

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

RUBUS IDAEUS L (AHUDUDU) VE PUNICA GRANATUM L. (NAR)
MEYVELERİNDEN İZOLE EDİLEN MAYA TÜRLERİNİN
MOLEKÜLER DÜZEYDE TANIMLANMASI VE HÜCRE DIŞI
ENZİM AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Melih GÜNAY

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 31/08/2015

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Tülay TURGUT GENÇ

ÇANAKKALE

Melih GÜNAY tarafından Yrd. Doç. Dr. Tülay TURGUT GENÇ yönetiminde hazırlanan ve **31/08/2015** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “***Rubus idaeus* L. (Ahududu) ve *Punica granatum* L. (Nar) Meyvelerinden İzole Edilen Maya Türlerinin Moleküler Düzeyde Tanımlanması ve Hücre Dışı Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Sezai TÜRKEL

.....

Başkan

Prof. Dr. Cüneyt AKI

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Tülay TURGUT GENÇ

.....

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2013/110 numaralı projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Melih GÜNAY

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Tülay TURGUT GENÇ'e,

Tez çalışmamda desteğini her zaman gösteren ve sonuçlarımı yorumlamamda bana yardımcı olan Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Serap MUTUN hocama,

Bu zamana kadar yaptığım çalışmalarda ve alanda birçok konuda bilgisini ve becerisini benden esirgemeyen değerli arkadaşım Arş. Gör. Aslıhan ÖZBİLEN, Fatih SEZER ve değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Kemal Melih TAŞKIN'a, bu süreçte her zaman yanımda olduğunu hissettiğim ve bildiğim saygıdeğer arkadaşım Arş. Gör. Nihan AKINCI'ya, yüksek lisansım boyunca bir abla gibi yanımda duran saygıdeğer hocam Yrd. Doç. Dr. Hanife AKYALÇIN'a ve Arş. Gör. Tülay BİCAN SUERDEM'e,

Tüm çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan ve gece gündüz sürekli benimle beraber laboratuvar çalışmalarımda yanımda olup kahrımı çeken değerli çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Mehmet Şerafeddin SOLAK ve Burak SERVİLİ'ye,

Ummadık bir anda hayatıma girerek bir parçası olan ve desteğini benden esirgemeyen Sibel ATAK'a,

Yüksek lisansa başladığım günden bu yana her türlü desteğini benden esirgemeyen sürekli benim yanımda duran hayatımdaki tek varlığım olan canım annem ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Melih GÜNAY

Çanakkale, Ağustos 2015

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------------------|--|
| µl | Mikrolitre |
| dH ₂ O | Distile su |
| DNA | Deoksiribonükleik Asit |
| RNA | RibonükleikAsit |
| PCR | Polimerase Chain Reactions (Polmeraz Zincir Reaksiyonları) |
| RFLP | Restriktion Fragment Lenght Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) |
| RADP | Random Amplify DNA Polimoprhism (Rastgele Çoğaltılan DNA Polimorfizmi) |
| rDNA | Ribozomal DNA |
| mtDNA | Mitokondriyal DNA |
| SSU | Small subunit (Küçük Alt Ünite) |
| LSU | Large subunit (Büyük Alt Ünite) |
| ITS | Internal Transcribed Spacer |
| ETS | External Transcribed Spacer |
| IGS | Intergenic Spacer |
| NTS | Non-Transcribed Spacer |
| bp | Base pair (baz çifti) |
| pmol | pikomol |
| EDTA | Etilen diamin tetra asetikasit |
| SDS | Sodyum dodesil sülfat |
| TE | Tris-EDTA |
| g | Gram |
| M | Molar |
| CFU | Colony Forming Unit (Koloni Oluşturabilen Birim) |
| rpm | Rotation per minute (Devir/dakika) |
| YGC | Yeast Extract Glucose ChloramphenicolAgar |
| YPDA | Yeast Extract Peptone Dextrose Agar |
| TAE | Tris Asetat EDTA |
| U.V. | Ultra violet |
| INSDC | International Nucleotid Sequance Database Collaboration |
| NCBI | National Center for Biotechnology Information |

| | |
|-------|---------------------------------------|
| DDBJ | DNA Databank in JAPAN |
| EMBL | European Molecular Biology Laboratory |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |

ÖZET

***RUBUS IDAEUS L (AHUDUDU) VE PUNICA GRANATUM L. (NAR)* MEYVELERİNDEN İZOLE EDİLEN MAYA TÜRLERİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE TANIMLANMASI VE HÜCRE DIŞI ENZİM AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Melih GÜNAY

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Tülay TURGUT GENÇ

31/08/2015, 117

Maya türlerinin tanımlanmasında kullanılan geleneksel tanımlama yöntemleri ve kit sistemlerinin yanında moleküler tanımlama yöntemleri de kullanılmaktadır. Araştırma kapsamında nar meyvesinin yüzey maya florası ile ahududu meyvesinin barındırdığı maya florası maya suşlarının morfolojik özellikleri, API ID32C kit sistemi ve moleküler identifikasyon yöntemleri kullanılarak belirlenmesi ve endüstriyel öneme sahip enzim üretebilen maya türlerinin tespit edilmesi planlandı. Maya suşlarının genomik DNA izolasyonlarının ardından ITS1-5.8S rDNA-ITS2 bölgesi ITS1 ve ITS4 evrensel primerleri kullanılarak PCR yöntemiyle çoğaltıldı. PCR ürünlerine göre oluşturulan gruplara ait maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 bölgeleri beş farklı restriksiyon enzimi (*Hinf*I, *Hae*III, *Msp*I, *Alu*I ve *Hha*I) kullanılarak kesimleri yapıldı. PCR grupları içinde farklılık gösteren maya suşları seçilerek DNA dizi analizi yapıldı ve BLAST programı kullanılarak maya türleri tanımlandı. Tanımlanan türlerin hücre dışı enzim aktiviteleri API-ZYM test sistemi kullanarak belirlendi. Çalışmamızın sonucunda, maya suşlarının DNA dizi analizlerine göre nar meyvesi yüzeyinden izole edilen maya suşları *Metschnikowia pulcherrima*, *Cryptococcus bestiolae*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida zeylanoides*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kluyveromyces lactis* ve *Metschnikowia* sp. türleriyle, ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları ise *M. pulcherrima*, *A. pullulans*, *Candida* sp., *H. uvarum* ve *Metschnikowia* sp. türleriyle yüksek homoloji gösterdi. API-ZYM test sistemi sonucuna göre nar meyvesinden izole edilen maya türlerinin alkalın fosfataz, lösin arilamidaz, esteraz (C 4), esteraz lipaz (C 8), asit fosfataz, naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzimlerinin;

ahududu meyvesinden izole edilen maya türlerinde ise Lysin arilamidaz ve β - Glukosidaz enzimlerinin yüksek aktivite gösterdiği belirlendi.

Anahtar sözcükler: Nar, Ahududu, ITS1-rDNA-ITS2, RFLP ve API-ZYM

ABSTRACT

MOLECULAR IDENTIFICATION OF YEAST SPECIES THAT ISOLATED FROM *PUNICA GRANATUM* L. (POMEGRANATE) AND *RUBUS IDAEUS* L. (RASPBERRY) AND DETERMINATION OF EXTRACELLULAR ENZYME ACTIVITIES

Melih GÜNAY

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Tülay TURGUT GENC

31/08/2015, 117

Molecular identification methods beside the conventional identification methods and kit systems using for identification of yeast species have also been using recently. As a part of research, determination of yeast flora on pomegranate surface and raspberry fruits were planned using morphologic features of yeast strains, API ID32C kit system and molecular identification methods and determination of yeast species that can produce industrial importance enzymes were aimed. After genomic DNA isolation from yeast strains, ITS1-5.8S rDNA-ITS2 gene regions were amplified by PCR method using ITS1 and ITS4 universal primer. The groups obtained from the size of PCR products that belongs to yeast strains were cut by using restriction enzymes (*HinfI*, *HaeIII*, *MspI*, *AluI* ve *HhaI*). The yeast strains which differ in PCR groups were selected as restriction profile and DNA sequence analysis were carried out and yeast strains were identified using DNA sequences by BLAST program. Extracellular enzyme activities were determined of identified yeast species by API-ZYM test system. Consequence of my study, according to DNA sequence analysis of the pomegranate yeast strains showed high homology with *Metschnikowia pulcherrima*, *Cryptococcus bestiolae*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida zeylanoides*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kluyveromyces lactis* and *Metschnikowia sp.* species. Raspberry yeast strains showed high homology *M. pulcherrima*, *A. pullulans*, *Candida sp.* *H. uvarum* ve *Metschnikowia sp.* species. According to API-ZYM results, high enzyme activity were determined for pomegranate in alkaline phosphatase, leucine arylamidase, esterase (C 4), esterase lipase (C 8), acid phosphatase, naftol-AS-BI-fosfohidrolase enzymes, were

determined for raspberry yeast strains in leucine arylamidase and β -glucosidase enzymes.

Keywords: Pomegranate, Raspberry, ITS1-rDNA-ITS2, RFLP and API-ZYM

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa No |
|---|-----------------|
| TEZ SINAV SONUÇ BELGESİ..... | ii |
| İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI..... | iii |
| TEŞEKKÜR..... | iv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | v |
| ÖZET | vii |
| ABSTRACT..... | ix |
| İÇİNDEKİLER | xi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xiii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xx |
| BÖLÜM 1-GİRİŞ | 1 |
| BÖLÜM 2-ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... | 8 |
| BÖLÜM 3-MATERYAL VE YÖNTEM | 14 |
| 3.1. Nar ve Ahududu Örneklerinin Toplanması ve Maya İzolasyonu..... | 14 |
| 3.2. İzole Edilen Maya Örneklerinin Tür Tanımlamaları ve Gruplandırılmaları | 15 |
| 3.3. Genomik DNA İzolasyonu | 15 |
| 3.4. ITS1- 5,8S- ITS2 Bölgelerinin Amplifikasyonu | 16 |
| 3.5. Restriksiyon Profillerinin Belirlenmesi | 17 |
| 3.6. DNA Dizi Analizi..... | 18 |
| 3.7. Hücre Dışı Enzim Profillerinin Belirlenmesi | 18 |
| BÖLÜM 4-ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA | 20 |
| 4.1. Nar ve Ahududu Meyvelerinden İzole Edilen Maya Suşlarının Morfolojik Olarak Gruplandırılması | 20 |
| 4.2. Nar ve Ahududu Meyvelerinden İzole Edilen Maya Suşlarının Morfolojik Olarak Gruplandırılması | 25 |
| 4.3. Nar ve Ahududu Meyvelerinden İzole Edilen Maya Suşlarının Genomik DNA İzolasyonları ve PCR Amplifikasyonları..... | 26 |
| 4.3.1. Nar meyvelerinden izole edilen maya suçlarının PCR amplifikasyonları | 27 |
| 4.3.2. Ahududu meyvelerinden izole edilen maya suçlarının PCR amplifikasyonları | 31 |

| | |
|--|-----|
| 4.4. Nar ve Ahududu Meyvesine Ait Maya Suşlarının ITS1 5.8SrDNA-ITS2 Bölgesinin Restriksiyon Enzimi ile Kesim Analizleri | 34 |
| 4.4.1. Nar meyvesine ait maya suçlarının restriksiyon enzimi ile kesim profili..... | 34 |
| 4.4.1.1. Grup 1 restriksiyon enzimi ile kesim profili | 34 |
| 4.4.1.2. Grup 2 restriksiyon enzimi ile kesim profili | 37 |
| 4.4.2. Ahududu meyvesine ait maya suçlarının restriksiyon enzimi ile kesim profili..... | 48 |
| 4.4.2.1. Grup 1 restriksiyon enzimi ile kesim profili | 48 |
| 4.4.2.2. Grup 2 restriksiyon enzimi ile kesim profili | 51 |
| 4.5. Nar ve Ahududu Meyvelerine Ait Maya Suşlarının DNA Dizi Analizi | 57 |
| 4.5.1. Nar meyvesine ait maya suçlarının DNA dizi analizi..... | 57 |
| 4.5.2. Ahududu meyvesine ait maya suçlarının DNA dizi analizi..... | 80 |
| 4.6. Nar ve Ahududu Meyvesinin Maya Florasında Bulunan Türlerin Hücre Dışı Enzim Profilleri | 92 |
| BÖLÜM 5-SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 100 |
| KAYNAKLAR | 107 |
| ÖZGEÇMİŞ | I |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | Sayfa No |
|-------------|--|
| Şekil 1.1. | Maya hücrelerinde bulunan rDNA bölgeleri..... 4 |
| Şekil 1.2. | Evrensel fungal primer örnekleri (Pincus ve ark., 2007) 5 |
| Şekil 3.1. | Koruköy/Gelibolu mevkisini gösteren harita 14 |
| Şekil 3.2. | Çalışmada kullanılan markör haritası..... 17 |
| Şekil 4.1. | Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının YPD katı besi ortamında üremeleri ve koloni morfolojileri..... 21 |
| Şekil 4.2. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının YPD katı besi ortamında üremeleri ve koloni morfolojileri 22 |
| Şekil 4.3. | Koloni morfolojiler için kullanılan bazı özellikler..... 23 |
| Şekil 4.4. | Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-1, P-3-P-9, P-11, P-12, P-14, P-15) 27 |
| Şekil 4.5. | Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-18, P-24, P-25a, P-25b, P-26, P-27, P-29)..... 27 |
| Şekil 4.6. | Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-30 –P-39, P-41, P-42) 28 |
| Şekil 4.7. | Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-44 –P-53, P-55a, P-55b) 28 |
| Şekil 4.8. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (R-1 –R-11, R-12a, R-12b, R-13) 31 |
| Şekil 4.9. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (R-14 –R-26) 31 |
| Şekil 4.10. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>HinfI</i> ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a) 35 |
| Şekil 4.11. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>HaeIII</i> ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a) 35 |
| Şekil 4.12. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>MspI</i> ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a) 36 |
| Şekil 4.13. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Alu I</i> ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a) 36 |
| Şekil 4.14. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hha I</i> ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a) 36 |

| | | |
|-------------|--|----|
| Şekil 4.15. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hinf I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42) | 38 |
| Şekil 4.16. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hinf I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15,P-21, P-24, P-27, P-30, P-31) | 38 |
| Şekil 4.17. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hae III</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42) | 39 |
| Şekil 4.18. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hae III</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15,P-21, P-24, P-27, P-30, P-31) | 39 |
| Şekil 4.19. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Msp I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42) | 39 |
| Şekil 4.20. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Msp I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15,P-21, P-24, P-27, P-30, P-31) | 40 |
| Şekil 4.21. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Alu I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42) | 40 |
| Şekil 4.22. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Alu I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15,P-21, P-24, P-27, P-30, P-31) | 40 |
| Şekil 4.23. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hha I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42) | 41 |
| Şekil 4.24. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hha I</i> ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15,P-21, P-24, P-27, P-30, P-31) | 41 |
| Şekil 4.25. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hinf I</i> ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35) | 43 |
| Şekil 4.26. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hae III</i> ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35) | 43 |
| Şekil 4.27. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Msp I</i> ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35) | 44 |

| | | |
|-------------|--|----|
| Şekil 4.28. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Alu I</i> ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35) | 44 |
| Şekil 4.29. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hha I</i> ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35) | 44 |
| Şekil 4.30. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hinf I</i> ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b) | 46 |
| Şekil 4.31. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>HaeIII</i> ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b) | 46 |
| Şekil 4.32. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Msp I</i> ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b) | 46 |
| Şekil 4.33 | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Alu I</i> ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b) | 47 |
| Şekil 4.34. | Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hha I</i> ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b) | 47 |
| Şekil 4.35. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>HinfI</i> ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26) | 49 |
| Şekil 4.36. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>HaeIII</i> ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26)..... | 49 |
| Şekil 4.37. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>MspI</i> ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26) | 50 |
| Şekil 4.38. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>AluI</i> ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26) | 50 |
| Şekil 4.39. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>HhaI</i> ile kesim | |

| | | |
|-------------|---|----|
| | sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26) | 50 |
| Şekil 4.40. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hinf</i> I ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22) | 52 |
| Şekil 4.41. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hae</i> III ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22)..... | 52 |
| Şekil 4.42. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Msp</i> I ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22) | 52 |
| Şekil 4.43. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Alu</i> I ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22) | 53 |
| Şekil 4.44. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hha</i> I ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22) | 53 |
| Şekil 4.45. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hinf</i> I ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21) | 54 |
| Şekil 4.46. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hae</i> III ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21) | 55 |
| Şekil 4.47. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Msp</i> I ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21) | 55 |
| Şekil 4.48. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Alu</i> I ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21) | 55 |
| Şekil 4.49. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının <i>Hha</i> I ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21) | 56 |
| Şekil 4.50. | P-1 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 58 |
| Şekil 4.51. | P-50 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 59 |
| Şekil 4.52. | P-32 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 60 |
| Şekil 4.53. | P-25a maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 61 |
| Şekil 4.54. | P-24 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 62 |
| Şekil 4.55. | P-30 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi | |

| | | |
|-------------|--|----|
| | analizi | 63 |
| Şekil 4.56. | P-48 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 64 |
| Şekil 4.57. | P-15 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 65 |
| Şekil 4.58. | P-14 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 66 |
| Şekil 4.59. | P-18 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 67 |
| Şekil 4.60. | P-23 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 68 |
| Şekil 4.61. | P-36 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 69 |
| Şekil 4.62. | P-21 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 70 |
| Şekil 4.63. | P-1 maya suşunun <i>Cr. bestiolae</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 71 |
| Şekil 4.64. | P-50 maya suşunun <i>H. uvarum</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 72 |
| Şekil 4.65. | P-32 maya suşunun <i>C. zeylanoides</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 72 |
| Şekil 4.66. | P-25a suşunun <i>Metschnikowia</i> sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 73 |
| Şekil 4.67. | P-24 maya suşunun <i>A. pullulans</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 73 |
| Şekil 4.68. | P-30 maya suşunun <i>Cr. bestiolae</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 74 |
| Şekil 4.69. | P-48 maya suşunun <i>Metschnikowia</i> sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu..... | 74 |
| Şekil 4.70. | P-15 maya suşunun <i>Cr. bestiolae</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 75 |
| Şekil 4.71. | P-14 maya suşunun <i>Cr. bestiolae</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 75 |
| Şekil 4.72. | P-18 maya suşunun <i>K. lactis</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme | |

| | | |
|-------------|--|----|
| | sonucu | 76 |
| Şekil 4.73. | P-23 maya suşunun <i>H. uvarum</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 76 |
| Şekil 4.74. | P-36 maya suşunun <i>H. uvarum</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 77 |
| Şekil 4.75. | P-21 maya suşunun <i>Metschnikowia</i> sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu..... | 78 |
| Şekil 4.76. | R-5 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 81 |
| Şekil 4.77. | R-17 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 82 |
| Şekil 4.78. | R-7 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 83 |
| Şekil 4.79. | R-3 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 84 |
| Şekil 4.80. | R-20 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 85 |
| Şekil 4.81. | R-23 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 86 |
| Şekil 4.82. | R-6 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi | 87 |
| Şekil 4.83. | R-5 maya suşunun <i>Metschnikowia</i> sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu..... | 87 |
| Şekil 4.84. | R-17 maya suşunun <i>H. uvarum</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 88 |
| Şekil 4.85. | R-7 maya suşunun <i>Metschnikowia</i> sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu..... | 88 |
| Şekil 4.86. | R-3 maya suşunun <i>Candida</i> sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 89 |
| Şekil 4.87. | R-20 maya suşunun <i>A. pullulans</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | 89 |
| Şekil 4.88. | R-23 maya suşunun <i>M. pulcherrima</i> maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu..... | 90 |
| Şekil 4.89. | R-6 maya suşunun <i>Candida</i> sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu | |

| | | |
|-------------|---|----|
| | sonucu | 90 |
| Şekil 4.90. | Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının hücre dışı enzim aktivitelele | 94 |
| Şekil 4.91. | Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının hücre dışı enzim aktivitelele..... | 98 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | Sayfa No |
|---|-----------------|
| Çizelge 3.1. PCR bileşenleri ve konsantrasyonları | 16 |
| Çizelge 3.2. PCR reaksiyon şartları..... | 16 |
| Çizelge 3.3. Restriksiyon enzimlerinin kesim işlemi için reaksiyon bileşenleri..... | 18 |
| Çizelge 4.1. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının koloni morfolojilerine göre gruplandırılması | 24 |
| Çizelge 4.2. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının koloni morfolojilerine göre gruplandırılması | 25 |
| Çizelge 4.3. API ID32C kit sistemiyle meyvelerde tanımlanan maya türleri | 26 |
| Çizelge 4.4. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen gruplar | 28 |
| Çizelge 4.5. Nar meyvesine ait maya suşlarının morfolojik ve PCR amplifikasyonu | 30 |
| Çizelge 4.6. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen gruplar..... | 32 |
| Çizelge 4.7. Ahududu meyvesine ait maya suşlarının morfolojik ve PCR amplifikasyonu sonrasında barındırabileceği olası farklı tür sayısı | 33 |
| Çizelge 4.8. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 1)..... | 37 |
| Çizelge 4.9. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 2)..... | 42 |
| Çizelge 4.10. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri..... | 45 |
| Çizelge 4.11. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri..... | 47 |
| Çizelge 4.12. Nar meyvesine ait maya suşlarının ITS1-5,8S-ITS2 bölgesinin PCR ürünlerinin <i>HinfI</i> , <i>HaeIII</i> , <i>MspI</i> , <i>AluI</i> ve <i>Hha I</i> restriksiyon profilleri..... | 48 |
| Çizelge 4.13. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri..... | 51 |
| Çizelge 4.14. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri..... | 53 |

| | |
|--|----|
| Çizelge 4.15. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri..... | 56 |
| Çizelge 4.16. Ahududu meyvesine ait maya suşlarının restriksiyon profillerine göre gruplandırılması | 57 |
| Çizelge 4.17. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre tür tanımlamaları..... | 79 |
| Çizelge 4.18: Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre tür tanımlamaları..... | 91 |
| Çizelge 4.19. Nar meyvesinden izole edilerek tanımlanan maya suşlarına ait hücre dışı enzim profili renk skalası | 95 |
| Çizelge 4.20. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarına ait hücre dışı enzim profile renk skalası | 99 |

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Mayalar fungi alemi içerisinde yer alan tek hücreli en basit ökaryotik canlılar olup, farklı metabolik özellikleri nedeniyle doğada oldukça geniş bir yayılım göstermektedir. Farklı ortam koşullarında değişik besin kaynaklarını kullanabilme yeteneğine sahiptir (Tornai-Lehoczki ve ark., 2003). Şekerler maya türlerinde fermantasyon için önemli olmakla beraber maya hücreleri farklı organik karbon bileşiklerinden de oksidatif olarak faydalanabilmektedir. Aromatik bileşikler ve hidrokarbonların yanında fermente olmayan pentoz şekerler, metilpentozlar, prier alkoller, şeker alkoller, amino şekerler ve organik asitler gibi organik moleküller mayalar tarafından kullanılabilir (Phaff ve Starmer 1987). Maya hücreleri toprakta, suda, bitkisel ve hayvansal ürünlerde bulunabildiği gibi, yüksek pH, tuz ve şeker konsantrasyonları içeren ekstrem koşullarda da yaşayabilmektedir. Laboratuvar şartlarında kolayca üretilmesi, genellikle patojenitesinin az olması ve genetik olarak değiştirilebilmesi gibi nedenlerden dolayı moleküler biyoloji çalışmalarında model organizma olarak kullanılmaktadır (Arda, 1990; Evans ve ark., 2004; Paraphailong ve Fleet, 1997).

Ekonomik değeri olan ürünlerin önemli bir kaynağı olan mayalar doğal ve endüstriyel alanda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu nedenle gıdaların mikrobiyal kalitesinin belirlenmesinde ve fermente gıdaların üretiminde önemli rol oynamaktadır. Fermantasyon yeteneklerinin yüksek olması nedeniyle alkol, bira, şarap ve pasta üretiminde, ayrıca vitamin ve antibiyotik gibi ikincil metabolitlerin üretiminde kullanılmaktadır. Buna karşılık, mayaların faydaları yanında zararları da olabilmektedir (Hierro ve ark., 2004; Lee 1996; Lopez ve ark., 2001). Meyve suları, süt ve süt ürünleri, sebze ve meyvelerin mayalar tarafından kontamine olması bu gıdalarda bozulmalara yol açmaktadır. Bozulmaya neden olan maya suşları ve bu suşların fizyolojik özellikleri gıda çeşidine göre farklılık göstermektedir (Deak ve Beuchat, 1996; Baleiras-Couto ve ark., 1996). Ticari olarak kullanılan mikroorganizmalar içerisinde en önemli gruplar arasında yer almaktadır (Deak, 1995).

Son yıllarda fungal enfeksiyonlarda hızlı bir artış gözlenmektedir. Bu enfeksiyonlar bağışıklık sistemini engelleyen hastalıklarda, organ nakli bekleyen veya kemoterapi tedavisi gören hastalarda öldürücü olabilmektedir (Chen ve ark., 2000; Freydiere ve ark., 2001; Walsh ve ark., 2004). Fungal enfeksiyonlara neden olduğu bilinen en yaygın maya

türü *Candida albicans* olup, yapılan son çalışmalarda farklı maya türlerinin de enfeksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir. *Pichia*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* ve *Saccharomyces* spp. gibi mayalar *Candida* türüne göre daha az yaygın olan patojen mayalardır (Turenne ve ark., 1999; Viscoli ve ark., 1999; Walsh ve ark., 2004; Toscano ve Jarvis, 1999; Petrocheilou-Pschou ve ark., 2001; Han ve ark., 2004). İnsanda fungal enfeksiyonlara neden olan 100'den fazla maya türü tanımlanmıştır (Fromtling ve ark., 2003).

Mayaların geleneksel yöntemlerle sınıflandırılmasında morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikler kullanılmaktadır. Bu özelliklerine göre anamorfik ve telomorfik askomisetler ile anamorfik ve telomorfik basidiomisetler olarak iki büyük sınıfta incelenmektedir (Kurtzman ve Fell, 1998; Barnett ve ark., 2000, Krejer-van Rij, 1987). Maya türlerinin tanımlanmasında kullanılan yöntemlerden; Water Mount-Su preparatı, India Ink. ve Nigrosin Mount, Germ Tüp Testi, gerçek miselyum, psödomiselyum, artrospor ve chlamydospor üretimi gibi testler morfolojik yöntemlerden bazılarıdır (Haley, 1971; Taschdjia ve Burchall, 1960; Walt ve Yarrow, 1984; Cardenes ve ark., 2002). Karbonhidrat ve KN_3 asimilasyonu, karbonhidrat fermantasyonu, vitaminsiz ortamda gelişim ve bazı hızlı görüntüleme testleri maya türlerinin tanımlanmasında kullanılan bazı fizyolojik yöntemlerdir (Wickerham, 1943; Wickerham ve Burton, 1948; Land ve ark., 1975; Pincus ve ark., 2007; Swinne, 2004; Hopkins ve ark., 1977). Klasik yöntemlerle mayaların tür düzeyinde tanımlanması uzun ve karmaşık yöntemleri gerektirmektedir. Dolayısıyla bu yöntemlerin zaman alması ve zahmetli olması nedeniyle rutin tanımlama işlemlerinde uygulanması uygun değildir (Couto ve ark., 1994; Deak, 1995; Deak ve Beuchat, 1996; Barnett ve ark., 1990; Krejer-van Rij, 1987; Lin ve Fung, 1987). Klasik yöntemler, güvenilirliğinin az olmasının yanında izolatlar arasındaki akrabalık derecelerinin belirlenmesi içinde yeterli olmamaktadır (Mozina ve Raspor, 1996). Aynı taksona farklı isimleri vermesi veya aynı taksonların farklı gruplarda sınıflandırması klasik tanımlama yöntemlerinde karşılaşılan en önemli problemler arasında yer almaktadır. Ayrıca, bu alanda yapılmış olan çalışmalarda hatalı yapılan tür tanımlamalarının sayısı da oldukça fazladır (Reynolds ve Taylor, 1992).

Geleneksel tanımlama yöntemlerinin yanında mayaların hızlı bir şekilde tanımlanması için ticari tanımlama kitleri geliştirilmiştir. Günümüzde, klinik olarak önemli olan maya türlerinin tanımlanmasında bu kitler kullanılmaktadır. Ancak kullanılan bu tanımlama yöntemlerinin güvenilirliği de %100 değildir (Spencer ve ark., 2011). Ticari

olarak kullanılan tanımlama kitlerinden bazıları şunlardır; API 20C AUX (bioMerieux), RapID Yeast Plus System (Remel, Inc.), ID 32C (bioMerieux), VITEK II ID-YST (bioMerieux), The VITEK 2 YST (bioMerieux) ve Uni-Yeast-Tek (UYT) system (Remel, Inc.) (Pincus ve ark., 2007).

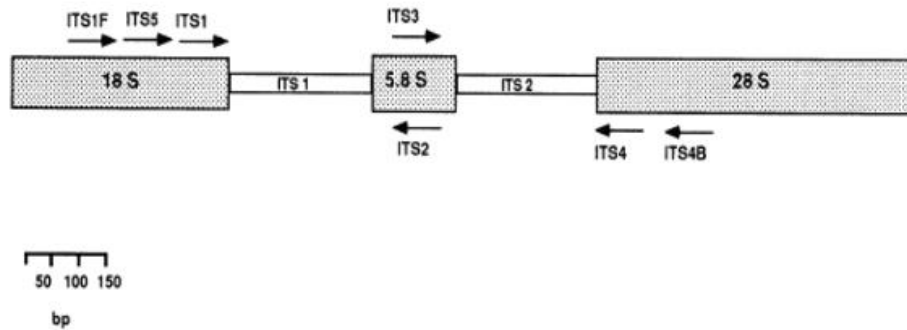
Moleküler tanımlama yöntemlerinin öncesinde kullanılan klasik yöntemlerin çok zaman alması ve yapılan tanımlama işlemlerinde zaman zaman farklı sonuçlar vermesinden dolayı araştırmacılar bu yöntemlerin yerine moleküler tanımlama yöntemlerine doğru yönelmektedir (Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). Çünkü PCR ve gen ilişkili sekanslar patojen olan mayaların büyük bir kısmının doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanmasına olanak sağlamaktadır (Pincus ve ark., 2007). Yapılan gen analizleri canlıların genetik anlamda yakınlıklarının belirlenmesinde oldukça fazla avantajlar sağlamaktadır. Fungal taksonomi çalışan bilim insanları için moleküler tanımlama yöntemlerinin avantajı moleküler biyolojiye çok sayıda yeni programlar (biyoinformatik gibi) sağlamasıdır (Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

Moleküler biyoloji alanında görülen gelişmelere paralel olarak yeni tür tanımlama yöntemleri de gelişmiştir. Bu yöntemlerin temelinde DNA analizleri yer almaktadır (Ness ve ark., 1993). Son yıllarda bu alanda görülen gelişmeler maya türlerinin tanımlanması için yeni yaklaşımların oluşmasını sağlamıştır (Querol ve Ramon, 1996). DNA-DNA hibridizasyonu, mikrosatellit analizleri, mitokondriyal DNA polimorfizmi (mtDNA), rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA; RAPD) ve restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) gibi farklı moleküler teknikler maya suşlarının identifikasyonu için kullanılmaya başlanmıştır (Torok ve ark., 1993; Vaughan Martini ve Martini, 1985; Vaughan Martini ve Martini, 1987; Baleiras Couto ve ark., 1996; Baleiras Couto ve ark., 1994; Lopandic ve ark., 1996; Quesada ve Cenis, 1995; Versavaud ve Hallet, 1995; Belloch ve ark., 1997; Guillamon ve ark., 1994; 1997; Ibeas ve ark., 1997; Nadal ve ark., 1996; Perez ve ark., 1995; Querol ve ark., 1992, Romano ve ark., 1996; Sabate ve ark., 2002). Bu yöntemlerin hızlı ve klasik yöntemlere göre daha fazla güvenilir olmasının yanı sıra bazı maya türlerinin tanımlanmasında yeterli olamamaktadır (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999; Taylor ve ark., 2000).

Mayaların moleküler yöntemlerle tanımlanmasında genellikle ribozomal DNA (rDNA) bölgelerinin sekans analizleri son yıllarda oldukça fazla kullanılmaktadır.

Ribozomlar protein sentezinden sorumlu olan ve çok iyi korunmuş büyük ribonükleotit yapılarıdır. Tüm ökaryotik hücrelerde olduğu gibi maya hücrelerinde de ribozomlar büyük (60S) alt ünite (Large subunit, LSU) ve küçük (40S) alt ünite (Small subunit, SSU) olmak üzere iki alt üniteden oluşmuştur. LSU birimleri 25S, 5.8S, 5S ribozomal RNA molekülleri ile 42 proteinden, SSU birimleri ise, 18S ribozomal RNA molekülü ve 32 proteinden meydana gelmektedir (Venema ve Tollervey, 1999; Verschoor ve ark., 1998). rDNA genleri üzerinde 18S, 5.8S ve 26/28S bölgeleri kodlama yapan bölgelerdir (Pincus ve ark., 2007). Kodlama yapan bu genler arasında (rRNA genleri) ayrıca Internal Transcribed Spacer (ITS1, ITS2) ve External Transcribed Spacer (5' ETS , 3' ETS) olarak tanımlanan bölgeler bulunmaktadır. RNA polimeraz I tarafından transkribe olan bu bölgeler içerisinde transkribe olmayan Intergenic Spacer (IGS) veya Non-transcribed Spacer (NTS1, NTS2) adı verilen kısımlar ile birbirlerinden ayrılırlar (Şekil 1.1.) (Venema ve Tollervey, 1999; Johnston ve ark., 1997).

Ribozomal DNA tarafından kodlanan rRNA genleri mayalarda genetik farklılıkların ve taksonomik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca mikroorganizmalar arasındaki evrimsel bağlantılara göre filogenetik ağaçların oluşturulmasında da bu bölgeler kullanılmaktadır (Madigan ve ark., 2003). Nükleer rRNA genleri genom üzerinde ortalama birkaç yüz kopya olarak bulunabilir. Maya hücrelerindeki rRNA bölgeleri oldukça iyi korunmuş bölgelerden ve değişken bölgelerden meydana gelmiştir. Korunmuş olan bölgeler kullanılarak tür-spesifik veya cins-spesifik olan evrensel primerler de tasarlanabilmektedir (Şekil 1.2.) (Pincus ve ark., 2007).



Şekil 1.1. Maya hücrelerinde bulunan rDNA bölgeleri (Venema ve Tollervey, 1999; Johnston ve ark., 1997)

| Primers | Nucleotide sequence (5' to 3') | rDNA Target |
|---------|-----------------------------------|-------------|
| ITS1 | TCC GTA GGT GAA CCT GCG G | 18S |
| ITS2 | GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC | 5.8S |
| ITS3 | GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC | 5.8S |
| ITS4 | TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC | 26S |
| ITS5 | GGA AGCT AAA AGT CGT AAC AAG G | 18S |
| 1 | GTC AAA CTT GGT CAT TTA | 18S |
| 1a | GTC AAA CCC GGT CAT TTA | 18S |
| 2 | CCA AGA GAT CCA/GTTGTT | 5.8S |
| 3 | TTC TTT TCC TCC GCT TAT TGA | 26S |
| Uni-F | GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAA G | 26S |
| Uni-R | GGT CCG TGT TTC AAG ACG | 26S |

Şekil 1.2. Evrensel fungal primer örnekleri (Pincus ve ark., 2007)

rDNA üzerinde transkripsiyona uğramayan bölgeler diğer korunmuş olan 25S, 5.8S, 18S ve 5S alt birim dizilerinden değişkendir. Bu değişkenlik türler arası (interspesifik) ve tür içi (intraspesifik) popülasyon farklılıklarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Tür içi akrabalık derecelerinin belirlenmesinde ITS bölgeleri ve korunmuş 5.8S gen bölgesi kullanılırken, 18S ve 25S gen bölgeleri türler arası akrabalık derecelerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Cai ve ark., 1996; James ve ark., 1996; Kurtzman, 1992, 1993). Ayrıca ITS bölgelerinin tür içi polimorfizminin az olması ve türler arası polimorfizminin yüksek olması ribozomal bölgelerin ko-evriminin (concerted evolution) bir sonucudur (Li, 1997). Kodlanmayan ITS bölgeleri korunmuş 18S ve 5.8S arasında ITS1 ve 5.8S ile 25S arasında da ITS2 bölgesi yer almaktadır. ITS bölgeleri yaklaşık olarak 400 ile 800bp uzunlukta olup evrensel primer çifti kullanılarak PCR ile çoğaltılabilmektedir. Korunmamış değişken bölgeler oldukları için filogenetik çalışmalar için kullanılmaktadır. Ayrıca tür-spesifik ITS problemleri kolaylıkla üretilebilmektedir. Bu nedenlerden dolayı maya türlerinin moleküler yöntemler kullanılarak sınıflandırılmasında ve filogenetik çalışmalarda ITS bölgelerinden yararlanılmaktadır (White ve ark., 1990; Bruns ve ark., 1991; Lee ve Taylor, 1992). Son yıllarda 5.8S ve ITS rDNA bölgelerinin PCR-RFLP ve DNA dizi analizi yöntemleriyle çalışılmasıyla maya türlerinin kısa sürede tanımlaması yapılmaktadır. (Clemente-Jimenez ve ark., 2004; Combina ve ark., 2005; Nisiotou ve Nychas, 2007; Zott ve ark., 2008). Canlı hayatını doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyen mayaların kısa sürede ve güvenilir bir şekilde tanımlanması hastalıklara karşı uygun tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine imkan sağlamaktadır. Ayrıca hastalıkların tanı ve tedavisinin yanında endüstriyel alanda da karşılaşılan sorunların önüne geçebilmek için mayaların hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlanması gerekmektedir (Pincus ve ark., 2007; Hierro ve ark., 2004).

Moleküler biyoloji ve DNA dizi analizleri alanındaki gelişmeler ve bu yollarla elde edilen verilerin analiz ve değerlendirmelerinin yapılması sonrasında araştırmacıların verilere ulaşabilmeleri için birçok veritabanı oluşturulmuştur (Akçalı, 2008). Dizi analiz çalışmaları sonucunda elde edilen verilerin doğru bir şekilde değerlendirilmesi birçok bilim dalını içine alan Bioinformatik biliminin ortaya çıkmasına neden olmuştur (Karabulut ve Karaoğlu, 2010; Polat ve Karahan, 2009). Biyoinformatik bilimi 20. yüzyılda moleküler biyoloji ve bilgisayar alanında bir devrim niteliğindedir. Organizmalar arasında protein, gen ve DNA'nın bilgisayar veritabanlarında karşılaştırılması için kullanılmaktadır (Pevsner J., 2009). Günümüzde protein ve DNA sekans dataalarını içeren üç büyük veritabanı bulunmaktadır. Bu veri tabanları; Uluslararası Nükleotit Sekans Veritabanı işbirliği (INSDC) tarafından kontrol edilen, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center of Biotechnology Information -NCBI) içinde GenBank, Japonya'da Ulusal Genetik Enstitüsü (National Institute of Genetics in Japan - DNA veri tabanı (DNA Database in Japan-DDBJ) ve İngiltere'deki Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü'nde (European Bioinformatik Institute - EBI) de Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı (European Molecular Biology Laboratory - EMBL) nükleotit sekans veri tabanıdır (Benson ve ark., 2009; Miyazaki ve ark., 2004; Kulikova ve ark., 2007).

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) programı (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) NCBI tarafından araştırmacılara sunulan, protein ve nükleotit sekans benzerliklerinin araştırılması için tasarlanan bir programdır (Altschul ve ark., 1990, 1997). NCBI tarafından sağlanan GenBank ise nükleotit dizilerinin ve bu dizilere ait bilgilerin depolandığı bir veri tabanıdır. BLAST analizi ile organizmaların ilgili gen bölgelerinin nükleotit veya aminoasit dizileri GenBank veri tabanında yer alan diğer sekanslar ile karşılaştırılabilmektedir. Analiz sonucunda en yüksek değerde benzerlik gösteren eşleşme yüzdeleri verilmektedir. BLAST programı kullanımının kolay olması ve yapılan çalışmalarda hızlı sonuç vermesi nedeniyle oldukça önemlidir. Ayrıca BLAST aracılığıyla, üzerinde çalışılan mikroorganizmaya ait dizi sonuçlarıyla genetik analizler ve genotiplendirme çalışmaları da yapılabilmektedir (Kalaycıoğlu, 2013; Johnson ve ark., 2008; Altschul ve ark., 1997).

Rubus idaeus L. (Ahududu), *Rosaceae* (gülğiller) familyasının, *Rosoideae* alt familyasının *Rubus* cinsine ait bir bitkidir. Ahududu bitkisi, büyük oranda Kanada'da, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Avrupa'da yetiştirilmektedir (Wang ve ark., 2005). Türkiye'nin kuzey bölgesinde doğu-batı boyunca ve yaklaşık 1000 m yükseltide, nemli

alanlarda doğal olarak bulunur. İnsan sağlığı için de önemi olan ahududu meyvesinin şeker içeriğinin fruktoz olması şeker hastalarının da kullanabilmesine olanak sağlamaktadır. Soğuk algınlığı ve ateşli hastalıklarda, eczacılıkta şuruplara tat ve koku vermek amacıyla kullanılmaktadır (Göktaş, 2011). Ayrıca ahududu meyveleri fruktozun yanında değişik asitler ve antosiyanin pigmentleri gibi flavonoidleri içerdiğinden şarap üretiminde kullanılmaktadır. Ahududu meyvelerinden şarap üretiminde *Saccharomyces cerevisiae* maya suşlarından faydalanılmaktadır (Duarte ve ark., 2010).

Punica granatum L. (Nar), *Punicaceae* (nargiller) familyasında *Punica* cinsine ait bir bitkidir. Nar bitkisi tropik ve subtropik iklimde ve ahududu gibi 1000 m üzerindeki alanlarda yetişmektedir. İran orijinli bir bitki olup Hindistan, Amerika, Yakın ve Uzakdoğu ülkelerinde de üretimi yüksektir. Türkiye’de nar üretiminin en yoğun olduğu bölgeler ise Akdeniz, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleridir (Gölükcü ve ark., 2007). Nar içerdiği maddeler ve besin değeri bakımından incelendiğinde tıbbi bitki olarak ilaç sanayinde kullanılmaktadır. Narın yapısında bulunan polifenolik asitler, özelleşmiş ellagik asit ve punikalaginler antioksidan etki göstermektedir. Nar suyu içerdiği şeker miktarının iyi olması nedeniyle şarap üretiminde kullanılmaktadır. (Sevda ve Rodrigues, 2011). Ayrıca nar meyvesinin meyve ekstraktlarının anti fungal ve anti mikrobiyal etkileri de bulunmaktadır (Dağcı ve Dığrak, 2005).

Meyvelerin olgunlaşmasında, şeker içeriğinin oluşmasında ve çeşitli fermente ürünlerin eldesinde mayaların fonksiyonu oldukça önemlidir. Çalışma kapsamında nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen maya türlerinin klasik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanması ve maya türlerine ait hücre dışı enzim aktivitelerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu bağlamda endüstriyel alanda önemi olan bir enzimi üretebilen maya türleri de belirlenmesi planlandı.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Klinik olarak önemli birer patojen olan iki *Candida* türünün PCR-RFLP yöntemiyle tanımlamalarının yapıldığı bir araştırmada, öncelikle *Candida albicans* ve *C. dupliniensis* türlerinin D1/D2 ribozomal bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. Elde edilen ampliconlar *ApaI* ve *BsiEI* restriksiyon enzimleri kullanılarak kesilmiştir. Buna göre *ApaI* enzimi her ikisinde de aynı şekilde kesim yapmıştır. *BsiEI* enzimi ise *Candida albicans* türünde tek kesim bölgesi bulunurken, *C. dupliniensis* türünde kesim bölgesinin bulunmadığını belirlemişlerdir. Buna göre bir biri ile yakın akraba olan ve klasik yöntemlerle identifikasyonlarında ayıramayan bu iki tür PCR-RFLP yöntemiyle farklılaşmıştır. Daha sonra 10 referans maya suşunu (*C. albicans* (SC 5314); *C. dubliniensis* (CBS 7987); *C. glabrata* (ATCC 2001); *C. guilliermondii* (CBS 6021); *C. kefyr* (CBS 6432); *C. krusei* (ATCC 6258); *C. lusitaniae* (CBS 6936); *C. parapsilosis* (ATCC 22019); *C. tropicalis* (CBS 8072); *T. asahii* (CBS 2479)) seçerek iki türün farklı olduğunu göstermişlerdir (Liu ve ark., 2012).

Benzer bir çalışmada, Orpinomyces ve Anaeromyces anaerobik polisentrrik fungi cinslerinin farklılıklarının belirlenmesinde DNA sekansı kullanmadan moleküler bir yaklaşım olan PCR-RFLP yönteminin doğruluğu ve güvenilirliği analiz edilmiştir. PCR amplifikasyon ürünlerinin küçük altbirim (SSU, 18S rDNA), büyük altbirim (LSU, 28S rDNA) ve ITS bölgeleri dört farklı restriksiyon enzimi (*AluI*, *DraI*, *HinfI* ve *MboI*) kullanılarak kesimleri yapılmıştır. SSU rDNA bölgesinin kullanılan tüm restriksiyon enzimlerine ait kesim bölgelerinin olduğu ancak herhangi bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca LSU rDNA bölgesinin *AluI* ve *HinfI* enzimleri ile elde edilen kesimleri sonucunda Orpinomyces ve Anaeromyces cinsleri arasında restriksiyon modellerinde polimorfizm olduğu ve ITS fragmentinin ise *DraI* ve *HinfI* enzimleri ile kesildiği görülmüştür. Yapılan analizler sonucunda ise iki polisentrrik anaerobik fungilerin (Orpinomyces ve Anaeromyces) cins spesifik RFLP modelleriyle farklılıkların belirlenmesinde PCR-RFLP yönteminin kolay ve hızlı olduğu belirlenmiştir (Fliegrova ve ark., 2006).

2003 yılında yapılan başka bir araştırmada ise portakal meyvesi ve meyve suyundan, doğal fermantasyon sürecinde izole edilen maya örneklerinin ITS1-5.8S rDNA ITS2 bölgeleri polimer zincir reaksiyonları ile çoğaltılmıştır. Bu bölgeye ait ampliconların üç farklı restriksiyon enzimi (*CfoI*, *HaeIII* ve *HinfI*) kullanılarak restriksiyon kesimleri

yapılarak maya örnekleri arasındaki polimorfizm belirlenmiştir. PCR ürünlerinin sekans analizleriyle de tür tanımlaması yapılmıştır. Çalışma sonucunda, *Candida tropicalis*, *Clavispora lusitaniae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia anomalat*, *Pichia fermentans*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces unisporus* ve *Trichosporon asahii* türleri tanımlanmıştır (Rodríguez-Vico, 2003).

Rusya'nın polar enlemdaki ormanlarında bulunan 5 farklı familyaya ait, ahududunun da dahil olduğu 12 farklı taneli yumuşak meyveden maya izolasyonu yapılmıştır. İzolasyonu yapılan maya hücrelerinin klasik yöntemler kullanılarak tür tanımlaması yapılmıştır. Araştırma sonucunda *Candida apicola*, *Candida krusei*, *Candida molishiana*, *Candida quercitrusa*, *Candida sake*, *Candida santamariae*, *Debaryomyces hansenii*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Metschnikowia reukaufii*, *Bullera armeniaca*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus flavus*, *Cryptococcus gastricus*, *Cryptococcus hungaricus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus luteolus*, *Cryptococcus magnus*, *Cryptococcus skinneri*, *Cryptococcus terricolus*, *Cyotofilobasidium capitatum*, *Cyotofilobasidium infirmo-miniatum*, *Leucosporidium antarcticum*, *Leucosporidium scottii*, *Rhodotorula aurantiaca*, *Rhodotorula buffonii*, *Rhodotorula fujisanensis*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula hylophila*, *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula muscorum*, *Trichosporon cutaneum* ve *Trichosporon pullulans* olmak üzere 32 farklı maya türünün taneli meyveler üzerinde dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Babjeva ve Reshetova, 1998). Özellikle *C. laurentii* maya türünün taneler üzerinde çok yoğun (%60) olarak bulunduğu gözlenmiştir. Yapılan bu çalışmada maya türlerinin tanımlanması için klasik yöntemler kullanılmış, ancak moleküler yöntemler kullanılmamıştır.

Quarel ve arkadaşları (2006) tarafından yürütülen bir çalışmada; İspanya'nın Kanarya adalarında, Tenerife bölgesindeki şarap mahzenlerinden izole ettikleri doğal maya türleri moleküler yöntemlerle tanımlanmıştır. Yapılan araştırmada şarap üretimi sırasında gerçekleşen fermantasyon olayının başlangıcında, ortasında ve son aşamasında toplanılan örneklerden maya türleri izole edilmiştir. İzole edilen maya suşlarının ITS 5.8S rRNA bölgesi ITS1 (Forward) ve ITS4 (Reverse) evrensel primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri *CfoI*, *HaeIII* ve *HinfI* restriksiyon enzimleri ile restriksiyon kesimleri yapılmıştır. Restriksiyon ürünlerinin moleküler ağırlıklarının karşılaştırılması Esteve-Zarzoso ve arkadaşlarının (1999) belirlediği yöntemle yapılmıştır (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999). Fermantasyonun başlangıcında *Candida sp.*, *Candida amapae*, *Candida apicola*, *Candida diversa*, *Candida glabrosa*, *Candida maritima*, *Candida*

parapsilosis, *Candida solani*, *Candida stellata*, *Candida vinnaria*, *Candida vanderwaltii*, *Cryptococcus bhutanensis* veya *Cryptococcus kuetzingii*, *Cryptococcus laurentii*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Debaryomyces hansenii*, *Torulospira globosa* veya *Debaryomyces pseudopolymorphus*, *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia fermentans*, *Pichia galeiformis*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia kluyveri*, *Pichia petersonii*, *Pichia populi* veya *Pichia thermotolerans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulospira delbrueckii*, *Zygosaccharomyces florentinus*, orta evrede hakim olan maya türleri; *Candida sp.*, *Candida amapae*, *Candida vanderwaltii*, *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia kluyveri*, *Rhodotorula glutinis* veya *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailli*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces cidri* veya *Zygosaccharomyces fermentati* maya türlerinin ve fermantasyonun son aşamasında ise *Zygosaccharomyces bisporus*, *Hanseniaspora uvarum* ve *Saccharomyces cerevisiae* türlerinin hakim olduğu belirlenmiştir. Ayrıca alkolik fermantasyonun son aşamasında *Saccharomyces cerevisiae* türünün tüm bölgelerde hakim tür olduğu da rapor edilmiştir.

Rusya, Belarus ve Ukrayna bölgelerinden toplanan kırmızı taneli meyvelerin (ahududu, böğürtlen, erik, üzüm, v.b) şaraplarından izole edilen *Saccharomyces* türlerinin genom karakterizasyonu çoklu PCR ve moleküler karyotipleme yöntemleri kullanılarak yapılmış, izolasyonu yapılan türlerin tümünün *S. cerevisiae* olduğu tespit edilmiştir (Ivannikova ve ark., 2007). *Torulopsis pustula*, *Torulopsis bacarum* ve *Torulopsis multigemmis* kuş üzümü, çilek ve ahududu gibi yumuşak meyvelerden izole edilerek klasik yöntemlerle tanımlanan ve yeni tür olarak belirlenen ilk maya türleridir (Buhagiar, 1975).

