



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



EV YAPIMI ANTAKYA
SÜRK PEYNİRLERİNDE BULUNAN
KÜFLERİN KLASİK MİKROBİYOLOJİK
VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
TAYİNİ

KIOUMPRA KIOURT MOLLA CHOUSEIN

520120922

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Ana Bilim Dalı

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Salim SÜNER

İSTANBUL, 2023



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



EV YAPIMI ANTAKYA
SÜRK PEYNİRLERİNDE BULUNAN
KÜFLERİN KLASİK MİKROBİYOLOJİK
VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
TAYİNİ

KIOUMPRA KIOURT MOLLA CHOUSEIN

520120922

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Ana Bilim Dalı

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Salim SÜNER

İSTANBUL, 2023

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince bana bilgi verip yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Salim SÜNER'e,

Analizlerin yapılmasında laboratuvar imkanlarından faydalanarak çokça tecrübe kazandığım ve birçok konuda yardımcı dokunan Doç. Dr. Zeki SEVEROĞLU'na,

Okulumuza geldiği günden beri bana her türlü yardımlarda bulunup desteğini her zaman hissettiğim sevgili hocam Prof. Dr. Ajda ÇOKER GÜRKAN'a,

Ayrıca deneysel süreç içerisinde laboratuvar imkanlarından faydalanma şansım olan Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL hocama ve yardımları için Tunahan Irmak BAŞARAN ile Dença TOKER'e,

Çalışmada materyal olarak kullanılan Sürk peynirinin yapım aşamasında ve temin edilmesinde emeği geçen Sara TOŞAR, Aliye SÜNER ve Semra S. AHRAS'a,

Tezin BAP proje süreçleri kısmında başından sonuna kadar yardımlarını, ilgilerini esirgemeyen Marmara Üniversitesi BAP Biriminin özverili çalışanları Hakan DOĞAN, Cemal KOÇ ve Suna KANAT DEMİRKOL'a,

Yüksek lisans hayatım sürecinde tanıdığım, hem deneysel çalışmalarında hem de manevi şekilde bana her konuda sayısız iyiliği dokunan dostum Merve SARIDAL'a,

Tez çalışmalarımı yürüttüğüm süreçte hep yanımda olan, bana moral veren Rabia SEZGİN, Emine KARAHÜSEYİN, Sevda KURT MEHMETALİ, Çiğdem TUNUR, İrem Ece VAHAP, Gizem AY'a,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi olarak bana destek olan, benim bugünlere gelmemi sağlayan babam Cemali KURT MOLLA HÜSEYİN, annem Feriha KABZA, ablam Esra KURT MOLLA HÜSEYİN ve abim Mehmet KURT MOLLA HÜSEYİN'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma M.Ü. BAPKO birimi tarafından FYL-2022-10567 no'lu proje kapsamında desteklenmiş ve 10. Ulusal Botanik Kongresi'nde poster bildirisi şeklinde sunulmuştur.

Kiourt Molla Chousein K., Süner S., Severoğlu Z. Ev Yapımı Antakya Sürk Peynirlerinde Bulunan Küflerin Klasik Mikrobiyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Tayini, 10. Ulusal Botanik Kongresi, İstanbul, 13-15 Eylül 2023.

Ekim, 2023

Kioumpra KIOURT MOLLA CHOUSEIN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
SEMBOLLER	v
KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Sürk Peynirinin Özellikleri.....	3
1.2. Mantarların Özellikleri	6
1.2.1. Yaşam Döngüleri	9
1.2.2. Mantar Tayininde Morfolojik Değerlendirme.....	13
1.2.3. Mantar Tayininde Yaygın Olarak Kullanılan Moleküler Yöntemler	14
1.2.3.1. DNA Barkodlama	15
1.3 Önceki Çalışmalar	18
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
2.1. Materyal.....	24
2.2. Yöntem	27
2.2.1. Mikrobiyolojik Kültüre Alma.....	27
2.2.2. Boyama İşlemi.....	29
2.2.3. Genetik Analizler.....	29
2.2.3.1. DNA İzolasyonu	30
2.2.3.2. DNA saflığı ve konsantrasyonunun ölçümü.....	32
2.2.3.2. Elektroforezde Bütünlük Analizi (İntegrity)	33
2.2.3.3 Örneklerin NGS analizi	34
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	35
3.1. Morfolojik Analizler Sonucu Elde Edilen Küf Türleri.....	35
3.2 Moleküler Analiz Sonuçları	48
4. SONUÇLAR.....	50
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	64

ÖZET

EV YAPIMI ANTAKYA SÜRK PEYNİRLERİNDE BULUNAN KÜFLERİN KLASİK MİKROBİYOLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TAYİNİ

Süt, zengin besin öğeleri içeriğine sahip olup hem insanlar hem de mikroorganizmalar için iyi bir besin kaynağıdır. Sütün uzun süre içerisinde tüketilmesine imkân sağlamak amacıyla peynir gibi daha dayanıklı ürünlere işlenmesi binlerce yıldır uygulanan bir tekniktir. Peynirlerin türüne göre değişen ve arzu edilen belirli fiziksel nitelikleri bulunduğu gibi peynirin mikrobiyolojik içeriği de önem taşımaktadır. Antakya’da yaygın olarak üretilen ve tüketilen sürk peyniri, içeriğindeki zengin baharat ve bitki karışımlarıyla kendine has bir aromaya sahiptir ve ‘doğal antibiyotik kaynağı’ olarak bilinmektedir. Taze olarak tüketilebildiği gibi haftalar veya aylarca olgunlaştırıldıktan ve hatta üzerinde küf gelişmesi sağlandıktan sonra da tüketilebilmektedir. Bu çalışmada Antakya’nın farklı bölgelerinden elde edilen ev yapımı sürk peyniri örneklerinin küf içeriği yönünden geleneksel mikrobiyolojik ve yeni nesil sekanslama (NGS) yöntemleriyle moleküler düzeyde analizi amaçlanmıştır. Çalışmada olgunlaştırılmış peynir örneklerinin Potato Dextrose Agar (PDA) ve Bazal Medium (BM) besiyerinde 10 gün boyunca gelişimleri gözlenmiştir. Petri kaplarında koloni oluşumları izlenmiş ve ardından gelişen koloniden alınan örnekler mikroskopta incelenerek fotoğraflanmıştır. Fotoğraflama işlemi öncesinde örneklerin tür bazında tayinini kolaylaştırmak amacıyla örnekler, metilen mavisi ve melzer ayırıcı ile boyanmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda analiz edilen peynir örneklerinin dış ve iç bölgelerinden alınan örneklerde *Penicillium roqueforti*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus glaucus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium oxysporum* ve *Pseudallescheria boydii* (*Scedosporium apiospermum*) türlerine rastlanmıştır. DNA izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin 18S rDNA sekansının tamamının sekanslanmasına dayalı olarak NGS yönteminin uygulanması için hizmet alımı yapılmıştır. Ancak örneklerden elde edilen DNA örneklerinin yapılan NGS analizinden, DNA kalitesinden kaynaklandığı söylenen sorunlar sebebiyle, sonuç alınamamış ve bu sebeple moleküler tür tayini gerçekleştirilememiştir.

Ekim, 2023

Kioumpra KIOURT MOLLA CHOUSEIN

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF FUNGI SPECIES WITHIN HOME-MADE SÜRK CHEESE OF ANTAKYA VIA CULTURE-BASED AND MOLECULAR METHODS

Milk is a rich source of nutrients and has been a staple food for both humans and microorganisms for thousands of years. Processing milk into more durable products like cheese to allow for its consumption over extended periods has been a practiced technique. Depending on the type of cheese, specific desired physical qualities vary, and the microbiological content of the cheese is also important. Sürk cheese, commonly produced and consumed in Antakya, has a distinctive aroma due to its rich blend of spices and herbs and is known as a 'natural source of antibiotics.' It may be consumed freshly or after weeks or even months of maturation, and even after allowing mold to develop on its surface. This study aims to analyze homemade sürk cheese samples obtained from different regions of Antakya at the molecular level in terms of their mold content using both traditional microbiological and next-generation sequencing (NGS) methods. Matured cheese samples were observed for growth on Potato Dextrose Agar (PDA) and Basal Medium (BM) culture media for ten days. Colony formations were monitored in Petri dishes, and subsequently, samples from developed colonies were examined under a microscope and photographed. Prior to the photography process, samples were stained with methylene blue and Melzer's reagent to facilitate species-level identification. As a result of the examinations, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus glaucus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium oxysporum*, and *Pseudallescheria boydii* (*Scedosporium apiospermum*) species were found in samples taken from both the outer and inner regions of the cheese. Service procurement for the application of NGS method based on sequencing the entire 18S rDNA sequence of the isolated DNA samples was carried out. However, due to the issues attributed to DNA quality, no results were obtained from the NGS analysis of the samples, thus, fungal species characterization at molecular level could not be performed.

October, 2023

Kioumpira KIOURT MOLLA CHOUSEIN

SEMBOLLER

%	: Yüzde
° C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikro Molar
µ	: Mikron
µl	: Mikrolitre
cm	: Santimetre
g	: Gram
g/l	: Gram bölü litre
M	: Molar
mg	: Miligram
mM	: Mili molar
nm	: Nanometre
pH	: Potansiyel hidrojen
rpm	: Devir/ dakika
w/v	: Hacimde ağırlıkça yüzde

KISALTMALAR

(NH₄)₂ HPO₄	: Diamonyum Hidrojen Fosfat
AF	: Aflatoksin
bç	: Baz çifti (Base pair)
BM	: Bazal Medium
CaCl₂	: Kalsiyum klorür
CDA	: Czapek Dox Agar
CREA	: Ceratine Sucrose Agar
CYA	: Czapek Extract Yeast Agar
CZ	: Czapek Dox Agar
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ETS	: Dış Transkripsiyonlu Ara Bölge
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
G25N	: Gliserin Nitrat Agar
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
IGS1 ve IGS2	: İntergenik Ara Bölge
ITS	: İnternal Transcribed Spacers
K₂HPO₄	: Dipotasyum Hidrojen Fosfat

KCl	: Potasyum klorür
LSU	: ‘Large Subunit’ (Büyük Alt Birim)
MEA	: Malt Extract Agar
MgCl₂	: Magnezyum klorür
MgSO₄ . 7 H₂O	: Magnezyum Sülfat Heptahidrat
NaCl	: Sodyum klorür
NGS	: ‘Next-Generation Sequencing’ (Yeni Nesil Sekanslama)
PCR	: ‘Polymerase Chain Reaction’ (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PDA	: Potato Dextrose Agar
PenG	: Penisilin G (Benzilpenisilin)
PenV	: Penisilin V (Fenoksimetilpenisilin)
rDNA	: Ribozomal Deoksiriboz Nükleik Asit
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SDA	: Sabouraud Dextrose Agar
SSU	: ‘Small Subunit’ (Küçük Alt Birim)
Tris-HCl	: Tris(Hidroksimetil) Aminometan Hidroklorür
vb.	: Ve benzeri
YES	: Yeast Extract Sucrose Agar
YESA	: Yeast Extract Sucrose Agar

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. 1 Çökelekten Sürk peyniri üretimi basamakları.....	4
Şekil 1. 2 A) Septat hif yapısı B) Koenositik hif yapısı C) Pseudo hif yapısı (BioRender.com’da hazırlanmıştır).	7
Şekil 1. 3 Eşeysiz spor tipleri. A) Sporangiosporlar B) Zoosporlar C) Artrosporlar D) Klamidosporlar E) Konidia (Dube,2013).	8
Şekil 1. 4 Eşeyli spor tipleri; a, askospor; b, askus; c, basidiospor; d, basidium; e, zigospor; f, gametangium; g, oospor; h, oogonium; i, anteridyum (Samanta, I., 2015)...	9
Şekil 1. 5 Zygomycetes’lerin şematik olarak yaşam döngüsü (Parker ve ark.,2016). ...	10
Şekil 1. 6 Ascomycetes’lerin şematik olarak yaşam döngüsü (Parker ve ark., 2016)....	11
Şekil 1. 7 Basidiomycetes’lerin şematik olarak yaşam döngüsü (Parker ve ark., 2016).12	
Şekil 1. 8 Mantar Tayininde Kullanılan Moleküler Yöntemler (Liu ve ark., 2006; Xu., 2006; Kolören ve ark., 2017; Green ve Sambrook, 2019;)	14
Şekil 1. 9 Ökaryotlarda iç transkripsiyonlu ara bölgeler ve rDNA. ITS bölgeleri 1 ve 2 kırmızı renktedir ve protein yapısına dahil olan fonksiyonel rRNA elementleri mavi renkte gösterilmiştir. IGS: intergenik ara bölge, ETS: Transkripsiyonu yapılan dış kısımdaki (Gen dışı) ara bölge (Stat ve ark.,2012).....	16
Şekil 1. 10 Küçük alt birim (SSU) nrRNA ve büyük alt birim (LSU) nrRNA amplifikasyonu için primerler. Primer dizilerinin yönü 5’ → 3’ yönünde verilmiştir (Raja ve ark.,2017).	17
Şekil 1. 11 ITS bölgesinin amplifikasyonu için primerler (Raja ve ark., 2017).	18
Şekil 2. 1 Materyalin görüntüleri; a) Karaali bölgesi 1. örnek b) Karaali bölgesi 2. örnek c) Karaali bölgesi 3. örnek d) Çarşı bölgesi 1. örnek e) Çarşı bölgesi 2. örnek f) Çarşı bölgesi 3. örnek g) Harbiye bölgesi 1. örnek h) Harbiye bölgesi 1. örnek i) Harbiye bölgesi 1. örnek j) Samandağ bölgesi 1. örnek k) Samandağ bölgesi 1. örnek l) Samandağ bölgesi 1. örnek.....	24
Şekil 2. 2 Peynir örneklerinin ekim aşaması.	28
Şekil 2. 3 25-27°C’de inkübatörde kültüre alınan örnekler.	29
Şekil 2. 4 Sürk peynirinden izole edilen DNA örneklerinin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü. M) Marker, 1) PDA ve BM’de gelişim gösteren Karaali bölgesine ait 1.	

örnek, 2) PDA ve BM’de gelişim gösteren Karaali bölgesine ait 2. örnek, 3) PDA ve BM’de gelişim gösteren Karaali bölgesine ait 3. örnek, 4) PDA ve BM’de gelişim gösteren Çarşı bölgesine ait 1. örnek, 5) PDA ve BM’de gelişim gösteren Çarşı bölgesine ait 2. örnek, 6) PDA ve BM’de gelişim gösteren Çarşı bölgesine ait 3. örnek, 7) PDA ve BM’de gelişim gösteren Harbiye bölgesine ait 1. örnek, 8) PDA ve BM’de gelişim gösteren Harbiye bölgesine ait 2. örnek, 9) PDA ve BM’de gelişim gösteren Harbiye bölgesine ait 3. örnek, 10) PDA ve BM’de gelişim gösteren Samandağ bölgesine ait 1. örnek, 11) PDA ve BM’de gelişim gösteren Samandağ bölgesine ait 2. örnek, 12) PDA ve BM’de gelişim gösteren Samandağ bölgesine ait 3. örnek	33
Şekil 2. 5 NGS teknolojisi akış şeması (Novogene).	34

Şekil 3. 1 <i>C. albicans</i> türünün A) PDA’daki 25-27°C’de 10 günlük koloni morfolojisi, B) ve C) ışık mikroskopunda elde edilen görüntüsü (100X).	38
Şekil 3. 2 <i>C. krusei</i> türünün A) BM’daki 25-27°C’de 10 günlük koloni görüntüsü, B) PDA’daki 25-27°C’de 10 günlük koloni görüntüsü, C) ve D) ışık mikroskopunda hif yapılarının morfolojik görüntüsü (100X).	39
Şekil 3. 3 <i>F. chlamydosporum</i> türünün A) PDA’daki 25-27°C’de 10 günlük koloni morfolojisi, B) ve C) makrokonidi ve mikrokonidi yapılarının mikroskopik görüntüsü (40X), D) zincir halinde bulunan klamidospor yapısının görüntüsü (40X).	40
Şekil 3. 4 <i>F. oxysporum</i> türünün A) PDA’daki 25-27°C’de 10 günlük koloni morfolojisi, B), C) ve D) konidilerin ve klamidospor yapısının mikroskop görüntüsü (40X).	41
Şekil 3. 5 <i>A. flavus</i> ’un A) Melzer ayırıcı ile boyanmış mikroskop görüntüsü (100X). B) PDA’daki 25-27°C’de 10 günlük koloni morfolojisi.	42
Şekil 3. 6 <i>A. glaucus</i> ’un A) BM besiyerindeki 25-27°C’de 10 günlük koloni morfolojisi, B) ışık mikroskopunda melzer ayırıcı ile boyanmış görüntüsü (100X), C) melzer ayırıcı ile boyanmış türün oluşturduğu kleistotesyum görüntüsü (100X), D) metilen mavisi ile boyanmış örnekte kleistotesyum yapısının parçalanmış ve sporların dağılmaya başlamış görüntüsü (100X).	44
Şekil 3. 7 <i>P. boydii</i> türünün A) PDA’daki 25-27°C’de 10 günlük koloni morfolojisi, B) ışık mikroskopunda görüntülenen morfolojisi (100X), C) oluşturduğu kleistotesia yapısı	

(40X).....	45
Şekil 3. 8 <i>Penicillium roqueforti</i> türünün A) PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, B) mikroskop görüntüsü (40X), C) metilen mavisiyle boyanmış mikroskop görüntüsü (100X).....	47
Şekil 3. 9 <i>P. chrysogenum</i> türünün A) BM'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, B) mikroskop görüntüsü (40X).....	48



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. 1 Mantar Tayini İçin Yapılan Morfolojik Değerlendirmeler.....	13
Tablo 2. 1 Kodlanmış peynir örneklerinin açıklaması.....	25
Tablo 2. 2 Patato dextrose agar besiyerinin içeriği.....	27
Tablo 2. 3 Bazal Medium besiyerinin içeriği.	27
Tablo 2. 4 KCl Ekstraksiyon Buffer içeriği.	30
Tablo 2. 5 DNA izolasyonu aşamaları. (BioRender.com’da hazırlanmıştır).....	30
Tablo 2. 6 Örneklerin DNA saflığı ve konsantrasyon ölçümü sonuçları.....	32
Tablo 3. 1 Tayini yapılan türlerin örneklerde bulunma dağılımı.....	35
Tablo 3. 2 Sekans analiz sonuçları.....	49
Tablo 4. 1 Teşhisi yapılan türlerin diğer çalışmalarla karşılaştırılması.	51

1. GİRİŞ

Fermente süt ürünleri, sütün belirli mikroorganizmalar, özellikle laktik asit bakterileri tarafından fermente edilmesinden yapılmaktadır. Fermantasyon koşulları ve starter kültürdeki farklılıklar, ürünlerin farklı bir kıvam ve aromaya sahip olmasına neden olmaktadır. Fermente süt ürünü, sütün asitliğini artırarak elde edilen, biyolojik değeri yüksek protein içeren bir süt ürünüdür (Biçer ve ark.,2021). Peynir, çeşitli mikrobiyal tür topluluklarını barındıran karmaşık bir biyolojik ekosistemdir (Afshari ve ark., 2018). Peynir, sütün enzimler ya da organik asitler kullanılarak pıhtılaştırılması, oluşan pıhtının baskılanarak peynir altı suyunun ayrılmasıyla oluşan, farklı yağ oranlarında ve farklı sertliklerde olabilen, çeşidine göre değişen renk, tat ve koku özelliklerine sahip bir süt ürünüdür (Cerit ve ark., 2021). Beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peynirleri Türkiye'de en çok bilinen ve en çok tüketilen, ulusal ve ekonomik değere sahip peynir çeşitleridir (Togay ve ark., 2020). Bunların dışında Türkiye'de üretilen peynirlerin %10'luk kısmı yöresel peynirlerden oluşmaktadır. 2005 yılında etinkaya A. tarafından yayımlanan "Yöresel Peynirlerimiz" kitabında, peynirlerimiz coğrafı bölgelere göre gruplandırılmış ve toplam 193 çeşit peynirden bahsedilmiştir.

Peynirlerin içerikleri ve besin özelliklerinin yanında, peynirlerin içerdikleri mikroorganizma çeşitliliği de peynirden peynire farklılık göstermektedir. Mikrobiyom, belirli bir ortamda bulunan bakteri, arkea, kf ve mayalardan oluşan mikrobiyal topluluğun oluşturduğu mikrobiyotanın toplam genomu olarak ifade edilmektedir (Knight ve ark., 2018).

Peynirin mikroflorası eklenen kültürün, peynir sütünün florasının (zellikle pastörize edilmemiş süt kullanıldığında) ve üretim ortamından edinilen floranın bir karışımıdır (Broome ve ark., 2011). Ekolojik bir çalışmada birçok farklı türün bir arada bulunması mümkün olduğundan mikrobiyotanın bulunduğu konakçı ortamı insan, hayvan ve bitki örnekleri içerebileceği gibi bunların yanında çevresel bir örnek de bulundurması muhtemeldir (Gloor ve ark., 2017). Mikrobiyotanın zaman içinde nasıl geliştiğini anlamak, gıdaların mikrobiyal ekolojisini incelemek için önceliklidir. Mikrobiyal popülasyonlardaki değişiklikler, doğal fermantasyon dinamiklerini takip etmek, starter veya yardımcı kültürlerin durumunu izlemek veya gıda saklama koşullarına göre

bozulmayla ilişkili popülasyonlardaki değişimleri gözlemlemek için yararlı bilgiler sağlamaktadır (Ercolini, 2013).

