T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MARMARA VE EGE BÖLGELERİNDEKİ BAZI İLLERİN NADASA BIRAKILMIŞ TARLA TOPRAKLARINDA BULUNAN ISIYA DAYANIKLI *PAECILOMYCES* BAİNİER 1907 VE YAKIN CİNSLERİNE AİT İZOLATLARIN POLİFAZİK TAKSONOMİSİ

GOULSOUM OUZEİR

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burhan ŞEN

EDİRNE-2025

Goulsoum OUZEİR'in hazırladığı **"Marmara ve Ege Bölgelerindeki Bazı İllerin Nadasa Bırakılmış Tarla Topraklarında Bulunan Isıya Dayanıklı *Paecilomyces* Bainier 1907 ve Yakın Cinslerine Ait İzolatların Polifazik Taksonomisi"** başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Biyoloji** Anabilim Dalında bir **Doktora tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Prof. Dr. Burhan ŞEN	……
Prof. Dr. Nükhet Nilüfer Demirel ZORBA	……
Prof. Dr. Ahmet ASAN	……
Doç. Dr. Halide KARABIYIK	……
Dr. Öğr. Üyesi Gülçin ÖZCAN ATEŞ	……

Tez Savunma Tarihi: 04/07/2025

Bu tezin Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Burhan ŞEN

Tez Danışmanı ……

Prof. Dr. Rasime DEMİREL ……

İkinci Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

……

Doç. Dr. Filiz UMAROĞULLARI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T. Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

04 /07 / 2025

Goulsoum OUZEİR

Doktora Tezi

Marmara ve Ege Bölgelerindeki Bazı İllerin Nadasa Bırakılmış Tarla Topraklarında Bulunan Isıya Dayanıklı *Paecilomyces* Bainier 1907 ve Yakın Cinslerine Ait İzolatların Polifazik Taksonomisi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışma, Türkiye'nin Marmara (Edirne, İstanbul, Sakarya ve Yalova) ve Ege (Kütahya, Afyonkarahisar, Uşak, İzmir ve Muğla) bölgelerinde yer alan 9 ildeki 36 toprak örneği üzerinde gerçekleştirilmiş ve tarım topraklarında bulunan ısıya dayanıklı *Paecilomyces* ve yakın cinslerinin varlığı ile biyoçeşitliliğini konvansiyonel ve moleküler yöntemler kullanılarak açığa çıkarmayı hedeflemiştir.

Türkiye, coğrafi konumu nedeniyle toprak biyoçeşitliliği açısından son derece zengin bir ülkedir. Bu doğrultuda, daha önce yürütülen projeler esnasında toprak örneklerinde ısıya dayanıklı *Paecilomyces* ve yakın cinslerin varlığına rastlanmış ve bu durum yeni bir çalışmanın başlatılmasına zemin hazırlamıştır. Isıya dayanıklı *Paecilomyces* türleri, yüksek ısılarda bile hayatta kalabilen ve gelişebilen mikrofunguslardır bu sebeple endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalarda büyük önem taşımaktadır. Bu türlerin yüksek sıcaklıklara dayanıklı olmaları, çeşitli alanlarda olası kullanım imkânı sunmaktadır.

Çalışmada, elde edilen izolatlar önce teşhis besiyerlerine ekilerek morfolojik özellikleri gözlemlenmiş, ardından DNA barkod gen bölgeleri (ITS, Kalmodulin, Beta-tubulin ve RPB2) kullanılarak multi-lokus gen sekanslamaları yapılmış ve biyoinformatik araçlarla (MEGA 11) filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir.

Marmara (5 izolat) ve Ege (10 izolat) bölgelerinden elde edilen sonuçlar, Türkiye için özellikle bu bölgelerin topraklarında *Paecilomyces niveus*, *P. divaricatus*, *P. fulvus* ve *P. brunneolus* türlerinin tespitini ortaya koymuştur. Bu türlerden en yaygın olanı *P. niveus* olup Afyonkarahisar, Edirne, İzmir, Kütahya, Muğla, Yalova ve Sakarya illerinde tespit edilmiştir. Ardından *P. divaricatus* (Muğla ve Uşak), *P. fulvus* (Uşak) ve *P. brunneolus* (İstanbul) gelmektedir. Dikkat çekici bir şekilde, *P. brunneolus* daha önce Türkiye topraklarında kaydedilmemiş olup, bu çalışma ile Türkiye için yeni bir kayıt olarak belirlenmiştir.

Bu araştırma, Türkiye'nin Marmara ve Ege bölgelerinde nadasa bırakılmış tarım topraklarında ısıya dayanıklı *Paecilomyces* türlerinin yayılımını ve biyoçeşitliliğini ortaya koyarak ileriki çalışmalar için, hem Türkiye'nin biyolojik zenginliğine katkıda bulunmakta hem de bu mikrofungusların olası endüstriyel ve biyoteknolojik kullanımı için veri sağlamaktadır.

Yıl : 2025

Sayfa Sayısı : 114

Anahtar Kelimeler : *Paecilomyces*, ısıya dirençli mikrofunguslar, toprakla taşınan mikrofunguslar, fungal biyoçeşitlilik, polifazik taksonomi, Türkiye

PhD Thesis

Polyphasic Taxonomy of Heat-Resistant *Paecilomyces* Bainier 1907 and Related Genera Isolates from Fallow Agricultural Soils in Selected Provinces of the Marmara and Ege Regions.

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

ABSTRACT

This study was conducted on 36 soil samples collected from 9 provinces located in the Marmara (Edirne, Istanbul, Sakarya, and Yalova) and Ege (Kütahya, Afyonkarahisar, Uşak, İzmir, and Muğla) regions of Türkiye, aiming to reveal the presence and biodiversity of heat-resistant *Paecilomyces* and related genera in agricultural soils using both conventional and molecular methods.

Türkiye is a country extremely rich in soil biodiversity due to its geographical location. In this context, the presence of heat-resistant *Paecilomyces* and related genera in soil samples was previously detected during earlier projects, laying the groundwork for this new study. Heat-resistant *Paecilomyces* species are microfungi that can survive and grow even at high temperatures; therefore, they are of great importance in industrial and biotechnological applications. The fact that these species are resistant to high temperatures offers potential usage opportunities in various fields.

In this study, the obtained isolates were first inoculated into selective culture media and their morphological characteristics were observed. Subsequently, multi-locus gene sequencing was performed using DNA barcode gene regions (ITS, Calmodulin, Beta-tubulin, and RPB2), and phylogenetic analyses were conducted with bioinformatics tools (MEGA 11).

The results from the Marmara (5 isolates) and Aegean (10 isolates) regions revealed the presence of *Paecilomyces niveus*, *P. divaricatus*, *P. fulvus*, and *P. brunneolus*

species in the soils of these regions in Türkiye. Among these, *P. niveus* was the most common species, detected in Afyonkarahisar, Edirne, İzmir, Kütahya, Muğla, Yalova, and Sakarya provinces. This was followed by *P. divaricatus* (Muğla and Uşak), *P. fulvus* (Uşak), and *P. brunneolus* (İstanbul). Notably, *P. brunneolus* had not been previously recorded in Türkiye soils, and this study reports it as a new record for Türkiye.

This research reveals the distribution and biodiversity of heat-resistant *Paecilomyces* species in fallow agricultural soils in the Marmara and Ege regions of Türkiye, thereby contributing to the country's biological richness and providing valuable data for potential industrial and biotechnological applications of these microfungi.

Year 2025

Number of Pages : 114

Keywords : *Paecilomyces*, heat resistant microfungi, soilborne microfungi, fungal biodiversity, polyphasic taxonomy, Türkiye

TEŞEKKÜR

Öncelikle, akademik hayatım boyunca bana rehberlik eden, bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan danışmanım Prof. Dr. Burhan ŞEN'e ve ikinci danışmanım Prof. Dr. Rasime DEMİREL'e en içten şükranlarımı sunarım. Onların değerli görüşleri ve destekleri, bu tezin her aşamasında bana yol gösterici oldu.

Laboratuvarda birlikte çalıştığım ve süreci daha keyifli ve verimli hale getiren sevgili arkadaşlarım Ahsen ÖZDEMİR'e ve Aleyna UYSAL'a da ayrıca teşekkür ederim. Destekleri ve paylaştıkları güzel anılar, bu zorlu yolculuğu daha katlanılabilir kıldı.

Hayatım boyunca yanımda olan, sevgileri ve sabırlarıyla beni güçlü kılan canım annem Hatice HALİL'e, babam Osman ÜZEYİR ve kardeşim Celal ÜZEYİR'e teşekkür ederim. Varlığınız ve sabrınız bana güç verdi.

En büyük teşekkürü ise, bu zorlu süreci benimle birlikte göğüsleyen, sevgisi, sabrı ve anlayışıyla en büyük destekçim olan eşim Mehmet MEMET'e borçluyum. Bu süreçte gösterdiği özveri ve desteği benim için tarifsizdir.

Ayrıca bu tez çalışması, TÜBİTAK 1001 programı kapsamında desteklenen 123Z038 numaralı proje tarafından finanse edilmiştir. Sağladıkları destek için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tüm katkıları, destekleri ve sevgileriyle yanımda olan herkese gönülden teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv

ABSTRACT vi

TEŞEKKÜR viii

İÇİNDEKİLER ix

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xii

ŞEKİLLER DİZİNİ xiv

ÇİZELGELER DİZİNİ xvii

BÖLÜM 1 1

GİRİŞ 1

BÖLÜM 2 5

GENEL BİLGİLER 5

2.1. *Paecilomyces* Cinsinin Genel Özellikleri ve Fungal Taksonomideki Yeri 5

2.2. *Paecilomyces* Türlerinin Ekolojik Rolleri 7

2.3. *Paecilomyces* Türlerinin Potansiyel Zararlı Etkileri 5

2.4. Isıya Dayanıklı Mantarların Ekolojik Rolleri 9

2.5. Mikrofungusların Isıya Dayanıklılık Mekanizmaları ve Adaptasyon Örnekleri 9

2.5.1. Morfolojik Adaptasyon 11

2.5.2. Fizyolojik Adaptasyonlar 11

2.5.3. Moleküler Adaptasyonlar 12

2.5.4. Metabolik Adaptasyonlar 13

2.6. Isıya Dayanıklı Mantarların İzolasyon Süreçleri: Morfolojik ve Moleküler Tayin Yöntemleri 13
2.6.1. Geleneksel Yöntemler 14
2.6.2. Ekim Yöntemi 15
2.6.3. Moleküler Tanı Yöntemleri 16
2.7. Türkiye'de Kaydı Bulunan *Paecilomyces* Türleri 16
BÖLÜM 3 19
MATERYAL VE YÖNTEM 19
3.1. Materyal 19
3.2. Çalışma Kapsamında Kullanılan Besiyerleri 19
3.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler 20
3.3.1. Czapek concentrate (CC) 20
3.3.2. Agaroz jel 21
3.3.4. TAE tamponu (50X) 21
3.4. Yöntem 21
3.4.1. İzolatların aktive edilmesi 21
3.4.2. *Paecilomyces* ve Yakın Cins İzolatlarının Morfolojik Teşhisi 21
3.4.3. *Paecilomyces* ve Yakın Cins izolatlarının Moleküler Teşhisi ve Filogenetik Analizi 21
3.4.4. PCR ürününün saflaştırılması ve DNA dizi analizi 27
3.4.5. Sekans verilerinin analiz edilmesi 27
3.4.6. Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemeleri 28
3.4.7. İstatistiksel Analiz 29
3.4.8. Tür Tanımlama İçin Teşhis Anahtarlarının Oluşturulması 30
BÖLÜM 4 31
BULGULAR 31

4.1. İzolatların Aktive Edilmesi 31
4.2. *Paecilomyces* ve Yakın Cins İzolatlarının Morfolojik Teşhisi 32
4.2.1. Uygun Litaratüre Göre Morfolojik Teşhis 48
4.3. *Paecilomyces* ve Yakın Cins İzolatlarının Moleküler Teşhisi ve Filogenetik Analizi 49
4.3.1. Filogenetik Çalışma Sonuçları 55
4.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 59
4.5. İstatistiksel Analiz 62
4.6. Tespit Edilen Türler Doğrultusunda Teşhis Anahtarının Oluşturulması 65
4.6.1. Dikotomik Teşhis Anahtarı (*Paecilomyces*) 66
BÖLÜM 5 68
SONUÇLAR VE TARTIŞMA 68
5.1. *Paecilomyces niveus* 69
5.2. *Paecilomyces fulvus* 71
5.3. *Paecilomyces brunneolus* 71
5.4. *Paecilomyces divaricatus* 72
5.5. İstatistik Analiz 72
KAYNAKLAR 77
EKLER 87
TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT BİLİMSEL ÇIKTILAR 94
ÖZGEÇMİŞ 96

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

bp:	Base pair – baz çifti, DNA/RNA uzunluğu için
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$:	Bakır(II) sülfat pentahidrat
DH_2O:	Distile su
DMSO:	Dimetil sülfoksit
EDTA:	Etilendiamintetraasetik asit
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$:	Demir(II) sülfat heptahidrat
gDNA	Genomik DNA
EDTA	Etityum bromür tris asetik asit
g (gram):	Gram
g (santrifüj):	Yerçekimi ivmesi (gravitasyon kuvveti)
gDNA:	Genomik DNA
KCl:	Potasyum klorür
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$:	Magnezyum sülfat heptahidrat
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$:	Disodyum hidrojen fosfat dihidrat
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$:	Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat
$NaNO_3$:	Sodyum nitrat
rpm:	Revolutions per minute – devir/dakika (santrifüj hızı)
sn:	Saniye
w/v:	Weight/volume – yüzde ağırlık/hacim oranı

Simgeler

%:	Yüzde işareti, bir oranın yüz üzerinden ifadesi
°C:	Santigrat derece
cm:	Santimetre
g:	Gram
g:	Yerçekimi ivmesi
L:	Litre
mL:	Mililitre
µL:	Mikrolitre
µM:	Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Fungal genomik DNA'nın elde edilmesi adımları……..23

Şekil 4.1. 3-36, *Byssochlamys nivea* morfotip 1. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: CREA; G, N: OA. 32

Şekil 4.2. 35-37 *Byssochlamys nivea* morfotip 2. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA. 33

Şekil 4.3. 48-78 *Byssochlamys nivea* morfotip 3. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA. 33

Şekil 4.4. 54-26 *Byssochlamys nivea* morfotip 4. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA. 34

Şekil 4.5. 77-28 *Byssochlamys nivea* morfotip 5. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA. 34

Şekil 4.6. 3-15 *Byssochlamys nivea* morfotip 6. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA 35

Şekil 4.7. 22-41 *Byssochlamys nivea* morfotip 7. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA. 35

Şekil 4.8. 77-31 *Byssochlamys nivea* morfotip 8. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA. 36

Şekil 4.9. 48-17 *Paecilomyces divaricatus* morfotip 1. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA..... 36

Şekil 4.10. 64-72 *Paecilomyces divaricatus* morfotip 2. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA 37

Şekil 4.11. 34-147 *Paecilomyces variotii* (moleküler çalışmalar sonucunda *P. brunneolus* sonucuna varıldı). Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA 37

Şekil 4.12. 64-6 *Paecilomyces dactylethromorphus* morfotip 1 (moleküler çalışmalar sonucunda *P. fulvus* sonucuna varıldı). Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA 38

Şekil 4.13. 43-7 *Paecilomyces dactylethromorphus* morfotip 1 (moleküler çalışmalar sonucunda *P. niveus* sonucuna varıldı). Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA 38

Şekil 4.14. Genomik DNA izolasyon ürünleri. Kullanılan Marker (M); 1 kb Marker (SM0311) 49

Şekil 4.15. ITS gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol)..... 50

Şekil 4.16. Beta Tubulin gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol) 50

Şekil 4. 17. Kalmodulin gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol) 51

Şekil 4. 18. RPB2 gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol)..... 51

Şekil 4. 19. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen ITS dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 396.64 (NR_163518.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000) 56

Şekil 4. 20. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen β-tubulin dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 396.64 (JF417467.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000). 57

Şekil 4. 21. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen kalmodulin dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 396.64 (JF417511.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000). 58

Şekil 4. 22. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen RPB2 dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 393 (XM_013471581.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000) 59

Şekil 4. 23. *P. niveus* (izolat no 3-36) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü 60

Şekil 4. 24. *P. divaricatus* (izolat no 64-72) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü 60

Şekil 4. 25. *P. fulvus* (izolat no 64-6) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü..... 61

Şekil 4. 26. *P. brunneolus* (izolat no 34-147) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü 61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışma kapsamında kullanılan besiyeri içerikleri 20

Çizelge 3.2. Moleküler analiz çalışmalarında kullanılacak olan primerler 24

Çizelge 3.3. PCR reaksiyon karışımı 25

Çizelge 3.4. Çalışma kapsamında kullanılacak primerlere ait uygulanacak PCR koşulları 26

Çizelge 3.5. Dehidrasyon aşaması için alkol serilerinin yüzdelikleri ve süreleri 29

Çizelge 4.1. Elde edilen izolatların illere göre dağılımı 31

Çizelge 4.2. Morfolojik yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların teşhis besiyerlerindeki koloni çapları (koloni çapları küçükten büyüğe doğru sıralanmıştır) .. 39

Çizelge 4.3. Morfolojik yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların MEA besiyerindeki koloni morfolojileri 39

Çizelge 4.4. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların CYA besiyerindeki koloni morfolojileri 40

Çizelge 4.5. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların PDA besiyerindeki koloni morfolojileri 41

Çizelge 4.6. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların YES besiyerindeki koloni morfolojileri 43

Çizelge 4.7. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların OA besiyerindeki koloni morfolojileri 43

Çizelge 4.8. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların CREA besiyerindeki asit oluşturma yetenekleri 44

Çizelge 4.9. Temsili seçilen 13 izolatın mikroskobik yapıları (konidiofor, spor, askospor ve klamidospor) yapıları 45

Çizelge 4.10. Temsili seçilen 13 izolatın mikroskobik (konidiofor, spor, askospor ve klamidospor) yapılarının ölçümleri.....47

Çizelge 4.11. Uygun litaratüre göre morfolojik teşhis sonuçları.....48

Çizelge 4.12. Multi lokus gen bölgelerin analiz sonuçları.....51

Çizelge 4.13. Toprak tipi ve tür isimleri……..….62

Çizelge 4.14. Çalışma kapsamında kullanılan illerden alınan toprak numunelerinde izole edilen *Paecilomyces* türlerinin sayısal ve oransal dağılımı……..63

Çizelge 4.15. Toprak numunelerine ilişkin tanımlayıcı istatistiksel değerler……..63

Çizelge 4.16. Toprak değerleri ile toplam koloni sayısı arasındaki korelasyon analizi…64

Çizelge 4.17. Toprak tipine göre toplam koloni sayısının karşılaştırılması…….65

Çizelge 4.18. Tür ismine toplam koloni sayısının karşılaştırılması…….65

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Funguslar ökaryot, çoğunlukla mikroskobik ve genellikle karasal canlılar olarak tanımlanmaktadır. Birçok ekolojik rollere sahip olan bu canlı grubu doğada önemli işlevlere sahiptir. Örneğin bitki, hayvan ve insan gibi yaşam formlarında patojenik etkileri sebebiyle hastalıklara yol açmaktadır. Bunun yanı sıra ölü bitkilerin ve topraktaki organik maddelerin parçalanmasında yani karbon mineralizasyonunda hayati bir rol oynayarak ekosistem dengesinin korunmasına katkıda bulunurlar. Ayrıca, bazı fungus türleri antibiyotik üretimi, fermantasyon süreçleri ve biyoteknolojik uygulamalarda değerli kaynaklar olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla, funguslar hem ekosistem sağlığı hem de insanlık açısından önemli fırsatlar ve riskler barındıran organizmalar olarak dikkat çekmektedir. (Madigan, Martinko, Bender, Buckley & Stahl, 2018).

Bütün canlılarda olduğu gibi funguslarda da gelişimin desteklenmesi için birtakım gereksinimlere (fiziksel, kimyasal) ihtiyaç vardır. Gerekli olan başlıca fiziksel özellikler şunlardır: su (minimum 0,65), sıcaklık, oksijen ve pH (4-6). Ayrıca kimyasal gereksinim olarak hem makro besinler (karbon kaynağı), hem de mikro besinler (vitaminler, iz elementler) gerekmektedir (Sümer, 2006).

Fungusların gelişim sıcaklıkları çok geniş bir aralığa sahip olsa da geneli 25 ºC'lik inkübasyonda gelişmektedir (Madigan vd., 2018). Büyüme sıcaklık aralıklarına göre mikrofunguslar psikrofilik, mezofilik, termofilik veya termotolerant (ısıya dayanıklı) olarak sınıflandırılır. Termofilik funguslar, gelişimleri için yüksek sıcaklıklara gereksinim duyan ve optimum büyüme sıcaklıkları genellikle 50 °C'nin üzerinde olan organizmalardır. Buna karşılık termotolerant funguslar ise yüksek sıcaklıklara dayanıklı olup, minimum büyüme sıcaklıkları 20 °C'nin üzerinde ve maksimum büyüme

sıcaklıkları ise 50 °C'ye kadar ulaşabilen türleri kapsamaktadır. Bu nedenle, termofilik funguslar daha çok sıcak ortamlarda aktif rol oynarken, termotolerant funguslar ise 20 °C'nin altındaki ortamlarda büyüyemeyip, 20–50 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişim gösterebilmektedirler. (Cooney & Emerson, 1964). Sıcaklığa uyum sağlamış funguslar, yüksek sıcaklıklara karşı geliştirdikleri ısı direnci sayesinde dikkat çekerler. Bu direnç, mezofilik fungusların dahi 75–100 °C gibi aşırı sıcaklıklarda, her ne kadar kısa süreli de olsa, hayatta kalabilmesine olanak tanımaktadır. Isı direnci, termotolerans veya termofilik özelliklerden bağımsız olarak gelişebilir. Örneğin, bazı termofilik türlerin (örneğin *Aspergillus fumigatus* Fresen. 1863) yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklı olduğu bilinmekle birlikte (Fergus & Amelung, 1971), çoğu ısıya dayanıklı mikromikrofungusfungus aslında mezofilik özellikler göstermektedir (örneğin *Basidioascus undulatus* Matsush. 2003) (Nguyen, Chabot, Hirooka, Roberson & Seifert, 2015).

Isıya dirençli mikrofunguslar, bu özellikleri sayesinde hem çevresel ekosistemlerde hem de endüstriyel süreçlerde çeşitli olumlu ya da olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. Özellikle gıda sektöründe, bu mikroorganizmaların dayanıklılığı ayrı bir önem taşır. Isıl işlemler gibi yaygın gıda koruma yöntemlerine karşı direnç gösterebilmeleri, üretim ve muhafaza süreçlerinde istenmeyen bozulmalara yol açabilmektedir. Isıya dirençli mikrofunguslar, 75 °C'de 30 dakika gibi standart ısıl işlemlerden etkilenmeden hayatta kalabilen ve bu nedenle gıdalarda kalite kaybı veya bozulmaya neden olabilen mikroorganizmalardır. Bu tür mikrofunguslar, gıda üretim süreçlerinde karşılaşılan kısa süreli yüksek sıcaklık uygulamalarına karşı direnç geliştirerek yaşamlarını sürdürebilirler (Frąc, Jezierska-Tys & Yaguchi, 2015). Ürünlerin biyokimyasal özelliklerini değiştirebilir, meyve yapısını tahrip edebilir ve büyük ekonomik kayıplara neden olabilirler (Tranquillini, Scaramuzza & Berni, 2016). Isıya dirençli mikrofunguslar, ısıl işlem görmüş meyve ve meyve ürünlerini çürütme yetenekli patojenler olarak pek çok ülkede kaydedilmiştir (Kikoku, Tagashira & Nakano, 2008). Yapılan araştırmalar *Byssochlamys* Westling 1909 (anamorf *Paecilomyces* Bainier 1907), *Eupenicillium* F. Ludw. 1892 (anamorf *Penicillium* Link 1809), *Monascus* Tiegh 1884, *Humicola*, *Phialophora*, *Neosartorya* Malloch ve Cain 1973 (anamorf *Aspergillus* P. Micheli 1729), *Thermoascus* Miehe 1907, *Hamigera* Stolk ve Samson 1971, *Rasamsonia* Houbraken ve Frisvad 2011, *Cladosporium* Link 1816 ve *Talaromyces* C.R. Benj. 1955

cinsi üyelerinin en sık karşılaşılan ısıya dirençli mikrofungus cinsleri olduklarını göstermektedir. Bu mikroorganizmaların ana bulaşma kaynağı topraktır (Kikoku vd., 2008; Yaguchi vd., 2012).

Isıya dayanıklılığı sayesinde onların endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalar için büyük bir önem taşımasını sağlamaktadır. Özellikle enzim üretiminde ve atık yönetiminde termotolerant funguslar sıkça kullanılmaktadır. Termotolerant fungusların antibiyotik ve antifungal bileşikler, metabolitleri gibi kıymetli ürünlerin kaynağı olarak da kabul edilmektedir. Ayrıca, bu türlerin zorlu çevre koşullarında hayatta kalabilme yetenekleri, evrimsel uyum çalışmalarında da model organizma olarak kullanılmalarını sağlamaktadır (Pushparaj vd., 2023).

Isıya dayanıklı mikrofungus denildiğinde *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* gibi cinsler akla gelmektedir. *Paecilomyces* cinsi, filamentöz funguslar arasında özellikle entomopatojenik özellikleriyle tanınan ve biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılan bir gruptur (Brule vd., 2020). Bu cinsin bazı türleri, özellikle tarımsal zararlı böcekler üzerinde etkili olduğu için alternatif pestisit olarak değerlendirilmektedir (Sandhu vd., 2012). *Paecilomyces*'in yakın cinsleri olan *Byssochlamys* ve *Thermoascus* gibi cinsler ise, gıda endüstrisinde kontaminasyona neden olabilen ancak aynı zamanda antimikrobiyal bileşikler üreten organizmalardır. Bu cinslerin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu, polifazik taksonomi yaklaşımıyla daha net bir şekilde ortaya konulmuştur. Ayrıca, bu türlerin termotolerans özellikleri, özellikle yüksek sıcaklıklara maruz kaldıkları ortamlarda hayatta kalabilmelerini sağlamıştır (Samson, Houbraken, Varga & Frisvad, 2009).

Isıya dayanıklı mikrofungus türleri saprofittirler. Toprak onların doğal rezervuar olup, kalidatif ve kantitatif oluşumları ise tanımlanmayan faktörlerden etkilemektedir. Isıya dayanıklı küf oluşumunda ortamın fiziksel ve kimyasal değişimleri, fungisitler, iklim koşulları gibi parametreler önemli rol oynamaktadır (Frąc vd., 2015; Jesenská, Piecková & Bernát 1992)

Günümüzde tarım topraklarının verimliliğinin yeniden kazanılması ve mikrobiyal toplulukların yeniden yapılanması için nadasa bırakma önemli bir aşama ve süreçtir. Toprakların nadas döneminde, toprakta bulunan mikroorganizmalar özellikle de filamentöz funguslar, organik madde ayrışması, besin döngüsü ve biyokontrol ajanı

olarak önemli roller oynayarak ekosisteme destek sağlamaktadır (Tournas, 1994). Özellikle Türkiye'nin Marmara ve Ege bölgelerindeki nadasa bırakılmış toprakları, farklı iklimsel ve jeolojik koşulların etkisiyle benzersiz bir fungus çeşitliliğine ev sahipliği yapmaktadır.

Bu tez çalışması ile; Türkiye'nin gizli kalmış ısıya dirençli *Paecilomyces* ve yakın cins biyoçeşitliliğinin ve toprak özellikleri ile ilişkisinin olup olmadığının güncel yöntemler ile ortaya çıkartılması, Türkiye'nin ısıya dirençli *Paecilomyces* ve yakın cins türlerinin şu ana kadar tanımlanmış ve NCBI gen bankasında yayınlanmış olan *Paecilomyces* ve yakın cins tür ve tip türleri ile filogenetik ilişkisinin karşılaştırılması ve taksonomik pozisyonlarının belirlenmesi, sahip oldukları eşeyli üreme yapısı sayesinde ısıya dirençlilik özelliği kazanmakta olan "ısıya dirençli *Paecilomyces* ve yakın cins" üyelerinin önerilen proje kapsamında taksonomik pozisyonlarının ortaya çıkartılması ile "Bir İsim = Bir Fungus (One Fungus = One Name) prensibi ile ortaya çıkan tartışmalı pozisyonda bulunan anamorfik ve teleomorfik *Paecilomyces* ve yakın cins üyelerinin büyük bir sınıf halinde mi kalmasının ya da birçok küçük cinse mi bölünmesinin Dünya mikolojisi adına anlamlı bir adım olacağı yönünde veri sağlanması hedeflenmektedir.

Çalışmada, daha önceki projelerimizde alınmış toprak örneklerinden izole edilmiş olan;

- Türkiye'nin ısıya dirençli *Paecilomyces* ve yakın cins üyelerinin morfolojik, mikroskobik ve multi-lokus moleküler teşhislerinin yapılması,
- Çoklu lokus sekans verileri ile taksonomik pozisyonlarının ve filogenetik ilişkilerinin, morfolojik özellikleri ile desteklenerek oluşturulması,
- Çalışma kapsamında elde edilebilecek Türkiye için yeni kayıt ve/veya dünya için muhtemel yeni türlerin tanımlamalarının yapılması,
- Elde edilecek olan tüm *Paecilomyces* ve yakın cins üyelerinin (olası yeni tür ve yeni kayıtların tanımlama detayları ile) Dünya ile paylaşılması "Bir İsim = Bir Fungus (One Fungus = One Name)" prensibi ile isimlendirilmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. *Paecilomyces* Cinsinin Genel Özellikleri ve Fungal Taksonomideki Yeri

Paecilomyces Bainier 1907, Ascomycota şubesine ait, *Thermoascaceae* familyasında sınıflandırılan bir fungus cinsidir. Eurotiales takımına ait olan Thermoascaceae, termofilik özellikleri olan bir mikrofungus familyasıdır (Houbraken vd., 2020). Bu familyada *Thermoascus* ve *Paecilomyces* (teleomorf *Byssochlamys*) olmak üzere iki cins yer almaktadır (Urquhart, Chong, Yang & Idnurm, 2018).

