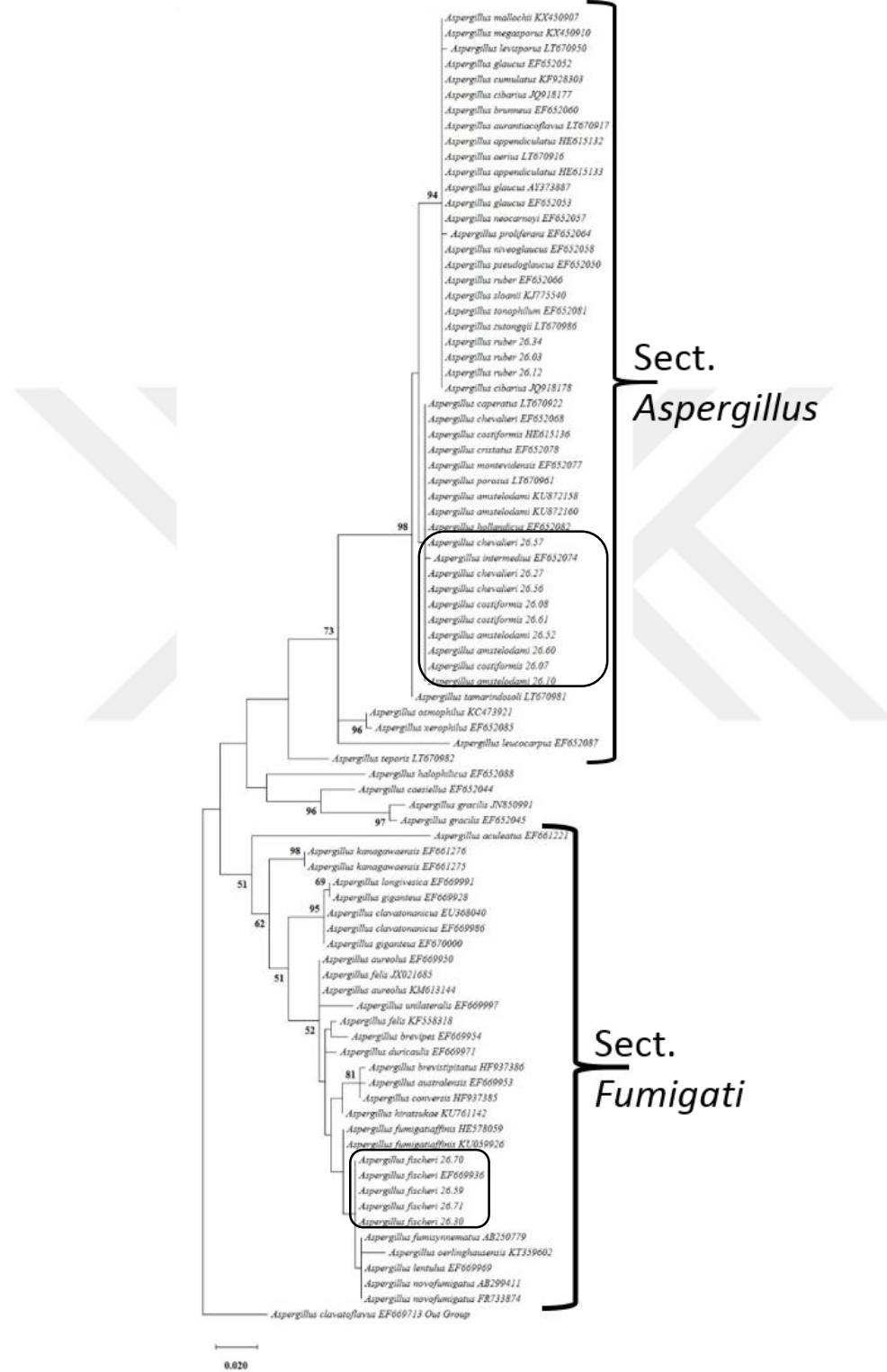


**Grafik 3.2.** Eskişehir tarım topraklarındaki izole edilen ısıya dirençli *Aspergillus* cinsi üyelerinin dağılımları

Kıyaslamalar sonucu elde edilen tüm verilerin hizalamaları MEGA X yazılım programındaki Muscle kullanılarak ve NCBI GenBank'tan elde edilen morfolojik ve filogenetik olarak ilgili türlerin diğer dizileriyle birlikte gerçekleştirilmiştir. MEGA-X programı sonucunda türlerin filogenetik ağaçları oluşturulmuştur (Şekil 3.27, Şekil 3.28; Şekil 3.29).