Yapılan başka bir çalışmada, Bulgaristan bölgesinde üretilen süt ürünlerinden izole edilen maya türleri morfolojik, fizyolojik ve kültürel testler kullanılarak belirlenmiştir. Araştırma kapsamında farklı süt ürünlerinden (inek peyniri, keçi peyniri, kaymak, tereyağı, inek yoğurdu ve keçi yoğurdu) 12 maya izole edilmiştir. Bu maya türleri morfolojik olarak gruplandırılmış ve ardından fizyolojik ve biyokimyasal olarak farklı testlere tabi tutulmuştur. Elde edilen veriler Kreger van Rij (1987), Barnett ve arkadaşları (1990) ve Kurtzman (1998) tarafından belirlenen yöntemler kullanılarak analizleri yapılmış ve tür tanımlaması yapılmıştır. Çalışma sonucunda *Kluyveromyces marxianus*, syn. *Saccharomyces fragilis*, (Ta), *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus* (Pr), *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (C6), *Kluyveromyces lactis* var. *lactis* (K8), *Trichosporon beigeli* (K1), *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii* (K7), *Candida famata*,

Candida sphaerica (M), *Issatchenkia orientalis* türünün anamorfu *Candida crusei*, (C3), *Candida rugosa*, syn. *Mycoderma rugosa*, *Mycotorula rugosa* (K11) ve *Rhodotorula mucilaginosa* (Rr) türleri tanımlanmıştır. Ayrıca inek yoğurdunda, *Kluyveromyces marxianus*, keçi yoğurdunda *Trichosporon beigeli*, *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii*, *Candida crusei*, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* ve *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus*, *Candida rugosa*, kaymakta; *Candida famata* var. *famata*, *Candida sphaerica*, inek ve keçi peynirinde; *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii*, *Kluyveromyces lactis* var. *lactis*, *Candida famata* var. *famata*, *Candida sphaerica*, *Candida famata*, tereyağında; *Rhodotorula mucilaginosa* ve *Candida sphaerica* türlerinin yayılış gösterdiği belirlenmiştir (Savova ve Nikalova, 2002; Barnett ve ark., 1990; Kreger van Rij, 1987; Kurtzman ve Fell, 1998).

Bazı taneli meyvelerin, değişik üzüm çeşitlerinin ve sitrus meyvelerinin üzerindeki maya ve küf florasını belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada maya yoğunluğunun ortalama olarak taneli meyveler üzerinde oldukça düşük olduğu (%5) belirlenmiştir. Taneli meyveler üzerinde yer alan maya florasının düşük yoğunlukta olmasının sebebi, sterilizasyon aşamasında meyve yüzeyinde yer alan maya türlerinin kaybedilmesinden dolayı olabileceği rapor edilmiştir (Tournas ve Katsoudas, 2005).

Yaygın olarak görülemeyen 60 maya suşu kullanılarak ticari tanımlama yöntemleri ile moleküler düzeyde tanımlama yöntemlerinin karşılaştırıldığı ve tüm maya suşlarının moleküler olarak daha kolay ve doğru tanımlandığının belirlendiği bir araştırmada, bazı maya suşlarının sadece moleküler yöntemler ile tanımlanabildiği gösterilmiştir (Gomez-Lopez ve ark., 2010).

Benzer bir şekilde, 2010 yılında veteriner kliniklerinden toplanan maya suşlarının moleküler olarak substrat asimilasyonu, yağ asidi profil analizi ve sekans temelli analizlerin karşılaştırılmasını yaparak, sekans temelli tanımlama yöntemlerinin geleneksel yöntemlere göre daha doğru sonuçlar verdiğini göstermişlerdir. Ayrıca D1/D2 bölgelerinin sekans analizleriyle yapılan tür tanımlamalarının veteriner örneklerinin tanımlanmasında en iyi metot olduğu gösterilmiştir (Altier ve ark., 2010).

2005 yılında yapılan bir araştırmada medikal olarak önemli olan maya suşlarının ITS bölgelerinin sekans analizleri ile geleneksel yöntemlerle yapılan tanımlamaları karşılaştırılmıştır. 373 maya izolatına ait ITS1 ve ITS2 bölgelerinin sekans analizini kullanarak tür tanımlaması yapmışlardır. Yapılan analizler sonucunda ITS2 bölgesinin tür

spesifik tanımlamada ITS1'e göre daha güvenilir olduğu gösterilmiştir. Araştırmanın sonucunda ITS bölgelerinin tür tanımlamada geleneksel yöntemlere göre daha hızlı, güvenilir ve doğru tanımlama yaptığı ifade edilmiştir (Chain Chang ve ark., 2005).

Ahududu şarapları üzerine yapılan bir çalışmada şarap üretiminde kullanılan 16 farklı *S. cerevisiae* ve *S. bayanus* maya suşundan, UFLA-FW15 *S. cerevisiae* maya suşunun düşük asit konsantrasyonunda, yüksek asetat ve alkol konsantrasyonlarında ve esterler içerisinde fermente olabildiği gösterilmiştir (Duarte ve ark., 2010).

Yapılan başka bir çalışmada ise greyfurt (*Citrus paradisi*), ayva (*Cydonia oblonga*), muz (*Musa sapientum*) ve nar (*P. granatum*) meyve suları ile kabuk ekstraktlarının farklı bakteri ve maya türlerine (*Kluyveromyces fragilis* DC98, *Rodotorula rubra* DC86 ve *S. cerevisiae* WET136) karşı antibakteriyal ve antifungal etkisi araştırılmıştır. Elde edilen meyve ekstraktlarından en yüksek antifungal ve antibakteriyal aktivitenin nar meyvesine ait olduğu tespit edilmiştir (Dağcı ve Dığrak, 2005).

Nar meyvesinin de dahil olduğu başka bir çalışmada, 17 farklı meyve türü üzerinden izole edilen mayalar koloni morfolojilerine göre ve Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD) analizi sonucunda elde edilen verilere göre gruplandırılmış ancak tür tanımlamaları yapılmamıştır. Ancak çalışmada nar yüzeyinden izole edilen mayaların koloni morfolojileri krem renkli, dairesel yapılı, pürüzsüz, parlak ve yoğun olarak belirtilmiştir (Lathar ve ark., 2010).

Garcia-Martos ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Cryptococcus* cinslerine ait 11 maya suşunun enzim profili belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar incelendiğinde *Cr. laurentii* ve *Cr. neoformans* türlerinin kendi içinde farklı enzim profiline sahip olduğu görülmüştür (Garcia-Martos ve ark., 2001).

Erzincan tulum peynirinden izole edip, API ID32 identifikasyon kiti kullanarak 146 maya izolatınının tanımlandığı bir çalışmada. İzole edilen maya örneklerinden 121 izolat tür bazında, diğer 6 izolat ise cins bazında tanımlanabilmiş ve Erzincan tulum peyniri maya florasında *Candida lambica*, *C. zeylanoides*, *C. famata* var *famata*, *Geotricum candidum* ve *C. kefir* türlerinin yoğun olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Çalışmalarının devamında ise elde edilen izolatların hücre dışı enzim aktivitelerini API ZYM test sistemi kullanarak belirlemişlerdir. *S. cerevisiae*, *Z. mellis*, *G. candidum* ve *P. fermentans* türlerinden yüksek lözin arilamidaz aktivitesi, izolatların çoğunda β -galactosidase, acit

fosfataz ve esteraz lipaz (C8) aktivitesi, *Candida lambica* türünde ise yüksek asit fosfataz aktivitesinin varlığını belirlemişlerdir (Karasu-Yalçın ve ark., 2012).

Ege bölgesinde üretilen zeytinyağlarından izole edilen maya örneklerinin moleküler yöntemler kullanarak tanımlamalarının yapıldığı bir araştırmada, farklı ortam koşullarının maya hücrelerinin enzim üretme potansiyelleri de incelenmiştir. Sonuç olarak lipaz üretme potansiyeline sahip maya türleri belirlenmiş ve *Candida odintsovae* türünün lipaz üreten bir maya türü olduğunu göstermişlerdir (Yalçın ve ark., 2014).

API ZYM test sistemi kullanılarak yapılan başka bir araştırmada, çeşitli hastalardan izole edilen 41 *Cryptococcus neoformans* maya türünün hücre dışı enzim aktiviteleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda, tüm suşlarda esteraz aktivitesinin bulunduğu tespit edilmiştir, ancak alkalik fosfataz, sistin arilamidaz, tripsin, kimotripsin, α -galaktosidaz, β -glukuronidaz, α -mannosidaz ve α -fruktosidaz enzimlerinde herhangi bir aktiviteye rastlanmamıştır. Diğer enzimler içinde farklı derecelerde aktivite olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmayla *Cryptococcus neoformans* türleri arasındaki enzimatik aktivite farklılıklarıyla oluşacak bir enzimatik profilin, klinik olarak önemli olan bu türlerin identifikasyonunda kolaylıklar sağlayacağı belirtilmiştir (Vidotto ve ark., 1998).

Ahududu ve nar meyveleri üzerinden izole edilen maya suşlarının moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanması şu ana kadar yapılmamıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda geleneksel ve moleküler tanımlama yöntemlerinin karşılaştırılması sonucunda moleküler temelli çalışmaların daha güvenilir olduğu gösterilmiştir. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda geleneksel tür tanımlama yöntemlerinin yanında PCR-RFLP yöntemi ve ITS1-5.8S rDNA-ITS2 gen bölgesine ait PCR ürünlerinin DNA dizi analiz yöntemleri kullanılarak maya suşlarının identifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Nar ve Ahududu Örneklerinin Toplanması ve Maya İzolasyonu

Marmara Bölgesinde yer alan Gelibolu Çanakkale ilinin bir ilçesi olup tarihi açıdan oldukça büyük bir öneme sahiptir. Çalışmamızda kullanılan nar ve ahududu örnekleri ağırlıklı olarak Gelibolu ilçesine bağlı Koruköy mevkiinden toplanmıştır. (Şekil 3.1). Koruköy coğrafik konum olarak 40°51'50" kuzey enlemi, 26°37'20" doğu boylamındadır.



Şekil 3.1. Koruköy/Gelibolu mevkisini gösteren harita

Nar ve ahududu örnekleri meyvelerin olgunlaşma dönemlerine göre aseptik koşullarda toplandı ve laboratuvara getirildi. Maya örneklerinin tartımları yapıldıktan sonra steril sodyum sitrat çözeltisi (% 2) içerisinde homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Homojenize edilen örnekler uygun seyreltmeleri yapılarak sodyum propiyonat içeren YGC (40 gr/l Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar, % 0.1 Sodyum Propiyonat) katı besi ortamlarına yayma ekim yöntemiyle ekildi ve 27-30 °C'de 2-3 gün süreyle inkübe edildi. Inkübasyon sonrası üreme gösteren maya suşlarının koloni oluşturabilen değerleri CFU/gr olarak hesaplandı. Farklı koloni morfolojisi gösteren maya suşları öncelikli olmak üzere rastgele maya suşları seçilerek % 2 glikoz içeren YPD (10 gr/l (w/v) Yeast Extract, 20 gr/l (w/v) Bacto-peptone, 20 gr/l (w/v) Agar) katı besi ortamlarına geçirildi. İzole edilen maya suşlarına uygun kod numaraları verilerek %20 gliserol içerisinde ileride yürütülecek olan çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'de stoklandı.

3.2. İzole Edilen Maya Örneklerinin Tür Tanımlamaları ve Gruplandırılmaları

Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilerek -80°C'de saklanan maya suşları YPD katı besi ortamlarına 5µl alınarak drop ekimleri yapıldı ve 27-30 °C'de 3-5 gün inkübe edildi. Üreme gösteren maya suşları öncelikli olarak koloni morfolojilerine göre (renk, şekil, büyüklük, v.s.) gruplandırıldı. Üreme göstermeyen maya suşları ise çalışmadan ve stoklardan çıkartıldı. Daha sonra üreme gösteren maya suşlarının tür tanımlamaları için API ID 32C (Analytical Profile Index) kit sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanıldı. API ID 32C sistemi, bir tane negatif kontrol olmak üzere farklı karbon ve azot kaynaklarını (Galactose, Actidion, Sucrose, N-Acetyl-glucosamine, DL-Lactate, LArabinose, Cellobiose, Raffinose, Maltose, Trehalose, 2-Keto-gluconate, a-Methyl-D-glucoside, Mannitol, Lactose, Inositol, Sorbitol, DXylose, Glycerol, Rhamnose, Palatinose, Erythritol, Melibiose, Glucuronate, Melezitose, Gluconate, Levulinate, Glucose, Sorbose, Glucosamine, Esculin) içeren 32 kuyucuktan oluşan mikro ölçekli bir asimilasyon test sistemidir. İzole edilen maya suşlarının tür tanımlamaları firmanın önerdiği şekilde yapıldı. Test sonucunda elde edilen sonuçlar APIWEB R1.2.1 programı kullanılarak analiz edildi ve maya suşlarının tür tanımlamaları yapıldı.

3.3. Genomik DNA İzolasyonu

İzole edilen maya suşlarının genomik DNA izolasyonları Sherman ve arkadaşlarının (1986) genomik DNA izolasyon yöntemi kullanılarak yapıldı (Sherman ve ark., 1986). Bu amaçla seçilen maya örnekleri YPD besi ortamında 28-30°C'de 3 gün inkübe edildi. Maya hücreleri çöktürülerek steril distile su ile yıkandıktan sonra, maya hücreleri üzerine 500 µl 1M sorbitol ve 100 µl 0.5 M EDTA ilave edildi. Elde edilen hücre süspansiyonuna 30 µl Lyticase (0.391µg/µl) enzimi eklenerek 37°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücreler çöktürülerek sıvı kısım atıldı ve pellet üzerine 500 µl 50mM Tris, 20 mM EDTA (pH 7.5) eklenerek süspanse edildi. Hücre süspansiyona 50 µl %10 SDS eklenerek 65°C'de 30 dakika inkübe edildi. Bu aşamadan sonra karışıma 300 µl 3M K, 5M asetat (pH 5.8) eklendi ve 60 dakika buz içerisinde bekletildi. Sentrifugasyon sonrası supernatant kısmı yeni tübe transfer edilerek üzerine 1:2 hacim olacak şekilde %70'lik etanol eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakikalık inkübasyon sonrasında 20 dakika 12K rpm'de santrifüj edildi. Sıvı kısım atılarak oda sıcaklığında kurutulan tüplere 100 µl TE (pH 7.5) ilave edildi ve iki kez fenol-kloroform ekstraksiyonu (1:1 hacim) uygulandı. Steril tüplere geçirilen sıvı faza 30 µl 3M K, 5M asetat (pH 5.8) eklendikten sonra 200 µl absolut etanol ilave edilerek buz içerisinde 5 dakika bekletildi ve sıvı kısım atıldı. Tüplere 1 ml %70

etanol eklenip çöktürüldü ve sıvı kısım atılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Tüpte bulunan genomik DNA 100 µl TE (pH 8.0) içinde çözülerek -20 °C’de stoklandı. Genomik DNA’nın saflığı ve miktarı spektrofotometre (260/280nm) kullanılarak belirlendi. Ayrıca 5µl genomik DNA % 0,8 (w/v) agaroz jelde görüntülendi.

3.4. ITS1- 5,8S- ITS2 Bölgelerinin Amplifikasyonu

İzole edilen maya türlerine ait genomik DNA kullanılarak ITS1-5.8S rDNA-ITS2 bölgeleri, mayalar için evrensel olan ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primerleri kullanılarak daha önceden rapor edilerek belirlenen PCR şartlarında gerçekleştirildi (Çizelge 3.1) (White ve ark., 1990). PCR reaksiyonları Çizelge 3.2’te belirtilen sıcaklık ve sürelerde BİO-RAD marka Thermal cycler cihazında yapıldı.

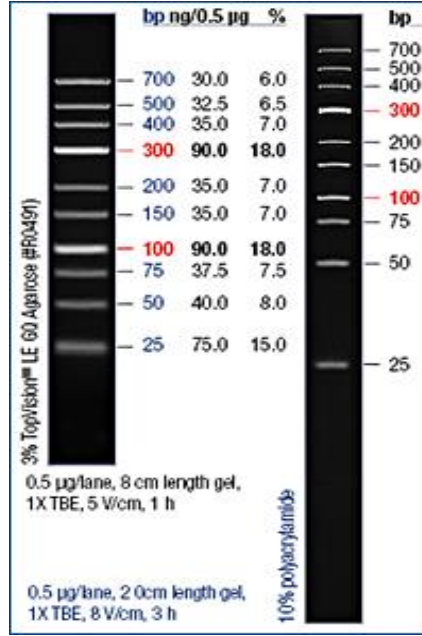
Çizelge 3.1. PCR bileşenleri ve konsantrasyonları

| Bileşen | Miktar (µl) | Son konsantrasyon |
|----------------------------------|----------------|----------------------|
| Master mix (Fermentas, K0171) | 12,5 | - |
| 10 pmol/µl forward primer | 1 | 10 pmol/µl |
| 10 pmol/µl reverse primer | 1 | 10 pmol/µl |
| Genomik DNA | 0,5 | 100 ng |
| Nuclease free-water | 10 | - |
| Toplam hacim | 25 | |

Çizelge 3.2. PCR reaksiyon şartları

| Reaksiyon aşamaları | Sıcaklık (°C) | Süre (Dak.) | Döngü sayısı |
|------------------------|------------------|----------------|-----------------|
| İlk denatürasyon | 95 | 1,5 | 1 |
| Denatürasyon | 94 | 2 | - |
| Primerlerin bağlanması | 60 | 1 | 30 |
| Uzama | 72 | 2,5 | - |
| Sonlanma | 72 | 5 | 1 |

PCR ürünleri (5 µl) ve Marker 6X (2 µl) yükleme tamponu ile karıştırılarak % 3 (w/v) agaroz jelde 110 dakika (120 volt) yürütüldü (Şekil 3.2). PCR ürünlerinin resimleri ultra violet transilluminatör (UV) tablasında Olympus C-5060 marka fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı. Amplifikasyon sonucunda elde edilen bantların büyüklükleri Gel-Pro Analyzer Version 4.0 programı kullanılarak hesaplandı. PCR ürünlerinin bant büyüklüklerine göre maya suşları tekrar gruplandırıldı.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan markör haritası

3.5. Restriksiyon Profillerinin Belirlenmesi

PCR amplifikasyonu sonucunda elde edilen ürünler, PCR Purification kiti (Fermentas K0702) kullanılarak saflaştırıldıktan sonra *Hinfl*, *HaeIII* (*BfoI*), *MspI*, *AluI* ve *HhaI* restriksiyon enzimleri (Fermentas) kullanılarak üretici firmanın önerdiği koşullarda restriksiyon kesimleri gerçekleştirildi (Çizelge 3.3). Restriksiyon ürünleri ve markör DNA % 2,5 (w/v) agaroz jelde 1XTAE tamponu içinde 120 dakika (120 voltta) yürütüldü. Restriksiyon ürünlerinin görüntüleri ultra violet transilluminatör (UV) tablasında Olympus C-5060 marka fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı. Restriksiyon enzimleri ile kesim sonucunda elde edilen bantların büyüklüğü Gel-Pro Analyzer Version 4.0 programı kullanılarak belirlendi. Farklı restriksiyon enzimlerinin kesim sonuçlarına göre maya suşları yeniden gruplandırıldı.

Çizelge 3.3. Restriksiyon enzimlerinin kesim işlemi için reaksiyon bileşenleri

| Bileşen | Miktar (µl) |
|---------------------|-------------|
| Restriksiyon enzimi | 0,5 |
| 10X Green buffer | 1 |
| Kalıp DNA | 5 |
| Nuclease free-water | 8,5 |
| Toplam hacim | 15 |

3.6. DNA Dizi Analizi

Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen maya şuşları restriksiyon kesim profilleri kullanılarak yeniden gruplandırıldı. Oluşan gruplardan her gruptan bir maya suşu DNA dizi analizi yapılmak üzere seçildi. Seçilen suşlara ait PCR ürünlerinin ITS4 (reverse) primeri ile dizilemeleri İstanbul'da bulunan MedSanTek firmasında Applied Biotechnologies 3500xl Genetic Analyzer cihazı kullanılarak yaptırıldı. DNA dizi benzerlik analizleri için (DNA Sequence Similarity Analysis) NCBI servisinin sunduğu BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analiz programı kullanıldı ve en yakın homoloji gösteren türler belirlendi.

3.7. Hücre Dışı Enzim Profillerinin Belirlenmesi

Koloni morfolojileri kullanılarak oluşturulan her gruptan rastgele bir maya suşu seçilerek hücre dışı enzim profilleri belirlendi. Enzim profillerinin saptanabilmesi için kantitatif bir yöntem olan API-ZYM test sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanıldı. API-ZYM kit sistemi bir tane negatif kontrol olmak üzere içerisinde enzim substratı bulunan 20 kuyucuktan oluşmaktadır. API-ZYM test sistemi ile 19 farklı enzimin (Alkaline phosphatase, Esterase (C 4), Esterase Lipase (C 8), Lipase (C 14), Leucine arylamidase, Valine arylamidase, Cystine arylamidase, Trypsin, α -chymotrypsin, Acid phosphataseNaphthol-AS-BI-phosphohydrolase, α -galactosidase, β -galactosidase, β -glucuronidase, α -glucosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, α -mannosidase, α -fucosidase) varlığı hızlı bir şekilde test edilmektedir.

Test sisteminde kullanılmak üzere seçilen maya suşları YPD sıvı üreme ortamında 120 rpm çalkalama ile 30°C de bir gece üretildi. Elde edilen kültür süspansiyonlarından kitteki her bir kuyucuğa 65 µL olacak şekilde transfer edildi. Tansfer sonrası test sistemleri, 37°C' de 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuğa

ZYM A ve ZYM B çözeltileri eklenerek, 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Kuyucuklarda oluşan renk, test kitleri ile birlikte verilen renk değerlendirme çizelgesine göre yorumlanarak maya suşlarının enzim profilleri belirlendi.

BÖLÜM 4

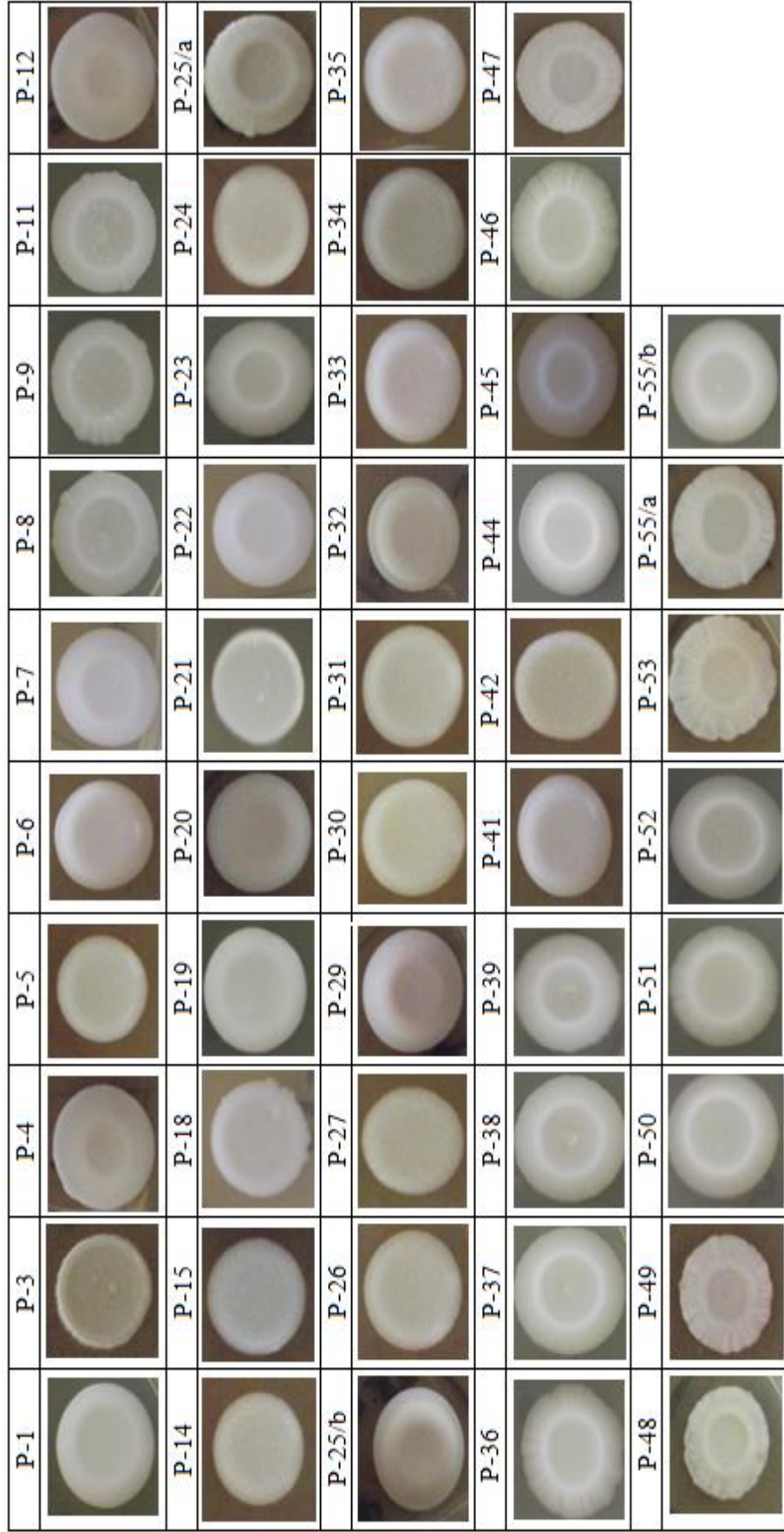
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Nar ve Ahududu Meyvelerinden İzole Edilen Maya Suşlarının Morfolojik Olarak Gruplandırılması

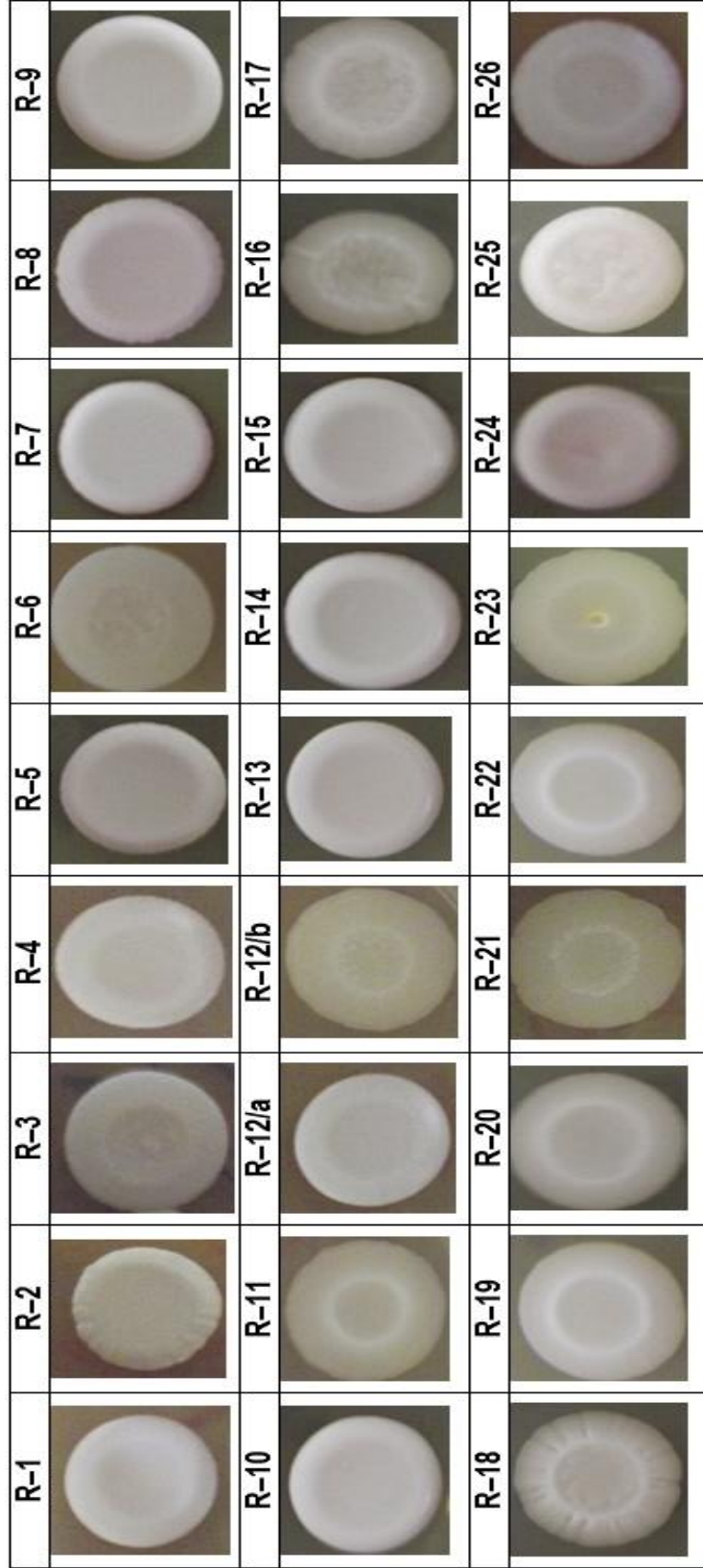
Çalışmamızda kullanılan nar ve ahududu meyveleri Koruköy (Gelibolu, Çanakkale, Türkiye) mevkiinde bulunan meyve bahçelerinden olgunlaşma dönemleri dikkate alınarak toplandı. Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen maya suşları kodlanarak -80°C’de ileride kullanılmak üzere stoklandı. Nar meyvesinden izole edilen 58 maya suşunun ve ahududu meyvesinden izole edilen 27 maya suşunun koloni oluşturabilen birim (CFU/gr) değerleri hesaplandı. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için CFU değeri $3.7 \times 10^3 \text{ gr}^{-1}$, ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için CFU değeri $1.2 \times 10^3 \text{ gr}^{-1}$ olarak belirlendi.

Tez çalışması kapsamında nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen maya suşları -80°C stoklardan çıkartılarak YPD katı besi ortamına ekilip üremeleri sağlanmıştır. Nar meyvesinden izole edilerek stoklanan 58 maya suşundan 10 tanesi üreme göstermediği için çalışmadan çıkartıldı. Nar meyvesinden izole edilen 48 maya suşunun YPD katı besi ortamında üreme sonuçları Şekil 4.1’de, ahududu meyvesinden izole edilen 27 maya suşunun üreme sonuçları ise Şekil 4.2’de verildi. Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen maya suşları koloni morfolojilerine göre gruplandırıldı. Gruplandırma sırasında kullanılan morfolojik özelliklerden bazıları Şekil 4.3’te verildi. Koloni formu (düz, tırtıklı, kıvrık, dalgalı, v.b.), marjini (dairesel, düzensiz, filamentli, v. b), yüksekliği veya tepesi (düz, yükseltilmiş, konveks, v.b.), yüzey yapısı (düz, buruşuk, pürüzlü, tozlu, kuru, v.b.), opaklığı (parlak, mat, şeffaf, v.b.), rengi (beyaz, kirli beyaz, krem, kırmızı, v.b.) ve diğer bazı tür spesifik özellikler (pigment sentezi gibi) morfolojik gruplamada kullanıldı.

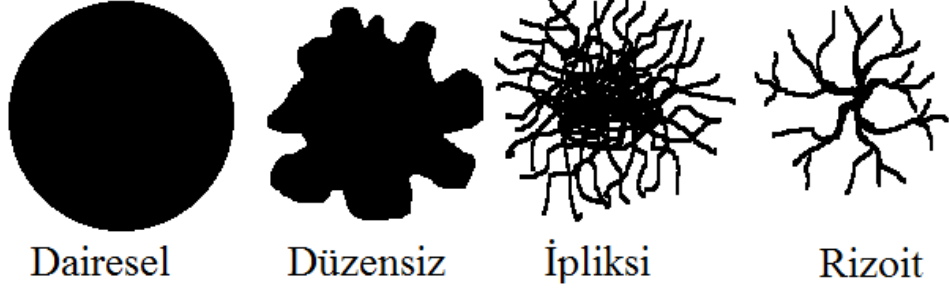
Şekil 4.1. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının YPD katı besi ortamında üremeleri ve koloni morfolojileri (P-1, P-3,P55a ve P-55b)



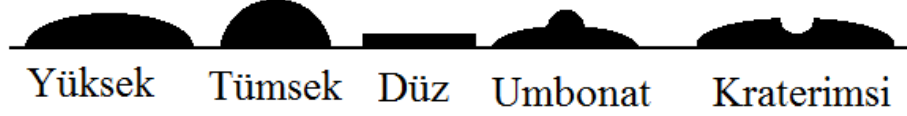
Şekil 4.2. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının YPD katı besi ortamında üremeleri ve koloni morfolojileri (R-1, R-2, R-25 ve R-26)7



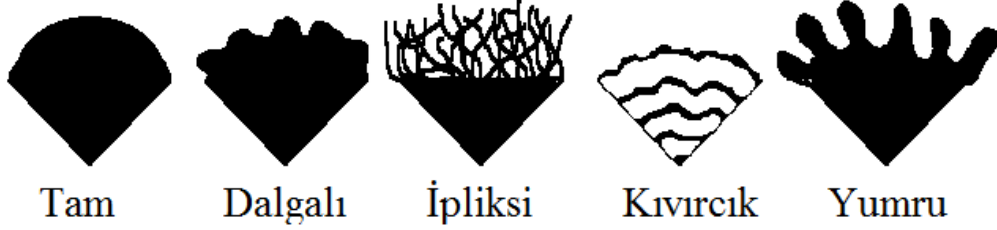
Şekil



Yükseklik



Kenar



Şekil 4.3. Koloni morfolojiler için kullanılan bazı özellikler

Koloni morfolojilerine göre nar meyvesinde 8 grubun (olası 8 farklı türün), ahududu meyvesinde ise 5 grubun (olası 5 farklı türün) olduğu belirlendi. Belirlenen gruplar ve bu gruplara ait morfolojik özellikler nar meyvesinden izole edilen maya suşları için Çizelge 4.1’de, ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için ise Çizelge 4.2’de verildi.

Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarından 6 maya suşu (P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53, P-55a) Grup 1, 23 maya suşu (P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-12, P-14, P-15, P-20, P-24, P-25b, P-26, P-27, P-29, P-30, P-31, P-32, P-33, P-34, P-35, P-41) Grup 2, 4 maya suşu (P-8, P-11, P-23, P-55b) Grup 3, 10 maya suşu (P-36, P-37, P-38, P-39, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52) Grup 4 ve iki maya suşu (P-19, P-22) Grup 5 olarak sınıflandırıldı. P-18, P-21 ve P-42 maya suşlarının koloni morfolojileri diğer maya gruplarına ve birbirlerine benzemediği için sırasıyla Grup 6, Grup 7 ve Grup 8 olarak farklı birer grup altında yer aldı.

Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarından 14 maya suşu (R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26) Grup 1, 2 maya suşu (R-3, R-25) Grup 2 ve 9 maya suşu (R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19, R-20, R-22, R-23) Grup 4 olarak

gruplandırıldı. R-6 ve R-21 maya suşlarının koloni morfolojileri diğer maya gruplarına ve birbirlerine benzemediği için sırasıyla Grup 3 ve Grup 5 olarak farklı birer grup altında sınıflandırıldı.

Çizelge 4.1. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının koloni morfolojilerine göre gruplandırılması

| Grup No | Maya Suşları | Koloni Morfolojisi |
|---------|--|---|
| 1 | P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53, P-55a | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi düz, geniş ve ortası hafif çökük; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak şeffaf değil; koloni rengi beyaz; kırmızı renkli pigment sentezi |
| 2 | P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-12, P-14, P-15, P-20, P-24, P-25b, P-26, P-27, P-29, P-30, P-31, P-32, P-33, P-34, P-35, P-41 | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi düz; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak, şeffaf değil; koloni rengi beyaz-krem |
| 3 | P-8, P-11, P-23, P-55b | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi kraterimsi; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak, şeffaf; koloni rengi krem-sarımtırak |
| 4 | P-36, P-37, P-38, P-39, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52 | Koloni formu dairesel; koloni marjini dalgalı; koloni tepesi kraterimsi; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak, şeffaf; koloni rengi beyaz |
| 5 | P-19, P-22 | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi kraterimsi; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu mat, şeffaf değil; koloni rengi beyaz |
| 6 | P-18 | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi kraterimsi, kabarcıklı; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak, şeffaf değil; koloni rengi kirli beyaz |
| 7 | P-21 | Koloni formu dairesel; koloni marjini dalgalı; koloni tepesi düz; koloni yüzeyi pürüzlü; koloni donukluğu mat, şeffaf değil; koloni rengi koyu krem |
| 8 | P-42 | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi kraterimsi; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu mat, şeffaf değil; koloni rengi krem |

Çizelge 4.2. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının koloni morfolojilerine göre gruplandırılması

| Grup No | Maya Suşları | Koloni Morfolojisi |
|---------|--|---|
| 1 | R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26 | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi düz, geniş ve ortası hafif çökük; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak şeffaf değil; koloni rengi beyaz; kırmızı renkli pigment sentezi |
| 2 | R-3, R-25 | Koloni formu dairesel; koloni marjini dalgalı; koloni tepesi kraterimsi ve kabarcıklı; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu mat, şeffaf değil; koloni rengi koyu krem |
| 3 | R-6 | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi düz hafif kabarcıklı; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni opaklığı parlak; koloni rengi beyaz |
| 4 | R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19, R-20, R-22, R-23 | Koloni formu dairesel; koloni marjini dalgalı; koloni tepesi kraterimsi; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak, şeffaf; koloni rengi beyaz |
| 5 | R-21 | Koloni formu dairesel; koloni marjini düz; koloni tepesi kraterimsi; koloni yüzeyi pürüzsüz; koloni donukluğu parlak, şeffaf; koloni rengi krem-sarımtırak |

4.2. Nar ve Ahududu Meyvelerinden İzole Edilen Maya Suşlarının Morfolojik Olarak Gruplandırılması

Nar ve ahududu meyvelerinde koloni morfolojilerine göre yapılan gruplardan birer örnek seçildi. Seçilen örnek suşların tür tanımlamaları maya tanımlama kiti olan API ID 32C, (Analytical Profile Index) test sistemi kullanılarak yapıldı. Test sonucunda elde edilen sonuçlar APIWEB R1.2.1 programında analiz edildi ve grupları temsil eden türler belirlenerek Çizelge 4.3'te verildi. Her grup için seçilen örnek maya suşuna ait kod numarası ise Çizelge 4.3'te grup numarasının yanında verildi.

Nar meyvesinde kit sistemi ile yapılan tanımlama sonrasında Grup 1'de bulunan 6 maya suşu *Metschnikowia pulcherrima* olarak, Grup 2 ve Grup 8'de bulunan 24 maya suşu ise *Cryptococcus sp.* olarak tanımlandı. Grup 3 ve Grup 4'te bulunan toplam 14 maya suşu *Hanseniaspora sp.*, olarak tanımlanırken Grup 6'da bulunan maya suşu *Kluyveromyces sp.* olarak tanımlandı. Grup 5 ve Grup 7'de bulunan maya suşları ise kit sistemi ile

tanımlanamadı.

Ahududu meyvesinde kit sistemi ile yapılan tanımlama sonrasında Grup 1’de bulunan 14 maya suşu *M. pulcherrima* olarak, Grup 4’te bulunan 9 maya suşu ise *Hanseniaspora sp.* olarak tanımlandı. Grup 2 ve Grup 3’te bulunan üç maya suşu *Candida sp.* cinsine ait olurken Grup 5 ‘te bulunan maya suşu kit sistemi ile tanımlanamadı.

Çizelge 4.3. API ID32C kit sistemiyle meyvelerde tanımlanan maya türleri

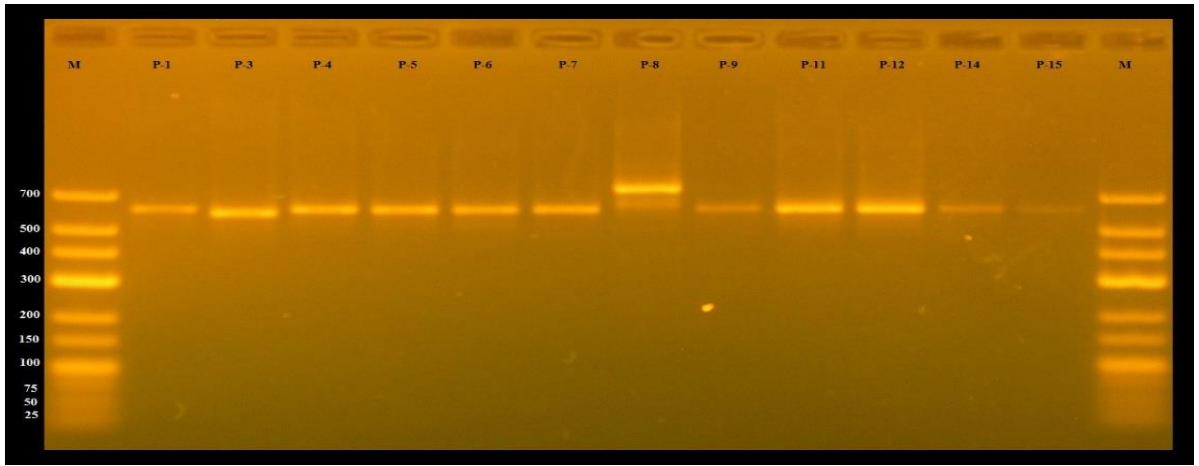
| Meyve | Grup No | Tür Adı (Maya Suşu Sayısı) |
|---------|-----------------|----------------------------------|
| Nar | Grup 1 (P-25-a) | <i>Metschnikowia pulcherrima</i> |
| | Grup 2 (P-1) | <i>Cryptococcus sp.</i> |
| | Grup 3(P-23) | <i>Hanseniaspora sp.</i> |
| | Grup 4 (P-50) | <i>Hanseniaspora sp.</i> |
| | Grup 5 (P-22) | Tanımlanamadı |
| | Grup 6 (P-18) | <i>Kluyveromyces sp.</i> |
| | Grup 7 (P-21) | Tanımlanamadı |
| | Grup 8 (P-42) | <i>Cryptococcus sp.</i> |
| Ahududu | Grup 1 (R-5) | <i>Metschnikowia pulcherrima</i> |
| | Grup 2 (R-3) | <i>Candida sp.</i> |
| | Grup 3 (R-6) | <i>Hanseniaspora sp.</i> |
| | Grup 4 (R-23) | <i>Cryptococcus neoformans</i> |
| | Grup 5 (R-21) | Tanımlanamadı |

4.3. Nar ve Ahududu Meyvelerinden İzole Edilen Maya Suşlarının Genomik DNA İzolasyonları ve PCR Amplifikasyonları

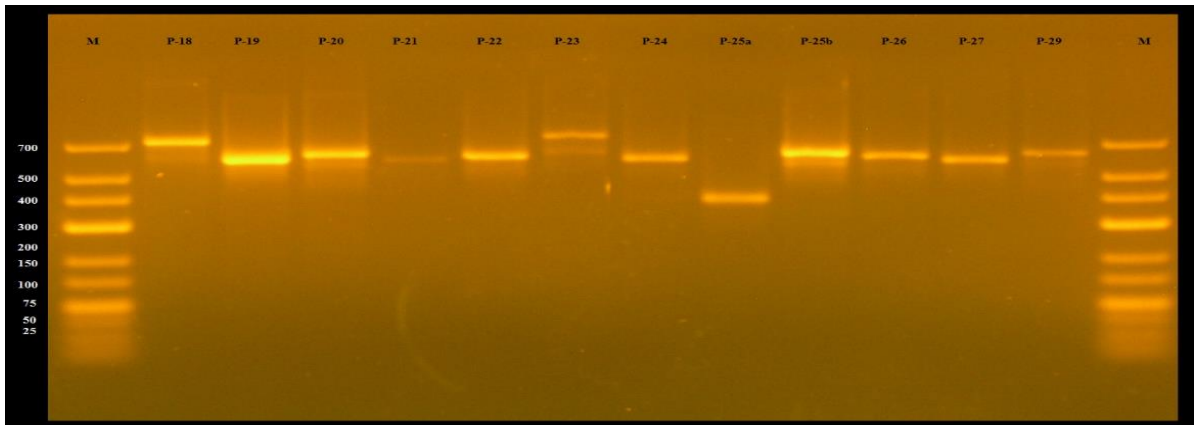
Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilerek gruplandırılan tüm maya hücrelerinden genomik DNA izolasyonları yapıldı (Sherman ve ark., 1986). ITS1-5.8 rDNA-ITS2 bölgesinin amplifikasyonu için ITS1 (5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’) ve ITS4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) primerleri kullanıldı (White ve ark. 1990). Çalışmamızda elde edilen PCR ürünleri Fermentas Gene JET PCR Purification Kit (Fermentas K0702) kullanılarak saflaştırıldı ve % 3 agaroz jel elektroforezi yapılarak fotoğrafları çekildi. Maya suşlarının ITS1-5,8S rDNA-ITS2 bölgesinin PCR amplifikasyonu sonrası oluşturduğu bant uzunlukları GelPro Analyser 4.0 programı kullanılarak hesaplandı. Bant uzunluklarına göre maya suşları tekrar gruplandırıldı.

4.3.1. Nar meyvelerinden izole edilen maya suşlarının PCR amplifikasyonları

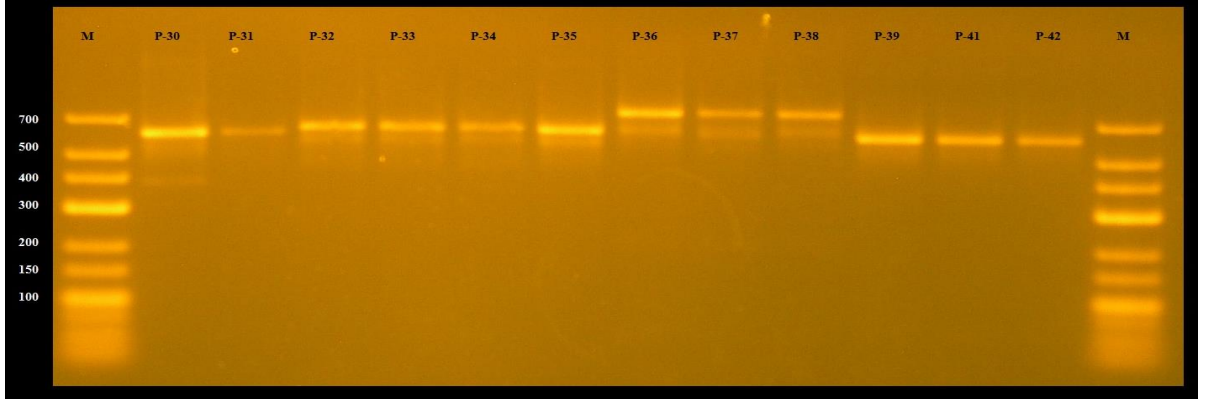
Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8 rDNA-ITS2 bölgesinin PCR amplifikasyon sonuçları Şekil 4.4 Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verildi. Elde edilen PCR bant uzunlukları kullanılarak oluşturulan gruplandırma sonucunda 4 farklı grubun (olası 4 farklı türün) oluştuğu belirlendi. Oluşturulan gruplar Çizelge 4.4’te sunuldu. Birinci grupta yaklaşık 400 baz çifti uzunluğunda DNA bölgesinin amplifike olduğu belirlendi. Bu grupta bulunan 6 maya suşunun (P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53, P-55a) daha önce morfolojik olarak oluşturulan grupta da bir arada buldukları görüldü. Bu grupta bulunan maya suşlarının pulcherrimin pigment sentezlemesi nedeniyle ve API ID32C kit sistemiyle *M. pulcherrima* olarak tanımlanan türler olduğu gözlemlendi.



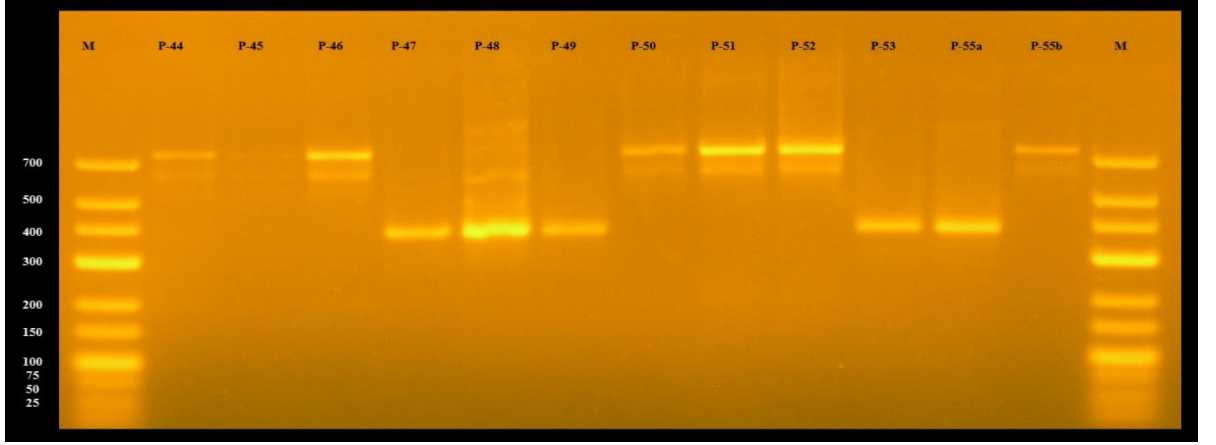
Şekil 4.4. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-1, P-3-P-9, P-11, P-12, P-14, P-15)



Şekil 4.5 Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-18, P-24, P-25a, P-25b, P-26, P-27, P-29)



Şekil 4.6. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-30 –P-39, P-41, P-42)



Şekil 4.7. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (P-44 –P-53, P-55a, P-55b)

Çizelge 4.4. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen gruplar

| Grup No (PCR Bant Uzunlukları-bp) | Nar (P) |
|-----------------------------------|---|
| Grup 1 (~400) | P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53, P-55a |
| Grup 2 (~650) | P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-15, P-19, P-21, P-22, P-24, P-26, P-27, P-30, P-31, P-39, P-41, P-42 |
| Grup 3 (~700) | P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34, P-35 |
| Grup 4 (~800) | P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b |

PCR bant büyüklüğüne (~650 bp) göre oluşturulan ikinci grupta 21 maya suşunun (P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-15, P-19, P-21, P-22, P-24, P-26, P-27, P-30, P-31, P-39, P-41, P-42) yer aldığı belirlendi. Bu maya suşlarından 15 maya suşu (P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-12, P-15, P-24, P-26, P-27, P-30, P-31, P-41) daha önce morfolojik olarak yapılan gruplamada aynı grupta (Grup 2) yer aldığı görüldü. Daha önce morfolojik olarak farklı grupta yer alan 6 maya suşunun (P-11, P-21, P-22, P-39, P-42) PCR bant büyüklüğüne göre oluşturulan gruplamada Grup 2’de yer aldığı belirlendi. Morfolojik olarak ikinci grupta yer alan 8 maya suşunun (P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34, P-35) ise PCR bant uzunluğuna (~700bp) yeni bir Grup 3’ü oluşturduğu tespit edildi.