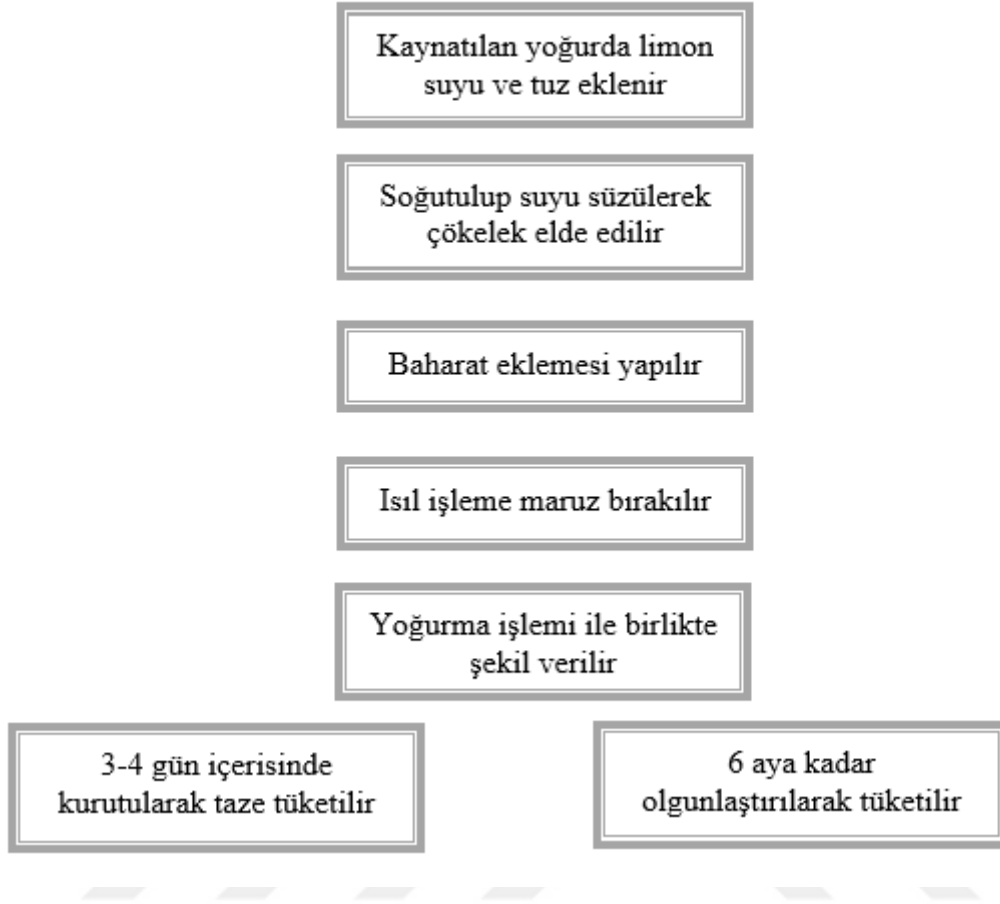
Peynir mikrobiyotasının yapısı, sütün hayvansal kökenine ve kullanılan bileşenlere göre değişmekte ve ayrıca pastörize ve çiğ süt arasında farklılık göstermekte olduğundan buna göre; bir peynir çeşidinin içinde bulundurduğu tüm mikroorganizma topluluğuna peynir mikrobiyotası demek doğru kabul edilmektedir (Ercolini, 2013). Tuz içeriği, olgunlaşma derecesi, otlar ve baharatlar gibi bileşenlerin eklenmesi ve diğer faktörler de peynir mikrobiyotasını ve dolayısıyla peynirin organoleptik özelliklerini etkilemektedir (Jonhalla ve ark., 2018). Çalışmalar doğrultusunda endüstriyel olarak üretilen beyaz peynirlerin pastörizasyon sonrasında rahatlıkla tüketilebilir olduğunu fakat üretim sırasında çiğ süte uygulanan ısıl işlem ile bulunan mikroorganizmaların tamamının yok edilmede yeterli olmadığı ortaya konulmuştur (Kable ve ark., 2016). Günümüzde market raflarında bulunan bazı beyaz peynirler olgunlaştırılmak yerine taze olarak tüketime sunulmaktadır (Cerit ve ark., 2021). Birçok mikroorganizma türünün peynir mikrobiyotasına geçebildiği varsayılmakta ve bu duruma sebep olan etmenler arasında hem üretim ortamında bulunan ekipmanlar hem de sütün kendi mikrobiyotası olduğu ifade edilmektedir (Stellato ve ark., 2015). Sevilerek tüketilen tüm peynirlerde peynirin kalitesi tüketici için oldukça önemli iken peynirdeki mikroorganizmaların bir kısmının peynirin kalitesini olumlu yönde etkilediği, bir kısmının ise peynirde olumsuz değişikliklere sebebiyet verdiği bilinmektedir. Dahası böyle durumlarda tüketicilerde peynir tüketimine bağlı gıda zehirlenmeleri ortaya çıkabilmektedir (Kaynar, 2011). Gıda zehirlenmeleri gibi sağlık sorunlarına sebep olan peynirlerin yapımında içme sütlerinde kullanılan yüksek kaliteye sahip olan sütler yerine içinde bakteri sayısının yüksek olduğu düşük kaliteli sütlerin kullanıldığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra yöresel olarak üretilen peynir türlerinde üretim yapıldığı ortamın, süt sağım şeklinin ve depolamanın yeterince hijyenik olmamasının kontaminasyonu artırdığı bilinmektedir. Bundan sonra yapılacak olan ısıl işlemin peynirde bulunan patojen mikroorganizmaların tamamını yok etmeye yeterli olmadığı kanıtlanmıştır (Yerlikaya, 2018). Mikrobiyotanın zaman içinde nasıl geliştiğini anlamak, gıdaların mikrobiyal ekolojisini incelemek için önceliklidir. Mikrobiyal popülasyonlardaki değişiklikler, doğal fermentasyon dinamiklerini takip etmek, starter veya yardımcı kültürlerin durumunu izlemek veya gıda saklama koşullarına göre bozulmayla ilişkili popülasyonlardaki değişimleri

gözlemek için yararlı bilgiler sağlamaktadır (Ercolini, 2013).

1.1. Sürk Peynirinin Özellikleri

Peynirlerin bir kısmının olgunlaştırılmasında standart olarak belirlenmiş mikroorganizmalar kullanılırken, özellikle içerisinde bitkisel ilaveler bulunan ve uzun süre olgunlaştırılan ‘otlu peynirler’de gözlenen mikroorganizma çeşitliliği dikkat çekicidir.

Ot ve baharatla olgunlaştırılan peynir grubu içinde en bilinenlerden birisi de Hatay’ın Sürk peyniri’dir. Hatay ilinin bazı ilçelerinde üretilen yöresel bir peynir çeşidi olan sürk, ‘Hatay kuru çökeleği’ olarak da bilinmektedir. Sürk peyniri, asitliği artırılmış süttten elde edilmektedir. Genellikle yoğurttan veya yoğurt ile elde edilen tereyağından sonra kalan ayrana ısıt işlem uygulanmasıyla üretilen çökelektten yapılmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2021). Elde edilmiş olan çökeleğin içerisine çörekotu, taze kekik, karanfil, tarçın, kimyon, kişniş, yenibahar, kırmızı pulbiber, karabiber, dövülmüş hindistan cevizi, mahlep, nane, zencefil, sarımsak ve tuz vb. ilave edildiği belirtilmekle beraber eklenen baharatlar, damak zevkine göre, evden eve mahalleden mahalleye farklılık gösterebilmektedir. Sütün ısıt işleme maruz bırakılmasından sonra elde edilen çökeleğin baharat ve çeşitli otlarla yoğurulması işleminden sonra oluşan karışıma armut biçimi verilmekte ve elde edilen parçaların üzerleri tülbent ile örtülmektedir. Bazı durumlarda tülbent ile örtülerek güneşte kurutmak yerine tercihen 3-4 gün gölgede de kurutulabilmektedir. Peynir, yoğurmayı takiben 2-3 gün içerisinde taze olarak tüketilebileceği gibi karanlıkta 6 aya varana kadar olgunlaşması sağlanarak da tüketilebilmektedir. (Ünsal, 1997; Köse ve Ocak, 2015; Hayaloğlu ve Özer, 2021). Sürk peynirinin olgunlaştırılması bazı durumlarda zeytinyağına daldırılarak bazen de zeytinyağı ile bulandıktan sonra, üzeri bir filmle kaplanarak gerçekleştirilmektedir (Hayaloğlu ve Fox, 2008).



Şekil 1. 1 Çökelekten Sürk peyniri üretimi basamakları.

Genellikle ışık görmeyen sıcak bir ortamda olgunlaşan sürk peynirinin üzerinde küf oluşumu gözlenmekte, peynirin taze haline göre belirgin bir renk, koku, aroma değişikliği farkedilmektedir. Bu değişimden mikroorganizmaların sorumlu olduğu belirtilmiştir. Geleneksel olarak üretimi gerçekleştirilen birçok peynirde küf gelişiminin istenilen bir durum olmasının sebebi ortamda bulunan fungal enzimlerin peynirin kalitesini yükselterek peyniri daha lezzetli hale getirmesidir. Bunun yanı sıra olgunlaştırma aşamasında ortam şartlarına dikkat edilmesi oldukça önem taşımaktadır. Ortam koşullarının kontrolsüz olması, istenmeyen küflerin ortaya çıkmasına sebep olacağından bu durum tüketici için büyük risk taşımaktadır (Delgado, 2016). Küflerin lezzet verici özellikleri yaygın olarak bilinse de bazı durumlarda olumsuz şartlar gelişebilmekte ve ortamda zararlı olan mikotoksinler meydana gelebilmektedir. Fakat küflerin ürettikleri bazı proteinler sayesinde bu zararlı yapıların gelişimlerinin baskılandığı ispatlanmıştır (Hegedüs ve Marx, 2013).

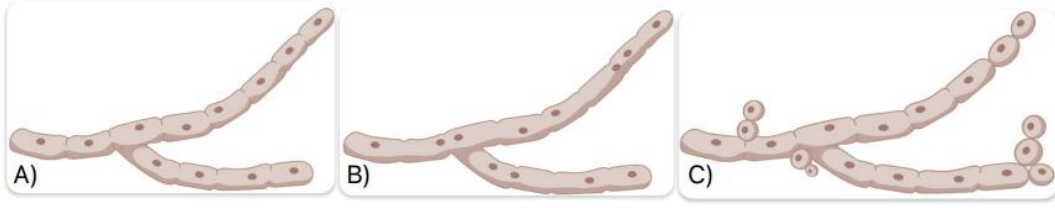
Küfler, doğada mantarlar alemi içerisinde kendine yer bulmaktadır. Mantarlar, büyüklük ve biçim bakımından önemli farklılıklar göstermekte, ancak üç ana gruba ayrılabilirler: çok hücreli filamentli mantarlar (küfler); tek hücreli mantarlar (mayalar); ve büyüme koşullarına bağlı olarak büyümelerini çok hücreli veya tek hücreli bir forma değiştirebilen dimorfik mantarlardır (Campbell ve ark., 2013). Tahminlere göre 1,5 ila 5,1 milyon tür arasında değişkenlik gösteren küfler, şapkalı mantarlar, likenler ve mayaların bulunduğu dünyadaki en büyük ikinci ökaryotik organizma grubunu temsil eden mantar alemi, biyosfere, insan endüstrisine, tıba ve araştırmalara önemli katkılarda bulunan, oldukça çeşitli yaşam öykülerine sahip canlılardır (O'Brien ve ark., 2005, Stajich ve ark., 2009). Mantarların doğadaki esas rollerinin besin elementlerinin (mikro ve makro elementler) toprağa geri kazandırılmasında diğer bir deyişle madde döngüsündeki kilit konumda olmalarıyla ilgili olduğu bilinmektedir. Bunun yanında mantarların doğal ürünler olarak bilinen sekonder metabolitleri üretmeleri, ilaç keşfi gibi büyük endüstriyel uygulamalar için oldukça önemli kabul edilmektedir. Antik çağlardan beri sekonder metabolitlerin insanlar tarafından bitki özlerinden elde edilmesiyle hem bitkisel ilaç hem bazı durumlarda doğal zehir olarak tedavi amaçlı kullanılmaları söz konusudur (Aly ve ark., 2011). Bitkilerin yaygın olarak antik çağlardan beri kullanıldığı bir dünyada, çoğunlukla penisilin, kolesterol düşürücü, antibiyotik veya immünomodülatör ajan olarak kullanılanlar da dahil olmak üzere antikanser, antifungal, antidiyabetik ve immünosupresan bileşikler üretebildikleri bilinen mantarların da potansiyeli oldukça yüksek ve yeni bir sekonder metabolit kaynağı olarak ortaya çıkması oldukça heyecan verici olarak değerlendirilmekte ve yeni mantar sekonder metabolitlerinin keşfi için yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir (Sachin ve ark., 2013, Raja ve ark., 2022). Bu sebepten gelecek yıllarda mantarlardan elde edilecek sekonder metabolit ve kimyasal bileşiklerin daha fazla sayı ve miktarda üretilmeleri beklenmektedir. Mantarların bilimsel araştırmalarda yani ekolojik, taksonomik ve uygulamalı olarak genomik ile farmasötik gibi alanlarda kullanılması için tür düzeyinde tanımlanmaları bu anlamda oldukça önemli görülmüştür (Raja ve ark., 2017).

Biyoloji tarihinde, bilim insanları canlı organizmaları tanımlamak için morfolojik, fizyolojik ve biyolojik veriler de dahil olmak üzere çeşitli veriler kullanmışlardır. Mantar türlerini doğru ve kesin bir şekilde tanımlama aşamasında morfolojiye dayalı

yaklaşımın kullanılmasındaki ana sınırlayıcı faktörlerden biri uzmanlık bilgisine duyulan ihtiyaçtır. Özel kültür ortamları, özel saklama koşulları, sınırlı büyüme hızı gibi mantarlara özgü diğer bazı karakterler de morfolojik yöntemlerin sık karşılaşılan diğer sorunlarıdır (Wengenack ve Binnicker, 2009). Ayrıca mantarları sınıflandırmada kullanılan morfolojiye dayalı sistem, aynı organizma için birden fazla potansiyel tür adını bir arada kullanabilmekte ve bu sebeple taksonomik karışıklığa sebep olabilmektedir. Buna örnek olarak üreme aşamaları sırasında gözlenen morfolojik farklılıklar aynı organizma için çoklu taksonomik sınıflandırmaların yapılmasına neden olabilmektedir. Bu durumun araştırmacılar için bir engel oluşturduğu, karışıklıklara ve yanlış tanımlamalara sebep olduğu ifade edilmiştir (Lopez-Canovas ve ark., 2017). Bu sebeplerle mantar taksonomisinde fenotipik karakterler yerine veya bunlara ek olarak belirli genlerin nükleotid dizilerinin karşılaştırmalarına dayanan bir dizi ilave kriterin getirilmesi için büyük çaba sarf edilmektedir (Seena ve Pascoal, 2010). Mantar evrimi ve morfolojik çeşitliliğinin, bakterilerde olduğu gibi, tek bir genetik belirteç (marker) ile belirlenebilecek durumda olmadığı belirtilmiştir.

1.2. Mantarların Özellikleri

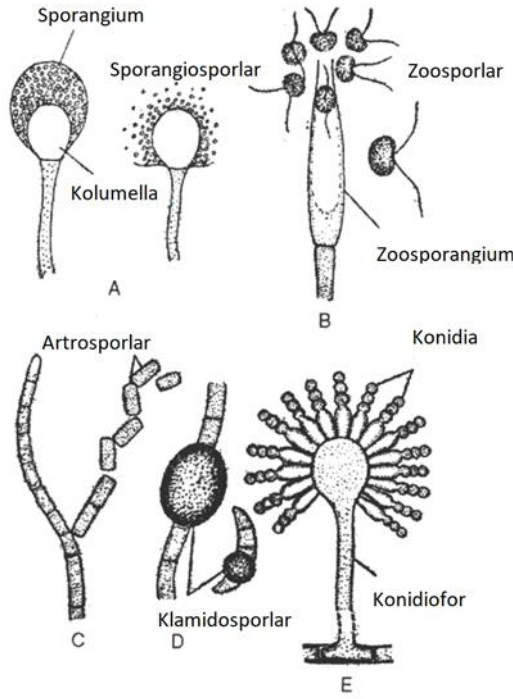
Mantarlar, kendilerini diğer organizmalardan ayıran iyi tanımlanmış özelliklere sahiptir (Parker ve ark., 2016). Mantarlar genellikle küfler olarak adlandırılır ve ayrı bir alem olarak kabul edilirler (Crous ve ark., 2009). Bu organizmalar hif adı verilen çok hücreli filamentler şeklinde büyümektedirler. Boru şeklinde dallanan hiflerden oluşan bu bağlantılı ağ, genetik olarak özdeş birden fazla çekirdeğe sahiptir ve ‘koloni’ ya da daha teknik bir ifadeyle ‘miselyum’ olarak adlandırılan tek bir organizma olarak kabul edilmektedir (Samson, 2011). Hücreler arasında duvarları olan hiflere ‘septat hif’; hücreler arasında duvar ve hücre zarı bulunmayan hiflere ‘nonseptat’ veya ‘koenositik hif’ denilmektedir (Parker ve ark.,2016).



Şekil 1. 2 A) Septat hif yapısı B) Koenositik hif yapısı C) Pseudo hif yapısı
(BioRender.com’da hazırlanmıştır).

Mantarların çoğu eşeyli bir yaşam döngüsü ve eşeyli sporların (zigosporlar, askosporlar ve basidiosporlar) karakteristik oluşumu ile çoğalmakta ve yaşam döngülerine göre bu organizmalar Zygomycetes (veya Zygomycota), Ascomycetes (Ascomycota) veya Basidiomycetes (Basidiomycota) ana takım olarak sınıflandırılabilir. Ayrıca gerçek miselyum üretmeyen ve geleneksel olarak tek hücreli yapılar olarak kabul edilen mayalar da Ascomycetes veya Basidiomycetes'e aittir (Samson, 2011).

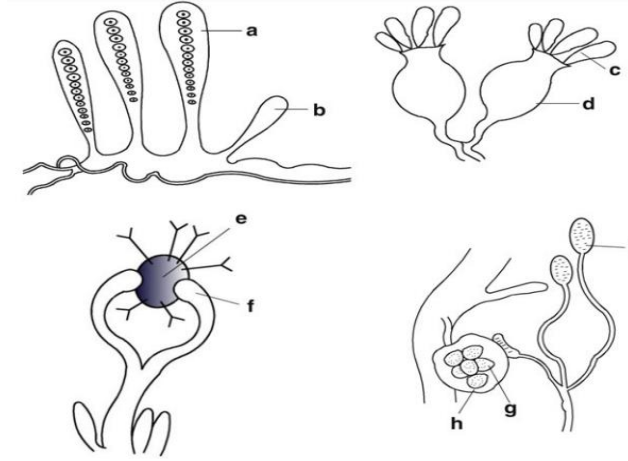
Eşeysiz üreme genellikle tomurcuklanma, parçalanma (fragmentasyon) veya sporlar ile olmaktadır (Samanta, I., 2015). Fungal aseksüel sporların dört farklı mekanizma ile üretildiği bilinmektedir. Bunlar: 1- ‘Artrospor’ veya ‘oidia’ önceden var olan hifal filamentlerin parçalara ayrılması ile üretilmektedir. Belirli bir hifal dalın üretimi doğrudan parçalanmadan önce gerçekleşiyorsa, sporlar ‘artrokonidi’ olarak da adlandırılmaktadır. 2- Hava hifleri tarafından üretilen kalın duvarlı ve tek hücreli sporlara ‘klamidospor’ denilmektedir ve olumsuz çevre koşullarına karşı oldukça dirençli olarak bilinmektedirler. Klamidosporlar tipik olarak önceden var olan vejetatif hifal hücreler içinde, protoplastın büzülmesi ve iç kısmında kalınlaşmış ikincil bir hücre duvarının oluşumuyla endojen olarak tek ünite halinde meydana gelmektedir. (Fischer ve Kües. 2006; Samanta, I. 2015). 3- Kase benzeri özelleşmiş sporangium adını alan üreme hifası içerisinde sitoplazmik bölünme ile her biri çok sayıda tek hücreli olan sporangiosporlar oluşmaktadır (Etxebeeste ve ark.,2019). 4- Konidiyofor denenen yapılara bağlı, küçük ve eşeysiz sporlara ‘konidya’ adı verilmektedir. Konidyosporlar ya da konidya, sporojen hücrelerinden lokalize şişme (tomurcuklanma) ve sonrasındaki daralma yoluyla dışarıdan gelişen ekzosporlardır. (Fischer ve Kües., 2006). Tomurcuklanma ile üretilen sporlar ise ‘blastokonidia’ adını almaktadır. Eşeyli spor tipleri Şekil 1.3’te verilmiştir.



Şekil 1. 3 Eşeysiz spor tipleri. A) Sporangiosporlar B) Zoosporlar C) Artrosporlar D) Klamidosporlar E) Konidia (Dube,2013).

Mantarlar askospor, basidiospor, zigospor ve oospor şeklinde dört tip eşeyli spor üretmektedir. Bunlardan askosporlar, tek hücreli olup ‘askus’ olarak bilinen kese benzeri bir yapı içinde üretilmektedir. Her bir askus ise sekiz askospor içermektedir. İkinci tip eşeyli spor olan Basidiosporlar ise, basidium olarak bilinen çomak şeklindeki bir yapı içinde üretilmektedirler. İki uyumlu talusun ya da gametanginin birleşmesi ile üçüncü eşeyli spor tipi, zigosporlar üretilmektedir. Dördüncü ve son tip eşeyli spor olan oosporlar ise, dişi gametangium (oogonium) içinde üretilmektedir.

İki uyumlu hifin kaynaşmasından sonra erkek gametler (anteridyumda üretilen) oogonyuma girmekte ve oosporları üretmek için dişi gametleri (oosferleri) döllemektedir (Samanta, I., 2015).

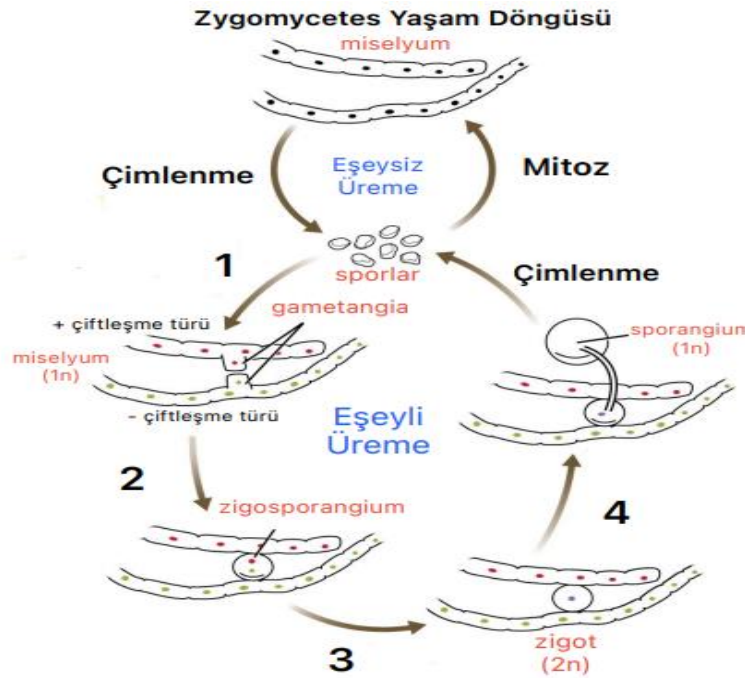


Şekil 1. 4 Eşeyli spor tipleri; a, askospor; b, askus; c, basidiospor; d, basidium; e, zigospor; f, gametangium; g, oospor; h, oogonium; i, anteridyum (Samanta, I., 2015).

1.2.1. Yaşam Döngüleri

Mantarlar aleminin içerisinde bulunan birçok organizmanın yaşam döngülerine bakıldığında hem eşeyli hem de eşeysiz üreme evreleri görülmektedir. Sınıflandırma yapılırken eşeyli safhada oluşan yapılar baz alınarak göz önünde bulundurulmaktadır (Moore-Landecker, 1996). Bu sebeple eşeyli evrede gelişen üreme yapıları oldukça önemli kabul edilmektedir. Eşeyli üreme için gerekli olan bazı yapılar sadece özel koşullar altında ortaya çıkmakta ve bazı durumlarda ise safha tamamen ortadan kalkmış olabilmektedir. Bunun gibi mantar sistematğinde temel alınan morfolojik karakterlerin kısıtlı kullanılışlılığından dolayı iki farklı sınıflandırma şekli gelişmiştir. Bunlar, telomorfik sınıflandırma ve anamorfik sınıflandırma olarak adlandırılmıştır. Telomorfik sınıflandırmada eşeyli üreme safhasında oluşum gösteren fruktifikasyon yapıları, eşeyli sporları ve tallus yapıları göz önünde bulundurulurken; anamorfik sınıflandırmada eşeyli üreme tam olarak tespit edilmediğinden, fungusların eşeysiz sporları ve tallus yapıları kriter alınarak sınıflandırma gerçekleştirilmektedir (Sneh ve ark., 1991). Fakat anamorfik olarak yapılan sınıflandırmalar genellikle gözleme dayalı olduğundan hata payının yüksek olduğu ve zaman alıcı olduğu kabul edilmektedir. Bu gibi belirsizliklerin bazı durumlarda aynı taksona iki farklı isim verilmesiyle sonuçlandığı görülmüştür (Reynolds ve Taylor, 1992).