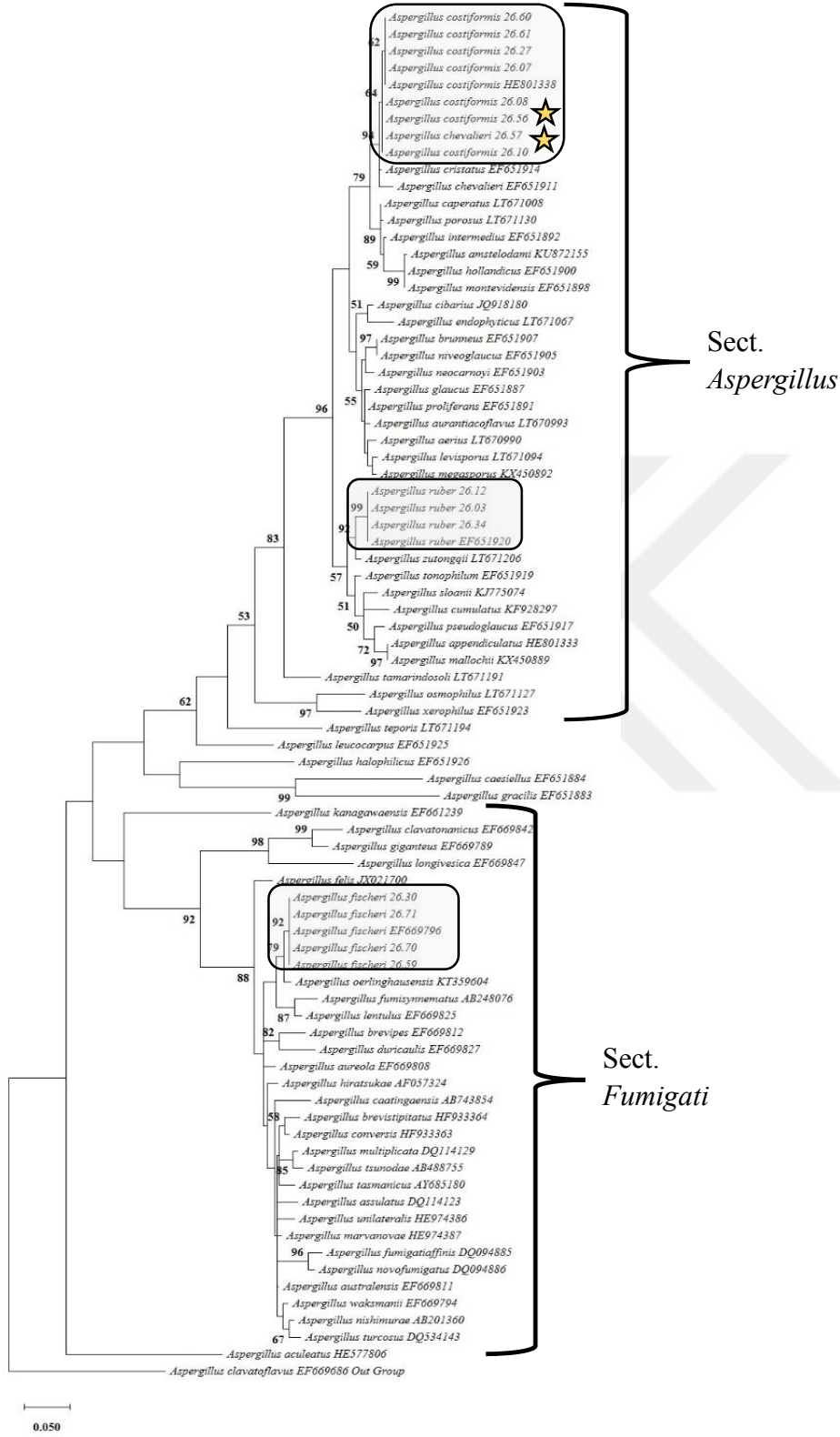
### 3.4. Filogenetik Analiz Sonuçları

#### 3.4.1. ITS gen bölgesi



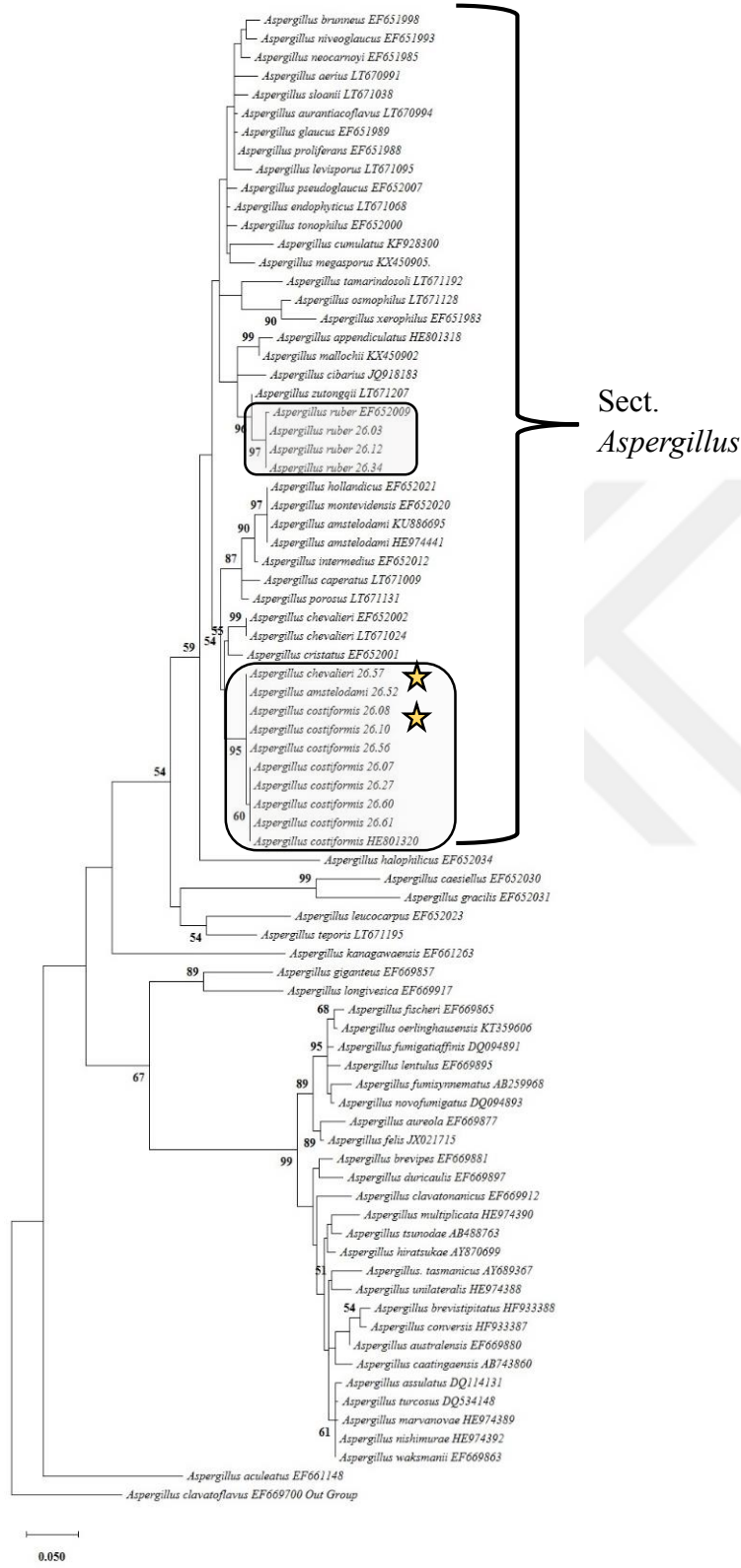
Şekil 3.27. NCBI Genbank'ta daha önce bilinen takson ile bu çalışmada yeni oluşturulan ITS dizilerinin ilişkilerini gösteren *Aspergillus* üyelerinin dizilerine dayanan en iyi maksimum olabilirlik ağacı (dış grup olarak *Aspergillus clavatus* (EF669713) (bootstrap 1000) belirlenmiştir)