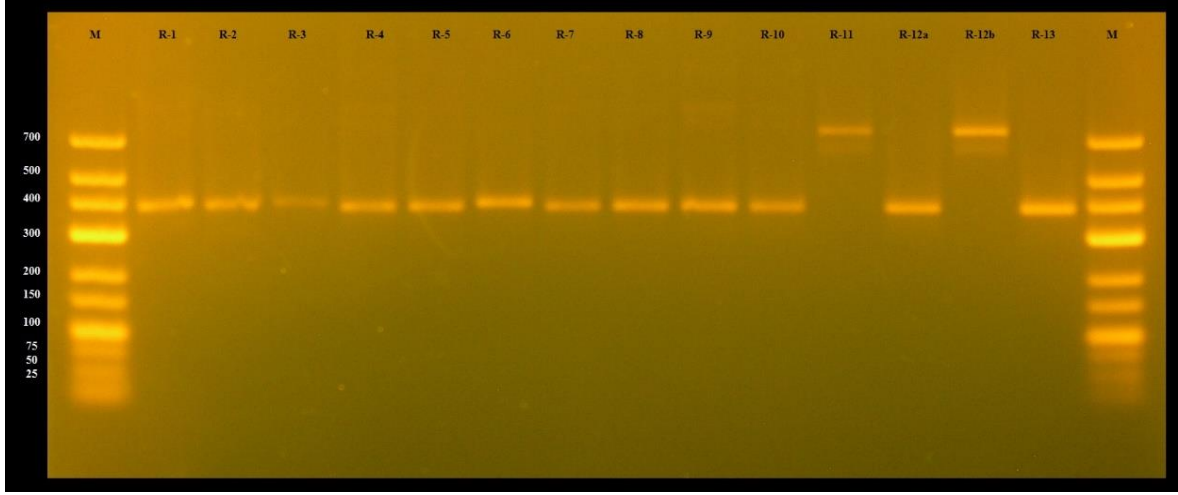
PCR bant büyüklüğüne (~800bp) göre 13 maya suşunun (P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b) dördüncü grubu oluşturduğu belirlendi. Morfolojik olarak Grup 3’te yer alan üç maya suşunun (P-8, P-23, P-55b) ve Grup 4’te yer alan 9 maya suşunun (P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52) maya suşunun PCR amplifikasyonu sonucunda aynı grupta yer aldığı belirlendi. Diğer maya suşlarına morfolojik olarak benzemeyen P-18 maya suşunun da PCR amplifikasyonu sonucuna göre Grup 4’te yer aldığı tespit edildi. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının morfolojik özelliklerine göre elde edilen gruplar ile ITS1-5.8S rDNA-ITS2 PCR amplifikasyon uzunluklarına göre elde edilen gruplar karşılaştırıldı ve olası farklı tür sayısı hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5’te verildi. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının morfolojik ve PCR amplifikasyonu sonrasında florada barındırabileceği olası 11 farklı maya türünün bulunabileceği belirlendi.

Çizelge 4.5. Nar meyvesine ait maya suşlarının morfolojik ve PCR amplifikasyonu sonrasında barındırabileceği olası farklı tür sayısı

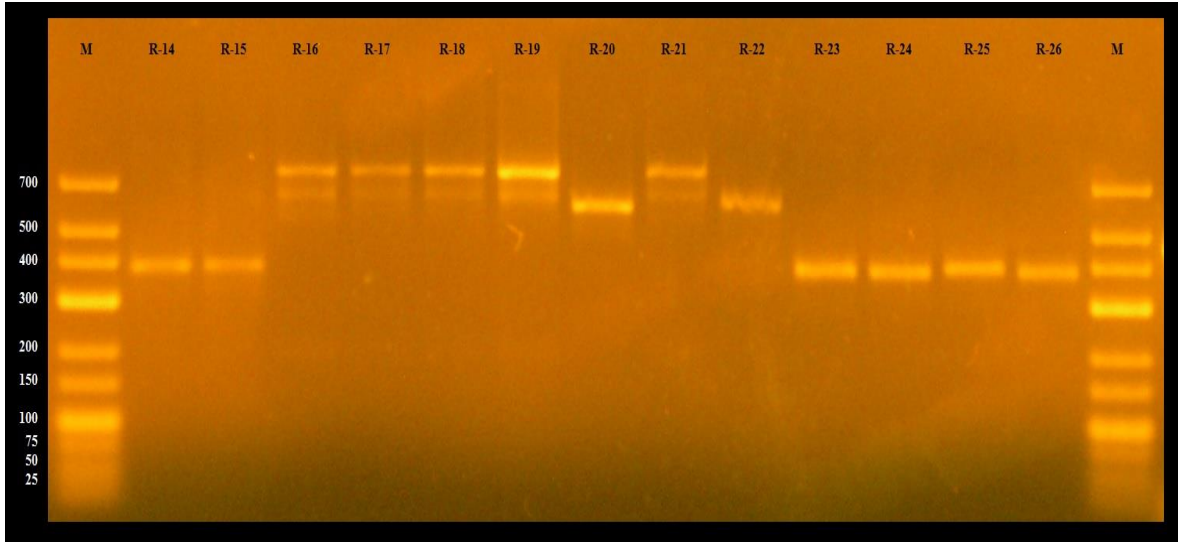
| Maya Tür Sayısı (Yeast Species: YS) | Morfoloji ve PCR polimorfizmi |
|-------------------------------------|---|
| YS 1 | P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53, P-55a |
| YS 2 | P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-12, P-15, P-24, P-26, P-27, P-30, P-31, P-41 |
| YS 3 | P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52 |
| YS 4 | P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34, P-35 |
| YS 5 | P-8, P-23, P-55b |
| YS 6 | P-19, P-22 |
| YS 7 | P-11 |
| YS 8 | P-18 |
| YS 9 | P-21 |
| YS 10 | P-39 |
| YS 11 | P-42 |

4.3.2. Ahududu meyvelerinden izole edilen maya suşlarının PCR amplifikasyonları

Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8 rDNA-ITS2 bölgesinin PCR amplifikasyon sonuçları Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da verildi. Amplifikasyon sonucunda elde edilen PCR bant uzunlukları kullanılarak yapılan gruplandırmada 3 farklı grubun (olası 3 farklı türün) oluştuğu belirlendi ve oluşturulan gruplar Çizelge 4.6'da verildi.



Şekil 4.8. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (R-1 –R-11, R-12a, R-12b, R-13)



Şekil 4.9. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR ile amplifikasyonu (R-14 –R-26)

Çizelge 4.6. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen gruplar

| Grup No (PCR Bant Uzunlukları-bp) | Ahududu (R) |
|-----------------------------------|---|
| Grup 1 (~400) | R-1, R-2, R-3, R-4, R-5, R-6, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12/a, R-13, R-14, R-15, R-23, R-24, R-25, R-26 |
| Grup 2 (~650) | R-20, R-22 |
| Grup 3 (~800) | R-11, R-12/b, R-16, R-17, R-18, R-19, R-21 |

Birinci grupta yer alan 18 maya suşunun (R-1, R-2, R-3 R-4, R-5, R-6, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-23, R-25, R-24, R-26) yaklaşık 400 baz çifti uzunluğunda amplifikasyon ürünü oluşturduğu belirlendi. Bu grupta bulunan 14 maya suşunun (R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26) daha önce morfolojik olarak yapılan gruplamada da aynı grupta yer aldığı tespit edildi. Bu grupta bulunan maya suşlarının pulcherrimin pigment sentezlemesi nedeniyle ve API ID32C kit sistemiyle *M. pulcherrima* olarak tanımlanan türler olduğu gözlemlendi. Daha önce morfolojik olarak yapılan gruplamada Grup 2’de yer alan R-3 ve R-25 maya suşları PCR amplifikasyonu sonucunda elde edilen bant uzunluklarına göre yapılan gruplamada Grup 1’e dahil olduğu belirlendi. Morfolojik olarak diğer maya suşlarından ayrılarak Grup 3’ü oluşturan R-6 maya suşunun ise PCR bant büyüklüğüne göre Grup 1’e dahil olduğu tespit edildi. Morfolojik olarak yapılan gruplamada 4. grupta yer alan R-23 maya suşunun PCR amplifikasyonu sonucunda oluşturulan gruplamada birinci grupta yer aldığı görüldü.

PCR bant büyüklüğüne (~650 bp) göre oluşturulan ikinci grupta 2 maya suşunun (R-20 ve R-22) yer aldığı belirlendi. Daha önce morfolojik özelliklerine göre Grup 4’de yer alan bu maya suşları PCR amplifikasyon sonrası bant büyüklüklerine göre yapılan gruplamada birlikte ayrı bir grup oluşturduğu gözlemlendi.

PCR amplifikasyon sonucunda elde edilen bant büyüklüklerine göre üçüncü grubu oluşturan 7 maya suşunun (R-11, R-12/b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21) yaklaşık olarak 800bp bant büyüklüğüne sahip olduğu belirlendi. Daha önce morfolojik olarak yapılan gruplamada Grup 4’te yer alan 6 maya suşunun (R-11, R-12/b, R-16, R-17, R-18, R-19) PCR amplifikasyon sonucunda oluşturulan gruplamada üçüncü gruba dahil olduğu tespit edildi. Ayrıca morfolojik olarak beşinci grupta yer alan R-21 maya suşu PCR

amplifikasyonu sonucunda elde edilen bant büyüklüğüne göre Grup 3'e dahil olduğu belirlendi.

Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının morfolojik özelliklerine göre elde edilen gruplar ile ITS1-5.8S rDNA-ITS2 PCR amplifikasyon uzunluklarına göre elde edilen gruplar karşılaştırılarak olası farklı tür sayısı hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'de verildi. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının morfolojik ve PCR amplifikasyonu sonrasında florada barındırabileceği olası 7 farklı maya türünün bulunabileceği belirlendi.

Çizelge 4.7. Ahududu meyvesine ait maya suşlarının morfolojik ve PCR amplifikasyonu sonrasında barındırabileceği olası farklı tür sayısı

| Maya Tür Sayısı (Yeast Species: YS) | Morfoloji ve PCR polimorfizmi |
|--|--|
| YS 1 | R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26 |
| YS 2 | R-3, R-25 |
| YS 3 | R-6 |
| YS 4 | R-23 |
| YS 5 | R-20, R-22 |
| YS 6 | R-11, R-12/b, R-16, R-17, R-18, R-19 |
| YS 7 | R-21 |

Tez önerisi kapsamında nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen tüm maya suşlarının ITS1-5.8 rDNA-ITS2 bölgesinin DNA dizi analizi yaptırılması önerilmişti Ancak teknik nedenlerle proje kapsamının genişletilmemesi için bütün maya suşlarının ITS sekansları yaptırılmadı ve Çizelge 4.5 ve 4.7'de verilen olası maya türlerinden birer maya suşu seçilerek DNA dizi analizi yaptırılması planlandı. Fakat fazla maya suşu içeren gruplarda tek bir maya örneğinin DNA dizileme yöntemiyle türünün tespit edilmesi, grupta bulunan diğer maya suşlarının da aynı tür olduğunu göstermemektedir. Grupları temsil eden türü minimum yanlış olasıyla bulmak ve gruptan dizileme için türü seçebilmek amacıyla tez önerisi kapsamında önerilmemesine rağmen maya suşları PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniğiyle tekrar gruplandırıldı.

4.4. Nar ve Ahududu Meyvesine Ait Maya Suşlarının ITS1 5.8SrDNA-ITS2

Bölgesinin Restriksiyon Enzimi ile Kesim Analizleri

Saflaştırılmış PCR ürünleri *HinfI*, *HaeIII*, *MspI*, *AluI* ve *HhaI* restriksiyon enzimleri ile (üretici firmanın önerdiği koşullarda) restriksiyon kesimine tabi tutuldu. Restriksiyon ürünleri % 3 agarozda elektroforez yapılarak görüntülendi. Restriksiyon işlemi sonrasında oluşan bantların büyüklüğü Gel-Pro Analyzer Version 4.0 programı kullanılarak hesaplandı ve restriksiyon profillerine göre maya suşları tekrar gruplandırıldı.

4.4.1. Nar meyvesine ait maya suşlarının restriksiyon enzimi ile kesim profili

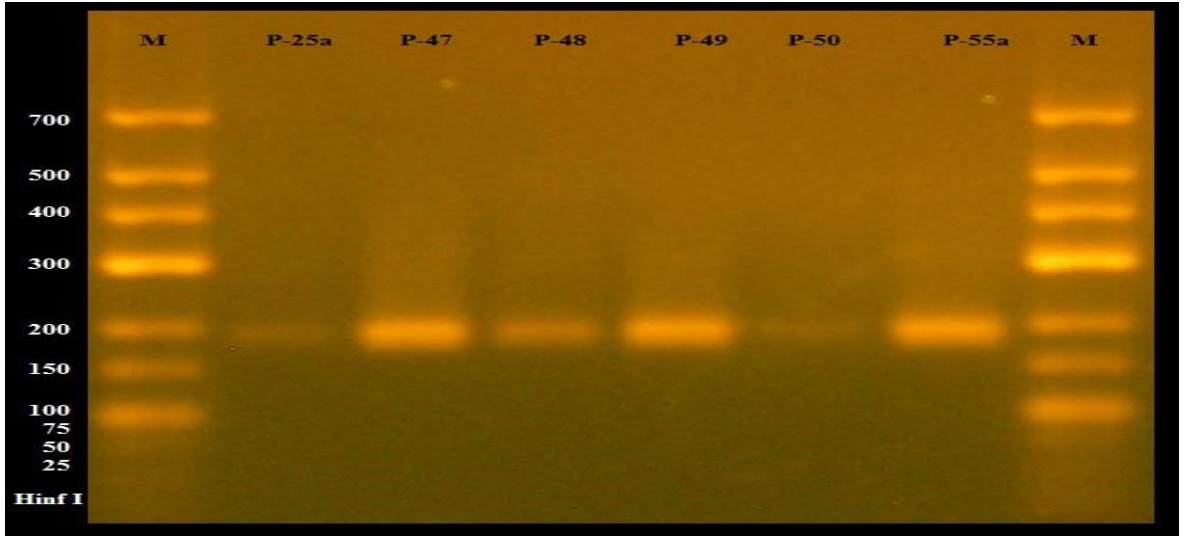
4.4.1.1. Grup 1 restriksiyon enzimi ile kesim profili

Nar meyvesinden izole edilen ve PCR bant büyüklüklerine göre birinci grupta yer alan P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a maya suşlarının *HinfI* ile kesim sonuçları Şekil 4.10'de, *HaeIII* ile kesim sonuçları Şekil 4.11'de, *MspI* ile kesim sonuçları Şekil 4.12'te, *AluI* ile kesim sonuçları Şekil 4.13'te ve *HhaI* ile kesim sonuçları Şekil 4.14'te verildi. Maya suşlarının restriksiyon sonrası oluşturduğu bant uzunlukları Çizelge 4.8'de ayrıntılı olarak özetlendi.

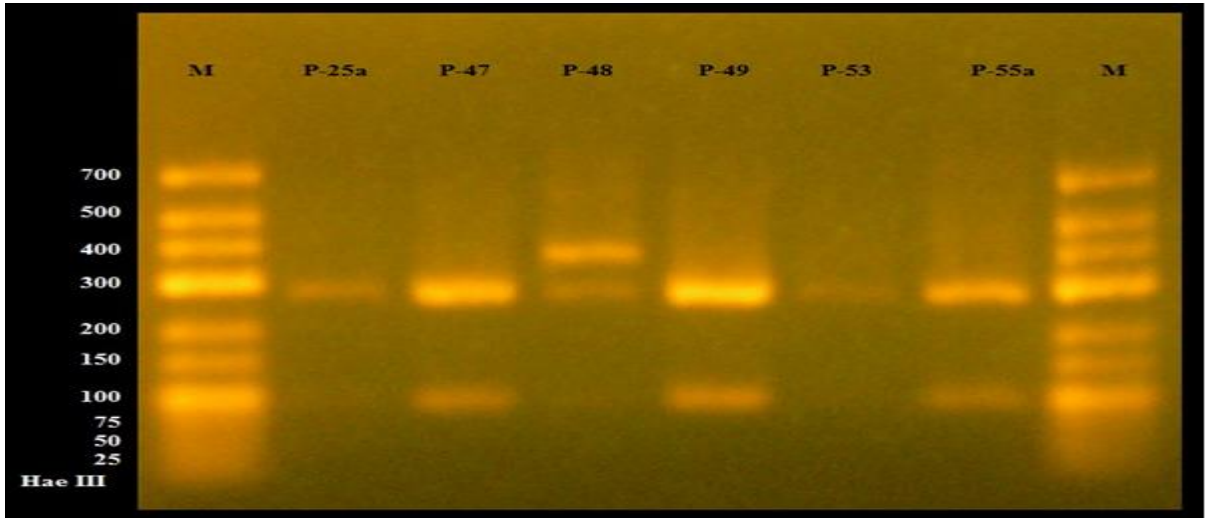
Maya suşlarının *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonrasında 195 bp ve 191 bp uzunluğunda iki bant vererek tek kesim bölgesine sahip olduğu gözlemlendi. Maya suşlarının *HaeIII* enzimiyle kesimi sonucunda 2 farklı restriksiyon profili elde edildi. Birinci kesim profilinde P-25a, P-47, P-49, P-53 ve P-55a maya suşlarının bir tane *Hae III* kesim bölgesine sahip olduğu ve iki farklı bant (287 bp ve 106 bp) verdiği gözlemlendi. P-48 maya suşu ise iki *Hae III* enzim kesim bölgesine sahip olup yaklaşık 389 bp, 284 bp ve 106 bp uzunluğunda 3 kesim ürünü verdiği gözlemlendi. Bu gruba ait tüm maya suşlarının *MspI* enzimi ile kesimi sonucunda 217 bp, 117 bp ve 50 bp uzunluğunda 3 restriksiyon ürünü oluşturduğu belirlendi. Bu grupta yer alan tüm maya suşlarının *AluI* enzim kesim bölgesine sahip olmadığı belirlendi. *HhaI* enzimi ile kesim sonrasında bu grupta yer alan maya suşlarının 217 bp ve 95 bp uzunluğunda restriksiyon ürünü verdiği gözlemlendi (Çizelge 4.8).

P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a maya suşları koloni morfolojilerine ve PCR amplifikasyon ürün uzunluğuna göre yapılan gruplamalarda aynı grupta (Grup 1) yer alıp API ID32C kit sistemiyle *M. pulcherrima* maya türü olarak tanımlanmıştı. Bu popülasyonda yer alan maya suşlarının *AluI* için kesim bölgesi içermediği, *HinfI*, *MspI* ve *HhaI* restriksiyon enzimlerinde benzer kesim profili gösterdikleri ve *HaeIII* restriksiyon enziminde ise iki farklı kesim profili gösterdiği belirlendi. Dolayısıyla *HinfI*, *MspI* ve *HhaI*

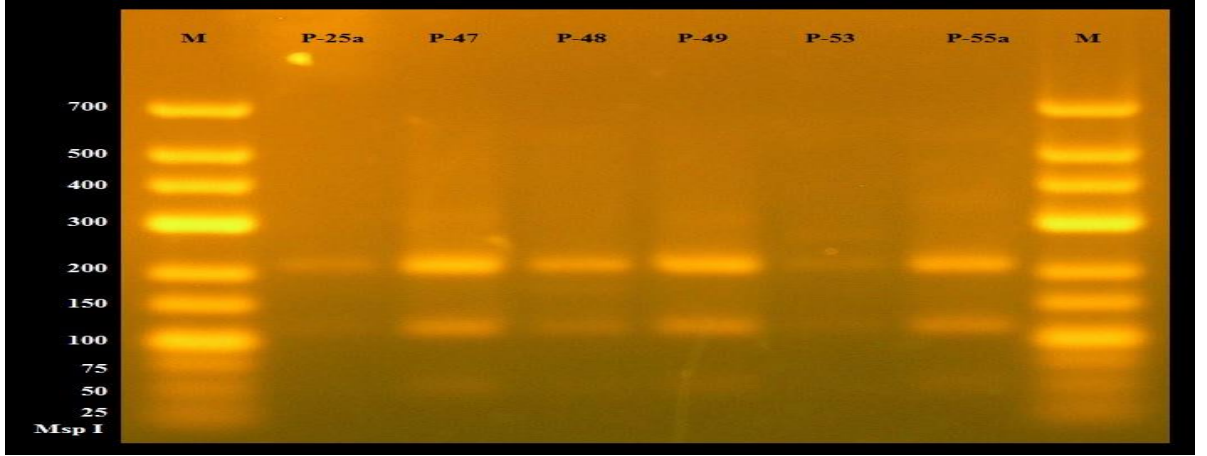
enzimleri tüm izole edilen *M. pulcherrima* maya suşlarında tek kesim profili göstermiş olduğundan bu enzimlerin kesimlerinde polimorfizm gözlenmemiştir. Benzer olarak *AluI* kesim bölgesi bulunmadığından bu enzimde yine diğer üç enzim gibi polimorfizm göstermemektedir. *HaeIII* kesimleri ise iyi bir diskriminasyon gösterdiğinden polimorfizm göstermektedir.



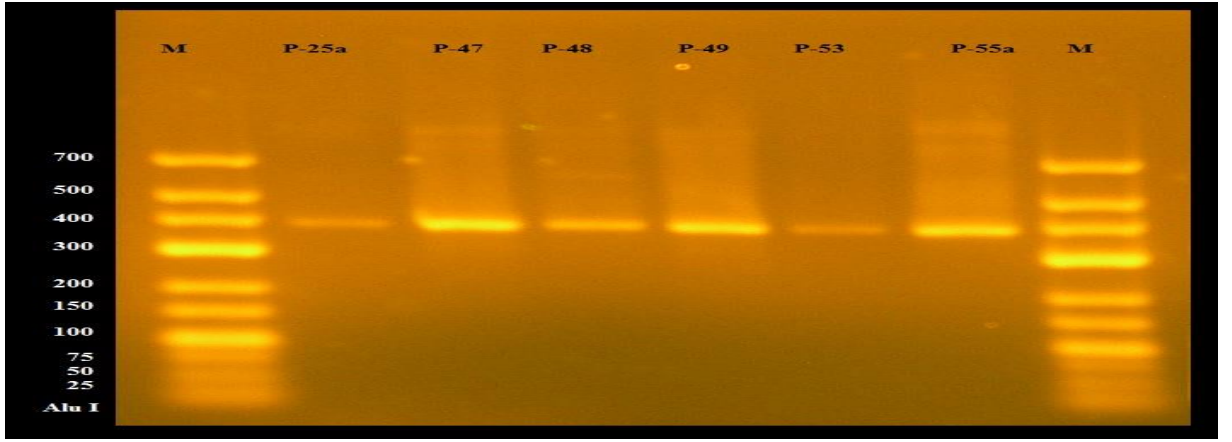
Şekil 4.10. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HinfI* ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a)



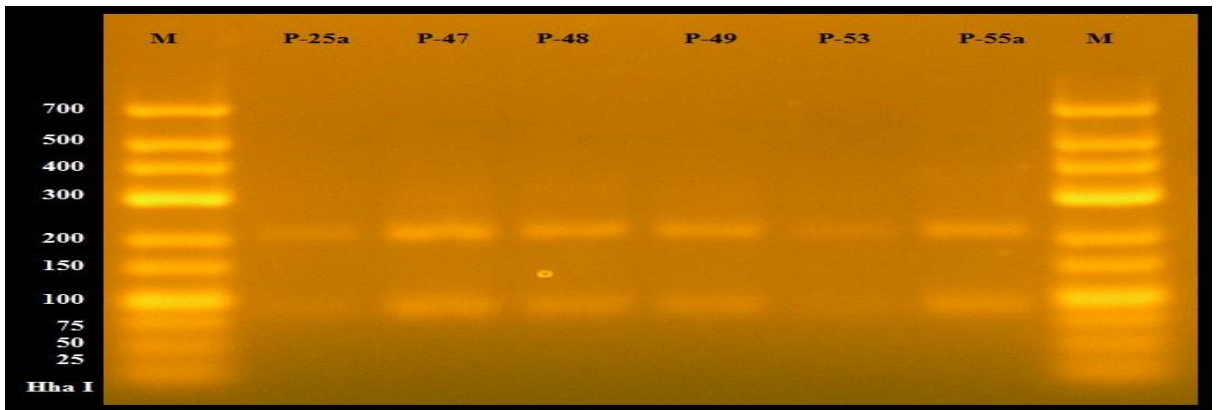
Şekil 4.11. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HaeIII* ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a)



Şekil 4.12. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *MspI* ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a)



Şekil 4.13. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Alu I* ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a)



Şekil 4.14. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hha I* ile kesim sonuçları (Grup 1; P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a)

Çizelge 4.8. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 1)

| PCR Grup No | Maya Suşları | <i>HinfI</i> (bp) | <i>HaeIII</i> (bp) | <i>MspI</i> (bp) | <i>AluI</i> (bp) | <i>HhaI</i> (bp) |
|---------------------|-----------------------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| Grup 1 (~400 bp) | P-25a, P-47, P-49, P-53, P-55a | 195/19 1 | 287/106 | 217/117/50 | - | 217/95 |
| | P-48 | 195/19 1 | 389/284/106 | 217/117/50 | - | 217/95 |

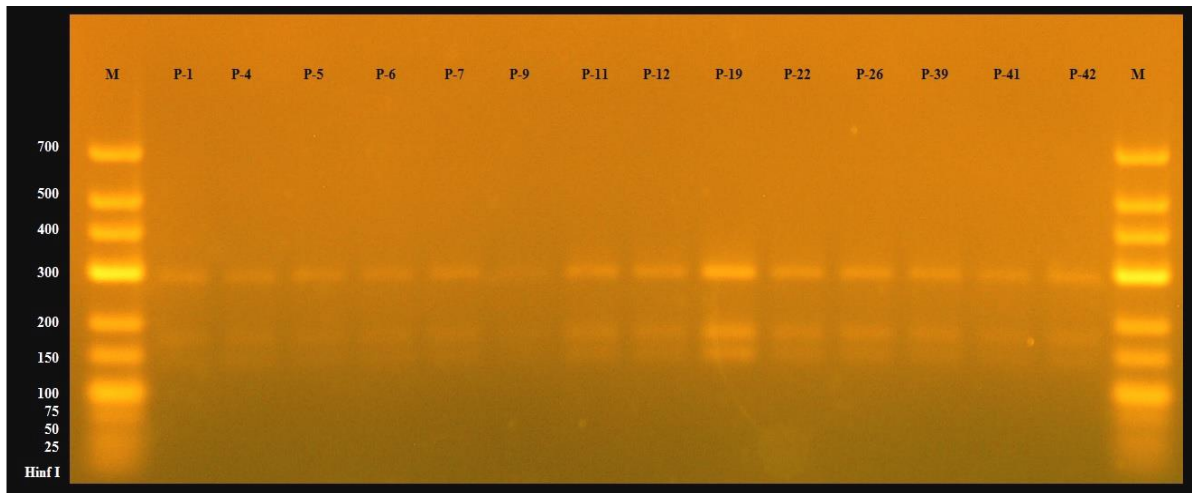
4.4.1.2. Grup 2 restriksiyon enzimi ile kesim profili

Nar meyvesinden izole edilerek PCR bant büyüklüklerine göre ikinci grupta yer alan P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-15, P-19, P-21, P-22, P-24, P-26, P-27, P-30, P-31, P-39, P-41 ve P-42 maya suşlarının restriksiyon enzimleriyle kesimleri yapıldı. P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42 maya suşlarının *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.15'te ve P-3, P-15, P-21, P-24, P-27, P-30, P-31 Şekil 4.16'da verildi. Aynı maya suşlarının *HaeIII* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de, *MspI* ile kesim sonuçları Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de, *AluI* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de ve *HhaI* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'te verildi. Maya suşlarının restriksiyon sonrası oluşturduğu bant uzunlukları Çizelge 4.9'da ayrıntılı olarak özetlendi.

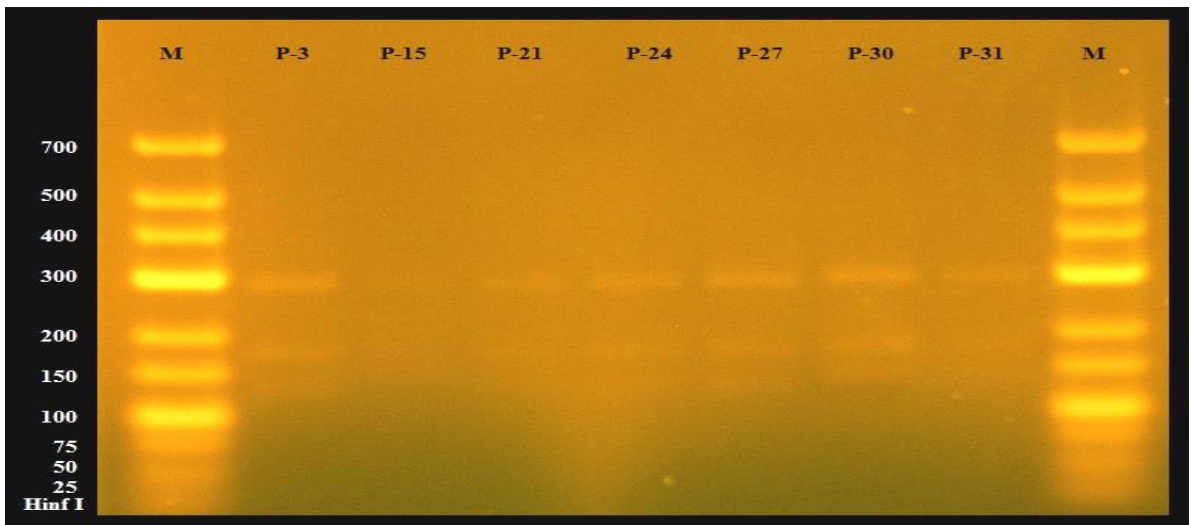
P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42 maya suşlarının *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonrasında 296 bp, 185bp ve 145 bp uzunluğunda üç bant vererek iki kesim bölgesine sahip olduğu gözlemlendi. P-3, P-15, P-21, P-24, P-27, P-30, P-31 maya suşlarının *HinfI* enzimi ile kesimi sonrasında 294bp, 177 bp ve 138bp uzunluğunda üç bant verdiği belirlendi. Bu maya suşlarından P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-30, P-31, P-39, P-41 ve P-42 suşlarının *MspI* restriksiyon enzimiyle yapılan kesimi sonrasında ~200bp, ~150bp, ~143bp ve ~100bp uzunluğunda dört bant oluşturduğu, P-3, P-15, P-21, P-24 ve P-27 maya suşlarının ~294bp, ~177 bp ve ~138bp uzunluğunda üç bant verdiği belirlendi. P-15, P-30 ve P-31 maya suşlarının *HhaI* enzimi ile kesimi sonucunda 331bp, 210bp ve 107bp restriksiyon ürünü, P-3, P-21, P-24 ve P-27 maya suşlarının 190bp, 185bp, 103bp ve 91bp uzunluğunda dört farklı restriksiyon ürünü verdiği, kalan diğer maya suşlarının ise 325 bp ile 215 bp

uzunluğunda iki bant verdiği tespit edildi.

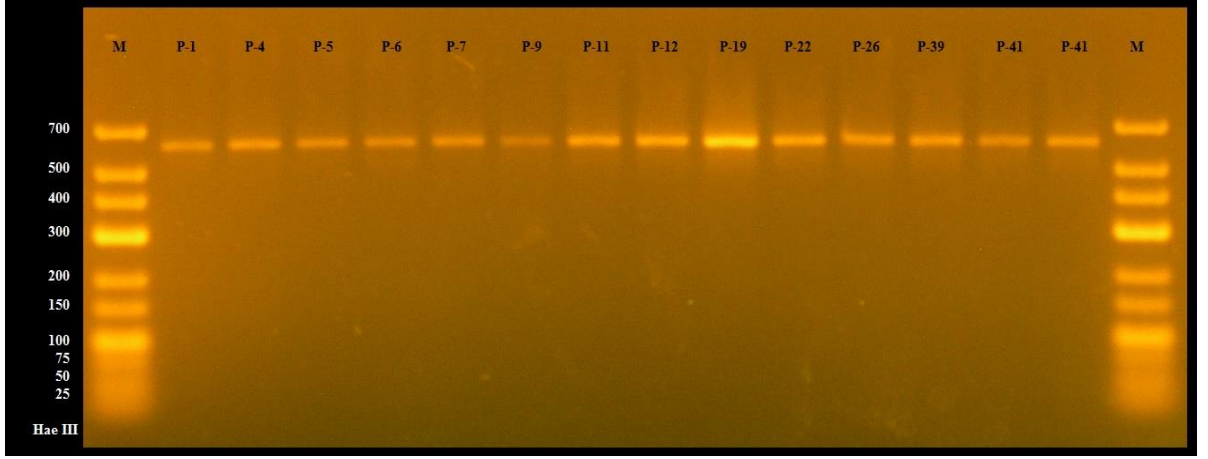
Bu gruba ait maya suşlarının *Hae III* ve *Alu I* enzimi ile yapılan kesim sonucunda 2 farklı restriksiyon profili elde edildi. Birinci profilde yer alan P-3, P-21, P-24 ve P-27 maya suşları *Hae III* enzimi ile kesildiğinde 465bp ve 155 bp uzunluğunda, *Alu I* restriksiyon enzimi ile kesildiğinde 390bp ve 208bp uzunluğunda iki bant verdiği belirlendi. İkinci profilde yer alan kalan tüm maya suşlarının ise *Hae III* ve *Alu I* restriksiyon enzimi kesim bölgelerine sahip olmadığı gözlemlendi (Çizelge 4.9). *Hinf I* restriksiyon enziminin bu grupta yer alan maya suşları için belirleyici olmadığı anlaşıldı.



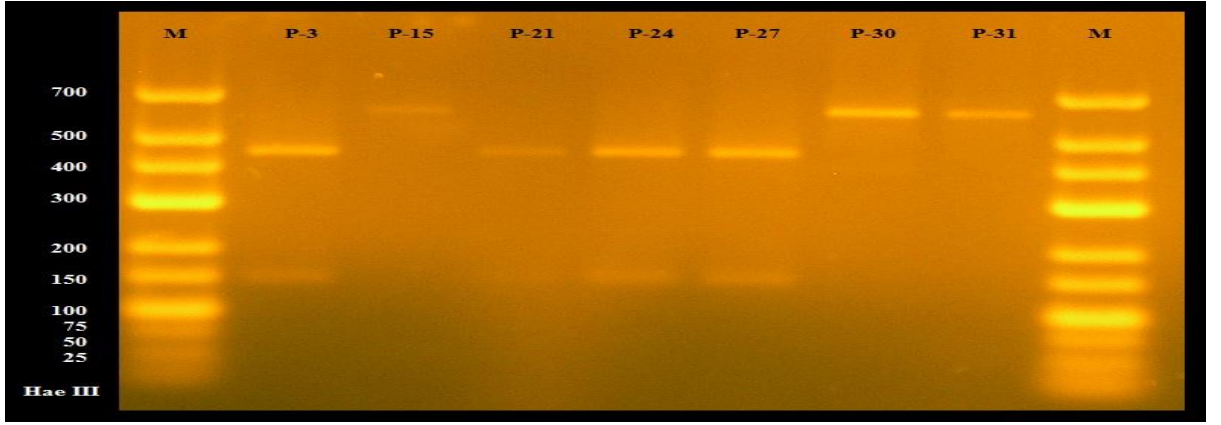
Şekil 4.15. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hinf I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42)



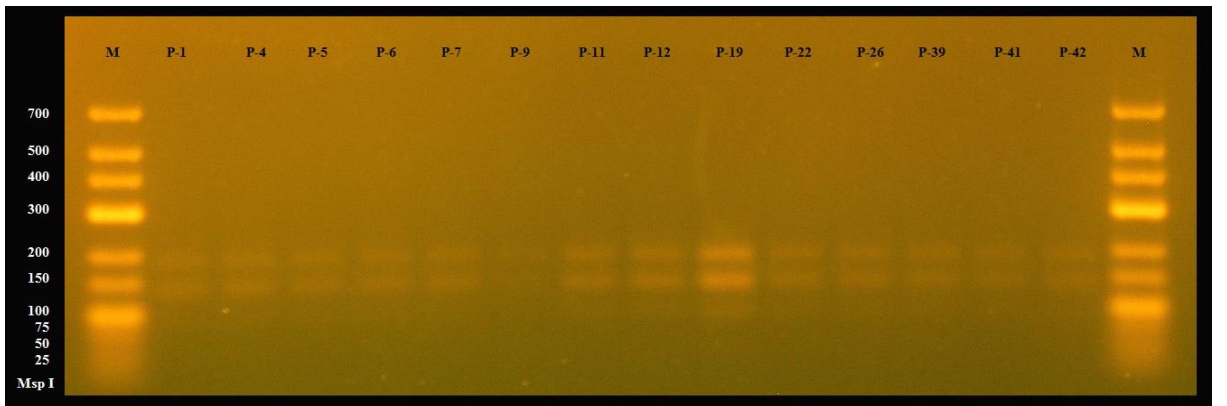
Şekil 4.16. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hinf I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15, P-21, P-24, P-27, P-30, P-31)



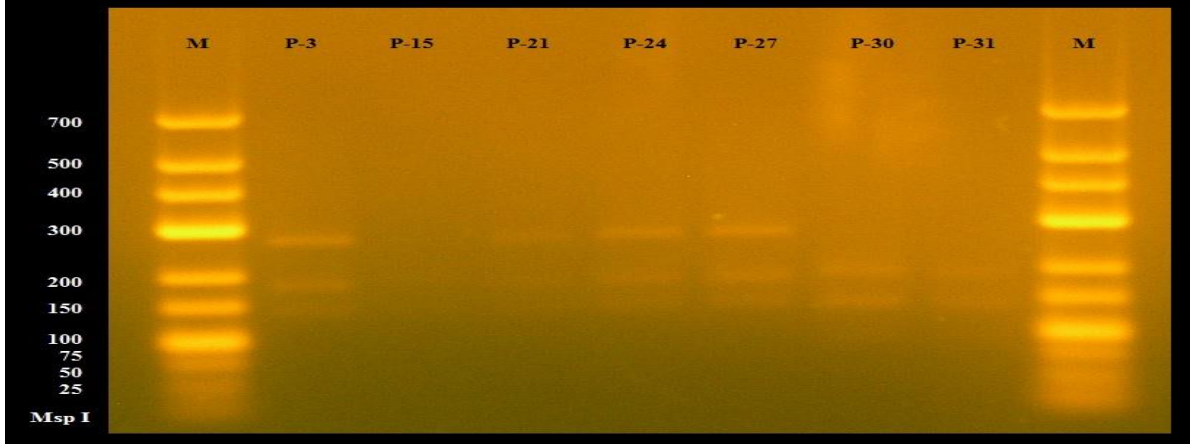
Şekil 4.17. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hae III* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42)



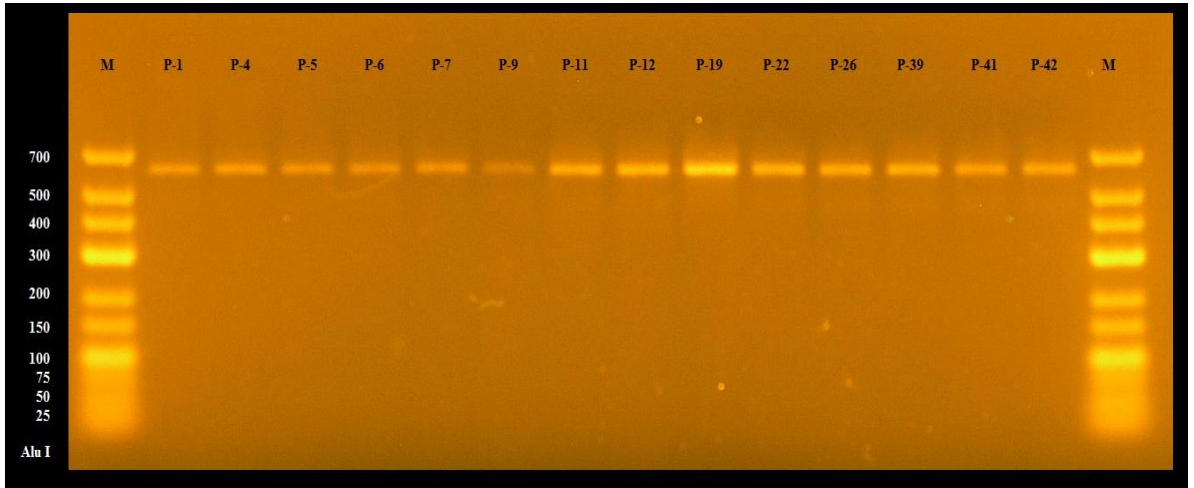
Şekil 4.18. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hae III* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15, P-21, P-24, P-27, P-30, P-31)



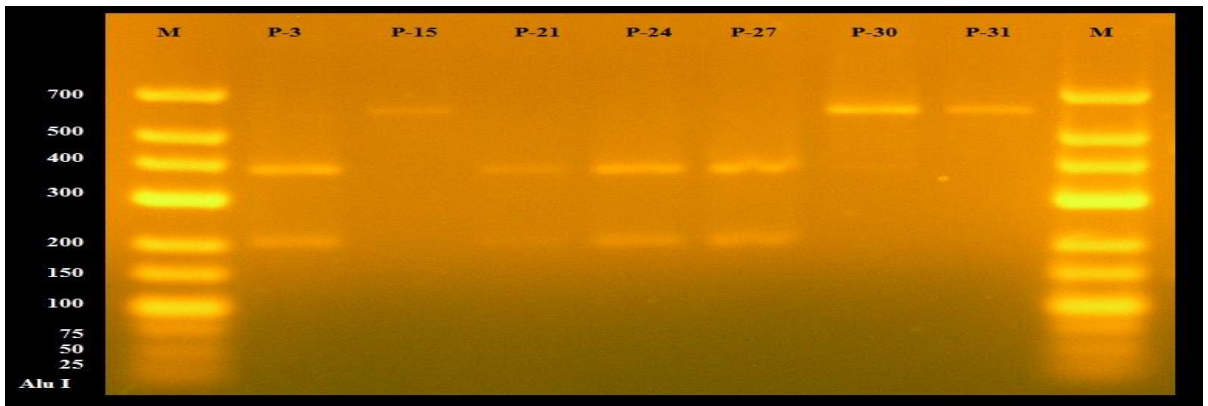
Şekil 4.19. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Msp I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42)



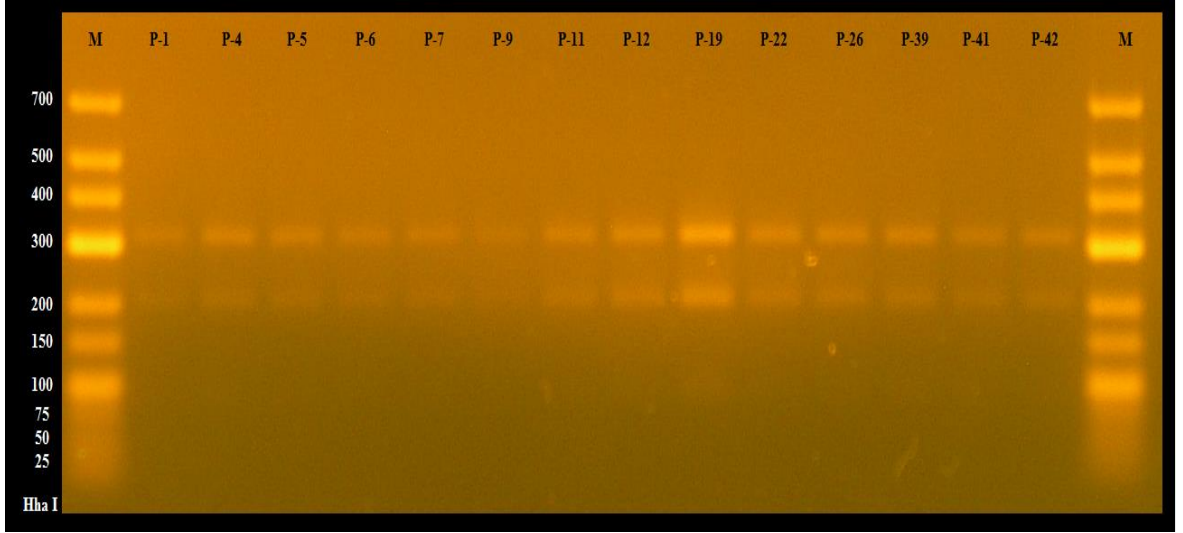
Şekil 4.20. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Msp I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15, P-21, P-24, P-27, P-30, P-31)



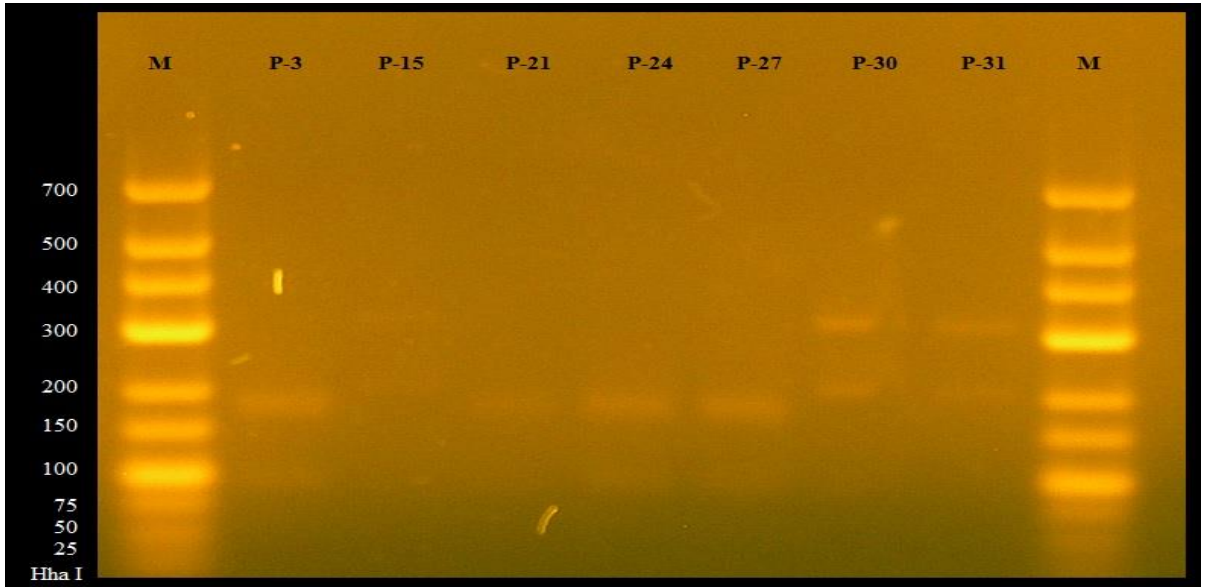
Şekil 4.21. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Alu I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42)



Şekil 4.22. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Alu I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15, P-21, P-24, P-27, P-30, P-31)



Şekil 4.23. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hha I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42)



Şekil 4.24. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hha I* ile kesim sonuçları (Grup 2: P-3, P-15, P-21, P-24, P-27, P-30, P-31)

Çizelge 4.9. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 2)

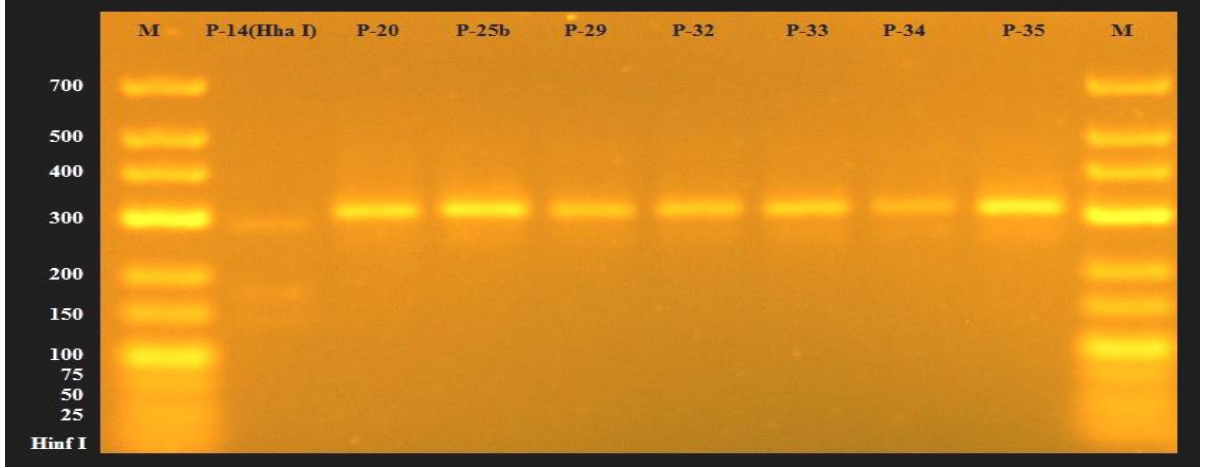
| PCR Grup No | Maya Suşları | <i>HinfI</i> (bp) | <i>HaeIII</i> (bp) | <i>MspI</i> (bp) | <i>AluI</i> (bp) | <i>HhaI</i> (bp) |
|---------------------|--|-------------------|--------------------|---------------------|------------------|--------------------|
| Grup 2 (~650 bp) | P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-19, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42 | 296/185/ 145 | - | 198/152/ 143/100 | - | 325/215 |
| | P-3, P-21, P-24, P-27 | 294/177/1 38 | 465/155 | 204/188/ 150 | 390/208 | 190/185/103 /91 |
| | P-15 | 294/177/1 38 | - | 204/188/ 150 | - | 331/210/107 |
| | P-30, P-31 | 294/177/1 38 | - | 200/150/ 143/100 | - | 331/210/107 |

4.4.1.3. Grup 3 restriksiyon enzimi ile kesim profili

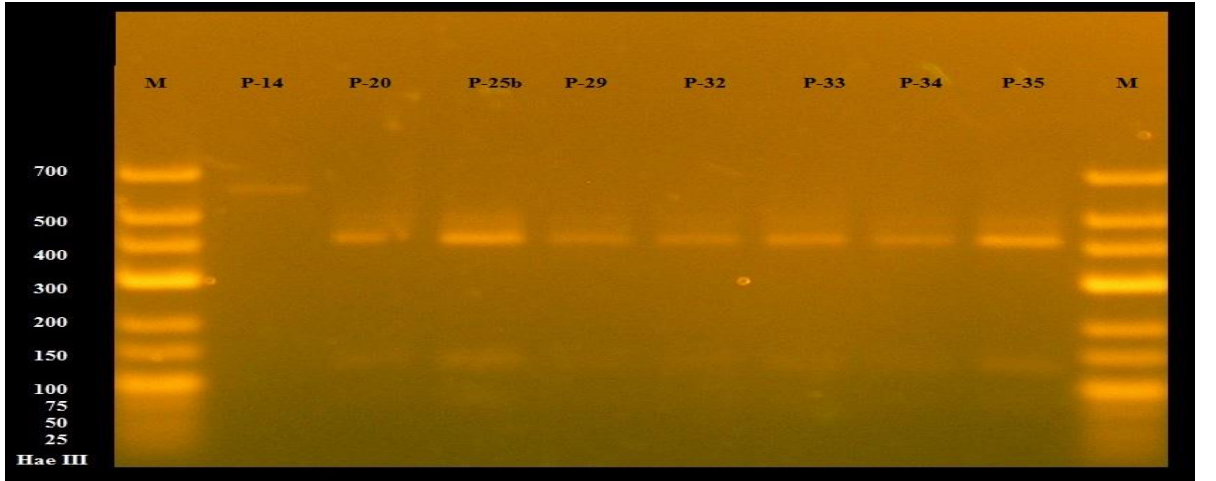
Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR amplifikasyonu sonucunda üçüncü grubunda bulunan P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35 maya suşlarının *HinfI* ile kesim sonuçları Şekil 4.25'te, *HaeIII* ile kesim sonuçları Şekil 4.26'da, *MspI* ile kesim sonuçları Şekil 4.27'de, *AluI* ile kesim sonuçları Şekil 4.28'de ve *HhaI* ile kesim sonuçları Şekil 4.29'da verildi. Maya suşlarının restriksiyon sonrası oluşturduğu bant uzunlukları Çizelge 4.10'da ayrıntılı olarak özetlendi.