Paecilomyces türlerinin koloni yapısı genellikle orta derecede hızlı gelişmekte olup, hifleri bölmeli, genellikle düz çeperli, şeffaf-sarımsı yapıdadır. Konidiyojen yapıları mononematoz veya sinnematoz özellikle düzensiz dallı veya vertisillat olabilmektedir. Konidiyojen hücreler her dal üzerinde kümeler halinde bulunabileceği gibi fertil hifler üzerinde de tek olarak bulunabilmektedir. Konidiyojen hücreler, silindirik, fiyalidik veya şişkin bir taban kısmından sivrilen uzun bir boyun kısmından oluşmaktadır. Konidiler ise karışık veya divergent olabileceği gibi bazipetal zincirler halinde, bir hücreli (nadiren iki) şeklinde de görülmektedir. Klamidosporlar bazı türlerde görülmektedir, genellikle kalın çepere sahip tek veya çift zincire şeklilde gelişmekte olup pürüzlü veya düz bir çeper özelliği göstermektedir (Hasenekoğlu, 1991).

Cinsin taksonomik sınıflandırması Index Fungorum (2025) ve NCBI (2025) veri bankasından karşılaştırılarak aşağıda verilmiştir:

Domain: Eukaryota

Kingdom: Fungi

Divisio (Bölüm): Ascomycota

Class (Sınıf): Eurotiomycetes

Order: Eurotiales

Family (Familya): *Thermoascaceae*

Genus (Cins): *Paecilomyces* Bainier (1907)

Type Species (Tip Tür): *Paecilomyces variotii* Bainier (1907)

Sinonim: *Byssochlamys* Westling (1909)

Corollium Sopp (1912)

Graphidium Lindau (1909)

Spicariopsis R.Heim (1939)

Paecilomyces Bainier (1907) ve yakın cinsler denildiğinde ilk akla gelen *Byssochlamys* Westling (1909) ve *Thermoascus* Miehe (1907) cinsleridir. Daha öncesinde Aspergillaceae familyasına ait oldukları düşünülse de (hala Index Fungorum 2025 o şekilde göstermektedir) son zamanlarda yapılan filogenetik analizler sonucunda, *Paecilomyces* (teleomorf *Byssochlamys*) ve *Thermoascus* cinslerinin Thermoascaceae familyasına ait olduğu tespit edilmiştir (Houbraken vd., 2020). Bir fungus bir isim (One fungus one name) isimlendirme sisteminin getirilmesiyle de *Paecilomyces*, *Byssochlamys'e* göre önceliğe sahiptir. Aynı zamanda Ascomycota üyesi olan *Byssochlamys*, *Paecilomyces* sensu *stricto* ile bağlantılı olduğu bilinmektedir (Houbraken vd., 2020). Bunun yanı sıra *Byssochlamys* cinsi *Paecilomyces* cinsinin teleomorfudur (Rossman vd., 2016).

Paecilomyces cinsi günümüze kadar 154 tür olarak tespit edilmesine rağmen, yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda bunlardan sadece 85 türü aynı cinste kalmaya devam etmiş olup 69 tür başka cinslere aktarılmıştır (Index Fungorum, 2025). Fakat

NCBI gen bankasındaki verilere bakıldığında sadece 30 türün moleküler çalışmalar sonucunda ITS (24 tür), beta tubulin (19 tür), kalmodulin (16 tür) ve RPB2 (17 tür) gen bölgelerine ait fasta dosyalarına ulaşılmıştır (NCBI, 2025). *Thermoascus* cinsinin ise günümüzde 12 türü tespit edilmiş ve farklı cinslere aktarımı olmamıştır Index Fungorum (2022).

Paecilomyces sensu için filogenetik analizleri ile 18S rDNA kısmına bakıldığınında Sordariomycetidae ve Eurotiomycetidae olmak üzere iki alt sınıf arasında polifiletik olduğu görülmüştür. Bu cinsin tip türü de *Paecilomyces variotii*'dir Bainier (1907) ve termofilik akrabaları Eurotiales'e aittir. *P. variotii* morfolojik olarak değişken bir taksondur. 1930 yılında Thom konidial boyuta dayalı bir ayrım yapmıştır (Samson vd., 2009).

Paecilomyces cinsine fenotipik olarak benzeyen fakat genetik anlamda farklı cinsler de mevcuttur. Bunlara örnek olarak *Rasamsonia*, *Penicillium* ve *Talaromyces* verilebilmektedir. *Rasamsonia* fenotipik olarak yakından ilişkilidir ve belirgin şekilde kaba duvarlı yapılara sahip daha düzenli dallanmış konidioforlara sahip olması bakımından farklılık gösterir. *Penicillium* ve *Talaromyces* fenotipik olarak benzer cinslerdir, ancak genellikle daha düzenli dallanmış konidioforlar, şişe şeklinde (*Penicillium, Talaromyces*) veya mızrak şeklinde (*Talaromyces*) phialidler ve yeşil tonlarında konidia üretirler (Houbraken vd., 2020).

2.2. *Paecilomyces* Türlerinin Ekolojik Rolleri

Isıya dayanıklı mikrofungusların ikincil metabolit üretme kapasiteleri ve sahip oldukları ısıya dayanıklı enzimlerin çeşitliliği, bu organizmaları biyoteknolojik açıdan değerli kılmaktadır. Termofilik özellik taşıyan bu mikrofunguslardan elde edilen enzimler; kağıt endüstrisinde (örneğin, ksilazlar), kozmetik ürünlerde (örneğin, lipazlar) ve farmasötik uygulamalarda (örneğin, amilazlar) yaygın olarak kullanılmaktadır. Öte yandan, birçok ısıya dayanıklı mikrofungus türü, ısıl işlem görmüş gıda ürünlerinin bozulmasına neden olabilmekte ve toksik ikincil metabolitler üretebilmektedir. Bu nedenle, bu organizmaların hem biyoteknoloji hem de tıp alanındaki etkileri önem arz etmektedir (Witfeld, Begerow & Guerreiro, 2021).

Isıya dayanıklı mikrofunguslar, endüstriyel açıdan önemli metabolitleri üretebilen aynı zamanda bu süreci biyodönüşüm sayesinde gerçekleştirebilen mikroorganizmalardır.

Bu mikrofunguslar zorunlu termofiller olduğu gibi aynı zamanda ısıya dayanıklılık gösteren türler de olabilmektedir (Mouchacca, 2007).

Paecilomyces cinsi, esas olarak nematofaj (nematodlarla beslenen) kapasitesi ile bilinen, kozmopolit yayılıma sahip bir mikrofungus grubudur. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar bu mikrofungusun sadece nematodlara karşı değil, aynı zamanda çeşitli mikrofungus patojenlerine ve fitopatojenik bakterilere karşı da etkili olduğunu ortaya koymuştur. Farklı etki mekanizmaları aracılığıyla hem böcek paraziti olarak işlev görmekte hem de biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilmektedir. Ayrıca, bazı türlerinin bitki büyümesini destekleyici ve mahsul verimini artırıcı biyo-uyarıcı (bio-stimulant) özellikler taşıdığı da rapor edilmiştir (Moreno-Gavíra, Huertas, Diánez, Sánchez-Montesinos & Santos, 2020).

Paecilomyces, toprak, gıda ve ölmüş bitkiler gibi pek çok yerde yaygın olarak bulunmaktadır. *Paecilomyces* türleri, parazitizm, besinler için rekabet, biyoaktif ikincil metabolitlerin üretimi ve indüklenmiş hastalık direnci dahil olmak üzere çeşitli antimikrobiyal etkilere sahip yeni bir biyokontrol ajanı sınıfında yer almaktadır (Zhang, Herrera-Balandrano, Shi, Wang & Laborda, 2022).

Toprakta *Paecilomyces* cinsinin ait hem patojenik hem de saprofitik olmak üzere birçok türü vardır. Bunlar, çürüyen bitki materyalleri, gıdalar (pastörize gıda ürünleri de dahil), deniz tortulları, kompostlar, böcekler ve nematodlar gibi pek çok yer ve canlıda yaşamlarını sürebilmektedirler (Moreno-Gavíra vd., 2020).

Paecilomyces, ayrıca bitki gelişimi için çeşitli avantajlar sağlayarak birçok bitkide bir endofit olarak önemli bir rol oynamaktadır. Potansiyel bir büyüme düzenleyici olarak doğrudan veya dolaylı olarak kullanılabilir. Doğrudan kullanıldığında *Paecilomyces* veya metabolitlerinin bitki morfolojik parametrelerini ve mahsul verimini arttığı gözlemlenmiştir. Bitki ve *Paecilomyces* etkileşimi, farklı mekanizmalar yoluyla bitki sağlığını iyileştirir ve fitopatojenlerden koruma sağlar. *Paecilomyces* türlerinin, giberellinler ve indol-asetik asit gibi bitki büyümesini destekleyen fitohormonları üretebildiği ve bu sayede tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarının olumsuz etkilerini azaltabildiği belirlenmiştir. Ayrıca, bu mikrofungus türü nematodlar veya patojen mikrofunguslarla birlikte kullanıldığında, dolaylı yoldan biyolojik bir kontrol ajanı gibi işlev görerek bitki gelişimi ve ürün verimi üzerinde olumlu etkiler sağlayabilmektedir (Moreno-Gavíra vd., 2020).

2.3. *Paecilomyces* Türlerinin Potansiyel Zararlı Etkileri

Byssochlamys (anamorf *Paecilomyces*) cinsi 85 °C sıcaklıklara dayanıklılık gösteren askosporlar üretmektedir. Aynı zamanda düşük oksijen seviyelerinde de hayatta kalmaktadırlar ve pektinaz oluşturabilmektedirler. Bu sebeplerden dolayı pastörizasyon ve konserve yapılan meyvelerde önemli bozulmalara neden olan bir cinstir (Samson vd., 2009).

Gıda endüstrisinde spor kontaminasyonu, hem ürün kalitesi hem de tüketici güvenliği açısından dikkatle ele alınması gereken kritik bir sorundur. Bu kapsamda, yalnızca fungal konidilerin ortalama sıcaklıklara veya diğer işlem koşullarına karşı genel direnç düzeyleri değil, aynı zamanda aynı koloni içinde ya da farklı suşlar arasında gözlemlenen direnç farklılıkları da büyük önem taşımaktadır. Özellikle ısıya dayanıklı sporların neden olduğu heterojenlik, gıda güvenliğini tehdit eden önemli bir değişken olarak değerlendirilmektedir. Bu duruma örnek olarak, *Paecilomyces variotii* gibi kozmopolit türler verilebilir. Bu tür; konserve meyveler, karbonatsız içecekler, margarin ve çavdar ekmeği gibi çok çeşitli gıda ürünlerinde bozulmaya neden olabilen güçlü bir kontaminant olarak öne çıkmaktadır. Son yıllarda, spor heterojenliğinin gıda ürünlerinde neden olduğu kalite kaybı ve işlem güvenliği üzerindeki etkileri, araştırmalarda daha fazla dikkat çeker hâle gelmiştir (Brule vd., 2020).

Paecilomyces cinsine yönelik yapılan güncel taksonomik çalışmalar ve teşhis anahtarları incelendiğinde, bu türlerin sınıflandırılmasında önemli revizyonların yapıldığı görülmektedir. Özellikle Houbraken ve Samson (2006), sıkça karşılaşılan ısıya dirençli *Byssochlamys* türlerinin (anamorf: *Paecilomyces*) hem yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklılık düzeylerini hem de mikotoksin üretme potansiyellerini araştırmışlardır. Bu çalışmalar, sadece teşhis anahtarlarının geliştirilmesine katkı sağlamakla kalmamış, aynı zamanda gıda güvenliği açısından kritik öneme sahip bu türlerin biyolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına da olanak tanımıştır.

2.4. Isıya Dayanıklı Mantarların Ekolojik Rolleri

Özellikle gıda mikrobiyolojisi açısından, ısıya dirençli mikrofunguslar, yüksek ekonomik öneme sahiptirler. Bu mikroorganizmaların ekolojik ilişkileri (bunların doğal kaynakları, gıda kontaminasyon yolları ve gelişme koşulları), bir hasattan diğer hasata kadar gıda işlemenin her adımında hatta tüketim de dahil olmak üzere incelenmesine öncülük etmişlerdir (Piecková, Lehotská & Globanová, 2020).

Tarlaların ve meyve bahçelerinin toprağı, özellikle rizosfer, şimdiye kadar yapılan tüm araştırmalardan da anlaşılacağı üzere, yiyecekleri ve yemleri kirleten ısıya dayanıklı mikrofungusların birincil kaynağıdır. Çilek, lahana gibi toprakla en yakın temasta bulunan meyveler genellikle daha sık ve daha yüksek oranda kirlenir. Vejetasyon mevsimi boyunca çürüyen bitki materyali üzerinde üretilen ısıya dayanıklı propagüllerin (askosporlar) daha sonra toprakta hayatta kalması kuvvetle muhtemeldir. Yayılma, sonraki mevsimde enfekte olmuş toprakta büyüyen mahsulleri kirletir. Bu bilgi göz önüne alındığında, ısıya dayanıklı mikrofungusların parazitik mikroorganizmalardan daha saprofitik olduğu varsayılabilir (Piecková vd., 2020).

Byssochlamys fulva (geçerli isim; *Paecilomyces fulvus*), Hollanda, Almanya, ABD ve Avustralya'daki çilek tarlalarının, Kanada, İngiltere ve Birleşik Devletler'deki üzüm bağlarının toprağından izole edilmiştir. Suşları, Japonya'daki nehir tortullarında ve eski Çekoslovakya'da farklı kökenli topraklarda bulunmuştur. Bunun yanı sıra, ABD'ndeki tarım makinesi atıklarından da izole edilmişlerdir (Panagou, Chelonas, Chatzipavlidis & Nychas, 2010).

Toprak mikroorganizmalarının yalnızca toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerinden, bulunduğu yerden, yetiştirilen mahsullerden ve tüm faktörlerin bir araya getirilmesinden değil, aynı zamanda tarım kimyasalları, atıklar vb. antropojenik faaliyetlerden de etkilendiği bilinmektedir (Piecková vd., 2020).

Bazı çalışmalarda, vejetasyon dönemi boyunca topraktaki ısıya dayanıklı mikrofungusların kalite ve miktarı aylık olarak incelenmiş ve belirgin mevsimsel farklılıklar tespit edilmiştir. Ayrıca, toprağa uygulanan agrokimyasal müdahalelerin, özellikle organik gübrelemenin, mikrofungus topluluğu yapısı üzerinde olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir. Öte yandan, eğer toprakta antifungal biyositler kullanılmışsa, bunların fungistatik (veya fungisidal) etkilerinin ısıya dayanıklı mikrofungus türleri üzerinde de görüldüğü bildirilmiştir (Yang vd., 2013).

Isıya dayanıklı mikrofungusların, toprak, kapalı ortamlar, bitkiler, hayvanlar ve gıda maddeleri gibi çok çeşitli ortamlarda yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir. Bu mikrofunguslar arasında özellikle *Paecilomyces* cinsi (eski adıyla *Byssochlamys*) türleri önemli patojenler olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca, bu türlerin karton ambalaj malzemelerinde de tespit edildiği rapor edilmiştir. Toprak, *Paecilomyces* türlerinin başlıca

kontaminasyon kaynağı olarak kabul edilmektedir (Houbraken, Varga, Rico-Munoz, Johnson & Samson, 2008; Tournas, 1994).mikrofungusIsıya dayanıklı mikrofungusfunguslar, Hindistan, Avustralya, Japonya, İsrail, Türkiye, Güney Afrika, Jamaika, Mısır, Nijerya, Brezilya, Japonya, Kore, Slovakya ve Çek Cumhuriyeti ve Polonya gibi ülkelerdeki topraklarda bulunmuştur. Askosporlar uykuda kalabilir, normalde meyve ürünlerine uygulanan ticari pastörizasyon koşullarında hayatta kalabilir ve bu tür ürünleri, düşük oksijen koşullarında bile çimlenerek ve büyüyerek bozabilir. Bu mikrofungusların büyümesi, meyve paketlerini şişiren ve pektinolitik enzim aktivitesi nedeniyle ürünlerin görsel olarak bozulmasına neden olan CO_2 üretebilir. Toprağa veya toza daha fazla temas eden meyveler, ısıya dayanıklı küflerle kirlenmeye daha yatkındır. Bu mikroorganizmaların düşük sayıları (10 g başına 10^1 ve 10^2 CFU) toprakta bildirilmiş olmasına rağmen, işlemeden önce meyvelerde 100 g başına 10^1 CFU'dan fazla değildir. *B. fulva* askosporları aşırı derecede ısıya dayanıklıdır ve sıklıkla ısıl işlem görmüş meyve ürünlerinin bozulmasıyla ilişkilendirilir. Ürünlerin mikrobiyolojik stabilitesini sağlamak için, ısıdan etkilenen ısıya dayanıklı küf sporlarının inaktivasyon kinetiği bilgisi, etkili bir pastörizasyon işlemi koşullarının tasarımı için gereklidir. *Byssochlamys* sp.'nin ısıya dayanıklı askosporları çilek, ananas, çarkıfelek, mango, üzüm ve turunçgillerin bozulmasından sorumludur ve ayrıca silajlarda bulunmuştur. *Byssochlamys* türleri, düşük oksijenli koşullarda da gelişebildikleri için, özellikle asidik yapıya sahip işlenmiş meyve ürünlerinde ciddi bozulmalara yol açabilmekte ve bu ürünlerin kalitesini önemli ölçüde düşürebilmektedir. En önemli sorun, çilekte yetişebilen *B. fulva* ile ilgilidir. Birçok araştırmacının çalışmaları, bu türün meyvelerden ve ayrıca meyve ürünlerinden, meyve sularından izole edildiğini göstermiştir (Frąc vd., 2015).

2.5. Mikrofungusların Isıya Dayanıklılık Mekanizmaları ve Adaptasyon Örnekleri

Termofil ve ısıya dayanıklı mikrofunguslar, yüksek sıcaklıklara çeşitli morfolojik, fizyolojik ve moleküler adaptasyonlar geliştirmişlerdir. Bu özellikleri sayesinde hayatta kalmayı başarabilmektedirler (Witfeld vd., 2021).

2.5.1. Morfolojik Adaptasyon

Morfolojik adaptasyonlara örnek olarak, konidyumlar ve askosporlar gibi kalın hücre duvarına sahip spor yapıları verilebilir. Bu yapılar, sporların aşırı sıcaklık gibi olumsuz çevresel koşullarda hayatta kalmalarını sağlar. Ayrıca, pigment üretimi, spor duvarında melanizasyon ve sporların küçük ve kompakt yapıda olması da ısıya

dayanıklılığı artıran diğer morfolojik özellikler arasında yer almaktadır. Örneğin, *Fibulochlamys* türleri, ısıya dayanıklı sporlar oluşturarak ekstrem koşullarda bile çoğalabilirler (Madrid, Cano, Stchige, Gené & Guarro, 2010). Benzer şekilde, *Chaetomium thermophilum* gibi termofilik funguslar, konidiyal yapılarını kullanarak yüksek sıcaklıklarda kolayca yayılabilirler. (Witfeld vd., 2021).

2.5.2. Fizyolojik Adaptasyonlar

Mikrofunguslar, yüksek sıcaklıklara karşı direnç sağlamak için önemli bir diğer özellikleri de fizyolojik düzeyde değişikliklerdir. Örneğin, sklerot adı verilen kalın duvarlı yapılar oluşturarak çevresel streslere karşı korunurlar. Ayrıca, membran yapılarında da benzersiz lipit ve karbonhidrat kompozisyonlarına sahip olmaları, onların yüksek sıcaklıklarda stabiliteyi koruma yeteneklerini artırmaktadır (Ianutsevich, Danilova, Groza, Kotlova & Tereshina, 2016). Bu tür fizyolojik adaptasyonlar, özellikle termofilik ve ısıya dayanıklı fungus türlerinde yaygın olarak gözlenmektedir.

Mikrofungusların ısıya karşı direnç mekanizmalarından biri, mannitol gibi asiklik şeker alkollerinin üretimine dayanmaktadır. Mannitol, doğada en bol bulunan çözünen maddelerden biridir ve mikrofungus askosporlarının ısı stresine karşı korunmasında önemli bir rol oynar. Araştırmalara göre, mannitol sadece askosporların uyku halini kırmak için bir enerji kaynağı olarak hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda uyku sonrası hızla metabolize edilerek spordan çimlenmeye geçiş sürecinde de kritik bir işlev görür. Ayrıca, kleistotesia dışında, uzun süreli askospor olgunlaşmasını desteklemek üzere kültür ortamında biriken mannitol, sporların çevresel streslere karşı dayanıklılığını artırmaktadır (Frąc vd., 2015).

Askosporların çimlenmesi, özellikle meyve ve meyve ürünlerinde gözle görülür miselyum büyümesine neden olabilir. Bu süreçte, mikrofunguslar tarafından üretilen pektinolitik enzimler, meyvelerin hücre duvarlarını parçalayarak dokuda ciddi bozulmalara yol açabilir. Bu fizyolojik adaptasyonlar, mikrofungusların zorlu çevre koşullarında hayatta kalmasını ve besin kaynaklarını etkin bir şekilde kullanmasını sağlar. Sonuç olarak, mannitol üreten mikrofungus türleri, özellikle gıda bozulması ve endüstriyel uygulamalar açısından büyük önem taşır.

2.5.3. Moleküler Adaptasyonlar

Isıya karşı direnç, sadece fiziksel ve morfolojik değişimlerle değil aynı zamanda moleküler düzeyde de sağlanmaktadır. Yüksek ısılara maruz kalan mikrofunguslar, ısı şok proteinleri (HSP) gibi stres yanıtları üreterek hücrelerinin hasar görmesini engellemektedirler. Bu gibi proteinler, hücre içinde bulunan proteinlerin doğru şekilde katlanmasını sağlayarak ısı stres altında bile işlevselliklerini sürdürmelerini sağlamaktadır. Örneğin, *Aspergillus fumigatus* gibi türler hem mezofilik hem de termofilik özellikler göstererek farklı sıcaklık aralıklarında varlıklarını sürdürebilirler (Rhodes, 2006).

2.5.4. Metabolik Adaptasyonlar

Metabolik süreçlerdeki esneklik, mikrofungusların ısıya dayanıklılığını artıran bir başka önemli unsurdur. Örneğin, kolayca ulaşılabilir karbon kaynaklarını kullanan türler, enerji elde etme süreçlerini optimize ederek zorlu koşullarda hayatta kalabilirler. Ayrıca, spor oluşturma yetenekleri sayesinde metabolik aktivitelerini minimum seviyeye indirerek çevresel streslere karşı direnç kazanabilirler (Witfeld vd., 2021).

Bu dirençli yapılar, uygulanan ısıl işlemlerden etkilenmeyerek gıdalarda kontaminasyona neden olabilir. *Byssochlamys fulva* Olliver ve G. Sm. 1933, *B. nivea* Westling 1909, *Eupenicillium brefeldianum* (B.O. Dodge) Stolk ve D.B. Scott 1967, *Neosartorya fischeri* (Wehmer) Malloch ve Cain 1973 ve *Talaromyces flavus* (Klöcker) Stolk ve Samson 1972 türleri, ısıya dayanıklı mikrofungusların en çok çalışılan temsilcileridir. Kleistotesia, gimnotesia, askuslar ve askosporlar gibi bazı fungal yapılar, konserve endüstrisinde kullanılan yüksek sıcaklıklara rağmen hayatta kalabilmektedir. Bu dayanıklılık, özellikle gıda ürünlerinde bozulmalara yol açarak ciddi ekonomik kayıplara neden olur. Örneğin, 1934 yılında yapılan bir araştırmada çilek kompostosunda ilk kez *Byssochlamys fulva* türü izole edilmiştir. Bu tür, yalnızca çilekte değil, süt ve diğer meyve ürünlerinde de tespit edilmiştir. Bu mikrofunguslar sadece ticari zararlara yol açmakla kalmaz; aynı zamanda insan sağlığı açısından da risk taşırlar. Çünkü bazıları toksik etkiler gösterebilen sekonder metabolitler, yani mikotoksinler üretir. Bu durum, söz konusu organizmaları hem gıda güvenliği hem de halk sağlığı açısından daha da önemli hale getirmektedir (Frąc vd., 2015).

Byssochlamys türlerinin (anamorf *Paecilomyces fulvus*, *P. niveus* ve *P. variotii*) hiçbiri askokarp (kleistotesia, gimnotesia) üretmez. Bu cinse ait askuslar, yalnızca hiyalin hiflerle çevrelenmiş şekilde koloninin yüzeyinde serbest olarak bulunur. Askuslar küresel ya da yarı küresel yapıdadır ve içerisinde sekiz adet düz duvarlı askospor taşırlar (Panagou vd., 2010).

2.6. Isıya Dayanıklı Mantarların İzolasyon Süreçleri: Morfolojik ve Moleküler Tayin Yöntemleri

Mikrofungusların tanımlanmasında, morfolojik yapıları ve koloni özellikleri uzun yıllar boyunca temel taksonomik kriterler olarak kabul edilmiştir. Geçmişten günümüze kadar yapılan tanımlamalarda, bu organizmaların fenotipik özellikleri belirleyici bir rol oynamıştır. Ancak mikrofungusların morfolojileri, bulundukları besin ortamı ve çevresel koşullara bağlı olarak önemli ölçüde değişebildiğinden, yalnızca morfolojik özelliklere dayanarak yapılan tanımlamaların yetersiz kaldığı görülmüştür. Bu sınırlamaların aşılabilmesi için moleküler teknikler geliştirilmiş ve mikrofungus çeşitliliği ile yayılımının daha doğru biçimde ortaya konması amacıyla evrimsel ilişkileri gösteren filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Bu sayede daha tutarlı ve bütüncül sistematik yapılar geliştirilebilmiştir (Frąc vd., 2015).

Mikrofungusların sınıflandırılmasında başlangıçta esas alınan eşeyli ve eşeysiz üreme yapıları, zamanla bazı türlerin net olarak ayrılmasında yetersiz kalmış ve taksonomide karışıklıklara neden olmuştur. Moleküler verilerin kullanılmasıyla bu karışıklıkların büyük ölçüde giderilmesi hedeflenmiştir. Daha sonraki dönemlerde ise morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri bir araya getiren kapsamlı sistematik yaklaşımlar benimsenmiştir (Frąc vd., 2015).

2000'li yıllardan itibaren SSU rRNA (küçük alt birim ribozomal RNA) filogenisine dayalı analizler ile mikrofungus türleri tanımlanmaya başlanmış; ayrıca çoklu gen bölgelerine (multilokus DNA dizileri) dayalı yeniden sınıflandırmalar gerçekleştirilmiştir. Günümüzde mikrofungusların sınıflandırılması, morfolojik, fizyolojik ve moleküler verilerin birlikte değerlendirildiği 'polifazik taksonomi' yaklaşımına dayanmaktadır (Frąc vd., 2015).

Filamentöz mikrofungus izolatlarının tespiti ve tanımlanmasındaki en popüler teknik, farklı seçici besiyerlerindeki koloni morfolojileri ve mikroskobik yapılarının

görünümüdür. Geleneksel olarak filamentöz mikrofunguslar fenotiplere göre tanımlanmıştır. Bu tür bir çalışmada yanılma payı araştırmacının deneyimsizliğinden dolayı yalnış tanımlamaya yol açabilmektedir. Bu problemleri çözmek için birçok araştırmacı, özellikle ısıya dayanıklı mikrofungusların tanımlanması ve tespitinde moleküler temelli yöntemlerle ilgili çalışmalar devam etmektedir (Frąc vd., 2015).

Mikrofungusların hücre duvarı bileşenleri (kitin, glukan), enzimatik ve kimyasal reaktiflere dirençli lipitler veya diğer polimerler nedeniyle moleküler tespiti ve tanımlanmasının ilk önemli adımı DNA ekstraksiyonudur. DNA izolasyonu için farklı yöntemler mevcuttur. Bu teknikler, mikrofungus türlerinin spektrumunun ve çalışılan örneklerde bulunan sayılarının belirlenmesi açısından avantaj sağlamaktadır. Mikrofunguslarda DNA izolasyonu için mekanik, biyokimyasal, fiziksel veya bunların kombinasyonlarını barındıran farklı yöntemler kullanmak mümkündür (Frąc vd., 2015).

Biyokimyasal DNA ekstraksiyonu, dodesil sülfat (SDS) ve proteinaz K, SDS ve spermidin, liziz tamponu içeren benzin klorür, alkali kimyasallar, hekzadesiltrimetilamonyum bromür ve ayrıca DNA izolasyon kiti gerekmektedir (Frąc vd., 2015).

Mekanik yöntemler ise, özel ekipman kullanılarak çalkalama veya mekanik homojenizasyonla birleştirilmiş farklı boyutlarda cam boncuklar, seramik ve silika küreler gibi farklı türlerde parçalama matrisi ile bağlantılıdır (Frąc vd., 2015).

Fiziksel yöntemler arasında sıvı nitrojen ile öğütme, mikrodalga işlemi ve manyetik boncuk tabanlı teknoloji bulunur ve mikrofungus DNA izolasyonu için başarılı bir şekilde kullanılır (Frąc vd., 2015).

Fakat tüm bu DNA ekstraksiyonlarının ısıya dayanıklı mikrofungusfunguslar için kullanımını karşılaştıran bir çalışma yoktur. Diğer bir önemli husus da örneklerden mikrofungusların saf bir şekilde izole edilmesidir, böylece PCR için saf DNA elde edilmesini sağlamaktadır. Örneğin yiyeceklerden izole edilmesi gereken saflaştırılmadığı takdirde PCR reaksiyonuna müdahale edebileceği bilinmektedir (Frąc vd., 2015).