### 3.4.2. Beta tubulin gen bölgesi



**Şekil 3.28.** NCBI Genbank'ta daha önce bilinen takson ile bu çalışmada yeni oluşturulan beta-tubulin dizilerinin ilişkilerini gösteren *Aspergillus* üyelerinin dizilerine dayanan en iyi maksimum olabilirlik ağacı (dış grup olarak *Aspergillus clavatoflavus* (EF669713) (bootstrap 1000) belirlenmiştir)

### 3.4.3. Kalmodulin gen bölgesi



**Şekil 3.29.** NCBI Genbank'ta daha önce bilinen takson ile bu çalışmada yeni oluşturulan kalmodulin dizilerinin ilişkilerini gösteren *Aspergillus* üyelerinin dizilerine dayanan en iyi maksimum olabilirlik ağacı (dış grup olarak *Aspergillus clavatoflavus* (EF669713) (bootstrap 1000) belirlenmiştir)

## 4. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

### 4.1. Sonuç ve Tartışma

*Aspergillus* türlerinin biyoteknolojide, endüstride, gıda zincirinde, iç hava ortamlarında ve insan sağlığında önemli etkilere neden oldukları bilinmektedir. Özellikle ısıya dirençli *Aspergillus* türlerinin ısı uygulaması yapılmış gıdaların bozulmalarına neden oldukları görülmektedir (Kikoku vd., 2008). Gıdalarda meydana gelen bu bozulmaların toprak ile temas sonucunda olduğu da bilinmektedir (Krishnan vd., 2017). Bu nedenle tarım topraklarındaki bu canlıların ve özelliklerinin tanımlanmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasında da tarım topraklarından izole edilen ve uygulanan ısı işlemler sonucunda hala hayatta kalmaya devam edebilen *Aspergillus* cinsi üyelerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Uygulanan ısı işlemler sonucunda hayatta kalabilen bu canlılar, gıdalar açısından tehdit unsuru oluşturmaktadırlar (Kikoku vd., 2008). İnsan ve hayvanlar açısından gıdalarda oluşan zararlı etkenlerin önlenmesi amacı ile de bu canlıların tanımlanmaları gerekmektedir.

Bu amaçla ilk olarak türler fenotipik özelliklerine dayanarak cins seviyesinde tanımlanmış ve daha sonra moleküler karakterizasyonlarına göre tür düzeyinde teşhis edilmişlerdir.

Toprak analiz sonuçlarında Eskişehir il tarım topraklarındaki nem değerleri % 4,65-10,67 aralığında belirlenmiştir. 3 numaralı toprak (güney) en yüksek nem değerine sahipken 2 numaralı toprak (kuzey) en az nem oranına sahiptir. Bu sonuçlardan toprak tipinin etkili olduğu görülmektedir. En düşük nem oranı ve en düşük organik madde miktarına sahip olan 2 numaralı toprakta en fazla ısıya dirençli mikrofungus gelişimi görülürken en fazla nem oranı ve organik maddeye sahip olan 3 numaralı toprakta ise en az oranda ısıya dirençli mikrofungus gelişimi olmuştur. Düşük nem oranı ve organik maddeli toprakta ısıya dirençli mikrofungusların en fazla oranda gelişim göstermiş olması bu mikrofungusların askosporları, klamidosporeleri, kalın duvarlı hif yapıları veya sklerotiyaları sayesinde elverişsiz koşullar altında da yaşamlarına devam edebildiklerini göstermektedir (Ayva vd., 2019).

Toplamda Eskişehir'deki tarım topraklarından ısıya dirençli *Aspergillus* cinsine ait 19 izolat elde edilmiştir. İzole edilen ısıya dirençli *Aspergillus* cinsi üyelerinden % 42 oranla *Aspergillus costiformis* (8 izolat) türünün en fazla oranda bulunduğu

görülmektedir. Bunu % 21 oranla *Aspergillus fischeri* (4 izolat) daha sonra % 16 oranlarla *Aspergillus ruber* ve *Aspergillus chevalieri* (3 izolat) takip etmektedir. % 5 oranla da *Aspergillus amstelodami* (1 izolat) daha az oranda bulunmuştur. Tüm bu sonuçlara baktığımız zaman Eskişehir topraklarındaki ısıya dirençli *Aspergillus* üyelerinin askospor oluşturan türler olduğu dikkat çekmektedir. İzolasyon işlemleri sonucunda teşhisleri yapılan bu 5 türün gıda bozulmalarına neden oldukları ayrıca gıda ürünlerinde kayıplara ve endüstriyel açıdan da ciddi ekonomik hasarlara neden oldukları bilinmektedir (Kikoku vd., 2008). Mikrofungusların uygulanan ısı işlemlere karşı direnci özellikle askosporları ile kazandığı bilinmektedir ve yapılan bu tez çalışması ile de Eskişehir'in tarım topraklarının bu türler yönünden zengin olduğu görülmüştür. Bu grup üyelerinin genellikle su aktivitesi düşük substratlarda gelişim göstermiş olmaları dikkat çekmektedir. Eskişehir topraklarından izole edilmiş olan bu türler Türkiye topraklarında gıdalarda sıklıkla tespit edilmiştir.