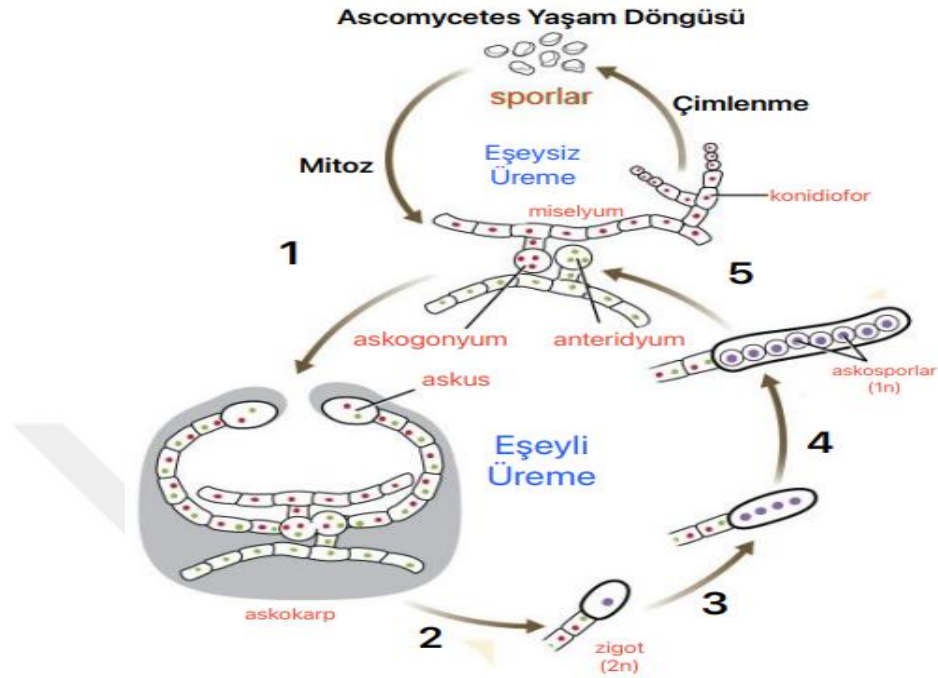
Zygomycetes olarak bilinen mantar gruplarında hem eşeyli hem de eşeysiz yaşam döngüleri görülmektedir. Eşeyli üreme döngülerinde ilk evrede miseller oluşmakta ve + ile – çiftleşme tipleri birbirlerine yakın bulunduklarında aralarında gametangia denen uzantılar meydana gelmektedir. Çiftleşme tipleri arasındaki füzyon sonucu çoklu haploid çekirdekli bir ‘zygosporangium’ oluşarak plasmogami evresi tamamlanmış olmaktadır. Zigosporangiumun kalın, koruyucu bir tabakaya sahip olduğu bilinmektedir. Sonrasında karyogami ile meydana gelen zigot diploid çekirdeğe sahip olmaktadır. Son evrede mayoz ve çimlenme gözlemlenmektedir. Bu aşamada bir sporangium haploid sporlar içererek bir sap üzerinde gelişim göstermektedir (Parker ve ark., 2016).



Şekil 1. 5 Zygomycetes’lerin şematik olarak yaşam döngüsü (Parker ve ark.,2016).

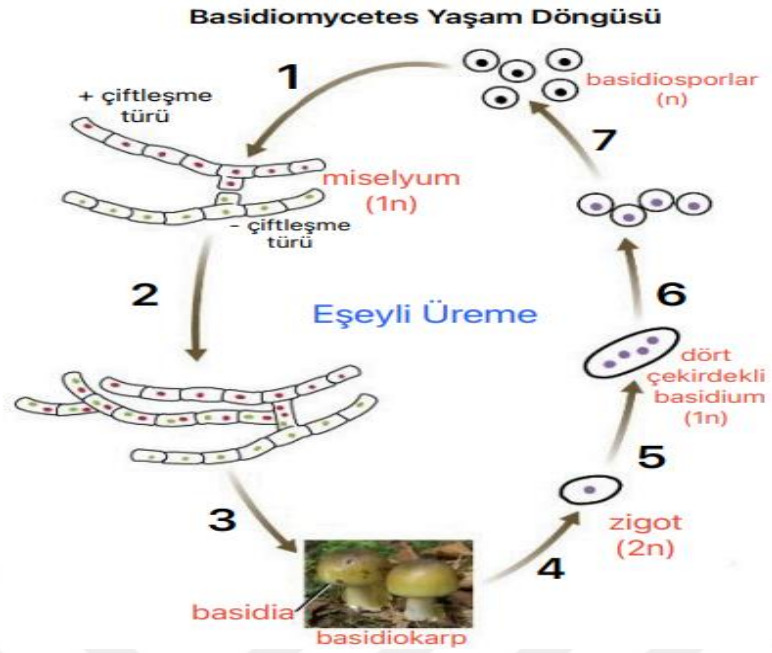
Ascomycetes türlerinin yaşam döngülerinde eşeyli evrelerinde gözlenen haploid safha baskındır ve ‘asci’ üretimi ile karakterizedir. İlk olarak plazmogami evresinde askogonyum ve anteridyum denen yapılar birbirleriyle kaynaşmaktadır. Ardından mitoz ve hücre bölünmesi ile uçlarında askus bulunan dikaryotik hifler meydana gelmektedir. Bu yapı aslında meyve gövdesini oluşturarak askokarp adını almaktadır. Karyogami ile zigot oluşarak asci içindeki çekirdek diploid (2n) forma geçmektedir. Bunun ardından önce mayoz bölünme ile dört çekirdekli askus oluşmakta sonra mitoz bölünme geçirerek sekiz çekirdekli haploid (1n) askospor meydana gelmektedir. Bunun sonunda eşeysiz

evre olarak kabul edilen süreçte askosporların dağılıp çimlenmesi gerçekleşmektedir (Parker ve ark., 2016).



Şekil 1. 6 Ascomycetes’lerin şematik olarak yaşam döngüsü (Parker ve ark., 2016).

Basidiomycetes’lerin yaşam döngülerinde sadece eşeyli üreme görülmektedir. İlk olarak çimlenme ile + ve – çiftleşme tiplerinde miseller oluşmaktadır. Bu iki çiftleşme tipleri arasında füzyon ile dikaryotik miselyum meydana geldiği gözlenmektedir. Miselyum uygun çevre koşulları altında tepe kısımlarında basidia hücrelerini içeren bir ‘basidiokarp’ denen yapıyı oluşturmaktadır. Karyogami ile basidia diploid çekirdekli olurken mayoz bölünme geçirdikten sonra dört çekirdekli haploid basidyum meydana gelmektedir. Ardından hüce bölünmesi ile dört basidiospor oluşmakta ve bunların tekrar dağılıp çimlenmesiyle yaşam döngüsü devam etmektedir (Parker ve ark., 2016).



Şekil 1. 7 Basidiomycetes’lerin şematik olarak yaşam döngüsü (Parker ve ark., 2016).

İç mekanlarda bulunan türlerin çoğunda eşey evresi yoktur ve genellikle Fungi Imperfecti, Deuteromycetes veya Hyphomycetes olarak adlandırılmaktadırlar. Ancak bu mantarların çoğu filogenetik olarak Ascomycetes'e aittir. *Wallemia*, *Schizophyllum* ve *Sistotrema* gibi bazı cinsler ve *Sporobolomyces* mayaları Basidiomycetes'tir. Mevcut mikolojik terminolojide eşeyli veya mükemmel durum teleomorf olarak adlandırılırken, eşeysiz (veya kusurlu evre) anamorfudur. Çoğu aseksüel içmekan küfü için bu nedenle doğru terminoloji, ‘anamorfik mantarlar’ olmaktadır (Samson, 2011).

Anamorfik mantarların sporuna ‘konidyum’ denilmektedir. Konidileri taşıyan yapı ise konidiyofordur. Konidyum oluşumu farklı cinsler arasında değişiklik gösterip, hava kaynaklı propagül üretme etkinlikleri esas olarak konidyum oluşum modu tarafından belirlenmektedir (Cole ve Samson 1979). Örneğin *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin, kolayca havayla taşınabilen çok sayıda kuru konidyum üretilmeleri, bu mantarların iç ortamda baskın tür olmalarını açıklar niteliktedir. Diğer türlerde ise sporülasyon, ıslak başlarda veya meyve gövdelerinde meydana gelmektedir. Sonuç olarak bu çeşitli sporlanma şekilleri büyük ölçüde konidileri üreten özel hücrelere ve ekolojik koşullara bağlıdır (Samson, 2011).

1.2.2. Mantar Tayininde Morfolojik Değerlendirme

Bakteriler veya virüsler gibi diğer önemli patojenlerin aksine mantarların sınıflandırılması ve tanımlanması esas olarak morfolojik kriterlere dayanmaktadır. Mantarlar mikroskopik olduğundan morfolojik açıdan incelenmelerinde ışık mikroskobuna ihtiyaç duyulmaktadır. Klasik ışık mikroskobu yöntemleri Nomarski diferansiyel interferans kontrast ve floresans mikroskobisi ile sitokimya ve ascus apikal yapıları için geliştirilene benzer yeni boyama tekniklerinin geliştirilmesi ile iyileştirilmiştir. Genellikle enfeksiyon sırasında çoğu patojenik mantar, sporülasyonun olmadığı vejetatif fazı göstermektedir. Konak dokuda bulunan hiflerin pigmentasyonu, şekli ve septalarının var olup olmaması gibi durumlar tanımlamada yardımcı olmaktadır. Fakat gözlenen bu yapılar spesifik olmadığından doğru bir tanımlama için mutlaka mantar kültürüne ihtiyaç duyulmaktadır (Guarro ve ark., 1999).

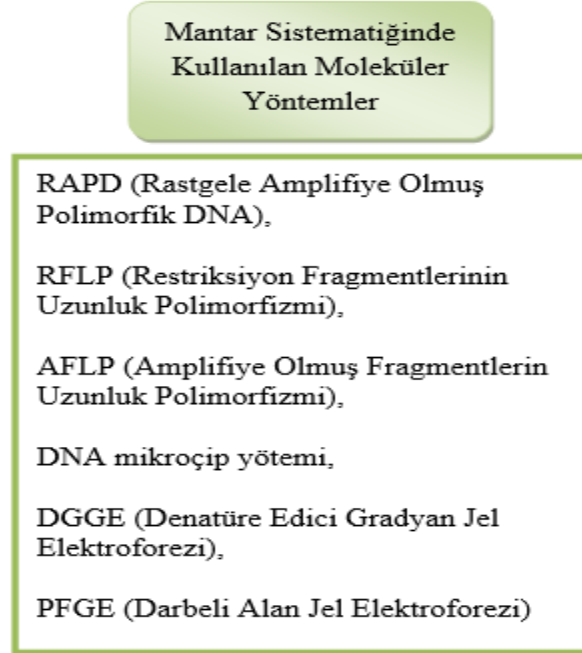
Tablo 1. 1 Mantar Tayini İçin Yapılan Morfolojik Değerlendirmeler

Morfolojik ve Fenotipik İnceleme	
Kültür hazırlamada kullanılan besiyerleri	Malt Extract Agar (MEA), Czapek Extract Yeast Agar (CYA), Czapek Dox Agar (CZ), Potatoes Dextrose Agar (PDA), Yeast Extract Sucrose Agar (YES), Ceratine Sucrose Agar (CREA)
<u>Makroskobik Değerlendirme</u>	<u>Mikroskobik Değerlendirme</u>
• Kolonilerin oluşturdukları renk, şekil • Koloninin alt kısmının rengi • Koloni çapı • Koloninin yüzey durumu • Hiflerin görüntüsü ve koku • Hiflerin pigmentasyonu • Hiflerin septalarının varlığı	• Konidi şekli ve başlarının büyüklüğü • Konidioforların ve konidilerin uzunluğu, genişliği, büyüklüğü, çapı, dokusu ve rengi • Sporların ve sporangioforların şekli, büyüklüğü • Hiflerin yapısal özellikleri • Sklerotia ve klamidosporların varlığı • Meyve gövdesinin tipi • Askus tipi

1.2.3. Mantar Tayininde Yaygın Olarak Kullanılan Moleküler Yöntemler

Günümüzde canlıların DNA dizi temelli tanımlanması ve sınıflandırılması yaygındır. Moleküler yöntemler hızlı teşhis, birbirlerine yakın morfolojileri olan farklı türlerin ayrımının doğru bir şekilde yapılması, yakından ilişkili olan türlerin veya karmaşık organizmaların tanımlanması gibi geleneksel morfolojik yaklaşımlardaki birçok sınırlamalara çözüm olmuştur (Asemaninejad ve ark.,2016). Mantarların morfolojik özelliklerinin tanımlamada yeterli olmadığı durumlarda fizyolojik ve biyokimyasal teknikler uygulanmaktadır. Ancak az farklılaşma göstermiş filamentli mantarlarda bu tarz yöntemlerin oldukça zahmetli ve zaman alıcı olduğu ifade edilmekte ayrıca incelemelerden elde edilecek sonuçların da birbirleriyle uyumsuz sonuç verebilecekleri ve nihayetinde elde edilecek taksonomik ayrım seviyesinin yetersiz kalacağından moleküler yöntemlere başvurulmaktadır.

PCR yönteminin ortaya çıkışıyla organizmaların genlerinin çok daha kolay ve hızlı bir şekilde klonlanması ve elde edilen gen dizilerinin birbirleriyle karşılaştırılması sistematik alanında büyük bir kolaylık sağlamış ve moleküler yöntemle yönelimi teşvik etmiştir. PCR'a dayalı sistematik analizler, az sayıda mantar hücresinin ve hatta tek sporların, kurutulmuş herbaryum materyalinin veya soyu tükenmiş organizmaların analiz edilmesine olanak sağlamıştır. (Guarro ve ark., 1999; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).



Şekil 1. 8 Mantar Tayininde Kullanılan Moleküler Yöntemler (Liu ve ark., 2006; Xu., 2006; Kolören ve ark., 2017; Green ve Sambrook, 2019;)

1.2.3.1. DNA Barkodlama

DNA barkodlama, canlı organizma türlerini hızlı ve doğru bir şekilde tanımlama için kullanılan sistemdir. Bu sistem bir gene veya az sayıda gene ait nükleotid dizisi verilerinin kullanılmasına dayanmaktadır. Filogenetik ağaçtaki nükleotid dizisi verilerine dayanarak bir mantar türünün filogenetik konumunun belirlenmesi ve hedef tür dizisinin yüksek benzerliğe sahip diğer türlerle karşılaştırılmasının ardından, tür için DNA barkodu tasarlamak mümkün olmaktadır. (Hebert ve ark., 2003).

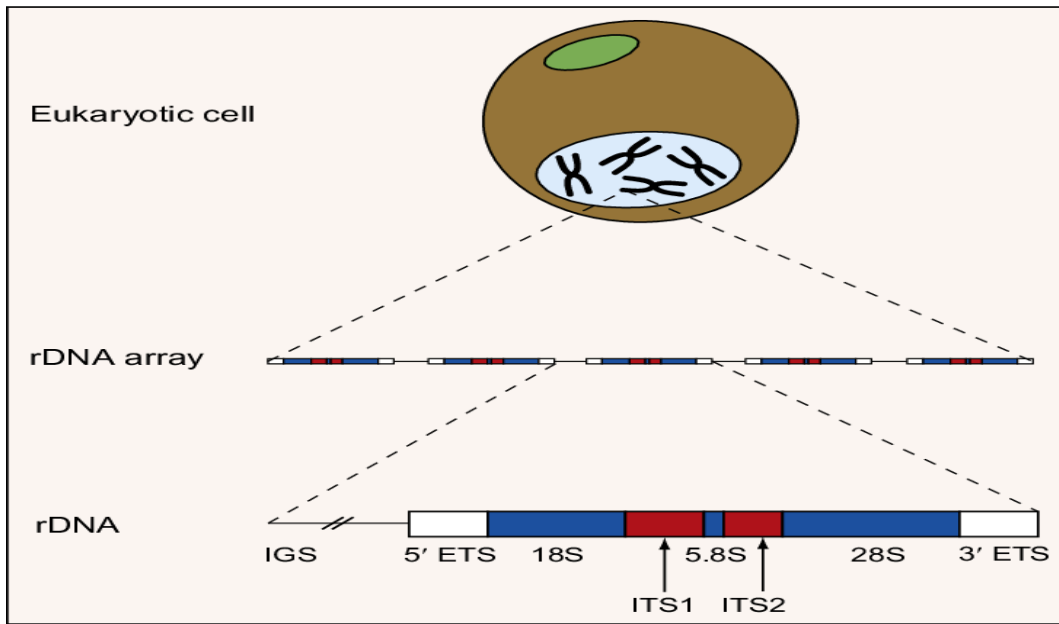
DNA barkodlama prosedüründe ilk aşama örneğin dikkatli bir şekilde, coğrafi konumu ile yerel çevresi hakkında etiketleme yapılarak toplanmasıdır. Toplanan örnekten mantar DNA'sının izole edilmesinin ardından ökaryotik ribozomun büyük ve küçük alt birimlerini kodlayan gen bölgelerinin arasında kalan ve ITS (İnternal Transcribed Spacers) olarak adlandırılan kısmının barkod olarak belirlenen bölgesi PCR ile çoğaltılmaktadır. PCR sonrasında elde edilen ürünler (amplikon) bir veya her iki yönde dizileme için gönderilmektedir. Dizileme sonuçları daha sonra bir DNA veri tabanında arama yapmak için kullanılmaktadır. Yapılan BLAST temelli analizde saptanacak bir eşleşme, veritabanında zaten temsil edilmekte olan bir türün hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlamış olmaktadır. (Ratnasingham ve Hebert, 2007).

Fungal rRNA gen dizilerinin (veya diğer bir deyişle rDNA sekanslarının) birbirleriyle kıyaslanarak analiz edilmelerine dayalı olarak yapılan mantar tanımlamaları çoğunlukla cins ve familya seviyesinde tür tanısı yapılmasına izin vermektedir.

Alternatif olarak fungal ITS bölgelerinin, bu bağlamda, rRNA genlerinden daha yüksek bir taksonomik çözünürlük sağladığı ve genellikle farklı ortamlardaki fungal topluluk araştırmaları için kullanıldıkları ifade edilmiştir (Anderson ve Cairney, 2004). Ayrıca 2007 yılında ITS bölgeleri, mantarları barkodlamak için kullanılabilecek en uygun aday bölgeler olarak önerilmiştir (Seena ve Pascoal, 2010). Sonrasında yapılan çalışmalarda da peynirdeki en önemli mantarlar arasında yer alan *Penicillium* türlerinde ITS dizilerinin benzerliklerinin karşılaştırılmasına dayalı olarak yapılan analizlerin, rRNA gen dizisine dayalı olarak gerçekleştirilen tür tayininden çok daha iyi sonuç verdiği ifade edilmiştir (Jany and Barbier, 2008).

ITS bölgeleri, ITS1 ve ITS2 olarak isimlendirilmiş iki değişken ve kodlama yapmayan bölgeyi ifade etmektedir. Bu bölgelerden ITS1, yüksek düzeyde korunmuş küçük alt birim(SSU, 18S) ile 5.8S'lik diğer rRNA alt birimini kodlayan gen bölgesi arasında yer

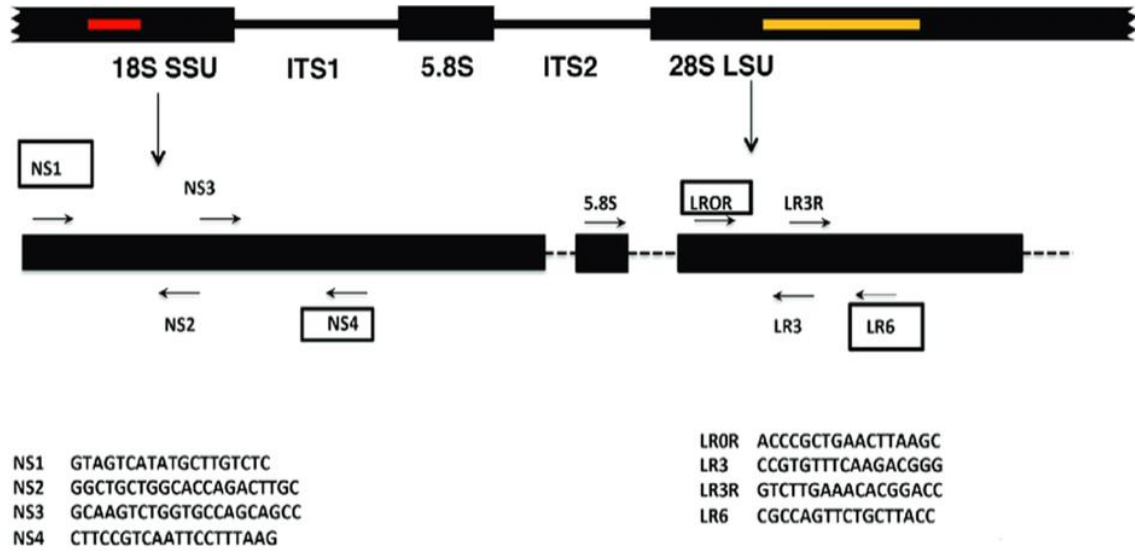
alırken; 5.8S'lik rRNA alt birimini kodlayan bölge ile büyük alt birimi (LSU, 28S) kodlayan rRNA genleri arasında ise, yine kodlama yapmayan ITS2 bölgesi yer almaktadır (Gardes ve Bruns,1993, Crous et al., 2009; Liu ve Schardl, 1994). LSU bölgesinden sonra genellikle inter genik sekanslar olarak adlandırılan, IGS1 ve IGS2 olmak üzere iki bölümden oluşan IGS bölgesi yer almaktadır. Bu iki bölge arasındaki kısımda, bazı gruplarda, 5S bölgesi de bulunmaktadır. Bu bölgeyi farklı mantar gruplarında çoğaltmak için V9G / ITS4, ITS1 / ITS4, ITS5 / ITS4 ve ITS1 / ITS4 dahil olmak üzere çok sayıda primer tasarlanmıştır (Crous et al., 2009; Schoch et al., 2012).



Şekil 1. 9 Ökaryotlarda iç transkripsiyonlu ara bölgeler ve rDNA. ITS bölgeleri 1 ve 2 kırmızı renktedir ve protein yapısına dahil olan fonksiyonel rRNA elementleri mavi renkte gösterilmiştir. IGS: intergenik ara bölge, ETS: Transkripsiyonu yapılan dış kısımdaki (Gen dışı) ara bölge (Stat ve ark.,2012).

