

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI
TUBER P. Micheli ex F.H. Wigg. TÜRLERİ ÜZERİNDE
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR

DOKTORA TEZİ

MEHRİCAN YARATANAKUL GÜNGÖR

AĞUSTOS 2018

MUĞLA

T.C.

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI
TUBER P. Micheli ex F.H. Wigg. TÜRLERİ ÜZERİNDE
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR

DOKTORA TEZİ

MEHRİCAN YARATANAKUL GÜNGÖR

AĞUSTOS 2018

MUĞLA

MUGLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

MEHRİCAN YARATANAKUL GÜNGÖR tarafından hazırlanan **TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI TUBER P. Micheli Ex F.H. Wigg. TÜRLERİ ÜZERİNDE MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR** başlıklı tezinin, 02/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN (**Jüri Başkanı**)

Biyoloji Bölümü,

Selçuk Üniversitesi, Konya

Prof. Dr. M. Güven GÖRK (**Danışman**)

Biyoloji Bölümü,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Doç Dr. Bekir ÇÖL (**Üye**)

Biyoloji Bölümü,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Doç. Dr. Hakan ALLI (**Üye**)

Biyoloji Bölümü,

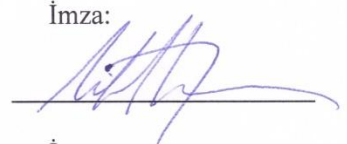
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Doç. Dr. Kamuran AKTAŞ (**Üye**)

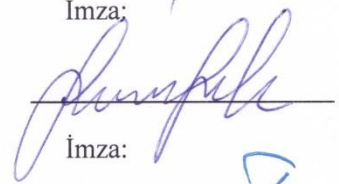
Biyoloji Bölümü,

Celal Bayar Üniversitesi, Manisa

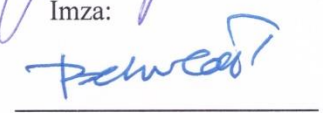
İmza:



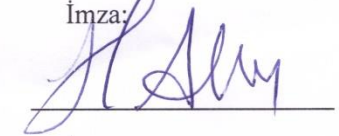
İmza:



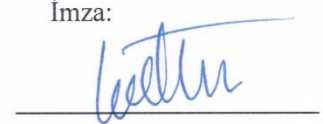
İmza:



İmza:



İmza:



ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Hasan Sungur CİVELEK

Biyoloji Bölümü Başkanı,

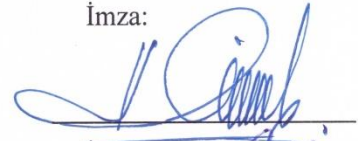
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Prof. Dr. M. Güven GÖRK

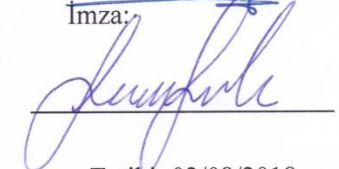
Danışman, Biyoloji Bölümü,

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



İmza:

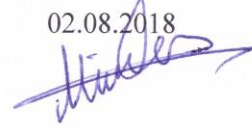


Savunma Tarihi: 02/08/2018

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Mehrican YARATANAKUL GÜNGÖR

02.08.2018



ÖZET

TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI *TUBER* P. Micheli ex F.H. Wigg. TÜRLERİ ÜZERİNDE MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR

Mehrican YARATANAKUL GÜNGÖR

Doktora Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Güven GÖRK

Ağustos 2018, 111 Sayfa

Bu çalışma kapsamında 2012-2014 yılları arasında Türkiye genelinde yapılan arazi çalışmalarında onsekiz il, yirmi dokuz lokaliteden elli *Tuber* örneği elde edilmiştir. 2014-2016 yılları arasında gerçekleştirilen morfolojik ve moleküler laboratuvar çalışmalar sonucunda dokuz tür tespit edilmiştir. Bunlar; *Tuber aestivum* (Wulfen) Spreng., *T. borchii* Vittad. *T. brumale* Vittad. *T. excavatum* Vittad. *T. ferrugineum* Vittad. *T. mesentericum* Vittad. *T. nitidum* Vittad. *T. puberulum* Berk. & Broome ve *T. rufum* Pollini’dir.