Yapılan bazı bilimsel çalışmalarda da *A. chevalieri*, *A. costiformis*, *A. ruber* ve *A. fischeri* türlerinin fırsatçı patojen olarak aspergillosiz hastalığına neden oldukları da tespit edilmiştir (Venugopal ve Venugopal, 2012). Yine yapılan bazı bilimsel çalışmalarda da *A. chevalieri*'nin özellikle mısır depolanmasında bozulmalara neden olarak önemli kayıplara neden oldukları görülmüştür. *A. fischeri* türlerinin konserve meyve ürünlerinde uygulanan ısı işlemlerden askosporları sayesinde etkilenmeyerek ürün kaybına neden oldukları da kayıtlara geçmiştir (Chen vd., 2017). *A. ruber* türlerinin de bezelye depolanmasında bezelyelerde hasarlara neden oldukları gözlemlenmiştir (Mohapatra vd., 2017).

Eskişehir tarım topraklarından izole edilen türler her ne kadar depolamalarda iyi bilinse de klinik olarak insan enfeksiyonlarında önemli bir etkisinin olduğu kayıtlara geçmiştir (Venugopal ve Venugopal, 2012).

*A. costiformis*, *A. ruber*, *A. amstelodami* ve *A. chevalieri* türlerinin daha önceden *Eurotium* grubuna ait oldukları bilinmektedir. *Eurotium* seksiyon üyeleri türleri sarı kleistotesya, merceksi askosporları, yeşil veya mavi tonlarında uniseriat konidial başları ve genellikle sarı, turuncu veya kırmızı kaplı hiflerinin olması ile karakterize edilir (Klich, 2002). Mikroskopik olarak yapıları incelendiğinde vezikülün globaz - subglobaz yapıda olması, genellikle bir hif ağı ile çevrili olmaları, askusların globaz – subglobaz yapıda olması, askosporların tek hücreli, yüzeyinin düz veya pürüzlü olması, konidiaforların düz

veya pürüzlü olması, düşük su aktivitesinde dahi gelişim göstermeleri gibi özelliklerinden dolayı *Aspergillus* cins üyeleri olarak adlandırılmışlardır (Samson vd., 2010).

Çalışma sonucu elde edilen türlerin morfolojik özelliklerini incelediğimiz zaman *A. costiformis*, *A. ruber* ve *A. chevalieri* türlerinin koloni özelliklerinin hemen hemen boyut olarak aynı boyda olmaları, kadifemsi yapıda olmaları ve renk olarak da birbirlerine benzediği görülmektedir. Mikroskopik olarak baktığımızda uniseriat yapıda olmaları, askospor oluşturmaları, subglobaz vezikül yapısına sahip oldukları görülmektedir.

Eskişehir tarım topraklarında ısıya dirençli türler arasından bu türlerin yoğunlukta olması, toprak özelliklerine baktığımız zaman çalışmada kullanılan toprakların özellikle killi toprak olması, pH özellikleri, nem oranları, içerdiği organik madde miktarının etkili olduğu düşünülmektedir.

Filogenetik analizler sonucunda, ITS gen bölgesi ile yapılan çalışmada izolatların *Aspergillus* ve *Fumigati* seksiyon üyeleri oldukları belirlenmiştir. Sınıflandırmanın detaylandırılması amacı ile  $\beta$ -Tubulin gen bölgesiyle çalışılmış ve bu gen bölgesinde de *A. ruber* ve *A. fischeri* grupları yüksek akrabalık dereceleri ile verimli bir duruş sergilemişlerdir. *A. costiformis* türlerinin ise kendi içerisinde ayrı dallanmalar yapmış oldukları ve akrabalık ilişki yüzdelerinin de dikkat çekici seviyede olmuştur. Tüm bunların teyit edilmesi amacıyla da Kalmodulin gen bölgesi ile çalışılmış ve bu gen bölgesinde de aynı sonuçları sergilemişlerdir. Filogenetik analizler sonucunda elde edilen veriler Asan (2004) checklistesi ile kıyaslandığında; *A. costiformis*'in Türkiye için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir (Ayva vd., 2019).

#### **4.2. Öneriler**

Bu tez çalışması sonucunda elde edilen veriler ile Eskişehir'deki tarım topraklarındaki biyoçeşitlilik belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan ısıya dirençli *Aspergillus* türleri ve özellikleri tespit edilmiş ve endüstriyel açıdan özellikleri ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte ısı uygulamaları ile hayatta kalan bu canlılar insan ve hayvan sağlığı açısından tehlikeli durumlara neden olmaktadır. Yapılan tez çalışması sonucunda elde edilen veriler ile gıda, yem, tarımsal ürünler gibi birçok alana katkı sağlanabilecektir. Dolayısıyla bu bilgilere dayanarak yapılacak birçok çalışma ile ısıya dirençli olan bu mikroorganizmaların yararlı özelliklerinden yararlanılabilir ve aynı zamanda zararlı etkilerinin de önlenmesi sağlanabilir.