Bunların dışında ribozomal olmayan başka genler de barkod olarak kullanılabilir. DNA barkodlama için kullanılan diğer alternatif barkod DNA bölgeleri mitokondriyal sitokrom c oksidaz 1 (CO1), D1/D2 LSU rDNA, Histon spacer, TUB, ACT, uzama faktörü 1-alfa'yı kodlayan TEF-1/ TEF-1 α dizileridir (Das ve Deb, 2015). RNA polimeraz II'nin en büyük iki alt birimini kodlayan RPB1 ve RPB2 genleri, b-tubulin A'yı kodlayan BenA geni, gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenazı kodlayan GPD genleri de aynı amaç için kullanılan diğer gen örnekleridir (Berbee vd., 1999; Einax ve

Voigt, 2003; James ve ark, 2006;). Çoğu mantar grubu için LSU kodlayan rDNA bölgesinin D1/D2 (D: Divergent) kısmı da dikkate alınmıştır. Ancak D1/D2 bölgesinin de tür düzeyinde yeterli olmadığı kanaatine varılmıştır (Das ve Deb, 2015).



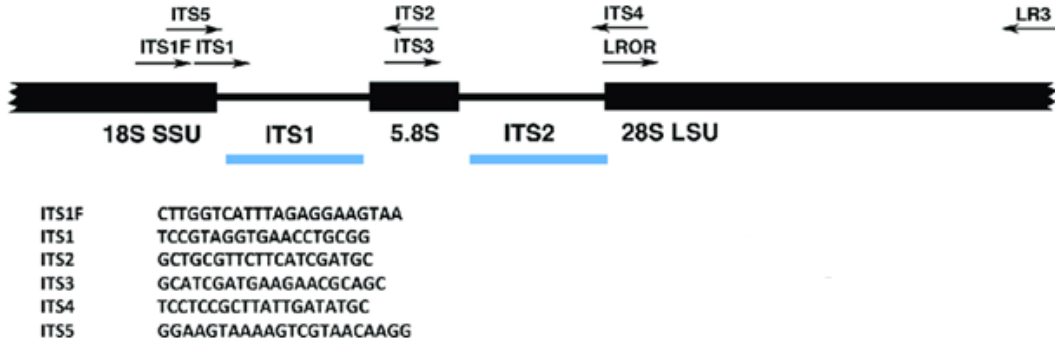
Şekil 1. 10 Küçük alt birim (SSU) nrRNA ve büyük alt birim (LSU) nrRNA amplifikasyonu için primerler. Primer dizilerinin yönü 5' → 3' yönünde verilmiştir (Raja ve ark.,2017).

Şekil 1.10'da SSU alt birim ve LSU alt birimlerine özgü primerler gösterilmiştir. 18S SSU bölgesi için kullanılması önerilen NS1, NS2, NS3, NS4 primerleri bulunmakta, bunlardan kutu içerisinde gösterilen NS1 ve NS4'ün birlikte kullanılmasıyla PCR'da yaklaşık 1200 bp uzunluğunda bir bölge çoğaltılmış olmaktadır. Daha yavaş evrilen bir bölge olduğundan aile seviyesinde yapılan filogenetik çalışmalar için uygun görülmüştür (Raja ve ark., 2017).

28S LSU bölgesi için kullanılması önerilen primerler ise LROR, LR3, LR3R, LR6 şeklindedir. Bu primerlerden yine kutu içerisinde gösterilen LROR ve LR6'nın PCR da birlikte kullanılmasıyla, diğer bölgede olduğu gibi, yaklaşık 1200 bp uzunluğunda bir bölge çoğaltılmaktadır. Cins seviyesinde tanımlama yapılan çalışmalarda kullanılabilecek primerler oldukları belirtilmiştir. LSU bölgesinin bu kısmının SSU bölgesinde bulunan ve yukarıda bahsi geçen bölgeye kıyasla daha hızlı evrildiği belirtilmiş ancak yine de evrilme hızının ITS bölgesinden daha yavaş olduğu ifade edilmiştir. LSU bölgesinin mantarlar için, ITS bölgesiyle birlikte, INDS (Integrated

Navigation Data Service) 'deki en büyük veri tabanını oluşturduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak gerek SSU gerekse LSU bölgelerinden farklı olarak ITS bölgelerinin, filogenetik analizlerde tür düzeyinde tanımlama sağladığı görülmüş ve mantar tayinleri için DNA barkodlama markörü olarak seçilmiştir (Raja ve ark.,2017).

Alternatif olarak kullanılabilecek **ITS1F** (veya **ITS5** veya **ITS1**)- **LR3** primer çiftleriyle Şekil 1.11'de belirtilen ITS1'in tamamı, 5.8S, ITS2'nin tamamı ve ilave olarak LSU'daki ilk iki bölge (D1 ve D2) çoğaltılabilmekte ve sonuçta 1100~1150 bp uzunluğunda bir ampikon elde edilmektedir. Tercih edilen primer çiftinin **ITS1F** (veya **ITS5** veya **ITS1**)- **ITS4** olması durumunda ise 550~600 bp uzunluğunda ve içerisine ITS1'in tamamı, 5.8S, ITS2'nin tamamının dahil olduğu bir bölge çoğaltılmış olmaktadır (Raja ve ark., 2017).



Şekil 1. 11 ITS bölgesinin amplifikasyonu için primerler (Raja ve ark., 2017).

1.3 Önceki Çalışmalar

Esen (2014)'in sürk peyniri üzerine gerçekleştirdiği bir çalışmada; peynirin kimyasal, fiziksel ve genel mikrobiyolojik özelliklerinin incelenmesiyle birlikte olgunlaşmış üründe baskın olan küf mikroflorasının tanımlanması yapılmıştır. Söz konusu çalışmada Antakya bölgesinden satın alınan 36 farklı sürk ile çalışılmıştır. Olgunlaşmış sürklerden izole edilen küflerin, genetik özellikleri göz önünde bulundurularak tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sonrası moleküler tayin için ITS1 ve ITS4 bölgeleri hedef alınmıştır. Hedef bölgenin amplifikasyonundan sonra sekans analizi yapılmıştır. Tüm genetik analizler sonucunda elde edilen 67 izolattan 9 farklı türe rastlanmıştır. Bu küf türleri sürk örneklerindeki bulunma oranlarına göre sırasıyla *Penicillium commune*

(%55,5), *Alternaria alternata* (%33,3), *Cladosporium cladosporioides* (%30,5), *Epicoccum nigrum* (%16,6), *Aspergillus flavus* (%16,6), *Penicillium chrysogenum* (%13,8), *Aspergillus niger* var. *awamori* (%11,1), *Phoma sojicola* (%8,3) ve *Bipolaris tetramera* (%2,7) türleridir.

Esen (2021)'de sürk peyniriyle ilgili yaptığı çalışmada 27 adet olgunlaştırılmış sürk peynirinin mikrobiyolojik özelliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır. LAB ve non-LAB, mayalar ve küflerin tanımlanması yapılmıştır. PDA besiyerine ekim yapılarak 9 adet küf tespit etmişlerdir. İzole edilen küflerin genetik analizleri yapılmamış olup sadece makro morfolojik ve mikro morfolojik açıdan değerlendirme yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda tüm izolatların *Penicillium* cinsine ait özelliklerde olduğu tespit edilmiştir.

Metin ve Çebi (2022)'nin yaptığı bir çalışmada geleneksel küflü peynirler kullanılarak izole edilen küflerin hızlı ve ekonomik tanımlama tekniği olan Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile tanımlanması için metod geliştirmek hedeflenmiştir. Çalışmada, Konya Küflü Tulum, Divle-Obruk Küflü Tulum, Erzurum Küflü Civil, Konya Küflü, Divle-Obruk, Kars yöresi Çeçil, Elazığ-Bingöl yöresi Tomas, Hatay yöresi Sürk, Akdeniz yöresi Tulum ve Rize-Ardeşen Golot peynirleri kullanılmıştır. İlk aşamada izole edilmiş daha sonra saflaştırılmış ve kültür stokları hazırlanmıştır. Koloni morfolojilerindeki farklılıklar gözlemlenerek kullanılmak için 43 küf seçilmiştir. ITS bölgesine göre dizi analizi yapılarak tanımlanmış 40 izolatta, 9 farklı türden *Penicillium* spp. oluşmuştur. Bunlar, *P. roqueforti* (21 izolat), *P. corylophilum* (6 izolat), *P. biforme* (5 izolat), *P. crustosum* (3 izolat), *P. spinulosum* (3 izolat), *P. rubens* (2 izolat) ile daha önceden β -tubulin genine göre tanımlama yapılmış 3 izolat, *P. brevicompactum* (1 izolat), *P. paneum* (1 izolat) ve *P. solitum* (1 izolat) tespit edilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturularak türler arasındaki ilişki belirlenmiştir.

Çakmakçı ve arkadaşları (2012)'nin gerçekleştirdiği bir çalışmada, çeçil peyniri üzerinde morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlama ve mikotoksikolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu peynirde olgunlaşma süresi boyunca peynirin yüzeyinde ve içinde doğal kontaminasyon yapan küfler geliştiği belirtilmiştir.

Çalışmanın sonucunda, kullanılan 41 çeşil peynirinden 186 küf suşu izole edilmiştir ve bu suşların 165'i *Penicillium roqueforti* olarak tanımlanmıştır. PCR ampliconları dizi analizinde ITS1-5.8S-ITS4 bölgeleri kullanılmıştır. Küflü Çeçil peyniri üzerinde moleküler yöntemlerin kullanıldığı ilk çalışma olarak kabul edilmektedir. Mikotoksikolojik analizler ince tabaka kromatografisi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA genotipleri bir RAPD primeri olan ari1 primeri kullanılarak belirlenmiştir. 165 izolattan sadece 28'i penisilik asit, *P. roqueforti* toksini veya rokforin üretmemiş olduğu belirlenmiştir.

Erkol ve Çolakoğlunun (2018)'te yayımladıkları bir çalışmada, geleneksel olarak üretilen Erzincan tulum peynirinde dört mevsim boyunca satışı yapılan yerlerden ve evlerden toplanan peynir örnekleri ile çalışılmıştır. Örneklerde gelişim gösteren mikrofungusların belirlenmesi hedeflenmiştir. Steril koşullar altında laboratuvar ortamına getirilen örneklerin makroskopik ve mikroskopik analizler yapılmıştır. 200 izolat tespit edilmiş olup 5 cins örneği ve 14 tür tanımlanmıştır. Bunlar; *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium chrysogenum*, *P. echinulatum*, *P. griseofulvum*, *P. palitans*, *P. roqueforti*, *P. solitum*, *P. verrucosum* ve *Cladosporium herbarum* türleri olarak tanımlanmıştır.

Sivas yöresine ait olan Küp peynirlerinin mikrobiyolojik, kimyasal özellikleri ile küf florası araştırılması yönünde bir çalışma yapılmıştır. Küf tanısı yapılması için besiyerlerindeki gelişimleri dikkate alınarak, makroskopik ve mikroskopik incelemeler yapılmıştır. Chapek Yeast Ekstrakt Agar (CYA), Malt Ekstrakt Agar (MEA), % 25 Gliserin Nitrat Agar (G25N) ve Patato dextrose agar (PDA) kullanılmıştır. Sonuçlara göre 31 küf izole edilip, 31 suş cins ve türlere ayrılmıştır. Tüm suşların arasında 29 suş ve %93.5'lik oranla *Penicillium* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir. Bu cins içinde bulunma yoğunlukları sırasıyla *P.chrysogenum* (6 suş), *P.roqueforti* (5 suş), *P.verrucosum* (3 suş), *P. aurantiogriseum* (2 suş), *P. brevicompactum* (2 suş), *P. griseofulvum* (2 suş) ve birer suşla *P. arenicola*, *P. camemberti*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. fellutanum*, *P. janthinellum*, *P. oxalicum*, *P. palitans*, *P. solitum* şeklinde verilmiştir. Diğer küf cins ve türleri ise sadece iki suşla *Aspergillus versicolor* olarak

teşhis edilmiştir (Pekel, 2008).

Bir başka araştırmada, küflü peynir örneklerinde mikrobiyolojik özelliklerin ve küf florasının belirlenmesi için Karaman, Konya, Mersin, Nevşehir ve Niğde olmak üzere 5 il çevresinden toplanan toplam 21 ilden pynir örneği toplanmıştır. Küflerin tanımlanması için makroskobik ve mikroskobik analizler sonucunda 35 adet küf izole edildiği belirtilmiştir. Bunlar 8 farklı türe ait olan, *Geotrichum candidum*, *Penicillium citrinum*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *P. roquerfortii*, *P. verrucosum*, *Penicillium spp.* ve *Thamnidium sp.* türleridir. En çok izole edilenler arasında sırasıyla *P. roquerfortii*, *P. citrinum* ve *P. chrysogenum* olmuştur. En az izole edilenin ise *Thamnidium sp.* olduğu tespit edilmiştir (Sağdıç ve ark., 2008).

Geleneksel yöntemlerle üretilen peynirler üzerine yapılan bir çalışmada, İç Anadolu, Akdeniz ve Doğu Anadolu bölgelerinde üretilen peynirlerde kontrolsüz olarak gelişen küflerin, ürettikleri sekonder metabolitler nedeni ile halk sağlığı açısından risk oluşturabilecekleri saptanmıştır. Olgunlaştırılmış peynirlerde küfler arasında en çok *Penicillium spp.* saptandığı, baskın türün *Penicillium roqueforti* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Geotrichum*, *Cladosporium* cinslerine ait türlerin de izole edildiği belirtilmiştir. Ayrıca gelişim gösteren türlerin arasında mikotoksin üreten suşların olduğu da tespit edilmiştir. Bu gibi sebeplerden dolayı olgunlaştırma aşamalarının kontrollü bir şekilde yapılarak, starter küf suşlarının seçimine dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Genel olarak yapılan çalışma kapsamında geleneksel yöntemler ile üretilen küflü peynirlerin üretimi hakkında bilgi verilmiştir. Peynirleri oluşturan küflerin hangileri olduğu ve tüketicinin sağlığını etkileyebilecek riskler üzerinde durulmuştur. Ayrıca küfle olgunlaştırılmayan diğer peynirlerdeki küf florasına da değinilmiştir (Yalman ve ark., 2016).

Demirer (1974)'in yaptığı eski bir çalışmada, Konya Küflü Tulum Peynirlerinden ve Diyarbakır Otlı Beyaz Peynirlerinden 10'ar örnekte ve küflenmiş Erzincan tulum Peynirlerinin küflü yerlerinden alınmış 71 örnekte bulunan küfler izole edilip tanımlaması yapılmıştır. Bunların aflatoksin yönünden toksinojenik kontrolleri sağlanmıştır. Analizler sonucunda peynirlerden 130 *Penicillium roquefortii*, 2 *P.*

chrysogenum, 6. *P. notatum*, 2 *P. crustosum*, 1 *Aspergillus manginii*, 2 *A. versicolor*, 1 *Cladosporium herbarum*, *C. macrocarpum*, 1 *C. cladosporioides*, 1 *Alternaria alternata* ve *Wallemia sebi* tespit edilmiştir. Bu küf suşlarından 40 tanesinin kültür ekstraktları aflatoksin varlığı açısından ince tabaka kromatografisi ile incelenmiş, kontrol suşu olarak da *Aspergillus flavus* kullanılmıştır. Sonuçta pozitif kontrol olarak kullanılan *Aspergillus* dışında hiçbirinde aflatoksine rastlanmadığı belirtilmiştir.

Gerçekleştirilen bir başka çalışmada, 140 küflü peynir örneği küf florası yönünden araştırılmıştır. Konya'nın çeşitli yerlerinden toplanan peynir örnekleri steril koşullar altında laboratuvara getirilmiştir. Malt Extract Agar (MEA) ve Czapek Dox agar (CDA) besiyerlerinde kültüre alınan örnekler sonrasında makroskobik ve mikroskobik yönde incelenmiştir. Sonuçlara göre *Penicillium* ve *Aspergillus* cinslerine ait 9 küf türü izole edilmiştir. Sonuçların %87.16'sini *Penicillium*, %12.84'ünü ise *Aspergillus* cinsi türler olduğu belirtilmiştir. İzolatların arasında en çok bulunan türün *P. roqueforti* olduğu tespit edilmiştir. Diğer türler sırasıyla, %22.30'luk oran ile *P. verrucosum* var. *cyclopium*, % 5.07'si *P. camemberti* % 4.72'si *P. brevicompactum* ve *P. chrysogenum*, % 4.05'i *P. frequentans* ve % 3.37'si *P. echinulatum* türleri olduğu belirlenmiştir (Özkalp ve Durak, 1998).

Hayaloğlu ve Kırbağ (2007)'in yaptığı çalışmada, Türkiye'deki farklı marketlerden rastgele satın alınan 30 küflü peynir örneğinin mantar florası da dahil olmak üzere kimyasal ve mikrobiyal nitelikleri araştırılmıştır. Örnekler, Malt Extract Agar (MEA), Yeast Extract Sucrose Agar (YESA), Czapek Dox Agar (CDA), Potato Dextrose Agar (PDA) ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) gibi besiyerlerinde kültüre alınmış ve sonrasında izole edilerek morfolojik yönden incelenmiştir. Araştırmacılar 30 adet küflü peynirden 24 farklı tür izole ettiklerini bildirmişlerdir. Mikroflorayı oluşturan baskın küfün *Penicillium* cinsi oldu belirlenmiştir. Yapılan analizler sonunda, *P. commune*, *P. roqueforti*, *P. verrucosum* türlerinin en baskın olduğu ortaya konmuştur. Diğer dominant türler *Geotrichum candidum*, *Penicillium expansum* ve *P. chrysogenum* olarak belirtilmiştir. Bunların dışında izole edilenler *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Rhizopus* ve *Trichoderma* olmuştur. Bazı *Penicillium spp.* ve *Aspergillus flavus* dahil olmak üzere potansiyel olarak toksijenik

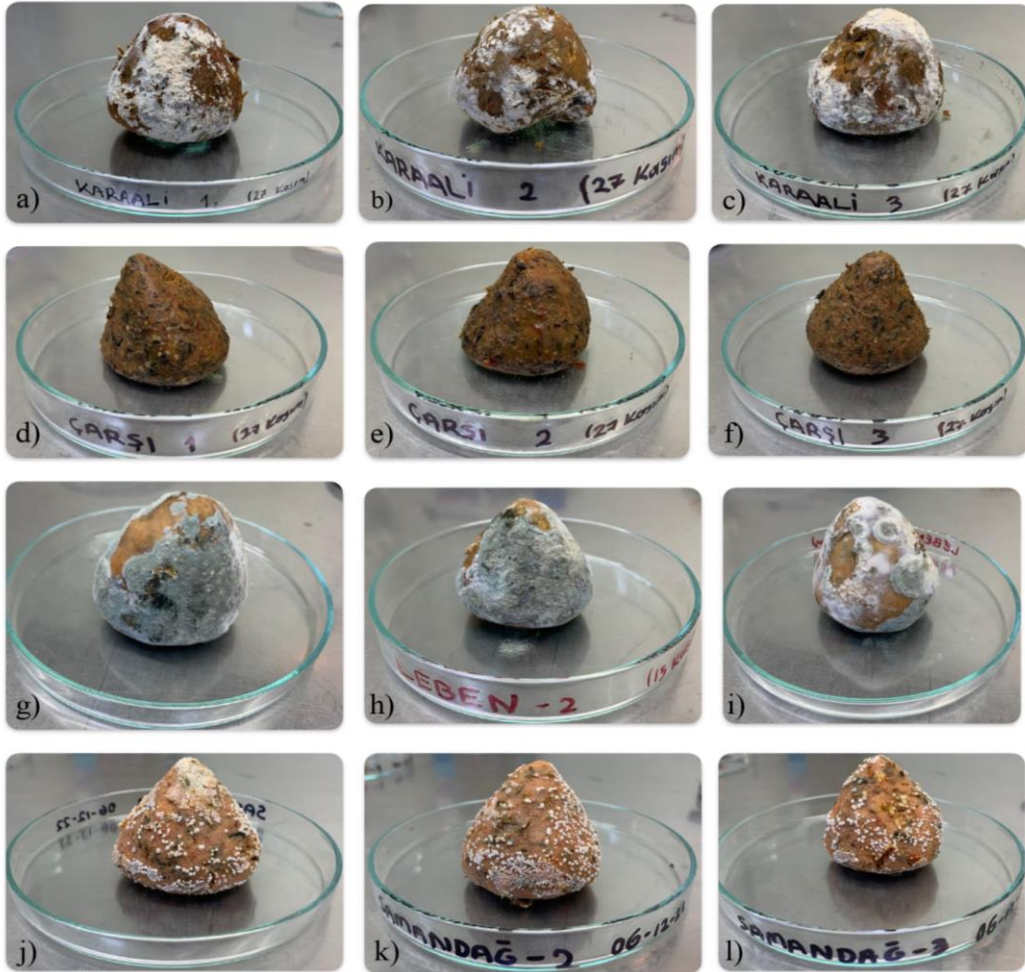
türler de olduğu tespit edilmiştir.

Sert (1992) yaptığı çalışmada 14 Erzincan taze tulum peyniri, 13'er Erzurum'un taze Beyaz ve Civil peynirlerinden ve 11 adet Kaşar peynirinden olmak üzere toplamda 51 peynir örneği ile çalışarak küf izolasyonları ve identifikasyonları yapmıştır. Czapek Dox Agar (CDA) ve Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerleri kullanılarak geliştirilen örneklerin tayini, petri kabındaki gelişimleri ve laktofenol çözeltisi ile hazırlanan preparatlarının mikroskopik görünüşlerine dayalı olarak yapılmıştır. Analiz sonucunda 136 küf suşu izole edilmiştir. İzolatların 34'ünün *Penicillium roqueforti*, 28'inin *P. verrucosum* var. *cycolopium*, 72'sinin *Penicillium* sp., 22'sinin *P.chrycogenum*, 22'sinin *P.expansum*, 23'ünün *Geotrichum candidum*, 22'sinin *Mucor* sp., 4'ünün *M. racemosus*, 2'sinin *Cladosporium herbarum*, 1'inin *Aspergillus niger*, 1'inin *Alternaria alternata* olduğu sonucuna varılırken 5 suş ise tanımlanamamış örnek olarak raporlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak kullanılan sürk peyniri örnekleri Antakya'nın Karaali, Çarşı, Harbiye ve Samandağ olmak üzere 4 farklı bölgesinden temin edilmiştir. Her bölgeden 3'er örnek kullanılarak toplamda 12 peynir örneği ile çalışılmıştır. Hijyen kurallarına dikkat edilerek bölgeden toplanan örnekler olgunlaştırılmak için yaklaşık 4 aylık süre boyunca ev ortamında bekletilmiştir. Bu örnekler arasında Çarşı bölgesinden alınanlar ticari olarak üretimi gerçekleştirilmiş peynirler olup diğer bölgelerden alınanlar ise tamamen geleneksel yöntemlerle üretilen ev yapımı peynirlerdir. Materyal olarak kullanılan peynir örneklerinin görüntüleri Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2. 1 Materyalin görüntüleri; a) Karaali bölgesi 1. örnek b) Karaali bölgesi 2. örnek c) Karaali bölgesi 3. örnek d) Çarşı bölgesi 1. örnek e) Çarşı bölgesi 2. örnek f) Çarşı

bölgesi 3. örnek g) Harbiye bölgesi 1. örnek h) Harbiye bölgesi 2. örnek i) Harbiye bölgesi 3. örnek j) Samandağ bölgesi 1. örnek k) Samandağ bölgesi 2. örnek l) Samandağ bölgesi 3. örnek

Örneklerin alındıkları bölgeler ve örneklerin çalışıldığı kısma göre verilen kodlar Tablo 2.1’de belirtilmiştir.