Maya suşlarının çalışmada kullanılan her bir restriksiyon enzimleri ile yapılan kesimi sonrasında iki farklı profil oluşturduğu belirlendi. *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35 maya suşlarının 321bp ve 313bp uzunluğunda iki bant verdiği, P-14 maya suşunun ise 320bp, 215bp ve 95bp olarak üç farklı restriksiyon ürünü verdiği belirlendi. *HaeIII* enzimi ile kesimi sonrasında P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35 maya suşlarının 432bp, 142bp ve 82bp uzunluğunda üç farklı restriksiyon ürünü verdiği, P-14 maya suşunun ise *Hae III* enzimi için kesim bölgesi içermediği tespit edildi. *Msp I* enzimi ile yapılan kesim sonucunda P-14 maya suşunun 197bp, 145bp (X2) ve 99bp büyüklüğünde dört farklı restriksiyon ürünü verdiği,

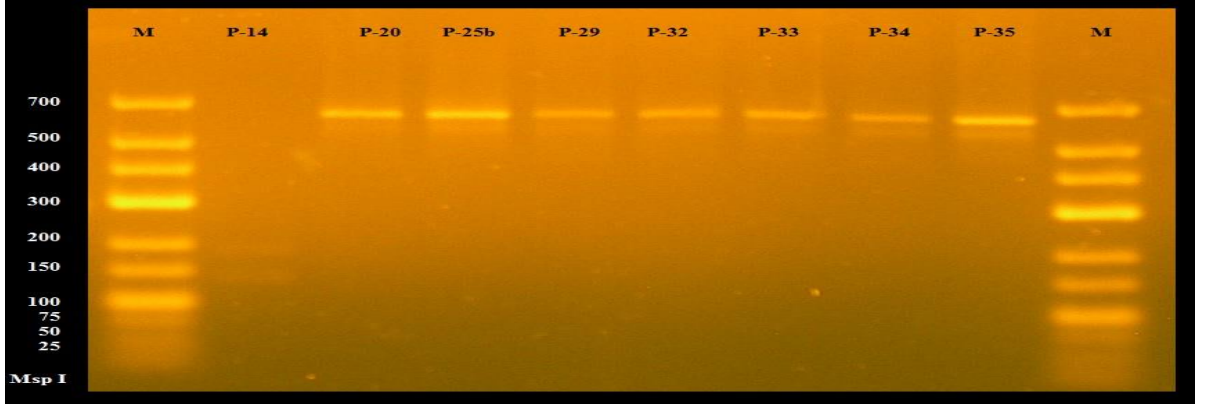
diğer maya suşlarının ise *Msp I* enzimi için kesim bölgesine sahip olmadığı tespit edildi. *HhaI* enzimi ile yapılan kesim sonrasında P-14 maya suşunun 289bp, 177bp ve 140bp büyüklüğünde üç farklı restriksiyon ürünü oluşturduğu, diğer maya suşlarının ise 304bp ve 298bp uzunluğunda iki restriksiyon ürünü oluşturduğu gözlemlendi. Üçüncü grupta yer alan tüm maya suşlarını *Alu I* restriksiyon enzimi için kesim bölgesine sahip olmadığı belirlendi (Çizelge 4.10).



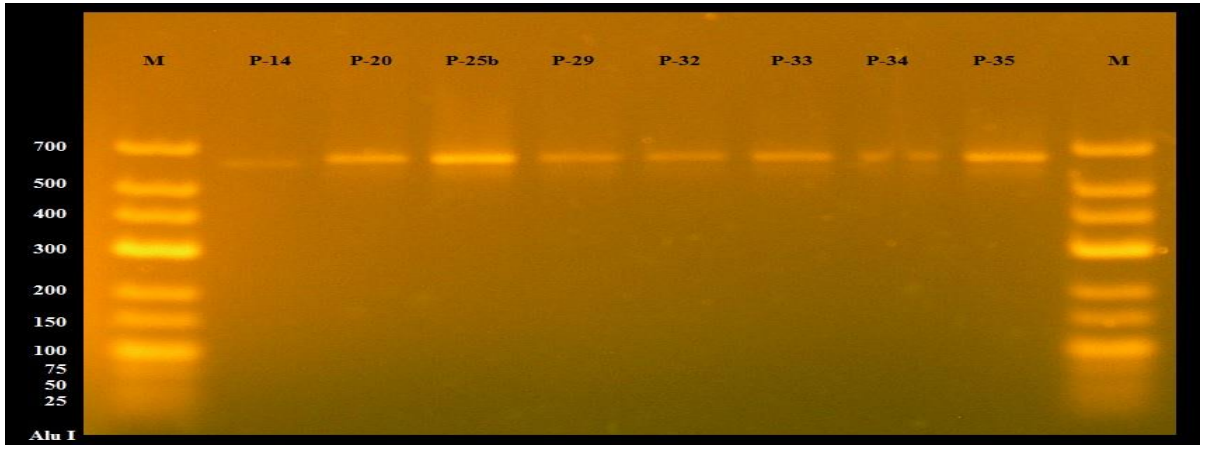
Şekil 4.25. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hinf I* ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35)



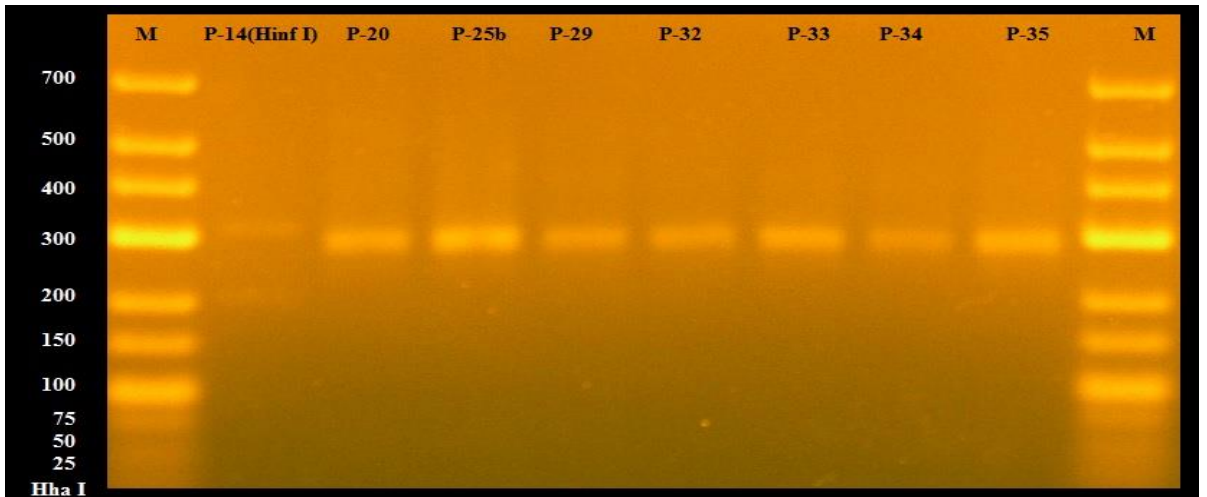
Şekil 4.26. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hae III* ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35)



Şekil 4.27. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Msp I* ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35)



Şekil 4.28. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Alu I* ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35)



Şekil 4.29. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hha I* ile kesim sonuçları (Grup 3: P-14, P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34 ve P-35)

Çizelge 4.10. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 3)

| PCR Grup No | Maya Suşları | <i>HinfI</i> (bp) | <i>HaeIII</i> (bp) | <i>MspI</i> (bp) | <i>AluI</i> (bp) | <i>HhaI</i> (bp) |
|-----------------|---|-------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| Grup 3 (~700bp) | P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34, P-35 | 321/313 | 432/142/82 | - | - | 304/298 |
| | P-14 | 320/215/95 | - | 197/145/145/99 | - | 289/177/140 |

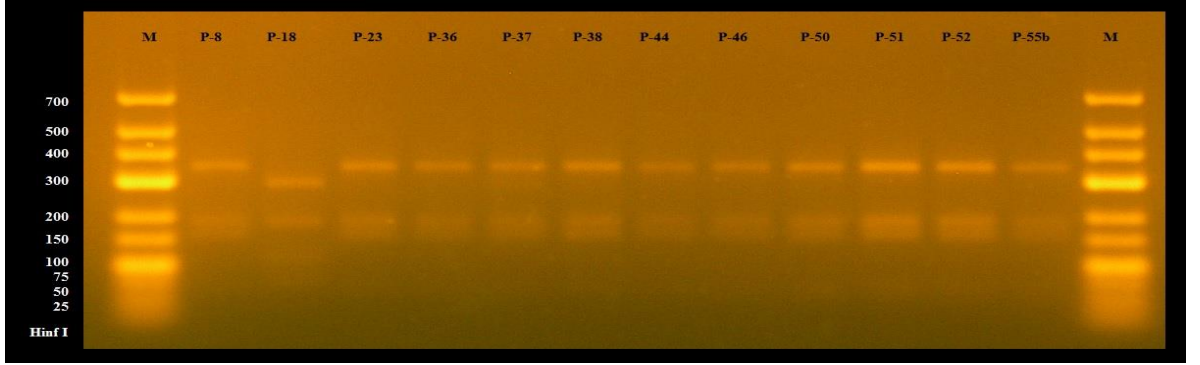
4.4.1.4. Grup 4 restriksiyon enzimi ile kesim profili

Nar meyvesinden izole edilen ve PCR bant büyüklüklerine göre dördüncü grupta bulunan P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52 ve P-55b maya suşlarının *HinfI* ile kesim sonuçları Şekil 4.30'da, *HaeIII* ile kesim sonuçları Şekil 4.31'de, *MspI* ile kesim sonuçları Şekil 4.32'de, *AluI* ile kesim sonuçları Şekil 4.33'te ve *HhaI* ile kesim sonuçları Şekil 4.34'te verildi. Maya suşlarının restriksiyon sonrası oluşturduğu bant uzunlukları Çizelge 4.11'de ayrıntılı olarak özetlendi P-45 numaralı maya suşunun PCR amplifikasyon ürünü az olduğu için restriksiyon kesimleri yapılmadı ve bu maya suşu çalışmadan çıkartıldı.

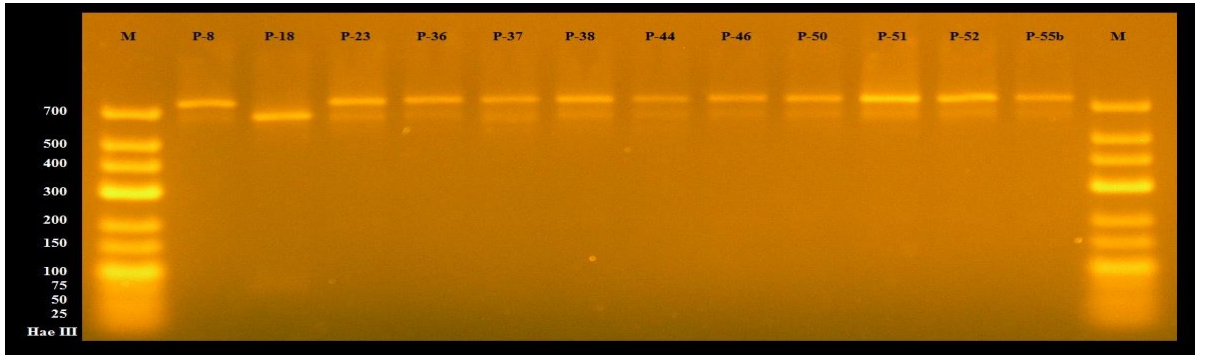
Bu grupta bulunan maya suşlarının *HinfI*, *HaeIII*, *AluI* ve *HhaI* enzimleri ile kesim sonuçlarına göre iki farklı profil oluşturdıkları belirlendi. *Msp I* enziminin ise kesim bölgesi içermediği görüldü. *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda P-8, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-46, P-50, P-51, P-52 ve P-55b maya suşlarının 354bp, 191bp ve 166bp uzunluğunda restriksiyon ürünü verdiği, P-18 maya suşunun ise 354bp, 191bp ve 166bp uzunluğunda üç farklı bant verdiği tespit edildi.

P-18 maya suşunun *Hae III* enzimi ile yapılan kesimi sonucunda 677bp ve 62bp uzunluğunda iki restriksiyon ürünü verdiği, kalan diğer maya suşlarının ise kesim bölgesi içermediği gözlemlendi. *Alu I* enzimiyle yapılan kesim sonucunda P-8, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b maya suşlarının iki farklı (585bp ve 185bp) ve P-18 maya suşunun üç (428bp, 188bp ve 136bp) bant uzunluğunda restriksiyon ürünü verdiği gözlemlendi.

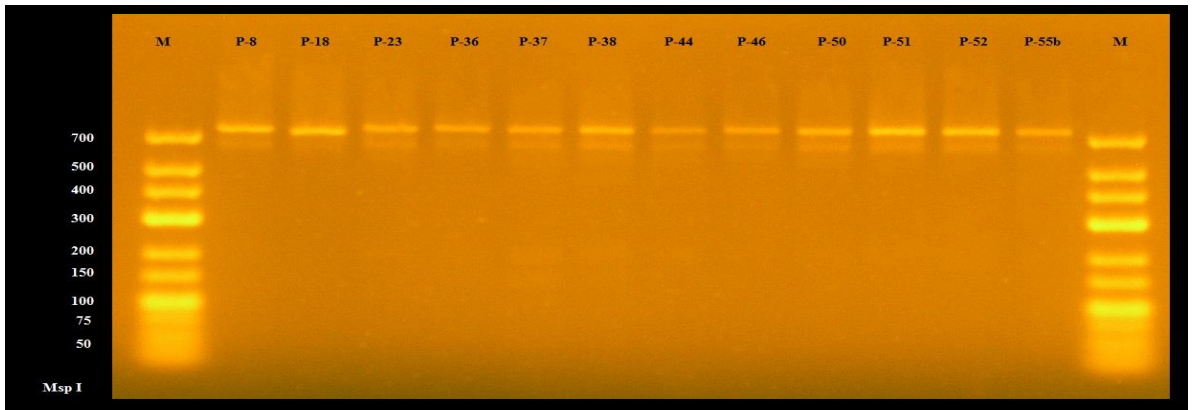
Hha I enzimiyle yapılan kesim işlemi sonrasında P-18 maya suşunun 303bp, 202bp ve 109bp uzunluğunda üç farklı restriksiyon ürünü verdiği, diğer maya suşlarının ise 339bp, 114bp, 108bp ve 99bp uzunluğunda restriksiyon ürünü verdiği tespit edildi (Çizelge 4.11).



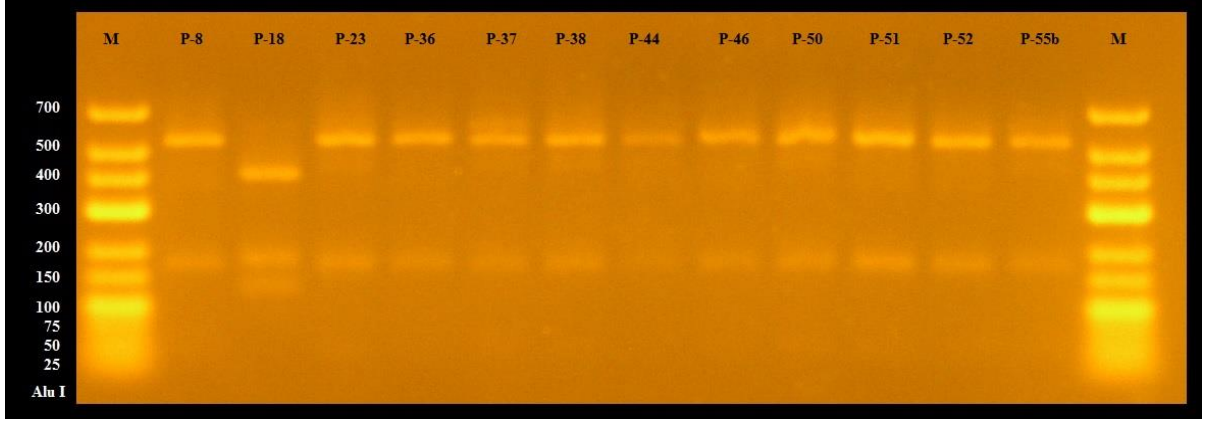
Şekil 4.30. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hinf I* ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b)



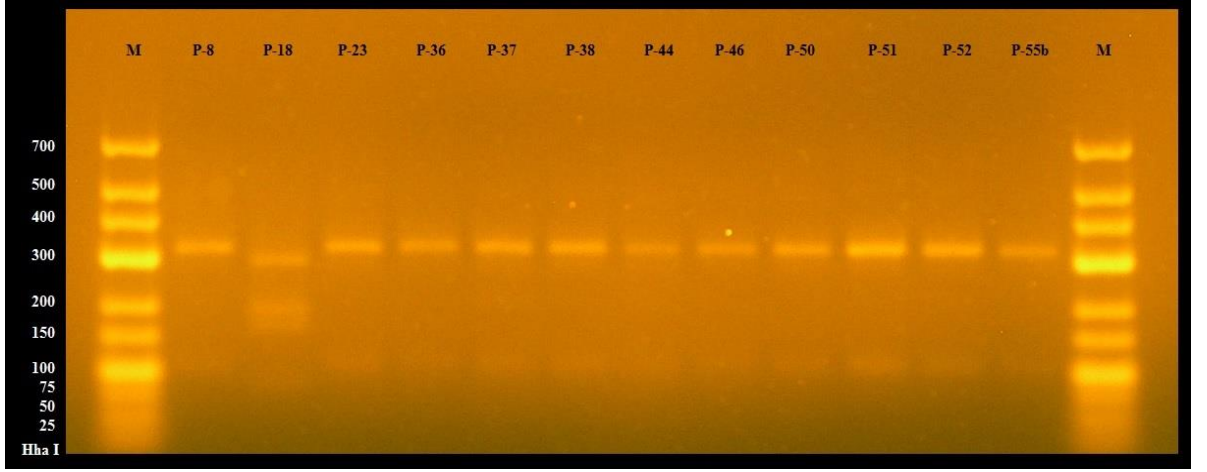
Şekil 4.31. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hae III* ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b)



Şekil 4.32. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Msp I* ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b)



Şekil 4.33 Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Alu I* ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b)



Şekil 4.34. Nar Meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hha I* ile kesim sonuçları (Grup 4: P-8, P-18, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b)

Çizelge 4.11. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 4)

| PCR Grup No | Maya Suşları | <i>HinfI</i> (bp) | <i>HaeIII</i> (bp) | <i>MspI</i> (bp) | <i>AluI</i> (bp) | <i>HhaI</i> (bp) |
|------------------|--|--------------------|--------------------|------------------|------------------|--------------------|
| Grup 4 (~800 bp) | P-8, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b | 354/191/ 166 | - | - | 585/185 | 339/114/ 108/99 |
| | P-18 | 306/189/ 109/90 | 677/62 | - | 428/188/136 | 303/202/ 109 |

Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin PCR ürününün *HinfI*, *HaeIII* (*BfoI*), *MspI*, *AluI* ve *HhaI* restriksiyon enzimleri ile kesimleri sonrasında bant büyüklüklerine göre maya suşları tekrar gruplandırıldı ve Çizelge 4.12’de verildi. Restriksiyon analizleri sonrasında nar meyvesine ait maya suşlarının 12 farklı grup (olası 12 farklı tür) oluşturduğu gözlemlendi. Maya suşlarının ayrıştırılması için çalışmamızda kullanılan tüm restriksiyon enzimlerinin uygun olduğu tespit edildi. Nar meyvesinin maya florasında 12 farklı türün bulunma ihtimali olduğundan her gruptan bir maya suşu grubu temsilen DNA dizi analizi yaptırılmak üzere seçildi.

Çizelge 4.12 Nar meyvesine ait maya suşlarının ITS1-5,8S-ITS2 bölgesinin PCR ürünlerinin *HinfI*, *HaeIII*, *MspI*, *AluI* ve *HhaI* restriksiyon profilleri

| Grup No | Maya Suşları (Nar - P) | Alu I (bp) | Hae III (bp) | Hinf I (bp) | Msp I (bp) | Hha I (bp) |
|---------|--|-------------|--------------|----------------|-----------------|-------------------|
| Grup 1 | P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-22, P-26, P-39, P-41, P-42 | - | - | 308/184/152 | 195/153/146/101 | 321/217 |
| Grup 2 | P-8, P-37, P-38, P-44, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b | 595/187 | - | 359/189/167 | - | 337/112/103/97/96 |
| Grup 3 | P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34, P-35 | - | 432/141/81 | 321/316 | - | 305/298 |
| Grup 4 | P-25a, P-47, P-49, P-53, P-55a | - | 290/105 | 195/190 | 216/118/52 | 216/95/95 |
| Grup 5 | P-3, P-21, P-24, P-27 | 392/213 | 465/154 | 293/176/132 | 285/191/150 | 189/185/103/87 |
| Grup 6 | P-19, P-30, P-31 | - | - | 304/185/149 | 202/151/144/101 | 329/214/112 |
| Grup 7 | P-48 | - | 389/284/106 | 195/190 | 216/118/52 | 216/95/95 |
| Grup 8 | P-15 | - | - | 287/174/147 | 279/183/152 | 330/209/99 |
| Grup 9 | P-14 | - | - | 320/215/95 | 197/145/145/99 | 289/177/140 |
| Grup 10 | P-18 | 428/188/136 | 677/62 | 306/189/109/90 | - | 303/202/109 |
| Grup 11 | P-23 | 580/180 | - | 361/191/166 | - | 341/120/114/98 |
| Grup 12 | P-36 | 585/190 | - | 358/193/166 | - | 343/126/121 |

4.4.2. Ahududu meyvesine ait maya suşlarının restriksiyon enzimi ile kesim profili

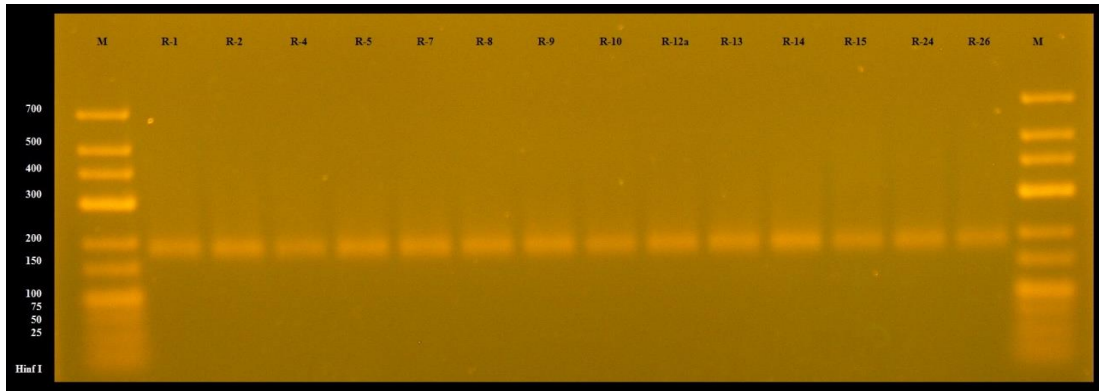
4.4.2.1. Grup 1 restriksiyon enzimi ile kesim profili

Ahududu meyvesinden izole edilen ve PCR bant büyüklüklerine göre birinci grupta yer alan R-1, R-2, R-3, R-4, R-5, R-6, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12/a, R-13, R-14, R-15, R-23, R-24, R-25 ve R-26 maya suşlarının *HinfI* ile kesim sonuçları Şekil 4.35’te, *HaeIII* ile kesim sonuçları Şekil 4.36’da, *MspI* ile kesim sonuçları Şekil 4.37’de, *AluI* ile kesim sonuçları Şekil 4.38’de ve *HhaI* ile kesim sonuçları Şekil 4.38’te verildi. Maya

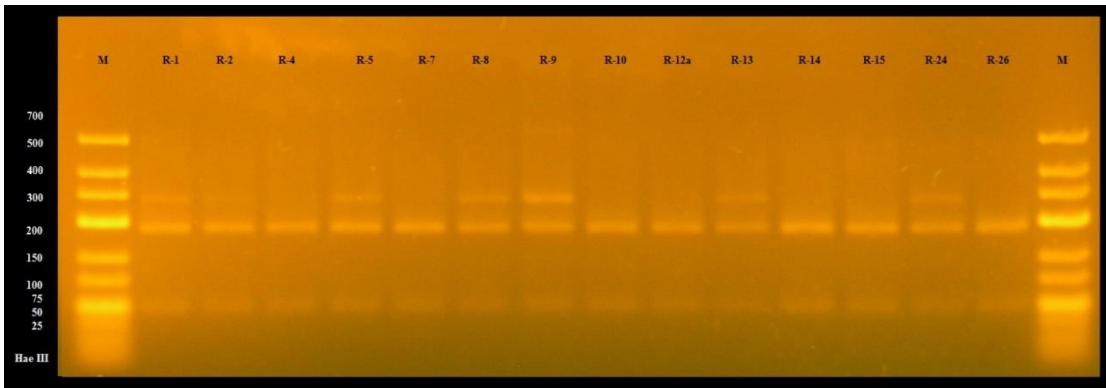
suşlarının restriksiyon sonrası oluşturduğu bant uzunlukları Çizelge 4.13'te ayrıntılı olarak özetlendi.

Bu grupta yer alan tüm maya suşlarının *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonrasında 191bp ve 185bp uzunluğunda iki restriksiyon ürününün, *HhaI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonrasında 211bp, 96bp ve 92bp uzunluğunda üç restriksiyon ürünü oluşturduğu ve *AluI* restriksiyon enzimi için kesim bölgesi içermediği tespit edildi.

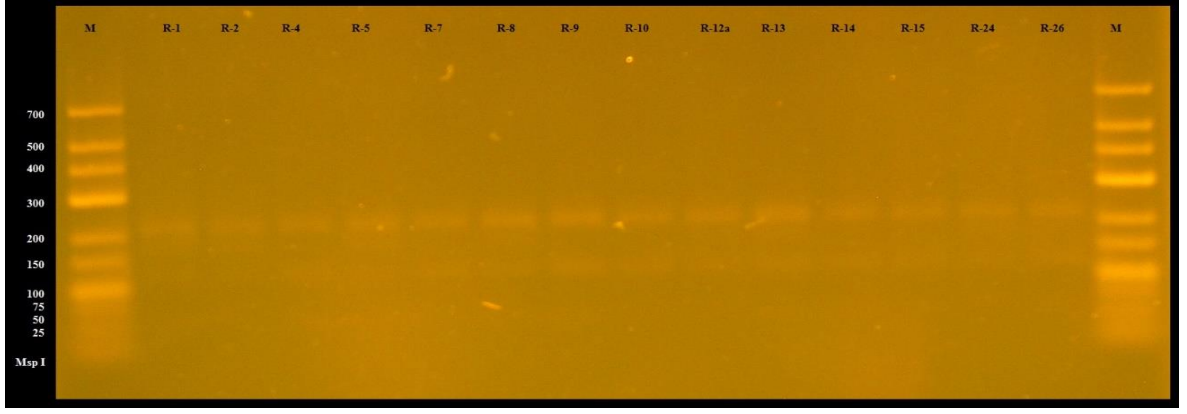
R-1, R-2, R-5, R-9, R-10, R-13 ve R-24 maya suşlarının *HaeIII* restriksiyon enzimiyle yapılan kesimi sonrasında 383bp, 287bp ve 102bp uzunluğunda üç restriksiyon ürünü oluştururken diğer maya suşlarının 284bp ve 90bp uzunluğunda iki restriksiyon ürünü oluşturduğu belirlendi. R-3, R-6 ve R-25 maya suşunun *MspI* enzimi için kesim bölgesi içermediği, R-23 maya suşunun *MspI* enzimi ile kesimi sonrasında 215bp, 120bp ve 60bp uzunluğunda üç restriksiyon ürünü oluşturduğu ve bu grupta yer alan diğer maya suşlarının 228bp ve 122bp uzunluğunda restriksiyon ürünü oluşturduğu belirlendi (Çizelge 4.13).



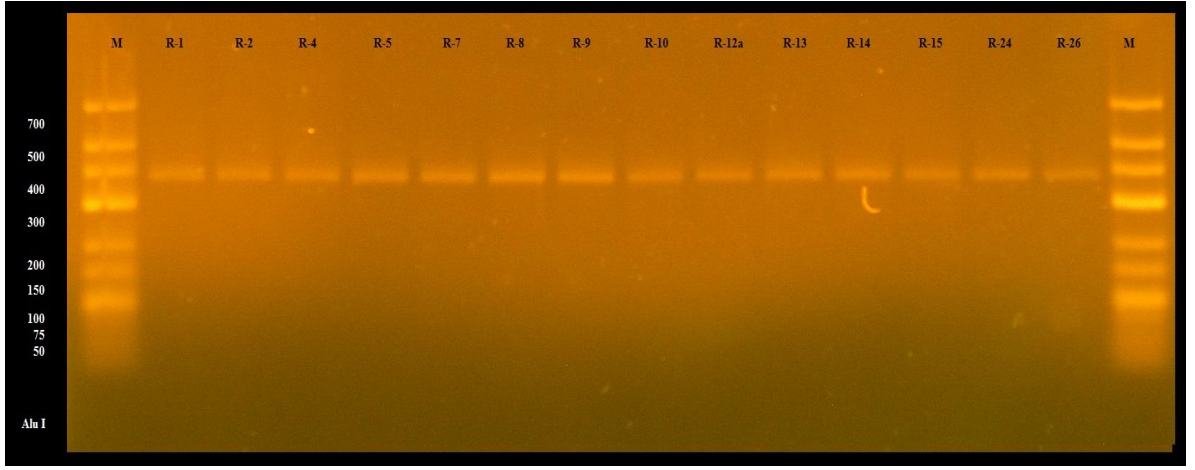
Şekil 4.35. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HinfI* ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26)



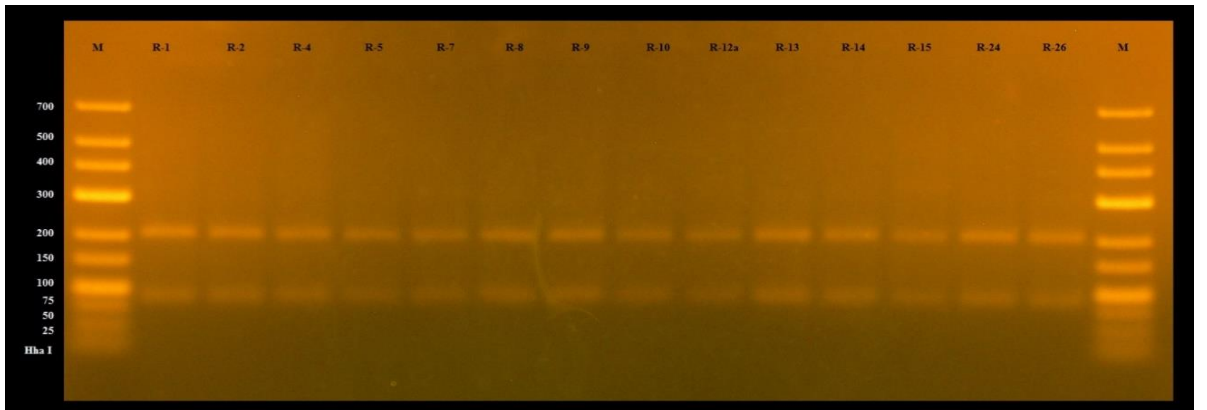
Şekil 4.36. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HaeIII* ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26)



Şekil 4.37. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *MspI* ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26)



Şekil 4.38. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *AluI* ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26)



Şekil 4.39. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HhaI* ile kesim sonuçları (Grup 1: R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26)

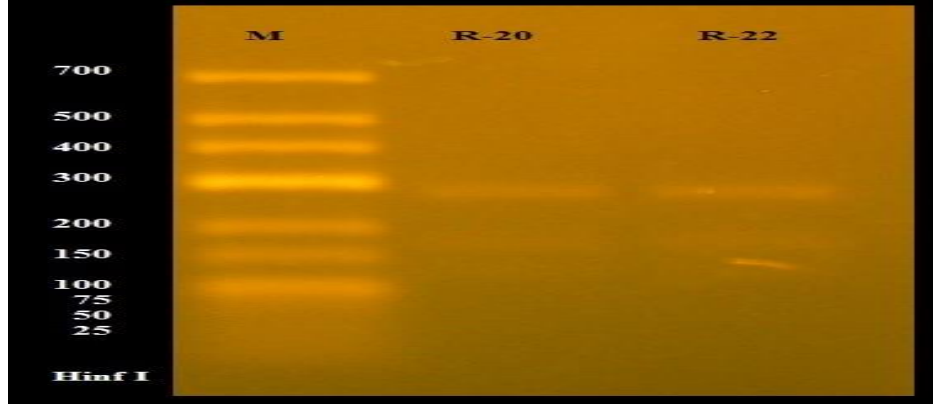
Çizelge 4.13. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 1)

| PCR Grup No | Maya Suşları | <i>HinfI</i> (bp) | <i>HaeIII</i> (bp) | <i>MspI</i> (bp) | <i>AluI</i> (bp) | <i>HhaI</i> (bp) |
|---------------------|--|-------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| Grup 1 (~400 bp) | R-4, R-7, R-8, R-12/a, R-14, R-15, R-26 | 191/185 | 284/90 | 228/12 2 | - | 211/96/92 |
| | R-1, R-2, R-5, R-9, R-10, R-13, R-24 | 191/185 | 383/287/1 02 | 228/12 2 | - | 211/96/92 |
| | R-3, R-6, R-25 | 191/185 | 284/90 | - | - | 211/96/92 |
| | R-23 | 191/185 | 284/90 | 215/12 0/60 | - | 211/96/92 |

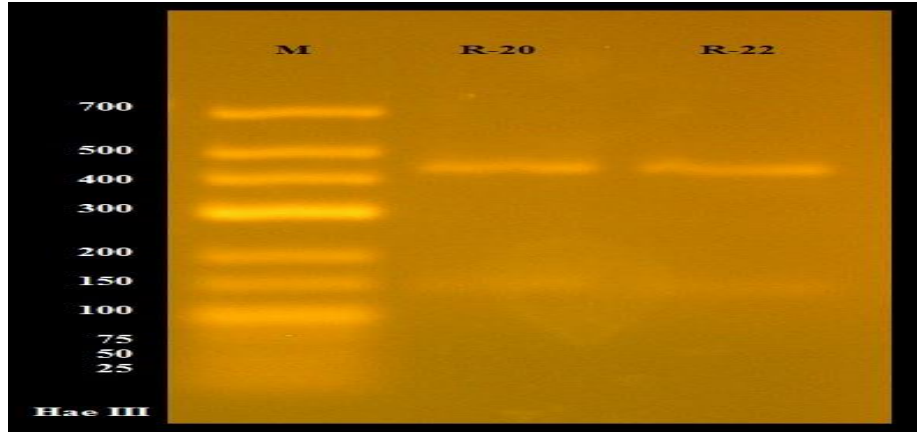
4.4.2.2. Grup 2 restriksiyon enzimi ile kesim profili

Ahududu meyvesinden izole edilerek PCR amplifikasyonu sonucunda Grup 2'yi oluşturan R-20 ve R-22 maya suşlarının *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.40'ta, *HaeIII* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.41'de, *MspI* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.42'de, *AluI* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.43'te ve *HhaI* restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.44'te verildi. Maya suşlarının restriksiyon sonrası oluşturduğu bant uzunlukları Çizelge 4.14'te sunuldu.

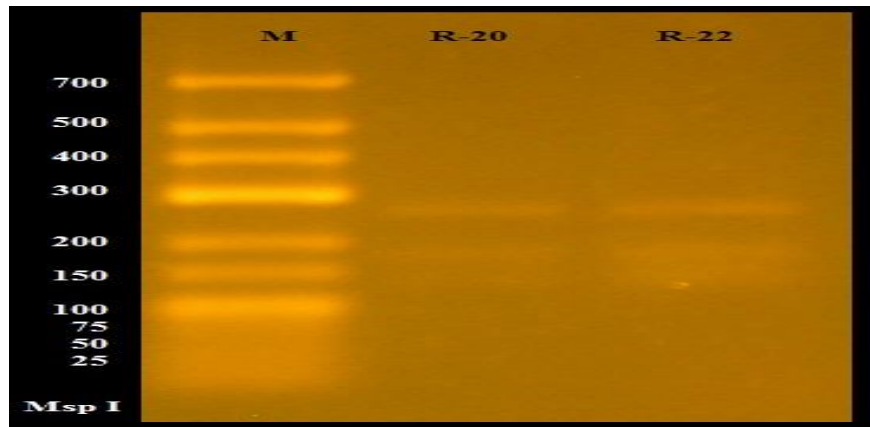
Bu grupta yer alan maya suşlarının *HinfI* enzimi ile kesimi sonucunda 277bp, 170bp ve 129bp uzunluğunda üç restriksiyon ürününün, *HaeIII* enzimi ile yapılan kesim sonrasında 438bp ve 149bp uzunluğunda iki restriksiyon ürününün, *MspI* enzimi ile kesimi sonucunda 271bp, 184bp ve 138bp uzunluğunda üç restriksiyon ürününün, *AluI* enzimi ile yapılan kesim sonrasında 83bp ve 205 bp uzunluğunda iki restriksiyon ürününün, *HhaI* enzimi ile yapılan restriksiyon kesimi sonucunda ise 183bp, 178bp, 109bp ve 98bp uzunluğunda dört restriksiyon ürününün oluştuğu tespit edildi (Çizelge 4.14).



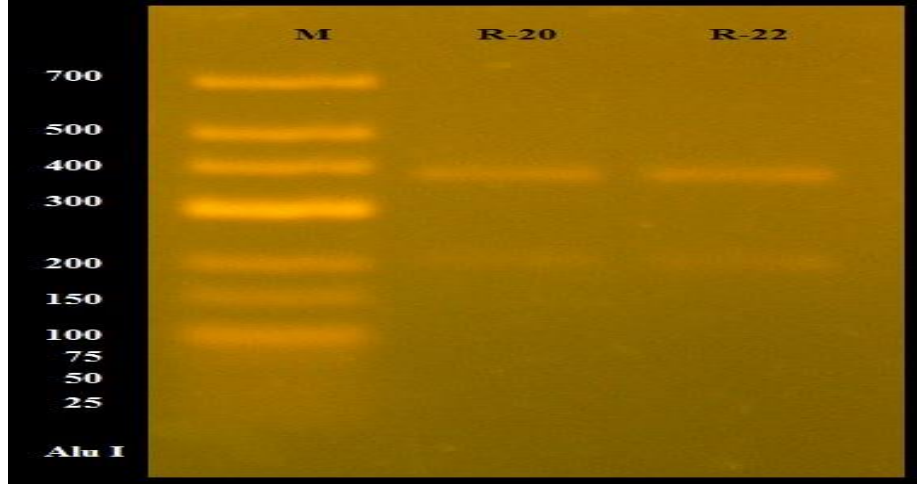
Şekil 4.40. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hinf*I ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22)



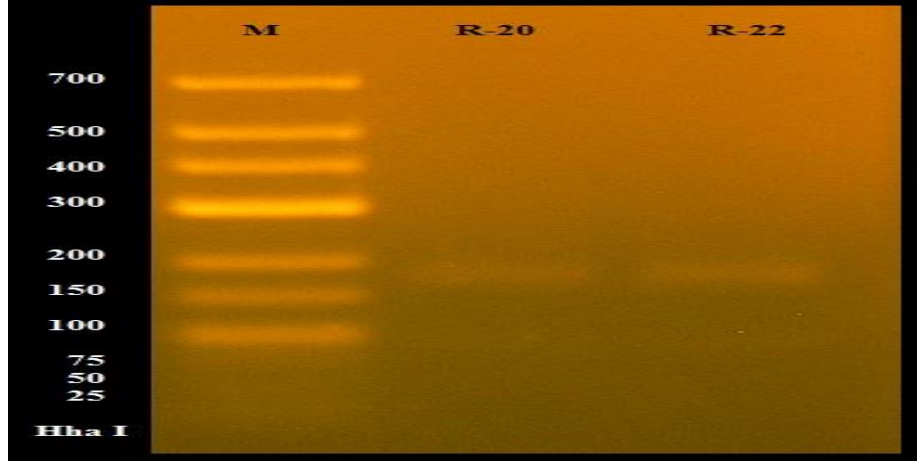
Şekil 4.41. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Hae*III ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22)



Şekil 4.42. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *Msp*I ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22)



Şekil 4.43. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *AluI* ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22)



Şekil 4.44. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HhaI* ile kesim sonuçları (Grup 2: R-20 ve R-22)

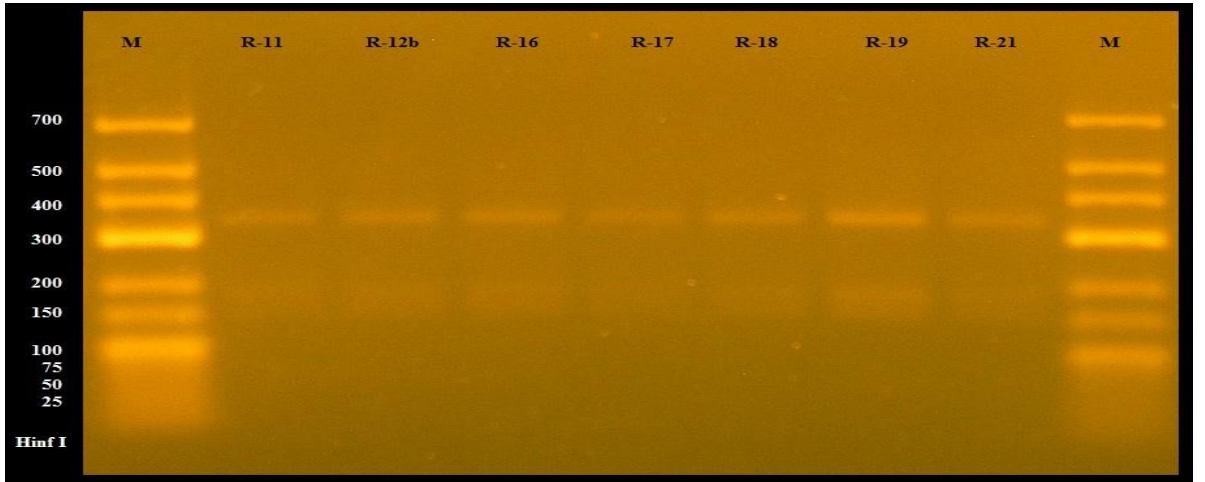
Çizelge 4.14. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 2)

| PCR Grup No | Maya Suşları | <i>HinfI</i> (bp) | <i>HaeIII</i> (bp) | <i>MspI</i> (bp) | <i>AluI</i> (bp) | <i>HhaI</i> (bp) |
|-----------------|--------------|-------------------|--------------------|------------------|------------------|--------------------|
| Grup 2 (~650bp) | R-20, R-22 | 277/170/ 129 | 438/149 | 271/184/ 138 | 383/205 | 183/178/ 109/98 |

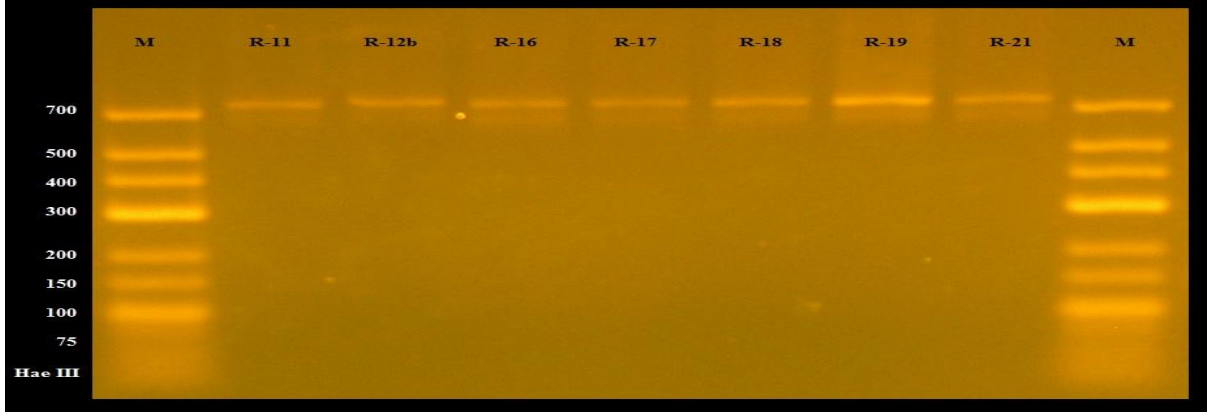
4.4.2.3. Grup 3 restriksiyon enzimi ile kesim profili

Ahududu meyvesinden izole edilen ve PCR amplifikasyon sonrasında üçüncü grupta yer alan R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21 maya suşlarının *HinfI* enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.45'te, *HaeIII* enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.46'da, *MspI* enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.47'de, *AluI* enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.48'de ve *HhaI* enzimi ile kesim sonuçları Şekil 4.49'da verildi. Maya suşlarının restriksiyon sonrası oluşturduğu bant uzunlukları Çizelge 4.15'de ayrıntılı olarak özetlendi.

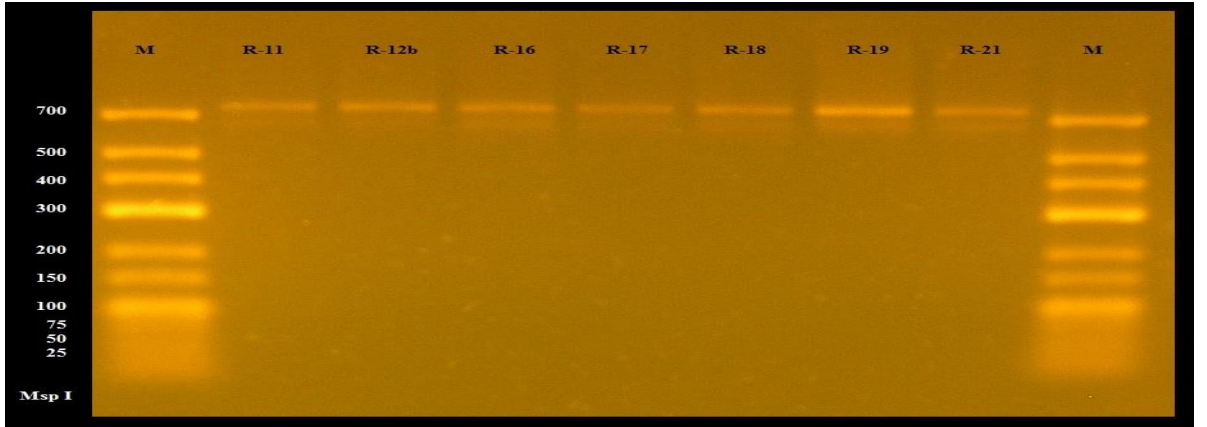
Maya suşlarının *HinfI* enzimi ile kesimi sonucunda 352bp, 184bp ve 147bp uzunluğunda üç restriksiyon ürününün, *AluI* enzimi ile yapılan kesim işlemi sonrasında 546bp ve 179bp uzunluğunda iki restriksiyon ürününün ve *HhaI* enzimi ile yapılan kesimde ise 333bp ve 324bp uzunluğunda iki restriksiyon ürünü elde edildi. Maya suşlarının *HaeIII* ve *MspI* enzimleri için kesim bölgesi içermediği tespit edildi (Çizelge 4.15).



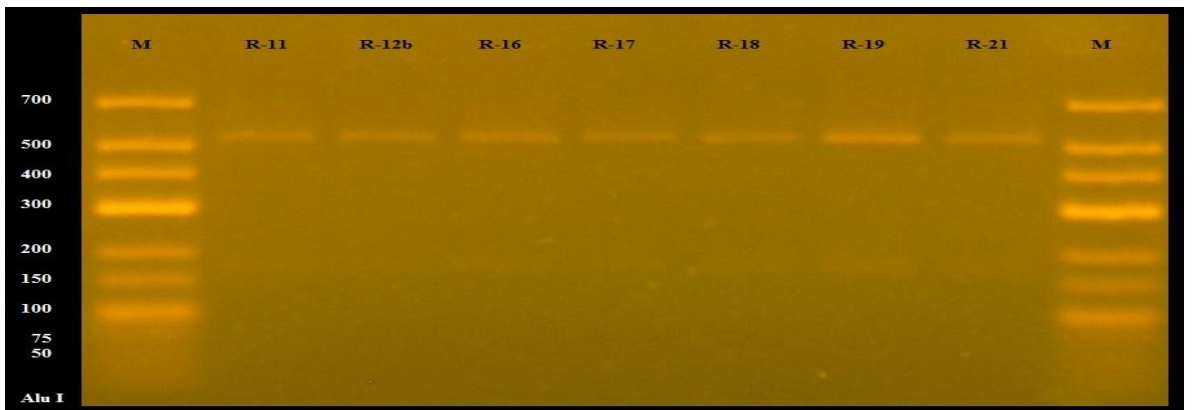
Şekil 4.45. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HinfI* ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21)



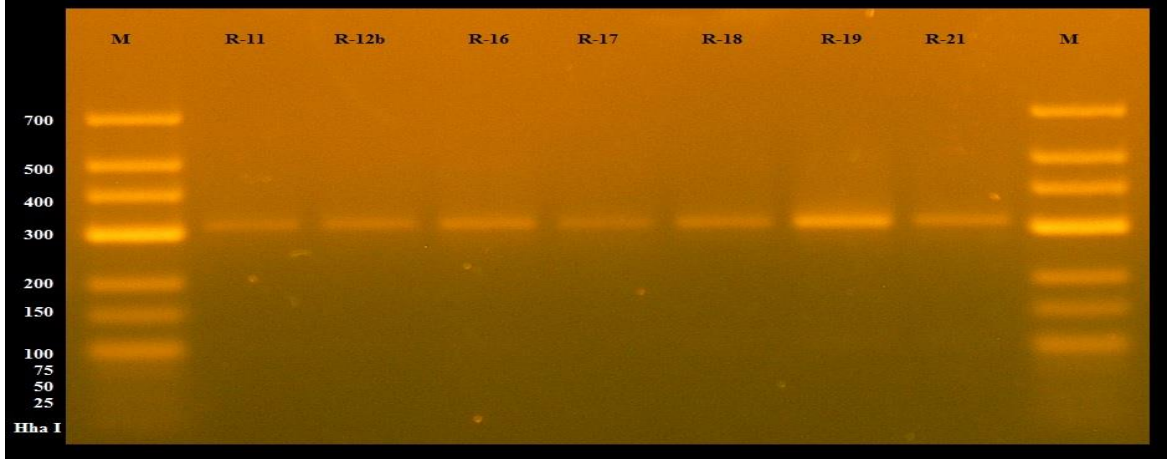
Şekil 4.46. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HaeIII* ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21)



Şekil 4.47. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *MspI* ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21)



Şekil 4.48. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *AluI* ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21)



Şekil 4.49. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının *HhaI* ile kesim sonuçları (Grup 3: R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21)

Çizelge 4.15. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için elde edilen restriksiyon profilleri (Grup 3)

| PCR Grup No | Maya Suşları | <i>HinfI</i> (bp) | <i>HaeIII</i> (bp) | <i>MspI</i> (bp) | <i>AluI</i> (bp) | <i>HhaI</i> (bp) |
|-----------------|--|---------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| Grup 3 (~800bp) | R-11, R-12/b, R-16, R-17, R-18, R-19 ve R-21 | 352/1 84/14 7 | - | - | 546/179 | 333/324 |

Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin PCR ürünününün *HinfI*, *HaeIII* (*BfoI*), *MspI*, *AluI* ve *HhaI* restriksiyon enzimleri ile kesimleri sonrasında bant büyüklüklerine göre maya suşları tekrar gruplandırıldı ve Çizelge 4.16'da verildi. Restriksiyon analizleri sonrasında ahududu meyvesine ait maya suşlarının yedi farklı grup (olası 7 farklı tür) oluşturduğu gözlemlendi. Maya suşlarının ayrıştırılması için çalışmamızda kullanılan tüm restriksiyon enzimlerinin uygun olduğu tespit edildi. Ahududu meyvesinin maya florasında yedi farklı türün bulunma ihtimali olduğunda her gruptan bir maya suşu grubu temsilen DNA dizi analizi yaptırılmak üzere seçildi.