## KAYNAKÇA

- Ali, A.M., Moghazy, S., Shaban, G., Sahabty, Z.E. (2009). Heat-Resistant Fungi Isolated From Soil in Minia Governorate, Egypt. *Assiut University Journal of Botany*, 38 (2), 93-106.
- Alonso, V.A., Pareyra, C.M., Keller, L.A.M., Dalcero, A.M., Rosa, C.A.R., Chiacchiera, S.M., Cavaglieri, L.R. (2013). Fungi and Mycotoxins in Silage: An Overview. *Journal of Applied Microbiology*, 115 (3), 637-643.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D.J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. *Nucleic Acids Res.*, 25, 3389-3402.
- Amaze, N.J., Ugwuanyi, J.O. ve Obeta, J.A.N. (2010). Studies of Heat Resistant Fungi in the Soil: *Talaromyces flavus* Isolated in Nigerian Soils. *New York Science Journal*, 3 (12), 8-14.
- Anonymous. (1994). T.C. Osman Bakanlığı Eskişehir Orman Toprak Laboratuvar Müdürlüğü, Osman Toprak Laboratuvarının Kuruluş Esasları ve Laboratuvar Teknikleri Semineri.
- Aranda, E., Godoy, P., Reina, R., Fabregat, M.B., Rosell, M., Marco-Urrea, E., Romera, I.G. (2017). Isolation of Ascomycota Fungi With Capability to Transform PAHs: Insights into The Biodegradation Mechanisms of *Penicillium oxalicum*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 122, 141-150.
- Asan, A. (2004). Aspergillus, Penicillium, and Related Species Reported From Turkey. *Mycotaxon*, 89, 155-157.
- Asan, A., Ökten, S.S. ve Şen, B. (2009). Airborne and Soilborne Microfungi in the Vicinity Hamitabat Thermic Power Plant in Kırklareli City (Turkey), Their Seasonal Distributions and Relations With Climatological Factors. *Environmental Monitoring and Assessment*, 164 (1-4), 221-231.
- Ayva, F., Ouzeir, G., Demirel R., Şen, B., Asan, A., Kadaifçiler, D. (2019). Biodiversity of Heat Resistance Soil Microfungi in Agricultural Areas of Eskişehir Province. *Mantar Dergisi/The Journal Of Fungus*, 10 (Özel Sayı), 66-77.
- Belisle, M., Peay, K.G. ve Fukami, T. (2011). Flowers as Islands: Spatial Distribution of Nectar-Inhabiting Microfungi Among Plants of *Mimulus aurantiacus*, a Hummingbird-Pollinated Shrub. *Microbial Ecology*, 63 (4), 711-718.

- Barberán, A., Ladau, J., Leff, J.W., Pollard, K.S., Menninger, H.L., Dunn, D.R., Fierer, N. (2015). Continental-Scale Distributions of Dust-Associated Bacteria and Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (18), 5756-5761.
- Bartemes, K.R. ve Kita, H. (2018). Innate and Adaptive Immune Responses to Fungi in the Airway. *Mechanisms of Allergic Diseases*, 142, 353-363.
- Brown, J.C. (1958). Soil fungi of Some British Sand Dunes in Relation to Soil Type and Succession, *Ecology*, 46, 641-664.
- Chen, Y.L., Xu, T.L., Veresoglou, S.D., Hu, H.W., Hao, Z.P., Hu, Y., Liu, L., Deng, Y., Rillig, M.C., Chen, B.D. (2017). Plant Diversity Represents the Prevalent Determinant of Soil Fungal Community Structure Across Temperate Grasslands in Northern China. *Soil Biology and Biochemistry*, 110, 12-21.
- Chen, A.J., Hubka, V., Frisvad, J.C., Visagie, C.M., Houbraken, J., Meijer, M., Varga, J., Demirel, R., Jurjevic, Z., Kubatova, A., Sklenar, F., Zhou, Y.G., Samson, R.A. (2017). Polyphasic Taxonomy of *Aspergillus* section *Aspergillus* (Formerly *Eurotium*), and its Occurrence In Indoor Environments and Food. *Studies in Mycology*, 88, 37-135.
- Cousin, M. (2014). FUNGI Classification of the Eukaryotic Ascomycetes. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2, 887–893.
- Dannaoui, E. (2009). Molecular Tools for Identification of Zygomycetes and the Diagnosis of Zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 15, 66-70.
- De Hoog, G.S., Gerrits van den Ende, A.H. (1998). Molecular Diagnostics of Clinical Strains of Filamentous Basidiomycetes. *Mycoses*, 41 (5-6), 183-189.
- Demirel, R., İlhan, S., Asan, A., Kınacı, E., Oner, S. (2004). Microfungi in Cultivated Fields in Eskişehir Province(Turkey). *J. Basic Microbiol*, 45 (4), 279-293.
- De Vries, R.P. ve diğerleri. (2017). Comparative Genomics Reveals High Biological Diversity and Specific Adaptations in the Industrially and Medically Important Fungal Genus *Aspergillus*. *Genome Biology*, 18 (1), 28.
- Demirci, A.Ş. ve M. Arıcı. (2006). Margarinde Yüksek Sıcaklığa Dayanıklı Küflerin Belirlenmesi ve Tanımlanması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3 (3), 269-273.
- Devi, L.S., Khaund, P., Nongkhlaw, F.M.W., Joshi, S.R. (2012). Diversity of Culturable Soil Micro-Fungi Along Altitudinal Gradients of Eastern Himalayas. *Mycobiology*, 40 (3), 151-158.