Tablo 2. 1 Kodlanmış peynir örneklerinin açıklaması.

Temin edilen bölge	Besi ortamı	Örnek	Çalışılan kısım
KARAALİ	PDA	1. KAPİ-1	1. örneğin iç kısmı
KARAALİ	PDA	2. KAPD-1	1. örneğin dış kısmı
KARAALİ	PDA	3. KAPİ-2	2. örneğin iç kısmı
KARAALİ	PDA	4. KAPD-2	2. örneğin dış kısmı
KARAALİ	PDA	5. KAPİ-3	3. örneğin iç kısmı
KARAALİ	PDA	6. KAPD-3	3. örneğin dış kısmı
KARAALİ	BM	7. KABİ-1	1. örneğin iç kısmı
KARAALİ	BM	8. KABD-1	1. örneğin dış kısmı
KARAALİ	BM	9. KABİ-2	2. örneğin iç kısmı
KARAALİ	BM	10. KABD-2	2. örneğin dış kısmı
KARAALİ	BM	11. KABİ-3	3. örneğin iç kısmı
KARAALİ	BM	12. KABD-3	3. örneğin dış kısmı
ÇARŞI	PDA	13. ÇRPİ-1	1. örneğin iç kısmı
ÇARŞI	PDA	14. ÇRPD-1	1. örneğin dış kısmı
ÇARŞI	PDA	15. ÇRPİ-2	2. örneğin iç kısmı
ÇARŞI	PDA	16. ÇRPD-2	2. örneğin dış kısmı
ÇARŞI	PDA	17. ÇRPİ-3	3. örneğin iç kısmı
ÇARŞI	PDA	18. ÇRPD-3	3. örneğin dış kısmı
ÇARŞI	BM	19. ÇRBİ-1	1. örneğin iç kısmı

Tablo 2.1 devam

ÇARŞI	BM	20. ÇRBD-1	1. örneğin dış kısmı
ÇARŞI	BM	21. ÇRBİ-2	2. örneğin iç kısmı
ÇARŞI	BM	22. ÇRBD-2	2. örneğin dış kısmı
ÇARŞI	BM	23. ÇRBİ-3	3. örneğin iç kısmı
ÇARŞI	BM	24. ÇRBD-3	3. örneğin dış kısmı
HARBİYE	PDA	25. LBPI-1	1. örneğin iç kısmı
HARBİYE	PDA	26. LBPĐ-1	1. örneğin dış kısmı
HARBİYE	PDA	27. LBPG-1	1. örneğin gri kısmı
HARBİYE	PDA	28. LBPI-2	2. örneğin iç kısmı
HARBİYE	PDA	29. LBPĐ-2	2. örneğin dış kısmı
HARBİYE	PDA	30. LBPG-2	2. örneğin gri kısmı
HARBİYE	PDA	31. LBPI-3	3. örneğin iç kısmı
HARBİYE	PDA	32. LBPĐ-3	3. örneğin dış kısmı
HARBİYE	BM	33. LBPG-3	3. örneğin gri kısmı
HARBİYE	BM	34. LBBİ-1	1. örneğin iç kısmı
HARBİYE	BM	35. LBBD-1	1. örneğin dış kısmı
HARBİYE	BM	36. LBBG-1	1. örneğin gri kısmı
HARBİYE	BM	37. LBBİ-2	2. örneğin iç kısmı
HARBİYE	BM	38. LBBD-2	2. örneğin dış kısmı
HARBİYE	BM	39. LBBG-2	2. örneğin gri kısmı
HARBİYE	BM	40. LBBİ-3	3. örneğin iç kısmı
HARBİYE	BM	41. LBBD-3	3. örneğin dış kısmı
HARBİYE	BM	42. LBBG-3	3. örneğin gri kısmı
SAMANDAĞ	PDA	43. SDPI-1	1. örneğin iç kısmı
SAMANDAĞ	PDA	44. SDPD-1	1. örneğin dış kısmı

Tablo 2.1 devam

SAMANDAĞ	PDA	45. SDPİ-2	2. örneğin iç kısmı
SAMANDAĞ	PDA	46. SDPD-2	2. örneğin dış kısmı
SAMANDAĞ	PDA	47. SDPİ-3	3. örneğin iç kısmı
SAMANDAĞ	PDA	48. SDPD-3	3. örneğin dış kısmı
SAMANDAĞ	BM	49. SDBİ-1	1. örneğin iç kısmı
SAMANDAĞ	BM	50. SDBD-1	1. örneğin dış kısmı
SAMANDAĞ	BM	51. SDBİ-2	2. örneğin iç kısmı
SAMANDAĞ	BM	52. SDBD-2	2. örneğin dış kısmı
SAMANDAĞ	BM	53. SDBİ-3	3. örneğin iç kısmı
SAMANDAĞ	BM	54. SDBD-3	3. örneğin dış kısmı

Steril poşetler ile analizlere hazırlanan peynir örnekleri, üretim ve analizler gerçekleşene kadar +4°C’de saklanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Mikrobiyolojik Kültüre Alma

Peynir örneklerinin üzerinden sıyrılarak elde edilen küf sporlarının potatoes dextrose agar (PDA) ve laktoz içeren bazal medium (BM) ortamında büyümeleri sağlanmıştır. Kültüre alım aşamasında örneklerin gelişimi için kullanılan besiyerlerinin kimyasal içerikleri Tablo 2.2’de ve Tablo 2.3’te verilmiştir.

Tablo 2. 2 Patato dextrose agar besiyerinin içeriği.

Patato dextrose agar (PDA)	
Dekstroz	20 g/l
Patates ekstraktı	4 g/l
Agar	15 g/l
pH= 5.6	

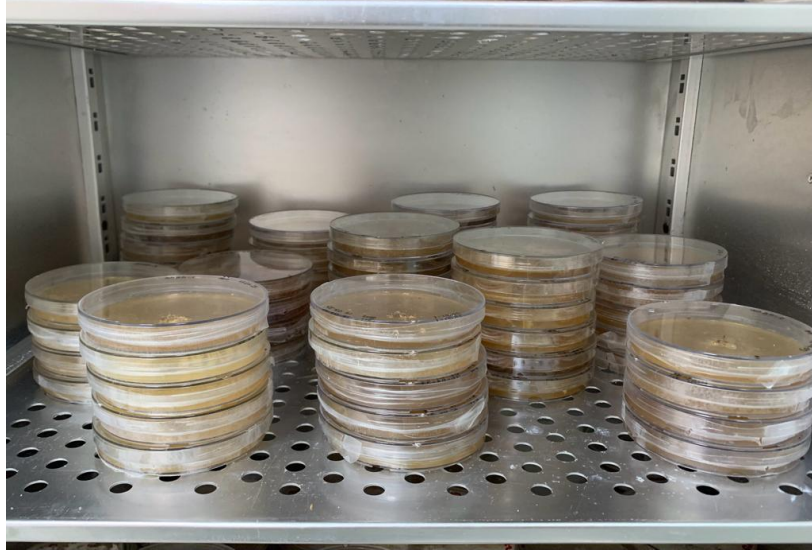
Tablo 2. 3 Bazal Medium besiyerinin içeriği.

Bazal Medium (BM)	
Laktoz	10.0 g/l
Pepton (type I, SIGMA)	1.5 g/l
Maya ekstraktı	1.0 g/l
(NH ₄) ₂ HPO ₄	7.0 g/l
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	1.0 g/l
K ₂ HPO ₄	1.0 g/l
CaCl ₂	1.0 g/l
pH= 7.0	



Şekil 2. 2 Peynir örneklerinin ekim aşaması.

Hazırlanan iki farklı besiyerlerinde kültüre alınan örneklerin ekim aşamasındaki görüntüsü Şekil 2.2’de verilmiştir. Şekil 2.3’te görüldüğü gibi en az 10 gün boyunca 25-27°C’de inkübatörde bekletilerek kültürlerin büyümeleri sağlanmıştır. Bu süre içerisinde koloni oluşumu fotoğraflanarak aşama aşama kaydedilmiştir. Oluşan küf kolonilerin morfolojisi incelendikten sonra mikroskopik inceleme ışık mikroskobu yardımıyla yapılmıştır.



Şekil 2. 3 25-27°C’de inkübatörde kültüre alınan örnekler.

2.2.2. Boyama İşlemi

Hazırlanan preperatlar ışık mikroskopunda daha sağlıklı görüntüler elde edebilmek amacıyla boyanmıştır. Boyama işlemi için metilen mavisi ile melzer ayracı kullanılmıştır. Önceden suda çözülürülerek % 0.5 (w/v)’lik metilen mavisi hazırlanmıştır. Melzer ayracı için 5 g potasyum iyodur, 1,5 g iyot, ve 100 g kloral hidrat tartıldıktan sonra 100 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

İlk olarak lam üzerine steril öze yardımıyla petri kabında gelişim göstermiş olan örneğin belirli bölgelerinden bir miktar alınmıştır. Sonrasında bir damla boya damlatılarak lamel ile üstü kapatılmıştır. Boyanın iyice nüfuz etmesi için 5-10 dakika bekletilen preperatlar, sonrasında mikroskopta görüntülenmek için hazır hale gelmiştir.

Türlerin tanımlanması, Larone (1993), Raper ve ark. (1949), Raper ve Fennel (1965), Brooth (1971) eserlerinden yararlanılarak yapılmıştır.

2.2.3. Genetik Analizler

Sürk örneklerinde bulunan maya ve küf türlerinin tanımlanması için PDA ve BM besiyerlerinde görülen tüm farklı makro ve mikro morfolojiye sahip koloni örneklerinden yeterli büyüklükte küf parçaları petri yüzeyinden sıyrılarak alınmış ve içerisinde KCl ekstraksiyon çözeltisi bulunan 1.5 ml’lik eppendorf tüplerinde +4°C’de muhafaza edilmiştir.

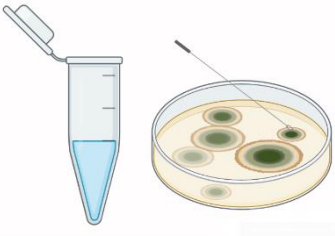
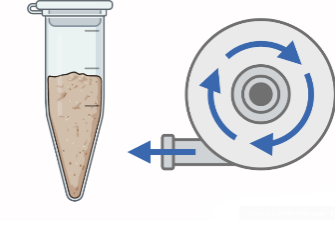
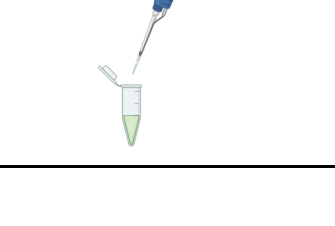
Tablo 2. 4 KCl Ekstraksiyon Buffer içeriği.

KCl Ekstraksiyon Buffer içeriği	Miktar
1.5 M KCl	22.36 g
100 mM Tris-HCl (pH=8)	3.94 g
10 mM EDTA (pH=8)	730.6 mg
170 mM NaCl	2.5 g
17 mM MgCl ₂	404.6 mg
0.7 mM CaCl ₂	25.7 mg
Steril distile su	250 ml

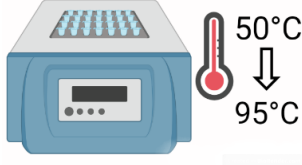
2.2.3.1. DNA İzolasyonu

KCl ekstraksiyon çözeltisine alınan örneklerle gerçekleştirilen DNA izolasyonu, Park ve ark.'larının yönteminin modifiye hali kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Park ve ark., 2014). Tablo 2.5'te detaylı bir şekilde belirtilen basamaklara göre DNA izolasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. 5 DNA izolasyonu aşamaları. (BioRender.com'da hazırlanmıştır).

DNA İZOLASYONU	
	1. 1,5 ml'lik steril eppendorfla bir miktar steril cam boncuk ve 300 µl KCl buffer eklenir.
	2. Steril iğne ucu ile besiyeri delinmeden her bir örneğin yüzeyi kazınarak tüplere aktarılır.
	3. Tüplerin ağız kısımları parafilmlelendikten sonra MagNa Lyser cihazında 5000 rpm'de iki kez tekrarlanarak 30 saniye boyunca fiziksel parçalamaya uğratılır.
	4. Tüplere 10 µl proteinaz K eklenir ve eppendorflar alt üst edilerek karışması sağlandıktan sonra konulan enzimin aktifleşmesi için 15 dakika 50°C'de inkübatörde bekletilir.

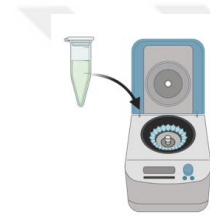
Tablo 2.5 devam



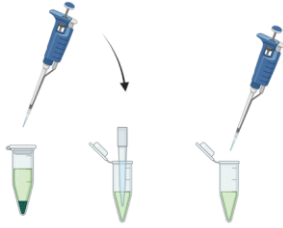
5. Proteinaz K enziminin inaktivasyonu için 95°C’de 15 dakika bekletilir.



6. Örnekler 300 µl Kloroform eklenir ve yaklaşık 30 saniye vorteks uygulanır.



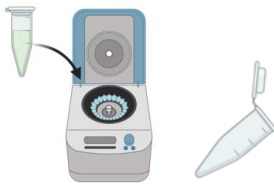
7. 12000 rpm’de 3 dakika, +4°C’de santrifüj işlemi uygulanır.



8. Santrifüj sonrası çıkan örneklerin sadece üst fazları 200 µl hacminde alınır ve yeni hazırlanan steril eppendorflara aktarılır. Faz oluşumu az olduğu durumlarda tekrar santrifüj uygulanır.

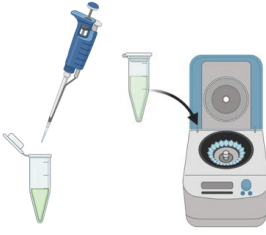


9. Her bir örneğe 120 µl soğuk izopropanol eklenir ve tüp aşağı yukarı yönde çevrilerek karıştırılır.



10. 12000 rpm’de 2 dakika, +4°C’de santrifüj işlemi uygulanır ve ardından süpernatant yavaşça atılır.

Tablo 2.5 devam



11. 200 µl %70'lik soğuk etanol eklenir ve 12000 rpm'de 2 dakika, +4°C'de santrifüj işlemi uygulanır.



12. Santrifüj sonrası süpernatant atılır ve tüpler ağız kısımları açık bir şekilde etanol'ün uçması için kurumaya bırakılır.



13. Etanol'ün buharlaşmasından sonra 100 µl didistile su eklenerek DNA örneklerinin, PCR işlemi yapılıncaya kadar, -80 °C'de muhafaza edilmesi sağlanır.

2.2.3.2. DNA Saflığı ve Konsantrasyonunun Ölçümü

DNA saflığı ve konsantrasyonunu belirlemek için her bir örnekten 2'şer µl alınarak Cytation 3 (BioTek) cihazıyla ölçüm yapılmıştır. PCR deneylerinde kullanılacak DNA örneklerinin saflıklarının tayininde A260/A280 oranının 1,8-2,0 aralığında olmasına dikkat edilmiş, her bir örnekten elde edilen DNA miktarı ng/µl cinsinden kaydedilmiştir. İzole edilen DNA örneklerinin saflık ve miktarlarını gösteren Tablo 2.6'da sunulmuştur.

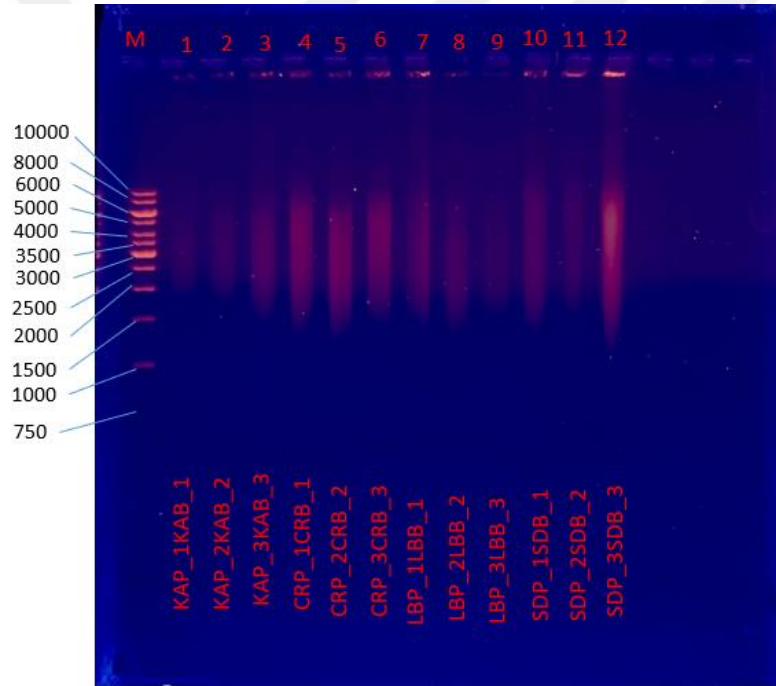
Tablo 2. 6 Örneklerin DNA saflığı ve konsantrasyon ölçümü sonuçları.

	K1	K2	K3	C1	C2	C3	L1	L2	L3	S1	S2	S3
A260/280	2,024	1,9795	1,9795	1,893	1,9275	1,833	1,9935	2,003	1,96	1,6685	1,5175	1,8035
ng/µL	233,137	177,413	213,5505	291,6515	296,157	233,1415	261,163	343,0695	267,399	262,985	285,75	391,4765

2.2.3.2. Elektroforezde Bütünlük Analizi (İntegrity)

İzole edilen DNA örneklerinin elektroforezde bütünlük analizi için %1 (w/v)'lık agaroz jel hazırlanmıştır. Agaroz jel hazırlığı için 1 g agar tartılarak hazırlanan 100 ml 1X TBE (Tris Base, Boric Acid, EDTA) çözeltisinde mikrodalga fırında kaynayana kadar çözdürülmüştür. Sonrasında biraz soğutulularak içerisine 5 µl Etidiyum Bromür eklenmiştir.

Elektroforez tanklarına dökülüp hazırlanan jeldeki kuyucukların her birine 3 µl DNA örneği ile 2 µl Loading Dye olacak şekilde toplam 5 µl yükleme yapılmıştır. Örnekler yüklendikten sonra 60 dakika 100 voltta yürütülmüştür. Jel elektroforezi sonucunda elde edilen DNA'nın görüntüleri fotoğraflanarak kaydedilmiştir.



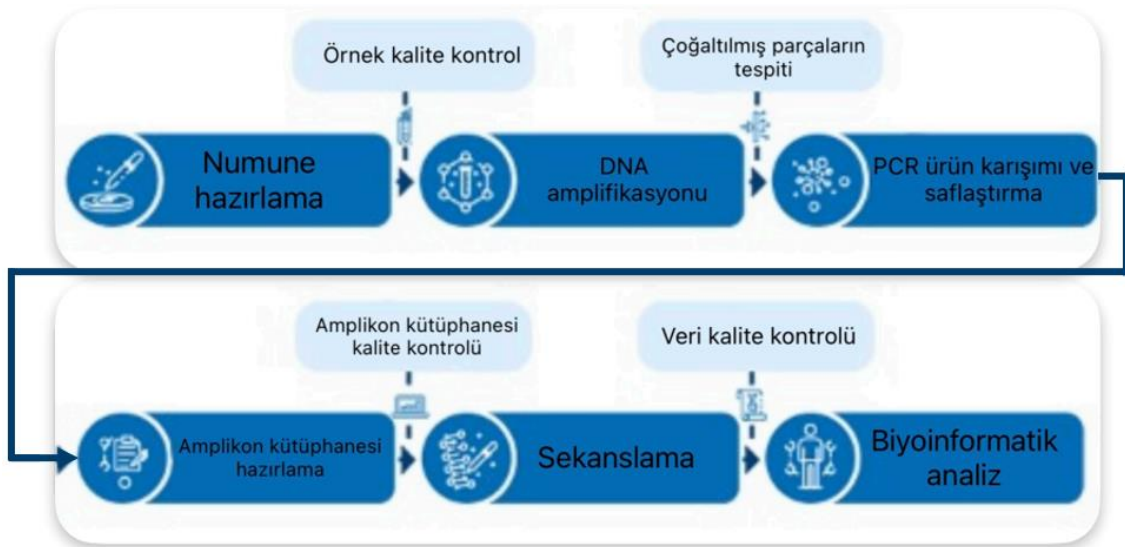
Şekil 2. 4 Sürk peynirinden izole edilen DNA örneklerinin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü. **M)** Marker, **1)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Karaali bölgesine ait 1. örnek, (K1) **2)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Karaali bölgesine ait 2. örnek, (K2) **3)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Karaali bölgesine ait 3. örnek, (K3) **4)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Çarşı bölgesine ait 1. örnek, (C1) **5)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Çarşı bölgesine ait 2. örnek, (C2) **6)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Çarşı bölgesine ait 3. örnek, (C3) **7)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Harbiye bölgesine ait 1. örnek, (L1) **8)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Harbiye bölgesine ait 2. örnek, (L2) **9)** PDA ve BM'de gelişim gösteren Harbiye bölgesine ait 3. örnek, (L3) **10)** PDA ve BM'de

gelişim gösteren Samandağ bölgesine ait 1. örnek, (S1) 11) PDA ve BM’de gelişim gösteren Samandağ bölgesine ait 2. örnek, (S2) 12) PDA ve BM’de gelişim gösteren Samandağ bölgesine ait 3. örnek (S3) şeklindedir.

2.2.3.3 Örneklerin NGS Analizi

Peynir numunelerinden ekstrakte edilen DNA örnekleri, PacBio platformunda V1-V9 arası tüm bölgenin sekanslanması amacıyla analize gönderilmiştir. Çalışmanın bu basamağı, ilgili ekipmanın üniversite bünyesinde bulunmamasından dolayı hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Analizde yeni bir proje için iş akışı, numune hazırlama ve ardından kalite kontrol ile başlamaktadır. DNA örneğinin kalitesi doğrulandıktan sonra hedef bölgeler (amplikonlar) üzerinde PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmektedir. Amplikonlar daha sonra kütüphane hazırlığı için saflaştırma basamağının ardından kütüphane kalite kontrolü başlamaktadır. Sentez yoluyla dizileme (SBS) teknolojisi kütüphaneyi dizilemek için kullanılmaktadır. Dizileme tamamlandıktan ve veri kalite kontrolü yapıldıktan sonra yüksek kaliteli sonuçlar elde etmek ve yayına hazır şekiller oluşturmak için biyoinformatik analiz yapılmaktadır (Novogene, 2023). Analiz sırasında izlenen tüm basamaklar şematik olarak Şekil 2.5’te sunulmuştur.



Şekil 2. 5 NGS teknolojisi akış şeması (Novogene, 2023).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Hatay bölgesinden 4 farklı çeşit peynir temin edilmiştir. Her çeşit peynir örneğinden 3'er tekrarlı olacak şekilde toplamda 12 adet peynirle çalışılmıştır. PDA ve BM besiyerlerinde ekimi yapılan peynirlerin kültürleri oluşturulduktan sonra makro morfolojileri ve mikro morfolojileri incelenmiştir. Ardından DNA izolasyonu yapıldıktan sonra genetik analizler sonucunda tür tayini gerçekleştirilmeye çalışılmıştır.