2.6.1. Geleneksel Yöntemler

Bir ortamda varlığından şüphelenilen ısıya dayanıklı mikrofungusların tespiti için besiyerlerine ekimleri gerçekleştirilmelidir. Besin gereksinimleri açısından nazlı

değildirler ve bu nedenle, patates dekstroz agar (PDA), malt ekstresi agar (MEA) veya Czapek maya ekstresi agar (CYA) gibi ortamlar, bunların saptanması için kullanılabilir. Ürünler, bakteri sporları ile yoğun bir şekilde kontamine olduğunda, bakteri büyümesini engellemek için ortam asitlendirmesi veya besiyeri ortamına antibiyotik eklenmesi gerekebilir (Pitt ve Hocking, 1997).

2.6.2. Ekim Yöntemi

Topraktan ısıya dayanıklı küflerin izole edilebilmesi için, örnekler Stomacher poşetleri kullanılarak homojenize edilmelidir. Bu işlem için 100 g toprak örneğine 100 mL steril su eklenir ve yaklaşık 5 dakika boyunca iyice karıştırılır. Elde edilen süspansiyon, 75 °C'de en az 30 dakika ısıtılarak ısıya dayanıklı sporların seçilimi sağlanır. Isıtma işleminden sonra homojenat tekrar karıştırılır ve uygun besiyerlerine (PDA, MEA veya DG18) dökme plaka yöntemi kullanılarak ekim yapılır. Petri kapları 30 °C'de, 30 güne kadar inkübe edilir. Canlı askosporların çoğu, 7 ila 10 gün içinde gelişerek görünür koloni oluşturur. (Frąc vd., 2015).

Bu teknikle ilgili temel sorun, havada yaygın olarak bulunan mikrofungus sporlarının petri kaplarında kontaminasyona yol açma olasılığıdır. Bu tür kontaminasyonlar, yanlış veya yanıltıcı sonuçlara neden olabilir (Pitt ve Hocking, 1997). Bu riski en aza indirmek için petri kapları temiz hava koşullarında, tercihen laminer akışlı kabin içerisinde hazırlanmalı ve ekim işlemleri bu ortamda gerçekleştirilmelidir.

2.6.3. Moleküler Tanı Yöntemleri

PCR işlemi, organizmaların moleküler karakterizasyonu için kullanılır (Khan & Bhadauria, 2019). PCR, fungus spesifik primer olarak adlandırılan oligonükleotid diziler ile organizmanın gDNA'sının hedeflenen gen bölgeleri ile çoğaltılması işlemidir (Levin, 2012).

PCR işlemi temelde denatürasyon (94-95 °C), bağlama (anneling, 55-65 °C) ve uzama (72 °C) olmak üzere 3 basamaktan oluşmaktadır. İlk basamak DNA kompleksinin ayrılmasıdır. İkinci basamakta gDNA üzerindeki hedef gen bölgesine spesifik primerlerin yerleşmesi ve son basamakla polimerizasyonun devam ederek uzaması gerçekleşir. Hedef DNA (templeyt), taq DNA polimeraz enzimi, primerler, deoksinükleotitler, tampon sıvı, pH, Mg+2 iyonları, PCR reaksiyonunun temel bileşenleri olarak kullanılır (Kahya, Buyukcangaz & Carlı, 2013).

Isıya dayanıklı mikrofungus teşhisinde PCR yöntemleri hızlı tespit için önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Özellikle gıda sektöründe asidik yiyecek ve içecek endüstürisinde spesifik primerlere sahip PCR yöntemleri, mikrofungusların hızlı tespiti için çok kesin ve kullanışlıdır ve bu nedenle moleküler teknikler, mikrofungus tanımlamasında artık standart yaklaşımlar haline gelmiştir (Chen, Prior, Shi ve Wang, 2011). RDNA'nın dahili kopyalanmış aralayıcı (ITS) bölgeleri, *Aspergillus* ve *Neosartorya* tanımlamasında kalmodulin genini hedefleyen çoğu mikrofungus ve primerin tür veya cins düzeyinde tanımlanması için etkilidir. Ayrıca kalmodulin geninin okratoksin üreten mikrofungusları tanımlamada kullanılan iyi bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Frąc vd., 2015).

Isıyla işlenmiş yiyecek ve içecek endüstrisinde bozulmalara neden olan ısıya dirençli mikrofungusların tespiti için moleküler çalışmalar günümüzde halen devam etmektedir. Isıya en dayanıklı mikrofunguslardan biri olan *Byssochlamys*'in fungal suşlarının mikrotübül bileşimi üzerine yapılan çalışmada, α- ve β-tubulin (globüler proteinlerin) gibi mikrotübüllerin ana bileşenleri olduğunu kanıtlanmıştır. β -tubulin genindeki düşük seviyeli intraspesifik DNA varyasyonu nedeniyle (toplam uzunluk yaklaşık 2.000 bp), bu bölge, *Byssochlamys* dahil olmak üzere farklı mikrofungus türlerinin tür düzeyinde tanımlanması için yarar sağlamaktadır. PCR tekniklerinin varyasyonu çift yönlü veya çoklu PCR tekniklerine dayanmaktadır. Farklı türler veya cinsler için primerlerin aynı erime sıcaklığının, çift yönlü veya çoklu PCR ile aynı koşullar altında PCR reaksiyonları yapmasına olanak sağlamaktadır (Frąc vd., 2015).

Genomik çalışmalar ise daha geniştir ve mikrofungus türlerinden tüm genomlara erişilebilinir. Aynı zamanda genomik veri tabanı aracılığıyla olası çapraz hibridizasyonları için kontrol edilebilinir primez dizileri de önermektedir. Geleneksel PCR yöntemi, numunedeki hücre veya spor sayısı veya mikotoksin üretimi hakkında bilgi vermeden sadece mikrofungusların varlığını değerlendirmek için kullanılmaktadır. Yaguchi ve arkadaşları (2012), *Byssochlamys*, *Thermoascus* ve *Neosartorya* cinslerine ait türleri ile gıdalarda zararlı mikroorganizmaların tanımlanmasında hızlı ve kullanışlı PCR yöntemleri geliştirmişlerdir. PCR yöntemleri, hızlı tespit tekniği olarak diğer ısıya dayanıklı mikrofunguslara genişletilebilir (Frąc vd., 2015).

2.7. Türkiye'de Kaydı Bulunan *Paecilomyces* Türleri

Bilindiği üzere *Byssochlamys* (pembecil) cinsi, *Paecilomyces* (günküfü) cinsinin teleomorf evresini temsil etmekte olup, ülkemizde bu cins adına yalnızca bir tür kaydı bulunmaktadır. Sesli ve arkadaşlarının (2021) çalışmasında, *Byssochlamys lagunculariae* izolatı yalnızca Çatalca–Kocaeli bölgesinden rapor edilmiştir. Bu bulgular, hem *Byssochlamys* türlerinin ekonomik açıdan önemini hem de Türkiye'deki dağılımlarının hâlen sınırlı kaldığını ortaya koymaktadır.

Sesli ve arkadaşlarının (2021) çalışmasına göre, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yedi *Paecilomyces* türü kaydedilmiştir. Tip tür olan *P. variotii* (el günküfü) başta Çatalca–Kocaeli, Ege ve Sakarya olmak üzere yaygın olarak bulunmuştur. *P. byssochlamydoides* (uzun küf) izolatları Van'dan elde edilirken, *P. clavisporus* (kıvrık günküfü) yalnızca Ege ve Sakarya'da tespit edilmiştir. *P. divaricatus* (dallı günküfü) en geniş coğrafi dağılıma sahip olup Marmara, Batı Karadeniz, Ege, Sakarya, Konya, Erzurum, Kars ve Fırat havzalarında saptanmıştır. Ayrıca *P. fulvus* (günküfü) Çatalca–Kocaeli'den, *P. ramosus* (dar günküfü) Sakarya'dan ve *P. reniformis* (tok günküfü) ise Erzurum–Kars bölgesinden izolasyonla rapor edilmiştir. Asan ve arkadaşlarının 2023 yılında yayınladıkları çalışmada Türkiye mantarları listesi yeniden güncellenmiş olup, *P. victoriae* (Utku günküfü) Bu bulgular, ülkemizde *Paecilomyces* cinsinin hem çeşitlilik hem de ekolojik yayılım açısından zengin bir profil sergilediğini ortaya koymaktadır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Önceki iki çalışmada, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) kapsamında 1704F102 numaralı proje ve TÜBİTAK 1001 destekli 118Z359 numaralı projelerde, özellikle Marmara (Edirne, İstanbul, Sakarya ve Yalova) ve Ege (Kütahya, Afyonkarahisar, Uşak, İzmir ve Muğla) Bölgelerinde nadasa bırakılmış tarım topraklarından izole edilen *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait izolatlar, Samson ve arkadaşları (2010) tarafından önerilen yöntemlere göre -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma kapsamında yer alan örneklem alanlarının ve toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ekte verilmektedir.

3.2. Çalışma Kapsamında Kullanılan Besiyerleri

Bu çalışma kapsamında teşhis amaçlı kullanmak üzere altı farklı besiyeri hazırlanmıştır. Çizelge 3.1.'de verilen içeriklere göre hazırlanan tüm besiyerleri 1000 ml distile su ile çözündürülmüştür. Sadece YES Agar besiyerine 885 ml distile su ilavesi yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışma kapsamında kullanılan besiyeri içerikleri

Besiyeri İçerikleri	**Malt Extract Agar (MEA, Samson, Houbraken, Thrane, Frisvad & Andersen, 2010)**	**Czapect Yeast Extract Agar (CYA, Samson vd., 2010)**	**Yeast Extract Sucrose Agar (YES, Samson vd., 2010)**	**Creatine Sucrose Agar (CREA, Samson vd., 2010)**	**Potato Dextrose Agar (PDA, Merck 1.10130)**	**Oatmeal Agar (OA, Samson vd., 2010)**
Malt özütü (Malt Extract)	50 g	-	-	-	-	-
KH_2PO_4	-	1 g	-	-	-	-
Maya Özütü (Yeast extract)	-	5 g	20 g	-	-	-
Sükroz	-	30 g	150 g	30 g	-	-
Kreatin	-	-	-	3 g	-	-
$K_2HPO_4.3H_2O$	-	-	-	1,3 g		
Bromokrezol moru (Bromocresol purble)	-	-	-	0.05 g	-	-
KCl	-	-	-	0.5 g	-	-
Patates dekstroz (Potato dextrose)	-	-	-	-	39 g	-
Yulaf unu	-	-	-	-	-	30 g
FeSO4.7H2O	-	-	-	0.01 g	-	-
$MgSO_4.7H_2O$	-	-	0,5 g	0.5 g	-	-
$ZnSO_4.7H_2O$	0,01 g	-	0,01 g	0,01 g	-	0,01 g
$CuSO_4.5H_2O$	0,005 g	-	0,005 g	0,005 g	-	0,005 g
Czapek Concentrate (CC)	-	10 ml	-		-	-
Agar agar	20 g	15 g	20 g	15 g	20 g	15 g

3.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

3.3.1. Czapek concentrate (CC)

- $NaNO_3$ 3 g
- KCl 0.5 g

- $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 g
- $FeSO_4.7H_2O$ 0.01 g
- $CuSO_4.5H_2O$ 0.005 g
- Distile su 100 mL

Hazırlanan çözelti CYA besiyeri içeriğinde kullanılmıştır (Samson vd., 2010).

3.3.2. Agaroz jel

Agaroz	1 g
TAE (Tris-Asetat EDTA) tamponu	100 ml

Hazırlanan çözelti PCR ürünlerinin kontrolü amaçlı kullanılmıştır.

3.3.4. TAE tamponu (50X)

Tris Base	242 g
Na_2 EDTA ($2H_2O$)	37,5 g
Distile su	900 ml
Asetik asit	57.1 ml

Hazırlanan çözelti 49 ml distile suya 1 ml oranında ilave edilerek seyreltilmiş ve agarozun çözünmesi için kullanılmıştır (Sambrook ve Russell, 2001).

3.4. Yöntem

3.4.1. İzolatların aktive edilmesi

Daha önceki projelerden elde edilmiş ve *Paecilomyces* veya yakın cinsi olabilecek potansiyeli taşıyan 452 izolat ilk olarak Malt Extract Agar (MEA) besiyerine ekim yapılmış ileve 25°C de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların gelişmelerinin ardından, yapılan inceleme sonucunda ilgili cinsler tespiti sağlanarak 15 izolatın gelişen sporları, spor solüsyonuna (agar %2, tween 80 %0,05) toplanarak +4 °C'ye kaldırılmıştır.

3.4.2. *Paecilomyces* ve Yakın Cins İzolatlarının Morfolojik Teşhisi

Paecilomyces ve yakın cinse ait türlerin morfolojik yöntemlerle teşhisi için "*Introduction to Food and Airborne Fungi*" (Samson vd., 2010), Westerdijk Fungal Biyoçeşitlilik Enstitüsü'nün yayınlarının yanı sıra, birçok farklı çalışmadan da

yararlanılmıştır (Avery vd., 2013; Chen MingJun vd., 2010; Crous vd., 2016; Dong, Wang, Xing & Ji, 2012; Giraldo vd., 2015; He, Kang, Lei & Wen, 2011; Houbraken, Spierenburg & Frisvad, 2012; Kidd, Abdolrasouli & Hagen, 2023; Korzets vd., 2001;Liang, Han & Chu, 2007; Luangsa-Ard, Hywel-Jones & Samson, 2004; Luangsa-Ard vd., 2005, 2011; Moreira, Oliveira & Borba, 2018; Peng vd., 2023; Samson vd., 2009; Senthilkumar, Anandham & Krishnamoorthy, 2020; Spetik vd., 2022; Sun, Yu, Lu, Liu & Liu, 2023; Visagie vd., 2024; Yeh & Kirschner, 2014; Zhang, Herrera-Balandrano, Shi, Wang & Laborda, 2015; Hasenekoğlu, 1991). Her bir tür; Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA), Yeast extract sucrose (YES) agar, Malt Ekstrakt Agar (MEA) ve Kreatin Agar (CREA) besiyerlerinde 25°C' de 7 gün inkübe edilmiştir. *Paecilomyces* cinsine ait eşeysiz üreme yapılarının gözlemlenebilmesi amacıyla, MEA ve YES agar besiyerlerinde inkübasyon süresi uzatılmış; 10. günde mikroskobik inceleme yapılmış ve gerek duyulduğunda tekrar gözlemler gerçekleştirilmiştir. *Paecilomyces* cinsinin eşeyli üreme yapılarını gözlemlemek için, oatmeal agar (OA) ve potato-dextrose agar (PDA) besiyerlerine ekim yapılıp, her iki besiyeri 25°C' de 14 günlük inkübasyona bırakılmış ve mikroskobik incelemeleri gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda petrilerdeki kolonilerin makroskobik olarak mm cinsinden büyüklüğü, şekli, üstten ve alttan rengi, eksudasyon ve pigmentasyon olup olmadığı incelenmiştir. Stereo mikroskop ile koloni tekstürü belirlenmiştir. Işık mikroskobu ile konidioforun uzunluğu, genişliği, fiyalidlerin uzunluğu ve genişliği, konidinin şekli, büyüklüğü tespit edilmiştir.

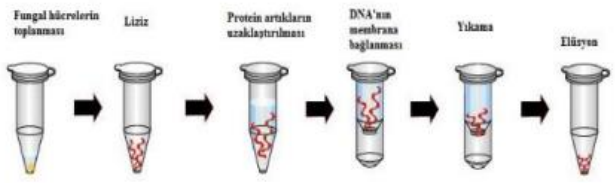
3.4.3. *Paecilomyces* ve Yakın Cins izolatlarının Moleküler Teşhisi ve Filogenetik Analizi

DNA İzolasyonu

Moleküler analizde kullanılmak üzere 13 temsili izolat seçilmiş olup örnekler MEA besiyerine inoküle edilip 30 ºC'de 7 gün inkübe edilmiştir. Qiagen DNeasy UltraClean Microbial Kit ile kullanım talimatına uygun olarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Uygulanan işlem basamakları şu şekildedir (Şekil 3.1.).

1. 300 µl Power Bead Solution ve Power Bead tüpe alınmıştır.
2. Üzerine 55 ºC'de su banyosunda 10 dakika beklemiş Solution SL 50 µl eklenmiştir.

3. İşlem gerçekleştirilecek olan küfün transferi ateş başında ve steril kürdan yardımıyla gerçekleştirilmiştir.
4. 10 dakika yüksek hızda vortekslenip ardından 10.000 x *g* 30 saniye oda sıcaklığında sandrifüj yapılmıştır.
5. Oluşan süpernatant (300-350 µl) temiz bir ependorfa alınmıştır.
6. Üzerine 100 µl IRS solüsyonu eklenip vorteks yardımıyla 5 saniye karıştırılmıştır. 4 ºC buzdolabında 5 dakika bekletilmiştir.
7. Dolaptan alınan örnekler 10.000 x *g*'de oda ısısında 1 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır.
8. Yeni oluşan süpernatantı yeni bir ependorfa taksim edilmiştir (toplam hacim 450 µl).
9. Süpernatantın üzerine 900 µl SB solution (kullanmadan önce çalkalanmış) eklenip vorteks ile 5 saniye karıştırılmıştır.
10. MB Spin Column tüpüne 700 µl süpernatanttan alınarak 10.000 x *g*'de 30 saniye oda ısısında santrifüj yapılmıştır. Altta kalan sıvı boşaltılıp işlem tekrarlanmıştır.
11. Üzerine 300 µl CB solution eklenerek oda ısında 10.000 x *g*'de 30 saniye satrifüj yapılmıştır.
12. Son olarak boş bir şekilde oda ısında 10.000 x *g*'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.
13. MB Spin Column yeni bir ependorfa alınıp, beyaz membranın üzerine 50 µl EM solution ekelip 10.000 x *g*'de 30 saniye oda ısısında santrifüj yapılmıştır.
14. MB Spin Column uzaklaştırıp. Ependorf tüpünde kalan kısım bizim için gerekli olan gDNA'dır ve -20 ºC'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Fungal genomik DNA'nın elde edilmesi adımları

PCR reaksiyon bileşenlerinin hazırlanması

Başlangıçtaki µmol düzeyindeki konsantrasyondan 100 µM'lik ana stok çözeltisi hazırlanabilmesi için, hesaplamalarda $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ formülü kullanılmıştır. Elde edilen 100 µM'lik ana stok çözeltisi, 50 µM'lik ara stok çözeltisi elde etmek amacıyla bire bir oranında seyreltilmiştir. Ardından, bu 50 µM'lik ara stoktan 2,5 µM'lik primer çözelti hazırlamak için aynı formül esas alınarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

Örnek olarak, primerin başlangıç konsantrasyonu 250 nmol olduğunda, bu değer öncelikle µmol cinsine çevrilmiş ve 0,25 µmol olarak hesaplanmıştır. Ardından, 100 µM'lik stok çözelti hazırlanabilmesi için $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ formülü kullanılmış ve $100 \times V = 1000 \times 0{,}25$ işlemi sonucunda gerekli hacim 2,5 mL olarak belirlenmiştir. Elde edilen stok çözelti, bire bir oranında seyreltilerek 50 µM'lik ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. Son aşamada, bu ara stoktan 2,5 µM'lik primer çözeltisi elde etmek üzere aynı formül kullanılarak hesaplama gerçekleştirilmiştir.

dNTP çözeltisinin hazırlanması

2,5 mM'lik dNTP karışımı hazırlamak amacıyla, her birinden 25 µL olacak şekilde 100 mM konsantrasyonundaki Adenin, Timin, Guanin ve Sitozin çözeltileri birleştirilmiş, ardından karışıma 900 µL nükleaz içermeyen su eklenmiştir. Böylece elde edilen dNTP karışımı, PCR reaksiyon karışımında kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

PCR ile amplifikasyon

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen gDNA'lar kalıp olarak kullanılmış ve hedeflenen gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır. Örneklerin Internal Transcribed Spacer (ITS), Beta-tubulin (BT), Calmodulin (CL) ve RNA polymerase II subunit B2 (RPB2) gen bölgeleri Çizelge 3.2.'deki primerler kullanılarak PCR ile amplifiye edilmiştir. Gen bölgelerinin amplifikasyonu sürecinde, her bir örnek için 25 µl PCR karışımı oluşturulmuştur.

Çizelge 3.2. Moleküler analiz çalışmalarında kullanılacak olan primerler

Lokus	**Primer**	**Pimer dizisi (5'-3')**	**Kaynak**
Internal Transcribed Spacer (ITS)	ITS1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	(White, Laborda, Lee & Taylor 1990)

	ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	(White vd., 1990)
	V9G	TTA CGT CCC TGC CCT TTG TA	(Hoog ve Gerrits van den Ende, 1998)
	LS266	GCA TTC CCA AAC AAC TCG ACT C	(Masclaux, Gueho, Hoog & Christen 1995)
β-tubulin (BenA)	Bt2a	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	(Glass ve Donaldson, 1995)
	Bt2B	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	(Glass ve Donaldson, 1995)
Calmodulin (CaM)	CMD5	CCG AGT ACA AGG ARG CCT TC	(Hong, Go, Shi, Frisvad & Samson, 2005)
	CMD6	CCG ATR GAG GTC ATR ACG TGG	(Hong vd., 2005)
RNA polymerase II second largest subunit (RPB2)	5F	GAY GAY MGW GAT CAY TTY GG	(Liu, Whelen & Hall, 1999)
	7CR	CCC ATR GCT TGY TTR CCC AT	(Liu vd., 1999)
	5FEUR	GAY GAY CGK GAY CAY TTC GG	(Houbraken vd., 2012)
	7CREUR	CCC ATR GCY TGY TTR CCC AT	(Houbraken vd., 2012)

Çizelge 3.3. PCR reaksiyon karışımı

Komponent	**1 PCR örneği için kullanılacak hacim (µl)**
10X Taq Buffer (+KCl, -MgCl2)	2.5
25 Mm MgCl2	2.5
dNTP Karışımı (2.5 mM)	2
İleri Primer (2.5 µM)	2.5
Geri Primer (2.5 µM)	2.5
DMSO	1.3
Nükleazsız su	10.4
Taq DNA Polimeraz	0.3
gDNA	1

PCR reaksiyonu karışımı için bütün komponentler gDNA haricinde hepsi hacim arttırarak bir ependorfta karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım 24 µl olacak şekilde her bir

PCR tüpüne ayrı ayrı dağıtılmıştır ve son olarak 1 µl gDNA ilave edilmiş olup toplam hacim 25 µl olarak çalışılmıştır. Bu işlem her bir örneğin gDNA'sı için uygulanmıştır. Bio Rad T100 Thermal Cycle PCR cihazı kullanılarak istenilen gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Hazırlanan PCR koşulları Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışma kapsamında kullanılacak primerlere ait uygulanacak PCR koşulları

ITS1-58S-ITS4	**V9G-LS266**	**BT2a-BT2B**		**CMD5- CMD6**		**RPB2 5FEUR-RPB2 7FEUR**	
		A Planı	**B Planı**	**A Planı**	**B Planı**	**A Planı**	**B Planı**
94 ºC'de 5 dk (Den.)	95 ºC'de 10 dk (Den.)	95 ºC'de 3 dk (Den.)	95 ºC'de 5 dk (Den.)	94 ºC'de 10 dk (Den.)	95 ºC'de 10 dk (Den.)	95 ºC'de 5 dk (Den.)	95 ºC'de 5 dk (Den.)
35 döngü	35 döngü	30 döngü	35 döngü	35 döngü	38 döngü	30 döngü	30 döngü
94 ºC 45 sn 56 ºC 30 sn 72 ºC 2 dk	95 ºC 15 sn 48 ºC 30 sn 72 ºC 1 dk 30 sn	95 ºC 1 dk 65 ºC 55 sn 72 ºC 1 dk	94 ºC 45 sn 55 ºC 45 sn 72 ºC 1 dk	94 ºC 50 sn 55 ºC 50 sn 72 ºC 1 dk	95 ºC 30 sn 55 ºC 30 sn 72 ºC 1 dk	95 ºC 1 dk 55 ºC 2 dk 72 ºC 2 dk	95 ºC 1 dk 57.6 ºC 2 dk 72 ºC 2 dk
72 ºC 6 dk 4 ºC Süresiz	72 ºC 7 dk 4 ºC Süresiz	72 ºC 10 dk 4 ºC Süresiz	72 ºC 7 dk 4 ºC Süresiz	72 ºC 7 dk 4 ºC Süresiz	72 ºC 7 dk 4 ºC Süresiz	72 ºC 10 dk 4 ºC Süresiz	72 ºC 10 dk 4 ºC Süresiz
(White vd., 1990)	(Hoog ve Gerrits van den Ende, 1998) (Masclaux vd., 1995)	(Glass ve Donaldson, 1995)	(Glass ve Donaldson, 1995)	(Hong vd., 2005)	(Hong vd., 2005)	(Liu vd., 1999) (Houbraken vd., 2012)	(Liu vd., 1999) (Houbraken vd., 2012)

Elektroforez

Genomik DNA elde edilmesinin ardından %1'lik agaroz jel hazırlanarak DNA miktarları ve saflıkları kontrol edilmiştir. Aynı işlem PCR ürünlerinin boyutları ve saflıklarına da bakılmıştır.

Jel elektroforezi için %1'lik agaroz hassas terazide tartılıp ardından 1x TAE tampon içerisinde çözündürülmüştür. Bu esnada elektroforez tankına uygun taraklar yerleştirilmiştir. Homojen olan %1'lik agaroz jel tanka dökülmüş ve herhangi bir kabarcık olup olmadığı kontrol edilerek donmaya bırakılmıştır. Elektroforez tankının içerisine de 1x TAE tampon ile kuyucuklar sıvı içerisinde kalacak şekilde doldurulur. Donmuş olan jeli tampon içerisine bırakılarak tarakları sıvı içerisinde çıkartılır.

Jelin hazırlanma işlemi tamamlandığında, PCR ürünleri agaroz jel üzerindeki kuyucuklara yüklenmiştir. PCR ürünlerinin jel üzerine aktarılması için, 5 µl PCR ürünü, 5 µl yükleme boyası (Gelred floresan boyası) ile karıştırılarak kullanılmıştır. Hedeflenen DNA ürünlerinin boyutları hakkında bilgi edinmek amacıyla, 1 Kb'lik DNA marker'ı ilk kuyucuğa eklenmiştir. Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra, elektroforez işlemi için elektrotlar negatif (-) kutuptan pozitif (+) kutba doğru yerleştirilmiş ve 90 V'luk bir elektrik akımı ile 60 dakika süreyle çalıştırılmıştır. Elektroforez işlemi bitiminde, PCR ürünlerinin jel görüntüsü UV ışık altında (Clear View UV Transilluminator) incelenmiştir.

Jel görüntülemesi sonucunda, tek bant olarak ve hedeflenen boyutta elde edilen ürünler saflaştırma ve sekanslama işlemine göndermek için -20 ºC'de muhafazaya alınmıştır.

3.4.4. PCR ürününün saflaştırılması ve DNA dizi analizi

Elde edilen PCR ürünleri BM Laboratuvar Sistemleri tarafından saflaştırma ve sekanslama işlemi gerçekleştirilecektir.

3.4.5. Sekans verilerinin analiz edilmesi

Bu çalışmada elde edilen diziler NCBI "National Center for Biotechnology Information", (www.ncbi.nlm.nih.gov) gen bankasındaki verilerle BLAST programı üzerinden karşılaştırılarak filogenetik benzerlikleri incelenmiştir. Her bir veri MEGA 11 (Kumar, Stecher & Tamura, 2016) programındaki ClustalW kullanılarak tip türlerin aynı

gen bölgelerine ait sekansları ile hizalanmıştır. İncelenen izolatlar ve NCBI gen bankasındaki tip türlerine ait ilgili gen sekansları ile evrimsel gelişim süreci Maximum likelihood (ML)-Tamura-Nei modeline (Tamura & Nei, 1993) dayalı olarak 1000 tekrarlı (Bootstrap 1000) olarak incelmiştir. Eksik veri içeren ve boşluk bulunan tüm pozisyonlar çıkarılmıştır.

Multi lokus gen bölgesi ve morfolojik tanımlama sonucu belirlenen tür ismi www.indexfungorum, www.mycobank.org ve www.ncbi.nlm.nih.gov veri tabanlarındaki güncel adı ve künyesi kontrol edilerek kaydedilmiştir.

3.4.6. Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemeleri

Bu çalışmada, tanımlama ve teşhis anahtarında kullanılacak olan konidiofor, fiyalid ve spor yapılarının taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri, hizmet alımı yoluyla TUTAGEM tarafından elde edilmiştir.

Örneklerin SEM analizi öncesinde, uygun fiksasyon ve dehidrasyon işlemlerinden geçirilmesi gerekmektedir. Bu işlemler sırasıyla şu şekilde uygulanmıştır:

1. Örneklerin %2,5'lik gluteraldehit solüsyonunda en az 3 saat süreyle fiksasyonu gerçekleştirilmiştir.
2. Fiksasyonun ardından, örnekler artan konsantrasyonlarda etanol serileri (%30, %50, %70, %90 ve %100) kullanılarak kademeli olarak dehidre edilmiştir.
3. Tam dehidrasyon sağlandıktan sonra, örnekler pastör fırınında 30 ºC de 30 dakika bekletilip kurutulmuştur. SEM analizine hazır hale getirilmiştir.

Bu aşamaların tamamlanmasının ardından, örnekler TUTAGEM'e teslim edilerek SEM görüntüleri alınmıştır. Elde edilen SEM görüntüleri, tanımlama ve teşhis anahtarlarının oluşturulmasında kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan çözeltiler:

1. 0,05 M sodyum fosfat çözeltisi

Bu çözelti için öncelikle iki farklı çözelti hazırlamak gerekmektedir.