- Dijksterhuis, J. (2019). Fungal spores: Highly variable and stress-resistant vehicles for distribution and spoilage. *Food Microbiology*, 81, 2-11.
- Fischer, G. ve W. Dott (2002). Quality Assurance and Good Laboratory Practice in the Mycological Laboratory Compilation of Basic Techniques for the Identification of Fungi. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 205 (6), 433-442.
- Fokom, R., Adamou, S., Essono, D., Ngwasiri, D.P., Eke, P., Mofor, C.T., Tchoumboungang, F., Fekam, B.F., Zollo, P.H.A., Nwaga, D., Sharma, A.K. (2019). Growth, Essential Oil Content, Chemical Composition and Antioxidant Properties of Lemongrass as Affected By Harvest Period and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Field Conditions. *Industrial Crops and Products*, 138, 111477.
- Frac, M., Tys, S.J. ve Yaguchi, T. (2015). Occurrence, Detection, and Molecular and Metabolic Characterization of Heat-Resistant Fungi in Soils and Plants and Their Risk to Human Health. *Advances in Agronomy*, 132, 161-204.
- Frisvad, J.C., Hubka, V., Ezekiel, C.N., Hong, S.B., Nováková, A., Chen, A.J., Arzanlou, M., Larsen, T.O., Sklenář, F., Mahakarnchanakul, W., Samson, R.A., Houbraken, J. (2019). Taxonomy of *Aspergillus* Section Flavi and Their Production of Aflatoxins, Ochratoxins and Other Mycotoxins. *Studies in Mycology*, 93, 1-63.
- Gams, W. (2007). Biodiversity of Soil Inhabiting Fungi. *Biodiversity and Conservation*, 16 (1), 69-72.
- Glass, N.L. ve Donaldson, G.C. (1995). Development of Premier Sets Designed For Use With the PCR to Amplify Conserved Genes From Filamentous Ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1323-1330.
- Gomes, D.C.V., Alencar, V.O.B.D., Reis, A.C.D., Lima, R.M.T.D., Santos, J.V.D.O., Mata, A.M.O.F.D., Dias, A.C.S., Junior, J.S.D.C., Medeiros, M.D.G.F.D., Paz, M.F.C.J., Moreno, L.C.G.E.A.I., Sousa, J.M.D.C.E., Islam, M.T. Cavalcante, A.A.D.C.M. (2019). Antioxidant, Anti-Inflammatory and Cytotoxic/Antitumoral Bioactives From the Phylum Basidiomycota and Their Possible Mechanisms of Action. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108643.
- Guo-Liang, P., Jun, G., Qin-hu, W., Zhen-Sheng, K. (2019). Comparative Analysis of Protein Kinases and Associated Domains Between Ascomycota and Basidiomycota. *Journal of Integrative Agriculture*, 18 (1), 96-107.

- Hibbett, D.S., ve diğeri. (2007). A Higher-Level Phylogenetic Classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111 (5), 509-547.
- Hong, S.B., Go, S.J., Shin, H.D., Frisvad, J.C., Samson, R.A. (2005). Polyphasic Taxonomy of *Aspergillus Fumigatus* and Related Species. *Mycologia*, 97 (6), 1316-1329.
- Houbraken, J. ve Samson, R.A. (2006). Standardization of Methods for Detecting Heat Resistant Fungi. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 571, 107-111.
- Hyde, K.D., ve diğeri. (2019). Fungal Diversity Notes 1036-1150: Taxonomic and Phylogenetic Contributions on Genera and Species of Fungal Taxa. *Fungal Diversity*, 96 (1), 1-242.
- Jimenez, K.R., Wurzbacher, C., Bourne, E.C., Chiuchiolo, A., Priscu, J.C. Grossart, H.P. (2017). Early Diverging Lineages Within Cryptomycota and Chytridiomycota Dominate the Fungal Communities in Ice-Covered Lakes of the McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Scientific Reports*, 7 (1), 15348.
- Jones, E.G., Suetrong, S., Sakayaroj, J., Bahkali, A., Abdel-Wahab, M., Boekhout, T., Pang, K.L. (2015). Classification of Marine Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota and Chytridiomycota. *Fungal Diversity*, 73 (1), 1-72
- Kahya, S., Büyükcangaz, E. ve Carlı, K.T. (2013). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 32 (1), 31-38.
- Kaşık, G. (2010). *Mantar Bilimi*. Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Yönetim Kurulu.
- Kazerooni, E.A., Maharachchikumbura, S., Velazhahan, R., Al-Mahrouqi, H., Al-Sadi, A.M. (2017). Fungal Diversity in Tomato Rhizosphere Soil Under Conventional and Desert Farming Systems. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1462.
- Khan, A.M. ve Bhaduria, S. (2018). Molecular Characterization of Keratin Degrading Fungi Isolated From Semi-Arid Soil By PCR Using ITS4 and ITS5 Primers. *Journal of King Saud University-Science*, 31 (4), 1418-1423.
- Kikoku, Y., Tagashira, N. ve Nakano, H. (2008). Heat Resistance of Fungi Isolated From Frozen Blueberries. *Journal of Food Protection*, 71 (10), 2030-2035.
- Kılıçoğlu, M. ve Özkoç, İ. (2008). Fungal Sistemattteki Moleküler Gelişmeler. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 23 (1), 65-72.
- Kirk, J.L., Beaudette, L.A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, J.N., Lee, H., Trevors, J.T. (2004). Methods of Studying Soil Microbial Diversity. *Journal of Microbiological Methods*, 58 (2), 169-188.

- Klich, M.A. (2002). Identification of Common *Aspergillus* Species. First Edition, Utrecht, The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Kolaczek, P., Zubek, S., Błaszowski, J., Mleczko, P., Margielewski, W. (2013). Erosion or Plant Succession-How to Interpret the Presence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Glomeromycota) Spores in Pollen Profiles Collected From Mires. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 189, 29-37.
- Krishnan, A., Convey, P., Gonzalez, M., Smykla, J., Alias, S.A. (2018). Effects of Temperature on Extracellular Hydrolase Enzymes From Soil Microfungi. *Polar Biology*, 41 (3), 537-551.
- Levin, R.E. (2012). PCR Detection of Aflatoxin Producing Fungi and Its Limitations. *International Journal of Food Microbiology*, 156 (1), 1-6.
- Martín, J., Van Den Berg M.A., Ver Loren Van Themaat, E., Liras, P. (2019). Sensing and Transduction of Nutritional and Chemical Signals in Filamentous Fungi: Impact on Cell Development and Secondary Metabolites Biosynthesis. *Biotechnology Advances*, 37 (6), 107392.
- Masclaux, F., Gueho, E., Hoog, G.S., ve Christen, R. (1995). Phylogenetic Relationships of Human-Pathogenic Cladosporium (Xylohypha) Species Inferred From Partial LS rRNA Sequences. *Medical Mycology*, 33, 327–338.
- Mohapatra, D., Kumar, S., Kotwaliwale, N., Singh, K.K., (2017). *Industrial Crops and Products*, 108, 162-182.
- Mousavi, B., Hedayati, M.T., Hedayati, N., Ilkit, M., Syedmousavi, S. (2016). *Aspergillus* Species in Indoor Environments and Their Possible Occupational and Public Health Hazards. *Current Medical Mycology*, 2 (1), 36.
- Mutlu-İngök, A. ve H.F. Karbancıoğlu-Güler (2015). Sıcaklığın *Aspergillus* Section Nigri Üyelerinin Okratoksin A Oluşturması Üzerine Etkisinin İncelenmesi. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2 (1), 1-8.
- Ojeda-López, M., Chen, W., Eagle, C.E., Gutiérrez, G., Jia, W.L., Swilaiman, S.S., Huang, Z., Park, H.S., Yu, J.H., Cánovas, D., Dyer, P.S. (2018). Evolution of Asexual and Sexual Reproduction in the *Aspergilli*. *Studies in Mycology*, 91, 37-59.
- Oliveira, H.F., Souto, C.N., Martins, P.C., Castro, I.C.D., Mascarenhas, A.G. (2018). Mycotoxins in broiler production. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 17 (2), 292-299.