Örneklerin rDNA ITS bölgesi dizi analizleri yapılmış ve elde edilen veriler ile filogenetik soy ağaçları oluşturulmuştur. Türkiye *Tuber* örnekleri Avrupa örnekleriyle yüksek benzerlik göstermiş ve Aestivum, Brumale, Rufum, Excavatum ve Puberulum olmak üzere güçlü desteklenen beş klada ayrılmıştır. Rufum grubu türlerinin ayrımında kullanılan morfolojik karakterler, moleküler veriler ışığında tekrar değerlendirilmiş, diğer türlerin morfolojik tanımlamalarının doğruluğu moleküler verilerle desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Tuber*, ITS, Filogenetik Analiz, Türkiye

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR STUDIES ON SOME *TUBER P. Micheli* ex F.H. Wigg. SPECIES DISTRUBUTED IN TURKEY

Mehrican YARATANAKUL GÜNGÖR

Doctoral of Science (Phd.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Güven GÖRK

August 2018, 111 Page

In this study, between the years 2012-2014 at field studies that carried out in eighteen provinces across Turkey, fifty *Tuber* specimens were collected from twenty-nine localities. Nine species were identified as a result of morphological and molecular laboratory studies carried out between the years 2014-2016. These are; *Tuber aestivum* (Wulfen) Spreng., *T. borchii* Vittad. *T. brumale* Vittad. *T. excavatum* Vittad. *T. ferrugineum* Vittad., *T. mesentericum* Vittad. *T. nitidum* Vittad. *T. puberulum* Berk. & Broome and *T. rufum* Pollini.

rDNA ITS region sequence analysis of the samples was performed and phylogenetic trees were formed with the obtained data. Turkey *Tuber* specimens showed high similarity with the European specimens and divided into five clade including Aestivum, Brumale, Rufum, Excavatum and Puberulum. The morphological characters used to distinguish the species of Rufum group were re-evaluated in the light of the molecular data, and the correctness of the morphological identifications of the other species was supported by the molecular data.

Key words: *Tuber*, ITS, Phylogenetic Analysis, Turkey

ÖNSÖZ

“Türkiye’de Yayılış Gösteren Bazı *Tuber P. Micheli* Ex F.H. Wigg. Türleri Üzerinde Morfolojik ve Moleküler Çalışmalar” isimli Doktora tez çalışması sırasında maddi ve manevi her türlü destek ile göstermiş olduğu kolaylıklar ve bilimsel düşünmenin temellerini öğrettiği için danışman hocam Prof. Dr. Güven GÖRK’e derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tezimin değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı hocalarım Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN’a, Doç. Dr. Bekir ÇÖL’e, Doç. Dr. Hakan ALLI’ya ve Doç. Dr. Kamuran AKTAŞ’a teşekkürlerimi sunarım. Arazi çalışmalarında ve örnek temin etmemde yardımcı olan Cansu KORKMAZ ve Şerife ÇAKA’ya, Trüf Uygulama ve Araştırma Merkezine topladıkları trüf örneklerini inceleme amacıyla gönderen herkese teşekkür ederim. Manevi desteğini hep yanımda hissettiğim Babam Hüseyin YARATANAKUL’a, Annem Hatice YARATANAKUL’a, Ağabeylerim Süleyman YARATANAKUL’a, Selami YARATANAKUL’a, sevgili Ablam Meryem ARSLAN’a, Eşim Halil GÜNGÖR’e ve tüm aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam.....	2
1.2. Trüfler Hakkında Genel Bilgi.....	2
1.3. Kaynak Özetleri.....	6
1.4. Moleküler Araştırmalar	10
1.5. Türkiye'nin İklim Özellikleri	19
1.5.1. Yağış	19
1.5.2. Sıcaklık	20
1.5.3. Bitki örtüsü	21
1.5.4. Toprak yapısı	22
2. MALZEME VE YÖNTEM.....	24
2.1. Arazi Çalışmaları.....	24
2.2. Laboratuvar Çalışmaları	25
2.3. Morfolojik Çalışmalar	25
2.4. Moleküler Çalışmalar	28
2.4.1. Genomik DNA izolasyonu.....	28
2.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) deneyleri.....	30
2.4.3. Agaroz jel elektroforezi	31
2.4.4. Dizi analizi ve BLAST	32
2.4.5. Filogenetik analiz.....	33
3. BULGULAR VE İRDELEME.....	36
3.1. Morfolojik Bulgular	36
3.1.1. <i>Tuber</i> türlerine ait isimlendirme anahtarı	38
3.2. <i>Tuber</i> Cinsinin Sistematığı.....	38
3.2.1. <i>Tuber aestivum</i> (Wulfen) Spreng.....	39
3.2.2. <i>Tuber mesentericum</i> Vittad.....	43
3.2.3. <i>Tuber brumale</i> Vittad.....	45
3.2.4. <i>Tuber borchii</i> Vittad.	47