A. 0,05 M $NaH_2PO_4.2H_2O$ çözeltisi

- $NaH_2PO_4.2H_2O$ 0,78 g
- DH_2O 100 ml

B. 0,05 M $Na2HPO_4.2H_2O$ çözeltisi

- $Na2HPO_4.2H_2O$ 0,89 g
- DH_2O 100 ml

Bu iki çözelti ayrı ayrı hazırlandıktan sonra; A çözeltisinden 42 ml B çözeltisinde ise 22.1 ml karıştırılıp pH 6,5 olacak şekilde ayarlanır. İkinci adım olarak 3 ml %25'lik glutaraldehit ile 20 ml sodyum fosfat çözeltisi ile %5'lik glutaraldehit çözeltisi elde edilmiş oldu.

Elektron mikroskobu için temsili seçilen izolatlar öncesinde MEA besiyerinde 25 ºC de 7 günlük inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri hazırlanıp döküldükten sonra önceden streril edilmiş ve küçük boyutlarda kesilmiş kurutma kağıtları besiyerinin üzerine bırakılmıştır. Gelişimini tamamlamış koloniler %5 (w/v)'lik glutaraldehit çözeltisi içerisinde 3 saat +4 ºC de bekletilerek tespit edilmiştir. Daha sonra çizelge 3.5.'te yer alan su+alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilmiştir (Deo, Costerton & Gauche, 1983).

Çizelge 3.5. Dehidrasyon aşaması için alkol serilerinin yüzdelikleri ve süreleri

Etanol Serisi	Etanol % 96'lık (ml)	Distile Su (ml)	Örneğin Bekletilme Süresi (dakika)
50	52.08	47.92	2x15
70	72.92	27.08	2x15
90	93.75	6.25	2x15
96	96	-	2x30

Fiksasyon ve dehidrasyon işlemi tamamlanmış örnekler pastör fırınında 30 ºC de 30 dakika bekletilip kurutulmuştur. Örnekler Agar Sputter Coater cihazında 40 saniye süresince altın ile kaplanmıştır. ZEISS Evo LS10 Elektron mikroskobunda incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

3.4.7. İstatistiksel Analiz

İncelenen toprak örneklerinin çalışma kapsamında elde edilmiş olan fiziksel ve kimyasal özellikleri ile söz konusu toprak örneklerinde belirlenmiş olan ısıya dirençli *Paecilomyces* ve yakın cins üyeleri üyeleri arasındaki dağılım korelasyonuna ilaveten ısıya dirençli *Paecilomyces* ve yakın cins üyeleri üyelerinin Türkiye topraklarındaki

bulunuşu ve sıklığı SPSS v.23 (IBM, 2015) programı kullanılarak hizmet alımı olarak Fitoz İstatistik ile analiz edilmiştir.

Verilerin Analizi

Verilerin analiz uygulamalarında SPSS Statistics 25.00 programı kullanılmış olup, sürekli değişkenlerin normallik dağılımı için Kolmogorov-Smirnov normallik analizi yapılmıştır.

Toprak tipi, tür ismine göre toplam koloni sayısının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis H testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenler arasındaki korelasyon analizi için Spearman korelasyon analizi kullanılmış ve korelasyon katsayılarının güç düzeyleri Çizelge 3.6.'ya göre değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.6. Korelasyon katsayıları ve güç ilişkisi (Hair, Bush & Ortinau, 2003)

Katsayı Düzeyi	**Güç açıklaması**
± 0.81 ± 1.00	Çok güçlü
± 0.61 ± 0.80	Güçlü
± 0.41 ± 0.60	Orta
± 0.21 ± 0.40	Zayıf
± 0.00 ± 0.20	Çok zayıf

3.4.8. Tür Tanımlama İçin Teşhis Anahtarlarının Oluşturulması

Çalışma kapsamında elde edilmiş olan tüm veriler kullanılarak *Paecilomyces* cinsi ve yakın türleri için teşhis anahtarı oluşturulmuş ve her bir tür için bireysel açıklama notlarına; türün morfolojik ve mikroskobik özellikleri eklenmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. İzolatların Aktive Edilmesi

Marmara ve Ege bölgesinde yer alan bazı illere ait toprak örneklerinden daha öncesinde izole edilen ve -80 ºC'de muhafaza edilen örneklerin canlandırma işlemi gerçekleştirilen izolatların illere göre dağılımı Çizelge 4.1.'de yer almaktadır.

Çizelge 4.1. Elde edilen izolatların illere göre dağılımı

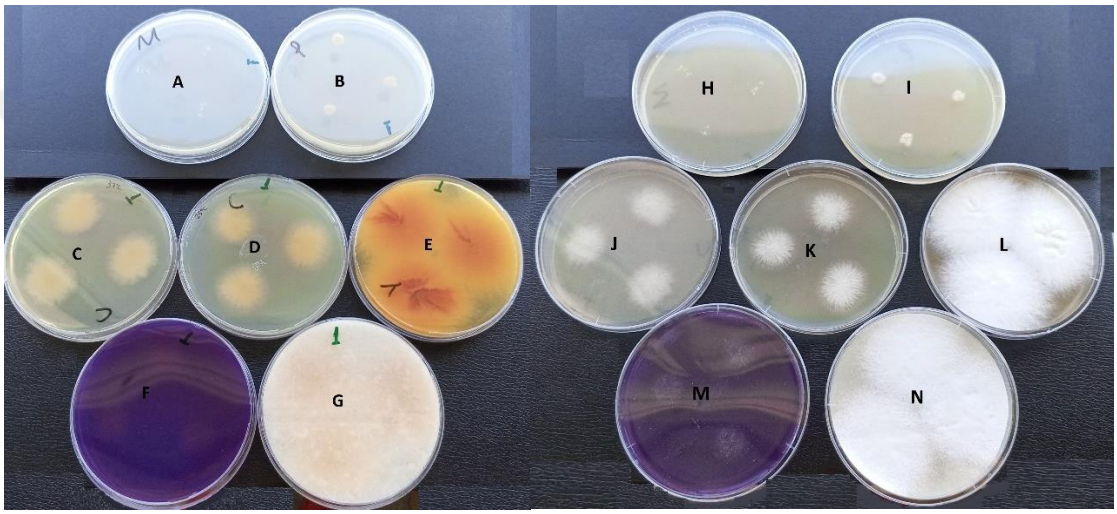
Çoğrafi Bölge	İl	İzolat Numarası
Marmara	Edirne	22-41*
	İstanbul	34-147*
	Sakarya	54-26*
	Yalova	77-28*
		77-31*
Ege	Afyonkarahisar	03-15*
		03-36*
		03-37
	İzmir	35-13
		35-37*
	Kütahya	43-7*
	Muğla	48-17*
		48-78*
	Uşak	64-6*
		64-72*

*: Moleküler çalışmalar için seçilmiş temsili izolatlardır.

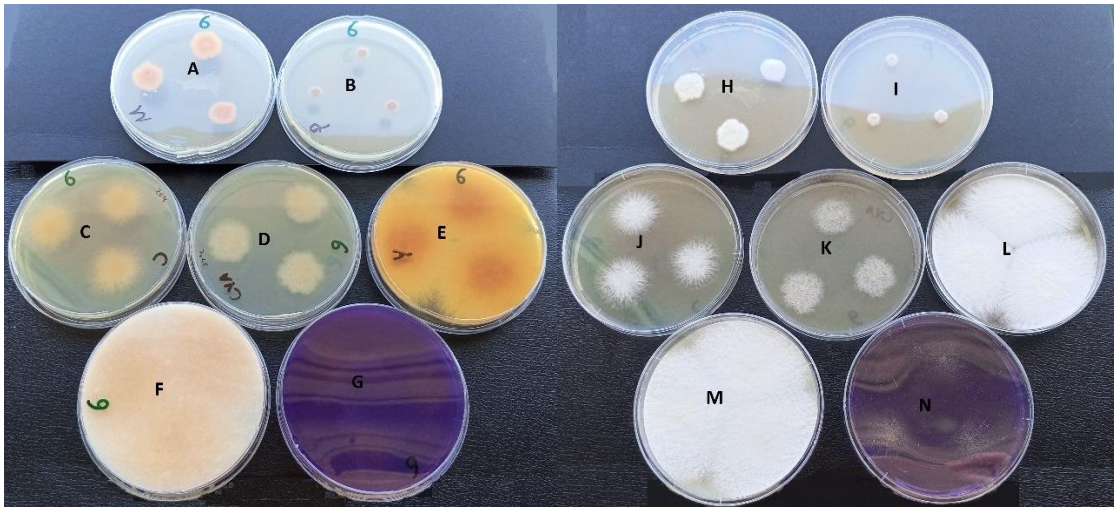
Canlandırma işlemi ardından toplam 15 izolat *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olduğu düşünülmektedir.

4.2. *Paecilomyces* ve Yakın Cins İzolatlarının Morfolojik Teşhisi

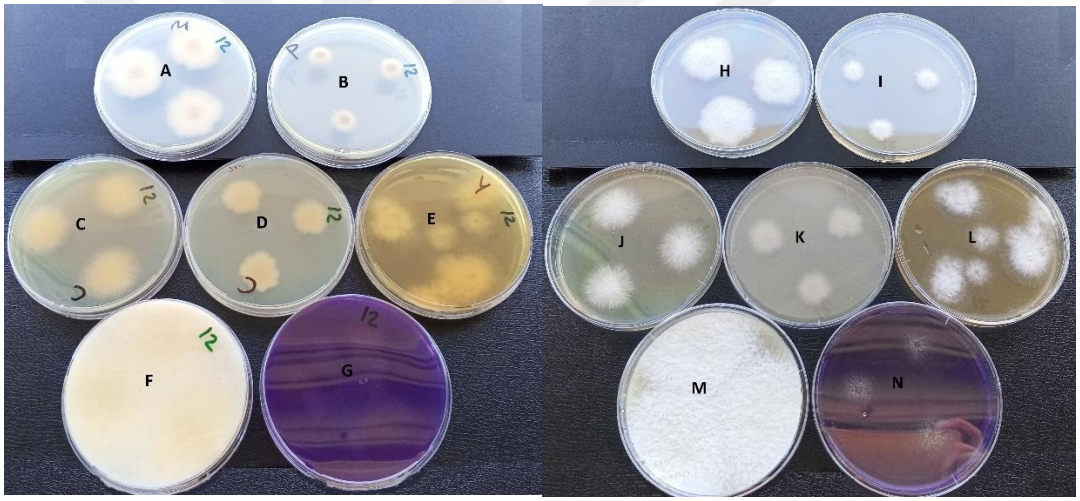
Her bir izolat için teşhis besiyerlerine ekimleri yapılım verileri kayıt altına alınmıştır. Koloni morfolojileri (Şekil 4.1- Şekil 4.13.), ölçümleri (Çizelge 4.2.) morfolojik verileri (Çizelge 4.3., Çizelge 4.4., Çizelge 4.5., Çizelge 4.6., Çizelge 4.7. ve Çizelge 4.8.) ve ışık mikroskobundaki görüntüleri Çizelge 4.9.'da, mikroskobik ölçümleri de Çizelge 4.10'da verilmiştir.



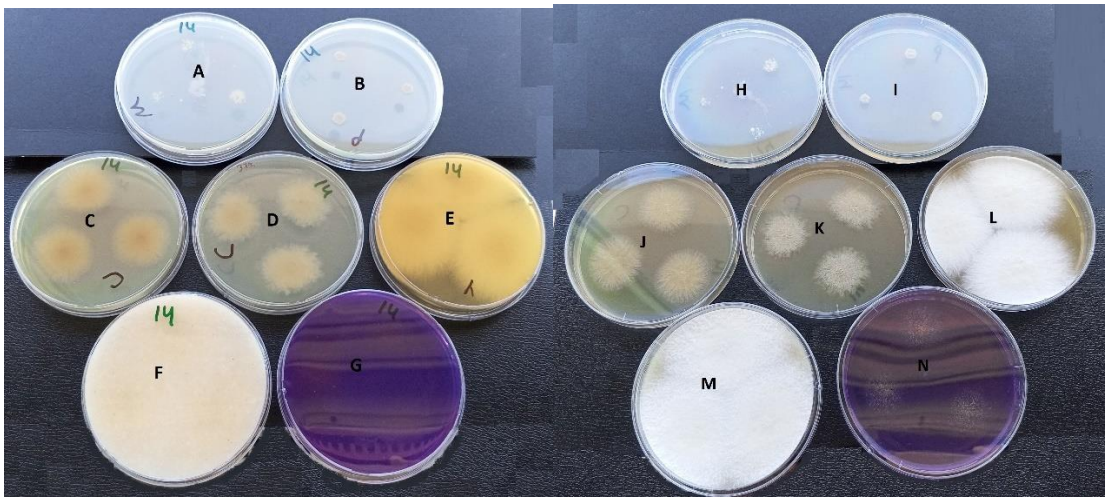
Şekil 4.1. 3-36, *Byssochlamys nivea* morfotip 1. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: CREA; G, N: OA.



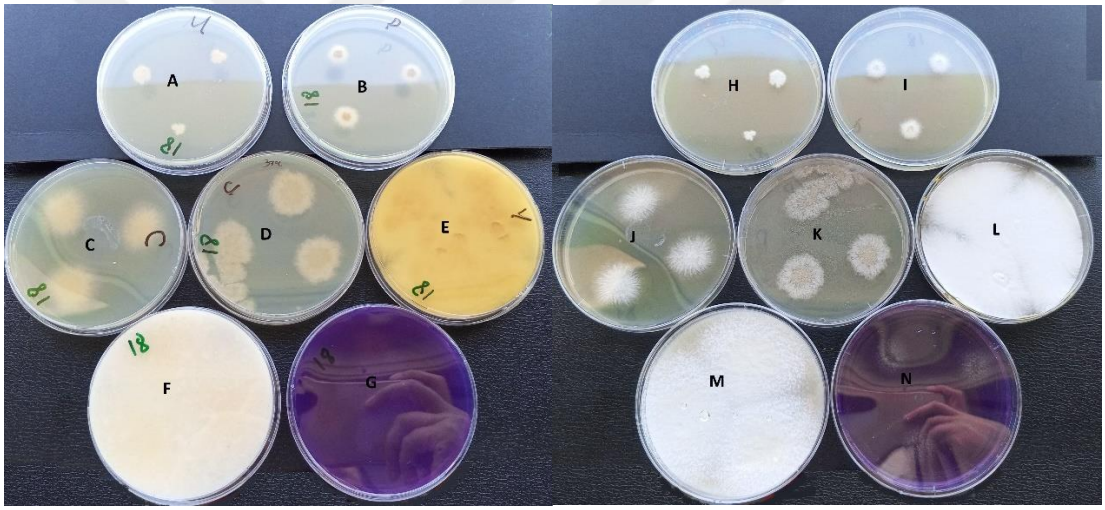
Şekil 4.2. 35-37 *Byssochlamys nivea* morfotip 2. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA.



Şekil 4.3. 48-78 *Byssochlamys nivea* morfotip 3. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA.



Şekil 4.4. 54-26 *Byssochlamys nivea* morfotip 4. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA.



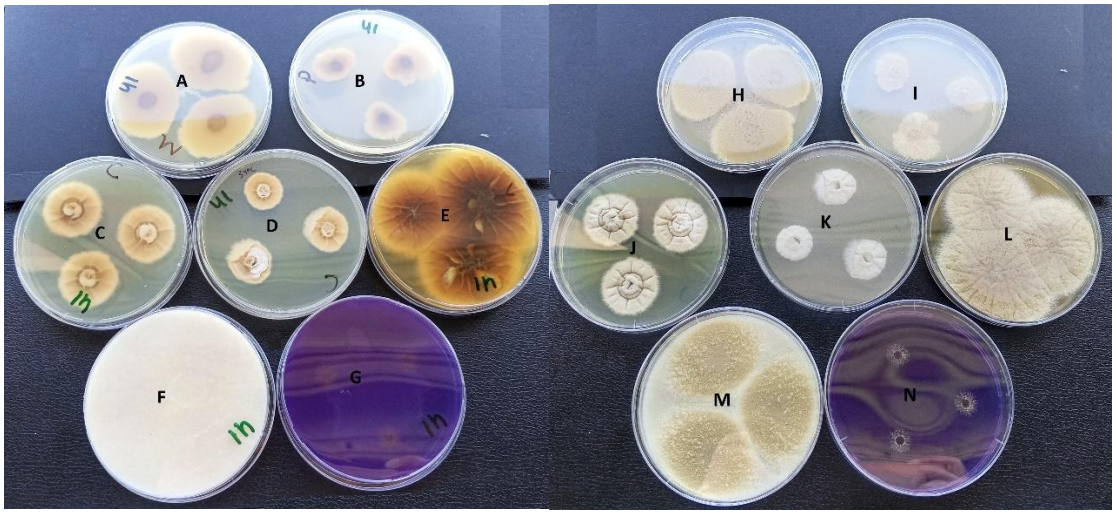
Şekil 4.5. 77-28 *Byssochlamys nivea* morfotip 5. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA.



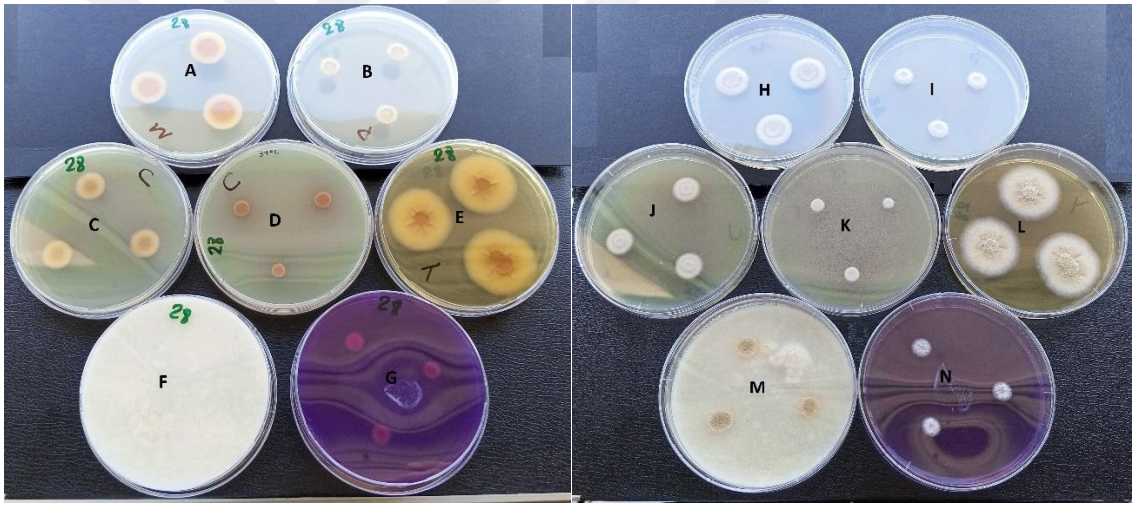
Şekil 4.6. 3-15 *Byssochlamys nivea* morfotip 6. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA



Şekil 4.7. 22-41 *Byssochlamys nivea* morfotip 7. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA.



Şekil 4.8. 77-31 *Byssochlamys nivea* morfotip 8. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA.



Şekil 4.9. 48-17 *Paecilomyces divaricatus* morfotip 1. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA.



Şekil 4.10. 64-72 *Paecilomyces divaricatus* morfotip 2. Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA



Şekil 4.11. 34-147 *Paecilomyces variotii* (moleküler çalışmalar sonucunda *P. brunneolus* sonucuna varıldı). Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA



Şekil 4.12. 64-6 *Paecilomyces dactylethromorphus* morfotip 1 (moleküler çalışmalar sonucunda *P. fulvus* sonucuna varıldı). Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA



Şekil 4.13. 43-7 *Paecilomyces dactylethromorphus* morfotip 1 (moleküler çalışmalar sonucunda *P. niveus* sonucuna varıldı). Petri plaklarının arka (A–G) ve ön (H–N) görünümleri. A, H: MEA; B, I: PDA; C, J: CYA25; D, K: CYA35; E, L: YES; F, M: OA; G, N: CREA

Çizelge 4.2. Morfolojik yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların teşhis besiyerlerindeki koloni çapları (koloni çapları küçükten büyüğe doğru sıralanmıştır)

İzolat No	MEA	PDA	CYA	YES	CREA	OA
3-36	43-(45)-46	48-(49)-50	32-(33)-34	65-(68)-70	20-(25)-28	53-(60)-61
35-37	55-(65)-70	25-(28)-28	32-(36)-38	63-(65)-67	47-(48)-50	67-(67)-70
48-78	65-(65)-65	29-(30)-30	40-(40)-40	64-(66)-69	52-(53)-55	70-(70)-71
54-26	59-(60)-69	20-(20)-22	35-(39)-42	69-(70)-75	20-(25)-30	55-(59)-60
77-28	60-(66)-70	47-(47)-48	32-(35)-33	65-(66)-67	49-(50)-55	53-(57)-62
48-17	33-(35)-39	28-(29)-30	16-(16)-17	30-(31)-31	21-(24)-27	28-(30)-35
64-72	35-(38)-50	36-(36)-37	39-(39)-39	49-(50)-51	35-(36)-36	55-(58)-60
34-147	52-(53)-55	64-(66)-69	42-(43)-43	65-(65)-65	10-(15)-18	61-(70)-77
3-15	64-(69)-70	45-(46)-46	31-(32)-35	63-(68)-70	18-(19)-21	62-(65)-70
22-41	65-(66)-67	50-(52)-53	41-(45)-45	65-(65)-70	28-(32)-35	69-(70)-75
43-7	52-(60)-62	50-(50)-51	69-(69)-70	69-(70)-72	9-(10)-10	70-(71)-72
77-31	28-(42)-45	39-(40)-41	52-(55)-56	70-(70)-71	15-(22)-25	69-(71)-73
64-6	63-(65)-66	69-(70)-71	55-(61)-61	65-(69)-72	69-(70)-70	71-(73)-74

Çizelge 4.3. Morfolojik yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların MEA besiyerindeki koloni morfolojileri

İzolat No	Koloni Üstten Rengi	Koloni Alttan Rengi	Koloni Tekstürü	Eksuda (var-yok, varsa rengi)	Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)	Çözünür Pigment
3-36	Kırık beyaz	Turuncu sarı	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
35-37	Kırık beyaz	Turuncu sarı	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
48-78	Kırık beyaz	Turuncu sarı	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
54-26	Kırık beyaz	Açık sarı	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
77-28	Kırık beyaz	Turuncu sarı	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
48-17	Asker yeşili	Turuncu	Kadife	Yok	Yok	Yok
64-72	Sarı, kahverengi, beyaz	Sarı, kahve	Yünsü	Yok	Yok	Yok

Çizelge 4.3. Morfolojik yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların MEA besiyerindeki koloni morfolojileri (devamı)

İzolat No	Koloni Üstten Rengi	Koloni Alttan Rengi	Koloni Tekstürü	Eksuda (var-yok, varsa rengi)	Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)	Çözünür Pigment
34-147	Açık Kahverengi	Açık Kahverengi	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
3-15	Beyaz	Açık Krem	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
22-41	Beyaz	Açık Krem	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
43-7	Kırık beyaz	Turuncu sarı	Kadifemsi	Var, şeffaf	Yok	Yok
77-31	Beyaz	Krem	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
64-6	Açık Kahverengi	Sarı	Yünsü	Yok	Yok	Yok

Çizelge 4.4. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların CYA besiyerindeki koloni morfolojileri

İzolat No	Koloni Üstten Rengi	Koloni Alttan Rengi	Koloni Tekstürü	Eksuda (var-yok, varsa rengi)	Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)	Çözünür Pigment
3-36	Kırık beyaz	Krem beyaz	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
35-37	Kırık beyaz	Turuncu, açık kahverengi	Kadifemsi	Yok	Var, ışınsal	Yok
48-78	Kırık beyaz	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
54-26	Kırık beyaz, açık kahverengi	Açık kahverengi	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
77-28	Kırık beyaz	Açık sarı	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok

Çizelge 4.4. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların CYA besiyerindeki koloni morfolojileri (devamı)

İzolat No	Koloni Üstten Rengi	Koloni Alttan Rengi	Koloni Tekstürü	Eksuda (var-yok, varsa rengi)	Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)	Çözünür Pigment
48-17	Beyaz, açık Kahverengi	Açık Kahverengi	Kadife	Yok	Yok	Var, Kahverengi
64-72	Sarı, kahverengi, beyaz	Sarı, kahve	Yünsü	Yok	Var, ışınsal	Yok
34-147	Beyaz	Turuncu, sarı	Kadifemsi	Yok	Var, Işınsal	Yok
3-15	Açık kahverengi	Turuncu, açık kahverengi	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
22-41	Kırık beyaz, grimsi	Turuncu, açık kahverengi	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
43-7	Kırık beyaz	Açık kahverengi	Kadifemsi, yünsü	Yok	Yok	Yok
77-31	Kırık beyaz	Krem	Kadifemsi	Var, Şeffaf	Yok	Yok
64-6	Kahverengi	Açık kahverengi	Kadifemsi	Yok	Var, az ışınsal	Yok

Çizelge 4.5. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların PDA besiyerindeki koloni morfolojileri

İzolat No	Koloni Üstten Rengi	Koloni Alttan Rengi	Koloni Tekstürü	Eksuda (var-yok, varsa rengi)	Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)	Çözünür Pigment
3-36	Krem beyaz	Turuncu	Yünsü	Yok	Yok	Yok

Çizelge 4.5. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların PDA besiyerindeki koloni morfolojileri (devamı)

İzolat No	**Koloni Üstten Rengi**	**Koloni Alttan Rengi**	**Koloni Tekstürü**	**Eksuda (var-yok, varsa rengi)**	**Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)**	**Çözünür Pigment**
35-37	Krem beyaz, açık kahverengi	Turuncu	Yünsü	Yok	Yok	Yok
48-78	Beyaz, açık kahverengi	Açık kahverengi	Yünsü	Yok	Yok	Yok
54-26	Açık kahverengi	Açık kahverengi	Yünsü	Yok	Yok	Yok
77-28	Kırık beyaz, açık kahverengi	Krem, Açık kahverengi	Kadifemsi, yünsü	Yok	Yok	Yok
48-17	Açık yeşil	Açık Turuncu, sarı	Yünsü	Yok	Yok	Yok
64-72	Sarı, açık yeşil	Açık sarı, kahverengi	Yünsü	Yok	Yok	Yok
34-147	Krem	Krem	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
3-15	Beyaz	Turuncu	Yünsü	Yok	Yok	Yok
22-41	Krem beyaz	Turuncu	Yünsü	Yok	Yok	Yok
43-7	Kırık beyaz	Turuncu	Yünsü	Yok	Yok	Yok
77-31	Beyaz-Krem	Krem	Yünsü-Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
64-6	Krem-gri	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok

Çizelge 4.6. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslere ait olan izolatların YES besiyerindeki koloni morfolojileri

İzolat No	Koloni Üstten Rengi	Koloni Alttan Rengi	Koloni Tekstürü	Eksuda (var-yok, varsa rengi)	Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)	Çözünür Pigment
3-36	Krem beyaz	Kırmızı, turuncu	Yünsü	Yok	Var, ışınsal	Yok
35-37	Krem	Turuncu	Yünsü	Yok	Yok	Yok
48-78	Beyaz	Sarı	Yünsü	Yok	Yok	Yok
54-26	Krem beyaz	Sarı	Yünsü	Yok	Yok	Yok
77-28	Kırık beyaz	Sarı	Pamuksu	Yok	Yok	Yok
48-17	Krem, deve tüyü	Turuncu	Yünsü	Yok	Var, ışınsal	Yok
64-72	Krem, sarı	Açık kahverengi, turuncu	Yünsü, kadifemsi	Yok	Var, ışınsal	Yok
34-147	Açık kahverengi	Açık turuncu	Kadifemsi	Yok	Var, ışınsal ve dairesel	Yok
3-15	Beyaz	Turuncu	Kadifemsi	Yok	Var, ışınsal	Yok
22-41	Kırık beyaz	Açık turuncu	Kadifemsi	Yok	Var, ışınsal	Yok
43-7	Kırık beyaz	Sarı	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
77-31	Beyaz krem	Turuncu	Kadifemsi, yünsü	Yok	Var, ışınsal	Yok
64-6	Kahverengi	Açık kahverengi	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok

Çizelge 4.7. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların OA besiyerindeki koloni morfolojileri

İzolat No	Koloni Üstten Rengi	Koloni Alttan Rengi	Koloni Tekstürü	Eksuda (var-yok, varsa rengi)	Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)	Çözünür Pigment
3-36	Beyaz, krem	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
35-37	Krem	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok

Çizelge 4.7. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların OA besiyerindeki koloni morfolojileri (devamı)

İzolat No	**Koloni Üstten Rengi**	**Koloni Alttan Rengi**	**Koloni Tekstürü**	**Eksuda (var-yok, varsa rengi)**	**Sulkasyon (Var-yok, varsa şekli)**	**Çözünür Pigment**
48-78	Kırık beyaz	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
54-26	Krem beyaz	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
77-28	Krem	Krem	Yünsü	Var, şeffaf	Yok	Yok
48-17	Açık kahverengi	Krem	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
64-72	Kahverengi	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
34-147	Krem	Krem	Kadifemsi	Yok	Yok	Yok
3-15	Kırık beyaz	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
22-41	Krem	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
43-7	Beyaz	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
77-31	Kırık beyaz	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok
64-6	Krem, açık kahverengi	Krem	Yünsü	Yok	Yok	Yok