- Oskay, F. ve Şimşek, Z. (2017). Çankırı (Eldivan) Karaçam Orman Topraklarında Saptanan Mikrofunguslar. *Anadolu Orman Araştırmaları Dergisi*, 3 (1), 23-38.
- Palta, Ş., Demir, S., Şengönül, K., Kara, Ö., Şensoy, H. (2010). Arbüsküler Mikorizal Funguslar (AMF) Bitki ve Toprakla İlişkileri, Mera Islahındaki Önemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 12 (18), 87-98.
- Panek, J. ve Frac, M. (2018). Development of a qPCR assay for the Detection of Heat Resistant *Talaromyces flavus*. *International Journal of Food Microbiology*, 270, 44-51.
- Paulus, B.C., Kanowski, J., Gadek, P.A., Hyde, K.D. (2006). Diversity and Distribution of Saprobic Microfungi in Leaf Litter of an Australian Tropical Rainforest. *Mycological Research*, 110 (12), 1441-1454.
- Rawat, S. (2015). Food Spoilage: Microorganisms and Their Prevention. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5 (4), 47-56.
- Restrepo, M.H., Gene, J., Ruiz, R.F.C., Portales, J.M., Crous, P.W., Guarro, K. (2017). Phylogeny of Saprobic Microfungi From Southern Europe. *Studies in Mycology*, 86, 53-97.
- Richardson, M. (2009). The Ecology of the Zygomycetes and Its Impact on Environmental Exposure. *Clinical Microbiology and Infection*, 15, 2-9.
- Riley, R. ve Corradi, N. (2013). Searching for Clues of Sexual Reproduction in the Genomes of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Fungal Ecology*, 6 (1), 44-49.
- Sambrook, J. ve Russell, D.W. (2001). *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbour Laboratory Press.
- Samson, R.A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C. Andersen, B. (2010), *Food and Indoor Fungi*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Samson, R.A., Visagie, C.M., Houbraken, J., Hong, S.B., Hubka, V., Klaassen, C.H.W., Perrone, G., Seifert, K.A., Susca, A., Tanney, J.B., Varga, J., Kocsube, S., Szigeti, G., Yaguchi, T., Frisvad, J.C. (2014). Phylogeny, Identification and Nomenclature of the Genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78, 141-173.
- Sandargo, B., Chepkirui, C., Cheng, T., Chaverra-Muñoz, L., Thongbai, B., Stadler, M., Hüttel, S. (2019). Biological and Chemical Diversity Go Hand in Hand: Basidiomycota as Source of New Pharmaceuticals and Agrochemicals. *Biotechnology Advances*, 37 (6), 107344.

- Santos, J.L., Samapundo, S., Gülay, S.M., Van Impe, J., Sant'Ana, A.S., Devlieghere, F. (2018). Inter-and Intra-Species Variability in Heat Resistance and the Effect of Heat Treatment Intensity on Subsequent Growth of *Byssoschlamys Fulva* and *Byssoschlamys Nivea*. *International Journal of Food Microbiology*, 279, 80-87.
- Sarıözlü, N.Y. ve Demirel, R. (2010). Mikroorganizmalarda Çeşitlilik II. K. Güven (Ed.), *Genel Mikrobiyoloji* (154-174). T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No. 1961, Açıköğretim Fakültesi Yayını No: 1041.
- Sayed, E. ve Morsy, M.E. (2006). Preliminary Survey of Indoor and Outdoor Airborne Microfungi at Coastal Buildings in Egypt. *Aerobiologia*, 22, 197-210.
- Schuster, M. ve R. Kahmann (2019). CRISPR-Cas9 Genome Editing Approaches in Filamentous Fungi And Oomycetes. *Fungal Genetics and Biology*, 130, 43-53.
- Schüßler, A., Schwarzott, D. ve Walker, C. (2001). A New Fungal Phylum, the *Glomeromycota*: Phylogeny and Evolution. *Mycological Research*, 105 (12), 1413-1421.
- Serra, R., Cabanes, F.J., Perrone, G., Castella, G., Venancio, A., Mule, G., Kozakiewicz, Z. (2006). *Aspergillus Ibericus*: a New Species of Section *Nigri* Isolated From Grapes. *Mycologia*, 98 (2), 295-306.
- Seth, R.K., Alam, S. ve DN, S. (2016). Isolation and Identification of Soil Fungi From Wheat Cultivated Area of Uttar Pradesh. *Journal of Plant Pathol Microbiol*, 7 (11), 1000384.
- Shishodia, S. K., Tiwari, S. ve Shankar, J. (2019). Resistance Mechanism and Proteins in *Aspergillus* Species Against Antifungal Agents. *Mycology*, 10 (3), 151-165.
- Spatafora, J.W., Chang, Y., Benny, G.L., Lazarus, K., Smith, M.E., Berbee, M.L., Bonito, G., Corradi, N., Grigoriev, I., Gryganskyi, A., James, T.Y., O'Donnell, K., Roberson, R.W., Taylor, T.N., Uehling, J., Vilgalys, R., White, M.M., Stajich, J.E. (2016). A Phylum-Level Phylogenetic Classification Of Zygomycete Fungi Based On Genome-Scale Data. *Mycologia*, 108 (5), 1028-1046.
- Sugiharto, S. (2019). A review of Filamentous Fungi in Broiler Production. *Annals of Agricultural Sciences*, 64 (1), 1-8.
- Tamura, K. ve 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.

- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (12), 2725-2729.
- Tedersoo, L., ve diğeri. (2014). Global Diversity and Geography of Soil Fungi. *Fungal Biogeography*, 346 (6213), 1256688.
- Tischner, Z., Kredics, L., Marik, T., Vörös, K., Kriszt, B., Peter, B., Magyar, D. (2019). Environmental Characteristics and Taxonomy of Microscopic Fungi Isolated From Washing Machines. *Fungal Biology*, 123 (9), 650-659.
- Tranquillini, R., Scaramuzza, N. ve Berni, E. (2017). Occurrence and Ecological Distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in Raw Materials Used By Food Industry and Thermal Characterization of Two Talaromyces Isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 116-123.
- Tuney, E., Asan, A. ve Şen, B. (2017). Saf Kültür Olarak Stoklanmış Bazı Mikrofungusların ITS, B-Tubulin ve Aktin Gen Dizilerine Göre Moleküler Tanısı. *Mantar Dergisi*, 9 (1), 1-17.
- Valik, L. ve Pieckova, E. (2001). Growth Modelling of Heat-Resistant Fungi: the Effect of Water Activity. *International Journal of Food Microbiology*, 63 (1-2), 11-17.
- Waksman, S.A. (1922). A Method for Counting the Number of Fungi in the Soil. *Journal of Bacteriology*, 7, 339-341.
- Warcup, J.H. (1955). On the Origin of Colonies of Fungi Developing on Soil Dilution Plates. *Transactions of the British Mycological Society*, 38, 298-301.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. Innis M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Editörler). *PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications*, Academic Pres, USA
- Yaguchi, T., Imanishi, Y., Matsuzawa, T., Hosoya, K., Hitomi, J., Nakayama, M. (2012). Method for Identifying Heat-Resistant Fungi of the Genus Neosartorya. *Journal of food protection*, 75 (10), 1806-1813.
- Zhang, N., Luo, J. ve Bhattacharya D. (2017). Advances in Fungal Phylogenomics and Their Impact on Fungal Systematics. *Advances in Genetics*, 100, 309-328.

<https://slideplayer.biz.tr/slide/15256460/#.XeKtJjMf9Fc.gmail> (Erişim tarihi: 30.11.2019) (http-1)



<https://www.sorhocam.com/etiket.asp?sid=4852&kursuni-kuf-hastaliginin-goruldugu-bitkiler/> (Erişim tarihi: 20.12.2019) (http-2)

[https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/982011184638-weq5xcebjqJv\\_3.pdf](https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/982011184638-weq5xcebjqJv_3.pdf) (Erişim tarihi: 30.11.2019) (http-3)

<https://tr.pinterest.com/pin/312648399129003359/> (Erişim tarihi: 20.12.19) (http-4)

<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp> (Erişim tarihi: 06.12.2019) (http-5)

<https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=cda265c5-c1f0-4c99-acee-7282fc6aa371&lang=en> (Erişim tarihi: 19.12.2019) (http-6)

<http://www.refgen.com/> (Erişim tarihi: 19.12.2019) (http-7)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Erişim tarihi: 01.12.2019) (http-8)

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Fatma AYVA

Yabancı Dil: İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı: İstanbul / 1995

E-posta: [ayvafatma@gmail.com](mailto:ayvafatma@gmail.com)

### Eğitim:

- 2013, İTO Çatalca Çok Programlı Lisesi, Fen Bölümü
- 2017, Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoloji Anabilim Dalı,
- 2020, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalı

### Yayınlar ve Bilimsel Faaliyetler

- Ayva, F., Ouzeir, G., Demirel R., Şen, B., Asan, A., Kadaifçiler, D. (2019). Biodiversity of Heat Resistance Soil Microfungi in Agricultural Areas of Eskişehir Province, *2nd International Eurasia Mycology Congress* (Sözlü Bildiri)
- Demirel, R., Ayva, F., Ouzeir, G., Şen, B., Asan, A., Kadaifçiler, D. (2019). Heat Resistant Microfungi Samples From Agricultural Area in Turkey. *British Ecological Society*, (Poster Sunumu)
- Ayva, F., Ouzeir, G., Demirel R., Şen, B., Asan, A., Kadaifçiler, D. (2019). Biodiversity of Heat Resistance Soil Microfungi in Agricultural Areas of Eskişehir Province. *Mantar Dergisi/The Journal Of Fungus*, 10 (Özel Sayı), 66-77.
- Demirel, R., Uyar, S., Özdemir, L., Bilgi, İ., Bahadır, İ., Ayva, Fatma., Kadaifçiler, D. (2017). Determination of Molds Isolated From Man-Made Water Systems to Produce Primary and Secondary Metabolites. *1st International Eurasia Mycology Congress*, (Özet Bildiri)

### Projeler ve Burslar

- Türkiye'nin Toprak Kaynaklı Isıya Dirençli *Aspergillus* Cinsi Üyelerinin Polifazik Taksonomisi ( TÜBİTAK - Proje no: 118Z359) (Araştırmacı-Bursiyer)

- Türkiye'nin Toprak Kaynaklı Isıya Dirençli *Penicillium* ve *Talaromyces* Cinsi Üyelerinin Polifazik Taksonomisi (ANADOLU ÜNİVERSİTESİ- ESKİŞEHİR TEKNİK ÜNİVERSİTESİ - Proje no: 1704F102) (Araştırmacı-Bursiyer)