Çizelge 4.16. Ahududu meyvesine ait maya suşlarının restriksiyon profillerine göre gruplandırılması

| Grup No | Maya Suşları (Ahududu - R) | Alu I (bp) | Hae III (bp) | Hinf I (bp) | Msp I (bp) | Hha I (bp) |
|---------|---|------------|--------------|-------------|-------------|----------------|
| Grup 1 | R-1, R-2, R-5, R-9, R-10, R-13, R-24 | - | 382/287/104 | 191/186 | 224/123 | 211/95/93 |
| Grup 2 | R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19, R-21 | 548/176 | - | 351/182/160 | - | 331/324 |
| Grup 3 | R-4, R-7, R-8, R-12a, R-14, R-15, R-26 | - | 285/103 | 191/186 | 231/123 | 214/97/93 |
| Grup 4 | R-3, R-25 | - | 288/117 | 209/182 | - | 215/195 |
| Grup 5 | R-20, R-22 | 383/205 | 439/149 | 277/169/129 | 271/184/133 | 183/177/109/98 |
| Grup 6 | R-23 | - | 293/104 | 190/186 | 215/120/60 | 212/91/74 |
| Grup 7 | R-6 | - | 289/120 | 215/186 | - | 217/99/90 |

4.5. Nar ve Ahududu Meyvelerine Ait Maya Suşlarının DNA Dizi Analizi

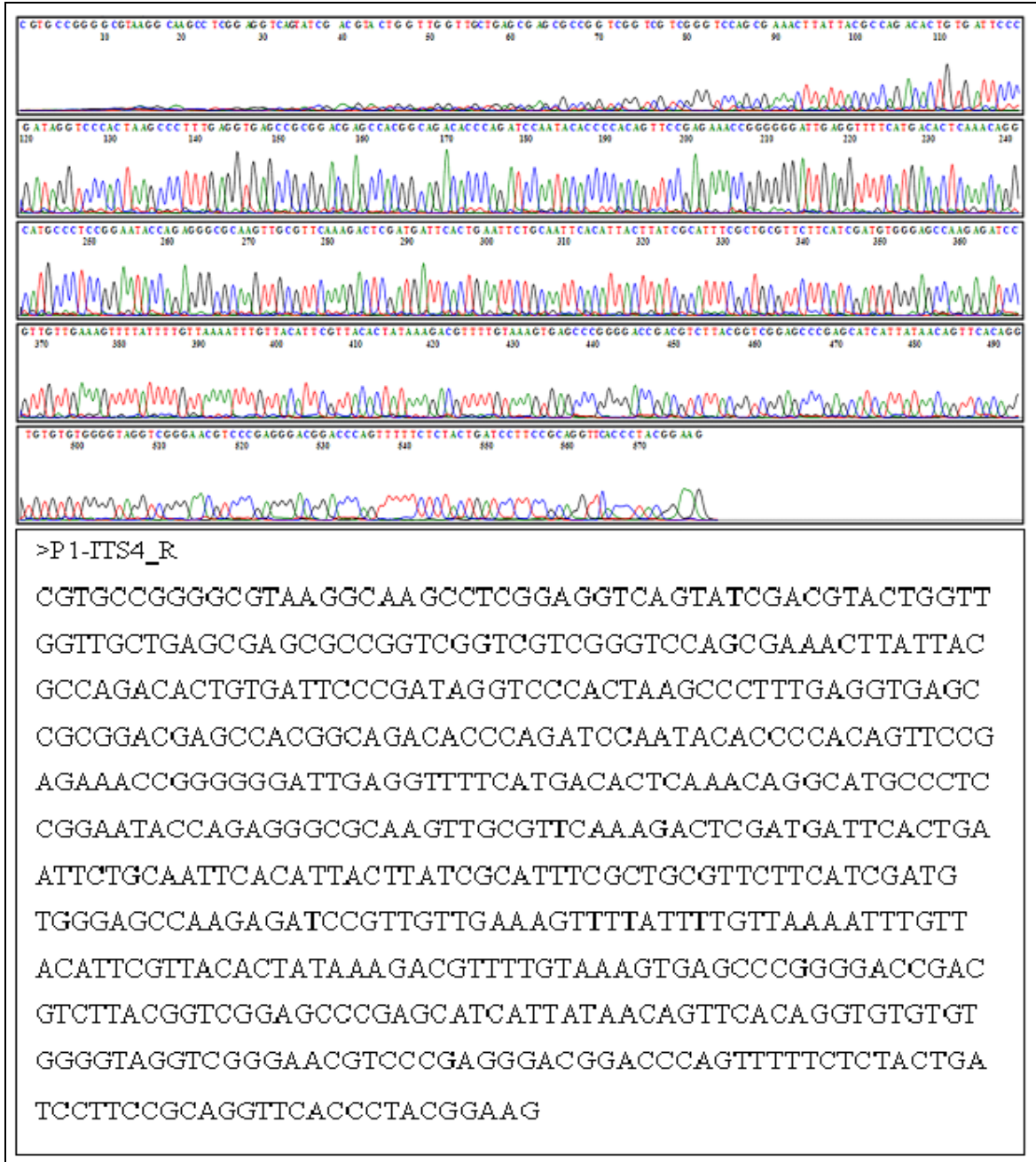
Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgelerinin *HinfI*, *HaeIII* (*BfoI*), *MspI*, *AluI* ve *HhaI* enzimleri ile yapılan kesimi sonrasında oluşturulan her bir gruptan bir maya suşu DNA dizi analizi yaptırılmak üzere belirlendi. ITS1-5,8 rDNA-ITS2 bölgesi sekansları MedSanTek San. Ltd. Co. firmasına yaptırıldı. Elde edilen dizilerin benzerlik analizleri (DNA Sequence Similarity Analysis) NCBI servisinin sunduğu BLAST (Basic Local Alingment Search Tool) analiz programı kullanılarak yapıldı ve analizi yapılan suşlarla en yüksek homoloji gösteren türler belirlendi.

4.5.1. Nar meyvesine ait maya suşlarının DNA dizi analizi

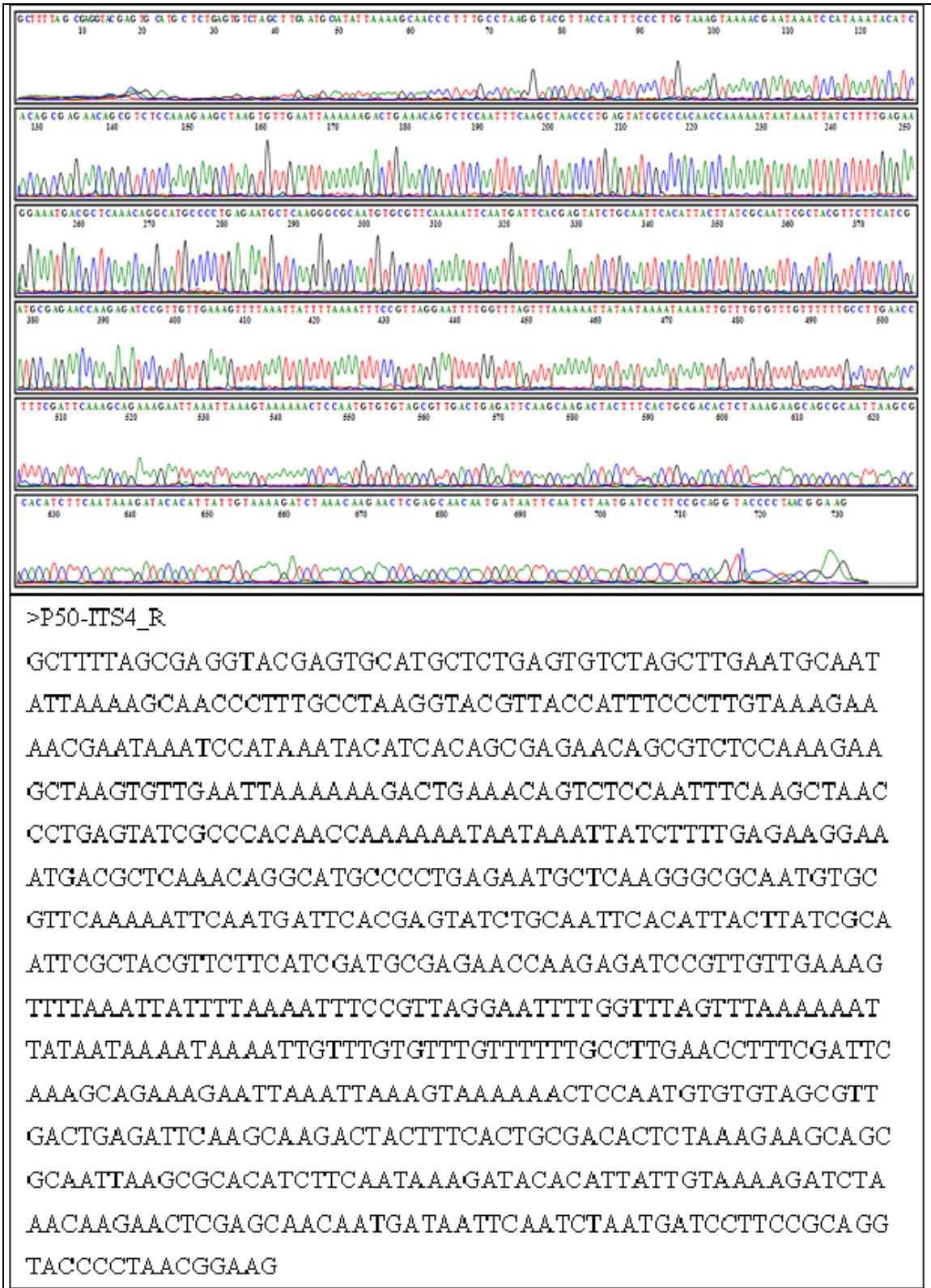
Nar örneklerine ait maya suşlarının Çizelge 4.13'te verilen restriksiyon profillerine göre yapılan gruplandırma dikkate alınarak Grup 1'den P-1, Grup 2'den P-50, Grup 3'ten P-32, Grup 4'ten P-25a, Grup 5'ten P-24 ve Grup 6'dan P-30 maya suşları DNA dizi analizi yaptırılmak üzere rasgele seçildi. Ayrıca tek maya suşunun temsil ettiği gruplardan ise P-48 (Grup7), P-15 (Grup 8), P-14 (Grup 9), P-18 (Grup 10), P-23 (Grup 11) ve P-36 (Grup 12) maya suşlarına DNA dizi analizi yaptırıldı. Restriksiyon profillerine göre oluşturulan gruplamada Grup 5 içerisinde bulunan P-21 maya suşu morfolojik olarak grupta bulunan diğer maya suşlarından (Çizelge 4.1) farklı olduğu için bu maya suşuna da DNA dizi analizi yaptırıldı.

Maya suşlarına ait DNA dizi analizi sonuçları P-1 maya suşu için Şekil 4.50'de, P-50

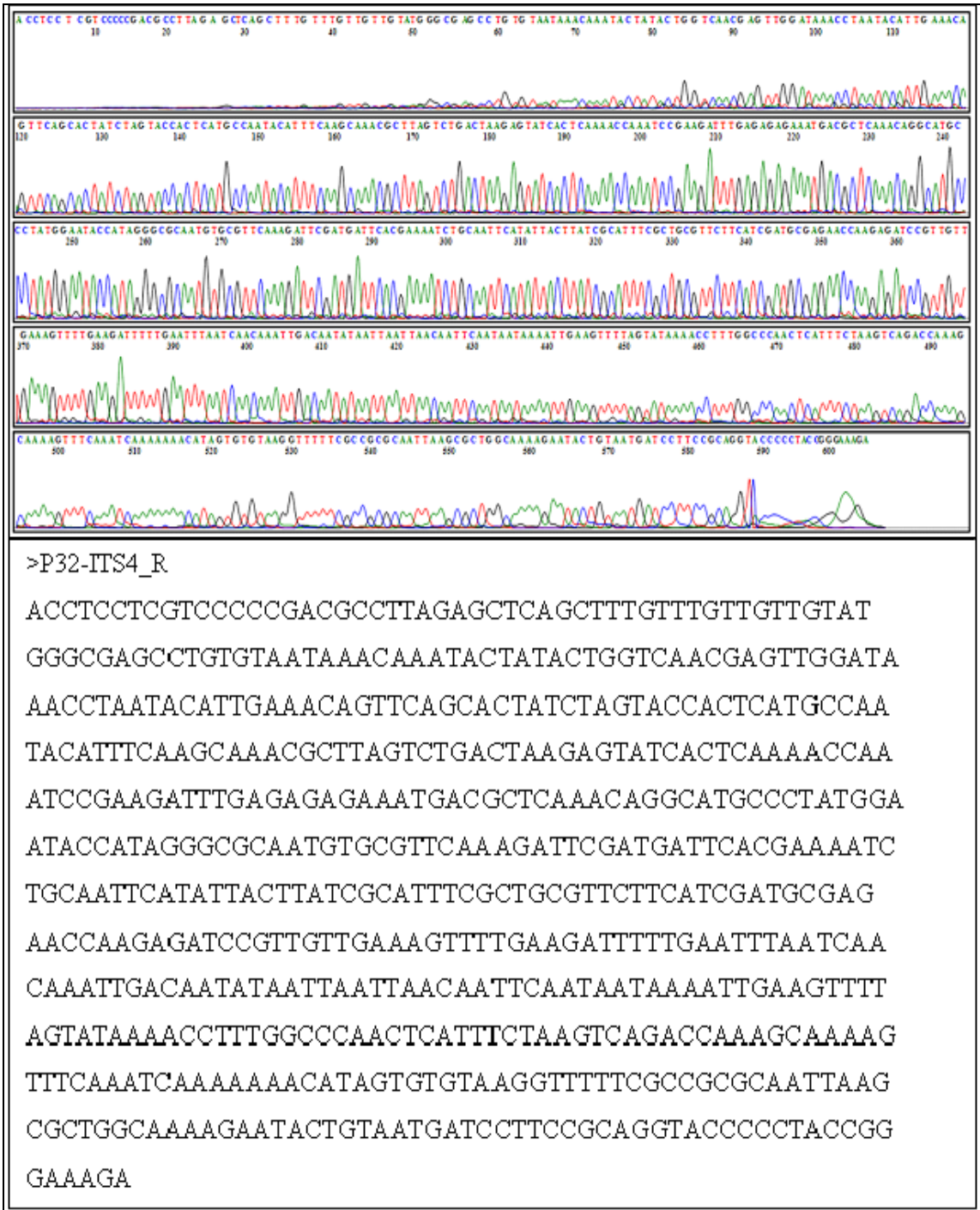
maya suşu için Şekil 4.51’de, P-32 maya suşu için Şekil 4.52’de, P-25a maya suşu için Şekil 4.53’te, P-24 maya suşu için Şekil 4.54’te, P-30 maya suşu için Şekil 4.55’de, P-48 maya suşu için Şekil 4.56’da, P-15 maya suşu için Şekil 4.57’de, P-14 maya suşu için Şekil 4.58’de, P-18 maya suşu için Şekil 4.59’da, P-23 maya suşu için Şekil 4.60’da, P-36 maya suşu için Şekil 4.61’de ve P-21 maya suşu için Şekil 4.62’de verildi.



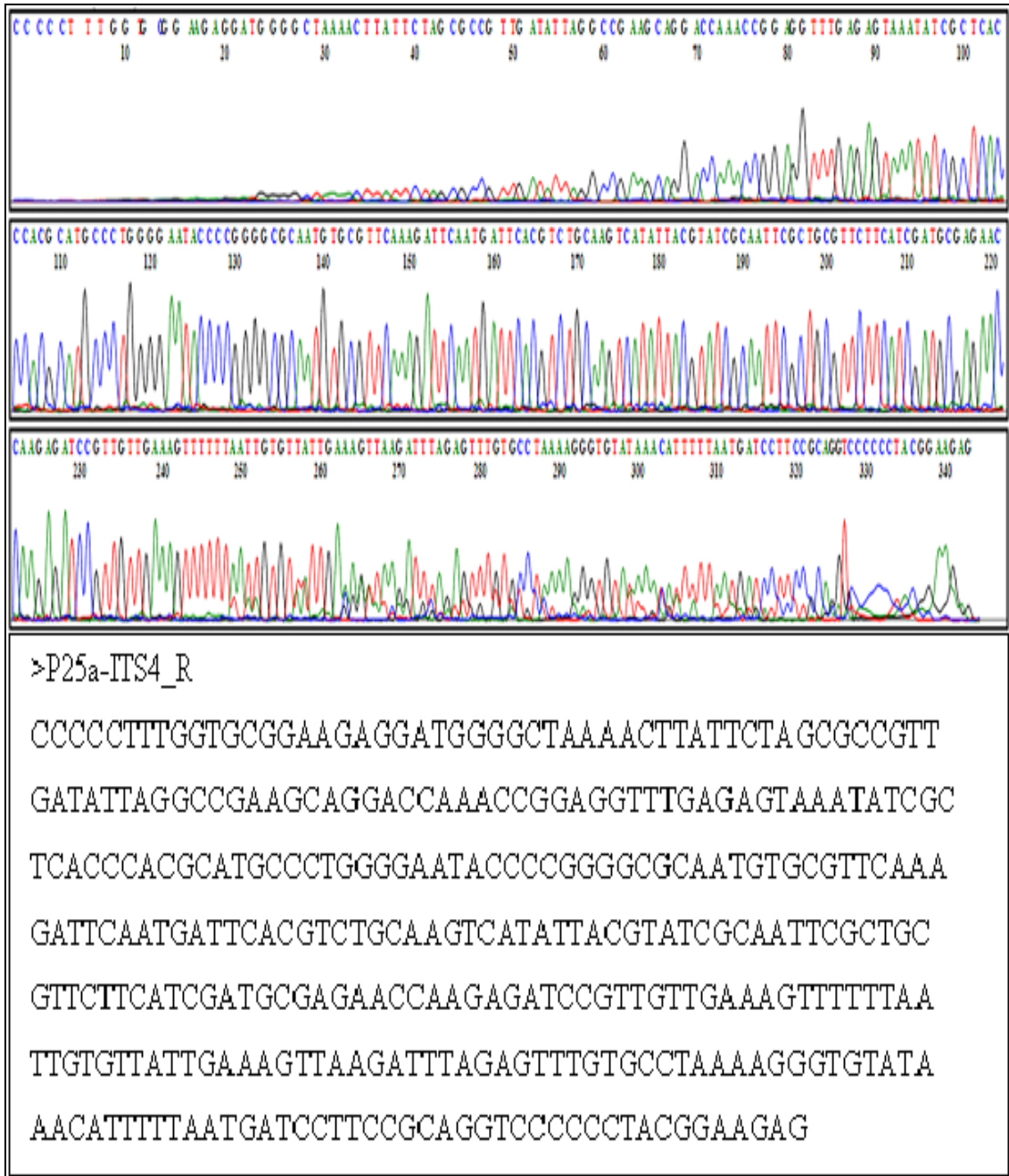
Şekil 4.50. P-1 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



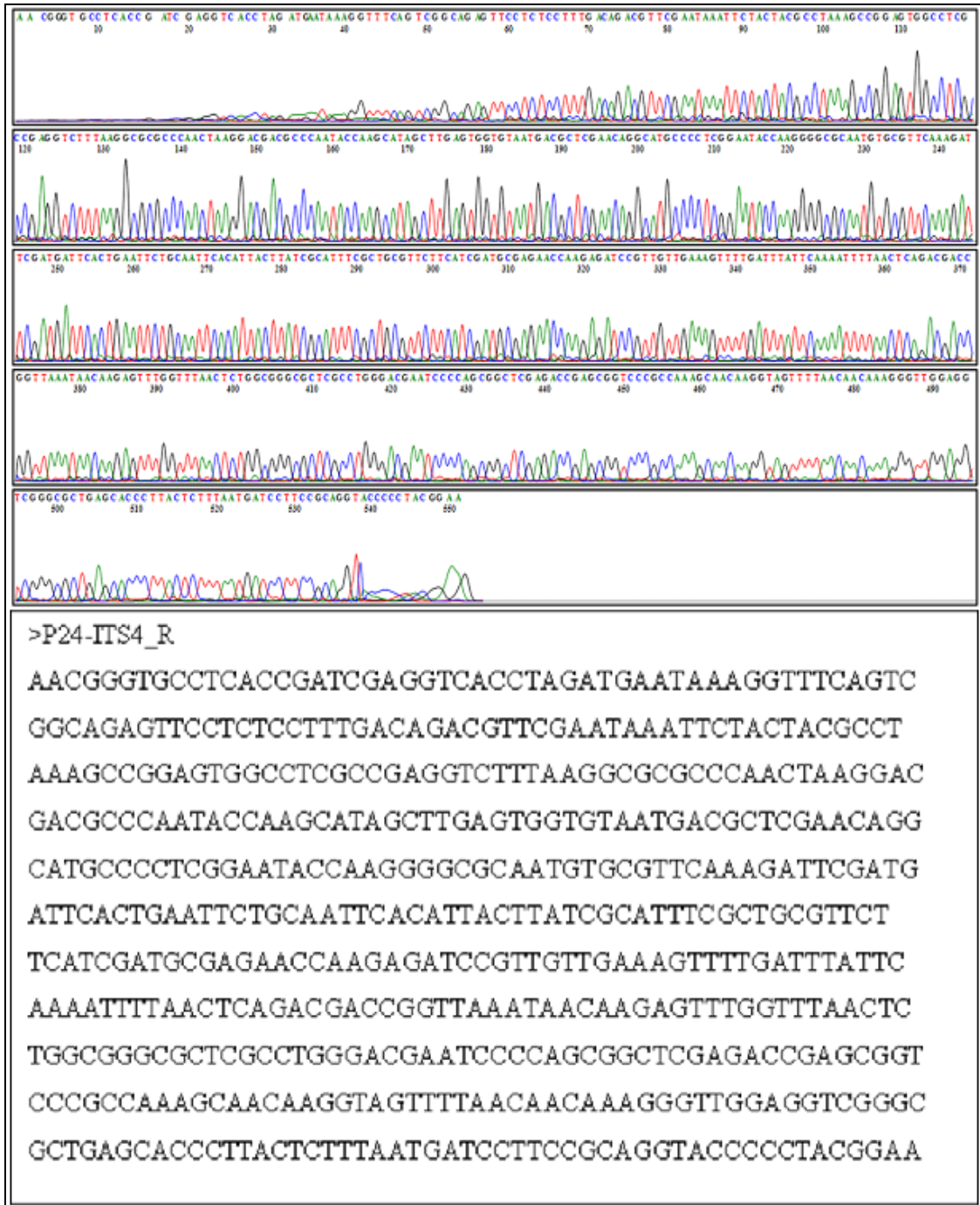
Şekil 4.51. P-50 mayfa suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



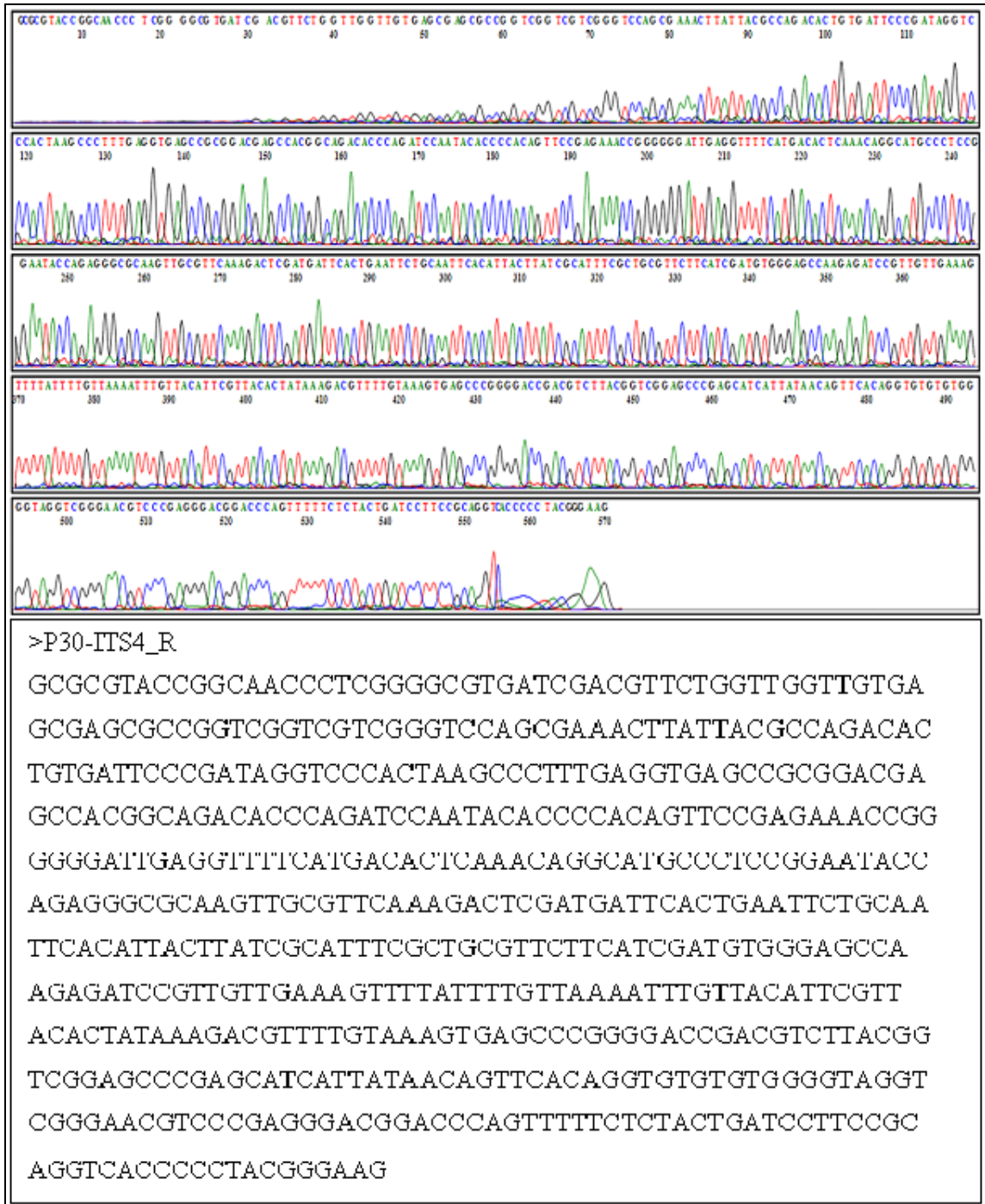
Şekil 4.52. P-32 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



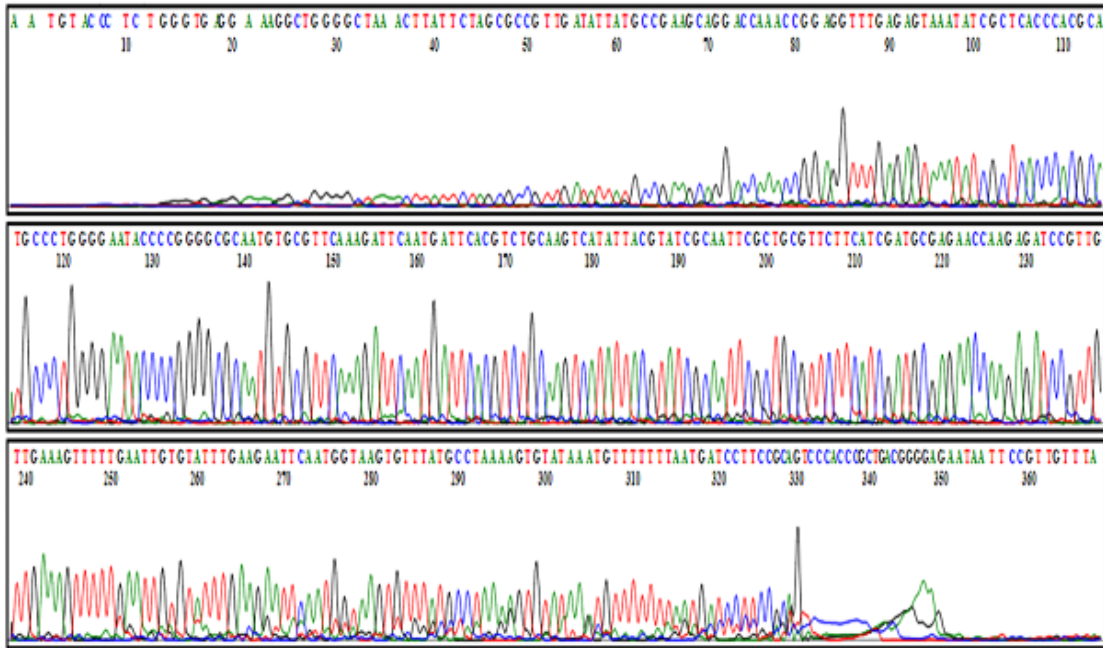
Şekil 4.53. P-25a maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.54. P-24 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.55. P-30 mayası suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



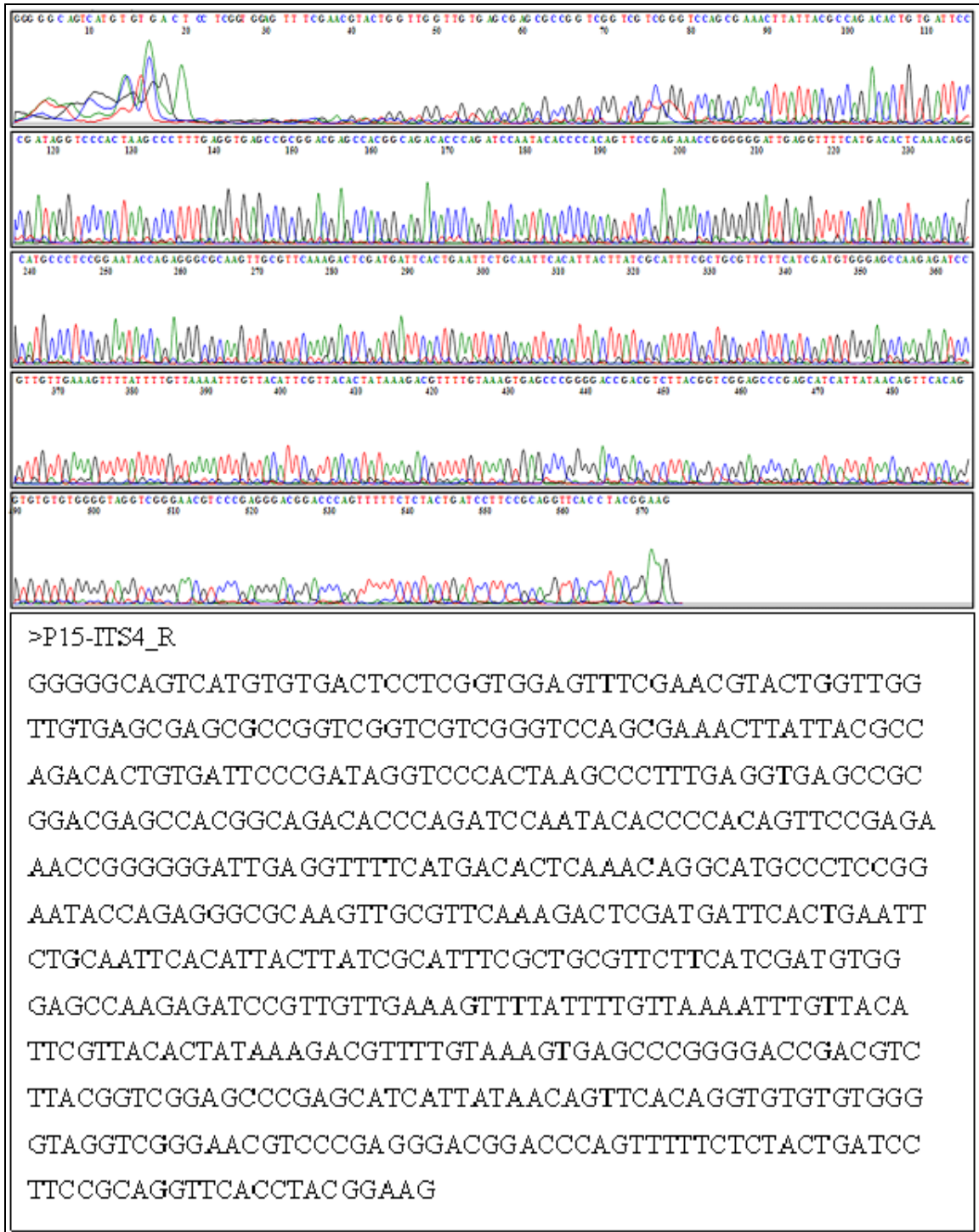
>P48-ITS4_R

```

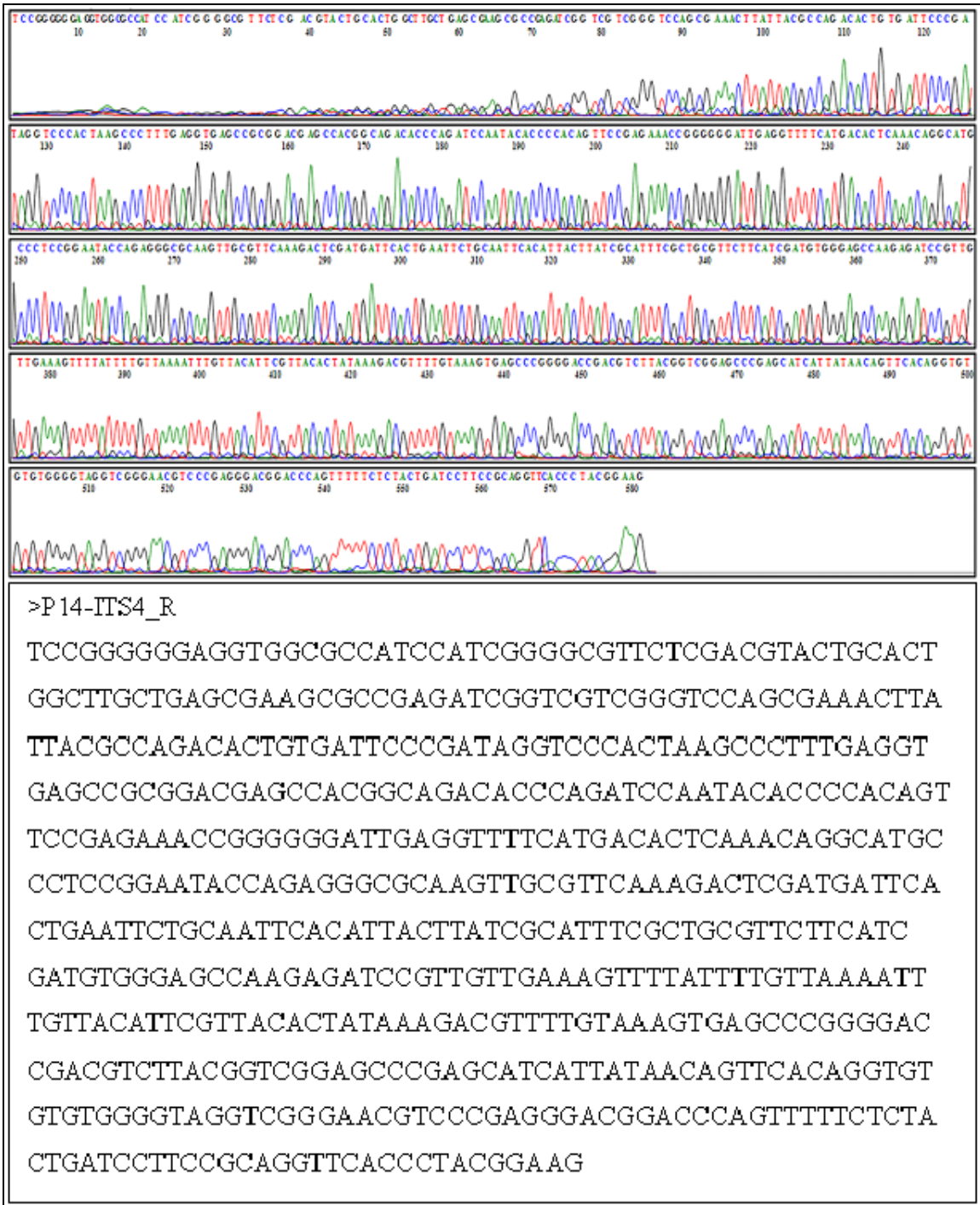
AATGTACCCTCTGGGTGAGGAAAAGGCTGGGGCTAAACTTATTCTAGCGCC
GTTGATATTATGCCGAAGCAGGACCAAACCGGAGGTTTGAAGAGTAAATAT
CGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAATACCCCGGGGCGCAATGTGCGTTC
AAAGATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATATTACGTATCGCAATTCGC
TGCGTTCCTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTT
GAATTGTGATTTGAAGAATCAATGGTAAGTGTATGCTAAAAGTGT
ATAAATGTTTTTTAATGATCCTCCGCAGTCCACCCGCTGACGGGGAG
AAT

```

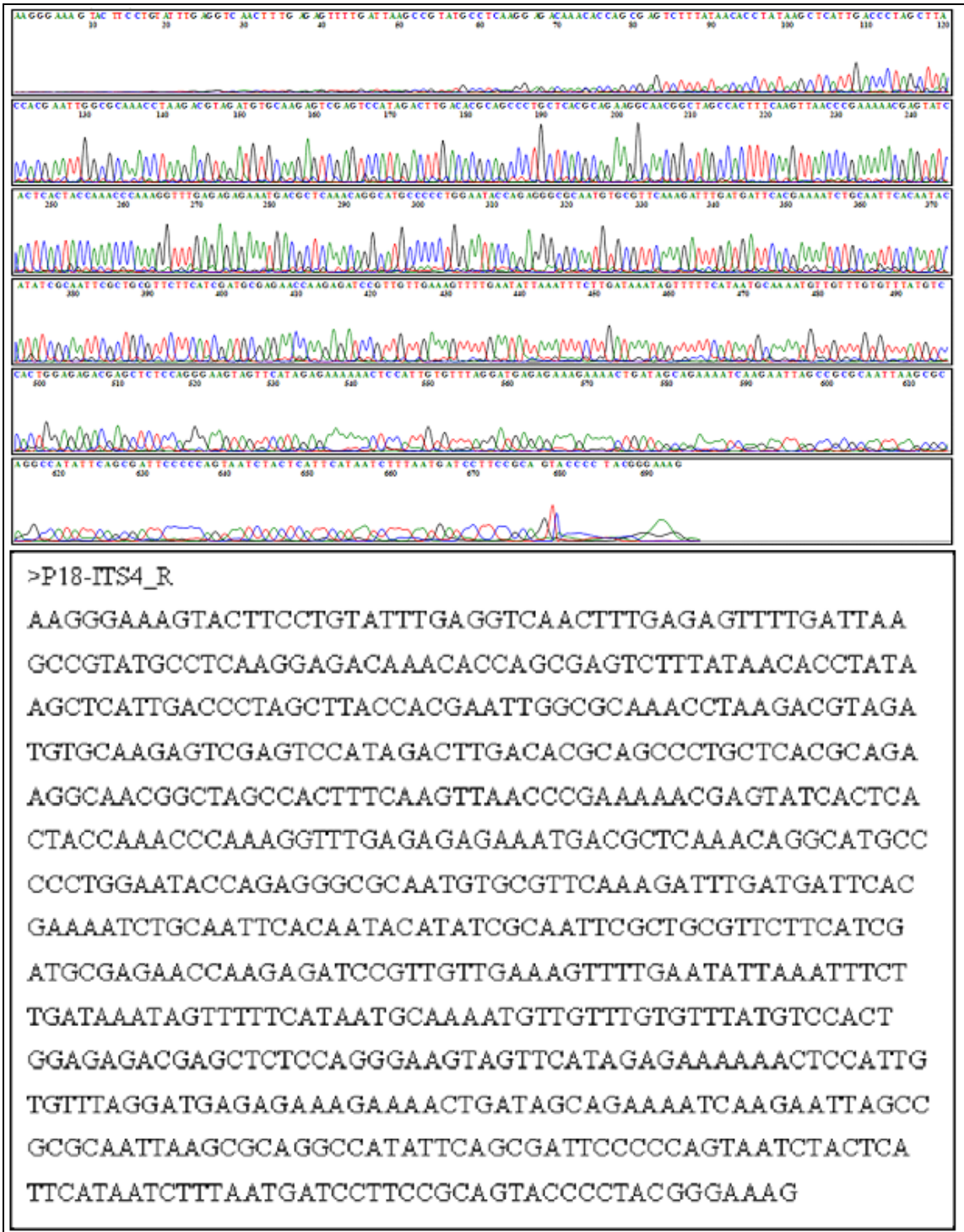
Şekil 4.56. P-48 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



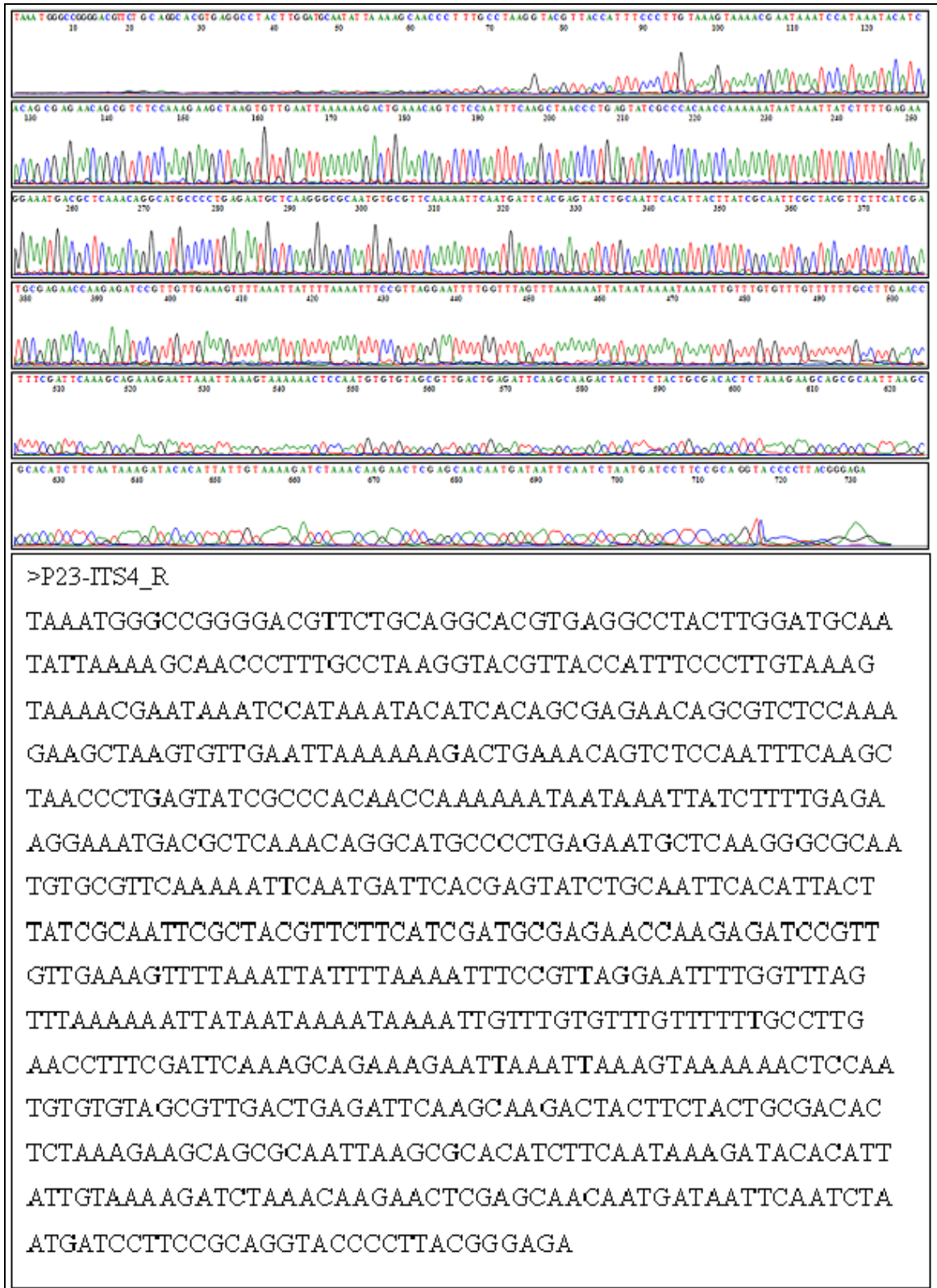
Şekil 4.57. P-15 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



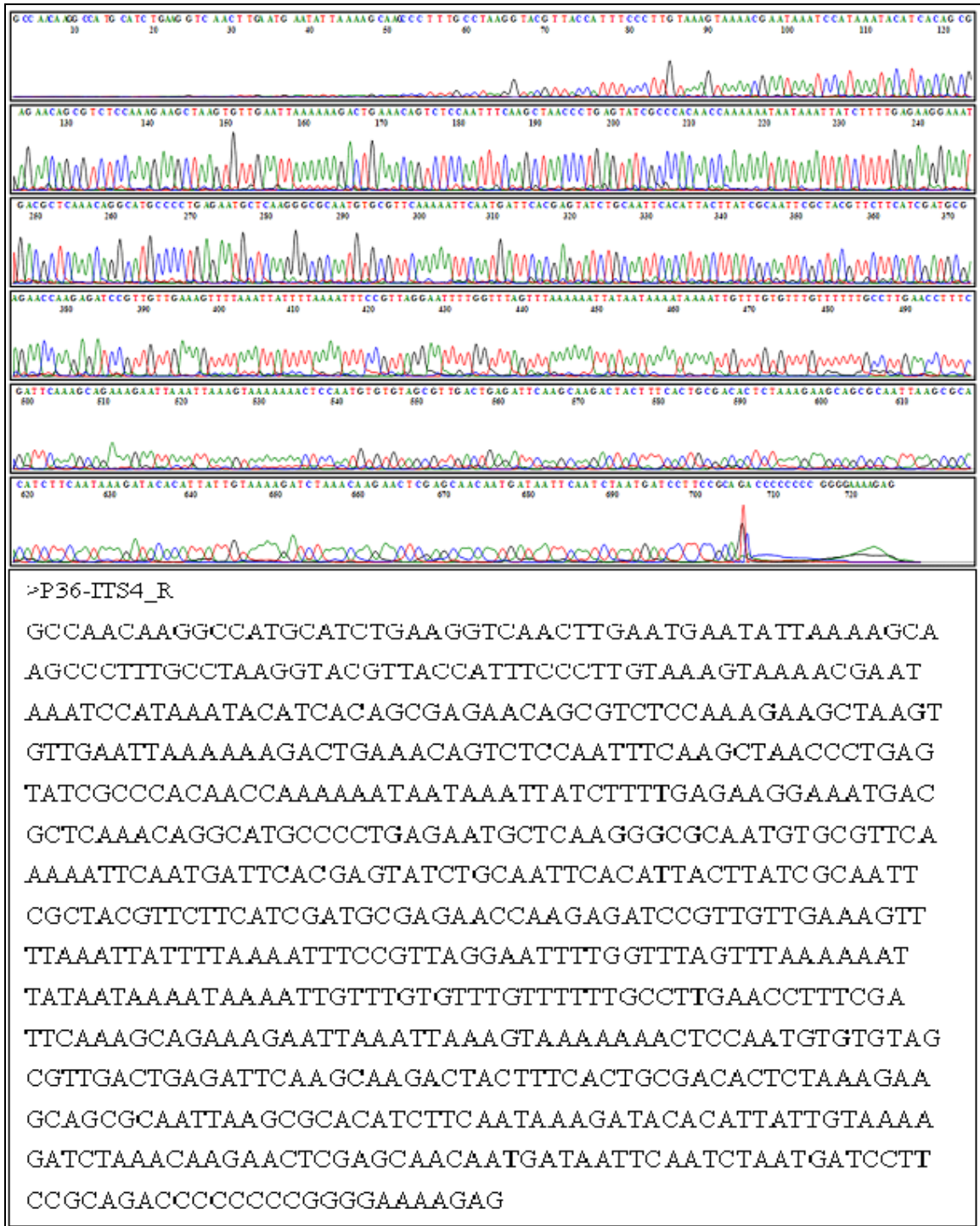
Şekil 4.58. P-14 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



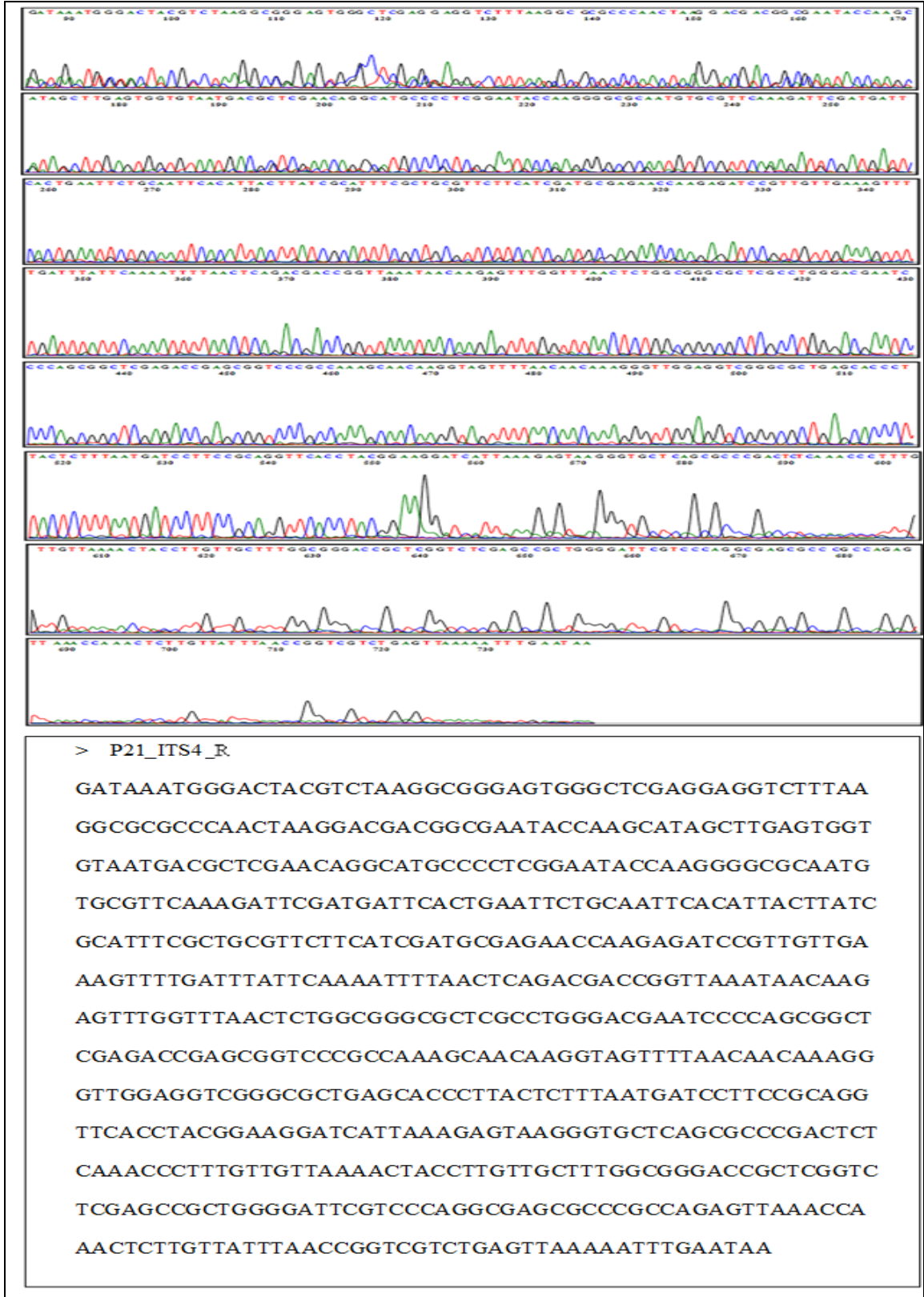
Şekil 4.59. P-18 maya suçunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.60. P-23 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.61. P-36 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.62. P-21 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi

Maya suşlarına ait BLAST analizi sonucunda, P-1 maya suşunun %82 oranında *Cryptococcus bestiolae* maya türüyle, P-50 maya suşunun %95 oranında *Hanseniaspora*

uvarum maya türüyle, P-32 maya suşunun %99 oranında *Candida zeylanoides* maya türüyle, P-25a maya suşunun %97 oranında *Metschnikowia sp.* ile, P-24 maya suşunun %99 oranında *Aerobasidium pullulans* maya türüyle, P-30 maya suşunun %82 oranında *Cryptococcus bestiolae* türüyle, P-48 maya suşunun %98 oranında *Metschnikowia sp.* ile, P-15 ve P-14 maya suşlarının %82 oranında *Cryptococcus bestiolae* türüyle, P-18 maya suşunun %99 oranında *Kluyveromyces lactis* türüyle, P-23 ve P-36 maya suşlarının %99 oranında *Hanseniaspora uvarum* maya türüyle ve P-21 maya suşunun %97 oranında *Metschnikowia sp.* benzerlik gösterdiği belirlendi. Bu maya suşlarına ait BLAST analizi sonrası elde edilen dizi eşleşmeleri P-1 maya suşu için Şekil 4.63'te, P-50 maya suşu Şekil 4.64'de, P-32 maya suşu için Şekil 4.65'te, P-25a maya suşu için Şekil 4.66'da, P-24 maya suşu için Şekil 4.67'de, P-30 maya suşu için Şekil 4.68'de. P-48 maya suşu için Şekil 4.69'da, P-15 maya suşu için Şekil 4.70'de, P-14 maya suşu için Şekil 4.71'de, P-18 maya suşu için Şekil 4.72'de, P-23 maya suşu için Şekil 4.73'te, P-36 maya suşu için Şekil 4.74'te ve P-21 maya suşu için Şekil 4.75'te verildi.

| Sequence ID: ref NR_111373.1 Length: 593 Number of Matches: 1 | | | | | |
|--|--|-----------------------------|----------------|------------|--|
| ▶ See 2 more title(s) | | | | | |
| Range 1: 3 to 484 GenBank Graphics | | | | | |
| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand | |
| 399 bits(216) | 2e-107 | 414/503(82%) | 39/503(7%) | Plus/Minus | |
| Query 84 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATTC | CCCGATAGGTC | CCCACTAAGCCCTT | 140 | |
| Sbjct 484 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCACTAACACTTT | | | 430 | |
| Query 141 | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACC | CCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | 195 | | |
| Sbjct 429 | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | | 371 | | |
| Query 196 | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | 255 | | | |
| Sbjct 370 | TT--A-AAACCGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTTCGGAA | 315 | | | |
| Query 256 | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCAC | TGAATTCGCAATTCACA | 315 | | |
| Sbjct 314 | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCAC | TGA-TTCTGCAATTCACA | 256 | | |
| Query 316 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTCTTTCATCGATGTGGGAGCCAAAGAGATCCGTTGTTGA | 375 | | | |
| Sbjct 255 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTCTTTCATCGATGTGGGAGCCAAAGAGATCCGTTGTTGA | 196 | | | |
| Query 376 | AAGTTTTATTTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTTGT | 429 | | | |
| Sbjct 195 | AAGTTTTATTTTTGTTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATTTTTTGT | 136 | | | |
| Query 430 | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCGACGCTTACGGTCGGAGCCCGAGCATCATTAT-AACAG | 485 | | | |
| Sbjct 135 | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACGG | 82 | | | |
| Query 486 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGGTCGGGAACGTC | CCCGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | 545 | | |
| Sbjct 81 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | 26 | | | |
| Query 546 | ACTGATCCTTCCGCAGGTTCAACC | 568 | | | |
| Sbjct 25 | AATGATCCTTCCGCAGGTTCAACC | 3 | | | |

Şekil 4.63. P-1 maya suşunun *Cr. bestiolae* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [embIFR751341.1](#) Length: 752 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 698 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|----------------|--------|--|-----------|------------|
| 1242 bits(672) | 0.0 | 693/702(99%) | 5/702(0%) | Plus/Minus |
| Query 29 | | TGAGTGTCTAGCTTGAATGCAATATTTAAAAGCAACCCCTTTGCCTAAGGTACGTTACCATT | | 88 |
| Sbjct 698 | | TGAG-GTCAAACCTG-ATG-AATATTTAAAAGCAACCCCTTTGCCTAAGGTACGTTACCATT | | 642 |
| Query 89 | | TCCCTTGTAAAAGTAAAACGAATAAATCCATAAATACATCACAGCGAGAACAGCGTCTCCA | | 148 |
| Sbjct 641 | | TCCCTTGTAAAAGTAAAACGAATAAATCCATAAATACATCACAGCGAGAACAGCGTCTCCA | | 582 |
| Query 149 | | AAGAAGCTAAGTGTGAATTAATAAAGACTGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCCTG | | 208 |
| Sbjct 581 | | AAGAAGCTAAGTGTGAATTAATAAAGACTGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCCTG | | 522 |
| Query 209 | | AGTATCGCCACAAACAAAAATAATAAATATCTTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAC | | 268 |
| Sbjct 521 | | AGTATCGCCACAAACAAAAATAATAAATATCTTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAC | | 462 |
| Query 269 | | AGGCATGCCCCGAGAATGCTCAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAAATTCATGATTCACG | | 328 |
| Sbjct 461 | | AGGCATGCCCCGAGAATGCTCAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAAATTCATGATTCACG | | 402 |
| Query 329 | | AGTATCTGCAATTCACATTACTTATCGCAATTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAACC | | 388 |
| Sbjct 401 | | AGTATCTGCAATTCACATTACTTATCGCAATTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAACC | | 342 |
| Query 389 | | AAGAGATCCGTTGTTGaaagtttttaaaattatttttaaaatttccttaggaatttttggttt | | 448 |
| Sbjct 341 | | AAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTAAATATTTTAAAAATTCGTTAGGAATTTTGGTTT | | 282 |
| Query 449 | | agtttaaaaaattataataaaaaataaaattgtttgtgtttgttttttgcccttgaaccttttc | | 508 |
| Sbjct 281 | | AGTTTAAAAAATTATAATAAAAAATAAATGTTTGTGTTGTTTTTGCCTTGAACCTTTC | | 222 |
| Query 509 | | GATTCAAAGCAGAAAGAATTAATTAAGTAAAAAA-CTCCAATGTGTAGCGTTGACT | | 567 |
| Sbjct 221 | | GATTCAAAGCAGAAAGAATTAATTAAGTAAAAAACTCCAATGTGTAGCGTTGACT | | 162 |
| Query 568 | | GAGATTCAGCAAGACTACTTTCACTGCGACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAAGCGCA | | 627 |
| Sbjct 161 | | GAGATTCAGCAAGACTACTTTCACTGCGACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAAGCGCA | | 102 |
| Query 628 | | CATCTTCAATAAAGATACACATTATTGTAAGGATCTAAACAAGAACTCGAGCAACAATG | | 687 |
| Sbjct 101 | | CATCTTCAATAAAGATACACATTATTGTAAGGATCTAAACAAGAACTCGAGCAACAATG | | 42 |
| Query 688 | | ATAAATTCATCTAATGATCCTTCCGCGAGGTACCCCTAACGGA 729 | | |
| Sbjct 41 | | ATAAATTCATCTAATGATCCTTCCGCGAGGTACACCTA-CGGA 1 | | |

Şekil 4.64. P-50 maya suşunun *H. uvarum* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|KP131820.1](#) Length: 618 Number of Matches: 1

[► See 1 more title\(s\)](#)

Range 1: 12 to 567 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|----------------|--------|--|-----------|------------|
| 1016 bits(550) | 0.0 | 554/556(99%) | 0/556(0%) | Plus/Minus |
| Query 33 | | CTTTGTTTGTGTTGTATGGGCGAGCCTGTGTAAATAAACAAATACTATACTGGTCAACGA | | 92 |
| Sbjct 567 | | CTTTGTTTGTGTTGTAAAGGCCGAGCCTGTGTAAATAAACAAATACTATACTGGTCAACGA | | 508 |
| Query 93 | | GTTGGATAAACCTAATACATTGAAACAGTTCAGCACTATCTAGTACCACTCATGCCAATA | | 152 |
| Sbjct 507 | | GTTGGATAAACCTAATACATTGAAACAGTTCAGCACTATCTAGTACCACTCATGCCAATA | | 448 |
| Query 153 | | CATTTCAAGCAAACGCTTAGTCTGACTAAGAGTATCACTCAAAACCAAATCCGAAGATTT | | 212 |
| Sbjct 447 | | CATTTCAAGCAAACGCTTAGTCTGACTAAGAGTATCACTCAAAACCAAATCCGAAGATTT | | 388 |
| Query 213 | | GAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTATGGAATACCATAGGGCGCAATGTGCG | | 272 |
| Sbjct 387 | | GAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTATGGAATACCATAGGGCGCAATGTGCG | | 328 |
| Query 273 | | TTCAAAGATTCGATGATTCACGAAAAATCTGCAATTCATATTACTTATCGCATTTTCGCTGC | | 332 |
| Sbjct 327 | | TTCAAAGATTCGATGATTCACGAAAAATCTGCAATTCATATTACTTATCGCATTTTCGCTGC | | 268 |
| Query 333 | | GTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTGAAGATTTTTGaat | | 392 |
| Sbjct 267 | | GTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTGAAGATTTTTGaat | | 208 |
| Query 393 | | ttaatcaacaaattgacaatataaattaacaaattcaataataaaattGAAGTTTTAG | | 452 |
| Sbjct 207 | | TTAATCAACAAATTGACAATATAAATTAATTAACAAATCAATAATAAAATTTGAAGTTTTAG | | 148 |
| Query 453 | | TATAAAACCTTTGGCCCAACTCATTTCTAAGTCAGACCAAAGCAAAGTTTCAAATCaaa | | 512 |
| Sbjct 147 | | TATAAAACCTTTGGCCCAACTCATTTCTAAGTCAGACCAAAGCAAAGTTTCAAATCAAA | | 88 |
| Query 513 | | aaaaCATAGTGTGTAAGGTTTTTCGCCGCGCAATTAAGCGCTGGCAAAGAATACTGTAA | | 572 |
| Sbjct 87 | | AAAAATAGTGTGTAAGGTTTTTCGCCGCGCAATTAAGCGCTGGCAAAGAATACTGTAA | | 28 |
| Query 573 | | TGATCCTTCCGCGAGGT 588 | | |
| Sbjct 27 | | TGATCCTTCCGCGAGGT 12 | | |

Şekil 4.65. P-32 maya suşunun *C. zeylanoides* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|KM209323.1](#) Length: 382 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 334 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|--|--|----------------------------------|------------|
| 566 bits(306) | 1e-157 | 325/334(97%) | 1/334(0%) | Plus/Minus |
| Query 9 | GGTGC | GGAAAG-AGGATGGGGCTAAAAC | TATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGCA | 67 |
| Sbjct 334 | GGTGC | GAGAAAGAAAGAAATGGGGCTAAAAC | TATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGCA | 275 |
| Query 68 | GGACCAAACCGGAGGTTT | GAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAATACC | | 127 |
| Sbjct 274 | GGACCAAACCGGAGGTTT | GAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAATACC | | 215 |
| Query 128 | CCGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATATTACGTAT | | | 187 |
| Sbjct 214 | CCGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATATTACGTAT | | | 155 |
| Query 188 | CGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTT | | | 247 |
| Sbjct 154 | CGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTT | | | 95 |
| Query 248 | TAATTGTGTTATTGAAAGTTAAGATTTAGAGTTTGTGCCTAAAAGGGTGTATAAACATTT | | | 307 |
| Sbjct 94 | TAATTGTGTTATTGAGGGTTAAGATTTAGAGTTTGTGCCTAAAAGGGTGTAAAAACAATA | | | 35 |
| Query 308 | TTAATGATCCTTCCGCAGGTCCCCCTACGGAAG | | 341 | |
| Sbjct 34 | TTAATGATCCTTCCGCAGGTCAACCCCTACGGAAG | | 1 | |

Şekil 4.66. P-25a suşunun *Metschnikowia* sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|JQ993367.1](#) Length: 580 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 542 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|--|-----------------------|-----------|------------|
| 963 bits(521) | 0.0 | 538/545(99%) | 6/545(1%) | Plus/Minus |
| Query 9 | CCTCACC-GAT-CGAGGTC-ACCTAGATGAATAAAGGTTTT | CAGTCGGCAGAGTTCCCTCTC | | 65 |
| Sbjct 542 | CCT-ACCTGATCCGAGGTCAACCTAGA-AAATAAAGGTTTT | CAGTCGGCAGAGTTCCCTCTC | | 485 |
| Query 66 | CTTTGACAGACGTTTCGAATAAATTCTACTACGCCTAAAGCCGGAGTGGCCCTCGCCGAGGT | | | 125 |
| Sbjct 484 | CTTTGACAGACGTTTCGAATAAATTCTACTACGCCTAAAGCCGGAGTGGCCCTCGCCGAGGT | | | 425 |
| Query 126 | CTTTAAGGCGCGCCCAACTAAGGACGACGCCAATACCAAGCATAGCTTGAGTGGTGTA | | | 185 |
| Sbjct 424 | CTTTAAGGCGCGCCCAACTAAGGACGACGCCAATACCAAGCATAGCTTGAGTGGTGTA | | | 365 |
| Query 186 | TGACGCTCGAACAGGCATGCCCTCGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT | | | 245 |
| Sbjct 364 | TGACGCTCGAACAGGCATGCCCTCGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT | | | 305 |
| Query 246 | CGATGATTCACTGAATTCGCAATTCACATTACTTTATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATC | | | 305 |
| Sbjct 304 | CGATGATTCACTGAATTCGCAATTCACATTACTTTATCGCATTTGCTGCGTTCTTCATC | | | 245 |
| Query 306 | GATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTCAAATTTAACTCAG | | | 365 |
| Sbjct 244 | GATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTCAAATTTAACTCAG | | | 185 |
| Query 366 | ACGACCGGTTAAATAACAAGAGTTTGGTTTTAACTCTGGCGGGCGCTCGCCCTGGGACGAAT | | | 425 |
| Sbjct 184 | ACGACCGGTTAAATAACAAGAGTTTGGTTTTAACTCTGGCGGGCGCTCGCCCTGGGACGAAT | | | 125 |
| Query 426 | CCCCAGCGGCTCGAGACCGAGCGGTCCCGCCAAAGCAACAAGGTAGTTTTAAACAACAAAG | | | 485 |
| Sbjct 124 | CCCCAGCGGCTCGAGACCGAGCGGTCCCGCCAAAGCAACAAGGTAGTTTTAAACAACAAAG | | | 65 |
| Query 486 | GGTTGGAGGTCGGGGCGCTGAGCACCTTACTCTTTAATGATCCTTCCGCAGGTACCCCT | | | 545 |
| Sbjct 64 | GGTTGGAGGTCGGGGCGCTGAGCACCTTACTCTTTAATGATCCTTCCGCAGGTACCCCT | | | 6 |
| Query 546 | ACGGA | 550 | | |
| Sbjct 5 | ACGGA | 1 | | |

Şekil 4.67. P-24 maya suşunun *A. pullulans* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [ref|NR_111373.1](#) Length: 593 Number of Matches: 1
 ▶ [See 2 more title\(s\)](#)

Range 1: 3 to 484 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|---|--------------|------------|------------|
| 394 bits(213) | 9e-106 | 413/503(82%) | 40/503(7%) | Plus/Minus |
| Query 75 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATCCCGATAGGTCCCACCTAAGCCCTT | 131 | | |
| Sbjct 484 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCACCTAACACTTT | 430 | | |
| Query 132 | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACCCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | 186 | | |
| Sbjct 429 | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | 371 | | |
| Query 187 | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | 246 | | |
| Sbjct 370 | TT---A-AAACCGGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTTCGGAA | 315 | | |
| Query 247 | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA | 306 | | |
| Sbjct 314 | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGA-TTCTGCAATTCACA | 256 | | |
| Query 307 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | 366 | | |
| Sbjct 255 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | 196 | | |
| Query 367 | AAGTTTTATTTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTTGT | 420 | | |
| Sbjct 195 | AAGTTTTATTTTTGTTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATGTTTTGT | 136 | | |
| Query 421 | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCCGACGCTTACGGTCGGAGCCCGAGCATCATTAT-AACAG | 476 | | |
| Sbjct 135 | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACCGG | 82 | | |
| Query 477 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGTTCGGGAACGTCGGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | 536 | | |
| Sbjct 81 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | 26 | | |
| Query 537 | ACTGATCCTTCCGCAGGT-CACC 558 | | | |
| Sbjct 25 | AATGATCCTTCCGCAGGTTCAACC 3 | | | |

Şekil 4.68. P-30 maya suşunun *Cr. bestiolae* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|KM209324.1](#) Length: 383 Number of Matches: 1

Range 1: 16 to 336 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|--|--------------|-----------|------------|
| 551 bits(298) | 3e-153 | 314/321(98%) | 3/321(0%) | Plus/Minus |
| Query 13 | GGGTGAGG-A-AAGGCTGGGGCTAAA-CTTATTCTAGCGCCGTTGATATTATGCCGAAGC | 69 | | |
| Sbjct 336 | GGGTGAGGAAGAAGAAATGGGGCTAAAACCTTATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGC | 277 | | |
| Query 70 | AGGACCAAACCGGAGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAATAC | 129 | | |
| Sbjct 276 | AGGACCAAACCGGAGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAATAC | 217 | | |
| Query 130 | CCCCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGCTGCAAGTCATATTACGTA | 189 | | |
| Sbjct 216 | CCCCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGCTGCAAGTCATATTACGTA | 157 | | |
| Query 190 | TCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGGAGAACAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTT | 249 | | |
| Sbjct 156 | TCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGGAGAACAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTT | 97 | | |
| Query 250 | TGAATTGTGATTTGAAGAATTC AATGGTAAGTGTATGCC TAAAAGTGATAAATGt | 309 | | |
| Sbjct 96 | TGAATTGTGATTTGAAGAATTC AATGGTAAGTGTATGCC TAAAAGTGATAAAGTGT | 37 | | |
| Query 310 | TTTTTAATGATCCTTCCGCAG 330 | | | |
| Sbjct 36 | TTTTTAATGATCCTTCCGCAG 16 | | | |

Şekil 4.69. P-48 maya suşunun *Metschnikowia* sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [ref|NR_111373.1](#) Length: 593 Number of Matches: 1
▶ See 2 more title(s)

Range 1: 1 to 484 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|---|---|---|------------|
| 403 bits(218) | 1e-108 | 416/505(82%) | 39/505(7%) | Plus/Minus |
| Query 81 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATTC | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATTC | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATTC | 137 |
| Sbjct 484 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCCTAACACTTT | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCCTAACACTTT | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCCTAACACTTT | 430 |
| Query 138 | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACCCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACCCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACCCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | 192 |
| Sbjct 429 | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | 371 |
| Query 193 | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | 252 |
| Sbjct 370 | TT--A-AAACCGGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TT--A-AAACCGGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TT--A-AAACCGGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | 315 |
| Query 253 | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA | 312 |
| Sbjct 314 | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGA-TTCTGCAATTCACA | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGA-TTCTGCAATTCACA | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGA-TTCTGCAATTCACA | 256 |
| Query 313 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | 372 |
| Sbjct 255 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | 196 |
| Query 373 | AAGTTTTATTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTGT | AAGTTTTATTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTGT | AAGTTTTATTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTGT | 426 |
| Sbjct 195 | AAGTTTTATTTTGTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATGTTTTGT | AAGTTTTATTTTGTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATGTTTTGT | AAGTTTTATTTTGTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATGTTTTGT | 136 |
| Query 427 | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCGACGCTTACGGTCGGAGCCCAGCATCATTAT-AACAG | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCGACGCTTACGGTCGGAGCCCAGCATCATTAT-AACAG | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCGACGCTTACGGTCGGAGCCCAGCATCATTAT-AACAG | 482 |
| Sbjct 135 | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACGG | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACGG | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACGG | 82 |
| Query 483 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGGTGCGGAACGTCGCCGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGGTGCGGAACGTCGCCGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGGTGCGGAACGTCGCCGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | 542 |
| Sbjct 81 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | 26 |
| Query 543 | ACTGATCCTTCCGCAGGTTACCTA 567 | ACTGATCCTTCCGCAGGTTACCTA 567 | ACTGATCCTTCCGCAGGTTACCTA 567 | 567 |
| Sbjct 25 | AATGATCCTTCCGCAGGTTACCTA 1 | AATGATCCTTCCGCAGGTTACCTA 1 | AATGATCCTTCCGCAGGTTACCTA 1 | 1 |

Şekil 4.70. P-15 maya şusunun *Cr. bestiolae* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [ref|NR_111373.1](#) Length: 593 Number of Matches: 1
▶ See 2 more title(s)

Range 1: 3 to 484 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|---|---|---|------------|
| 399 bits(216) | 2e-107 | 414/503(82%) | 39/503(7%) | Plus/Minus |
| Query 84 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATTC | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATTC | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGAC--AC-TGTGATTC | 140 |
| Sbjct 484 | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCCTAACACTTT | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCCTAACACTTT | CCAGCGAAACTTATTACGCCAGGCTGACGGGTG-TT--C-A-CCGTCCCCTAACACTTT | 430 |
| Query 141 | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACCCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACCCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | TGAGGTGAGCCG--CGGAC-GAGCCACGGCAGACACCCAGATCCAA-TAC-ACCCACAG | 195 |
| Sbjct 429 | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | TAAGGCGAGCCGACCGGCGTGAGCCGCGGCAG-CACCCAGATCCAAGTCCAACCGGTCGG | 371 |
| Query 196 | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TTCCGAGAAACCGGGGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | 255 |
| Sbjct 370 | TT--A-AAACCGGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TT--A-AAACCGGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | TT--A-AAACCGGAGGGATTGAGGTTTTTCATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCCGGAA | 315 |
| Query 256 | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA | TACCAGAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA | 315 |
| Sbjct 314 | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGA-TTCTGCAATTCACA | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGA-TTCTGCAATTCACA | TACCAAAGGGCGCAAGTTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGA-TTCTGCAATTCACA | 256 |
| Query 316 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | 375 |
| Sbjct 255 | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | TTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGTGGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA | 196 |
| Query 376 | AAGTTTTATTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTGT | AAGTTTTATTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTGT | AAGTTTTATTTT-GTTAAAATTTGT-TACATTCGTT-AC-ACTA-TAA-AGACGTTTTGT | 429 |
| Sbjct 195 | AAGTTTTATTTTGTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATGTTTTGT | AAGTTTTATTTTGTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATGTTTTGT | AAGTTTTATTTTGTAAAATATAACTATAGACGTTCAAGACTTGTACAGATGTTTTGT | 136 |
| Query 430 | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCGACGCTTACGGTCGGAGCCCAGCATCATTAT-AACAG | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCGACGCTTACGGTCGGAGCCCAGCATCATTAT-AACAG | AAAGT-G-AGCCCGGG-GACCGACGCTTACGGTCGGAGCCCAGCATCATTAT-AACAG | 485 |
| Sbjct 135 | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACGG | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACGG | AAAGTAGGAGCCCGCCAGCCG--GT-TAAAGGCCGTTGA--GA-CTCCAATATAAACGG | 82 |
| Query 486 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGGTGCGGAACGTCGCCGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGGTGCGGAACGTCGCCGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGGTGCGGAACGTCGCCGAGGGACGGACCCAGTTTTTCTCT | 545 |
| Sbjct 81 | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | TTCACAGGTGTGTGTGGGGTAGATCGGGCA-GACC-GAAGT-CGAACCCAG-TTTTCTCT | 26 |
| Query 546 | ACTGATCCTTCCGCAGGTTACCC 568 | ACTGATCCTTCCGCAGGTTACCC 568 | ACTGATCCTTCCGCAGGTTACCC 568 | 568 |
| Sbjct 25 | AATGATCCTTCCGCAGGTTACCC 3 | AATGATCCTTCCGCAGGTTACCC 3 | AATGATCCTTCCGCAGGTTACCC 3 | 3 |

Şekil 4.71. P-14 maya şusunun *Cr. bestiolae* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|KP132314.1](#) Length: 902 Number of Matches: 1
▶ See 2 more title(s)

Range 1: 102 to 780 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|----------------|---|--|-----------|------------|
| 1221 bits(661) | 0.0 | 675/681(99%) | 4/681(0%) | Plus/Minus |
| Query 15 | CCTGATATTTGAGGTC | -AACTTTGAGAGTTTTGATTAAAGCCGATATGCCCTCAAGGAGACAAA | | 73 |
| Sbjct 780 | CCTG-ATTTGAGGTCAA | ACTTTGAGAGTTTTGATTAAAGCCGATATGCCCTCAAGGAGACAAA | | 722 |
| Query 74 | CACCAGCGAGTCTTTATAAACACCTATAAAGCTCATTGACCCTAGCTTACCACGAATTGGCG | | | 133 |
| Sbjct 721 | CACCAGCGAGTCTTTATAAACACCTATAAAGCTCATTGACCCTAGCTTACCACGAATTGGCG | | | 662 |
| Query 134 | CAAACTAAGACGTAGATGTGCAAGAGTTCGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTC | | | 193 |
| Sbjct 661 | CAAACTAAGACGTAGATGTGCAAGAGTTCGAGTCCATAGACTTGACACGCGAGCCCTGCTC | | | 602 |
| Query 194 | ACGCAGAAAGGCAACGGCTAGCCACTTTTCAAGTTAAACCCGAAAAACGAGTATCACTCACTA | | | 253 |
| Sbjct 601 | ACGCAGAAAGGCAACGGCTAGCCACTTTTCAAGTTAAACCCGAAAAACGAGTATCACTCACTA | | | 542 |
| Query 254 | CCAAACCCAAAAGGTTTGAAGAGAAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCA | | | 313 |
| Sbjct 541 | CCAAACCCAAAAGGTTTGAAGAGAAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTTGGAAATACCA | | | 482 |
| Query 314 | GAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTACGAAATCTGCAATTCACAATACA | | | 373 |
| Sbjct 481 | GAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTGATGATTACGAAATCTGCAATTCACAATACA | | | 422 |
| Query 374 | TATCGCAATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTT | | | 433 |
| Sbjct 421 | TATCGCAATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTT | | | 362 |
| Query 434 | TTGAATATTTAAATTTCTTGATAAATAGTTTTTCATAATGCAAAATGTTGTTTGTGTTTAT | | | 493 |
| Sbjct 361 | TTGAATATTTAAATTTCTTGATAAATAGTTTTTCATAATGCAAAATGTTGTTTGTGTTTAT | | | 302 |
| Query 494 | GTCCACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGT | | | 553 |
| Sbjct 301 | GTCCACTGGAGAGACGAGCTCTCCAGGGAAGTAGTTTCATAGAGAAAAAATCCATTGTGT | | | 242 |
| Query 554 | TTAGGATGAGAGAAAGAAAATGATAGCAGAAAATCAAGAATTAGCCGCGCAATTAAGCG | | | 613 |
| Sbjct 241 | TTAGGATGAGAGAAAGAAAATGATAGCAGAAAATCAAGAATTAGCCGCGCAATTAAGCG | | | 182 |
| Query 614 | CAGGCCATATTCAGCGATTCCCCAGTAACTACTCATTCAATAATCTTTAATGATCCTTC | | | 673 |
| Sbjct 181 | CAGGCCATATTCAGCGATTCCCCAGTAACTACTCATTCAATAATCTTTAATGATCCTTC | | | 122 |
| Query 674 | CGCAG-TACCCCTACGGGAAA | 693 | | |
| Sbjct 121 | CGCAGGTTACCTACGG-AAA | 102 | | |

Şekil 4.72. P-18 maya suşunun *K. lactis* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|KM402044.1](#) Length: 818 Number of Matches: 2

Range 1: 5 to 694 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|----------------|--|--------------|-----------|------------|
| 1249 bits(676) | 0.0 | 687/692(99%) | 2/692(0%) | Plus/Minus |
| Query 39 | ACTTGGATGCAATATTAAGCAACCCCTTTGCTTAAGGTACGTTACCAATTTCCCTTGTA | | | 98 |
| Sbjct 694 | ACTT-GATG-AATATTAAGCAACCCCTTTGCTTAAGGTACGTTACCAATTTCCCTTGTA | | | 637 |
| Query 99 | AGTAAAACGAATAAATCCATAAATACATCACAGCGAGAACAGCGCTCCAAAAGAAGCTAA | | | 158 |
| Sbjct 636 | AGTAAAACGAATAAATCCATAAATACATCACAGCGAGAACAGCGCTCCAAAAGAAGCTAA | | | 577 |
| Query 159 | GTGTTGAATTAAGAAAGACTGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCGTAGATCGCCC | | | 218 |
| Sbjct 576 | GTGTTGAATTAAGAAAGACTGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCGTAGATCGCCC | | | 517 |
| Query 219 | ACAACCAAAAAATAAATAAATATCTTTTGAAGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCC | | | 278 |
| Sbjct 516 | ACAACCAAAAAATAAATAAATATCTTTTGAAGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCC | | | 457 |
| Query 279 | CTGAGAATGCTCAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAAAATCAATGATTACAGGATATCTGCA | | | 338 |
| Sbjct 456 | CTGAGAATGCTCAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAAAATCAATGATTACAGGATATCTGCA | | | 397 |
| Query 339 | ATTCACATTACTTATCGCAATTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCG | | | 398 |
| Sbjct 396 | ATTCACATTACTTATCGCAATTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCG | | | 337 |
| Query 399 | TTGTTGaaagtttttaaattatttttaaaattttcggtaggaattttggttttagtttaaaaa | | | 458 |
| Sbjct 336 | TTGTTGAAAGTTTTAAATATTTTTAAAAATTTCCGTTAGGAATTTTGGTTTAGTTTAAAA | | | 277 |
| Query 459 | attataataaaaaataaaattggtttggtttggttttttgcCTTGAACCTTTTCGATTCAAAGC | | | 518 |
| Sbjct 276 | ATTATAATAAAAAATAAAATGTTTGTGTTTGTTTTTTGCCTTGAACCTTTTCGATTCAAAGC | | | 217 |
| Query 519 | AGAAAAGAAATAAATAAAGTAAAAAATCCAATGTGTGTAGCGTTGACTGAGATTCAAGC | | | 578 |
| Sbjct 216 | AGAAAAGAAATAAATAAAGTAAAAAATCCAATGTGTGTAGCGTTGACTGAGATTCAAGC | | | 157 |
| Query 579 | AAGACTACTTCTACTGCGACACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAGCGCACATCTTCAATA | | | 638 |
| Sbjct 156 | AAGACTACTTCTACTGCGACACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAGCGCACATCTTCAATA | | | 97 |
| Query 639 | AAGATACACATTATTGTAAGATCTAAACAAGAACTCGAGCAACAATGATAATTTCAATC | | | 698 |
| Sbjct 96 | AAGATACACATTATTGTAAGATCTAAACAAGAACTCGAGCAACAATGATAATTTCAATC | | | 37 |
| Query 699 | TAATGATCCTTCCGCAAGGTACCCCTTACGGGA | 730 | | |
| Sbjct 36 | TAATGATCCTTCCGCAAGGTACCCCTTACGGGA | 5 | | |

Şekil 4.73. P-23 maya suşunun *H. uvarum* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|KP132262.1|](#) Length: 919 Number of Matches: 1

| Range | Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|--|--------|--------------|-----------|------------|
| 1: 143 to 824 | 1245 bits(674) | 0.0 | 681/684(99%) | 2/684(0%) | Plus/Minus |
| Query 23 | AGGTCAACTTGAATGAATATTTAAAAGCAAGCCCTTTGCC | | | | 82 |
| Sbjct 824 | AGGTCAACTTG-ATGAATATTTAAAAGCAA-CCCTTTGCC | | | | 767 |
| Query 83 | TTGTAAAGTAAAACGAATAAATCCATAAATACATCACAGCGAGAACAGCGTCTCCAAAGA | | | | 142 |
| Sbjct 766 | TTGTAAAGTAAAACGAATAAATCCATAAATACATCACAGCGAGAACAGCGTCTCCAAAGA | | | | 707 |
| Query 143 | AGCTAAGTGTGAATTTAAAAAGACTGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCCTGAGTA | | | | 202 |
| Sbjct 706 | AGCTAAGTGTGAATTTAAAAAGACTGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCCTGAGTA | | | | 647 |
| Query 203 | TCGCCCACAACCAAAAAATAATAAATATCTTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGC | | | | 262 |
| Sbjct 646 | TCGCCCACAACCAAAAAATAATAAATATCTTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAAACAGGC | | | | 587 |
| Query 263 | ATGCCCTGAGAATGCTCAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAAAATTCATGATTCACGAGTA | | | | 322 |
| Sbjct 586 | ATGCCCTGAGAATGCTCAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAAAATTCATGATTCACGAGTA | | | | 527 |
| Query 323 | TCTGCAATTCACATTACTTATCGCAATTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAACAAGA | | | | 382 |
| Sbjct 526 | TCTGCAATTCACATTACTTATCGCAATTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAACAAGA | | | | 467 |
| Query 383 | GATCCGTTGTTGaaagttttaaatatttttaaaatttccggttaggaattttggtttagtt | | | | 442 |
| Sbjct 466 | GATCCGTTGTTGAAAGTTTTAAATTATTTTAAAATTTCCGTTAGGAATTTTGGTTTAGTT | | | | 407 |
| Query 443 | taaaaaattataataaaaaataaaattggtttggtttggttttttgccttgAACCTTTTCGATT | | | | 502 |
| Sbjct 406 | TAAAAAATTATAATAAAAAATAAATTTGTTTGTGTTTGTTTTTGCCTTGAACTTTTCGATT | | | | 347 |
| Query 503 | CAAAGCAGAAAGAATTAATTAAGTtaaaaaaaCTCCAATGTGTGTAGCGTTGACTGAGA | | | | 562 |
| Sbjct 346 | CAAAGCAGAAAGAATTAATTAAGTAAAAAACTCCAATGTGTGTAGCGTTGACTGAGA | | | | 287 |
| Query 563 | TTCAAGCAAGACTACTTTCACTGCGACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAGCGCACATC | | | | 622 |
| Sbjct 286 | TTCAAGCAAGACTACTTTCACTGCGACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAGCGCACATC | | | | 227 |
| Query 623 | TTCAATAAAGATACACATTATTGTAAGATCTAAACAAAGAACTCGAGCAACAATGATAA | | | | 682 |
| Sbjct 226 | TTCAAGTAAAGATACACATTATTGTAAGATCTAAACAAAGAACTCGAGCAACAATGATAA | | | | 167 |
| Query 683 | TTCAATCTAATGATCCTTCCGCAG | | 706 | | |
| Sbjct 166 | TTCAATCTAATGATCCTTCCGCAG | | 143 | | |

Şekil 4.74. P-36 maya şusunun *H. uvarum* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

| Sequence ID: dbj AB998398.1 Length: 737 Number of Matches: 2 | | | | | |
|--|--|--------------|------------|------------|-------------------|
| Range 1: 6 to 633 GenBank Graphics | | | | | |
| Score | Expect | Identities | Gaps | Next Match | Previous Match |
| 918 bits(497) | 0.0 | 601/647(93%) | 23/647(3%) | | Strand Plus/Minus |
| Query 1 | CTACGTCT AAGGCGGGAGT GGGC TCGAGGA GGTC TTT AAGGCGCG CCCAACT AAGGACGA | | | | 60 |
| Sbjct 633 | CTACGCCT AAAGCCGGAGT GGGC TCGCCGAGGTC TTT AAGGCGCG CCCAACT AAGGACGG | | | | 574 |
| Query 61 | CGGC GAAT ACC AAGC ATAG CTTGAGT GGTG TAAT GAC GCTC GAAC AGGC ATG CCCC TCGG | | | | 120 |
| Sbjct 573 | CACC CAAT ACC AAGC ATAG CTTGAGT GGTG TAAT GAC GCTC GAAC AGGC ATG CCCC TCGG | | | | 514 |
| Query 121 | AATA CCAA GGGGCGC AATG TCGT TTC AAAG ATT C GAT GATT CACT GAAT TCT GCAA TTCA | | | | 180 |
| Sbjct 513 | AATA CCAA GGGGCGC AATG TCGT TTC AAAG ATT C GAT GATT CACT GAAT TCT GCAA TTCA | | | | 454 |
| Query 181 | CATT ACTT ATC GCAT TTCG CTGC GTT CTT C ATCG ATG CGAG AAC AAG A GAT CCGT TGTT | | | | 240 |
| Sbjct 453 | CATT ACTT ATC GCAT TTCG CTGC GTT CTT C ATCG ATG CGAG AAC AAG A GAT CCGT TGTT | | | | 394 |
| Query 241 | GAAAG TTT TGA TTTA TTCA AAA TTT AACT CAGA CGA CCGG TTA AATAA CAA GAGT TTGG | | | | 300 |
| Sbjct 393 | GAAAG TTT TGA TTTA TTCA AAA TTT AACT CAGA CGA CCGG TTA AATAA CAA GAGT TTGG | | | | 334 |
| Query 301 | TTTAACTC TGG CGGG CGCT CGCC TGG GACG AATC CCC AGCG GCTC GAGA CCG AGCG GTCC | | | | 360 |
| Sbjct 333 | TTTAACTC TGG CGGG CACT CGCC TGG GACG AATC CCC AGCG GCTC GGAA CCG AGCG GTCC | | | | 274 |
| Query 361 | CGCC AAAG CAA CAAG GTAG TTTT AAC AAC A AAGG GTT GGAG GTC GGGC GCTG AGCA CCCT | | | | 420 |
| Sbjct 273 | CGCC AAAG CAA CAAG GTAG TTTT AAC AAC A AAGG GTT GGAG GTC GGGC GCTG AGCA CCCT | | | | 214 |
| Query 421 | TACT CTTT AAT GATC CTT CCGA GGT TCAC CT -A -CGGAAG - -GATCAT TAAAGAG TAAG | | | | 476 |
| Sbjct 213 | TACT CTTT AAT GATC CTT CCGA GGC CC -CCTCA ACGGAAG AAGA TCAT TAAAGAG TAAG | | | | 155 |
| Query 477 | GGTG CTCAGCG CCCG ACTC TCAA ACC CTTT GTTG TTA AAAC TACC TTGT TGC TTTGGCGG | | | | 536 |
| Sbjct 154 | GGTG CTCAGCG CC -GAC -C TCA - - -CCTTT GTTG TTA AAAC TAC - TTGT TGC TT -GGCGG | | | | 102 |
| Query 537 | GACC GCTC GGT CTCGAGCC GCTGGG ATT C GTCC CAGGCGA GCGC CCGC CAGAGTT AAAC | | | | 596 |
| Sbjct 101 | GAC - GCT - GGT - TCAAGC - GCTGGGA TTT C GTCC - AG - CGAGTGC C - GC - AGAGTT AAAC | | | | 50 |
| Query 597 | CAAACTCT TGT TATT TAAC CGGT CGT CTGAGTTAAAAATTT GAAT AA 643 | | | | |
| Sbjct 49 | -AAACTCT -GT TATT AAA- CGGT TGT CTGAGTTAAAAATTT GAAT AA 6 | | | | |
| Range 2: 1 to 381 GenBank Graphics | | | | | |
| Score | Expect | Identities | Gaps | Next Match | Previous Match |
| 496 bits(268) | 3e-136 | 360/400(90%) | 23/400(5%) | | Strand Plus/Plus |
| Query 248 | TTGA TTTA TTC AAAA TTTT AACT CAGACGA CCGG TTA AATA ACAA GAGT TTGGTTT AACT | | | | 307 |
| Sbjct 1 | TTGA TTTA TTC AAAA TTTT AACT CAGACAA CCG - TTT AATAAC -AGAGT TT -GTTT AACT | | | | 57 |
| Query 308 | CTGG CGGG CGC TCGC CTGG GACG AAT CCCC AGCG GCT CGAG ACCG AGCG GTC CCGC CAAA | | | | 367 |
| Sbjct 58 | CT -GC -GG CACT TCG - CT -GGACG AAA TCCC AGC - GCT TGA - ACC - AGC - GTC CCGC C - AA | | | | 108 |
| Query 368 | GCAA CAAG GTA GTTT TAAC AAC A AAG GGT GGAG GTC GGGC GCTG AGCA CCC TTAC TCTT | | | | 427 |
| Sbjct 109 | GCAA CAA - GTA GTTT TAAC AAC A AAG G - - T - GAG GTC - GGC GCTG AGCA CCC TTAC TCTT | | | | 163 |
| Query 428 | TAAT GATC - - C TTCC G - - C AGGT TCA CCTA CCGA AGG ATCA TTA AAGAG TAA GGGT GCTC | | | | 483 |
| Sbjct 164 | TAAT GATC TTC TTCC GTT GAGG - GGG CCTG CCGA AGG ATCA TTA AAGAG TAA GGGT GCTC | | | | 222 |
| Query 484 | AGCG CCCG ACT CTCA AAC C CTTT GTT GTT A AAAC TAC CTTG TTGC TTTG GCG GAG CCGT | | | | 543 |
| Sbjct 223 | AGCG CCCG AC - CTCC AAC C CTTT GTT GTT A AAAC TAC CTTG TTGC TTTG GCG GAG CCGT | | | | 281 |
| Query 544 | CGGT CTCGAGC CGCT GGGG ATT C GTC CCAG GCGA GCG CCCC CCAG AGTT AAA CCAA ACTC | | | | 603 |
| Sbjct 282 | CGGT TCCGAGC CGCT GGGG ATT C GTC CCAG GCGA GTG CCCC CCAG AGTT AAA CCAA ACTC | | | | 341 |
| Query 604 | TTGT TATT TAA CCGG TCGT CTGAGTTAAAAATTT GAA TAA 643 | | | | |
| Sbjct 342 | TTGT TATT AAA CCGG TCGT CTGAGTTAAAAATTT GAA TAA 381 | | | | |

Şekil 4.75. P-21 maya suşunun *Metschnikowia* sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

BLAST analizine göre yüksek homoloji gösteren maya suşları yeniden gruplandırıldı ve Çizelge 4.17’de verildi. PCR-RFLP analizi sonrasında farklı gruplarda yer alan P-1, P-14, P-15 ve P-30 maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre aynı türe (*Cr. bestiolae*) ait maya türleri olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde P-23, P-36 ve P-50 maya suşlarının da dizi analizi sonrası aynı türün (*H. uvarum*) bireyleri olduğu tespit edildi. PCR-RFLP analizi sonrasında farklı gruplarda yer alan P-21, P-25a ve P-48 maya suşları dizi analizi sonuçlarına göre *Metschnikowia sp.* olarak belirlendi. Bu maya suşlarından P-25a ve P-48 maya suşları pulcherrimin pigment sentezinin varlığından dolayı *M. pulcherrima* türü olarak tanımlandı. Ancak P-21 maya suşunda gerek pigment sentezinin olmayışı gerekse morfolojik olarak diğer maya suşlarına (P-25a ve P-48) benzemediği için *pulcherrima* türü olarak tanımlanmadı ve Çizelge 4.17’de *Metschnikowia sp.* olarak verildi.

Çalışmamızda nar meyvesinin yüzeyinden izole edilen maya suşlarının PCR-RFLP analizi sonucunda elde edilen olası tür sayısı 12 iken, DNA dizi analizi sonrasında oluşturulan gruplamada nar meyvesinin maya florasında 7 farklı türün varlığı tespit edildi.

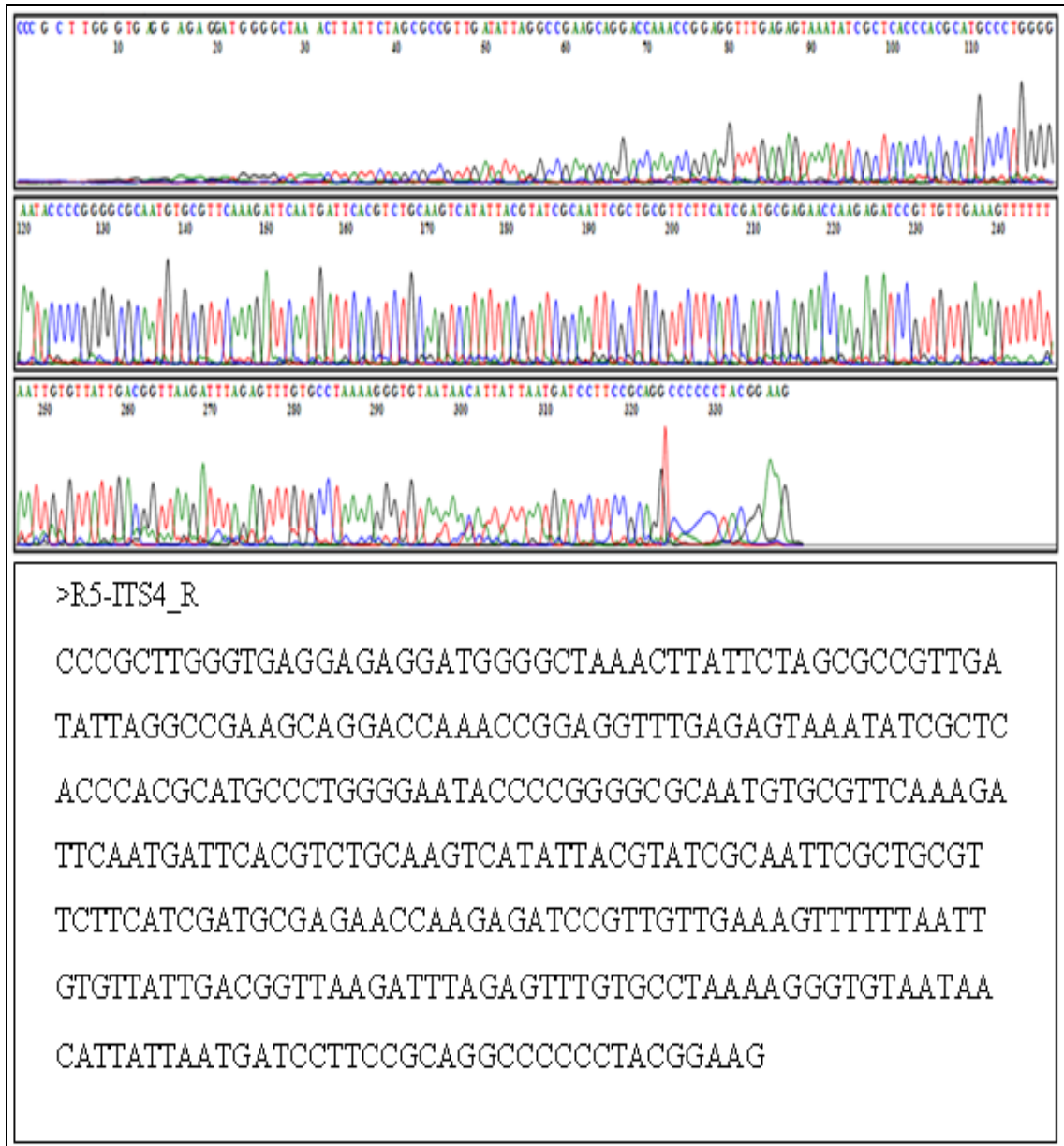
Çizelge 4.17. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre tür tanımlamaları

| | |
|---|--|
| <i>Cryptococcus bestiolae</i> | P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-14, P-15, P-19, P-22, P-26, P-26, P-30, P-31, P-39, P-41, P-42 |
| <i>Hanseniaspora uvarum</i> | P-8, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b |
| <i>Candida zeylanoides</i> | P-20, P-25b, P-29, P-32, P-33, P-34, P-35 |
| <i>Metschnikowia sp.</i> (<i>M. pulcherrima</i>) | P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53, P-55a |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> | P-3, P-24, P-27 |
| <i>Kluyveromyces lactis</i> | P-18 |
| <i>Metschnikowia sp.</i> | P-21 |

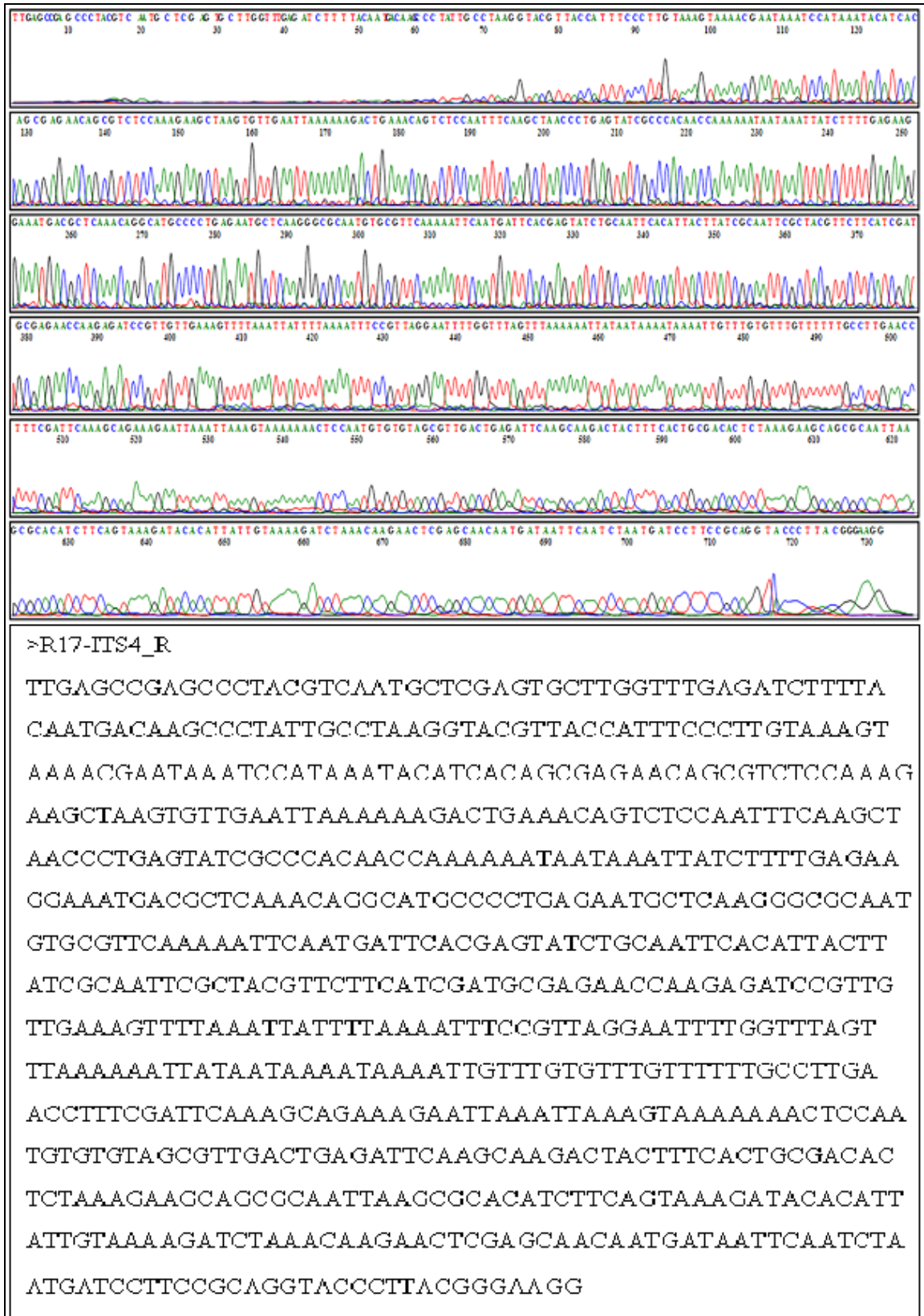
4.5.2. Ahududu meyvesine ait maya suşlarının DNA dizi analizi

Ahududu örneklerine ait maya suşlarının Çizelge 4.14'te verilen restriksiyon profillerine göre yapılan gruplandırma dikkate alınarak Grup 1'den R-5, Grup 2'den R-17, Grup 3'ten R-7, Grup 4'ten R-3 ve Grup 5'ten R-20 maya suşları DNA dizi analizi yaptırılmak üzere rasgele seçildi. Ayrıca tek maya suşunun temsil ettiği gruplardan ise R-23 (Grup 6) ve R-6 (Grup 7) maya suşlarına DNA dizi analizi yaptırıldı. Maya suşlarına ait DNA dizi analizi sonuçları R-5 maya suşu için Şekil 4.76'da, R-17 maya suşu için Şekil 4.77'de, R-7 maya suşu için Şekil 4.78'de, R-3 maya suşu için Şekil 4.79'da, R-20 maya suşu için Şekil 4.80'de, R-23 maya suşu için Şekil 4.81'de ve R-6 maya suşu için Şekil 4.82'de verildi.