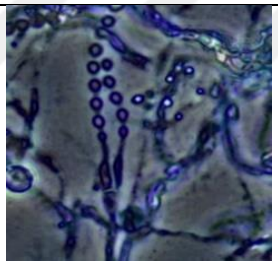
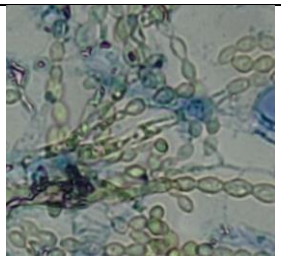
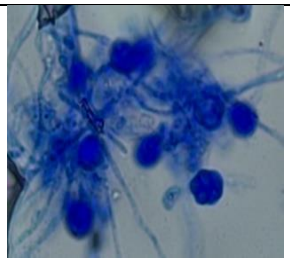
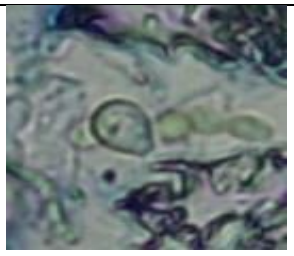
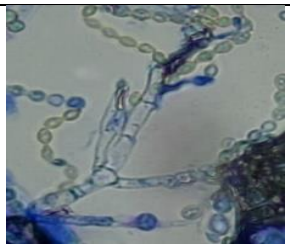
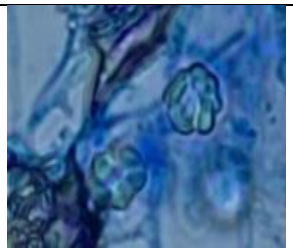
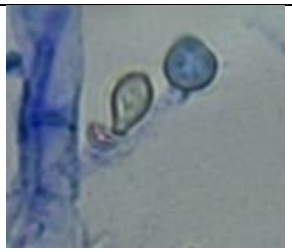
Çizelge 4.8. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların CREA besiyerindeki asit oluşturma yetenekleri

İzolat No	**Asit oluşturma yeteneği (Var ‘’+’’, Yok ‘’-‘’**
3-36	-
35-37	-
48-78	-
54-26	-
77-28	-
48-17	-
64-72	-
34-147	-

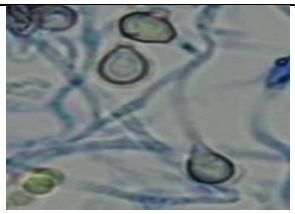
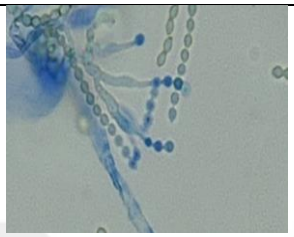
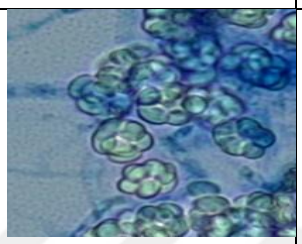
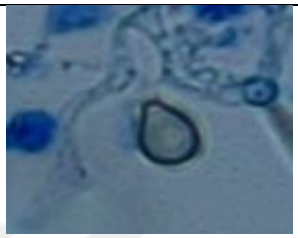
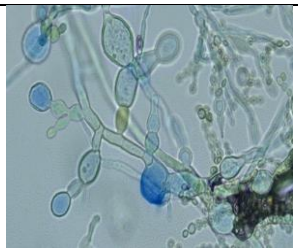
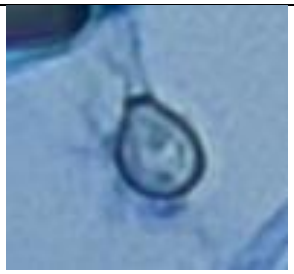
Çizelge 4.8. Morfolojik ve moleküler yönden *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olan izolatların CREA besiyerindeki asit oluşturma yetenekleri (devamı)

İzolat No	**Asit oluşturma yeteneği (Var ‘’+’’, Yok ‘’-‘’**
3-15	-
22-41	+
43-7	-
77-31	-
64-6	+

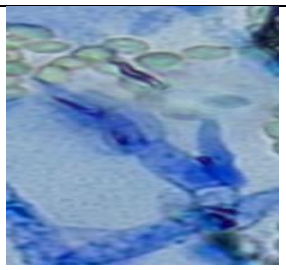
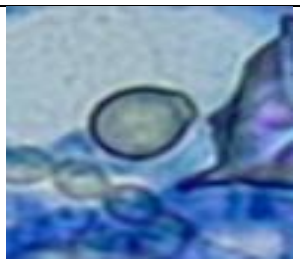
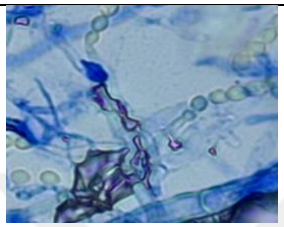
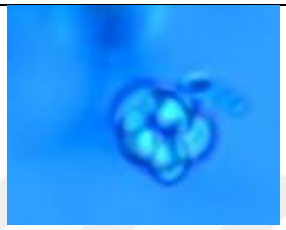
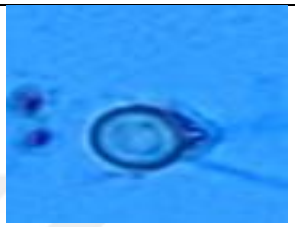
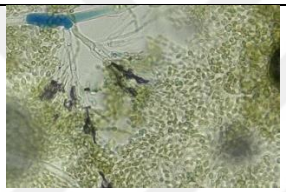
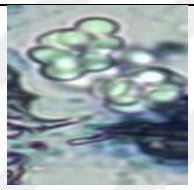
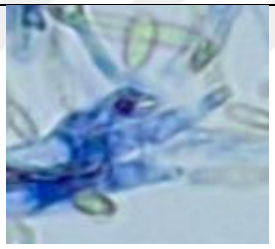
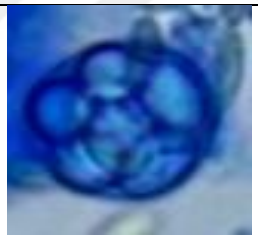
Çizelge 4.9. Temsili seçilen 13 izolatın mikroskobik yapıları (konidiofor, spor, askospor ve klamidospor) yapıları

İzolat No	**Konidiofor**	**Askospor**	**Klamidospor**
3-36		Gözlemlenmemiştir *	
35-37			
48-78			

Çizelge 4.9. Temsili seçilen 13 izolatın mikroskobik yapıları (konidiofor, spor, askospor ve klamidospor) yapıları (devamı)

54-26		Gözlemlenmemiştir *	
77-28			
48-17			Gözlemlenmemiştir *
64-72		Gözlemlenmemiştir *	Gözlemlenmemiştir *
34-147		Gözlemlenmemiştir *	
3-15		Gözlemlenmemiştir *	

Çizelge 4.9. Temsili seçilen 13 izolatın mikroskobik yapıları (konidiofor, spor, askospor ve klamidospor) yapıları (devamı)

22-41		Gözlemlenmemiştir *	
43-7			
77-31			
64-6			

Çizelge 4.10. Temsili seçilen 13 izolatın mikroskobik (konidiofor, spor, askospor ve klamidospor) yapılarının ölçümleri

İzolat No	**Konidiyofor (µm)**	**Konidi uzunluğu (µm) Spor**	**Klamidospor (µm)**	**Askospor (µm)**
3-36	9-10 x 1-2	2.47-5.11 x 1.5- 2.9	5.3-6.4 x 4.4-5.8	Gözlenmemiştir*
35-37	12-18 x 1-2	1.50-2.05 x 2.10-3.5	5.4-8.8 x 5-6.5	4.5-8.7 x 5-7.2
48-78	19-27 x 2-4	3-5 x 1.9- 3.25	6-7.4 x 3.2-4.6	5.9-6.3 x 7-7.2
54-26	7-10 x 1-2	2.47-3.8 x 1.8-3.6	3.95-6.18 x 4.5-5.6	Gözlenmemiştir*
77-28	20-24 x 2.7-3.4	2.5-4.02 x 2.28-3.06	5.4-7 x 3.9-5.3	6.6-7.8 x 6-8.5
48-17	19-25 x 1-1,5	2.5-4.2 x 1.7-2.3	Gözlenmemiştir*	7-8.5 x 7-8.4

Çizelge 4.10. Temsili seçilen 13 izolatın mikroskobik (konidiofor, spor, askospor ve klamidospor) yapılarının ölçümleri (devamı)

İzolat No	Konidiyofor (µm)	Konidi uzunluğu (µm) Spor	Klamidospor (µm)	Askospor (µm)
64-72	7-11 x 1-1,5	2.3-4.1 x 1.5-2	Gözlenmemiştir*	Gözlenmemiştir*
34-147	1.3-1.8 x 1-2	0.1-0.2 x 2.10-3.5	Gözlemlenmemiştir *	Gözlemlenmemiştir *
3-15	1.3-2.3 x 1-2	0.1-0.3x 2.1-4.3	6.18-7.89 x 5-6.45	Gözlemlenmemiştir *
22-41	1.7-2.5 x 1-2	0.25-0.4 x 2.35-4.05	6.3-7.7 x 6.47-7.5	Gözlemlenmemiştir *
43-7	1.1-2 x 2-3	0.1-0.2 x 1-3.5	0.5-1.0 x 0.6-0.8	0.7-0.8 x 0.5-0.4
77-31	1.4-1.9 x 1-2	2.47-3.8 x 1.8-3.6	3.95-6.18 x 4.5-5.6	4.2-5.2 x 5-7
64-6	1.2-2.3 x 1-2	4.8-6.2 x 1.3-2.2	5-6 x 3.2-5	7-8.5 x 10-11

4.2.1. Uygun Litaratüre Göre Morfolojik Teşhis

Litaratüre uygun şekilde yapılmış olan morfolojik teşhis sonucunda toplam 15 izolatın *Paecilomyces* ve yakın cinslerine ait olduğu tespit edildi. Bunlardan 10 izolat *Byssochlamys nivea* türüne ait olarak belirlenip aralarından 8 izolat moleküler çalışmalar için temsili seçildi. *Paecilomyces variotii* 1 izolat, *Paecilomyces divaricatus* 2 morfotip ve *Paecilomyces dactylethromorphus* 2 izolat morfotip olarak seçilmiştir.

Çizelge 4.11. Uygun litaratüre göre morfolojik teşhis sonuçları

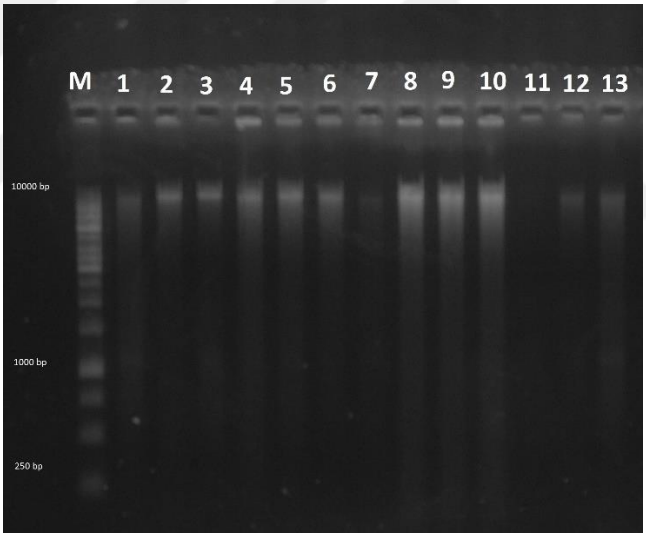
Morfolojik Teşhis *Morfotip, tür içi morfolojik varyasyon gösteren izolatlar gruplara ayrılmıştır.	**İzolat Sayısı**	**İzolat No (Şekil 4.1-Şekil 4.13.)**	**Moleküler Çalışmalar İçin Kullanılan Kodlar**
Byssochlamys nivea (1. Grup) *	2	35-37 35-13	1
Byssochlamys nivea (2. Grup) *	1	77-28	2
Byssochlamys nivea (3. Grup) *	1	3-36	3
Byssochlamys nivea (4. Grup) *	1	54-26	4
Byssochlamys nivea (5. Grup) *	1	48-78	5
Byssochlamys nivea (6. Grup) *	2	3-15 3-37	6

Çizelge 4.11. Uygun litaratüre göre morfolojik teşhis sonuçları (devamı)

Byssochlamys nivea (7. Grup) *	1	22-41	7
Byssochlamys nivea (8. Grup) *	1	77-31	8
Paecilomyces variotii	1	34-147	9
Paecilomyces divaricatus	2	48-17	10
		64-72	11
Paecilomyces dactylethromorphus	2	64-6	12
		43-7	13

4.3. *Paecilomyces* ve Yakın Cins İzolatlarının Moleküler Teşhisi ve Filogenetik Analizi

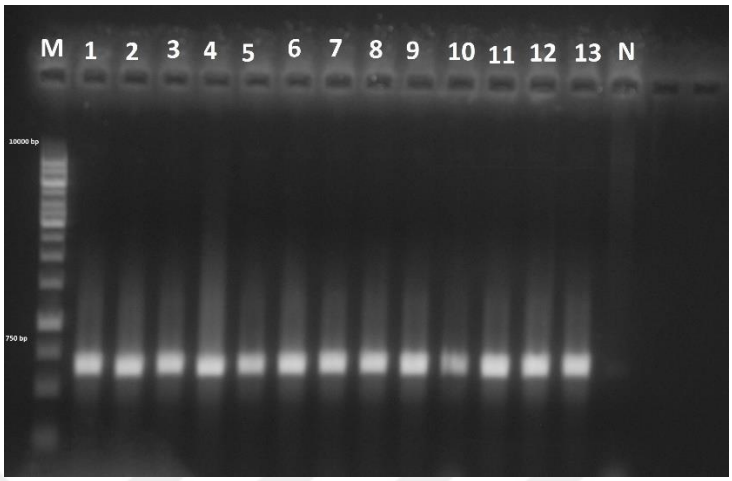
Morfolojik ve mikroskobik tanımlamaları yapılmış olan ve temsili olarak seçilmiş 13 izolatın önce gDNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. DNA saflıklarını kontrol etmek amaçlı jel elektroforezin yapılmış ve UV cihazında oluşan görüntüleri Şekil 4.14.'dir.



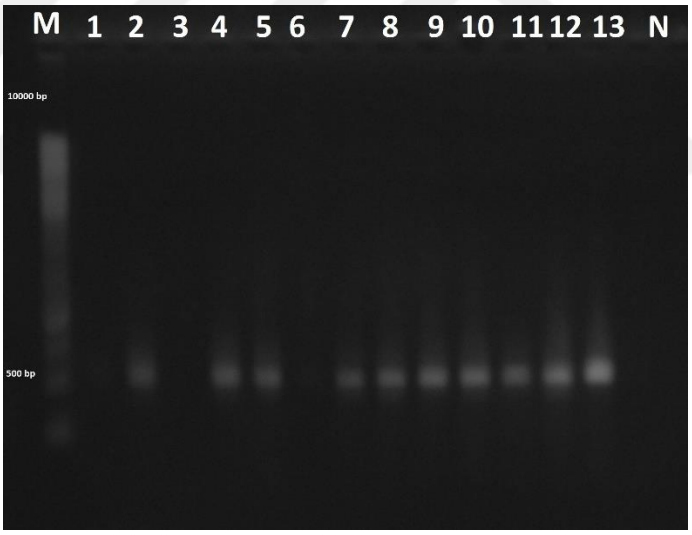
Şekil 4.14. Genomik DNA izolasyon ürünleri. Kullanılan Marker (M); 1 kb Marker (SM0311)

Saf oldukları emin olunan tüm temsili izolatların ITS (Şekil 4.15.), BT2 (Şekil 4.16.), CL (Şekil 4.17.) ve RPB2 (Şekil 4.18.) gen bölgeleri için PCR işlemi gerçekleştirilmiş olup jel elektroforezi yapılmıştır. Çift bant veya hiç bant görünmemiş olan örnekler için PCR optimizasyonu ile uygun bağlanma sıcaklıkları belirlenmiş veya alternatif primer ile PCR işlemi tekrar edilmiştir. İstenilen boyutta bantlaşma elde edilen örnekler saflaştırma ve sekans işlemi için BM Laboratuvar Sistemleri'ne gönderilmiştir. Sekans analizi için

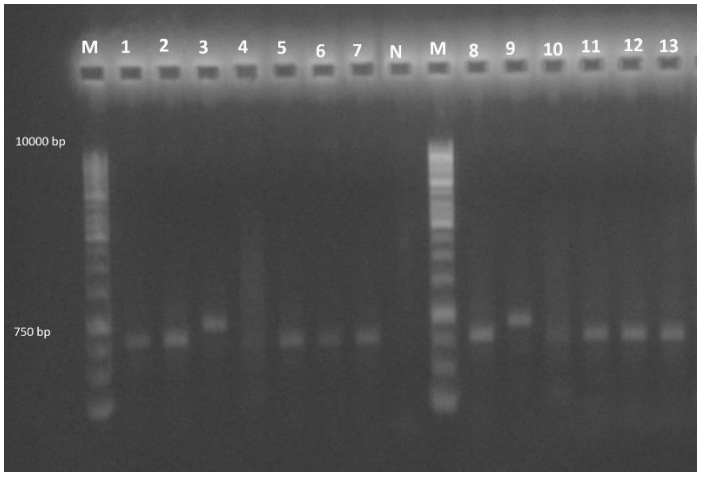
geri primerler kullanılmıştır. Elde edilen sekans sonuçları Finch Tv yardımıyla okuması yapılıp NCBI veri bankasındaki eşleşmelerine bakılıp tip türleri tespit edilmiştir. Yapılan bu kıyaslama sonucunda filogenetik analizi gerçekleştirilmiştir.



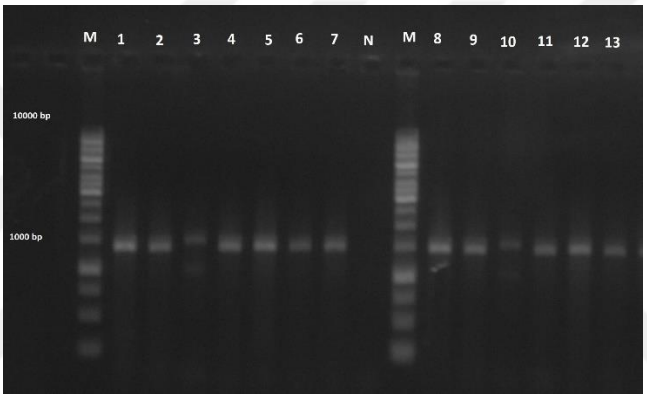
Şekil 4.15. ITS gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol)



Şekil 4.16. Beta Tubulin gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol)



Şekil 4. 17. Kalmodulin gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol)



Şekil 4. 18. RPB2 gen bölgesine ait jel görüntüsü (M: Marker, N: Negatif kontrol)

Her bir takson için, izolatların NCBI veri bankasındaki tip türleriyle yapılan karşılaştırmaların sonuçları, en yakın Blast sonuçlarına ait verilerle birlikte sekans değerlendirme dökümanında yer alan tabloya kaydedilmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Multi lokus gen bölgelerin analiz sonuçları

İzolat Numarası	**Dizi Analizi İçin Seçilen Primer**	**Elde Edilen Dizi Uzunluğu**	**Eşleşen Baz Sayısı**	**NCBI Veri Bankasındaki En Yakın Karşılığı**
3-36	ITS4	824	787/787(%100)	%95 *Byssochlamys nivea* DQ322218.1 (*Paecilomyces niveus*)
	BT2B	490	475/478(%99)	%97 *Paecilomyces niveus* AY753355.1

Çizelge 4.12. Multi lokus gen bölgelerin analiz sonuçları (devamı)

İzolat Numarası	**Dizi Analizi İçin Seçilen Primer**	**Elde Edilen Dizi Uzunluğu**	**Eşleşen Baz Sayısı**	**NCBI Veri Bankasındaki En Yakın Karşılığı**
	CMD6	577	484/504(%96)	%87 *Paecilomyces niveus* EU021688.1
	RPB2 7CR-EUR	1009	993/996(%99)	%98 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
35-37	ITS4	558	547/552(%99)	%98 *Paecilomyces niveus* MH860335.1
	BT2B	490	477/480(%99)	%97 *Paecilomyces niveus* AY753355.*1*
	CMD6	564	516/519(%99)	%92 *Paecilomyces niveus EU021688.1*
	RPB2 7CR-EUR	1007	994/997(%99)	%99 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
48-78	ITS4	808	797/799(%99)	%98 *Byssochlamys nivea* DQ322218.1
	BT2B	490	475/477(%99)	%97 *Paecilomyces niveus* AY753355.1
	CMD6	580	505/508(%99)	%87 *Paecilomyces niveus* EU021688.1
	RPB2 7CR-EUR	1010	997/1001(%99)	%99 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
54-26	ITS4	811	797/798(%99)	%98 *Byssochlamys nivea* DQ322218.1
	BT2B	549	474/480(%99)	%87 *Byssochlamys nivea* AY753355.1
	CMD6	574	505/507(%99)	%88 *Paecilomyces niveus* EU021688.1

Çizelge 4.12. Multi lokus gen bölgelerin analiz sonuçları (devamı)

İzolat Numarası	**Dizi Analizi İçin Seçilen Primer**	**Elde Edilen Dizi Uzunluğu**	**Eşleşen Baz Sayısı**	**NCBI Veri Bankasındaki En Yakın Karşılığı**
	RPB2 7CR-EUR	1010	999/1001(%99)	%99 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
77-28	ITS4	811	800/804(%99)	%99 *Byssochlamys nivea* DQ322218.1
	BT2B	500	459/465(%99)	%93 *Paecilomyces niveus* AY753355.1
	CMD6	574	506/515(%98)	%89 *Paecilomyces niveus* EU021688.1
	RPB2 7CR-EUR	1014	1001/1003(%99)	%98 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
48-71	ITS4	802	767/801(%96)	%98 *Byssochlamys nivea* DQ322218.1
	BT2B	489	462/476(%97)	%97 *Paecilomyces divaricatus* AY753359.1
	CMD6	555	497/505(%98)	%90 *Paecilomyces divaricatus* FJ389954.1
	RPB2 7CR-EUR	982	817/956(%85)	%97 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
64-72	ITS4	808	763/807(%95)	%98 *Byssochlamys nivea* DQ322218.1
	BT2B	492	452/479(%94)	%97 *Paecilomyces divaricatus* AY753359.1
	CMD6	542	468/512(%91)	%92 *Paecilomyces divaricatus* FJ389954.1
	RPB2 7CR-EUR	1005	851/986(%86)	%97 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)

34-147	ITS4	739	704/731(%96)	%98 *Paecilomyces variotii* KX610124.1
	BT2B	511	470/480(%98)	%93 *Paecilomyces brunneolus PP197755.1*

Çizelge 4.12. Multi lokus gen bölgelerin analiz sonuçları (devamı)

İzolat Numarası	**Dizi Analizi İçin Seçilen Primer**	**Elde Edilen Dizi Uzunluğu**	**Eşleşen Baz Sayısı**	**NCBI Veri Bankasındaki En Yakın Karşılığı**
	CMD6	536	418/452(%92)	%83 *Paecilomyces paravariotii* PP197791.1
	RPB2 7CR-EUR	1024	995/1011(%98)	%98 *Paecilomyces brunneolus* PP197817.1
3-15	ITS4	738	667/681(%98)	%91 *Paecilomyces dactylethromorphus* PP191145.1
	BT2B	507	476/479(%99)	%94 *Paecilomyces niveus* AY753355.1
	CMD6	592	420/448(%94)	%75 *Paecilomyces niveus* EU021688.1
	RPB2 7CR-EUR	1114	1102/1106(%99)	%99 *Byssochlamys nivea* AF107794.1
22-41	ITS4	737	676/690(%98)	%92 *Paecilomyces dactylethromorphus* PP191145.1
	BT2B	509	452/478(%95)	%93 *Paecilomyces niveus* AY753355.1
	CMD6	589	356/369(%96)	%62 *Paecilomyces niveus* EU021688.1
	RPB2 7CR-EUR	988	973/976(%99)	%98 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
43-7	ITS4	739	676/690(%98)	%92 *Paecilomyces dactylethromorphus* PP191145.1

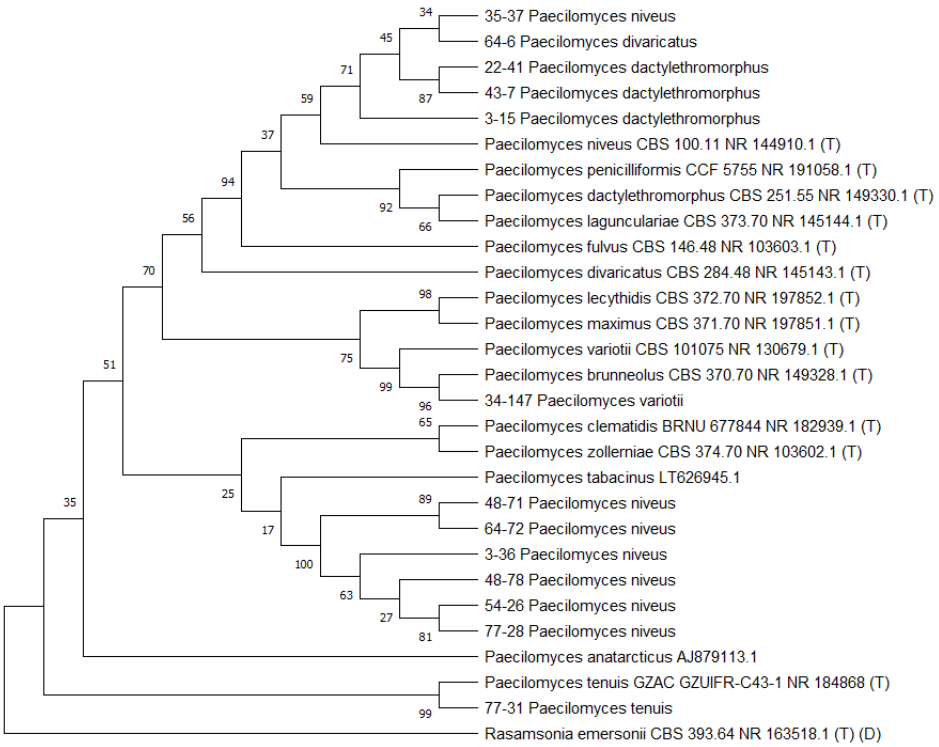
Çizelge 4.12. Multi lokus gen bölgelerin analiz sonuçları (devamı)

İzolat Numarası	**Dizi Analizi İçin Seçilen Primer**	**Elde Edilen Dizi Uzunluğu**	**Eşleşen Baz Sayısı**	**NCBI Veri Bankasındaki En Yakın Karşılığı**
	BT2B	507	473/478(%99)	%94 *Paecilomyces niveus* AY753355.1
	CMD6	551	531/538(%99)	%98 *Byssochlamys nivea* EU021688.1
	RPB2 7CR-EUR	986	971/974(%99)	%98 *Byssochlamys nivea* AF107794.1 (geçerli ismi *Paecilomyces niveus*)
77-31	ITS4	1137	514/556(%92)	%49 *Paecilomyces tenuis* KX621968.1
	BT2B	491	473/477(%99)	%97 *Byssochlamys nivea* AY753355.1
	CMD6	499	NCBI sonuç bulunamadı	
	RPB2 7CR-EUR	1013	999/1003(%99)	%99 *Byssochlamys nivea* AF107794.1
64-6	ITS4	704	422/425(%99)	%78 *Paecilomyces fulvus* MH860283.1
	BT2B	507	476/479(%99)	%94 *Paecilomyces fulvus* AB539867.1
	CMD6	550	516/521(%99)	%94 *Paecilomyces fulvus* FJ389957.1
	RPB2 7CR-EUR	1106	1059/1091(%97)	%99 *Byssochlamys nivea* AF107794.1

4.3.1. Filogenetik Çalışma Sonuçları

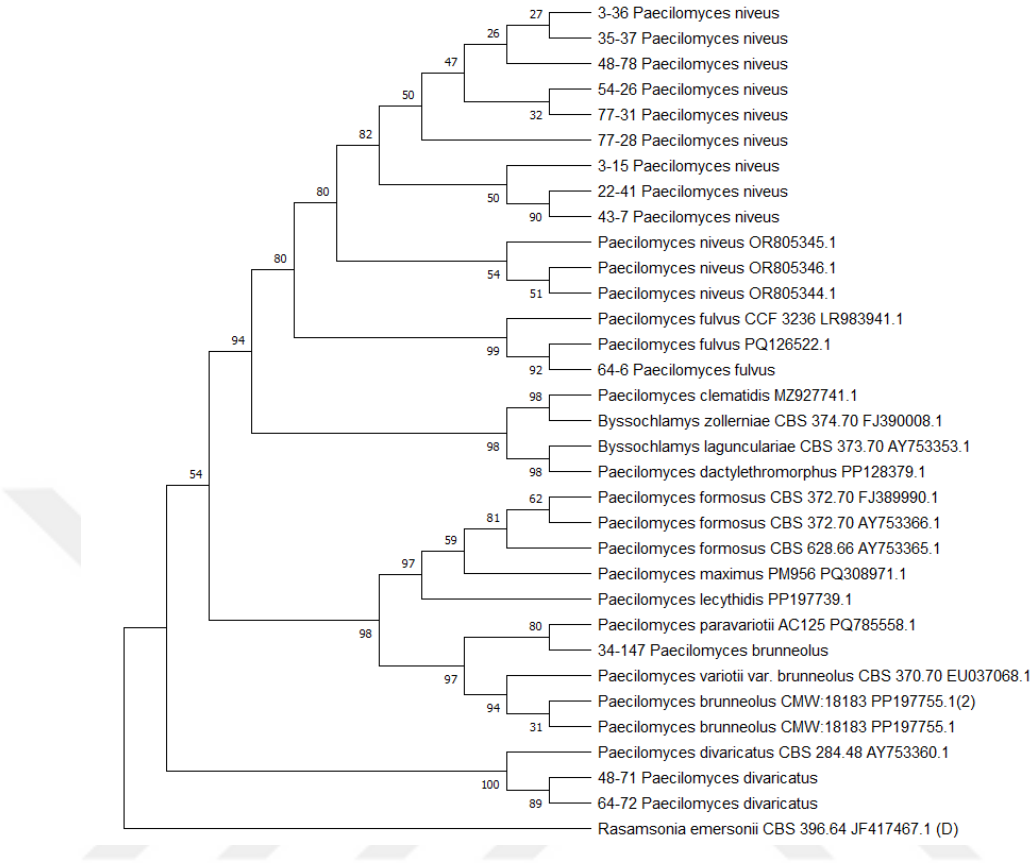
Bu çalışma kapsamında elde edilen 13 izolatın ITS (Şekil 4.19), β-tubulin (Şekil 4.20), kalmodulin (Şekil 4.21) ve RPB2 (Şekil 4.22) dizi verileri kullanılarak, NCBI veri tabanında yer alan *Paecilomyces* türleriyle birlikte filogenetik analizler gerçekleştirilmiş ve türler arasındaki akrabalık ilişkileri değerlendirilmiştir.