3.2.5. <i>Tuber puberulum</i> Berk. & Broome	49
3.2.6. <i>Tuber excavatum</i> Vittad.....	52
3.2.7. <i>Tuber rufum</i> Pollini.....	54
3.2.8. <i>Tuber ferrugineum</i> Vittad.	56
3.2.9. <i>Tuber nitidum</i> Vittad.....	58
3.3. Filogenetik Analizler	61
4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	76
KAYNAKLAR	86
EKLER.....	101
EK A. Tez çalışması kapsamında incelenen örneklerle ait ITS bölgesi dizileri....	101
ÖZGEÇMİŞ.....	109

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. gDNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar	29
Tablo 2.2. PZR deneylerinde kullanılan kimyasallar	30
Tablo 2.3. Tüm örnekler için yürütülen PZR koşulları	31
Tablo 2.4. Genbank dizilerine ait erişim numaraları ve bölge bilgileri	34
Tablo 3.1. Örneklere ait lokalite, koordinat ve yükselti bilgileri	37
Tablo 3.2. ITS dizileri elde edilen örneklere ait bilgiler	61



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Tüm dünyada trüf yetişen ülkeler	6
Şekil 1.2. ITS bölgesinin yapısı	13
Şekil 1.3. Yıllık toplam alansal yağış normalleri haritası	20
Şekil 1.4. Türkiye ortalama sıcaklık dağılımı haritası	21
Şekil 2.1. Askokarp tipleri <i>T. aestivum</i> , <i>T. puberulum</i> , <i>T. excavatum</i> , <i>T. mesentericum</i>	25
Şekil 2.2. Askokarp kesitinin 1) makroskobik ve 2) mikroskobik görünümü	26
Şekil 2.3. Peridyum kesiti morfolojisi a) Psödoparankimatik b) Prozenkimatik.....	27
Şekil 2.4. <i>Tuber</i> örneklerine ait PZR sonrası agaroz jel fotoğrafı	32
Şekil 3.1. <i>Tuber</i> türlerinin Türkiye’deki dağılımı	36
Şekil 3.2. <i>Tuber aestivum</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c-e. Askus, d-f. Askospor.....	42
Şekil 3.3. <i>Tuber mesentericum</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor...	44
Şekil 3.4. <i>Tuber brumale</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor.....	46
Şekil 3.5. <i>Tuber borchii</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor	49
Şekil 3.6. <i>Tuber puberulum</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor.....	51
Şekil 3.7. <i>Tuber excavatum</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor.....	53
Şekil 3.8. <i>Tuber rufum</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor	56
Şekil 3.9. <i>Tuber ferrugineum</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor	58
Şekil 3.10. <i>Tuber nitidum</i> . a. Askokarp, b. Peridyum, c-d. Askus, e. Askospor.....	60
Şekil 3.11. <i>Tuber aestivum</i> türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı	63
Şekil 3.12. <i>Tuber brumale</i> türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı	64
Şekil 3.13. <i>Tuber excavatum</i> türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı.....	66
Şekil 3.14. <i>Tuber puberulum</i> türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı	68
Şekil 3.15. <i>Tuber borchii</i> türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı	69
Şekil 3.16. <i>Rufum</i> grubu türlerinin neighbor joining filogenetik soy ağacı	71
Şekil 3.17. Türkiye’de yayılış gösteren <i>Tuber</i> türlerinin neighbor joining filogenetik soy ağacı.....	73
Şekil 3.18. Türkiye’de yayılış gösteren <i>Tuber</i> türlerinin bootstrap filogenetik soy ağacı	74