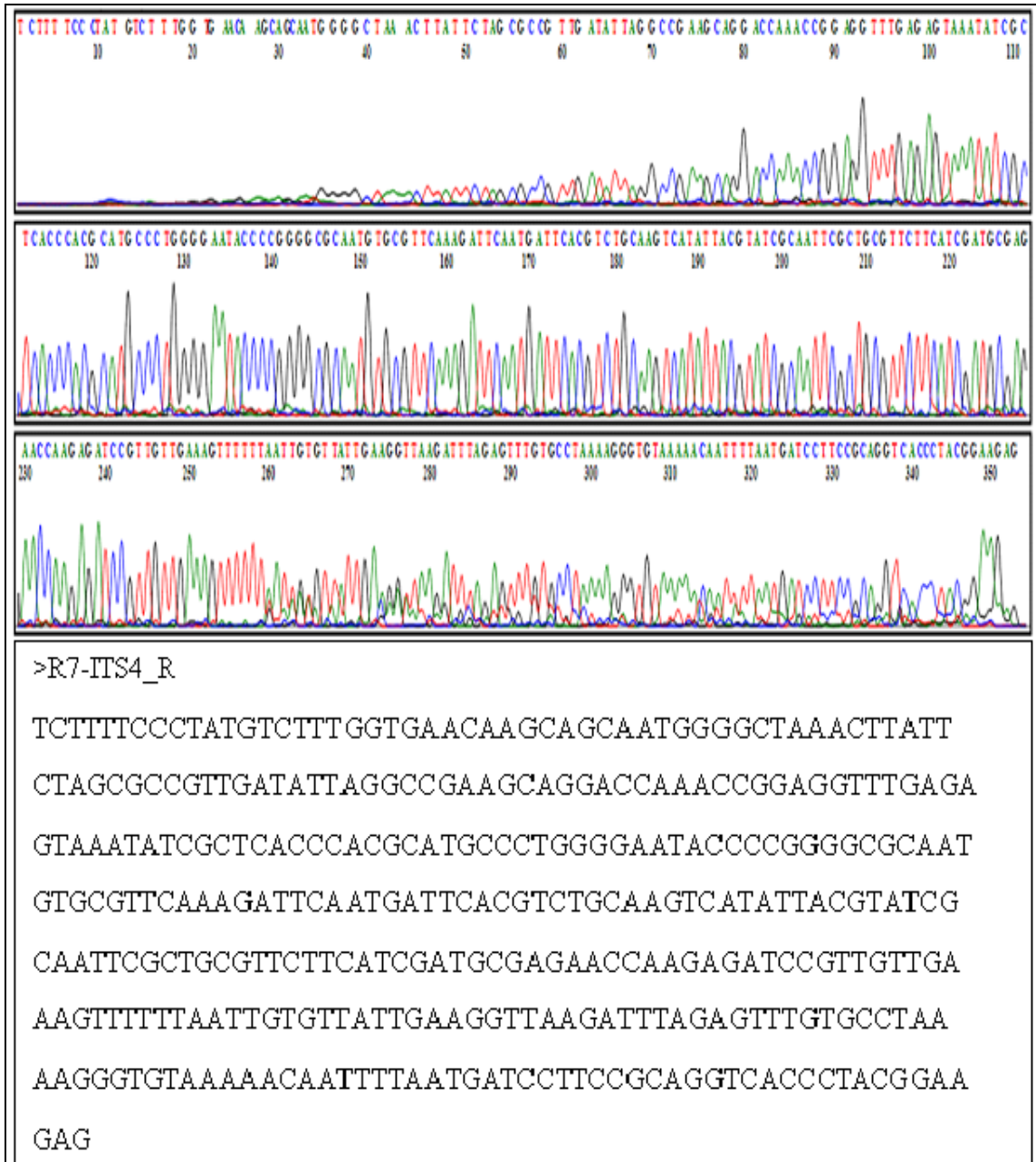
Maya suşlarına ait BLAST analizi sonucunda, R-5 maya suşunun %97 oranında *Metschnikowia* sp. maya türüyle, R-17 maya suşunun %99 oranında *H. uvarum* maya türüyle, R-7 maya suşunun %98 oranında *Metschnikowia* sp. ile, R-3 maya suşunun %99 oranında *Candida* sp. ile, R-20 maya suşunun %99 oranında *A. pullulans* maya türüyle, R-23 maya suşunun %97 oranında *M. pulcherrima* maya türüyle ve R-6 maya suşunun %97 oranında *Candida* sp. ile benzerlik gösterdiği belirlendi. Bu maya suşlarına ait BLAST analizi sonrası elde edilen dizi eşleşmeleri R-17 maya suşu için Şekil 4.83'te, R-17 maya suşu için Şekil 4.84'de, R-7 maya suşu için Şekil 4.85'de, R-3 maya suşu için Şekil 4.86'da, R-20 maya suşu için Şekil 4.87'de, R-23 maya suşu için Şekil 4.88'de ve R-6 maya suşu için Şekil 4.89'da verildi.



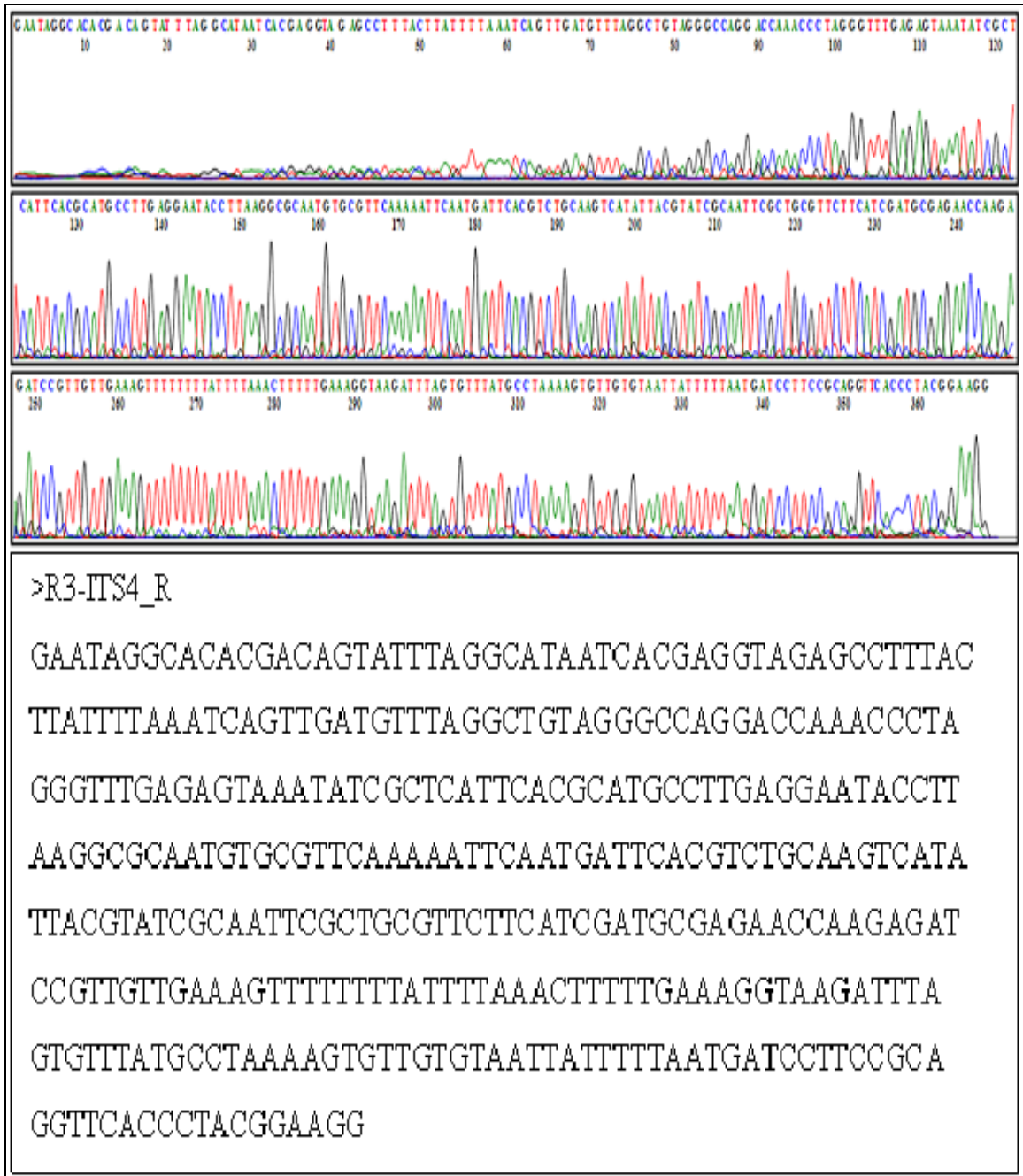
Şekil 4.76. R-5 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



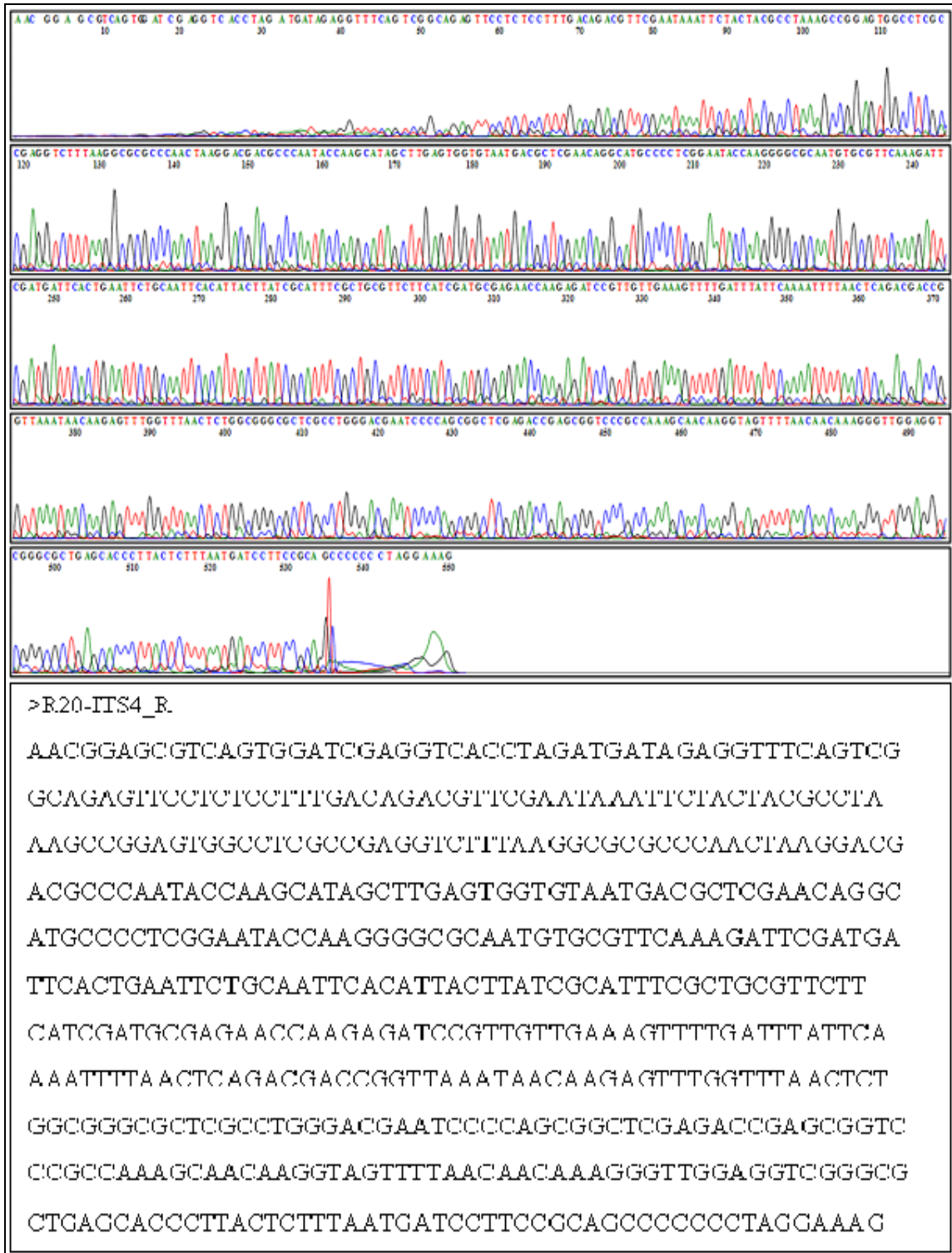
Şekil 4.77. R-17 maya şusunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



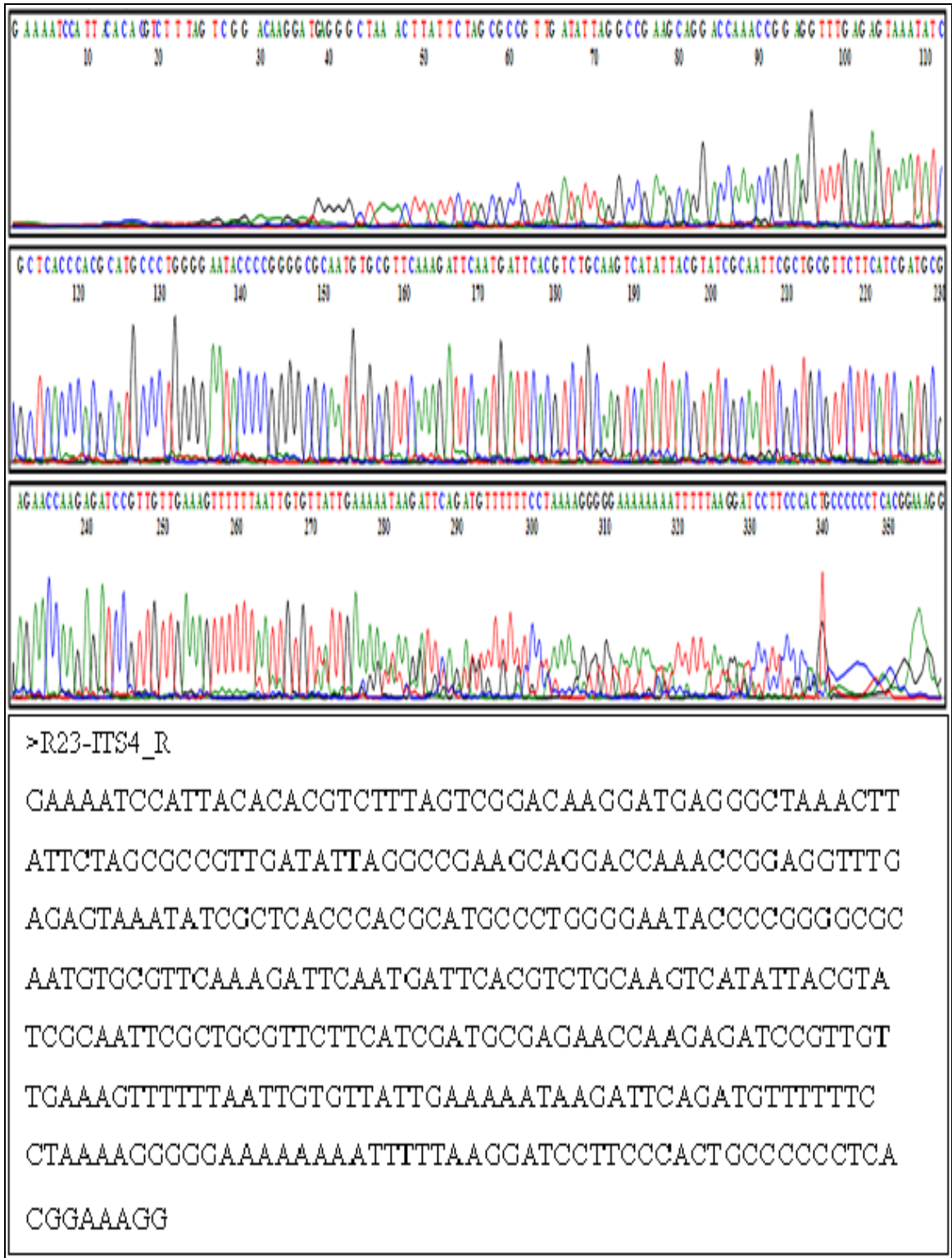
Şekil 4.78. R-7 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



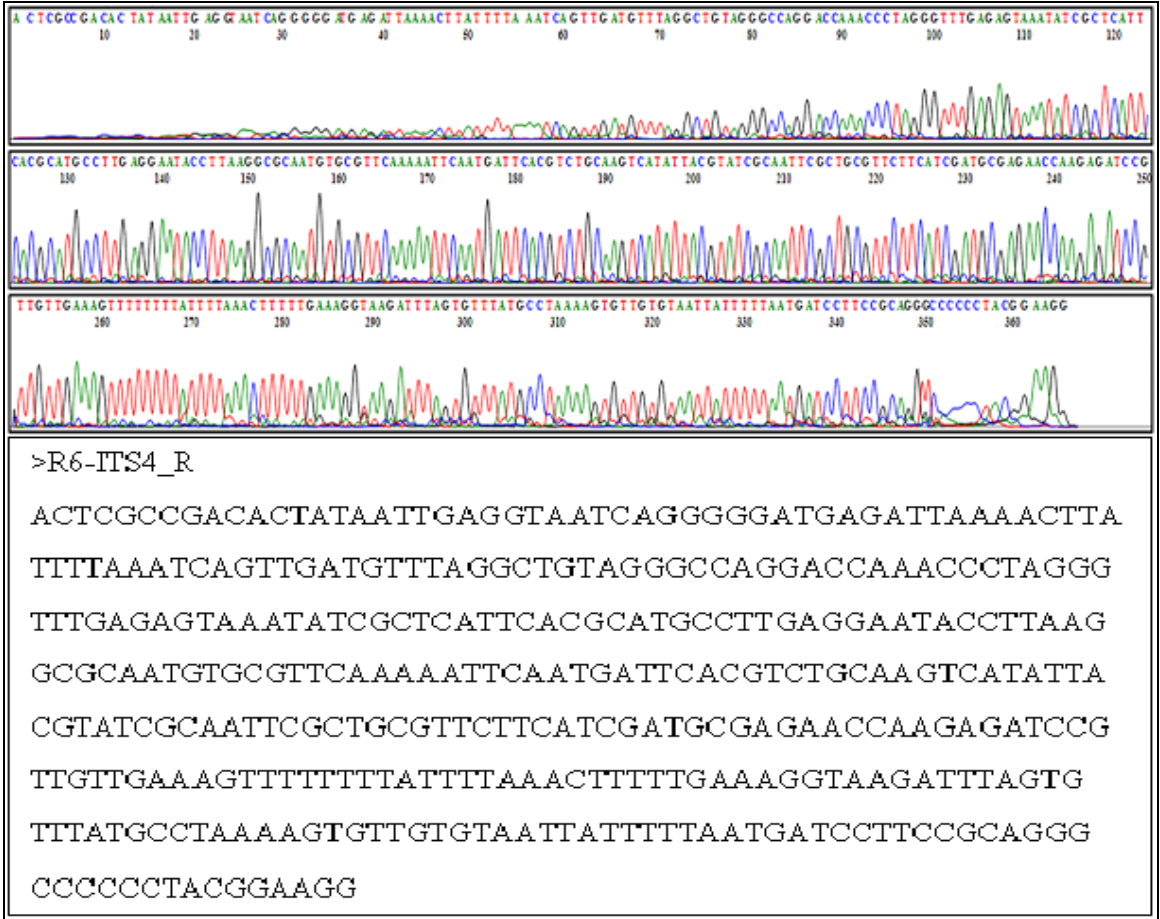
Şekil 4.79. R-3 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.80. R-20 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.81. R-23 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi



Şekil 4.82. R-6 maya suşunun ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi

Sequence ID: [gb|KM209323.1](#) Length: 382 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 335 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| | Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|-------|---------------|---|--------------|-----------|------------|
| | 566 bits(306) | 1e-157 | 326/335(97%) | 4/335(1%) | Plus/Minus |
| Query | 8 | GGGTGAGG-AG-AGGATGGGGCT-AAACTTATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGC | 64 | | |
| Sbjct | 335 | GGGTGAGGAAGAAGAATGGGGCTAAAACCTTATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGC | 276 | | |
| Query | 65 | AGGACCAAACCGGAGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAAATAC | 124 | | |
| Sbjct | 275 | AGGACCAAACCGGAGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAAATAC | 216 | | |
| Query | 125 | CCCGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATATTACGTA | 184 | | |
| Sbjct | 215 | CCCGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATATTACGTA | 156 | | |
| Query | 185 | TCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTT | 244 | | |
| Sbjct | 155 | TCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTT | 96 | | |
| Query | 245 | TTAATTGTGTTATTGACGGTTAAGATTTAGAGTTTGTGCCTAAAAGGGTGAATAACATT | 304 | | |
| Sbjct | 95 | TTAATTGTGTTATTGAGGGTTAAGATTTAGAGTTTGTGCCTAAAAGGGTGAATAAACAAT | 36 | | |
| Query | 305 | ATTAATGATCCTTCCGCAGGCC-CCCCCTACGGAAG 338 | | | |
| Sbjct | 35 | ATTAATGATCCTTCCGCAGGTCACCCCTACGGAAG 1 | | | |

Şekil 4.83. R-5 maya suşunun *Metschnikowia* sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

| Sequence ID: gb KP132262.1 Length: 919 Number of Matches: 1 | | | | | |
|---|---|--------------|-----------|------------|-----|
| Range 1: 131 to 799 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match | | | | | |
| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand | |
| 1210 bits(655) | 0.0 | 666/671(99%) | 2/671(0%) | Plus/Minus | |
| Query 57 | CAAGCCCTATTGCCTAAGGTACGTTACCATTTCCCTTGTAAAGTAAAACGAATAAATCCA | | | | 116 |
| Sbjct 799 | CAA-CCCT-TTGCCTAAGGTACGTTACCATTTCCCTTGTAAAGTAAAACGAATAAATCCA | | | | 742 |
| Query 117 | TAAATACATCACAGCGAGAACAGCGTCTCCAAAGAAGCTAAGTGTGAAATTAATAAAGAC | | | | 176 |
| Sbjct 741 | TAAATACATCACAGCGAGAACAGCGTCTCCAAAGAAGCTAAGTGTGAAATTAATAAAGAC | | | | 682 |
| Query 177 | TGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCCTGAGTATCGCCCAACAACAAAAATAATAA | | | | 236 |
| Sbjct 681 | TGAAACAGTCTCCAATTTCAAGCTAACCCCTGAGTATCGCCCAACAACAAAAATAATAA | | | | 622 |
| Query 237 | TTATCTTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTGAGAAATGCTCAAGGGCG | | | | 296 |
| Sbjct 621 | TTATCTTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTGAGAAATGCTCAAGGGCG | | | | 562 |
| Query 297 | CAATGTGCGTTCAAAAAATCAATGATTCACGAGTATCTGCAATTCACATTACTTATCGCA | | | | 356 |
| Sbjct 561 | CAATGTGCGTTCAAAAAATCAATGATTCACGAGTATCTGCAATTCACATTACTTATCGCA | | | | 502 |
| Query 357 | ATTCGCTACGTTCTTTCATCGATGCGAGAACAAGAGATCCGTTGTTGaaagttttaaatt | | | | 416 |
| Sbjct 501 | ATTCGCTACGTTCTTTCATCGATGCGAGAACAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTAAATT | | | | 442 |
| Query 417 | attttaaaatttccgtaggaattttggttagtttaaaaaattataataaaataaaatt | | | | 476 |
| Sbjct 441 | ATTTTAAATTTCCGTTAGGAATTTGGTTTAGTTTAAAAAATTATAATAAAATAAAATT | | | | 382 |
| Query 477 | gttttggtttggtttttgccttgaacctttcgattcaaaagcagaaagaattaaattaaag | | | | 536 |
| Sbjct 381 | GTTTGTGTTTGTTTTTTGCCCTGAACCTTCGATTCAAAGCAGAAAGAATTAAATTAAG | | | | 322 |
| Query 537 | TaaaaaaaaCTCCAATGTGTAGCGTTGACTGAGATTCAAGCAAGACTACTTTCACTGCG | | | | 596 |
| Sbjct 321 | TAAAAAAACTCCAATGTGTAGCGTTGACTGAGATTCAAGCAAGACTACTTTCACTGCG | | | | 262 |
| Query 597 | ACACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAGCGCACATCTTCAGTAAAGATACACATTATTGTA | | | | 656 |
| Sbjct 261 | ACACTCTAAAGAAGCAGCGCAATTAAGCGCACATCTTCAGTAAAGATACACATTATTGTA | | | | 202 |
| Query 657 | AAAGATCTAAACAAGAACTCGAGCAACAATGATAATTCAATCTAATGATCCTCCGCAGG | | | | 716 |
| Sbjct 201 | AAAGATCTAAACAAGAACTCGAGCAACAATGATAATTCAATCTAATGATCCTCCGCAGG | | | | 142 |
| Query 717 | TACCCCTACGG 727 | | | | |
| Sbjct 141 | TTCACCTACGG 131 | | | | |

Şekil 4.84. R-17 maya suşunun *H. uvarum* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

| Sequence ID: gb KM209323.1 Length: 382 Number of Matches: 1 | | | | | |
|---|---|--------------|-----------|------------|-----|
| Range 1: 1 to 334 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match | | | | | |
| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand | |
| 571 bits(309) | 2e-159 | 327/335(98%) | 3/335(0%) | Plus/Minus | |
| Query 19 | GGTGAACAAGCAGCAATGGGGCT-AAACTTATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGC | | | | 77 |
| Sbjct 334 | GGTGAACAAGCAGCAATGGGGCT-AAACTTATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGC | | | | 276 |
| Query 78 | AGGACCAAACCGAGGTTTGGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAAATAC | | | | 137 |
| Sbjct 275 | AGGACCAAACCGAGGTTTGGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAAATAC | | | | 216 |
| Query 138 | CCCGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTACGCTGCAAGTCATATTACGTA | | | | 197 |
| Sbjct 215 | CCCGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTACGCTGCAAGTCATATTACGTA | | | | 156 |
| Query 198 | TCGCAATTCGCTGCGTCTTTCATCGATGCGAGAACAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTT | | | | 257 |
| Sbjct 155 | TCGCAATTCGCTGCGTCTTTCATCGATGCGAGAACAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTT | | | | 96 |
| Query 258 | TTAATTGTGTTATTGAAGTTAAGATTTAGAGTTTGTGCCATAAAGGGTGAAAAACAAT | | | | 317 |
| Sbjct 95 | TTAATTGTGTTATTGAAGTTAAGATTTAGAGTTTGTGCCATAAAGGGTGAAAAACAAT | | | | 36 |
| Query 318 | TTAATGATCCTCCGCAGGTCACCC-TACGGAAG 351 | | | | |
| Sbjct 35 | ATTAATGATCCTCCGCAGGTCACCCCTACGGAAG 1 | | | | |

Şekil 4.85. R-7 maya suşunun *Metschnikowia* sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|DQ002494.1](#) Length: 375 Number of Matches: 1

Range 1: 2 to 319 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|---|--------------|-----------|------------|
| 566 bits(306) | 1e-157 | 315/319(99%) | 2/319(0%) | Plus/Minus |
| Query 49 | ACTTATTTT-AAATCAGTTGATGTTTAGGCTGTAGGGCCAGGACCAAACCCCTAGGGTTTG | | | 107 |
| Sbjct 319 | ACTTATTTTAAAATCAGTTGATGTTTAGGCTGTAGGGCCAGGACCAAACCCCTAGGGTTTG | | | 260 |
| Query 108 | AGAGTAAATATCGCTCATTACGCATGCCTTGAGGAATACCTTAAGGCGCAATGTGCGTT | | | 167 |
| Sbjct 259 | AGAGTAAATATCGCTCATTACGCATGCCTTGAGGAATACCTTAAGGCGCAATGTGCGTT | | | 200 |
| Query 168 | CAAAAATCAATGATTACGCTCTGCAAGTCATATTACGTATCGCAATTCGCTGCGTTCTT | | | 227 |
| Sbjct 199 | CAAAAATCAATGATTACGCTCTGCAAGTCATATTACGTATCGCAATTCGCTGCGTTCTT | | | 140 |
| Query 228 | CATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTTTTTTATTTTAACTTTTTGA | | | 287 |
| Sbjct 139 | CATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTTTTTTATTTTAACTTATTGA | | | 80 |
| Query 288 | AAGGTAAGATTTAGTGTTTATGCCTAAAAGTGTGTGTAATTATTTTAAATGATCCTTCC | | | 347 |
| Sbjct 79 | AAGGTAAGATTTAGTGTTTATGCCTAAAAGTGTGTGTAATTATTTTAAATGATCCTTCC | | | 20 |
| Query 348 | GCAGGTTACCCTACGGAA 366 | | | |
| Sbjct 19 | GCAGGTTACC-TACGGAA 2 | | | |

Şekil 4.86. R-3 maya suşunun *Candida* sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

Sequence ID: [gb|KC253965.1](#) Length: 605 Number of Matches: 1

Range 1: 38 to 560 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|---------------|--|--------------|-----------|------------|
| 935 bits(506) | 0.0 | 518/523(99%) | 3/523(0%) | Plus/Minus |
| Query 16 | GAT-CGAGGTC-ACCTAGATG-ATAGAGGTTTTCAGTCGGCAGAGTTCTCTCCTTTTGACA | | | 72 |
| Sbjct 560 | GATCCGAGGTC AACCTAGAGAATAAAGGTTTCAGTCGGCAGAGTTCTCTCCTTTTGACA | | | 501 |
| Query 73 | GACGTTTCGAATAAATTCTACTACGCCCTAAAGCCGGAGTGGCCTCGCCGAGGTCTTTAAGG | | | 132 |
| Sbjct 500 | GACGTTTCGAATAAATTCTACTACGCCCTAAAGCCGGAGTGGCCTCGCCGAGGTCTTTAAGG | | | 441 |
| Query 133 | CGCGCCCAACTAAGGACGACGCCCAATACCAAGCATAGCTTGAGTGGTGTAATGACGCTC | | | 192 |
| Sbjct 440 | CGCGCCCAACTAAGGACGACGCCCAATACCAAGCATAGCTTGAGTGGTGTAATGACGCTC | | | 381 |
| Query 193 | GAACAGGCATGCCCTCGGAATACCAAGGGGCCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATT | | | 252 |
| Sbjct 380 | GAACAGGCATGCCCTCGGAATACCAAGGGGCCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATT | | | 321 |
| Query 253 | CACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAG | | | 312 |
| Sbjct 320 | CACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAG | | | 261 |
| Query 313 | AACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTCAAATTTTAACTCAGACGACCGG | | | 372 |
| Sbjct 260 | AACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTCAAATTTTAACTCAGACGACCGG | | | 201 |
| Query 373 | TTAAATAACAAGAGTTTGGTTTAACTCTGGCGGGCGCTCGCCTGGGACGAATCCCCAGCG | | | 432 |
| Sbjct 200 | TTAAATAACAAGAGTTTGGTTTAACTCTGGCGGGCGCTCGCCTGGGACGAATCCCCAGCG | | | 141 |
| Query 433 | GCTCGAGACCGAGCGGTCCCGCCAAAGCAACAAGGTAGTTTTAACAACAAGGGTTGGAG | | | 492 |
| Sbjct 140 | GCTCGAGACCGAGCGGTCCCGCCAAAGCAACAAGGTAGTTTTAACAACAAGGGTTGGAG | | | 81 |
| Query 493 | GTCGGGCGCTGAGCACCCCTTACTCTTTAATGATCCTTCCGCAG 535 | | | |
| Sbjct 80 | GTCGGGCGCTGAGCACCCCTTACTCTTTAATGATCCTTCCGCAG 38 | | | |

Şekil 4.87. R-20 maya suşunun *A. pullulans* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

| Sequence ID: gb JN229413.1 Length: 358 Number of Matches: 1 | | | | |
|--|---|--------------|-----------|------------|
| Range 1: 22 to 325 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match | | | | |
| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
| 507 bits(274) | 7e-140 | 296/306(97%) | 3/306(0%) | Plus/Minus |
| Query 30 | ACAAGGATGAGGGCT-AAACTTATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGCAGGACCAA | | | 88 |
| Sbjct 325 | ACAAGGATG-GGGCTAAAACCTTATTCTAGCGCCGTTGATATTAGGCCGAAGCAGGACCAA | | | 267 |
| Query 89 | ACCGGAGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAATACCCCGGGGC | | | 148 |
| Sbjct 266 | ACCGGAGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCACCCACGCATGCCCTGGGGAATACCCCGGGGC | | | 207 |
| Query 149 | GCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATATTACGTATCGCAATT | | | 208 |
| Sbjct 206 | GCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATATTACGTATCGCAATT | | | 147 |
| Query 209 | CGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTTAATTGT | | | 268 |
| Sbjct 146 | CGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTTTAATTGT | | | 87 |
| Query 269 | GTTATTGAAAAATAAGATTTCAGATGTTTTTCTAAAAGGGGGGAAAAAAAAATTTTTAAGG | | | 328 |
| Sbjct 86 | GTTATTGAAAAATAAGATTTCAGATGTTTTTCTAAAAGGGGGGAAAAAAAAATTTTTAAGG | | | 27 |
| Query 329 | ATCCTT 334 | | | |
| Sbjct 26 | A-CCTT 22 | | | |

Şekil 4.88. R-23 maya suşunun *M. pulcherrima* maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

| Sequence ID: gb DQ002494.1 Length: 375 Number of Matches: 1 | | | | |
|---|--|--------------|-----------|------------|
| Range 1: 2 to 346 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match | | | | |
| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
| 588 bits(318) | 2e-164 | 337/346(97%) | 2/346(0%) | Plus/Minus |
| Query 19 | TGAGGTAATCAGGGGGATGAGATTAACCTTATTTTAAA-TCAGTTGATGTTTAGGCTGT | | | 77 |
| Sbjct 346 | TGAGGAAATAAGGGGGATGAGATTAACCTTATTTTAAAATCAGTTGATGTTTAGGCTGT | | | 287 |
| Query 78 | AGGGCCAGGACCAAACCTTAGGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCATTACGCATGCCTTGA | | | 137 |
| Sbjct 286 | AGGGCCAGGACCAAACCTTAGGGTTTGAGAGTAAATATCGCTCATTACGCATGCCTTGA | | | 227 |
| Query 138 | GGAATACCTTAAGGCGCAATGTGCGTTCAAAAATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATA | | | 197 |
| Sbjct 226 | GGAATACCTTAAGGCGCAATGTGCGTTCAAAAATTCAATGATTCACGTCTGCAAGTCATA | | | 167 |
| Query 198 | TTACGTATCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGA | | | 257 |
| Sbjct 166 | TTACGTATCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGA | | | 107 |
| Query 258 | AAGTTTTTTTTTATTTTAACTTTTTGAAAGGTAAGATTTAGTGTTTATGCCTAAAAGTGT | | | 317 |
| Sbjct 106 | AAGTTTTTTTTTATTTTAACTTTTGAAGGTAAGATTTAGTGTTTATGCCTAAAAGTGT | | | 47 |
| Query 318 | TGTGTAATTATTTTAAATGATCCTTCCGCAGGGCCCCCTACGGAA 363 | | | |
| Sbjct 46 | TGTGTAATTATTTTAAATGATCCTTCCGCAGGTTACC-TACGGAA 2 | | | |

Şekil 4.89. R-6 maya suşunun *Candida* sp. maya türüyle DNA dizi eşleşme sonucu

BLAST analizine göre yüksek homoloji gösteren maya suşları yeniden gruplandırıldı ve Çizelge 4.18’de verildi. PCR-RFLP analizi sonrasında farklı gruplarda yer alan R-5 ve R-7 maya suşları ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre *Metschnikowia* sp. olarak belirlendi. Bu maya suşları pulcherrimin pigment sentezinin

varlığından dolayı *M. pulcherrima* türü olarak tanımlandı. R-23 maya suşu dizi analizi sonrası *M. pulcherrima* türü ile yüksek benzerlik göstermesine rağmen morfolojik olarak *M. pulcherrima* türüne özgü pulcherrimin pigment sentezinin olmadığı görüldü. R-3 ve R-6 maya suşları restriksiyon profillerine göre farklı grupta yer almasına rağmen dizi analizi sonrasında aynı cinsin (*Candida sp.*) bireyleri olarak tespit edildi. R-17 (*H. uvarum*) ve R-20 (*A. pullulans*) maya suşları gerek PCR-RFLP analizi sonrasında gerekse dizi analizi sonrasında farklı türlerin bireyleri olduğu gözlemlendi. Çalışmamızda ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR-RFLP analizi sonucunda elde edilen olası tür sayısı 7 iken, DNA dizi analizi sonrasında oluşturulan grupta ahududu meyvesinin maya florasında 5 farklı türün varlığı tespit edildi.

Çalışmamız sonrasında restriksiyon profillerine göre farklılık gösteren bazı türlerin sekans analizleri sonrasında aynı türün bireyleri olduğu, dizi analizi sonrasında tanımlanan bazı türlerin ise morfolojik olarak farklılık gösterdiği belirlendi.

Çizelge 4.18: Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre tür tanımlamaları

| | |
|--|---|
| <i>Metschnikowia sp.</i> (<i>M. pulcherrima</i>) | R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24, R-26 |
| <i>Hanseniaspora uvarum</i> | R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19, R-21 |
| <i>Candida sp.</i> | R-3, R-6, R-25 |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> | R-20, R-22 |
| <i>Metschnikowia pulcherrima</i> (<i>Metschnikowia sp.</i>) | R-23 |

4.6. Nar ve Ahududu Meyvesinin Maya Florasında Bulunan Türlerin Hücre Dışı Enzim Profilleri

Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilerek tanımlanan maya suşlarının hücre dışı enzim profilleri API-ZYM (BioMérieux, Fransa) test sistemi kullanılarak belirlendi. Teknik nedenlerden dolayı API-ZYM testi seçilen bazı maya türleri için uygulandı. ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre oluşturulan ve nar meyvesi için Çizelge 4.17’de ahududu meyvesi için Çizelge 4.18’de verilen her gruptan 3 örnek seçildi ve test sistemi ile profilleri belirlendi.

Nar meyvesi için *Cr.bestiolae* maya türüne ait maya suşlarından P-1, P-19 ve P-30, *H. uvarum* maya türüne ait maya suşlarından P-23, P-36 ve P-50, *C. zeylanoides* maya türüne ait maya suşlarından P-20, P-25b ve P-32, *Metschnikowia sp (M. pulcherrima)* maya cinsine ait maya suşlarından P-25a, P-48 ve P-53, *A. pullulans* maya türüne ait maya suşlarından P-3, P-24 ve P-27, *K. lactis* maya türüne ait P-18 ve *Metschnikowia sp* maya cinsine ait P-21 maya suşları API-ZYM test sisteminde kullanılmak üzere seçildi. Benzer şekilde ahududu meyvesinden *Metschnikowia sp (M. pulcherrima)* maya cinsine ait maya suşlarından R-5, R-13 ve R-24, *H. uvarum* maya türüne ait maya suşlarından R-11, R-17 ve R-21, *Candida sp* maya cinsine ait R-3, R-6 ve R-25, *A. pullulans* maya türüne ait R-20 ve R-22 ve *M. pulcherrima (Metschnikowia sp.)* türüne ait R-23 maya suşları API-ZYM test sisteminde kullanılmak üzere seçildi.

Maya hücreleri %2 glikoz içeren YPD sıvı üreme ortamında bir gece üretildi ve çöktürülerek toplanan hücreler API-ZYM test sisteminde kullanıldı. Elde edilen sonuçlar nar meyvesi için Şekil 4.90’da ahududu meyvesi için Şekil 4.91’de verildi.

Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarından *Cr.bestiolae* maya türüne ait P-1, P-19 ve P-30 maya suşlarının hücre dışı enzim profilleri incelendiğinde P-1 ve P-19 maya suşunun benzer profil verdiği, P-30 maya suşunun ise farklı enzim profiline sahip olduğu belirlendi. Bu nedenle Şekil 4.90’da ve Çizelge 4.19’de P-1 suşu gösterilmedi. P-19 nolu maya suşunda yüksek oranda β -galaktosidaz enzim aktivitesi gözlenirken P-30 maya suşunda olmadığı ve P-30 maya suşunda gözlenen asit fosfataz aktivitesinin P-19 maya suşunda bulunmadığı belirlendi. P-19 maya suşunda bulunan lösin arilamidaz aktivitesinin P-30 maya suşundan daha fazla olduğu belirlendi (Şekil 4.90). P-30 maya suşunda düşük seviyede naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzim aktivitesi, P-19 maya suşunda ise az oranda alkalın fosfataz aktivitesi tespit edildi. Her iki maya suşunda da esteraz ve esteraz lipaz

aktivitesinin düşük oranda varlığı gözlenirken diğer enzim aktiviteleri gözlenmedi (Şekil 4.90 ve Çizelge 4.19).

H. uvarum maya türüne ait P-23, P-36 ve P-50 maya suşlarının hücre dışı enzim profilleri incelendiğinde P-36 maya suşunun diğerlerinden farklı profile sahip olduğu gözlemlendi. Bu nedenle Şekil 4.90'da ve Çizelge 4.19'da P-50 suşu verilmemi. P-23 nolu maya suşunda çok yüksek oranda alkalın fosfataz aktivitesi gözlenirken P-36 maya suşunda gözlenmedi. P-36 maya suşunda gözlenen yüksek β -glukosidaz aktivitesinin de P-23 maya suşunda olmadığı gözlemlendi. P-36 maya suşunda gözlenen esteraz, asit fosfataz ve naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzim aktivitelerinin P-23 maya suşunda olmadığı belirlendi. Her iki maya suşunda da düşük seviyede esteraz lipaz ve yüksek seviyede lösin arilamidaz aktivitelerine rastlanırken diğer enzim aktiviteleri gözlenmedi (Şekil 4.90 ve Çizelge 4.19).

C. zeylanoides maya türüne ait P-20, P-25b ve P-32 maya suşlarının hücre dışı enzim profilleri arasında farklılık gözlenmedi. Bu nedenle Şekil 4.90'da ve Çizelge 4.19'da yalnızca P-20 suşu gösterildi. P-20 nolu maya suşunda orta seviyede esteraz, esteraz lipaz, lösin arilamidaz ve asit fosfataz enzim aktivitesi gözlenirken diğer hücre dışı enzim aktiviteleri tespit edilmedi (Şekil 4.90 ve Çizelge 4.19'da).

Benzer şekilde *Metschnikowia sp (M. pulcherrima)* maya cinsine ait P-25a, P-48 ve P-53 maya suşlarının enzim profillerinde ve *A. pullulans* maya türüne ait P-3, P-24 ve P-27 maya suşlarının enzim profillerinde farklılık gözlenmedi. Bu nedenle Şekil 4.90'da ve Çizelge 4.20'de yalnızca *Metschnikowia sp (M. pulcherrima)* maya cinsine ait P-25a maya suşu ve *A. pullulans* maya türüne ait P-24 maya suşu verildi. P-25a (*Metschnikowia sp (M. pulcherrima)*) maya suşunda düşük seviyede alkalın fosfataz, esteraz, esteraz lipaz ve naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzim aktiviteleri ile orta seviyede valin arilamidaz, sistin arilamidaz, asit fosfataz, α -glukosidaz ve β -glukosidaz enzim aktiviteleri gözlemlendi. Lösin arilamidaz aktivitesinin ise yüksek seviyede olduğu belirlendi. *A. pullulans* maya türüne ait P-24 maya suşunda ise düşük seviyede lösin arilamidaz ve asit fosfataz aktivitesi, orta seviyede ise esteraz ve esteraz lipaz aktivitesi tespit edilirken diğer enzim aktivitelerine rastlanmadı (Şekil 4.90 ve Çizelge 4.19'da). *K. lactis* maya türüne ait P-18 maya suşunun hücre dışı enzim profili Şekil 4.90'da ve kitle birlikte veirilen renk skalasına göre belirlenen sayısal enzim aktiviteleri Çizelge 4.19'da verildi. P-18 maya suşunda yüksek alkalın fosfataz, lösin arilamidaz, asit fosfataz ve naftol-AS-BI-fosfohidrolaz ve valin arilamidaz enzim aktiviteleri gösterirken, diğer enzim aktivitelerine rastlanmamıştır.

| Örnek Enzim | <i>C. bestiolae</i> (P-19) | <i>C. bestiolae</i> (P-30) | <i>H. uvarum</i> (P-23) | <i>H. uvarum</i> (P-36) | <i>C. zeylanoides</i> (P-20) | <i>C. zeylanoides</i> (P-32) | <i>M. pulcherrima</i> (P-25a) | <i>A. pullulans</i> (P-24) | <i>K. lactis</i> (P-18) |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| Kontrol | | | | | | | | | |
| Alkalın fosfataz | | | | | | | | | |
| Esteraz (C 4) | | | | | | | | | |
| Esteraz lipaz (C 8) | | | | | | | | | |
| Lipaz (C 14) | | | | | | | | | |
| Lösin arilamidaz | | | | | | | | | |
| Valin arilamidaz | | | | | | | | | |
| Sistin arilamidaz | | | | | | | | | |
| Tripsin | | | | | | | | | |
| α -Kimotripsin | | | | | | | | | |
| Asit fosfataz | | | | | | | | | |
| Naftol-AS-BI-fosfolhidrolaz | | | | | | | | | |
| α -Galaktosidaz | | | | | | | | | |
| β -Galaktosidaz | | | | | | | | | |
| β -Glukuronidaz | | | | | | | | | |
| α -Glukosidaz | | | | | | | | | |
| β -Glukosidaz | | | | | | | | | |
| N-asetil- β -glokosaminidaz | | | | | | | | | |
| α -Mannosidaz | | | | | | | | | |
| α -Fukosidaz | | | | | | | | | |

Şekil 4.90. Nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının hücre dışı enzim aktiviteleri

Çizelge 4.19. Nar meyvesinden izole edilerek tanımlanan maya suşlarına ait hücre dışı enzim profili renk skalası

| | <i>Cr. Bestiolae</i> (P-19) | <i>Cr. Bestiolae</i> (P-30) | <i>H. uvarum</i> (P-23) | <i>H. uvarum</i> (P-36) | <i>C. zeylanoides</i> (P-20) | <i>C. zeylanoides</i> (P-32) | <i>Metchnikowia sp.</i> (<i>M. pulcherrima</i>) (P-25a) | <i>A. pullulans</i> (P-24) | <i>K. lactis</i> (P-18) |
|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---|-------------------------------|----------------------------|
| Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Alkalın fosfataz | 1 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 5 |
| Esteraz (C 4) | 3 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| Esteraz lipaz (C 8) | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Lipaz (C 14) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Lösin arilamidaz | 4 | 1 | 4 | 4 | 2 | 2 | 4 | 2 | 5 |
| Valin arilamidaz | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 | 0 | 4 |
| Sistin arilamidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| Tripsin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α -Kimotripsin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Asit fosfataz | 1 | 2 | 0 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 3 |
| Naftol-AS-BI-fosfohidrolaz | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 | 2 |
| α - Galaktosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| β - Galaktosidaz | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| β - Glukuronidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α - Glukosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| β - Glukosidaz | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| N-asetil-glokozaminidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α - Mannosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α - Frukosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarından *Metschnikowia sp* (*M. pulcherrima*) maya cinsine ait R-5, R-13 ve R-24 maya suşlarının hücre dışı enzim profilleri incelendiğinde tüm suşların benzer profile sahip olduğu belirlendi. Bu nedenle Şekil 4.91’de ve Çizelge 4.20’de yalnızca R-5 maya suşu gösterildi. R-5 maya suşunda orta seviyede valin arilamidaz, sistin arilamidaz, asit fosfataz, α -glukosidaz ve β -glukosidaz enzim aktiviteleri ile yüksek seviyede lösin arilamidaz aktivitesi belirlendi. Alkalin fosfataz, esteraz, esteraz lipaz ve naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzim aktivitelerinin ise düşük seviyede olduğu gözlemlendi. R-5 maya suşunda gözlenen enzim profilinin nar meyvesine ait P-25a maya suşu ile birebir benzer profile sahip olduğu tespit edildi. P-25a maya suşu DNA dizi analizi sonrası R-5 maya suşu gibi *M. pulcherrima* maya türü olarak tanımlandı. DNA dizi analizi sonrası *M. pulcherrima* maya türü olarak tanımlanan ancak morfolojik olarak farklı olan R-23 maya suşuna ait hücre dışı enzim profilinin P-25a ve R-5 maya suşlarının enzim profillerine benzemediği gözlemlendi. R-23 maya suşunda çok yüksek oranda β -glukosidaz enzim aktivitesi gözlenirken alkalin fosfataz, esteraz, esteraz lipaz ve asit fosfataz enzim aktivitelerinin P-25a ve R-5 maya suşlarından daha düşük seviyede olduğu belirlendi. P-25a ve R-5 maya suşlarında gözlenen naftol-AS-BI-fosfohidrolaz ve α -glukosidaz enzim aktivitelerinin ise R-23 maya suşunda olmadığı tespit edildi.

H. uvarum maya türüne ait maya suşlarından R-11, R-17 ve R-21 maya suşlarının enzim profilleri, *A. pullulans* maya türüne ait R-20 ve R-22 maya suşlarının enzim profilleri ve *Candida sp* maya cinsine ait R-3, R-6 ve R-25 maya suşlarının enzim profilleri kendi içlerinde farklılık göstermedi. Bu nedenle *H. uvarum* maya türüne ait R-17 maya suşu, *A. pullulans* maya türüne ait R-20 maya suşu ve *Candida sp* maya cinsine ait R-3 maya suşu Şekil 4.91’de ve Çizelge 4.20’de verildi. R-17, R-3 ve R-20 maya suşlarında düşük seviyede esteraz enzim aktivitesi gözlenirken her üç maya suşunda da yüksek seviyede lösin arilamidaz aktivitesi belirlendi. R-20 maya suşunda asit fosfataz enzim aktivitesi gözlenmezken R-17 ve R-3 maya suşlarında orta düzeyde bu enzim aktivitesine rastlandı. R-17 ve R-20 maya suşlarında yüksek oranda β -glukosidaz enzim aktivitesi gözlenirken R-3 maya suşunda düşük oranda olduğu, R-3 maya suşunda gözlenen α -glukosidaz aktivitesinin ise diğer iki maya suşunda olmadığı belirlendi.