Internal Transcribed Spacer (ITS)



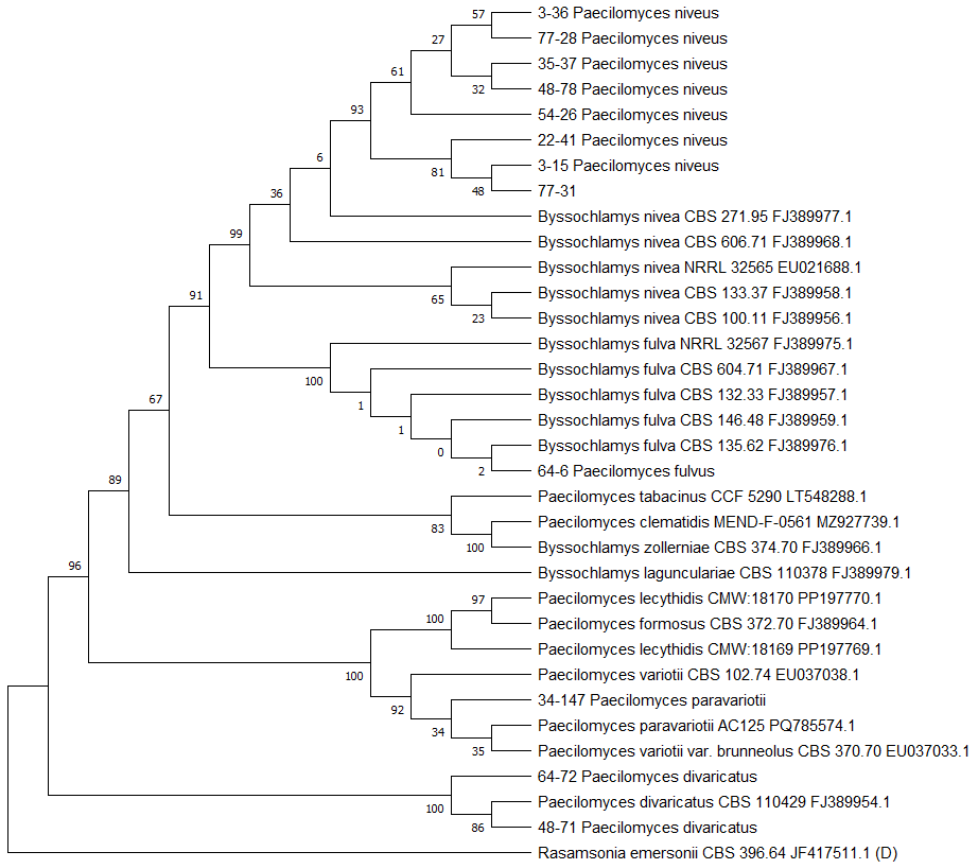
Şekil 4. 19. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen ITS dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 396.64 (NR_163518.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000)

Beta Tubulin



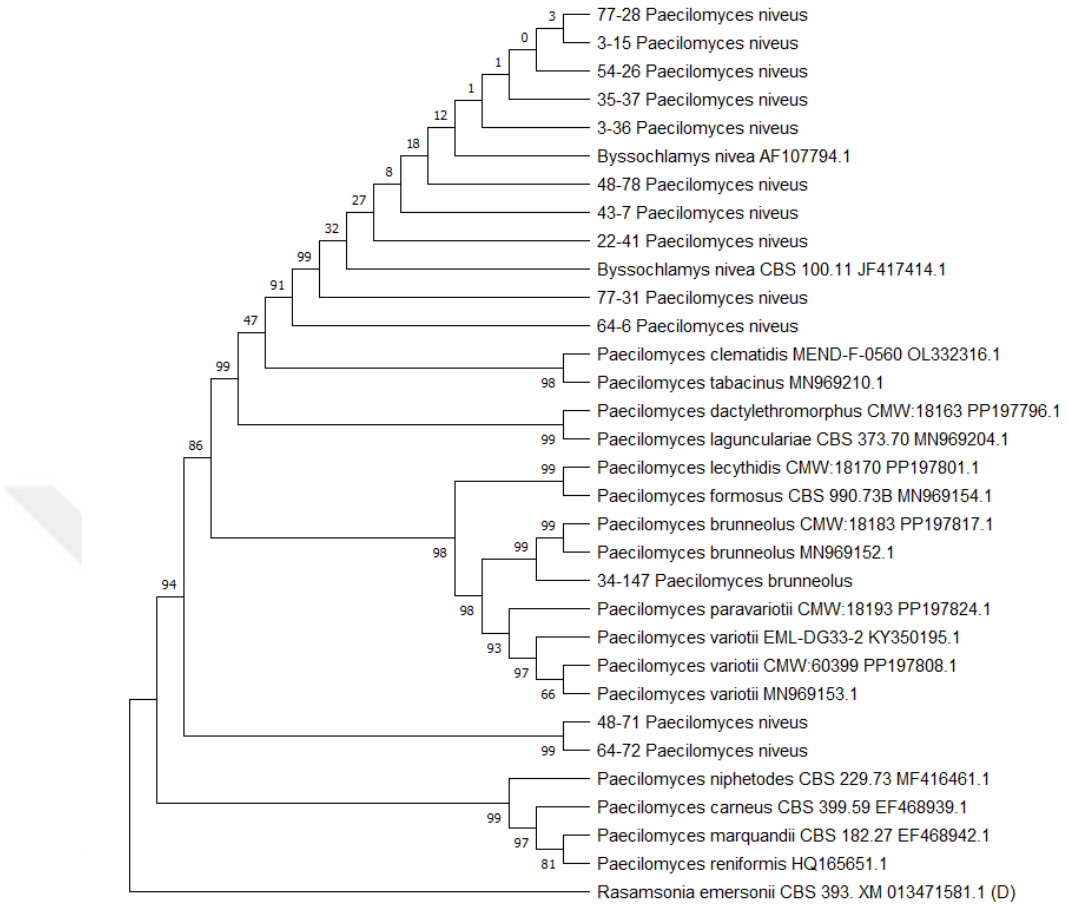
Şekil 4. 20. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen β-tubulin dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 396.64 (JF417467.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000)

Kalmodulin



Şekil 4. 21. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen kalmodulin dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 396.64 (JF417511.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000)

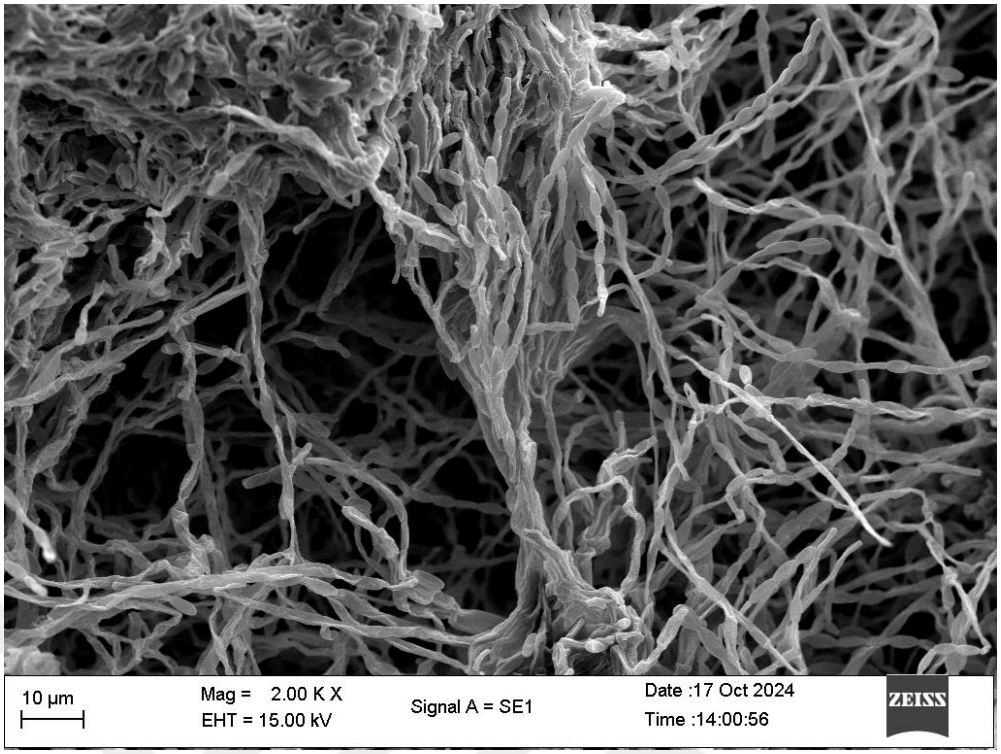
RNA Polymerase II B subunit (RPB2)



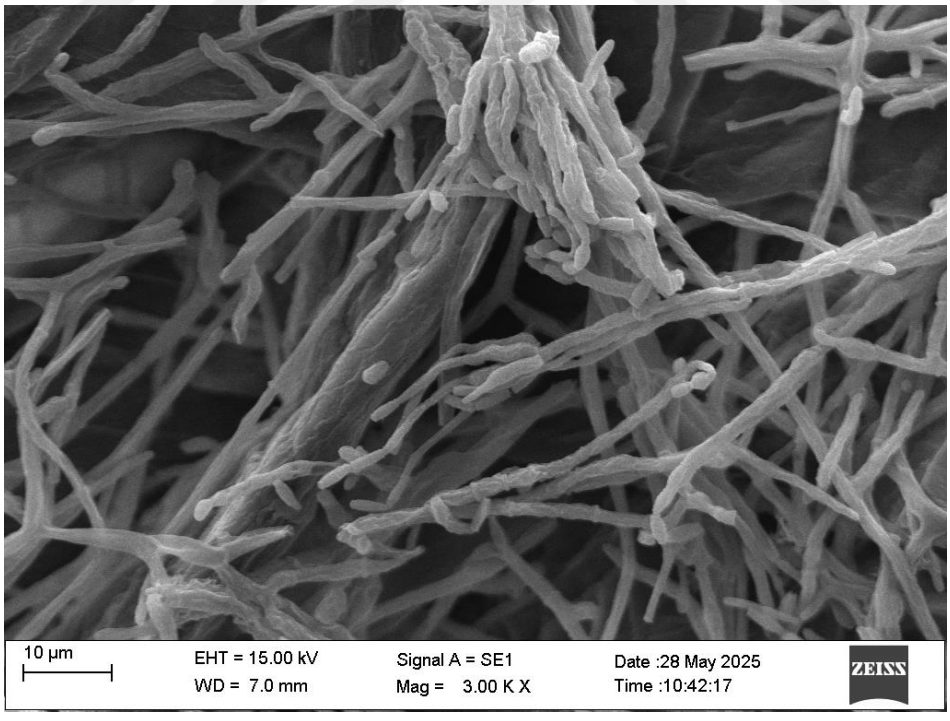
Şekil 4. 22. *Paecilomyces* türleri ile bu çalışmada elde edilen RPB2 dizilerinin filogenetik ilişkileri. En iyi maksimum olabilirlik ağacı, dış grup olarak *Rasamsonia emersonii* CBS 393 (XM_013471581.1) kullanılarak oluşturulmuştur (bootstrap = 1000)

4.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

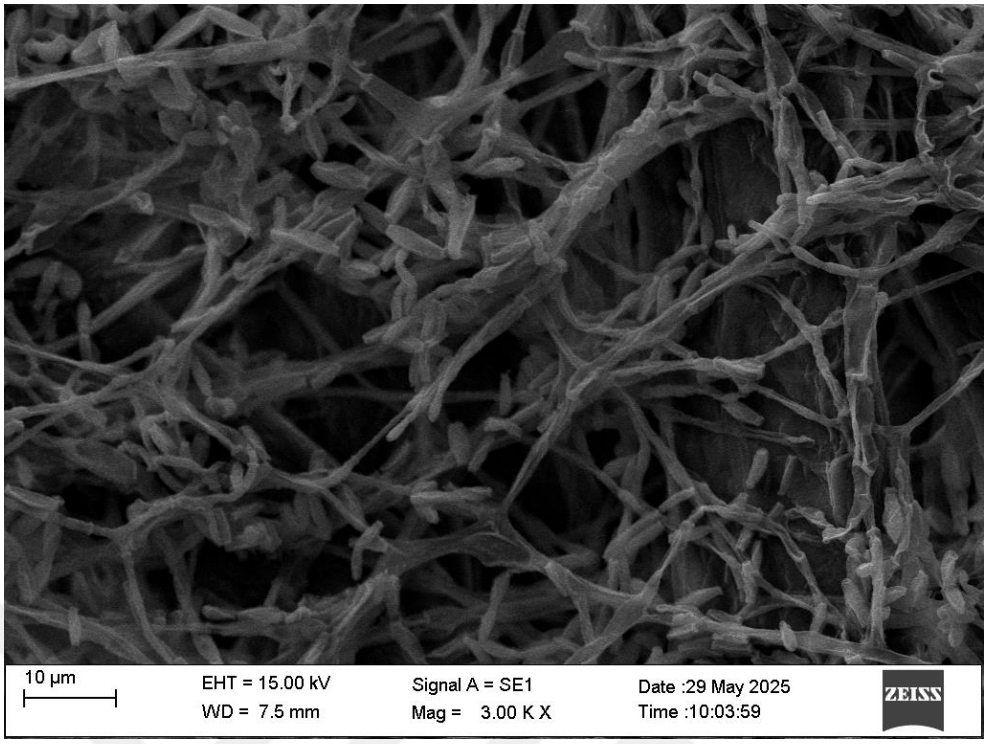
Multi lokus dizi analizi sonuçlarından sonra elde edilen veriler doğrultusunda 4 farklı *Paecilomyces* türü tespit edilmiş olup, bunlar *P. niveus* (Şekil 4.23), *P. divaricatus* (Şekil 4.24.), *P. fulvus* (Şekil 4.25) ve *P. brunneolus* (Şekil 4.26.) türleridir. Türlere ait fiyalid ve spor görüntüleri SEM ile çekilmiştir.



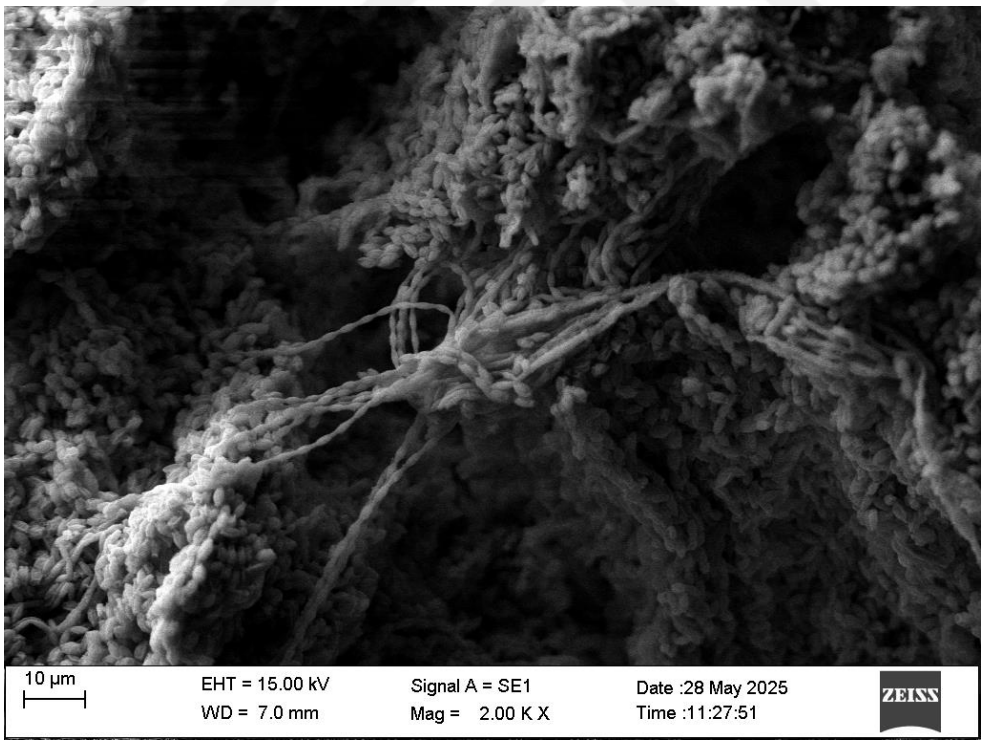
Şekil 4. 23. *P. niveus* (izolat no 3-36) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü



Şekil 4. 24. *P. divaricatus* (izolat no 64-72) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü



Şekil 4. 25. *P. fulvus* (izolat no 64-6) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü



Şekil 4. 26. *P. brunneolus* (izolat no 34-147) fiyalid ve spor yapılarının SEM görüntüsü

4.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, elde edilen verilerin analizi için SPSS Statistics 25.00 programı kullanılmıştır. Öncelikle, toprak özelliklerinin dağılımını incelemek amacıyla Kolmogorov-Smirnov testi uygulanmıştır. Toprak tipleri ve tür isimlerine göre toplam koloni sayılarındaki farklılıkları karşılaştırmak için Kruskal-Wallis H testi tercih edilmiştir. Ayrıca, sürekli değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla Spearman korelasyon analizi yapılmış ve korelasyon katsayıları Hair ve arkadaşlarının (2003) önerdiği sınıflamaya göre yorumlanmıştır. Bu sayede, verilerin anlamlı ve güvenilir bir şekilde değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Toprak tipi ve tür isimlerine ait bilgiler Çizelge 4.13.' dedir.

Çizelge 4.13. Toprak tipi ve tür isimleri

N=36	**n**	**%**
Toprak Tipi		
Balçık	1	2,8
Kil	8	22,2
Killi Balçık	12	33,3
Kumlu Balçık	4	11,1
Kumlu Killi Balçık	6	16,7
Tozlu Kil	4	11,1
Toz Balçığı	1	2,8
Tür İsmi		
P. niveus	9	25,0
P. brunneolus	1	2,8
P. fulvus	2	5,6
P. divaricatus	1	2,8

Toprak tiplerinden %2,8' inin balçık, %22,2' sinin kil, %33,3' ünün killi balçık, %11,1' inin kumlu balçık, %16,7' sinin kumlu killi balçık, %11,1' inin tozlu kil ve %2,8' inin toz balçığı toprak türü yer aldığı; Yapılan analizler sonucunda, tür isimleri açısından değerlendirilen örneklerin %73,3'ünün *Paecilomyces niveus*, %6,7'sinin *P. brunneolus*, %6,7'sinin *P. fulvus* ve %13,3'ünün ise *P. divaricatus* türüne ait olduğu belirlenmiştir. İllere göre numune adlarına ilişkin detaylı bilgiler ise Çizelge 4.14'te sunulmaktadır.

Çizelge 4.14. Çalışma kapsamında kullanılan illerden alınan toprak numunelerinde izole edilen *Paecilomyces* türlerinin sayısal ve oransal dağılımı

Numune Adı	Toprak 1		Toprak 2		Toprak 3		Toprak 4	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Afyonkarahisar	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8
Edirne	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8
İstanbul	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8
İzmir	1	28	1	2,8	1	2,8	1	2,8
Kütahya	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8
Muğla	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8
Sakarya	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8
Uşak	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8
Yalova	1	2,8	1	2,8	1	2,8	1	2,8

Toprak değerlerine ilişkin tanımlayıcı istatistiki bilgiler Çizelge 4.15.' tedir.

Çizelge 4.15. Toprak numunelerine ilişkin tanımlayıcı istatistiksel değerler

N=36	$\bar{x}$	Medyan	SS	min	max	p
% Su Miktarı	16,26	15,74	4,55	8.53	24,70	0,20*
% Kum	33,42	30,29	18,27	2.11	64,62	0,20*
% Kil	33,85	31,98	12,02	10.79	62,00	0,20*
% Toz	32,81	29,66	10,90	14.27	55,94	0,03
Ph	7,89	8,12	0,58	6.44	8,51	0,00
% Kireç	9,61	5,93	11,53	0.02	46,87	0,00
% Organik Madde	1,72	1,63	0,73	0.07	3,84	0,20*
EC (mS/cm)	0,14	0,15	0,07	0.02	0,35	0,18*
Azot (%)	0,13	0,13	0,05	0.06	0,26	0,15*
Fosfor (ppm)	41,47	23,97	53,63	4.87	263,93	0,00
Potasyum (ppm)	457,58	371,50	378,18	64.00	1844,00	0,02
Toplam Koloni Sayısı	6,64	0,00	18,64	0.00	87,00	0,00

p: Kolmogorov-Smirnov Normallik Testi, *p>0,05: Normal Dağılmakta

Toprak değerlerine baktığımızda su miktar ortalaması %16,26, kum ortalaması %33,42, kil ortalaması %33,85, toz ortalaması %32,81, pH ortalaması 7,89, kireç ortalaması %9,61, organik madde ortalaması %1,72, EC ortalaması 0,14 mS/cm, azot

ortalaması %0,13, fosfor ortalaması 41,47 ppm, potasyum ortalaması 457,58 ppm olup, toplam koloni sayı ortalaması 6,64 olarak bulunmuştur.

Su, kum, kil, organik madde, EC, azot değerlerinin normal dağılım gösterdiği ($p>0,05$); toz, pH, kireç, fosfor, potasyum ve toplam koloni sayı değerlerinin normal dağılım göstermediği ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

Toprak değerleri ile toplam koloni sayısı arasındaki korelasyon analiz sonuçları Çizelge 4.16.' tedir.

Çizelge 4.16. Toprak değerleri ile toplam koloni sayısı arasındaki korelasyon analizi

N=36	**Toplam Koloni Sayısı**	
	r	**p**
% Su Miktarı	0,04	0,82
% Kum	0,13	0,45
% Kil	-0,12	0,47
% Toz	-0,14	0,41
pH	0,01	0,97
% Kireç	-0,12	0,47
% Organik Madde	-0,19	0,27
EC (mS/cm)	-0,05	0,79
Azot (%)	-0,20	0,26
Fosfor (ppm)	-0,03	0,85
Potasyum (ppm)	0,04	0,84

r: Spearman Korelasyon, *$p<0.05$: Düzeyinde Anlamlı

Toplam koloni sayısı ile su miktarı ($r=0,04$, $p>0,05$), kum ($r=0,13$, $p>0,05$), kil ($r=-0,12$, $p>0,05$), toz ($r=-0,14$, $p>0,05$), pH ($r=0,01$, $p>0,05$), kireç ($r=-0,12$, $p>0,05$), organik madde ($r=-0,19$, $p>0,05$), EC ($r=-0,05$, $p>0,05$), azot ($r=-0,20$, $p>0,05$), fosfor ($r=-0,03$, $p>0,05$), potasyum ($r=0,04$, $p>0,05$) arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Toprak tipine göre toplam koloni sayısının karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.17.' dadır.

Çizelge 4.17. Toprak tipine göre toplam koloni sayısının karşılaştırılması

Toprak Tipi N=36	**n**	**Toplam Koloni Sayısı**			χ^2	**p**
		$\bar{x}$	**SS**	**Sıra $\bar{x}$**		
Balçık/Kil	9	11,00	28,78	16,89	1,393	0,85
Killi Balçık	12	1,33	2,96	17,25		
Kumlu Balçık	4	17,75	34,84	21,13		
Kumlu Killi Balçık	6	4,17	5,95	21,17		
Tozlu Kil/Toz Balçığı	5	5,60	11,97	19,10		

χ^2: Kruskal Wallis H Testi, *p<0,05: Düzeyinde Anlamlı

Balçık/kil toprak türünün ortalama 11,00, killi balçık toprak türünün ortalama 1,33, kumlu balçık toprak türünün ortalama 17,75, kumlu killi balçık toprak türünün ortalama 4,17 ve tozlu kil/toz balçığı toprak türünün ortalama 5,60 toplam koloni sayısı olduğu gözlenmiştir.

Toprak tipine göre toplam koloni sayısı arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (p>0,05). Tür ismine göre toplam koloni sayısının karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.18' dedir.

Çizelge 4.18. Tür ismine toplam koloni sayısının karşılaştırılması

Tür İsmi N=13	**N**	**Toplam Koloni Sayısı**			χ^2	**p**
		$\bar{x}$	**SS**	**Sıra $\bar{x}$**		
P. niveus	9	24,11	32,26	7,61	0,914	0,82
P. brunneolus	1	2,00		5,00		
P. fulvus	2	5,50	6,36	5,25		
P. divaricatus	1	9,00		7,00		

χ^2: Kruskal Wallis H Testi, *p<0,05: Düzeyinde Anlamlı

Paecilomyces niveus'un ortalama 24,11, *P. brunneolus*'un ortalama 2,00, *P. fulvus*'un ortalama 5,50 ve *P. divaricatus*'un ortalama 9,00 toplam koloni sayısı olduğu gözlenmiştir. Tür ismine göre toplam koloni sayısı arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (p>0,05).

4.6. Tespit Edilen Türler Doğrultusunda Teşhis Anahtarının Oluşturulması

Bu çalışma kapsamında 4 *Paecilomyces* türü (*P. niveus, P. divaricatus, P. fulvus ve P. brunneolus*) tespit edilmiştir. Morfolojik veriler doğrultusunda elde ettiğimiz

sonuçlara ve litratürde (Samson vd., 2009) yer alan morfolojik verilerine göre ayırt edici bir teşhis anahtarı oluşturulmuş olup aşağıda yer almaktadır.

Tür İsmi	**Konidiyum uzunluğu (µm)**	**Konidiyum Şekli (Çoğunluk)**	**Klamidosporlar**	**7 günlün 25 º C CYA Koloni Çapı (mm)**
P. niveus	3–4.7 x 2.3–4	Küreselden elipsoidal şekle kadar, bazen tabanı düzleşmiş	Mevcut, düzgün veya hafif pürüzlü yüzeyli	(8–)28–50
P. divaricatus	3.2–4.6 x 1.6–2.5	Elipsoidalden silindirik yapıya kadar, uçları kesik	Yok; bazı izolatlardan sonra mevcut olabilir (40 gün)	10–17
P. fulvus	3.7–7.5 x 1.4–2.5	Uçları kesik silindirik	Yok; bazı izolatlardan sonra mevcut olabilir (40 gün)	50–90
P. brunneolus	3.7–5.5 x 1.8–3.4	Elipsoidalden geniş silindirik yapıya kadar, uçları kesik	Mevcut, düzgün yüzeyli	20–30

4.6.1. Dikotomik Teşhis Anahtarı (*Paecilomyces*)

Koloni çapı (CYA'da 7 gün, 25–30 °C) 50 mm büyük veya eşit ise,

1.1. Koloni rengi sarımsı kahverengi; koloni sıkı ve düz yapıda; konidiyumlar küçük, yuvarlak veya oval (2–3 µm)**……...*Paecilomyces fulvus***

1.2. Koloni rengi beyazdan sarıya; koloni yapısı geniş yayılmış; konidiyoforlar uzun dallanmış, terminal fiyalitler şişkin; konidiyumlar küreselden elipsoidal şekle kadar, bazen tabanı düzleşmiş; klamidosporlar mevcut, düzgün veya hafif pürüzlü yüzeyli**……*Paecilomyces niveus***

Koloni çapı 50 mm'den küçük ise,

2.1. Koloni açık kahverengi veya koyu kahverengi; koloni yapısı pamuksu veya gevşek

2.1.1. Koloni açık kahverengi, gevşek yapılı; konidiyumlar eliptik veya hafif fuziform, 3–5 µm uzunluğunda; koloni çapı 10–17 mm; klamidosporlar yok veya ancak 40 gün inkübasyondan sonra mevcut olabilir**……..*Paecilomyces divaricatus***

2.1.2. Koloni koyu kahverengi, yoğun kadifemsi yapıda; konidiyumlar yumurta şekilli, 4–6 µm uzunluğunda; koloni çapı 20–30 mm; klamidosporlar mevcut ve düzgün yüzeyli**……*Paecilomyces brunneolus***

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Marmara (5 izolat), Ege (10 izolat) bölgelerinden alınan toprak örneklerinden elde edilen morfolojik ve moleküler bulgular doğrultusunda, ısıya dayanıklı *Paecilomyces* cinsine ait dört farklı tür tespit edilmiştir. Belirlenen türler arasında yaygın olarak karşılaşılan *Paecilomyces niveus* (Afyonkarahisar 2 ve 4, Edirne 3, İzmir 2 ve 4, Kütahya 1, Muğla 4, Yalova 2 ve Sakarya 2) (Şekil 4.1-Şekil 4.8 ve Şekil 4.13) olurken, diğer türler *P. fulvus* (Uşak 1) (Şekil 4.12)*, P. divaricatus* (Muğla 3 ve Uşak 4) (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10) ve *P. brunneolus* (İstanbul 4) (Şekil 4.11) olarak sıralanmıştır. Elde edilen bulgular, bölgesel fungal çeşitliliğin ısıya dirençli türler içerdiğini göstermekte; ayrıca *Paecilomyces* türlerinin toprak ekosistemindeki dağılımına ilişkin önemli bilgiler sunmaktadır.