3.1. Morfolojik Analizler Sonucu Elde Edilen Küf Türleri

Morfolojik açıdan yapılan incelemelerde örneklerin hif yapılarına, konidioforların ve konidilerin uzunluğu ve büyüklükleri, sporların ve sporangioforların şekli, klamidosporların varlığı ve kolonilerin oluşturdukları farklılıklar dikkate alınmıştır. Işık mikroskopu ile çekilen örneklerin görüntüleri, kitaplar ve yapılan çalışmalardan yardım alınarak, uzman bir mikoloğun gözetiminde tayin edilmiştir. Sonuçta 9 farklı tür tespit edilmiştir. Tüm örneklerden elde edilen türler Tablo 3.1'de verilmiştir.

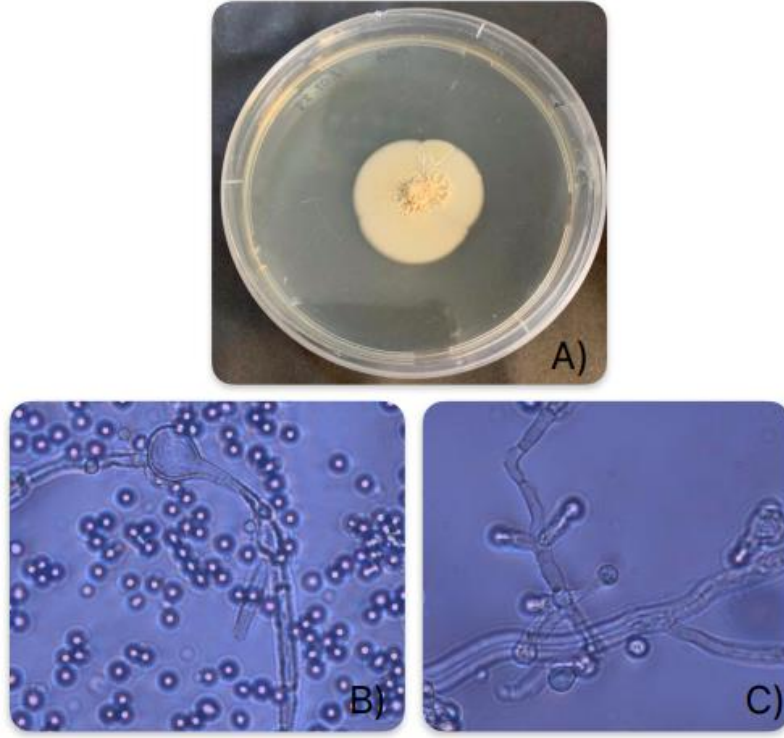
Tablo 3. 1 Tayini yapılan türlerin örneklerde bulunma dağılımı.

	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Fusarium fusarioides</i> (<i>F. clamydosporum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus glaucus</i> (<i>Eurotium herbariorum</i>)	<i>Pseudallescheria boydii</i> (<i>Scedosporium apiospermum</i>)
KAPİ-1	+	+	+	+					
KAPD-1			+	+					
KABİ-1	+								
KABD-1	+								
KAPİ-2			+						
KAPD-2	+		+						
KABİ-2	+	+							
KABD-2	+								
KAPİ-3		+	+	+					
KAPD-3	+	+	+	+					
KABİ-3	+								
KABD-3	+								
ÇRPİ-1		+	+						

Tablo 3.1 devam

ÇRPD-1		+							
ÇRBI-1		+							
ÇRBD-1		+							
ÇRPI-2			+						
ÇRPD-2			+						
ÇRBI-2			+						
ÇRBD-2			+						
ÇRPI-3									
ÇRPD-3		+	+						
ÇRBI-3	+								
ÇRBD-3									
LBPI-1			+	+					
LBPD-1			+	+	+				
LBPG-1			+	+					
LBI-1	+		+	+					
LBD-1			+	+	+				
LBG-1					+				
LBPI-2			+	+			+		
LBPD-2			+	+	+	+	+		
LBPG-2			+	+	+	+	+		
LBI-2			+						
LBD-2									
LBG-2									
LBPI-3					+				
LBPD-3			+		+	+			
LBPG-3									
LBI-3									
LBD-3						+			
LBG-3					+	+			
SDPI-1							+	+	+
SDPD-1							+	+	
SDBI-1									
SDBD-1									
SDPI-2							+		
SDPD-2							+		
SDBI-2	+						+		
SDBD-2									
SDPI-3							+		
SDPD-3							+		
SDBI-3									
SDBD-3		+							

Candida albicans; Çevresel koşullara bağlı olarak *in vitro* ve *in vivo* ortamda maya, psödohif veya gerçek hif olarak üreyebilen fırsatçı bir insan patojenidir. Toprakta ve bitkilerde yaygın olarak görülse de doğal kaynağı insan olarak kabul edilmektedir. Hifler, iplik benzeri bir yapıya sahip olan filamentöz mantarların vejetatif formudur. Psödohifler, tek hücreli mantarların yeni bölünmüş hücre zincirleridir. Hifler ve psödohifler arasındaki temel fark oluşumlarıdır. Tek hücreli olarak görünen maya evresinden sonra blastospor oluşturmaktadır. Blastospor oluşumu konakçıya girdikten sonra tomucuklanma evresinde görülmektedir. Bu şekilde bifazik olduğu söylenilmektedir. *C. albicans* diploid maya benzeri bir mantardır. *C. albicans* kültürleri, gerçek hiflerin uçlarında veya psödohifler boyunca büyük kalın duvarlı klamidokonidiler oluşturmaktadır. (Aydın, 2004; Sachivkina ve ark., 2021). *C. albicans* türünü cinsin diğer üyelerinden ayırt etmek için klamidosporların ve pseudomiselyumun varlığına dikkat edilmektedir. Klamidosporlar hiflerin uçlarında, çoğunlukla yuvarlak şekilli, kalın duvarlı, 7-13µ çapında büyük oluşumlardır. Genellikle boyama yapmadan da varlıkları değerlendirilebilmektedir (Sachivkina ve ark., 2021). 2016'da yapılan bir çalışmada Kareish peynirinde olduğu gibi birçok peynirden *C. albicans* türü izole edilmiştir (Hameed, 2016). Geleneksel olarak üretimi yapılan peynirler arasında ise Kaşkaval peynirinde *C. albicans* türüne rastlanılmıştır (Togay ve ark., 2020).

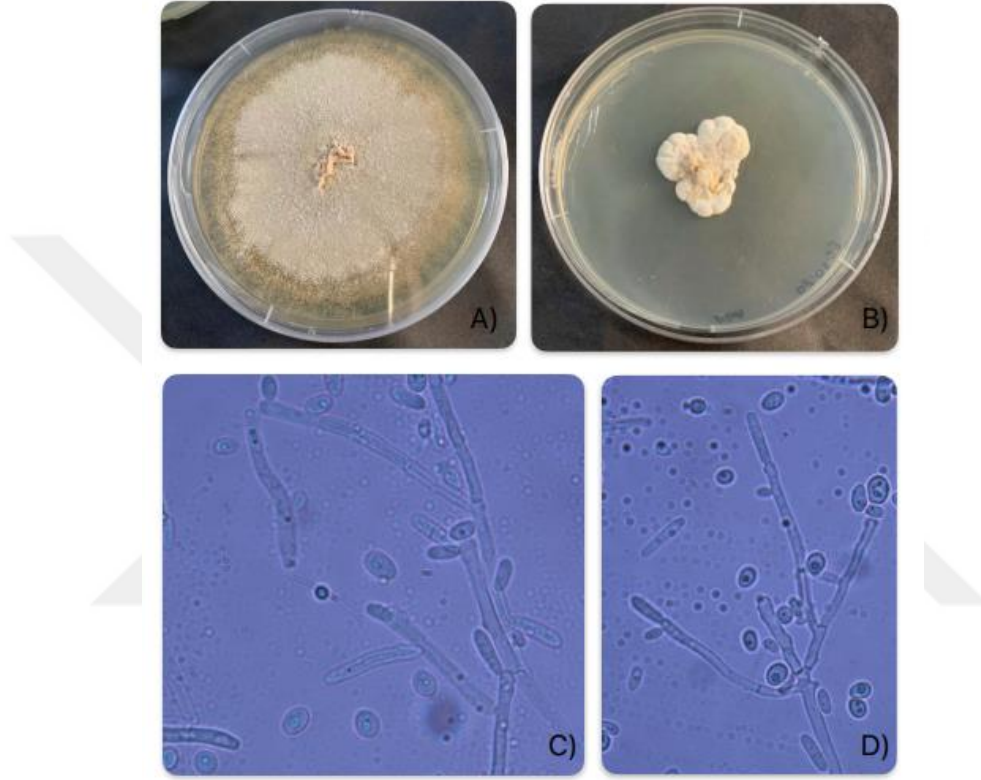


Şekil 3. 1 *C. albicans* türünün A) PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, B) ve C) ışık mikroskopunda elde edilen görüntüsü (100X).

Candida krusei; Genellikle patojen olmayan bir tür olarak kabul edilmekte fakat birçok *Candida* türü ve diğer mayalar için geçerli olduğu gibi, bu mantarın da özellikle vücudun bağışıklık sisteminde bozulma olan hastalarda enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir. Örneğin diyabet hastalarında ve uzun süreli antibiyotik, kortikosteroid veya sitotoksik ilaçlarla tedavi gören hastalarda görülmektedir. Ayrıca hastalık belirtisi olmadan da görüldüğü bildirilmiştir (Larone, 1993).

Koloni morfolojisi düz, kuru ve misel gelişimi ile krem renkli bir görüntü oluşturmaktadır. Uzun blastokonidiler ve yalancı hifler ile ağaç benzeri bir görünüm oluşturmaktadırlar (Larone, 1993). Tıbbi açıdan önemli *Candida spp.* ile karşılaştırıldığında *C. krusei* atmosfer, meyveler, kanalizasyon, silaj, toprak, gıdalar (süt ve et ürünleri, turşu, şeker ve şurup bazlı ürünler dahil), şarap ve bira gibi çok çeşitli doğal habitatlardan izole edilmiştir. Bu nedenle doğada yaygın olarak bulunur ve fakültatif bir saprofit olarak kabul edilmektedir. Genel olarak, *C. krusei*'nin insanda geçici bir kommensal olduğu düşünülmektedir. Çeşitli hasta gruplarının mukozal yüzeylerinden ve sağlıklı

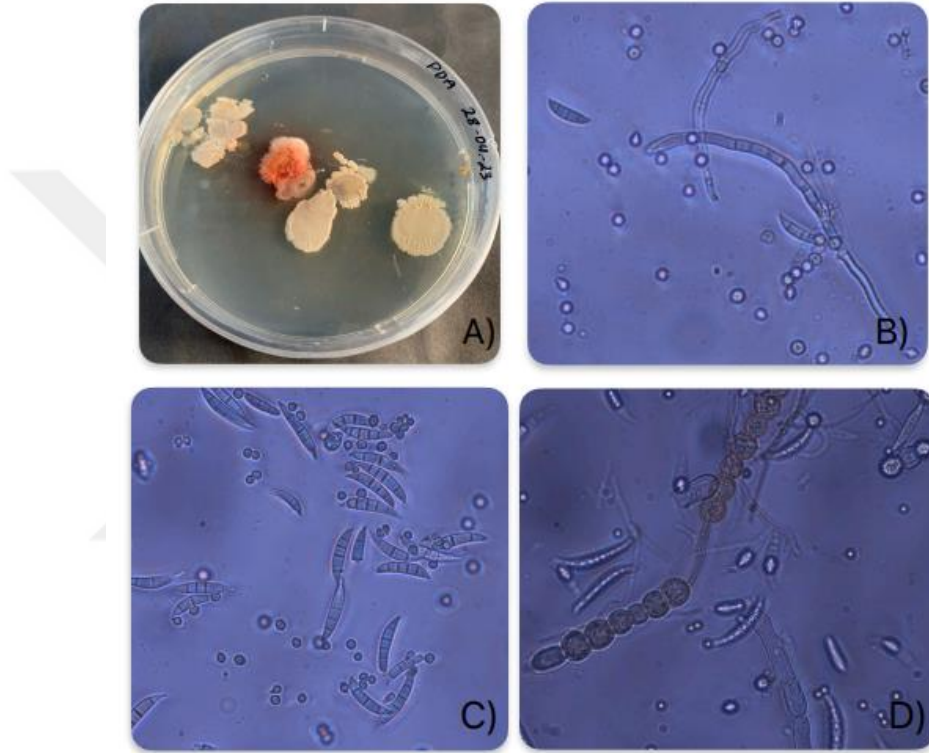
bireylerden de izole edildiği tespit edilmiştir (Samaranayake ve Samaranayake, 1994). Yapılan bir çalışmada geleneksel yöntemlerle üretilen 50 farklı beyaz peynir kullanılmıştır ve bu çalışmada peynirden izole edilen maya mantarları arasında *C. krusei* türüne rastlanılmıştır (Gelen ve Ceylan, 2021). Burdur halk pazarından toplanan beyaz peynirler üzerine yapılan bir çalışmada elde edilen izolatların %14'ü *C. krusei* olduğu tespit edilmiştir (Yurdakul ve ark., 2016).



Şekil 3. 2 *C. krusei* türünün **A)** BM'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni görüntüsü, **B)** PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni görüntüsü, **C)** ve **D)** ışık mikroskopunda hif yapılarının morfolojik görüntüsü (100X).

Fusarium fusarioides (F. chlamydosporum); Toprakta bulunan bir mantar türü olarak bilindiği ve genellikle tropik bölgelerde ve Doğu Avustralya'nın daha sıcak bölgelerinde yaygın olduğu bildirilmiştir (Savard ve ark., 1990). *Fusarium* cinsi, küresel bir dağılıma sahip fitopatojenik bir mantar olarak bilinmektedir. Mısır, buğday veya arpa ve orkide bitkileri gibi çok çeşitli tarımsal ürünleri enfekte edebilen ve bunun yanı sıra tahıl kalitesini ve verimini düşürmekte olduğu belirtilmiştir (Siddiquee ve ark., 2010). Kültürlerde farklı renk oluşumu gözlemlense de genellikle bordo ve hafif griye yakın pembemsi bir tonda görüntü oluşturmaktadırlar. Mikrokonidiler tek hücreli, fusoid ve 0-

2 septalıdır. Makrokonidiler ise hafif kıvrımlı, apikal hücre uçları sivri ve bazal hücreleri ise çentiklidir. Genellikle 4-6 septalı oldukları bilinmektedir. Bu türde ortam şartları uygun olduğunda bol miktarda klamidospor ürettikleri gözlemlenmiştir. Oluşan klamidosporlar yuvarlak şekillerde olup tek veya çift olarak görülebildiği gibi aynı zamanda zincir şeklide ve küme halide de bulunmaktadır (Kordalı, 1997; Booth, 1971). Yapılan çalışmalarda ıspanak, karpuz, domates ve salatalıkta patojen tür olarak tespit edilmiştir (Asan, 2011).

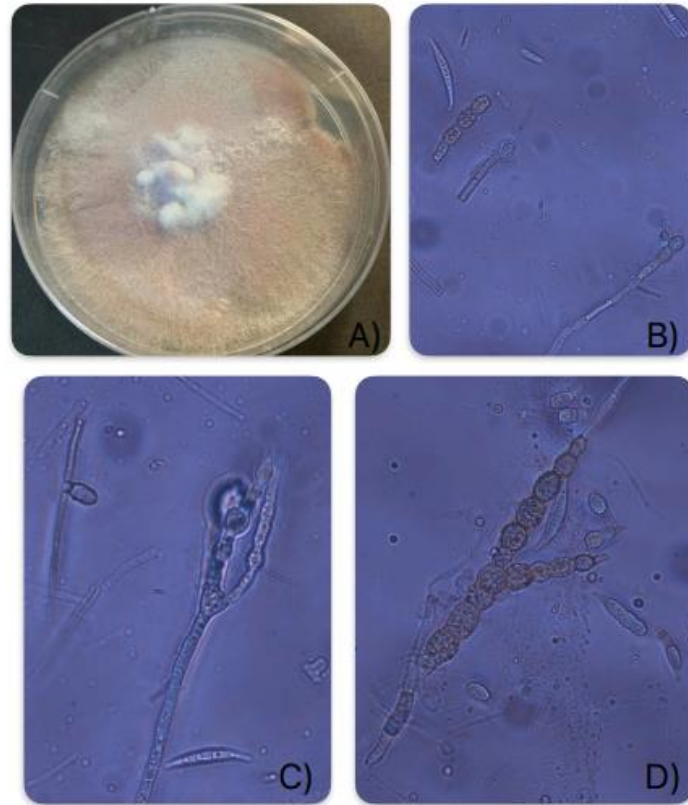


Şekil 3. *F. chlamydosporum* türünün **A)** PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, **B)** ve **C)** makrokonidi ve mikrokonidi yapılarının mikroskopik görüntüsü (40X), **D)** zincir halinde bulunan klamidospor yapısının görüntüsü (40X).

Fusarium oxysporum; esas olarak toprakta saprofit olarak bulunup kış aylarında misel ya da klamidospor halinde hayatta kalmaktadırlar. Yararlı bitki endofiti olarak bilinen bu tür çoğu zaman bitki patojeni olarak da görülmektedir. Kültürlerin ortamda büyümleri 4-5 cm'e ulaşabilmektedir. Miselyumları genellikle mor renge yakın bir tonda görülmektedir. Mikrokonidiler 0-2 septalı ve bol miktarda olup, oval, elipsoid, silindirik veya düzden kavisliye doğru değişken şekillerde görülebilmektedir. Fialidlerde ya da konidiyoforlar üzerinde bulunurlar. Makrokonidiler ise daha ayrıntılı

dallanmış konidioforlar üzerinde veya sporodosyum yüzeylerinde taşınırlar. İnce kenarlı, 3-5 bölmeli, her iki ucu sivri ve fusoid formdadırlar. Klamidosporlar genellikle bol miktarda bulunur ve hem terminal hem de interkalar şeklinde gelişim göstererek bazen çifler ya da zincirler halinde de oluşabilirler (Booth, 1971).

Yapılan çalışmalarda; sümbül, lale, karanfil, frezya, muz, elma, kavun, karpuz, domates, salatalık, biber, prinç, nohut, mercimek, lahana, karnabahar, börülce, mısır, keten, yer fıstığı, soya, bezelye, fasulye, pancar, pamuk, patates, soğan ve turunçgillerde patojen olduğu rastlanmıştır (Asan, 2011).

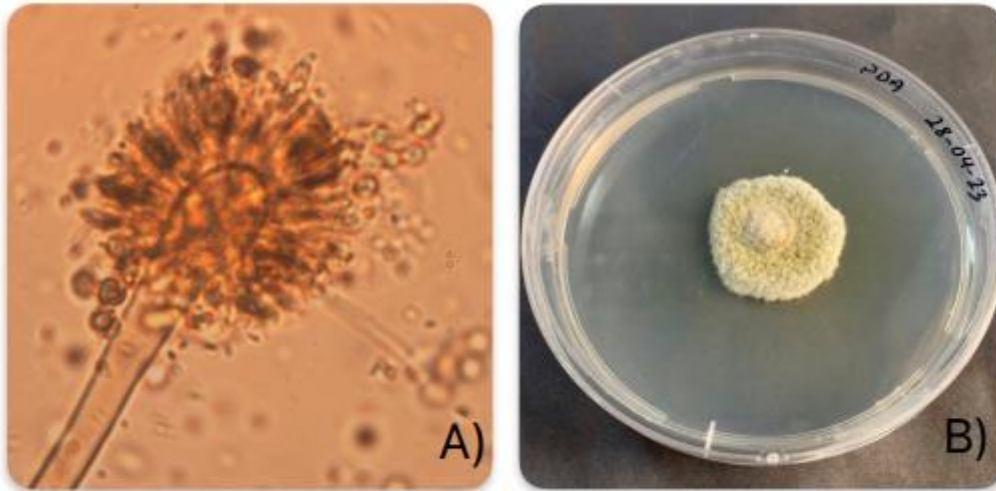


Şekil 3. 4 *F. oxysporum* türünün **A)** PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, **B), C)** ve **D)** konidilerin ve klamidospor yapısının mikroskop görüntüsü (40X).

Aspergillus flavus; birçok gıda çeşidinde görülen saprofitik ve patojenik bir türdür. Toprakta conidia veya sklerotia şeklinde, bitki dokularında ise misel olarak bulunmaktadır (Sargeant ve ark., 1961). Kültürlerde gözlenen morfolojisi kadifemsi, sarıdan yeşile veya kahverengi şeklindedir. Konidiyoforları değişken uzunluklarda, renksiz ve pürüzlü gibi bir görünmektedir. Konidyumlar olgunlaştığında küresel ve

belirsiz bir pürüzlük gözlemlenmektedir (Raper ve Fennell, 1965).

Aflatoksin (AF) üreten en yaygın tür olduğu ve esas olarak aflatoksin B1 ve B2 ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından grup 1 insan kanserojeni olarak belirlenen en toksik doğal bileşik olarak kabul edilmektedir. Bu mikotoksinlerden AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 bazı yapılan çalışmalarda peynirlerde tespit edilmiştir. Ancak geleneksel olarak çiğ süttten yapılan peynirlerin mikotoksijenik küfler tarafından kontaminasyona daha yatkın olduğu bildirilmiştir. Bu sebepten küf kontaminasyonu ile AF oluşumunu belgeleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır (Casquete ve ark.,2017). Mısır, yer fıstığı ve pamuk tohumu üzerinde çok yaygındır. Bilinen izolatların sadece yaklaşık %30-40'ının aflatoksin ürettiği tahmin edilmektedir. Ayrıca *A. flavus* tarafından kojik asit, siklopiazonik asit, aspergillik asit ve β -nitropropiyonik asit dahil olmak üzere birçok ekstroliit üretilmektedir. Bu nedenle hem mantarın hem de ekstroliit profilinin doğru bir şekilde tanımlanması, bir önleme programının başarılı olması için önemli kabul edilmektedir (Dijksterhuis ve Samson, 2007). Şekil 2.4'te *Aspergillus flavus*'un koloni morfolojisi ve mikroskop görüntüsü verilmiştir.

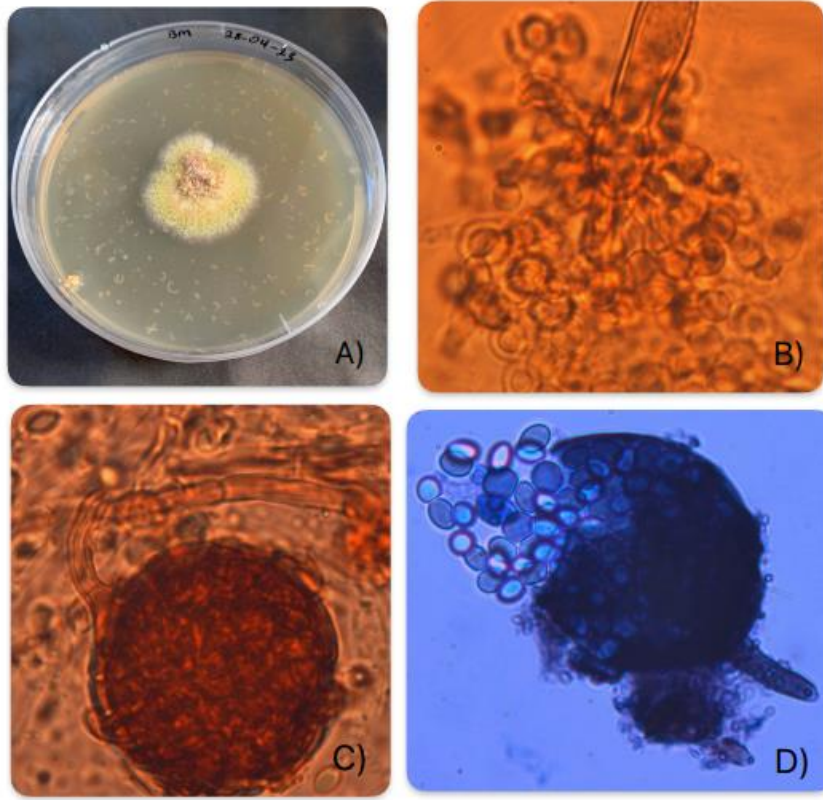


Şekil 3. 5 *A. flavus*'un **A)** Melzer ayırıcı ile boyanmış mikroskop görüntüsü (100X). **B)** PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi.