H. uvarum maya türüne ait nardan izole edilen P-23 ve P-36 maya suşlarının hücre dışı enzim profile ahududu meyvesinden izole edilen R-17 maya suşu ile karşılaştırıldığında P-23 maya suşunda asit fosfataz enzim aktivitesinin diğer maya

suşlarından (P-36 ve R-17) daha yüksek olduğu, β -glukosidaz enzim aktivitesinin ise P-36 maya suşunda çok yüksek olduğu P-23 maya suşunda olmadığı ve R-17 maya suşunda ise düşük seviyede olduğu tespit edildi. P-36 maya suşunda esteraz enzim aktivitesinin orta seviyede esteraz lipaz enzim aktivitesinin ise düşük seviyede olduğu, her iki enzim aktivitesinin de P-23 ve R-17 maya suşlarında bulunmadığı gözlemlendi. Asit fosfataz enzim aktivitesinin P-36 maya suşunda orta seviyede, R-17 maya suşunda düşük seviyede olduğu gözlenirken P-23 maya suşunda olmadığı gözlemlendi. Sonuç olarak her üç maya suşuna ait hücre dışı enzim profilinde farklılık olduğu tespit edildi.

A. pullulans maya türüne ait nardan izole edilen P-24 maya suşunun hücre dışı enzim profili ahudududan izole edilen R-20 maya suşunun enzim profili ile karşılaştırıldığında lösin arilamidaz enzim aktivitesinin P-24 maya suşunda R-20 maya suşundan daha düşük olduğu; β -glukosidaz enzim aktivitesinin ise R-20 maya suşunda çok yüksek olduğu P-24 maya suşunda ise olmadığı tespit edildi.

| Örnek Enzim | <i>M. pulcherrima</i> (R-5) | <i>M. pulcherrima</i> (R-23) | <i>H. uvarum</i> (R-17) | <i>A. pullulans</i> (R-20) | <i>Candida sp.</i> (R-3) |
|-----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Kontrol | | | | | |
| Alkalin fosfataz | | | | | |
| Esteraz (C 4) | | | | | |
| Esteraz lipaz (C 8) | | | | | |
| Lipaz (C 14) | | | | | |
| Lösin arilamidaz | | | | | |
| Valin arilamidaz | | | | | |
| Sisitın arilamidaz | | | | | |
| Tripsin | | | | | |
| α -Kimotripsin | | | | | |
| Asit fosfataz | | | | | |
| Naftol-AS-BI-fosfohidrolaz | | | | | |
| α -Galaktosidaz | | | | | |
| β -Galaktosidaz | | | | | |
| β -Glukuronidaz | | | | | |
| α -Glukosidaz | | | | | |
| β -Glukosidaz | | | | | |
| N-asetil- β -glukosaminidaz | | | | | |
| α -Mannosidaz | | | | | |
| α -Fukosidaz | | | | | |

Şekil 4.91. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının hücre dışı enzim aktiviteleri

Çizelge 4.20. Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarına ait hücre dışı enzim profile renk skalası

| | <i>Metchnikowia sp.</i> (<i>M. pulcherrima</i>) (R-5) | <i>M. pulcherrima</i> (<i>Metchnikowia sp.</i>) (R-23) | <i>H. uvarum</i> (R-17) | <i>A. pullulans</i> (R-20) | <i>Candida sp.</i> (R-3) |
|--------------------------------|---|--|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Alkalin fosfataz | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Esteraz (C 4) | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Esteraz lipaz (C 8) | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| Lipaz (C 14) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Lösin arilamidaz | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Valin arilamidaz | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Sistin arilamidaz | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Tripsin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α -Kimotripsin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Asit fosfataz | 3 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| Naftol-AS-BI- fosfohidrolaz | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| α - Galaktosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| β - Galaktosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| β - Glukuronidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α - Glukosidaz | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| β - Glukosidaz | 2 | 5 | 5 | 4 | 4 |
| N-asetil- glokozaminidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α - Mannosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| α - Fruktosidaz | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda Çanakkale'nin Gelibolu ilçesinde yer alan Koruköy bölgesindeki bahçelerden 2008 yılında toplanan nar ve ahududu meyvelerinden izole edilerek stoklanan maya suşları kullanılmıştır. Nar meyvesinden 58, ahududu meyvesinden ise 27 maya suşu izole edilmiş ve maya suşlarının koloni oluşturabilen birim (CFU/gr) değerleri hesaplanmıştır. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları için CFU değeri $3.7 \times 10^3 \text{ gr}^{-1}$, ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları için CFU değeri $1.2 \times 10^3 \text{ gr}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bu iki meyvenin maya floraları arasında CFU değerleri bakımından önemli bir yoğunluk farkı olmadığı belirlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında izole edilen maya suşları YPD katı besi ortamında üremeleri sağlanmıştır. Nar meyvesinden izole edilen 58 maya suşu arasında üreme göstermeyen 10 maya suşu çalışmadan çıkarılmıştır. Nar ve ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları morfolojik özelliklerine göre gruplandırılması yapılmıştır. Nar meyvesi için morfolojik olarak 8, ahududu meyvesi içinse 5 farklı grup elde edilmiştir (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2). Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen ve morfolojik özelliklerine göre yapılan gruplardan birer maya suşu API ID32 (Analytical Profile Index) identifikasyon kiti kullanılarak tanımlamaları yapılmıştır. Buna göre nar meyvesinden izole edilen 6 maya suşu (P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53, P-55a) *M. pulcherrima* olarak, 24 maya suşu (P-1, P-3, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-12, P-14, P-15, P-20, P-24, P-25b, P-26, P-27, P-29, P-30, P-31, P-32, P-33, P-34, P-35, P-41 ve P-42) *Cryptococcus sp.* olarak, 14 maya suşu (P-8, P-11, P-23, P-55b, P-36, P-37, P-38, P-39, P-44, P-45, P-46, P-50, P-51, P-52) *Hanseniaspora sp.*, olarak ve bir maya suşu da (P-18) *Kluyveromyces sp.* olarak tanımlandı. Ancak P-19, P-22 ve P-21 maya suşları API ID32C kit sistemi kullanılarak tanımlanamamıştır. Benzer şekilde ahududu meyvesinden izole edilen 14 maya suşu (R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24 ve R-26) *M. pulcherrima* maya türü, 9 maya suşu (R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19, R-20, R-22 ve R-23) *Hanseniaspora sp.*,maya türü, 3 maya suşu (R-3, R-6 ve R-25) *Candida sp.*maya türü olarak tanımlanırken, bir maya suşu (R-21) API-ID32C kit sistemiyle tanımlanamamıştır. Elde edilen sonuçlara göre API-ID32C kit sistemi ve morfolojik özellikleri kullanılarak maya suşlarının tür tanımlama yöntemlerinin cins bazında sonuçlar verdiği anlaşılmıştır. Ayrıca, kit sisteminin pahalı olması ve maya türlerinin tanımlanmasında hatalı sonuçlar vermesi gibi nedenlerden dolayı moleküler yöntemler

maya türlerinin tanımlanmasında kullanılmaya başlanmıştır. Nitekim moleküler yöntemler daha hızlı ve daha güvenilir sonuçlar verebilmektedir (Pincus ve ark., 2007; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen maya suşlarının tamamının (nar meyvesi için 48, ahududu meyvesi için ise 27 maya suşu olmak üzere 75 maya suşu) genomik DNA izolasyonları yapılmış ve ITS1-5.8 rDNA-ITS2 bölgesi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primerleri kullanılarak PCR amplifikasyonları yapılmıştır (Sherman ve ark., 1986; White ve ark.,1990). PCR amplifikasyonu sonrasında elde edilen bant büyüklüklerine göre yeniden gruplandırılmıştır. Nar meyvesinden izole edilen maya suşları PCR bant büyüklüklerine göre 4 farklı grup (~400bp, ~650bp, ~700bp ve ~800bp), ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları ise 3 farklı grup (~400bp, ~650bp, ve ~800bp) elde edilmiştir. PCR amplifikasyonu ve morfolojik özellikler kullanılarak yapılan grupta nar meyvesinden izole edilen maya suşlarının olası tür sayısı 11, ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının olası tür sayısı ise 7 olarak belirlenmiştir.

Morfolojik ve PCR amplifikasyon sonuçları kullanılarak yapılan gruplandırmalarda tür tanımlama yapmak mümkün olmayıp yalnızca olası farklı tür sayısı belirlenebilir. Gomez ve arkadaşları 2010 yılında bazı maya türlerini sadece moleküler yöntemlerle doğru bir şekilde tanımlanabileceğini belirtmişlerdir (Gomez ve ark., 2010). Bununla birlikte, Chain Chang ve arkadaşları da (2005) yaptıkları çalışma sonucunda ITS bölgelerinin identifikasyonda kullanılmasıyla geleneksel yöntemlere göre daha avantajlı ve doğru sonuçlar edildiğini göstermiştir. (Chain Chang ve ark., 2005). Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda her bir gruptan grubu temsilen bir maya suşu seçilerek ITS1 5.8S rDNA-ITS2 bölgesinin DNA dizi analizi yapılması planlanmıştır. Ancak fazla maya suşu içeren grupta tek bir maya örneğinin DNA dizileme yöntemiyle türünün tespit edilmesi, grupta bulunan diğer maya suşlarının da aynı tür olduğunu kesin olarak göstermemektedir. 1998 ve 1999 yıllarında yapılan çalışmalarda ITS bölgelerin ve 5.8S rDNA bölgelerinin RFLP analizi sonucunda maya suşlarının tür seviyesinde tanımlanabilmesi için RFLP analizlerinin faydalı olacağı vurgulanmıştır (Guillamon ve ark., 1998; Esteve-Zarzoso ve ark., 1999). Bu nedenle dizi analizinde kullanılmak üzere en uygun maya suşunu minimum yanılma olasılığı ile seçebilmek için izole edilen maya suşlarına PCR-RFLP analizi yapılmıştır. PCR ürünlerinin 5 farklı (*Hinf*I, *Hae*III, *Msp*I, *Alu*I ve *Hha*I) restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucunda elde edilen her grupta (nar meyvesi için 12, ahududu

meyvesi için 7) farklılık gösteren maya suşları seçilerek ITS1 5.8S rDNA-ITS2 bölgesinin DNA dizi analizi yaptırılmıştır. ITS1 5.8S rDNA-ITS2 bölgesine ait DNA dizileri BLAST programı kullanılarak maya suşlarının tür tanımlaması yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda nar meyvesinde 19 maya suşu (P-1, P-4, P-5, P-6, P-7, P-9, P-11, P-12, P-14, P-15, P-19, P-22, P-26, P-26, P-30, P-31, P-39, P-41, P-42) *Cr. bestiolae*, 11 maya suşu (P-8, P-23, P-36, P-37, P-38, P-44, P-46, P-50, P-51, P-52, P-55b) *H.uvarum*, 7 maya suşu *C. zeylanoides*, 7 maya suşu (P-21, P-25a, P-47, P-48, P-49, P-53 ve P-55a) *Metschnikowia sp.*, 3 maya suşu (P-3, P-24 ve P-27) *A. pullulans* ve bir maya suşu (P-18) *K. lactis* maya türü olarak tanımlanmıştır. Bu maya suşlarından P-25a ve P-48 maya suşları pulcherrimin pigment sentezinin varlığından dolayı *M. pulcherrima* türü olarak tanımlandı. Ancak P-21 maya suşunda gerek pigment sentezinin olmayışı gerekse morfolojik olarak diğer maya suşlarından ayrıldığı için *Metschnikowia sp.* olarak bırakıldı. Çalışmamız sonucunda nar meyvesi yüzeyinden ise 6 farklı maya türü izole edilmiştir. Nar meyvesinin yüzey florasında yer alan *Cr. bestiolae* maya türü %39.5 oranla en yoğun olarak bulunan tür olduğu tespit edilmiştir. Diğer maya türleri için ise sırasıyla *H.uvarum* ve *Metschnikowia sp* maya türü %22, *C. zeylanoides* maya türü %14.5, *A. pullulans* maya türü %6.25 ve *K. lactis* maya türü ise %2 oranında dağılım gösterdiği belirlenmiştir.

Ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının PCR-RFLP analizleri sonucunda farklılık gösteren maya suşları ITS1 5.8S rDNA-ITS2 bölgesinin DNA dizi analizi yaptırılmak üzere seçilmiştir. Maya suşlarına ait DNA dizilerinin BLAST analizi sonucunda ahududu meyvesinden 5 farklı maya suşu tanımlanmıştır. Ahududu meyvesinden izole edilen 14 maya suşu (R-1, R-2, R-4, R-5, R-7, R-8, R-9, R-10, R-12a, R-13, R-14, R-15, R-24 ve R-26) *Metschnikowia sp.*, 7 maya suşu (R-11, R-12b, R-16, R-17, R-18, R-19, R-21) *H. uvarum*, 3 maya suşu *Candida sp*, 2 maya suşu (R-20 ve R-22) *A. pullulans*, ve bir maya suşu da (R-23) *M. pulcherrima* maya türü olarak tanımlandı. R-5 ve R-7 maya suşları ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre *Metschnikowia sp.* olarak belirlenmiş, ancak bu maya suşları pulcherrimin pigment sentezinin varlığından dolayı *M. pulcherrima* türü olarak tanımlanmıştır. R-23 maya suşu dizi analizi sonrası *M. pulcherrima* türü ile yüksek benzerlik göstermesine rağmen morfolojik olarak *M. pulcherrima* türüne özgü pulcherrimin pigment sentezinin olmadığı görülmüştür. R-3 ve R-6 maya suşları restriksiyon profillerine göre farklı grupta yer almasına rağmen dizi analizi sonrasında aynı cinsin (*Candida sp.*) bireyleri olduğu, belirlenmiştir. R-17 (*H. uvarum*) ve R-20 (*A. pullulans*) maya suşları gerek PCR-RFLP

analizi sonrasında gerekse dizi analizi sonrasında farklı türlerin bireyleri olduğu gözlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda ahududu meyvesinin yüzey florasında *M. pulcherrima* maya türünün %52 oranla hakim olduğu belirlenmiştir. Diğer maya suşları ise sırasıyla, %26 oranıyla *H. uvarum*, %11.1 oranıyla *Candida sp.*, %7.4 oranıyla *A. pullulans* ve %3.7 oranıyla *Metschnikowia sp.* maya türleri ahududu meyvesinin maya florasını oluşturmaktadır.

Çalışmamız sonucunda restriksiyon profillerine göre farklı gruplarda yer alan bazı maya suşlarının DNA dizi analizleri sonucunda aynı türe ait bireyler olduğu, dizi analizi sonucunda aynı tür olarak tanımlanan maya suşlarının ise morfolojik olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu şekilde oluşan karışıklıkların önlenmesi için, bilim insanları tarafından yürütülen çalışmalar sonucunda elde edilen DNA dizilerinin veritabanlarına (örneğin, NCBI-GenBank vb.) doğru bir şekilde girilmesi gelecekte yapılması planlanan çalışmalar için daha güvenilir sonuçların elde edilmesine olanak sağlayacaktır.

Araştırmamızda nar ve ahududu meyvelerinden izole edilerek tanımlanan maya türleri incelendiğinde, *M. pulcherrima*, *A. pullulans*, ve *H. uvarum* türlerinin hem nar hem de ahududu meyvelerinde ortak olarak bulunduğu gözlemlenmiştir. Nar meyvesinden izole edilen *K.lactis* türü süt ve süt ürünlerinde yoğun olarak bulunduğundan nar meyvesinde bulunması kontaminasyon olma ihtimalini doğurmaktadır. Çalışmalarımız sonucunda tanımlanan maya türlerinden *M. pulcherrima*, maya türü biyokontrol ajanı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bazı meyvelerde (elma, şeftali ve üzüm) hasat sonrası ortaya çıkan patojenler ve özellikle de *Botrytis cinerea* türünün neden olduğu hastalıklara karşı koruyucu özellik göstermektedir (De Curtis ve ark., 1996; Piano ve ark., 1997; Spadaro ve ark., 2002). *Candida sp.* cinsine ait türler klinik olarak önemli bir mayalardır. Bu cinse dahil olan maya türlerinin çoğu fırsatçı patojen olarak bilinmektedir. Özellikle insan vücudunda çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Ayrıca insan ve hayvanların üst solunum yollarını, genital ve gastrointestinal bölgelerle cilt yüzeylerini doğal yaşam alanı olarak kullandıkları bilinmektedir (Diekema ve ark., 2004). Bu cinse ait patojen türler arasında *C. albicans* türü en yaygın olarak bilinen türdür. *A. pullulans* türü ise çok değişik yaşam alanlarına sahip olup çevre kirliliği için indikatör olarak kullanılmaktadır (Deshpande ve ark., 1992). Ayrıca pullulan adı verilen bir hücre dışı polisakkarit sentezleyebilmektedir (Bernier ve ark., 1958; Sena ve ark., 2006) Pullulan molekülü gıdadan eczacılığa kadar çok geniş bir alanda kullanılmaktadır. Örneğin pullulan kullanarak üretilen ticari kapsüller

diyabet hastalarında, diyet uygulanan hastalarda ve vejeteryanlar tarafından kullanılmaktadır. (Cheng ve ark., 2011).

Son yıllarda endüstriyel enzimlerle ilişkili mikroorganizmalar biyoteknolojik kaynak olarak kullanılmaya başlamıştır (Bilinski ve Stewart, 1990; Burden ve Eveleigh, 1990; De Mot, 1990; Ratledge ve Tan, 1990). Bu alanda yapılan çalışmaların temelinde şarap üretiminde önemi olan mayalar bulunmaktadır. Buna karşılık çevresel kaynaklı mayaların enzim üretimiyle ilgili yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır (Burden ve Eveleigh, 1990; Rosi ve ark., 1994; Charoenchai ve ark., 1997; Strauss ve ark., 2001). Bu nedenle çalışmalarımız kapsamında nar ve ahududu meyvesinden izole edilen maya suşlarının hidrolitik enzim aktiviteleri API-ZYM test sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Nar ve ahududu meyvelerinden izole edilen ve ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre tanımlanarak oluşturulan gruplardan seçilen üç maya türünün API ZYM test sistemi kullanılarak hücre dışı enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Nar meyvesinden izole edilen ve *Cr. bestiolae* olarak tanımlanan P-19 ve P-30 maya suşları ve *H. uvarum* türü olarak tanımlanan P-23 ve P-36 maya suşlarında iki farklı enzim profili belirlenmiştir. P-19 ve P-30 maya suşları için β -galaktosidaz, lösin arilamidaz, naftol-AS-BI-fosfohidrolaz, alkalın fosfataz enzim aktivitelerinin, P-23 ve P-36 maya suşları için ise alkalın fosfataz, β -glukosidaz, esteraz, asit fosfataz ve naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzim aktiviteleri farklılık göstermiştir. *C. zeylanoides*, *Metschnikowia sp (M. pulcherrima)* ve *A. pullulans* türlerinde ise kendi içinde bir farklılık gözlenmemiştir. *Metschnikowia sp (M. pulcherrima)*(P-25a) maya türünde lösin arilamidaz enzim aktivitesini yüksek olduğu, *A. pullulans* (P-24) maya türünde ise esteraz ve esteraz lipaz enzim aktiviteleri diğer enzimlere göre yüksek aktivite gösterdiği anlaşılmıştır. *K. lactis* (P-18) maya türünde ise yüksek alkalın fosfataz, lösin arilamidaz, asit fosfataz ve naftol-AS-BI-fosfohidrolaz ve valin arilamidaz aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.

Ahududu meyvesinden izole edilen ve ITS1-5.8S rDNA-ITS2 DNA bölgesinin dizi analizi sonuçlarına göre tanımlanarak oluşturulan gruplardan seçilen üç maya türünün API ZYM test sistemi kullanılarak hücre dışı enzim aktiviteleri belirlenmiştir. *H. uvarum*, *A. pullulans*, *Metschnikowia sp (M. pulcherrima)* ve *Candida sp.* maya türlerini temsilen seçilen maya suşlarının hücre dışı enzim aktiviteleri kendi içlerinde farklılık göstermemiştir. Ayrıca DNA dizi analizleri sonucunda *M. pulcherrima* olarak tanımlanan ancak morfolojik olarak diğer *Metschnikowia* türlerine benzemeyen R-23 maya suşunun enzim profili diğer *M. pulcherrima* türlerinden farklılık göstermiştir. Ahududu meyvesinden

izole edilerek tanımlanan maya türlerinde yüksek lözin arilamidaz ve β -glukosidaz aktivitesi gözlenirken, düşük asit fosfataz aktivitesi gözlemlenmiştir. Araştırmalarımız sonucunda yüksek aktivite gösteren enzimlerden arilamidaz enzimleri proteolitik bir enzim olup aminoasitlerin, peptitlerin N ucunu hidroliz etmektedir (Dodor ve Tabatabai, 2007). Fosfataz enzimleri ise pH durumuna göre asit ve alkalın fosfataz olarak iki gruba ayrılmaktadır. Ayrıca bu enzimler fosfat esterlerin karbon, hidrojen ve fosfat bağlarını hidroliz etmektedir. Esteraz ve lipaz enzimleri yağlardaki ester bağlarının koparılmasında görevlidir. (Karasu-Yalçın, 2012). Ayrıca sistin, lözin ve valin arilamidaz, alkali fosfataz, naftol-AS-BI-fosfohidrolaz, α ve β -glukozidaz enzimlerinin şarap üretiminde önemli rolleri olduğu bilinmektedir (Delfini ve Formica, 2001; Nikolaou ve ark., 2006; Nikolaou ve ark., 2007).

Elde edilen sonuçlar hücre dışı enzim profillerinin aynı maya türünün bireyleri arasında da farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Garcia-Martos ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Cryptococcus* cinslerine ait 11 maya suşunun enzim profili belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar incelendiğinde *Cr. laurentii* ve *Cr. neoformans* türlerinin kendi içinde farklı enzim profiline sahip olduğu görülmüştür (Garcia-Martos ve ark., 2001). Bu yüzden API ZYM ile test edilen her enzim aktivitesinin biyokimyasal olarak test edilmesi gerekmektedir. Enzim aktivitesinin miktarı maya suşları arasında farklılık gösterebilir. Ancak bir türe ait enzim aktivitesinin aynı türün diğer bireyinde bulunmaması türlerin tanımlanmasında kullanılan bazı biyokimyasal testlerin tek başına tür tanımlaması için yeterli olmadığını göstermektedir. Ancak klinik olarak önemli olan aynı türe ait bireyler arasındaki enzim profilindeki farklılık epidemiyolojik olarak belirleyici olabilir (Garcia-Martos ve ark., 2001).

Sonuç olarak, mayaların gıda, endüstri, tıp ve eczacılık gibi birçok alanda kullanılıyor olması bu mikroorganizmaların önemini de arttırmaktadır. Ayrıca genetik olarak kolay müdahale edilebilir olması nedeniyle mayalar ökaryotik canlılar için model organizma olarak kullanılmaktadır. Özellikle klinik alanlarda önemli olan maya türleri olmak üzere, diğer alanlarda endüstride; şarap üretimi, sirke yapımı, bira üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca mayaların hücre dışı hidrolitik enzimleri özellikle şarap, bira üretiminde aromaların oluşmasında katkı sağlamaktadır. Bu bağlamda mayaların çeşitli yöntemlerle identifikasyonları çok uzun zamandan bu yana yapılmaktadır. Maya identifikasyonu klasik (biyokimyasal, morfolojik ve fizyolojik özellikler) yöntemler, ticari tanımlama kitleri ve moleküler identifikasyon yöntemleriyle yapılmaktadır. Yapılan

çalışmalar göstermiştir ki, moleküler identifikasyon yöntemleri diğer klasik ve biyokimyasal yöntemlere göre daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Örneğin 2005 yılında yapılan bir çalışmada klinik önemi olan 373 maya suşu hem klasik hem de moleküler yöntemler kullanılarak tür tanımlamaları yapılmış ve bu yöntemlerin güvenilirlikleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda moleküler yöntemlerin daha güvenilir olduğunu göstermiştir (Chain Chang ve ark., 2005). Özellikle klinik olarak önemli olan maya türlerinin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanması büyük önem arz etmektedir. Günümüzde halen klinik olarak önemli maya suşlarının tanımlanmasında kit sistemleri kullanılmaktadır. Fakat kit sistemiyle yapılan tür tanımlamasının güvenilirliği de kesin değildir (McGinnis, 1982; Spencer ve ark., 2011). DNA temelli tanımlama yöntemleri ise geleneksel yöntemlere (morfolojik ve fizyolojik) göre daha hassas ve spesifiktir (Daek, 1995). Her ne kadar moleküler tanımlama yöntemleri daha güvenilir olsa da klasik ve biyokimyasal metodlarla birlikte kullanılması daha doğru olacaktır. Çünkü klinik alanda yapılan bir maya izolasyonu ve identifikasyonunda bu maya türünün virulansının bilinmesi, fizyolojik ve morfolojik özelliklerinin bilinmesi yeni vakalarda çalışmalarını daha da hızlandıracaktır. Endüstriyel alanda ise, mayaların biyokimyasal özellikleri, enzim üretme kapasiteleri ve fizyolojik özellikleri, doğru zamanda doğru maya türünün kullanılmasına olanak sağlayacaktır. Bu nedenlerle çalışmamız sonucunda kit sistemi ve klasik yöntemlerin yanında moleküler tanımlama yöntemlerinin kullanılması daha spesifik sonuçlar elde edilebilmesi için önemlidir.

KAYNAKLAR

- Akçalı A., 2008. Genetik Kodların Uluslararası Paylaşımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65 (3): 109-110.
- Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer 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.
- Altschul S.F., Gish W., Miller, W., Myers E.W., Lipman D.J., 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403 – 410.
- Arda M., 1990. *Biyoteknoloji*. A. Ü. Veterinerlik Fak. Mikrobiyoloji A.B.D. Kükem Yayınları, 1: 189.
- Babjeva I., Reshetova I., 1998. Yeast Resources in Natural Habitats at Polar Circle Latitude. *Food Technology and Biotechnology*, 36 (1) : 1-5.
- Baleiras-Couto M. M., van der Vossen J.M.B.M., Hofstra H., Huis in't Veld, J.H.J., 1994. RAPD Analysis: A Rapid Technique for Differentiation of Spoilage Yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 24: 249–260.
- Baleiras-Couto M.M., Eijma B., Hofstra H., Huis in't Veld J.H.J., van der Vossen J.M.B.M., 1996. Evaluation of Molecular Typing Techniques to Assign the Genetic Diversity Among *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Applied Environmental Microbiology*, 62(1): 41– 46.
- Barnett J.A., Payne R. W., Yarrow D., 1990. *Yeasts: Characteristics and Identification* (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D., 2000 *Yeasts: Characteristics and Identification*, (3rd ed.). Cambridge, Cambridge University Press.
- Belloch C., Barrio E., Uruburu F., García D. D., Querol A., 1997. Characterization of Four Species of the Genus *Kluyveromyces* by Mitochondrial Analysis. *Systematic and Applied Microbiology*, 20: 397-408.
- Bernier B., 1958. The Production of Polysaccharides by Fungi Active In The Decomposition of Wood and Forest Litter. *Canadian Journal of Microbiology*, 4 (3): 195–204.
- Bilinski C.A., Stewart G.G., 1990. Yeasts Proteases and Brewing. In: Verachtert H. and De Mot R. Eds. *Yeast Biotechnology and Biocatalysis*, Marcel Dekker, New York 147–162.

- Bruns T. D., Vilgays T. J., Taylor J. W., 1991. Fungal Molecular Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22: 525-564.
- Burden D.W., Eveleigh D.E., 1990. Yeasts - Diverse substrates and products. In: Spencer J.F.T. and Spencer D.M. Eds. *Yeast Technology*, Springer-Verlag, Berlin. 199–227.
- Cai, J., Roberts I. N., Collins D., 1996. Phylogenetic Relationships Among Members of the Ascomycetous Yeast Genera *Brettanomyces*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, and *Kluyveromyces* Deduced by Small Subunit rRNA Gene Sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46: 542-549.
- Cardenes C.D., Carrillo A.J., Arias A, 2002. Comparison of Albicans ID2 Agar Plate with The Germ Tube for Presumptive Identification of *Candida albicans*. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 42: 181-185.
- Chang T.C., Leaw S.N., Chang H. C., Sun H.F., Barton R., Bouchara J.P., 2005. Identification of Medically Important Yeast Species by Sequence Analysis of The Internal Transcribed Spacer Regions. *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (3): 693-699.
- Charoenchai C., Fleet G.H., Henschke P.A., Todd B.E.N., 1997. Screening of Non-Saccharomyces Wine Yeasts for The Presence Of Extracellular Hydrolytic Enzymes. *Australian Journal of Grape Wine Research*, 3: 2–8.
- Chen Y.C., Eisner J.D., Kattar M.M., Rassouljian-Barrett S.L., LaFe K., Yarfitz S.L., Limaye A.P., Cookson B. T., 2000. Identification of Medically Important Yeasts Using PCR-Based Detection of DNA Sequence Polymorphisms in the Internal Transcribed Spacer 2 Region of the rRNA Genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 2302–2310.
- Cheng C. K., Demirci A., Catchmark M.J., 2011. Pullulan: Biosynthesis, Production, and Applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 92: 29–44.
- Clemente-Jimenez J.M., Mingorance-Cazorla L., Martinez-Rodriguez S., Las Heras-Vazquez F.J., Rodriguez-Vico F., 2004. Molecular Characterization and Oenological Properties of Wine Yeasts Isolated During Spontaneous Fermentation of Six Varieties of Grape Must. *Food Microbiology*, 21: 149–155.
- Combina M., Mercado L., Borgo P., Elia A., Jofré V., Ganga A., Martinez C., Catanis C., 2005. Yeasts Associated to Malbec Grape Berries from Mendoza, Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 98: 1055–1061.

- Couto M.M.B., Vossen J.M.B.M., Hofstra H., Huis Veld J.H.J., 1994. RAPD Analysis: A Rapid Technique for Differentiation of Spoilage Yeasts. *Intern. J. Food Microbiol.*, 24(1-2): 249-260.
- Dağcı K.E., Dığrak M., 2005. Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8 (2): 1-7.
- De Curtis, E., Torriani S., Rossi E., De Cicco V., 1996. Selection and Use of *Metschnikowia Pulcherrima* as A Biological Control Agent for Postharvest Rots of Peaches and Table Grapes. *Ann. Microbiol. Enzymol.*, 46: 45–55.
- De Mot R., 1990. Conversion of Starch by Yeasts. In: Verachtert H. and De Mot R. Eds. *Yeast Biotechnology and Biocatalysis*, Marcel Dekker, New York 163-222.
- Deak T., Beuchat L. R., 1996. *Handbook of Food Spoilage Yeasts*. Boca Raton, FL: CRC Press. USA.
- Deak T., 1995. Methods for the Rapid Detection and Identification of Yeasts in Foods. *Trends in Food and Science Technology*, 6: 287-292.
- Delfini C., Formica J. V., 2001. Wine Microbiology Science and Technology. Marcel Dekker Inc., Italy. 490 p.
- Deshpande M.S., Rale V.B., Lynch J.M., 1992. *Aureobasidium pullulans* In Applied Microbiology: A Status Report. *Enzyme Microbiol Technol.*, 14: 514–527.
- Diekema D.J., Messer R.J., Hollis R., Jones N., Pfaller M.A., 2004. Nosocomial Candidemia: An Ounce of Prevention Is Better Than A Pound of Cure. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 25: 624–626.
- Dodor D.E., Tabatabai M.A., 2007. Arylamidase Activity As an Index of Nitrogen Mineralization in Soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 8: 2197-2207.
- Duarte W.F., Dragone G., Dias D.R., Oliveira J.M., Teixeira J.A., Almeida e Silva J.B., Schwan R.F., 2010. Fermentative Behavior of *Saccharomyces* Strains During Microvinification of Raspberry Juice (*Rubus idaeus* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 143: 173–182.
- Esteve-Zarzoso B., Belloch C., Uruburu F., Querol A., 1999. Identification of Yeasts by RFLP Analysis of the 5.8S rRNA Gene and the Two Ribosomal Internal Transcribed Spacers. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49: 329–337.

- Evans D. G., Everis L. K., Betts G. D., 2004. Use of Survival Analysis and Classification and Regression Trees to Model the Growth/ No growth Boundary of Spoilage Yeasts as Affected by Alcohol, pH, Sucrose, Sorbate and Temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 92: 55–67.
- Freydiere A. M., Guinet R., Boiron P., 2001. Yeast Identification in the Clinical Microbiology Laboratory: Phenotypical Methods. *Medical Mycology*, 39: 9–33.
- Fromtling R. A., Rhodes J. C., Dixon D. M., 2003. Taxonomy, Classification, and Morphology of the Fungi. In: Murray P. R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover K. C. Eds. *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed.). ASM Press, Washington, D.C. 1653–1658.
- Garcia-Martos P., Marin P., Hernandez-Molina J.M, Garcia-Agudo L., Aoufi S., Mira J., 2001. Extracellular Enzymatic Activity in 11 Cryptococcus Species. *Mycopathologia*, 150: 1-4.
- Gomez-Lopez A., Cendejas-Bueno E, Mellado E., Rodriguez-Tudela J. L., Cuenca-Estrella M., 2010. Identification of Pathogenic Rare Yeast Species in Clinical Samples: Comparison Between Phenotypical and Molecular Methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (5) :1895–1899.
- Gonzalez S.S., Barrio E., Querol A., 2006. Molecular Identification and Characterization of Wine Yeasts Isolated from Tenerife (Canary Island, Spain). *Journal of Applied Microbiology*, 102 :1018–1025.
- Göktaş A., 2011. Ahududu ve Böğürtlen Yetiştiriciliği. Isparta Meyvecilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Yayın No: 38.
- Gölükcü M., Tokgöz H., Kıralan M., 2007. Ülkemizde Yetiştirilen Önemli Nar (*Punica granatum*) Çeşitlerine Ait Çekirdeklerin Bazı Özellikleri ve Yağ Asidi Bileşimleri. Tübitak, Proje No: 106O265.
- Guillamon J.M., Barrio E., Huerta T., Querol A., 1994. Rapid Characterization of Four Species of the *Saccharomyces sensu stricto* Complex According to Mitochondrial DNA patterns. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44: 708-714.
- Guillamon J.M., Sanchez I., Huerta T., 1997. Rapid Characterization of Wild and Collection Strains of the Genus *Zygosaccharomyces* According to Mitochondrial DNA Patterns. *FEMS Microbiological Letters*, 147: 267-272.
- Guillamon J.M., Sabate J., Barrio E., Cano J., Querol A., 1998. Rapid Identification of Wine Yeast Species Based on RFLP Analysis of the Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Region. *Archives of Microbiology*, 169: 387–392.

- Haley L.D., 1971. Identification of Yeasts in Clinical Microbiology Laboratories, *Am. J. Med. Technol.*, 37(4): 125.
- Han X.Y., Tarrand J.J., Escudero E., 2004. Infections by the Yeast *Kodomaea (Pichia) ohmeri*: Two Cases and Literature Review. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 23: 127–130.
- Hierro N., Gonzalez A., Mas A., Guillamon J.M., 2004. New PCR-Based Methods for Yeast Identification. *Journal of Applied Microbiology*, 97 : 792–801.
- Hopkins J.M., Land G.A., 1977. Rapid Method for Determining Nitrate Utilization by Yeasts. *J. Clin Microbiol.*, 5: 497-500.
- Ibeas J.I., Lozano I., Perdignes F., Jimenez I., 1997. Dynamics of Flor Yeast Populations During the Biological Aging of Sherry Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48: 75-79.
- James S.A., Collins M.D., Roberts I.N., 1996. Use of an rRNA Internal Transcribed Spacer Region to Distinguish Phylogenetically Closely Related Species of the Genera *Zygosaccharomyces* and *Torulasporea*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46: 189-194.
- Johnson M., Zaretskaya I., Raytselis Y., Merezhuk J., McGinnis A., Madden T.L., 2008. NCBI BLAST: A Better Web Interface. *Nucleic Acids Res.*, 36: 5-9.
- Johnston M., Hillier L., Riles L., Albermann K., André B., Ansorge W., Benes V., Brückner M., Delius H., Dubois E., Düsterhöft A., Entian K. D., Floeth M., Goffeau A., Hebling U., Heumann K., Heuss-Neitzel D., Hilbert H., Hilger F., Kleine K., Kötter P., Louis E.J., Messenguy F., Mewes H.W., Hoheisel J.D., 1997. The Nucleotide Sequence of *Saccharomyces cerevisiae* Chromosome XII. *Nature*, (29) 387: 87–90.
- Kalaycıoğlu A.T. 2013. Nükleotit Dizilerinin Aminoasit Formatına Dönüştürülmesi ve Dünyadaki Verilerle Karşılaştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 19 (2):359-363.
- Karabulut E, Karaoğlu E., 2010. Biyoinformatik ve Biyoistatistik. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 41:162-170.
- Karasu-Yalçın S., Senses-Ergül S., Özbaş Y.Z., 2012 Identification and Enzymatic Characterization of The Yeasts Isolated From Erzincan Tulum Cheese. *Mljekarstvo*, 62(1): 53-61.
- Kılıçoğlu M.Ç., Özkoç İ., 2008. Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1):65-72.

- Kreger-van Rij, N. J. W., 1987. *The Yeasts: a Taxonomic Study*, (3rd ed.). Amsteram: Elsevier.
- Kurtzman C. P., Fell I. W., 1998. *The Yeasts - a Taxonomic Study*, (4th ed.). Amsterdam: Elsevier.
- Kurtzman, C. P., 1992. rRNA Sequence Comparisons for Assessing Phylogenetic Relationships Among Yeasts. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42: 1-6.
- Kurtzman, C. P., 1993. Systematics of the Ascomycetous Yeasts Assessed from Ribosomal RNA Sequence Divergence. *Antonie Leeuwenhoek*, 63: 165-174.
- Land G. A., Vinton E. C., Adcock G. B., Hopkins J.M., 1975. Improved Auxanographic Method for Yeast Assimilations: A Comparison with Other Approaches. *Journal Clinical Microbiology*.. 5(2): 206-217.
- Lee B. H., 1996. *Fundamentals of Food Biotechnology*, VCH Publishers, USA, 431 p.
- Lee S. B., Taylor J. W., 1992. Phylogeny of Five Funguslike Protoctistan *Phytophthora* Species, Inferred from the Internal Transcribed Spacers of Ribosomal DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 9: 636-653.
- Li W.H., 1997. *Molecular Evolution*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Lin C.C.S., Fung D.Y.C., 1987. Critical Review of Conventional and Rapid Methods for Yeast Identification. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 14 (4): 273-289.
- Lopandic, K., Prillinger, H., Molndr, O., Gimenez-Jurado, G., 1996. Molecular Characterization and Genotypic Identification of *Metschnikowia* species. *Systematic and Applied Microbiology*, 9: 393-402.
- Lopez V, Querol A, Ramon D, Fernandez-Espinar M. T., 2001. A Simplified Procedure to Analyse Mitochondrial DNA from Industrial Yeasts. *International Journal of Food Microbiology* 68: 75–81.
- Madigan M.T., Martinko, J.M., Parker. J., 2003. *Brock Biology of Microorganisms*, (10th ed.). Pirentice Hall, Pearson Educatin International.
- Mozina S.S., Raspor P., 1996. Molecular Techniques for Yeast Identification in Food Processing. *Food Technol.and Biotechnol.*, 35(1): 55-61.
- Nadal D., Colomer B., Pina B., 1996 Molecular Polymorphism Distribution in Phenotypically Distinct Populations of Wine Yeast Strains. *Applied Environmental and Microbiology*, 62: 1944–1950.
- Ness F., Lavallee F., Dubourdieu D., Aigle M., 1993. *J.Sci. Food Agric.*, 62:89.

- Nikolaou E., Andrighetto C., Lombardi A., Nikolaos T., 2007. Heterogeneity in Genetic and Phenotypic Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* Strains Isolated from Red and White Wine Fermentations. *Food Control*, 18: 1458–1465.
- Nikolaou E., Soufleros E.H., Boulompasi E., Tzanetakis N., 2006. Selection of Indigenous *Saccharomyces cerevisiae* Strains According to Their Oneological Characteristics and Vinification Results. *Food Microbiology*, 23 (3): 205-211.
- Nisiotou A. A., Nychas G.J.E., 2007. Yeast Populations Residing on Healthy or *Botrytis*-Infected Grapes from a Vineyard in Attica, Greece. *Applied and Environmental Microbiology*, 2765–2768.
- Paraphailong W., Fleet G.H., 1997. The Effect of pH, Sodium Chloride, Sucrose, Sorbate and Benzoate on the Growth of Food Spoilage Yeasts. *Food Microbiology*, 14: 459–468.
- Perez L., Martinez P., Codon A.C. Benitez, T., 1995. Physiological and Molecular Characterization of Flor Yeasts: Polymorphisms of Flor Yeast Populations. *Yeast*, 11: 1399-1411.
- Petrocheilou-Pschou V., Prifti H., Kostis E., Papadimitriou C., Dimopoulos M.A, Stamatelopoulos S., 2001. *Rhodotorula septicemia*: Case Report and Minireview. *Clin. Microbiol. Infect.*, 7: 100–102.
- Pevsner J., 2009. *Bioinformatics and Functional Genomics* (2nd ed.). John Wiley & Sons, Inc., 2-11.
- Phaff H.J., Starmer W.T., 1987. Yeasts associated with plants, insects and soil. In: Rose A.H., Harrison J.S. Eds. *The Yeasts*, Vol. I, *Biology of Yeasts*, 2nd edn. Academic Press, London, 123–180.
- Piano S., Neyrotti V., Migheli Q., Gullino M. L., 1997. Biocontrol Capability of *Metschnikowia pulcherrima* Against *Botrytis* Postharvest Rot of Apple. *Postharvest Biol. Technol.*, 11:131–140.
- Pincus D. H., Orenga S., Chatellier S., 2007. Yeast Identification Past, Present, and Future Methods. *Medical Mycology*. 45: 97-121.
- Polat M., Karahan A.G., 2009. Multidisipliner Yeni Bir Bilim Dalı: Biyoinformatik ve Tıpta Uygulamaları, *S.D.Ü Tıp Fakültesi Dergisi* 16 (3): 41-50.
- Querol A., Barrio E., Huerta T., Ramon D., 1992. Molecular Monitoring of Wine Fermentations Conducted by Active Dry Yeast Strains. *Applied Environmental Microbiology*, 58: 2948–2953.

- Querol, A., Ramon, D., 1996. The Application of Molecular Techniques in Wine Microbiology. *Trends Food Sci. Technol.*, 7: 73–78.
- Quesada M.P., Cenis J.L., 1995. Use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)-PCR in the Characterization of Wine Yeasts. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46: 204-208.
- Ratledge C., Tan K.H., 1990. Oils and Fats: Production, Degradation and Utilization by Yeasts. . In: Verachtert H. and De Mot R. Eds. *Yeast Biotechnology and Biocatalysis*, New York: Marcel Dekker 223-254.
- Reynolds D.R. ve Taylor J.W., 1992. *The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics*, International. Newport Oregon, 375 p.
- Rodriguez-Vico F., Clementa-Jimenez J.M., Mingoranza-Cazorla L., Heraz-Vazquez F.J.L., 2003. Identification of Yeast Species From Orange Fruit and Juice by RFLP and Sequence Analysis of The 5.8S rRNA Gene and The Two Internal Transcribed Spacers. *FEMS Yeast Research*, 3:3-9.
- Romano A., Casaregola S., Torre P., Gaillardin C., 1996. Use of RAPD and Mitochondrial DNA RFLP for Typing of *Candida zeylanoides* and *Debaryomyces hansenii* Yeast Strains Isolated from Cheese. *Systematic and Applied Microbiology*, 9: 255-264.
- Rosi I., Vinella M., Domizio P., 1994. Characterization of Beta-Glucanase Activity in Yeasts of Oenological Origin. *Journal of Applied Microbiology*, 77: 519–527.
- Sabaté J., Cano J., Esteve-Zarzoso B., Guillamón J. M., 2002. Isolation and Identification of Yeasts Associated with Vineyard and Winery by RFLP Analysis of Ribosomal Genes and Mitochondrial DNA. *Microbiology Research*, 157: 267–274.
- Sena R.F., Costelli M.C., Gibson L.H., Coughlin R.W., 2006. Enhanced Production of Pullulan by Two Strains of *A. pullulans* with Different Concentrations of Soybean Oil In Sucrose Solution In Batch Fermentations. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23 (4): 507–515.
- Sevda S.B., Rodrigues L., 2011. The Making of Pomegranate Wine Using Yeast Immobilized on Sodium Alginate. *African Journal of Food Science*, 5 (5): 299–304.
- Sherman F., Fink G. R., Hicks J. B., 1986. *Methods in Yeast Genetics*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.
- Spadaro D., Vola R., Piano S., Gullino M.L., 2002. Mechanisms of Action and Efficacy of Four Isolates of The Yeast *Metschnikowia pulcherrima* Active Against Postharvest Pathogens on Apples. *Postharvest Biol. Technol.* 24:123–134.

- Spencer J., Rawling S., Stratford M., Steels H., Novodvorska M., Archer D.B., Chandra S., 2011. Yeast Identification: Reassessment of Assimilation Tests as Sole Universal Identifiers; *Letters in Applied Microbiology*, 53 (5): 503-508.
- Strauss M.L.A., Jolly N.P., Lambrechts M.G., van Resemburg P., 2001. Screening for The Production of Extracellular Hydrolytic Enzymes by Non-Saccharomyces Wine Yeasts. *Journal of Applied Microbiology*, 91: 182–190.
- Swinne D., Watelle M., Suetens C., 2004. A One-Year Survey of Candidemia in Belgium in 2002. *Epidemiol Infect.*, 132: 1175-1180.
- Taschdjian D.L., Burchall J.J., 1960. Rapid Identification of *Candida albicans* by Filmentation of Serum and Serum Substitutes, *Am. J. Dis. Child*, 99- 212.
- Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D.M., Hibbett D.S., Fisher M.C., 2000. Phylogenetic Species Recognition and Species Concept in Fungi. *Fungal Genetic and Biology*, 31: 21-32.
- Tornai-Lehoczki J., Péter G., Dlačny D., 2003. CHROMagar Candida Medium as a Practical Tool for the Differentiation and Presumptive Identification of Yeast Species Isolated from Salads. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 189–200.
- Torok T., Rockhold D., King A. D., 1993. Use of Electrophoretic Karyotyping and DNA-DNA Hybridization in Yeast Identification. *International Journal of Food Microbiology*, 9: 63-80.
- Toscano C.M., Jarvis W.R., 1999. Emerging Issues in Nosocomial Fungal Infections. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 1:347–361.
- Turenne C.Y., Sanche S.E., Hoban D.J., Karlowsky J.A., Kabani A.M., 1999. Rapid Identification of Fungi by Using the ITS2 Genetic Region and an Automated Fluorescent Capillary Electrophoresis System. *Journal of Clinical Microbiology*, 37: 1846–1851.
- Vaughan Martini A., Martini A., 1985. Deoxyribonucleic Acid Relatedness Among Species of the Genus *Saccharomyces sensu stricto*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 35: 508-511.
- Vaughan Martini A., Martini A., 1987. Taxonomic Revision of the Yeast Genus *Kluyveromyces* by Nuclear Deoxyribonucleic Acid Reassociation. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37: 381-385.
- Venema J. ve Tollervey D., 1999. Ribosome Synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annual Reviews of Genetics*, 33: 261-311.

- Versavaud, A., Hallet, I.N., 1995. Pulsed-Field Gel Electrophoresis Combined with Rare-cutting Endonucleases for Strain Identification of *Candida famata*, *Kloeckera apiculata* and *Schizosaccharomyce spombe* with Chromosome Number and Size Estimation of the Two Former. *Systematic and Applied Microbiology*, 8: 303-309.
- Verschoor A., 1998. Three-Dimensional Structure of the Yeast Ribosome. *Nucleic Acids Researches*, 26 (2): 655-61.
- Vidotto V., Leone R., Buonomo S., Nakamura K., Aoki S., 1998. Enzymatic Profile of *Cryptococcus neoformans* Strains by Using The API-ZYM System. *Revista Iberoamericana de Micología*, 15: 136-140.
- Viscoli C., Girmenia C., Marinus A., Collette L., Martino P., Vandercan B., Doyer C., Lebeau B., Spence D., Krcmery V., De Pauw B., Meunier F. and the Invasive Fungal Infection Group of the EORTC. 1999. Candidemia in Cancer Patients: a Prospective Multicenter Surveillance Study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer(EORTC). *Clin. Infect. Dis.*, 28: 1071–1079.
- Walsh T.J., Groll A., Hiemenz J., Fleming R., Roilides E., Anaissie E., 2004. Infections Due to Emerging and Uncommon Medically Important Fungal Pathogens. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10 (1): 48–66.
- Walt J.P., Yarrow D., 1984. Methods for the Isolation, Maintenance, Classification. and Identification of Yeasts. In: Kreger van Rij N.J.W., Ed., *The Yeasts-a Taxonomic Study* (3rd ed.), Elsevier, Amsterdam. 45 p.
- Wang Q., Laamanen J., Uosukainen M., Valkonen Jari P.T., 2005 Cryopreservation of *In Vitro*-Grown Shoot Tips of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) by Encapsulation–Vitrification and Encapsulation–Dehydration. *Cell Biology and Morphogenesis, Plant Cell Rep.*, 24: 280–288.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J.J., White T.J., Eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, California, USA. 315-322 p.
- Wickerham L.J. 1943. A Simple Technique for The Detection of Melibiose-Fermenting Yeasts. *Journal of Bacteriology*. 46: 501-505.
- Wickerham L.J., Burton K.A., 1948. Carbon Assimilation Tests for The Classification of Yeasts. *Journal of Bacteriology.*, 56: 363-371.

- Yalçın T.H., Kartal F., Çorbacı C., 2014. Production and Partial Purification of Extracellular Lipase Produced by A Novel Yeast Strain *Candida odintsovae* TY42. *Turkish Journal of Biochemistry–Turk. J Biochem.*, 39(3):351–356.
- Zott K., Miot-Sertier C., Claisse O., Lonvaud-Funel A., Masneuf-Pomarede I., 2008. Dynamics and Diversity of Non-Saccharomyces Yeasts During the Early Stages in Winemaking. *International Journal of Food Microbiology*, 125: 197–203.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Melih GÜNAY

Doğum Yeri : İstanbul

Doğum Tarihi : 13.06.1982

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi :

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi/Biyoloji Bölümü (Haziran-2004)

Yüksek Lisans Öğrenimi :

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji
A.B.D., 2015.

Bildiği Yabancı Diller :

İngilizce (C-1, Avrupa Ortak Dil Çerçevesi Portfolyosu)

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

1. Melih GÜNAY, Tülay Turgut Genç, 2013. Ahududu Meyvesinden Non-Saccharomyces Maya Türlerinin İzolasyonları ve Moleküler İdentifikasyonları. XI. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, O.M.U., Denizli, 1-4 Ekim 2013 (Poster Sunumu).
2. Tülay Turgut Genç, Melih GÜNAY, 2014. Nar Meyvesinden İzole Edilen Non-Saccharomyces Maya Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, O.G.U., 23-27 Haziran 2014 (Poster Sunumu).
3. Tülay Turgut Genç, Melih GÜNAY, 2014. Ahududu Meyvesindeki Maya Florasının RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, O.G.U., 23-27 Haziran 2014 (Poster Sunumu).

c) Katıldığı Projeler

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

Ezine Erişen FEM Dershanesi / Biyoloji Öğretmeni/2014-2015

Çanakkale ÇAĞKENT Eğitim Kurumları / KPSS Biyoloji ÖABT Öğretmeni/2014-

Çanakkale İhtiyaç Akademi/KPSS Biyoloji ÖABT Öğretmeni / 2013-2014 Eğitim Yılı

Çanakkale Sınav Dergisi Dershanesi/Biyoloji Öğretmeni / 2011-2013

İstanbul Çatalca Sınav Dergisi Dershanesi/Biyoloji Öğretmeni / 2010-2011

İstanbul Beylikdüzü Sınav Dergisi Dershanesi/Biyoloji Öğretmeni / 2007-2010

İLETİŞİM

E-posta Adresi : melihgunay@comu.edu.tr