Günümüzde mikrofungusların teşhisinde geleneksel yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler, örneklerin çeşitli tanı amaçlı besiyerlerine ekilerek makroskobik morfolojik özelliklerinin incelenmesini (Çizelge 4.2–Çizelge 4.8) ve mikroskobik düzeyde değerlendirme amacıyla uygun boyalarla boyanarak mikroskop altında gözlemlenmesini (Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10) kapsamaktadır. Ancak bu geleneksel teşhis yaklaşımları, bazı durumlarda yetersiz kalabilmekte ve tanının doğruluğu açısından sınırlılıklar barındırmaktadır. Çünkü morfolojik özelliklere dayalı teşhis, tür düzeyine kadar doğru sonuç verebilse de fenotipik varyasyonlar, kültür koşullarına bağlı değişkenlikler ve araştırıcının öznel değerlendirmesi gibi faktörler, yanlış tanılara yol açabilmektedir. Bu nedenle, geleneksel yöntemlerin moleküler

analizlerle desteklenmesi, daha güvenilir ve kesin sonuçlar elde edilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Moleküler yöntemler (PCR, sekans analizi vb.), mikrofunguslar aleminin teşhisinde hızlı ve güvenilir sonuçlar sunarak morfolojik yöntemlerin sınırlamalarını önemli ölçüde aşmaktadır. Özellikle ITS ve β-tubulin gibi gen bölgeleri, tür düzeyinde teşhis için yaygın olarak kullanılan ve güvenilir sonuçlar sağlayan gen bölgeleri olarak öne çıkmaktadır.

Bu çalışmada, incelenen fungusların tür düzeyinde teşhisini desteklemek amacıyla dört farklı gen bölgesi kullanılmıştır: ITS (Şekil 4.19), β-tubulin (Şekil 4.20), kalmodulin (Şekil 4.21) ve RPB2 (Şekil 4.22) gen bölgelerinin analizi ile tür tayininde güvenilir sonuçlar elde edilmiştir (White vd., 1990; Samson vd., 2009). Bazı izolatlar için, Çizelge 3.4'te belirtilen PCR koşullarının ''B planı'' uygulanmıştır. Bu kapsamda; 54-26 numaralı izolat için beta-tubulin geni, 34-147 ve 43-7 numaralı izolatlar için kalmodulin geni, 3-15 ve 64-6 numaralı izolatlar için ise RPB2 geni amplifikasyonunda B planı tercih edilmiştir.

Gıda ve içecek endüstrisinde ısı işlemi uygulanmasına rağmen bozulmalara neden olan ısıya dayanıklı mikrofungusların teşhisine yönelik moleküler çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Bu bağlamda, ısıya en dayanıklı mikrofunguslardan biri olarak bilinen *Byssochlamys* cinsine ait suşların mikrotübül yapıları üzerine yapılan araştırmalarda, mikrotübüllerin temel bileşenleri olan α- ve β-tubulin proteinlerinin önemli rolleri ortaya konmuştur. Özellikle β-tubulin geninde gözlemlenen düşük seviyeli intraspesifik DNA varyasyonu (yaklaşık 2000 bp uzunluğunda) nedeniyle bu gen bölgesi, *Byssochlamys* ve diğer mikrofungus türlerinin tür düzeyinde ayrımında değerli bir belirteç olarak kullanılabilmektedir (Frąc vd., 2015).

Bazı izolatların tür tayininde, NCBI GenBank verilerine dayalı analizler çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur (izolat numaraları: 34-147, 64-72, 48-17 ve 77-31). Bu durumu netleştirmek amacıyla, her bir gen bölgesi için MEGA 11 yazılımı kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuş ve türlerin filogenetik konumları karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Bu analizler sonucunda, baskın türün *P. niveus* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *P. divaricatus*, *P. fulvus* ve *P. brunneolus* türleri de yine Marmara ve Ege bölgelerinde dağılım göstermiştir.

5.1. *Paecilomyces niveus*

Bu çalışma özelinde *P. niveus* 9 farklı morfotipi olduğunu söyleyebilmekteyiz (Şekil 4.1-Şekil 4.8 ve Şekil 4.13). İncelenen genler açısından filogenetik olarak aynı fakat morfolojik açıdan küçük farklılıklar söz konusudur. Özellikler CYA, YES ve PDA besiyerlerinde morfolojik farklılıklar gözlemlenmiştir bu da litaratür ile destekler nitelikte bir bilgidir (Pitt ve Hocking, 1997).

Yurtdışında yapılan çalışmalara bakıldığında, *P. niveus* elma sularından izolasyonu gerçekleştirilmiş hatta bu çalışmayı destekler nitelikte olan 70 °C'de 30 dakika muamele ile hayatta kalmayı başarabilmiştir ve moleküler teşhis için β tubulin gen bölgesine bakılmıştır (Biango-Daniels vd.2019). Dos Santos ve arkadaşları (2019) ise çalışmalarında daha yüksek sıcaklıklar (99 °C'lik) deneyerek elma suyunda hayatta kalmaya devam ettiğini gözlemlenmiştir. *P. niveus* sadece elma suyunda değil aynı zamanda ananas nektarı (95°C -104°C) (Ferreira vd. 2009) ve çilek (85°C -90°C) gibi ürünlerde varlıkları tespit edilmiş olup sıcaklığa dayanıklılığı çeşitli çalışmalarca onaylanmıştır (Silva, 2015).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *P. niveus* Çatalca-Kocaeli (Sesli vd., 2020), Türkiye doğusunda bulunan meyvelerden, İstanbul'da pastörize edilen süt ürünlerinden ve meyve sularından (Aydın, Ulusoy & Ergun. 2005), üzüm suyu gibi meyve sularında (60 °C-88°C) (Ulusoy, Hamet & Yildirim, 2022), Eskişehir topraklarında bu çalışmayı destekler nitelikte olan 70 °C'de 30 dakika muamele ile hayatta kalmayı başarabilmiştir (Ayva vd., 2019) izolasyonu yapılmıştır ve kayıtları mevcuttur.

Bu çalışmada en yaygın dağılım gösteren tür *P. niveus* olmuştur (Şekil 4.23) ve dokuz ilden yedisinde izolasyonu başarıyla yapılmıştır. Elde edilen bulgular, *P. niveus* türünün yaygınlık verileriyle tutarlı olup, aynı zamanda bu türün 75 °C'de 30 dakika süreyle uygulanan ısıl işleme karşı gösterdiği direnç, mevcut literatürdeki benzer çalışmalarla da uyum göstermektedir.

Moleküler çalışmalar doğrultusunda özellikle *P. niveus* türü için β tubulin ve kalmodulin gen bölgeler (Çizelge 4.12) ile verimli bulgular elde edilmiştir. Ülkemizde yapılmış olan çalışmada da aynı gen bölgeleri ile *P. niveus* için verimli bulgular kaydedilmiştir (Ayva vd., 2019; Frąc vd., 2015).

5.2. *Paecilomyces fulvus*

Paecilomyces fulvus (teleomorf *Byssochlamys fulva*), ilk kez 1934 yılında çilek kompostosunda yapılan bir araştırmada izole edilmiştir. Bu tür, çileklerin yanı sıra diğer meyve ve süt ürünlerinde de tespit ve izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ürünlere vermiş olduğu tahribattan kaynaklı ekonomik açıdan gıda endüstrisine zarar veren bir türdür. Bununla birlikte, *P. fulvus* türü, yalnızca tarımsal zarara yol açmakla kalmaz, aynı zamanda toksik sekonder metabolitler, yani mikotoksinler üretmesi nedeniyle insan sağlığı açısından da risk oluşturmaktadır. Bu özellikleri, türü daha önemli hale getirmektedir (Frąc vd., 2015).

Houbraken ve arkadaşlarının 2008 çalışmasında, *P. fulvus* türünün 90 °C sıcaklıkta domates suyunda hayatta kalmayı başardığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise, 98–110 °C arasında çarkıfelek meyvesinin nektarında bu organizmanın izolatları tespit edilmiştir. Ayrıca, bu tür, pastörize edilmiş süt ürünlerinden de izole edilmiştir (Samson vd., 2009). *P. fulvus* suşları, Hollanda, Almanya, ABD ve Avustralya'daki çilek tarlalarından, Kanada, İngiltere ve Birleşik Devletler'deki üzüm bağlarının topraklarından izole edilmiştir. Bunun yanı sıra, Japonya'daki nehir tortullarında ve eski Çekoslovakya'daki farklı toprak örneklerinde de bulunmuş, hatta ABD'deki tarım makinelerinin atıklarında da bu türün izleri tespit edilmiştir (Panagou vd., 2010). Literatüre bakıldığında, dünya genelinde çok farklı habitatlara sahip olan ülkelerden izole edildiği için geniş bir dağılıma sahip olduğu söylenebilmektedir.

Ayrıca *P. fulvus* Türkiye'de de yayılış göstermektedir. 2019 yılında sadece Eskişehir topraklarında (Ayva vd., 2019) kaydı bulunmaktadır. Bu çalışmada ise sadece Uşak ilinden izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.12, Şekil 4.25).

5.3. *Paecilomyces brunneolus*

Bu çalışmada litaratür ile doğrular nitelikte olan ITS, beta tubulin, kalmodulin ve RPB2 gen bölgeleri ile *P. brunneolus* teşhisi yapılmıştır (Şekil 4.11, Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22. Şekil 4.26). Visagie ve arkadaşlarının (2024) yapmış olduğu bir çalışmada ahşap elektrik direklerinden *P. brunneolus* türünün izolasyonu gerçekleşmiştir. Bu tür aynı zamanda Kanada da kuru yağsız sütlerden de izolasyonu gerçekleşmiştir (Samson vd., 2009).

Bu çalışmamız kapsamında morfolojik moleküler analiz sonucunda elde edilen veriler ile ülkemizde yapılmış olan çalışmalar karşılaştırıldığında *P. brunneolus* türüne rastlanılmamış olup (Sesli vd., 2021, Asan vd., 2022, Asan, Karabıyık & Giray 2024a, Asan, Karabıyık & Giray 2024b, Asan, Karabıyık, Giray & Çetiner 2025) Türkiye için yeni kaydolduğu tespit edilmiştir.

5.4. *Paecilomyces divaricatus*

Samson ve arkadaşları (2009) tarafından gerçekleştirilen polifazik taksonomi çalışması olarak *P. divaricatus*'un taksonomik karakterizasyonunu değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada türün MEA agarda 7 günde 30–40 mm'lik koloni oluşturduğu, diğer yakın türlere göre sınırlı büyüdüğü, 37 °C'de de üreyebildiği yani termotolerant olduğu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, *P. divaricatus* izolatlarının asitli meyve ürünlerine uygulanan ısıya karşı dayanıklılık gösterdiği bunun sebebinin ısıya dayanıklı askospor oluşturabildiği ve uygulanan ısı uygulamasına karşı tolerans gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

P. divaricatus kütüphanelerde kullanılan yapıştırıcı macun içerisinden (Samson vd. 2009), Meksika'da pektin içeren meyve ürününden. Klinik kaynaklardan izolasyonları nadiren rapor edilmiş olan bu tür; insan solunum yolu örneklerinde birkaç izolat şeklinde tanımlanmış olup, antifungal duyarlılık profili *P. variotii* komplexindeki diğer türlerle benzer bulunmuştur (Monpierre vd.,2022)

Ülkemizde de yayılış gösteren bir tür olup kütüphane (Asan 2004), içme suyu sistemleri, Marmara, Batı Karadeniz, Ege, Konya, Sakarya, Kars ve Erzurum (Sesli vd., 2021) bölgelerinde kayıtları mevcuttur. Bu çalışmada ise Muğla ve Uşak illerinden izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

P. divaricatus üretmiş olduğu sekonder metabolitler açısından kıymetlidir. Bu türden elde edilen korneksistin bitkilerde geniş spektrumlu herbisit etkisine sahiptir. Bunun yanı sıra mısır bitkisine karşı düşük toksisiteli olması sebebiyle doğal kökenli herbisit olarak değerlendirilmektedir (Williams vd., 2023).

5.5. İstatistik Analiz

Yapılan istatistiksel analizlerde (Kolmogorov–Smirnov normallik testi) toprak verilerinin normal dağılım göstermediği saptandığından, Spearman sıralama korelasyonu

ve Kruskal–Wallis testi kullanılmıştır. Spearman korelasyonu ile türlere göre mikrobiyal koloni sayıları ile toprağa ait pH, organik madde, nem, kireç (%$CaCO_3$), toplam azot, fosfor ve potasyum değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). Benzer şekilde Kruskal–Wallis testi de farklı *Paecilomyces* türlerinin koloni dağılımlarında toprak özelliklerine bağlı istatistiksel olarak tutarlı bir farklılık göstermediğini ortaya koymuştur ($p>0,05$). Bu sonuçlar, incelenen aralıktaki toprak özelliklerinin *Paecilomyces* kolonizasyonu üzerinde açık bir baskı yapmadığını düşündürmektedir.

Paecilomyces cinsine ait türlerin toprakta yaygın ve esnek olduğu literatürde sıkça vurgulanır. Bu mantarlar, dünya çapında çok çeşitli habitatlarda toprak, çürüyen organik madde, pastörize gıda ürünleri, kompost ve bitki kök bölgesi gibi bulunabilir (Moreno-Gavíra vd., 2020). Örneğin *P. niveus*'un New York elma bahçesi topraklarında %34 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (Biango-Daniels & Hodge, 2018). *P. fulvus* ise çileklerde görülen *Byssochlamys* çürüklüğüne neden olması bakımından asidik ortamlarda yaşayabildiğini gösterir (www.mycobank.org). Bu türlerin tümü çok dayanıklı sporlar üretir ve düşük oksijen şartlarında bile çoğalabilir. Gerçekten, *Paecilomyces* sporları termal işleme uğramış meyve suları gibi ortamları dahi bozabilir; örneğin *P. variotii*, düşük oksijen konsantrasyonunda ürer ve pastörize meyve sularını bozacak kadar ısıya dayanıklıdır (Brule vd., 2020). Dolayısıyla bu mantarlar geniş bir sıcaklık ve substrat aralığında büyüyebilir (Moreno-Gavíra vd., 2020).

Ayrıca *Paecilomyces* türleri, topraktaki çeşitli organik maddeleri parçalayan enzimler de üretir. Toprak kaynaklı izolatlarda kitinaz enzimlerinin karakterize edildiği gösterilmiştir. Bu enzimler, böcek ve zararlıların kütikülünde bulunan kitini parçalayarak *Paecilomyces* cinsinin toprak ekosisteminde besin kaynağı olarak hayvan kalıntıları ve keratini kullanabilmesini sağlar. Bu davranış, söz konusu türlerin karbon ve azot ihtiyacını ortamın bitkisel değil de hayvansal artıklarından karşıladığına işaret eder. Dolayısıyla *Paecilomyces* cinsinin toprak özellikleri yerine konakçı-organik madde mevcudiyeti ile daha çok ilişkilendiği düşünülebilir. Örneğin bazı *Paecilomyces* türlerinin entegre pestisit veya nematod biyokontrol ajanı olarak kullanıldığı, topraktaki varlıklarının aslında nematod ve böcek popülâsyonlarıyla ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (Moreno-Gavíra vd., 2020).

Literatürde toprak kimyasal özelliklerinin özellikle Ascomycota grubu mantarların dağılımını etkilediği bildirilmiştir. Maneeboon ve arkadaşları (2023) tarafından Tayland tropik topraklarında yapılan bir çalışmada, fosfor bakımından zengin ve asidik toprakların ısıya dirençli fungus *Paecilomyces* türlerini varlığının desteklendiği görülmüştür. Aynı çalışmada *Paecilomyces* türlerinin yoğunluğu organik madde ve iletkenlik ile ters korelasyon göstermiştir. Yani bu bulgular, *Paecilomyces* türlerinin nispeten fakir (düşük organik madde ve tuzluluk) ortamlarda daha fazla bulunabildiğini düşündürmektedir. Bizim verimizde bu tür açık bir ilişki ortaya çıkmamışsa da, ölçülen parametrelerin değişkenliği kısıtlı olabilir veya *Paecilomyces* türlerinin biyolojik toleransları bu etkileri maskeleyebilir. Ayrıca, *Paecilomyces* sporlarının büyük kısmını yüksek dirençli askospor ve misel oluşumları oluşturur; bu yapılar topraktaki pH, nem ya da besin düzeyindeki değişimlerden daha az etkilenerek türlerin geniş aralıkta hayatta kalmasını sağlayabilir (Wang vd., 2025).

Sonuç olarak, türler arasında koloni sayılarıyla toprak özellikleri arasında istatistiksel olarak ilişki kurulamamış olsa da, literatürdeki bilgiler bu durumu tutarlı kılar. *Paecilomyces* türleri yaygın, hızlı çoğalan ve çok çeşitli koşullarda yaşayabilen mantarlar olup, toprak pH'ı, organik madde veya besin içeriği gibi faktörler yerine ekolojik ve biyolojik etmenlerle daha çok ilişkilidir. Örneğin bu mantarların bulunduğu topraklarda nematod veya böcek konakçıların varlığı, organik madde profili ve atık parça dağılımı belki daha belirleyici olabilir. *Paecilomyces*'lerin gösterdiği yüksek sıralama büyüme hızı ve stres dirençleri (Moreno-Gavíra vd., 2020), ölçülen geleneksel toprak değişkenlerinden bağımsız geniş bir aralıkta kolonileşmelerine olanak tanımaktadır. Dolayısıyla istatistiksel analiz sonuçlarımız, bu türlerin geniş tolerans aralıkları ve literatürde bildirilen dayanıklılık özellikleriyle uyumlu biçimde yorumlanmıştır (Maneeboon, Sangchote, Hongprayoon, Chuaysrinule & Mahakarnchanakul, 2023).

Analiz sonuçlarımız literatürdeki bulgularla tutarlıdır; örneğin *Paecilomyces* cinsinin çok çeşitli ortamlarda bulunması (Moreno-Gavíra vd., 2020), *P. niveus*'ın bahçe topraklarındaki yüksek görülme sıklığı (Biango-Daniels & Hodge, 2018) ve bu mantarların geniş sıcaklık/substrat aralığında ürüyebilmesi (Moreno-Gavíra vd., 2020) göz önünde bulundurulduğunda, fiziksel ve kimyasal toprak özelliklerine bağlı zayıf ilişkiler beklenebilir. Maneeboon ve arkadaşları (2023) gibi çalışmalar ise yüksek fosfor ve düşük pH'ın bu ısıya dirençli mantarlarda artış ile ilişkili olabileceğini göstermiştir.

Bu da bizim verilerimizdeki eğilimlerin biyolojik bağlamda yorumlanmasını desteklemektedir.

Sonuç olarak:

Bu çalışmada, Marmara ve Ege bölgelerinden toprak örneklerinden izole edilen ısıya dayanıklı *Paecilomyces* türleri morfolojik ve moleküler olarak detaylı bir şekilde incelenmiştir. ITS, β-tubulin, kalmodulin ve RPB2 gen bölgelerinin analizi ile tür tayininde güvenilir sonuçlar elde edilmiştir (White vd., 1990; Samson vd., 2009). Çalışmada dört *Paecilomyces* türü (*P. niveus, P. fulvus, P. divaricatus* ve *P. brunneolus*) belirlenmiş olup, özellikle *P. niveus* türünün yaygın dağılım gösterdiği ortaya konmuştur. Bu durum, *P. niveus*'un geniş sıcaklık ve substrat toleransına sahip olduğuna dair literatürle uyumludur (Samson vd., 2009; Houbraken vd., 2010). Ayrıca, *P. brunneolus*'un Türkiye topraklarından ilk kez rapor edilmiş olması da çalışmanın önemli bir çıktısıdır.

İstatistiksel analizlerde, *Paecilomyces* türlerinin koloni sayıları ile toprak özellikleri (pH, organik madde, nem, kireç, toplam azot, fosfor ve potasyum) arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bu bulgu, *Paecilomyces* türlerinin ekolojik esnekliği ve yüksek termal dayanıklılığı ile açıklanabilir (Samson vd., 2009). Bu mantarların düşük oksijenli ortamlarda ve geniş sıcaklık aralıklarında gelişebildiği, organik maddeyi parçalayan enzimler üreterek topraktaki hayvansal ve bitkisel kalıntılardan besin sağladığı bilinmektedir (Houbraken vd., 2010). Bu nedenle, türlerin dağılımının toprak kimyasal özelliklerinden ziyade biyolojik ve ekolojik faktörlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen sonuçlar, gıda endüstrisi açısından önemli bir tehlike oluşturan ısıya dayanıklı mantarların toprak kökenli yaygın varlığını ortaya koymakta ve bu türlerin özellikle *P. niveus* başta olmak üzere gıda kontaminasyonu riskini destekleyen ekolojik kanıtlar sunmaktadır. Bu bulgular, geleneksel morfolojik yöntemlerin moleküler analizlerle desteklenmesinin önemini bir kez daha vurgulamaktadır (Samson vd., 2009). Çalışma sonuçları, bölgelerde ısıya dayanıklı mantar türlerinin yaygın olduğunu ve bu mantarların gıda güvenliği ile çevre sağlığı açısından önemli olabileceğini göstermektedir. Bu türlerin yayılımını etkileyen biyotik (örneğin nematod veya böcek faunası) ve abiyotik faktörlerin (örneğin substrat tipi, sıcaklık ve oksijen koşulları) daha

detaylı analizleri, türlerin toprak ekosistemlerindeki rollerini ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel risklerini anlamaya katkı sağlayacaktır (Houbraken vd., 2010).

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, *Paecilomyces* türlerinin biyolojik kontrol potansiyelleri, mikotoksin üretimleri ve gıda kontaminasyon risklerine yönelik kapsamlı ekolojik ve toksikolojik değerlendirmeler önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Asan, A., (2004). *Aspergillus*, *Penicillium* and related species reported from Turkey. *Mycotaxon*, *89*(1), 155-157.

Asan, A., Karabıyık, H., & Giray, G. (2024a). New additions to the list of fungi of Türkiye-3. *Anatolian Journal of Botany*, *8*(2), 114-127.

Asan, A., Karabıyık, H., & Giray, G. (2024b). Türkiye mantarları listesi'ne eklentiler-2. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, *11*(1), 25-43.

Asan, A., Karabıyık, H., Giray, G., & Çetiner, A. (2025). Türkiye mantarları listesi'ne yeni eklentiler-4. *Mantar Dergisi*, *16*(1), 8-25.

Asan, A., Selçuk, F., Giray, G., Aydoğdu, H., Ulukapı, M., & Ceylan, M. F. (2022). Türkiye mantarları listesi'ne ilaveler-1. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, *9*(3), 65-89.

Avery, P. B., Pick, D. A., Aristizábal, L. F., Kerrigan, J., Powell, C. A., Rogers, M. E., & Arthurs, S. P. (2013). Compatibility of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) blastospores with agricultural chemicals used for management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Insects*, *4*(4), 694-711.

Aydin A., Ulusoy B.H., & Ergun Ö. (2005): A survey on heat-resistant moulds in heat treated milk, milk products and fruit juices. *Archiv fur Lebensmittelhygiene*, *56*: 58–60.

Ayva, F., Ouzeir, G., Demirel, R., Şen, B., Asan, A., & Kadaifçiler, D. (2019). Biodiversity of heat resistance soil microfungi in agricultural areas of Eskisehir Province. *Mantar Dergisi*, *10*(3), 67-78.

Biango-Daniels, M. N., & Hodge, K. T. (2018). *Paecilomyces* rot: a new apple disease. *Plant Disease*, *102*(8), 1581-1587.

Brule, T. V., Lee, C. L., Houbraken, J., Haas, P.-J., Wösten, H. & Dijksterhuis, J. (2020). Conidial heat resistance of various strains of the food spoilage fungus *Paecilomyces variotii* correlates with mean spore size, spore shape and size distribution. *Food Research International*, *137*, 1-8.

Chen MingJun, C. M., Zhou Na, Z. N., Li Zeng Zhi, L. Z., Sung GiHo, S. G., & Huang Bo, H. B. (2010). *Paecilomyces echinosporus* sp. nov., a species isolated from soil in China. *Mycotaxon, 114*, 25–32. https://doi.org/10.5248/114.25

Chen, Y., Prior, B. A., Shi, G., & Wang, Z. (2011). A rapid PCR-based approach for molecular identification of filamentous fungi. *The Journal of Microbiology* , *49,* 675-679.

Cooney, D., & Emerson, R. (1964). *Thermophilic fungi. An account of their biology, activities and classification.* San Francisco & London: W.H. Freeman & Co.

Crous, P. W., Wingfield, M. J., Burgess, T. I., Hardy, G. E. St. J., Crane, C., Barrett, S., Cano-Lira, J. F., Le Roux, J. J., Thangavel, R., Guarro, J., Stchigel, A. M., Martín, M. P., Alfredo, D. S., Barber, P. A., Barreto, R. W., Baseia, I. G., Cano-Canals, J., Cheewangkoon, R., Ferreira, R. J., Gené, J., Lechat, C., Moreno, G., Roets, F., Shivas, R. G., Sousa, J. O., Tan, Y. P., Wiederhold, N. P., Abell, S. E., Accioly, T., Albizu, J. L., Alves, J. L., Antoniolli, Z. I., Aplin, N., Araújo, J., Arzanlou, M., Bezerra, J. D. P., Bouchara, J.-P., Carlavilla, J. R., Castillo, A., Castroagudín, V. L., Ceresini, P. C., Claridge, G. F., Coelho, G., Coimbra, V. R. M., Costa, L. A., da Cunha, K. C., da Silva, S. S., Daniel, R., de Beer, Z. W., Dueñas, M., Edwards, J., Enwistle, P., Fiuza, P. O., Fournier, J., García, D., Gibertoni, T. B., Giraud, S., Guevara-Suarez, M., Gusmão, L. F. P., Haituk, S., Heykoop, M., Hirooka, Y., Hofmann, T. A., Houbraken, J., Hughes, D. P., Kautmanová, I., Koppel, O., Koukol, O., Larsson, E., Latha, K. P. D., Lee, D. H., Lisboa, D. O., Lisboa, W. S., López-Villalba, Á., Maciel, J. L. N., Manimohan, P., Manjón, J. L., Marincowitz, S., Marney, T. S., Meijer, M., Miller, A. N., Olariaga, I., Paiva, L. M., Piepenbring, M., Poveda-Molero, J. C., Raj, K. N. A., Raja, H. A., Rougeron, A., Salcedo, I., Samadi, R., Santos, T. A. B., Scarlett, K., Seifert, K. A., Shuttleworth, L. A., Silva, G. A., Silva, M., Siqueira, J. P. Z., Souza-Motta, C. M., Stephenson, S. L., Sutton, D. A., Tamakeaw, N., Telleria, M. T., Valenzuela-Lopez, N.,

Viljoen, A., Visagie, C. M., Vizzini, A., Wartchow, F., Wingfield, B. D., Yurchenko, E., Zamora, J. C., & Groenewald, J. Z. (2016). Fungal Planet description sheets: 400–468. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, *36*(1), 316-458.

Deo, Y. M., Costerton, J. W., & Gaucher, G. M. (1983). Examination of immobilized fungal cells by phase-contrast and scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Microbiology*, *29*(12), 1642-1649.

Dong, Q., Wang, H., Xing, X., & Ji, S. (2012). Identification and characterization of a special species of *Paecilomyces*. *Annals of Microbiology*, *62*, 1587-1592.

Dos Santos, J. L. P., Samapundo, S., Pimentel, G. C., Van Impe, J., Sant'Ana, A. S., & Devlieghere, F. (2019). Assessment of minimum oxygen concentrations for the growth of heat-resistant moulds. *Food Microbiology*, *84*, 103243.

Fergus, C., & Amelung, R. (1971). The Heat Resistance of Some Thermophilic Fungi on Mushroom Compost. *Mycologia* , *63* (3), 675–679.

Ferreira, E. H., Rosenthal, A., Calado, V., Saraiva, J., & Mendo, S. (2009). *Byssochlamys nivea* inactivation in pineapple juice and nectar using high pressure cycles. *Journal of Food Engineering*, *95*(4), 664-669.

Frąc, M., Jezierska-Tys, S., & Yaguchi, T. (2015). Occurrence, Detection, and Molecular and Metabolic Characterization of Heat-Resistant Fungi in Soils and Plants and Their Risk to Human Health. *Advances in Agronomy Elsevier*. (162-188).

Giraldo, A., Gené, J., Sutton, D. A., Madrid, H., de Hoog, G. S., Cano, J., Decock, C., Crous, P. W., & Guarro, J. (2015). Phylogeny of sarocladium (Hypocreales). *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, *34*(1), 10-24.

Glass, N.L., & Donaldson, G.C. (1995). Development of Premier Sets Designed for Use with the PCR to Amplify Conserved Genes from Filamentous *Ascomycetes*, *Applied and Environmental Microbiology, 61* (4), 1323-1330.

Hair, J. F., Bush, R. P., & Ortinau, D. J. (2003). *Marketing research: Within a changing information environment*. McGraw-Hill.

He, J., Kang, J., Lei, B., & Wen, T. (2011). *Paecilomyces wawuensis*, a new species isolated from soil in China. *Mycotaxon*, *115*(1), 303-310.

Hong, S.B., Go, S.J., Shin, H.D., Frisvad, J.C., & Samson, R.A. (2005). Polyphasic Taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and Related Species, *Mycologia, 97 (6),* 1316- 1329.

Hoog, G. S. de, & Gerrits van den Ende, A. H. G. (1998). Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous *Basidiomycetes*, *Molekulare Diagnostik Klinischer Stämme Filamentöser Basidiomyzeten, 41* (5-6), 183–189.

Houbraken, J., & Samson, R. A. (2006). Standardization of methods for detecting heat resistant fungi. A. D. Hocking, J. I. Pitt, R. A. Samson, & U. Thrane (Ed.), *Advances in Food Mycology*, *551*, 107-111, Boston: Springer.

Houbraken, J., Kocsube, S., Visagie, C., Yilmaz, N., Wang, X.-C., Meijer, M., Kraak, B., Hubka, V., Bensch, K., Samson, R. A., & Frisvad, J. (2020). Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera,sections, series and species, *Studies in Mycology, 9*, 5-169.

Houbraken, J., Spierenburg, H., & Frisvad, J.C. (2012). *Rasamsonia*, a new genus comprising thermotolerant and thermophilic *Talaromyces* and *Geosmithia* species, *Antonie van Leeuwenhoek, 101*(2), 403–421.

Houbraken, J., Varga, J., Rico-Munoz, E., Johnson, S., & Samson, R. A. (2008). Sexual reproduction as the cause of heat resistance in the food spoilage fungus *Byssochlamys spectabilis* (anamorph *Paecilomyces variotii*). *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(5), 1613-1619.