Aspergillus glaucus (*Eurotium sp.*); *Eurotium herbariorum* adıyla da bilinen, askosporlar ile üreyen eşeyli bir faza ve konidyum üreten eşeysiz bir faza sahip pleomorfik bir mantar olduğu bilinmektedir (Hibbett ve Taylor, 2013). PDA

besiyerindeki kolonileri beyazdan sarı renge doğru olduğu, hifler septat olup bir kleistotesiaya sahip olan bir türdür (Husain ve ark., 2015). Kleistotesia, ascomycetes familyasına ait mantarlarda görülen kapalı ve küremsi bir askokarpın içinde, askosporların bulunduğu yapıya denmektedir. İçinde bulununan sporlar ya çürüme ya da askokarpın yırtılması ile serbest kalmaktadırlar (Medical Dictionary). Bu türe ait olan konidiyaların başları sütun şeklinde yayılmakta ve tipik olarak yeşil olarak görünmektedir. Konidiyoforlar ise pürüzsüz, renksiz veya kubbe benzeri keseciklerle sonlanan kahverengi tonlarında pigmentlidir. Konidiler daha çok küremsi şekilde ve karakteristik olarak pürüzlüdür. Genellikle mevcut olan kleistotesia küremsi, ince duvarlı ve kırmızımsı renkte görülmektedir (Raper ve Fennell, 1965).

A. glaucus politrofik olup birçok farklı besin kaynağında yer aldığı yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. Mısır, buğday, balık, tereyağı ve yumurta dahil olmak üzere çeşitli gıdalarda geliştiğı bulunmuştur. Ayrıca diğ er mantar türlerine göre farklı olarak reçel ve jöle gibi gıdalarda mevcut olduğı bildirilmiştir. *Aspergillus glaucus*'un bazı suşları mikotoksin üretebildiğı fakat türün ölümcül etkisi olabilecek çok az vaka olduğı tespit edilmiştir. Patojenik olarak kabul edilmemesinin sebebi 35°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda büyümesinin kısıtlı olup antifungal tedaviye karşı oldukça duyarlı olması ve tehlike arz etmemesinden ileri gelmektedir (Amanah ve ark., 2019). 2014 yılında peynirle ilgili yapılan bir çalışmada tayin edilen türler arasında *A. glaucus* türüne rastlanılmıştır (Marin ve ark., 2014). Ayrıca Güney İspanya'da üretilen ticari peynirlerden ve geleneksel İtalyan peynirinden (Fossa peynirinde) *Aspergillus glaucus* izole ve identifiye etmişlerdir (Barrios ve ark., 1997; Santi ve ark., 2010).



Şekil 3. 6 *A. glaucus*'un **A)** BM besiyerindeki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, **B)** ışık mikroskobunda melzer ayırıcı ile boyanmış görüntüsü (100X), **C)** melzer ayırıcı ile boyanmış türün oluşturduğu kleistotesyum görüntüsü (100X), **D)** metilen mavisi ile boyanmış örnekte kleistotesyum yapısının parçalanmış ve sporların dağılmaya başlamış görüntüsü (100X).

***Pseudallerscheria boydii* (*Scedosporium apiospermum*);** Ascomycota'da sınıflandırılan bir mantar türüdür. Eskiden *Monosporium apiospermum* olarak bilinen *Scedosporium apiospermum*, *P. boydii*'nin anamorfudur. Tipik olarak durgun ve kirli sularda bulunan *P. boydii*, bağışıklık sistemi baskılanmış ve pnömoni hastalarının enfeksiyonunda rol oynamıştır. *P. boydii*'nin teşhisi, mantarın kültürde izolasyonu veya hastalıklı bireylerin dokularında sitoloji ve histopatoloji yoluyla mümkündür (Ramsperger ve ark., 2014; Choi ve ark., 2019).

Kolonileri başlangıçta beyazdan griye, daha sonra koyu gri veya dumanlı kahverengiye dönüşür ve yünömsü ila pamuksu bir dokuya sahiptir (Ramsperger ve ark., 2014).

Konidileri tek hücreli, soluk kahverengi ve konidiyoforların uçlarında küçük kümeler halinde veya doğrudan hiflerden çıkan kısa boyutlarda görülmektedir. Annelidleri taşıyan konidiyoforlar değişen uzunluktadır ve vejetatif hiflerden çok az farklılaşma

göstermektedirler. Eşeyli *P. boydii*'nin büyük (50~250 µm) kahverengi kleistotesiası 2~3 haftalık inkübasyondan sonra gelişebilmektedir ve genellikle bir koloninin merkezinde bulunmaktadır. Askosporlar sarı kahverengi ve elipsoidal şekildedir (Karoll ve ark., 2008).



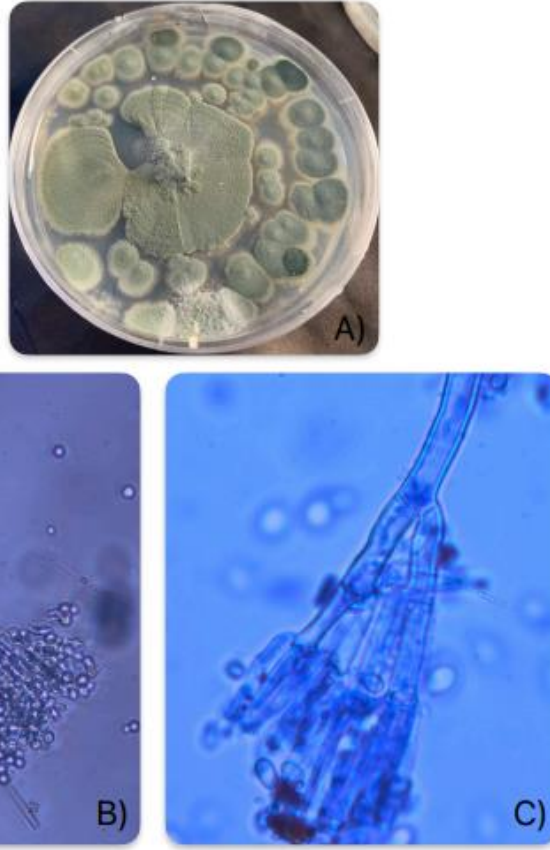
Şekil 3. 7 *P. boydii* türünün **A)** PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, **B)** ışık mikroskobunda görüntülenen morfolojisi (100X), **C)** oluşturduğu kleistotesia yapısı (40X).

Penicillium roqueforti; Peynir üretiminde kullanılan çeşitli yöntemler vardır fakat *P. roqueforti* küfünün kullanımının, mavi peynirlerin tipik görünümüne ve lezzetine büyük ölçüde katkı sağladığı bilinmektedir. *P. roqueforti* özellikle Rokfor, Stilton, Danablu, Gorgonzola ve Blauschimmelkäse gibi yalnızca süt ürünleri ortamlarında değil aynı zamanda toprak gibi doğal ortamlarda, silajda (geviş getiren hayvan yemlerinde), dondurularak saklanmış gıdalarda, etlerde ve buğday ürünlerinde yaygın bir bozulma maddesi olarak görülmektedir. Bunun sebebi ise düşük oksijen seviyeleri, düşük sıcaklıklar, yüksek karbondioksit konsantrasyonları veya organik asitlere ve zayıf asit

koruyuculara karşı dirençli olmaları gibi birçok zor şartlar altında büyüme ve gelişme yeteneklerindendir (Gillot ve ark., 2015).

Koloni morfolojileri tipik olarak koyu yeşil tonlarında, hafif kadifemsi ve damarlı yapıda görülmektedir. Mikroskopik görüntülemelerde hif sapları septalı veya septasız şekilde görüntülenebilmektedir. Hifin baş kısmında bulunan konidiyoforlar pürüzlü veya tüberküllüdür ve 100-200 µm x 4-6,5 µm boyutlarında olup hem ikili hem de ikiden fazla dallanma göstermektedirler. Penisillerin hücresel elemanları da genellikle benzer şekilde pürüzlüdür. Penisiller asimetric, düzensiz dallanmış, uzun karışık zincirler halinde veya gevşek sütunlar halinde yapışık konidiler taşımaktadırlar. Konidiler küresel şekilde 4-8 µm çapındadır. Fialid 8-10 µm x 2,53 µm, metula 10-17 µm x 3-4 µm ve rami 17-33 µm x 3-4 µm boyutlarındadır (Raper ve Thom, 1949).

P. roqueforti mikotoksin olarak bilinen rokfortin C, PR-toksin, isogaklavin A ve B gibi ürettiği bileşiklerin yanında antitümör özellikte olan mikofenolik asit ve andrastin A ürettiği bildirilmiştir. Fakat yapılan çalışmalar doğrultusunda ürettikleri mikotoksinlerin aslında eser miktarda olduklarından insan sağlığı açısından herhangi bir problem yaratmadığı ortaya konulmuştur (Refai ve ark.,2015). Çalışmalara bakıldığında *P. roqueforti* türünün sadece Avrupa'da üretimi gerçekleştirilen mavi peynirlerde değil aynı zamanda ülkemizde geleneksel olarak üretilen Hatay Sürk peyniri, Erzurum Küflü Civil peyniri, Divle Obruk peyniri, Konya Küflü peyniri, Kars Çeçil peyniri, Elazığ-Bingöl Tomas peyniri, Çömlek Tulum peyniri ve Akdeniz Tulum peynirinde de baskın küf türü olduğu tespit edilmiştir (Cakmakçı ve ark., 2012).



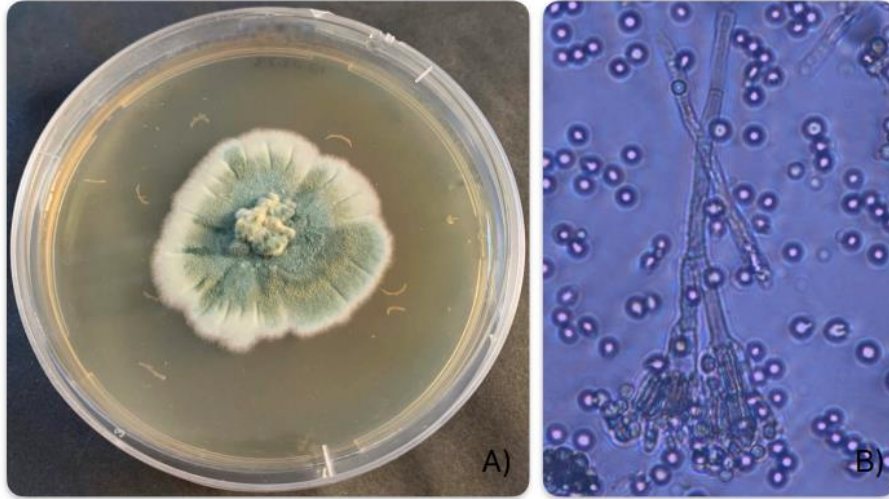
Şekil 3. 8 *Penicillium roqueforti* türünün **A)** PDA'daki 25-27°C'de 10 günlük koloni morfolojisi, **B)** mikroskop görüntüsü (40X), **C)** metilen mavisiiyle boyanmış mikroskop görüntüsü (100X).

Penicillium chrysogenum; Eski adı *Penicillium notatum* olarak bilinmektedir. Antibiyotiklerin ve özellikle penisilinin kaynağı olduğundan üzerinde yaygın olarak çalışmalar yapılmaktadır. Penisilin 1928 yılında Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir. Aslında günümüze kadar geçen süreçte oldukça fazla yöntem gelişmiş olsa da *P. Chrysogenum*, hala penisilin ve β -laktam grubu antibiyotiklerin kaynağı olarak kabul edilmektedir (Andersen ve ark., 2011; Fleming, 1929). Birçok enfeksiyon tedavisinde kullanılan Penisilin G (Benzilpenisilin/PenG) ve Penisilin V (Fenoksimetilpenisilin/PenV) doğal olarak oluşan penisilinler arasında yer almaktadır (Sawant ve ark.,2023).

Penicillium chrysogenum kolonileri mavi-yeşil bir görünüme sahiptir fakat süre geçtikten sonra ortamda sarımsı pigment oluşturduğu da gözlenilmiştir. Mikroskopik olarak bakıldığında, fırça şeklinde görünen konidiyoforların uçlarında bulunan eşeysiz

sporlar olarak bilinen konidilerle çoğalmaktadır. Hif yapıları genellikle renksiz, ince, uzun boru şeklinde, dallanma gösteren ve bölmeli olarak görülmektedir. Bu hif yapıları iç içe geçerek ağ benzeri bir görünüme dönüşebilen birkaç miselyum ipliğinden oluşmaktadır. Konidyumlar elipsoidal, 2,5-4,0 µm uzunluğundadırlar. Konidiyoforlar hiflerin üzerinde uzun tüpler halinde ortaya çıkmaktadır. Bu tüplerin ucunda vezikül olarak bilinen yapılardan önce birincil sterigmata (phialide) konidial sporları oluşturacak ikincil sterigmata meydana gelmektedir (Pitt ve Hocking, 2009).

P. chrysogenum genellikle ılgan ve subtropikal bölgelerde, topraktan, havadan ve çürüyen organik maddelerden kolaylıkla izole edilebilmektedir. Gıda ürünleri arasında çoğunlukla pirinç, arpa, buğday ve mısır gibi tahıllarda görülen bir gıda kontaminantıdır (Pitt ve Hocking, 2009). Türkiye’de geleneksel peynirler üzerine yapılan çalışmalarda, Hatay Sürk peynirinde, Sivas Küp peynirinde, Erzurum yöresine ait Civil peynirinde, Erzincan Tulum peynirinde ve aynı zamanda Konya ve civarında bulunan bölgelerden toplanan küflü peynir çeşitlerinde *P. chrysogenum* türüne rastlanılmıştır (Özkalp ve Durak, 1998; Pekel, 2008; Cakmakcı ve ark., 2012; Erkol ve Çolakoğlu, 2018; Esen ve Turgay, 2022;).



Şekil 3. 9 *P. chrysogenum* türünün **A)** BM’deki 25-27°C’de 10 günlük koloni morfolojisi, **B)** mikroskop görüntüsü (40X).

3.2 Moleküler Analiz Sonuçları

DNA izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin 18S rDNA sekansının tamamının sekanslanmasına dayalı olarak NGS yönteminin uygulanması için hizmet alımı

yapılmıştır. Ancak örneklerden elde edilen DNA örneklerinin yapılan NGS analizinden, DNA kalitesinden kaynaklandığı söylenen sorunlar sebebiyle, sonuç alınamamış ve bu sebeple moleküler tür tayini gerçekleştirilememiştir. Hizmet alımı yapılan Novogene şirketi tarafından elde edilen sonuçlar Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3. 2 Sekans analiz sonuçları.

Sample Name	Raw reads(#)	Clean reads(#)	Base(nt)	AvgLen(nt)	Effective%
FKDN230322062_1A	14	3	5270	1756	21.43
FKDN230322071_1A	285	230	389723	1694	80.70
FKDN230322072_1A	0	0	0	0	0
FKDN230322073_1A	28392	28309	47918177	1692	99.71
FKDN230322063_1A	0	0	0	0	0
FKDN230322064_1A	124	6	10543	1757	4.84
FKDN230322065_1A	73	45	78729	1749	61.64
FKDN230322066_1A	128	62	105902	1708	48.44
FKDN230322067_1A	13	1	1685	1685	7.69
FKDN230322068_1A	38	2	3375	1687	5.26
FKDN230322069_1A	220	204	358489	1757	92.73
FKDN230322070_1A	50	2	3547	1773	4.00

4. SONUÇLAR

Sürk peyniri gibi geleneksel olarak üretimi gerçekleştirilen her gıda ürünü mikroorganizma yönünden gelişim için elverişli bir ortam olarak görülmektedir. Gıda olarak kullanılan ürünlerde mikrobiyal kontaminasyonun en yaygın sebebi ise genellikle üretimin steril olmayan ortamlarda gerçekleşmesidir. Yapılan bu çalışmada, Antakya yöresine ait olan 4 farklı bölgeden temin edilen 12 adet Sürk peyniri ile çalışmıştır. Bunların arasında Karaali, Harbiye ve Samandağ bölgelerinden toplanan örnekler tamamen ev yapı ile üretimi gerçekleştirilmiş olup, Çarşı adlı dördüncü örnek ise ticari olarak temin edilmiştir.

Klasik mikrobiyolojik yöntemler ile izolasyonu gerçekleştirilen örneklerden 9 farklı türe rastlanılmıştır. Bu türler, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus glaucus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium oxysporum* ve *Pseudallescheria boydii* (*Scedosporium apiospermum*)’dir.

Literatüre bakıldığında Sürk peyniriyle ilgili mikrobiyal küf florasının incelendiği tek bir çalışma mevcuttur. Genetik analizler yapılan bu çalışmada ortak olan iki türün olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan biri *Penicillium roqueforti* diğeri de *Aspergillus flavus* türleridir. Bu çalışma dışında yapılan araştırmalar peynirin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleriyle ilgilidir. Fakat farklı peynir çeşitlerinde bu çalışma sonucunda elde edilen türlere rastlandığı görülmüştür. Farklı peynirlerde hangi türe rastlandığı Tablo 4.1’de detaylı bir şekilde verilmiştir.

Tablo 4. 1 Teşhisi Yapılan Türlerin Diğer Çalışmalarla Karşılaştırılması.

Yapılan çalışmada Sürk peynirinden izole edilen küf türleri	Diğer Peynir Örnekleri Üzerinde Rastlanan Ortak Küf Türleri
<i>Penicillium roqueforti</i>	-Tulum peyniri -Beyaz peynir -Civil peyniri - Küp peyniri - Küflü peynir – Konya civarı küflü peynir – Anadolu da yöresel küflü peynirler
<i>Penicillium chrysogenum</i>	-Civil peyniri - Küp peyniri - Küflü peynir – Konya civarı küflü peynir – Anadolu da yöresel küflü peynirler - Tulum peyniri – Sürk peyniri
<i>Aspergillus flavus</i>	- Küflü peynir – Konya civarı küflü peynir - Tulum peyniri – Sürk peyniri
<i>Candida albicans</i>	-Beyaz salamura peynirler -Damietta peyniri -Kareish peyniri - İşlenmiş peynir
<i>Candida krusei</i>	-Damietta peyniri -Kareish peyniri -İşlenmiş peynir -Beyaz peynir -Burdur beyaz peyniri
<i>Fusarium oxysporum</i>	- Tulum peyniri

Sürk peynirinden elde ettiğimiz türler göz önünde bulundurulduğunda, özellikle cins bazında ele alınacak olursa, *Penicillium* cinsinin dominant olduğu tespit edilmiştir. Halk tarafından doğal antibiyotik olarak tüketildiği söylenen bu peynirin birçok örnekte rastlanan *Penicillium* türlerinin varlığıyla doğrulanmaktadır. Antibiyotiklerin ve özellikle penisilinin kaynağı olduğu bilinen *Penicillium chrysogenum*’un peynirde bulunması antibiyotik etkisi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. *Penicillium roqueforti* türünün ise zaten peynir örneklerinde baskın tür olduğu ve peyniri oluşturan tür olarak kabul edildiği bilinmektedir. Ev yapımı ile ticari olarak temin edilen örnek kıyaslandığında, ev yapımı olan türlerde bulunan antibiyotik etkili *Penicillium chrysogenum*’a ticari olarak temin edilen örnekte rastlanmadığı görülmüştür. Bu türler dışında tayin edilenler bitki patojeni olarak bilinmekte veya ortamda kontaminasyon sonucu bulundukları düşünülmektedir. Peynir örneğinde bitki patojeni türlerinin bulunma sebebi peynire eklenen baharatlardan kaynaklı olduğu ihtimaller dahilindedir. Diğer bir deyişle peynirin satın alındığı kaynakta, peynir üretiminde kullanılan baharat türlerinden veya üretimin gerçekleştiği ortamdaki hastalıklı bitki örneklerinin ortama bıraktığı sporelerden bir kontaminasyon söz konusu olmuş olabileceği düşünülmektedir.

Ev ortamında üretilen bu peynirlerin gerek çökeleğin yapımında gerekse olgunlaşma aşamasında bekletilen ortamdaki kaynaklı olarak, steril olmayan şartlarda bulunması kontaminasyon ihtimalini yükseltmektedir.

Aflatoksin üreten en yaygın tür olarak bilinen *Aspergillus flavus*'un Sürk peynirinde bulunmasının sebebinin, geleneksel olarak çiğ süttten yapılan peynirlerin mikotoksijenik küfler tarafından kontaminasyona daha yatkın olmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Fakat bu sebepten küf kontaminasyonu ile aflatoksin oluşumunu ispat eden az sayıda çalışma bulunmaktadır. İnsan sağlığına etki edebilmesi için ortamda belirli miktarda bulunması gerektiğinden kesin olarak olumsuz etki yarattığını söylemek mümkün değildir.

Tüm bu sonuçlar ele alındığında Sürk peynirinin antibiyotik üretimi açısından tüketici için olumlu yönde etkileri olduğu sonucuna varılmıştır. Genel bir bakış açısıyla, çalışmada kullanılan görece az sayıdaki örneğin sağladığı veriler ışığında bakıldığında ticari olarak üretilenlerden ziyade ev yapımının etikili olabileceği fakat bu noktada ortam koşullarının dikkate alınarak genel hijyen kurallarına özen gösterilmesi gerektiği ortadadır.

KAYNAKLAR

1. Afshari, R., Pillidge, C. J., Dias, D. A., Osborn, A. M., & Gill, H. (2018). Cheesomics: the future pathway to understanding cheese flavour and quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–15. doi:10.1080/10408398.2018.15124
2. Aly, A. H., Debbab, A., & Proksch, P. (2011). Fifty years of drug discovery from fungi. *Fungal Diversity*, 50(1), 3–19. doi:10.1007/s13225-011-0116-y
3. Amanah, A., Kusmawan, D. and Sutisna, A. (2019). Aerial pathogenic micro fungi in medical classes on medical faculty. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series* 1360 (2019) 012023.
4. Andersen, B., Frisvad, J.C., Søndergaard, I., Rasmussen, I.S., Larsen, L.S., (2011). Associations between fungal species and water-damaged building materials. *Applied and Environmental Microbiology*. 77 (12): 4180–8.
5. Anderson, I.C., Cairney, J.W.G., (2004). Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environ. Microbiol.* 6, 769–779.
6. Asan, A. (2011). Checklist of Fusarium Species Reported from Turkey. *Mycotaxon*, 116, 479.
7. Asemaninejad, A., Weerasuriya, N., Gloor, G. B., Lindo, Z., & Thorn, R. G. (2016). New Primers for Discovering Fungal Diversity Using Nuclear Large Ribosomal DNA. *PLOS ONE*, 11(7), e0159043. doi:10.1371/journal.pone.0159043
8. Aydın, M. (2004). Candida cinsi mantarlar (Candida albicans). Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve diş hekimliğinde genel ve  zel Mikrobiyoloji. Konu 133. Sa:1109-1118. *G neş yayınevi*, Ankara.
9. Barrios, M. J., L. M., Medina, M. G., Cordoba, and R., Jordano, (1997), Aflatoxin producing strains of Aspergillus flavus isolated from cheese., *J. Food Protection*, 192-194
10. Berbee, M.L., Pirseyedi, M., Hubbard, S., 1999. Cochliobolus phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and

- glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia* 91, 964–977.
11. Biçer, Y., Telli, A. E., Sönmez, G., Turkal, G., Telli, N., & Uçar, G. (2021). Comparison of commercial and traditional kefir microbiota using metagenomic analysis. *International Journal of Dairy Technology*, 74(3), 528–534. doi:10.1111/1471-0307.12789
 12. Broome, M. C., Powell, I. B., & Limsowtin, G. K. Y. (2011). Cheese | Starter Cultures: Specific Properties. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 559–566. doi:10.1016/b978-0-12-374407-4.00067-4
 13. Brooth, C. (1971). The Genus *Fusarium*. *Commonwealth Mycological Institute*. England.
 14. Cakmakcı, S., Cetin, B., Gurses, M., Dagdemir, E., & Hayaloglu, A. A. (2012). Morphological, Molecular, and Mycotoxigenic Identification of Dominant Filamentous Fungi from Moldy Civil Cheese. *Journal of Food Protection*, 75(11), 2045–2049. doi:10.4315/0362-028x.jfp-12-107
 15. Campbell, C. K., Johnson, E. M., Warnock, D. W., Identification of Pathogenic Fungi. 2. Edition, *Wiley-Blackwell Ltd., Publication*, ISBN: 978-1-444-33070-0.
 16. Casquete, R., Benito, M. J., Córdoba, M. de G., Ruiz-Moyano, S., & Martín, A. (2017). The growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* strains on a cheese model system are influenced by physicochemical factors. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 6987–6996. doi:10.3168/jds.2017-12865 ü
 17. Cerit, Z.G., Baloglu, M.C., Yilmaz, R. (2021). Beyaz peynir mikrobiyotasında kültüromik ve shotgun metagenomik teknolojilerin değerlendirilmesi. *GIDA* (2021) 46(3) 566-582 doi: 10.15237/gida.GD20136
 18. Choi, Y. W., Na, N., Choi, J. S. and Park, J. (2019). Macroscopic and Microscopic Findings of *Pseudallescheria boydii*. *J Mycol Infect*, 24(2): 66-67
 19. Cole GT and Samson RA (1979) Patterns of development in conidial fungi. *Pitman*, London, UK
 20. Crous, P. W., Braun, U., Wingfield, M. J., Wood, A. R., Shin, H. D., Summerell, B. A., ... Groenewald, J. Z. (2009). Phylogeny and taxonomy of obscure genera

- of microfungi. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 22(1), 139–161. doi:10.3767/003158509x461701
21. Das, S. and Deb, B. (2015). DNA barcoding of fungi using Ribosomal ITS Marker for genetic diversity analysis: A Review. *Int. J. Pure App. Biosci.* 3 (3): 160-167
22. Delgado, J., Peromingo, B., Núñez, F., Asensio, M. A., (2016). Use of molds and their antifungal proteins for biocontrol of toxigenic molds on dry-ripened cheese and meats. *Current Opinion in Food Science*, 11 40–45.
23. Demirer M. A. (1974). Bazı peynirlerimizden izole ettiğimiz küfler ve bunların aflatoksin yeteneklerinin araştırılması. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, XXI (1-2) : 180-198.
24. Dijksterhuis, J., & Samson, R.A. (Eds.). (2007). *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420020984>
25. Dube, H. C., (2013). An introduction to fungi, 4th Edition, *Scientific Publishers*, Jodhpur, India.
26. Einax, E., Voigt, K., (2003). Oligonucleotide primers for the universal amplification of beta-tubulin genes facilitate phylogenetic analyses in the regnum Fungi. *Org. Divers. Evol.* 3, 185–194.
27. Ercolini, D. (2013). High-Throughput Sequencing and Metagenomics: Moving Forward in the Culture-Independent Analysis of Food Microbial Ecology. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(10), 3148–3155. doi:10.1128/aem.00256-13
28. Erkol, G., Çolakoğlu, G. T. (2018). Erzincan Tulum Peynirlerinden İzole Edilen Fungal Türler. *MANTAR DERGİSİ/The Journal of Fungus* 9(2)148-154.
29. Esen, Y. (2021). Sürk Mikrobiyotasının Belirlenmesi Ve Uygun Suşlar Kullanılarak Üretilen Sürklerin Olgunlaşma Periyodu Boyunca İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
30. Esen, Y., (2014). Sürk’ Te Bulunan Baskın Küf Mikroflorasının İzolasyonu Ve İdentifikasyonu, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

31. Esen, Y., Turgay, Ö. (2022). Sürk Peynirinden İzole Edilen Küflerin Pcr Yöntemiyle Tanımlanması. *GIDA* 47(1) 136-146. doi:10.15237/gida.GD21144
32. Etxebeste, O., Otamendi, A., Garzia, A., Espeso, E. A., & Cortese, M. S. (2019). Rewiring of transcriptional networks as a major event leading to the diversity of asexual multicellularity in fungi. *Critical Reviews in Microbiology*, 1–16. doi:10.1080/1040841x.2019.1630359
33. Fischer, R., & Kües, U. (2006). Asexual Sporulation in Mycelial Fungi. *The Mycota*, 263–292. doi:10.1007/3-540-28135-5_14
34. Fleming, A., (1929). On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol*. 10(3): 226–236.
35. Gardes, M., & Bruns, T. D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2(2), 113–118. doi:10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x
36. Gelen, US., Ceylan Z (2021). Isolation and identification of yeasts in white cheese. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 6(2), 100-105. <https://doi.org/10.31797/vetbio.907007>
37. Gillot G, Jany J-L, Coton M, Le Floch G, Debaets S, Ropars J, et al. (2015) Insights into *Penicillium roqueforti* Morphological and Genetic Diversity. *PLoS ONE* 10(6): e0129849. doi:10.1371/ journal.pone.0129849
38. Gloor, G. B., Macklaim, J. M., Pawlowsky-Glahn, V., & Egozcue, J. J. (2017). Microbiome Datasets Are Compositional: And This Is Not Optional. *Frontiers in Microbiology*, 8. doi:10.3389/fmicb.2017.02224
39. Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Inverse Polymerase Chain Reaction (PCR). *Cold Spring Harbor Protocols*. pdb.prot095166. doi:10.1101/pdb.prot095166
40. Guarro, J., Gené, J., & Stchigel, A. M. (1999). Developments in Fungal Taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(3), 454–500. doi:10.1128/cmr.12.3.454
41. Hameed, K. G. A. (2016). Fungal diversity in different types of cheese and the effect of natamycin on their survival during Feta cheese manufacture and storage. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 3(3): 214-220.

42. Hayaloglu, A.A., Kırbağ, S., (2007). Microbial quality and presence of moulds in Kuflu cheese, *Int. J. Food Microbiol.*,115: 376-380.
43. Hayaloğlu A.A., Özer B. (2021). Peynir Biliminin Temelleri. 2. Basım, *Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.*, Ankara
44. Hayaloğlu, A.A., Fox, P.F., (2008). Cheeses of Turkey: 3. Varieties containing herbs or spices. *Dairy Sci. Technol.* 88(2): 245-256.
45. Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321. doi:10.1098/rspb.2002.2218
46. Hegedüs, N., Marx, F., (2013). Antifungal proteins: More than antimicrobials?. *Fungal Biology Reviews*, 26 (4) 132–145.
47. Hibbett, D. S. and Taylor, J. W. (2013). Fungal systematics: is a new age of enlightenment at hand? *Nature Reviews | Microbiology*. Volume 11 .
48. Husain M. El-Fadaly, Sherif M. El-Kadi, Mohamed N. Hamad, Abdelhady A. Habib, (2015). Isolation and Identification of Egyptian Ras Cheese (Romy) Contaminating Fungi during Ripening Period, *Journal of Microbiology Research*, Vol. 5 No. 1, pp. 1-10. doi: 10.5923/j.microbiology.20150501.01.
49. James, T.Y., Kauff, F., Schoch, C.L., Matheny, P.B., Hofstetter, V., Cox, C.J., Celio, G., Gueidan, C., Fraker, E., Miadlikowska, J., Lumbsch, H.T., Rauhut, A., Reeb, V., Arnold, A.E., Amtoft, A., Stajich, J.E., Hosaka, K., Sung, G., Johnson, D., O'Rourke, B., Crockett, M., Binder, M., Curtis, J.M., Slot, J.C., Wang, Z., Wilson, A.W., Schussler, A., Longcore, J.E., O'Donnel, K., Mozley-Standridge, S., Porter, D., Letcher, P.M., Powell, M.J., Taylor, J.W., White, M.M., Griffith, G.W., Davies, D.R., Humber, R.A., Morton, J.B., Sugiyama, J., Rossman, A.Y., Rogers, J.D., Pfister, D.H., Hewitt, D., Hansen, K., Hambleton, S., Shoemaker, R.A., Kohlmeyer, J., Volkmann-Kohlmeyer, B., Spotts, R.A., Serdani, M., Crous, P.W., Hugues, K.W., Matsuura, K., Langer, E., Langer, G., Untereiner, W.A., Lucking, R., Budel, B., Geiser, D.M., Aptroot, A., Diederich, P., Schmitt, I., Schultz, M., Yahr, R., Hibbett, D.S., Lutzoni, F., McLaughlin, D.J., Spatafora, J., Vilgalys, R., (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* 443, 818–822.

50. Jany, J.-L., & Barbier, G. (2008). Culture-independent methods for identifying microbial communities in cheese. *Food Microbiology*, 25(7), 839–848. doi:10.1016/j.fm.2008.06.003
51. Kable, M. E., Srisengfa, Y., Laird, M., Zaragoza, J., McLeod, J., Heidenreich, J., & Marco, M. L. (2016). The Core and Seasonal Microbiota of Raw Bovine Milk in Tanker Trucks and the Impact of Transfer to a Milk Processing Facility. *mBio*, 7(4). doi:10.1128/mbio.00836-16
52. Karoll J., Emmanuel R., Flavio Q., Joseph M., Charalampos A., Tena K. (2008). Infections caused by *Scedosporium* spp. *Clin Microbiol Rev*, 21:157-197
53. Kaynar, P. (2011). Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 41(1):1-8. doi:10.5222/TMCD.2011.001
54. Keleş A., Aygun O., Ardic M. (2004). Hatay yöresinde taze olarak tüketime sunulan sürkün (çökelek) bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Veteriner Bilimleri Dergisi . Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 20(3), 59 - 62.
55. Kılıçoğlu, M. Ç., Özkoç İ. (2008). Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 23(1):65-72
56. Knight R., Vrbanac, A., Taylor, B. C., Aksenov, A., Callewaert, C., Debelius, J., Gonzalez, A., Kosciolek, T., McCall, L. I., McDonald, D., Melnik, A. V., Morton, J. T., Navas, J., Quinn, R.A., Sanders, J. G., Swafford, A. D., Thompson, L. R., Tripathi, Xu, Z. Z., Zaneveld, J. R., Zhu, Q., Caporaso J. G., Dorrestein, P. C. (2018). Best practices for analysing microbiomes, *Nat Rev Microbiol*, 16: 410–422, doi: 10.1038/s41579-018- 0029-9.
57. Kordalı, Ş. (1997). Erzincan İlinde Çeşitli Sebzelerden İzole Edilen *Fusarium* Türleri İle Bunların Kültürel Ve Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Entitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı. Yüksek lisans tezi.
58. Kolören, Z., Çil, E., Ayaz, E., Karaman, Ü. (2017). RFLP Yönteminin Parazitolojide Uygulama Alanları. *Ordu Üniv. Bil. Tek. Derg.*, 7(2): 215-225
59. Köse, Ş., Ocak, E. (2015). Geleneksel Sürk Peynirinde Bazı Karakteristik Özelliklerin Belirlenmesi. *Akademik Gıda*, 13(2), 135-139.
60. Larone, D. H. (1993). Medically Important Fungi A Guide To Identification. 2nd Edition. *American Society For Microbiology*, Washington, D.C.

61. Liu, J.-S., & Schardl, C. L. (1994). A conserved sequence in internal transcribed spacer 1 of plant nuclear rRNA genes. *Plant Molecular Biology*, 26(2), 775–778. doi:10.1007/bf00013763
62. Liu, B. R., Jia, G. M., Chen, J., and Wang, G. (2006). A Review of Methods for Studying Microbial Diversity in Soils. *Soil Science Society of China*. S(1): 18-24
63. Lopez-Canovas, L., Martinez Benitez, M. B., Herrera Isidron, J. A., & Soto, E. F. (2019). Pulsed Field Gel Electrophoresis: Past, present, and future. *Analytical Biochemistry*. doi:10.1016/j.ab.2019.02.020
64. Marc E. Savard, M. E., David Miller, J., Salleh, B., Strange, R. N. (1990). Chlamydosporoi, a new metabolite from *Fusarium chlamydosporum*. *Mycopathologia* 110: 177-181.
65. Marín, P., Palmero, D., & Jurado, M. (2014). Effect of solute and matric potential on growth rate of fungal species isolated from cheese. *International Dairy Journal*, 36(2), 89–94.
66. Medical Dictionary, “Cleistotheceum.” Merriam-Webster.com, *Merriam-Webster*, <https://www.merriam-webster.com/medical/cleistotheceum>. Accessed 14 Oct. 2023.
67. Metin B., Çebi N. (2022). Geleneksel Küflü Peynirlerden İzole Edilen Küfleri Fourier Dönüşümlü Spektroskopi (FTIR) Tekniği ile Tanımlama Metodunun Geliştirilmesi. Yıldız Teknik Üni. Kimya Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, *TÜBİTAK TOVAG Projesi*, Proje No: 119O304.
68. Moore-Landecker, E., (1996). *Fundamentals of the Fungi*, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. Sf 574.
69. O’Brien, H. E., Parrent, J. L., Jackson, J. A., Moncalvo, J.-M., & Vilgalys, R. (2005). Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5544–5550. doi:10.1128/aem.71.9.5544-5550.2005
70. Özkalp, B., Durak, Y. (1998). Konya ve Civarı Küflü Peynirlerinde Küf Florasının Araştırılması. *Tr. J. of Biology* 22 (1998) 341-346.
71. Park, S. Y., Jang, S. H., Oh, S. O., Kim, J. A., & Hur, J. S. (2014). An easy, rapid, and cost-effective method for DNA extraction from various lichen taxa

- and specimens suitable for analysis of fungal and algal strains. *Mycobiology*, 42(4), 311-316.
72. Parker, Nina; Schneegurt, Mark; Thi Tu, Anh-Hue; Forster, Brian M.; and Lister, Philip, (2016). OpenStax; "Microbiology" *Open Educational Resources Collection*. 3. Available at: <https://irl.umsl.edu/oer/3>
 73. Pekel, M., ve Korukluoğlu, M. (2009). Sivas küp peynirinin mikrobiyolojik özellikleri ve küf florasının belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilim. Derg.*, 24(1):1-7
 74. Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). The ecology of fungal food spoilage. In *Fungi and food spoilage*. Springer, Boston, MA.
 75. Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of Natural Products*, 80(3), 756–770. doi:10.1021/acs.jnatprod.6b01085
 76. Ramsperger, M., Duan, S., Sorrell, T. C., Meyer, W., & Chen, S. C.-A. (2014). The Genus *Scedosporium* and *Pseudallescheria*: Current Challenges in Laboratory Diagnosis. *Current Clinical Microbiology Reports*, 1(1-2), 27–36. doi:10.1007/s40588-014-0001-z
 77. Raper, K. B., Fennell, D. I. (1965). The Genus *Aspergillus*. *The Williams & Wilkins Company*. Baltimore/USA.
 78. Raper, K.B., Thom, C. and Fennel, D. I. (1949) A Manual of the *Penicillia*. *The Williams & Wilkins Company*, Baltimore.
 79. Ratnasingham, S., Hebert, P. D. N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7(3):355-364 DOI:10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x
 80. Refai, M., El-Yazid, H. A., Tawakkol, W., (2015). Monograph On The genus *Penicillium* A guide for historical, classification and identification of penicilli, their industrial applications and detrimental effects. Cairo University
 81. Reynolds, D.R., Taylor, J.W., (1992). The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics. Cab International. *Newport Oregon*. 375 pp
 82. Sachin N., Manjunatha B.L., Kumara P.M., Ravikanth G., Shweta S., Suryanarayananant.S., Ganeshaiahk.N., Shaanker R.U. (2013). Do endophytic

- fungi possess pathway genes for plant secondary metabolites?, *Current Science*, Vol. 104, No. 2
83. Sachivkina, N., Podoprigora, I. and Bokov, D. (2021). Morphological characteristics of *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, and *Candida glabrata* biofilms, and response to farnesol. *Veterinary World*, 14(6): 1608-1614.
 84. Sağdıç, O., Özçelik, S., Şimşek, B., Özdemir, C. (2008). Geleneksel Yöntemle Üretilen Küflü Peynirlerin Mikrobiyolojik Nitelikleri ve Küf Florası. Türkiye 10. *Gıda Kongresi*. Erzurum.
 85. Samanta, I. (2015). General Characteristics of Fungi. *Veterinary Mycology*, 3–8. doi:10.1007/978-81-322-2280-4_2
 86. Samaranayake, Y. H., and Samaranayake, L. P. (1994). *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. *J. Med. Microbiol.* - Vol. 41, 295-310.
 87. Samson, R. A. (2011). Ecology and general characteristics of indoor fungi. *Fundamentals of Mold Growth in Indoor Environments and Strategies for Healthy Living*, 101–116. doi:10.3920/978-90-8686-722-6_5
 88. Santi, M. D., M., Sisti, E., Barbieri, G., Piccoli, G., Brandi, and V., Stocchi, (2010), A combined morphologic and molecular approach for characterizing fungal microflora from a traditional Italian cheese (Fossa cheese)., *Inter. Dairy J.*, 465-471.
 89. Sargeant, K., Sheridan, A., O’Kelley, J., and Carnaghan, R. B. A. (1961). Toxicity associated with certain samples of groundnut. *Nature* 192:1096- 1097.
 90. Sawant, Amol M., Vishwambar D. Navale, and Koteswara Rao Vamkudoth. (2023). "Isolation and Molecular Characterization of Indigenous *Penicillium chrysogenum/rubens* Strain Portfolio for Penicillin V Production" *Microorganisms* 11, no. 5: 1132. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051132>
 91. Seena, S., Pascoal, C., Marvanová, L., & Cássio, F. (2010). DNA barcoding of fungi: a case study using ITS sequences for identifying aquatic hyphomycete species. *Fungal Diversity*, 44(1), 77–87. doi:10.1007/s13225-010-0056-y

92. Seena, S., Pascoal, C., Marvanová, L., & Cássio, F. (2010). DNA barcoding of fungi: a case study using ITS sequences for identifying aquatic hyphomycete species. *Fungal Diversity*, 44(1), 77–87. doi:10.1007/s13225-010-0056-y
93. Sert, S., (1992). Bazı Peynir Çeşitlerinde Küf Florası ve Aflatoksin İçerikleri ile Aflatoksin Potansiyellerinin Araştırılması: I. Küf Florası, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2).
94. Siddiquee, S., Yusuf, U. K., Zainudin, N. A. I. M. (2010). Morphological and molecular detection of *Fusarium chlamydosporum* from root endophytes of *Dendrobium crumenatum*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(26), pp. 4081-4090.
95. Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A., (1991). Identification of *Rhizoctonia* species, APS PRESS The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, USA. Sf 133.
96. Stajich, J. E., Berbee, M. L., Blackwell, M., Hibbett, D. S., James, T. Y., Spatafora, J. W., & Taylor, J. W. (2009). The Fungi. *Current Biology*, 19(18), R840–R845. doi:10.1016/j.cub.2009.07.004
97. Stat, M., Baker, A. C., Bourne, D. G., Correa, A. M. S., Forsman, Z., Huggett, M. J., ... Gates, R. D. (2012). Molecular Delineation of Species in the Coral Holobiont. *Advances in Marine Biology* Volume 63, 1–65. doi:10.1016/b978-0-12-394282-1.00001-6
98. Stellato, G., De Filippis, F., La Stora, A., & Ercolini, D. (2015). Coexistence of Lactic Acid Bacteria and Potential Spoilage Microbiota in a Dairy Processing Environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(22), 7893–7904. doi:10.1128/aem.02294-15
99. TOGAY, S. O., CAPECE, A., SIESTO, G., AKSU, H., ALTUNATMAZ, S. S., AKSU, F. Y., ROMANO, P., YUCEER, Y. K. (2020). Molecular characterization of yeasts isolated from traditional Turkish cheeses. *Food Sci. Technol, Campinas*, 40(4): 871-876.
100. Togay, S.O., Capece, A., Siesto, G., Aksu, H., Altunatmaz, S.S., Aksu, F., Romano, P., Yuceer, Y.K. (2020). Molecular characterization of yeasts isolated from traditional Turkish cheeses. *Food Sci. Technol*, doi: 10.1590/fst.24319.

101. Ünsal, A., (1997). Süt Uyuyunca - Türkiye Peynirleri. 10. Basım, *Yapı Kredi Yayınları*, İstanbul.
102. Wengenack, N. L., & Binnicker, M. J. (2009). Fungal Molecular Diagnostics. *Clinics in Chest Medicine*, 30(2), 391–408. doi:10.1016/j.ccm.2009.02.014
103. Xu, J. (2006). Fundamentals of fungal molecular population genetic analyses. *Current issues in molecular biology*, 8(2), 75-90.
104. Yalman M., Özdikmenli Tepeli S., Zorba Demirel N. (2016). Türkiye'de Geleneksel Yöntemlerle Üretilen Peynirlerin Küf Florası. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*, 4(11), 926 - 933.
105. Yeluri Jonnala, B. R., McSweeney, P. L. H., Sheehan, J. J., & Cotter, P. D. (2018). Sequencing of the Cheese Microbiome and Its Relevance to Industry. *Frontiers in Microbiology*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.01020
106. Yerlikaya, O. (2018). Ege ve Marmara Bölgesi'nde üretilen ve tüketime sunulan beyaz peynirlerin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin incelenmesi üzerine bir araştırma. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 2018, 55 (4):499-505. DOI: 10.20289/zfdergi.412173
107. Yurdakul, Ö., Keyvan, E., Ersoy, T. (2016). Burdur Halk Pazarlarından Toplanan Beyaz Peynirlerde Patojen *Candida* spp. *Varlığının Belirlenmesi. Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 27 (2): 88-92
108. <https://www.novogene.com/eu-en/services/research-services/metagenome-sequencing/16s-18s-its-amplicon-metagenomic-sequencing>