Ianutsevich, E. A., Danilova, O. A., Groza, N. V., Kotlova, E. R., & Tereshina, V. M. (2016). Heat shock response of thermophilic fungi: membrane lipids and soluble carbohydrates under elevated temperatures. *Microbiology*, *162*(6), 989-999.

Index Fungorum. (2025). *Index Fungorum*. https://www.indexfungorum.org/names/names.asp Erişim tarihi 01-Şubat-2025

Jesenská, Z., Piecková, E., & Bernát, D. (1992). Heat-resistant fungi in the soil. *International journal of food microbiology*, *16*(3), 209-214.

Kahya, S., Buyukcangaz, E., & Carlı, K. T. (2013). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1*, 31-38.

Khan, A. M., & Bhadauria, S. (2019). Molecular characterization of keratin degrading fungi isolated from semi-arid soil by PCR using ITS4 and ITS5 primers. *Journal of King Saud University – Science* , 1418-1423.

Kidd, S. E., Abdolrasouli, A., & Hagen, F. (2023). Fungal nomenclature: managing change is the name of the game. In *Open Forum Infectious Diseases* (Vol. 10, No. 1, p. ofac559). US: Oxford University Press.

Kikoku, Y., Tagashira, N. & Nakano, H. (2008). Heat Resistance of Fungi Isolated from Frozen Blueberries. *Journal of Food Protection*, *71*, 2030–2035.

Korzets, A., Weinberger, M., Chagnac, A., Goldschmied-Reouven, A., Rinaldi, M. G., & Sutton, D. A. (2001). Peritonitis due to Thermoascus taitungiacus (Anamorph Paecilomyces taitungiacus). *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(2), 720-724.

Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution, 33*, 1870-1874.

Levin, R. E. (2012). PCR detection of aflatoxin producing fungi and its limitations. *International Journal of Food Microbiology*, *156*, 1-6.

Liang, Z. Q., Han, Y. F., & Chu, H. L. (2007). A new thermotolerant *Paecilomyces* species which produces laccase and a biform sporogenous structure. *Fungal Divers*, *27*, 95-102.

Liu, Y.J., Whelen, S., & Hall, B.D. (1999). Phylogenetic relationships among *Ascomycetes*: evidence from an RNA polymerse II subunit, *Molecular Biology and Evolution, 16*(12), 1799–1808.

Luangsa-ard J., Hywel-Jones NL., & Samson RA. (2004). The polyphyletic nature of *Paecilomyces* sensu lato based on 18S-generated rDNA phylogeny. *Mycologia 96*: 773–780.

Luangsa-Ard, J. J., Hywel-Jones, N. L., Manoch, L., & Samson, R. A. (2005). On the relationships of *Paecilomyces* sect. Isarioidea species. *Mycological research*, *109*(5), 581-589.

Luangsa-Ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S. B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N. L., & Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Letters*, *321*(2), 141-149.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2018), *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi*, Çökmüş, C. (Çev.). Ankara: Palme Yayınevi.

Madrid, H., Cano, J., Stchigel, A., Gené, J., & Guarro, J. (2010). *Ramophialophora humicola* and *Fibulochlamys chilensis*, two new microfungi from soil. *Mycologia*, *102*(3), 605-612.

Maneeboon, T., Sangchote, S., Hongprayoon, R., Chuaysrinule, C., & Mahakarnchanakul, W. (2023). Occurrence of heat-resistant mold ascospores in pineapple and sugarcane field soils in Thailand. *International Journal of Microbiology*, *2023*(1), 1-13.

Masclaux, F., Gueho, E., Hoog, G.S., & Christen, R. (1995). Phylogenetic relationships of human-pathogenic *Cladosporium (Xylohypha)* Species Inferred from Partial LS rRNA Sequences, *Medical Mycology, 33*(5), 327–338.

Monpierre, L., Aït-Ammar, N., Valsecchi, I., Normand, A.-C., Guitard, J., Riat, A., Huguenin, A., Bonnal, C., Sendid, B., Hasseine, L., Raberin, H., Dehais, M., Ranque, S., Hennequin, C., Piarroux, R., Dannaoui, E., & Botterel, F. (2022). Species identification and in vitro antifungal susceptibility of *Paecilomyces*/*Purpureocillium* species isolated from clinical respiratory samples: a multicenter study. *Journal of Fungi*, *8*(7), 684.

Moreira, D. C., Oliveira, M. M., & Borba, C. M. (2018). Human pathogenic *Paecilomyces* from food. *Microorganisms*, *6*(3), 64.

Moreno-Gavíra, A., Huertas, V., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. (2020). *Paecilomyces* and its importance in the biological control of agricultural pests and diseases. *Plants*, *9*(12), 1746.

Mouchacca, J. (2007). Heat tolerant fungi and applied research: Addition to the previously treated group of strictly thermotolerant species. *World Journal Microbiol Biotechnol*, 23:1755–1770.

National Center for Biotechnology Information. (2025). *NCBI*. U.S. National Library of Medicine. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/, Erişim tarihi: 05-Mart-2025

Nguyen, H., Chabot, D., Hirooka, Y., Roberson, R., & Seifert, K. (2015). *Basidioascus undulatus*. genome, origins, and sexuality. *IMA Fungus*, 215–231.

Panagou, E. Z., Chelonas, S., Chatzipavlidis, I., & Nychas, G.-J. E. (2010). Modelling the effect of temperature and water activity on the growth rate and growth/no growth interface of *Byssochlamys fulva* and *Byssochlamys nivea*. *Food Microbiology*, *27*, 618-627.

Peng, L., Zhang, Y. W., Wang, H. Y., Dong, C. B., Chen, W. H., Liang, J. D., & Han, Y. F. (2023). Taxonomy and phylogeny of eight new *Acrophialophora* species (Sordariales, Chaetomiaceae) from China. *Journal of Fungi*, *9*(6), 645.

Piecková, E., Lehotská, R., & Globanová, M. (2020). Heat resistant fungi, toxicity and their management by nanotechnologies. M. Rai & K. A. Abd-Elsalam (Ed.), *Nanomycotoxicology* (217-237). Slovakia: Academic Press.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). *Fungi and Food Spoilage.* London: Springer-Science.

Pushparaj, K., Meyyazhagan, A., Bhotla, H. K., Arumugam, V. A., Pappuswamy, M., Vadivalagan, C., Hakeem, K. R., Balasubramanian, B., Liu, W., & Khaneghah, A. M. (2023). The crux of bioactive metabolites in endophytic and thermophilic fungi and their proximal prospects in biotechnological and industrial domains. *Toxicon*, *223*, 1-14.

Rhodes, J. C. (2006). *Aspergillus fumigatus*: growth and virulence. *Medical mycology*, *44*(sup1), 77-81.

Rossman, A., Allen, W., Braun, U., Castlebury, L., Chaverri, P., Crous, P., Hawksworth, D. L., Hyde, K. D., Johnston, P., Lombard, L., Romberg, M., Samson, R. A., Seifert, K. A., Stone, J. K., Udayanga, D., & White, J. (2016). Overlooked competing asexual and sexually typified generic names of Ascomycota with recommendations for their use or protection, *IMA Fungus, 7* (2), 289-308.

Sambrook, J., & Russell, D.W. (2001). Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbour Laboratory Press.

Samson, R. A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C., & Andersen, B. (2010). *Food and İndoor Fungi*. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre Utrecht.

Samson, R., Houbraken, J., Varga, J., & Frisvad, J. (2009). Polyphasic taxonomy of the heat-resistant ascomycete genus *Byssochlamys* and its *Paecilomyces* anamorphs. *Persoonia, 22* (1), 14-27.

Sandhu, S. S., Sharma, A. K., Beniwal, V., Goel, G., Batra, P., Kumar, A., Jaglan, S., Sharma, A. K., & Malhotra, S. (2012). Myco-biocontrol of insect pests: factors involved, mechanism, and regulation. *Journal of Pathogens*, *2012*(1), 1-10.

Senthilkumar, M., Anandham, R., & Krishnamoorthy, R. (2020). *Paecilomyces*. In *Beneficial microbes in agro-ecology* (pp. 793-808). Academic Press.

Sesli, E., Asan, A., Selçuk, F. (eds.). Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğdu, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E, Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., & Yoltaş, A. (2020). *Türkiye mantarları listesi (The Checklist of the Fungi of Turkey)*. XVII + 1177 Sayfa. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını, İstanbul.

Silva, F. V. M. (2015). Inactivation of *Byssochlamys nivea* ascospores in strawberry puree by high pressure, power ultrasound and thermal processing. *International Journal of Food Microbiology*, *214*, 129-136.

Spetik, M., Berraf-Tebbal, A., Gramaje, D., Mahamedi, A. E., Stuskova, K., Burgova, J., & Eichmeier, A. (2022a). *Paecilomyces clematidis* (Eurotiales, Thermoascaceae): a new species from Clematis root. *Phytotaxa*, *559*(3), 238-246.

Sun, J., Yu, S., Lu, Y., Liu, H., & Liu, X. (2023). Proposal of a new family Pseudodiploösporeaceae fam. nov.(Hypocreales) based on phylogeny of Diploöspora longispora and Paecilomyces penicillatus. *Mycology*, *14*(1), 60-73.

Sümer, S., (2006), *Genel Mikoloji.* Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.

Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees, *Molecular Biology and Evolution, 10,* 512–526.

Tournas, V. (1994). Heat-resistant fungi of ımportance to the food and beverage ındustry. *Critical Reviews in Microbiology*, *20:4*, 243-263 .

Tranquillini, R., Scaramuzza, N., & Berni, E. (2016). Occurrence and ecological distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in raw materials used by food industry and thermal characterization of two *Talaromyces* isolates. *International Journal of Food Microbiology*, *242*, 116-123.

Ulusoy, B. H., Hamed, N. S., & Yildirim, F. K. (2022). Heat-resistant moulds: Assessment, prevention and their consequences for food safety and public health. Czech Journal of Food Sciences, *40(4)*.

Urquhart, A., Chong, N., Yang, Y., & Idnurm, A. (2022). A large transposable element mediates metal resistance in the fungus *Paecilomyces variotii*, *Current Biology,* 937-950.

Visagie, C. M., Yilmaz, N., Kocsubé, S., Frisvad, J. C., Hubka, V., Samson, R. A., & Houbraken, J. (2024). A review of recently introduced *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and other Eurotiales species. *Studies in Mycology*, *107*(1), 1-66.

Wang, S.-Y., Zhang, Y.-J., Chen, L.-X., Pang, Y.-B., Herrera-Balandrano, D. D., Daly, P., Liu, F.-Q., Simões, M. F., Shi, X.-C., & Laborda, P. (2025). Discovery of the dipicolinic acid synthase in the spoilage fungus *Paecilomyces* reveals its role in spore heat, salt, and alkaline pH resistance. *Food Research International*, *205*, 1-14.

Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. (2025). *MycoBank*. https://www.mycobank.org/, Erişim Tarihi 06-Mart-2025.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics, Innis M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Editörler). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Pres, USA

Williams, K., Szwalbe, A. J., de Mattos-Shipley, K. M., Bailey, A. M., Cox, R. J., & Willis, C. L. (2023). Maleidride biosynthesis–construction of dimeric anhydrides–more than just heads or tails. *Natural Product Reports*, *40*(1), 128-157.

Witfeld, F., Begerow, D., & Guerreiro, M. A. (2021). Improved strategies to efficiently isolate thermophilic, thermotolerant, and heat-resistant fungi from compost and soil. *Mycological Progress*, *20*, 325–339.

Yaguchi, T., Imanishi, Y., Matsuzawa, T., Hosoya, K., Hitomi, J., & Nakayama, M. (2012). Method for identifying heat-resistant fungi of the genus *Neosartorya*. *Journal of Food Protection*, *75:10*, 1806–1813.

Yang, J., Li, J., Jiang, Y., Duan, X., Qu, H., &Yang, B., (2013). Natural occurrence, analysis, and prevention of mycotoxins in fruits and their processed products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *67*, 64-83.

Yeh, Y. H., & Kirschner, R. (2014). *Sarocladium spinificis*, a new endophytic species from the coastal grass *Spinifex littoreus* in Taiwan. *Botanical Studies*, *55*, 1-6.

Zhang, Y.-J., Herrera-Balandrano, D., Shi, X.-C., Wang, S.-Y., & Laborda, P. (2022). Biocontrol of *Colletotrichum brevisporum* in soybean using a new genistein-producing *Paecilomyces* strain. *Biological Control*, 1-9.

EKLER

Ek-1. Örnekleme noktalarına ait GPS kayıtları

İL	**Örnek No**	**GPS KAYITI (Derece ve ondalık dakika (DMM))**		**YÜKSEKLİK (m)**
Edirne	**1**	41 49.1469	26 42.6412	218
	2	41 09.4061	26 23.3870	96
	3	40 41.4057	26 09.5383	121
	4	41 22.8603	26 47.3424	191
İstanbul	**1**	41 04.9341	29 20.0161	64
	2	41 05.8183	28 15.0419	118
	3	41 14.7632	28 58.5792	161
	4	41 05.9958	29 52.3648	51
Sakarya	**1**	40 48.4122	30 26.0444	77
	2	41 03.4560	30 38.1636	44
	3	40 29.9286	30 14.5802	91
	4	40 44.9654	30 40.1757	64

Ek-1. Örnekleme noktalarına ait GPS kayıtları (devamı)

İL	Örnek No	GPS KAYITI (Derece ve ondalık dakika (DMM))		YÜKSEKLİK (m)
Yalova	**1**	40 36.8667	29 09.4607	106
	2	40 31.0901	28 51.3504	296
	3	40 37.0907	29 15.4590	98
	4	40 40.9337	29 31.1114	176
Afyonkarahisar	**1**	38 50.6975	30 33.1840	971
	2	38 45.1025	30 21.4811	1018
	3	38 41.5268	30 33.7768	986
	4	38 44.8981	30 37.8468	971
İzmir	**1**	38 17.1238	26 49.7852	49
	2	38 44.5356	26 58.2444	-2
	3	37 55.9792	27 21.9339	-12
	4	38 09.4730	27 45.3684	54
Kütahya	**1**	39 26,8731	29 58.7963	867
	2	39 25.2134	29 55.6288	1224
	3	39 23.0935	29 59.7673	1110
	4	39 25.9153	30 02.9154	862
Muğla	**1**	37 19.6198	28 09.9677	366
	2	37 17.7707	27 47.2813	28
	3	36 59.2682	28 36.6881	-24
	4	36 39.7715	29 09.8544	17
Uşak	**1**	38 35.1921	29 21,3633	843
	2	38 29.3687	28 48.7171	753
	3	38 17.9421	29 28.3075	914
	4	38 41.7148	29 40.7347	923

Ek-2. Toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal analizleri

Numune Adı	İlk Ağırlık	Son Ağırlık	Fark	% Kuru Ağırlık Miktarı	% Su Miktarı
Edirne 1	100	84,49	15,51	84,49	15,51
Edirne 2	100	81,64	18,36	81,64	18,36
Edirne 3	100	85,859	14,141	85,859	14,141
Edirne 4	100	86,314	13,686	86,314	13,686
İstanbul 1	100	78,68	21,32	78,68	21,32
İstanbul 2	100	84,851	15,149	84,851	15,149

İstanbul 3	100	82,157	17,843	82,157	17,843
İstanbul 4	100	85,71	14,29	85,71	14,29
Sakarya 1	100	81,95	18,05	81,95	18,05
Sakarya 2	100	79,759	20,241	79,759	20,241
Sakarya 3	100	84,037	15,963	84,037	15,963
Sakarya 4	100	79,279	20,721	79,279	20,721
Yalova 1	100	91,07	8,93	91,07	8,93
Yalova 2	100	76,605	23,395	76,605	23,395
Yalova 3	100	85,388	14,612	85,388	14,612
Yalova 4	100	87,982	12,018	87,982	12,018
Afyon 1	100	88,942	11,058	88,942	11,058
Afyon 2	100	80,743	19,257	80,743	19,257
Afyon 3	100	87,947	12,053	87,947	12,053
Afyon 4	100	83,782	16,218	83,782	16,218
İzmir 1	100	91,469	8,531	91,469	8,531
İzmir 2	100	91,358	8,642	91,358	8,642
İzmir 3	100	82,55	17,45	82,55	17,45
İzmir 4	100	90,239	9,761	90,239	9,761
Kütahya 1	100	77,062	22,938	77,062	22,938
Kütahya 2	100	77,695	22,305	77,695	22,305
Kütahya 3	100	75,633	24,367	75,633	24,367
Kütahya 4	100	79,434	20,566	79,434	20,566
Muğla 1	100	86,751	13,249	86,751	13,249
Muğla 2	100	80,86	19,14	80,86	19,14
Muğla 3	100	75,305	24,695	75,305	24,695
Muğla 4	100	86,421	13,579	86,421	13,579
Uşak 1	100	86,191	13,809	86,191	13,809
Uşak 2	100	88,207	11,793	88,207	11,793
Uşak 3	100	82,241	17,759	82,241	17,759
Uşak 4	100	86,025	13,975	86,025	13,975

Ek-3. Toprak örneklerinin analiz sonuçları

Numune Adı	**% Kum**	**% Kil**	**% Toz**	**Toprak Tipi**	**pH**	**% Kireç**	**% Organik Karbon**	**% Organik Madde**	**EC (mS/cm)**
Edirne 1	40,86	29,95	29,20	Killi Balçık	6,44	0,02	-	1,05	0,04

Ek-3. Toprak örneklerinin analiz sonuçları

Numune Adı	**% Kum**	**% Kil**	**% Toz**	**Toprak Tipi**	**pH**	**% Kireç**	**% Organik Karbon**	**% Organik Madde**	**EC (mS/cm)**
Edirne 2	34,44	32,11	33,45	Killi Balçık	6,76	0,04	-	1,60	0,11
Edirne 3	64,62	21,11	14,27	Kumlu Killi Balçık	6,48	0,02	-	0,98	0,03
Edirne 4	37,83	38,16	27,02	Killi Balçık	8,28	32,20	-	2,37	0,18
İstanbul 1	9,22	50,06	40,72	Tozlu Kil	8,10	13,32	-	2,27	0,14
İstanbul 2	27,51	27,39	45,10	Killi Balçık	7,83	1,66	-	2,46	0,14
İstanbul 3	22,25	52,09	25,66	Kil	8,04	2,90	-	1,53	0,22
İstanbul 4	52,40	25,19	22,42	Kumlu Killi Balçık	7,54	0,04	-	1,63	0,06
Sakarya 1	2,11	62,00	35,90	Kil	8,51	9,80	-	1,62	0,21
Sakarya 2	12,63	40,90	46,47	Tozlu Kil	6,80	0,10	-	3,05	0,35
Sakarya 3	21,61	27,30	51,09	Killi Balçık	7,37	0,06	-	1,97	0,04
Sakarya 4	24,19	29,94	45,87	Killi Balçık	8,14	16,33	-	1,20	0,19
Yalova 1	43,28	31,84	24,88	Killi Balçık	8,09	12,67	-	2,62	0,18
Yalova 2	6,72	47,02	46,26	Tozlu Kil	8,36	7,05	-	1,58	0,13

Ek-3. Toprak örneklerinin analiz sonuçları (devamı)

Numune Adı	**% Kum**	**% Kil**	**% Toz**	**Toprak Tipi**	**pH**	**% Kireç**	**% Organik Karbon**	**% Organik Madde**	**EC (mS/cm)**
Yalova 3	18,84	47,31	33,85	Kil	8,44	10,55	-	1,43	0,15
Yalova 4	30,89	27,68	41,43	Killi Balçık	7,04	0,04	-	1,52	0,03
Afyon 1	60,75	18,98	20,27	Kumlu Balçık	7,92	0,14	-	0,070	0,10
Afyon 2	42,65	32,20	25,15	Killi Balçık	8,29	9,16	-	1,64	0,16
Afyon 3	54,37	21,14	24,49	Kumlu Killi Balçık	7,92	0,49	-	1,33	0,09
Afyon 4	29,68	25,29	45,02	Balçık	8,08	4,78	-	1,97	0,18
İzmir 1	63,05	10,79	26,16	Kumlu Balçık	8,05	2,45	-	1,24	0,09
İzmir 2	56,58	19,03	24,39	Kumlu Balçık	8,41	13,78	-	0,84	0,13
İzmir 3	23,91	45,96	30,12	Kil	8,27	15,62	-	1,76	0,15
İzmir 4	56,66	18,99	24,35	Kumlu Balçık	7,62	0,07	-	1,10	0,15
Kütahya 1	9,42	53,35	37,23	Kil	8,29	24,17	-	2,19	0,25
Kütahya 2	2,58	44,88	52,53	Tozlu Kil	8,46	22,59	-	3,84	0,31
Kütahya 3	23,09	43,06	33,84	Kil	8,28	37,45	-	2,77	0,19
Kütahya 4	16,86	45,12	38,02	Kil	8,13	13,80	-	2,36	0,18
Muğla 1	59,84	21,49	18,67	Kumlu Killi Balçık	8,22	1,50	-	1,12	0,12
Muğla 2	24,67	19,39	55,94	Toz Balçığı	8,26	8,88	-	2,34	0,19
Muğla 3	38,60	38,96	22,44	Killi Balçık	8,16	16,18	-	0,88	0,17

Ek-3. Toprak örneklerinin analiz sonuçları (devamı)

Numune Adı	% Kum	% Kil	% Toz	Toprak Tipi	pH	% Kireç	% Organik Karbon	% Organik Madde	EC (mS/cm)
Muğla 4	39,07	33,95	26,98	Killi Balçık	8,25	4,80	-	1,65	0,12
Uşak 1	54,04	25,40	20,55	Kumlu Killi Balçık	7,06	0,03	-	0,78	0,02
Uşak 2	47,57	31,76	20,67	Kumlu Killi Balçık	7,63	0,04	-	1,48	0,04
Uşak 3	29,19	43,21	27,59	Kil	8,15	46,87	-	1,98	0,15
Uşak 4	21,06	35,73	43,22	Killi Balçık	8,28	16,31	-	1,71	0,14

Ek-4. Toprak örneklerinin analiz sonuçları

Numune Adı	Azot (%)	Fosfor (ppm)	Potasyum (ppm)
Edirne 1	0,10	31,07	381
Edirne 2	0,11	20,49	182
Edirne 3	0,07	15,49	280
Edirne 4	0,17	41,56	333
İstanbul 1	0,19	4,93	226
İstanbul 2	0,19	263,93	635
İstanbul 3	0,12	23,41	390
İstanbul 4	0,12	131,09	257
Sakarya 1	0,13	35,37	655
Sakarya 2	0,22	132,87	679
Sakarya 3	0,12	17,06	140
Sakarya 4	0,11	29,61	477
Yalova 1	0,19	38,66	593
Yalova 2	0,13	6,10	211
Yalova 3	0,12	8,57	184
Yalova 4	0,13	4,87	76
Afyon 1	0,07	89,66	464
Afyon 2	0,14	44,34	650

Ek-4. Toprak örneklerinin analiz sonuçları (devamı)

Numune Adı	**Azot (%)**	**Fosfor (ppm)**	**Potasyum (ppm)**
Afyon 3	0,11	75,71	801
Afyon 4	0,16	34,48	468
İzmir 1	0,11	40,05	147
İzmir 2	0,08	6,10	64
İzmir 3	0,14	6,78	718
İzmir 4	0,10	82,78	347
Kütahya 1	0,16	24,53	1585
Kütahya 2	0,26	145,67	1844
Kütahya 3	0,19	8,78	362
Kütahya 4	0,18	5,39	507
Muğla 1	0,09	10,27	78
Muğla 2	0,19	34,08	170
Muğla 3	0,09	10,77	853
Muğla 4	0,15	12,04	355
Uşak 1	0,06	5,75	74
Uşak 2	0,10	30,60	308
Uşak 3	0,14	12,20	462
Uşak 4	0,11	7,72	517

TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT BİLİMSEL ÇIKTILAR

Makaleler

1. Ayva, F., Ouzeir, G., Demirel, R., Şen, B., Asan, A., & Kadaifçiler, D. (2019). Biodiversity of heat resistance soil microfungi in agricultural areas of Eskisehir Province. *Mantar Dergisi*, *10*(3), 67-78.Makale 2

Konferans Bildirileri

1. Ouzeir, G., Şen, B., (2017). Colony Morphology of Semi-Synthetic Modified Media of Some Isolates of *Aspergillus*. I. Eurasia Mycology Congress (Poster Sunumu)
2. Ayva, F., Ouzeir, G., Demirel R., Şen, B., Asan, A., Kadaifçiler, D. (2019). Biodiversity of Heat Resistance Soil Microfungi in Agricultural Areas of Eskisehir Province, 2nd International Eurasia Mycology Congress (Sözlü Bildiri)
3. Şen, B., Ouzeir, G., (2019). Talaromyces Cinsine Ait Bazı Standart Suşların Modifiye CYA ve MEA Besiyerlerindeki Koloni Morfolojileri. 2nd International Eurasia Mycology Congress (Poster Sunumu)
4. Demirel, R., Ayva, F., Ouzeir, G., Şen, B., Asan, A., Kadaifçiler, D. (2019). Heat Resistant Microfungi Samples From Agrıcultural Area in Turkey. British Ecological Society, (Poster Sunumu)
5. Ouzeir, G., Şen, B., Demirel, R., Asan, A., (2024). Polyphasic Taxonomy of Heat Resistant *Hamigera* Isolates from Soil Samples Taken from Some Locations in Different Provinces of Türkiye. 4nd International Eurasia Mycology Congress (Sözlü sunum)
6. Ouzeir, G., Şen, B., Demirel, R., Asan, A., (2024). The Discovery of Polyphasic Taxonomy of Isolates of Heat-Resistant *Paecilomyces* and Its Close Genera Found in Soil Samples Taken from Some Locations in Different Provinces of Türkiye. 4nd International Eurasia Mycology Congress (Sözlü sunum)

7. Kurtuluş, G., Başaran, T. I., Ouzeir, G., Açıkgöz, B., Gökalsın, B., Şen, B., & Sesal, N. C., Effects of Growth Media on the Diversity of Culturable Fungi from Lichens of Bursa, Türkiye. 4nd International Eurasia Mycology Congress (Sözlü sunum)
8. Başaran, T. I., Kurtuluş, G., Ouzeir, G., Açıkgöz, B., Gökalsın, B., Şen, B., & Sesal, N. C., Comparison of Endolichenic Fungi Biodiversity of *Pseudevernia furfuracea* from Bursa-Türkiye, by Advanced Isolation Techniques and Metabarcoding Analysis. 4nd International Eurasia Mycology Congress (Sözlü sunum)

Projeler

1. Bursiyer (2016-2018): Trakya Üniversitesi TÜBİTAK 1001-Araştırma Projesi. Proje Başlığı: ‘’Kesin Fungus Tür Tayini İçin Multilokus Dizi Analizi (MLSA) Tabanlı Bir Yöntem Geliştirilmesi’’
2. Bursiyer (2018-2021): Eskişehir Teknik Üniversitesi TÜBİTAK 1001-Araştırma Projesi. Proje Başlığı: ‘’Türkiye'nin Toprak Kaynaklı Isıya Dirençli *Aspergillus* Cinsi Üyelerinin Polifazik Taksonomisi’’
3. Bursiyer (2017-2020): Destekleyen Kuruluş: Anadolu Üniversitesi Rektörlüğü BAP Birimi (Sonra, 2018’de Eskişehir Teknik Üniversitesi oldu). Proje Başlığı: ‘’Türkiye’nin Toprak Kaynaklı Isıya Dirençli *Penicillium* ve *Talaromyces* Cinsi Üyelerinin Polifazik Taksonomisi’’
4. Bursiyer (2023-2025): Trakya Üniversitesi TÜBİTAK 1001-Araştırma Projesi. Proje Başlığı: ‘’Türkiye'nin Farklı İllerindeki Bazı Lokasyonlardan Alınan Toprak Örneklerinde Bulunan, Isıya Dayanıklı *Paecilomyces* ve Yakın Cinslerine Ait İzolatların Polifazik Taksonomisi’’
5. Araştırmacı (2022-2024): Destekleyen Kuruluş: Trakya Üniversitesi BAP Birimi. Proje Başlığı: ‘’ Türkiye’nin Farklı illerindeki Bazı Lokasyonlarından Alınan Toprak Örneklerinde Bulunan Isıya Dayanıklı *Hamigera* Cinsine Ait İzolatların Polifazik Taksonomisi’’
6. Araştırmacı (2022-2025): Destekleyen Kuruluş: Trakya Üniversitesi BAP Birimi. Proje Başlığı: ‘’Modifiye Besiyerinde Üretilern *Penicillium* ve *Talaromyces* Cinslerine At Bazı Standart Suşların Süpernatant Biyoaktivitelerinin Değerlendirilmesi’’

ÖZGEÇMİŞ

Lisans eğitimimi Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2012-2016 yılları arasında tamamlayıp mezun oldum.

2016 yılından itibaren yüksek lisans eğitimime Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda devam ettim. Yüksek lisans çalışmam sırasında *Penicillium* ve *Talaromyces* cinslerine ait bazı standart suşların modifiye CYA ve MEA besiyerindeki koloni morfolojileri üzerine odaklandım ve 2019 yılında yüksek lisans derecemi aldım.

2019 yılından bu yana Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde doktora eğitimime devam etmekteyim. Doktora çalışmalarım kapsamında Marmara ve Ege bölgelerindeki bazı illerin nadasa bırakılmış tarla topraklarında bulunan ısıya dayanıklı *Paecilomyces* Bainier 1907 ve yakın cinslerine ait izolatların polifazik taksonomisi üzerine yoğunlaştım. Araştırmalarım sırasında mikoloji alanında hem morfolojik hem de moleküler anlamda yeni tecrübeler ve deneyimler kazandım.

Eğitim hayatım boyunca edindiğim bilimsel birikim ve deneyimler, beni biyoloji alanında uzmanlaşmaya ve bilimsel araştırmalara katkıda bulunmaya yönlendirmiştir. Gelecekte de bu alanda çalışmalarımı sürdürmeyi planlamaktayım.