1. GİRİŞ

Mantarlar 1969 yılında Whittaker tarafından önerilen ve günümüzde de geçerliliğini koruyan beşli sistemde ayrı bir âlem (Regnum: Myceteae) olduğu belirtilmiştir (Alexopoulos vd., 1996). Mantarlar günümüze kadar yaklaşık 8000 cins ve 125.000 tanımlanmış tür ile ayrı bir alemde toplanmış olup bu türlerden 18.000 tanesi makrofungustur (Allı vd., 2007). Makrofunguslar, genelde Myceteae âleminin iki büyük grubu olan Basidiomycetes ve Ascomycetes sınıfları altında yer almaktadır. Genel olarak saprob (ölü organik maddeler üzerinde), parazit (canlı organizmalar üzerinde) ya da mikorizal (bitkiler ile ortak) olarak yaşayan organizmalardır. Yaşam biçimleri ile ekolojik açıdan önemli role sahip olan bu canlılar lezzetleri ve besinsel değerlerinin yüksek olması sayesinde, insanoğlu var olduğu günden beri dikkatleri üzerine çekmeyi başarmıştır. Mantarlar bol miktarda protein içermeleri, düşük yağ oranları, fibrilli yapıları, vitamin ve mineral içeriklerinin oldukça yüksek olması sebebiyle, iyi bir diyet ve sağlıklı bir besin kaynağıdır. Ayrıca içerdikleri kimyasal bileşenleri (antibiyotikler, mikotoksinler vb.) bazı mantarları tıbbi açıdan faydalı hale getirirken bazı türleri ise insan hayatı açısından ölümcül ve bitkiler için hastalık etmeni kılmaktadır. Diğer yandan mantarlardan bira yapımında, fırıncılıkta (mayalanma işlemi) ve endüstriyel açıdan benzeri alanlarda faydalanılmaktadır. (Falandysz ve Borovička, 2013).

Mantarlar yaşadıkları ortam itibarıyla toprak üstü (Epigeous) ve toprak altı (Hypogeous) olmak üzere ikiye ayrılırlar. Toprak üstü mantarların spor taşıyan kısımları (himenyum) havayla temas edecek şekilde açıkta bulunurken, toprak altı mantarların spor üreten kısımları (gleba) iç taraftadır ve etrafı peridyum ile çevrilidir. Bu nedenle sporlar, toprakaltı fruktifikasyon organlarının zamanla çürüyerek toprağa karışması, herhangi bir sebeple parçalanması veya bu mantarlarla beslenen hayvanların dışkıları aracılığıyla yayılabilmektedir (Percudani vd., 1999).

1.1. Amaç ve Kapsam

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de doğal olarak yetişen bazı *Tuber* cinsine ait toprakaltı mantar türlerinin morfolojik karakterler ve moleküler teknikler kullanarak isimlendirmelerini yapmak ve filogenetik ilişkilerini tespit etmektir. Çalışma kapsamında, *Tuber* cinsine ait bazı türler morfolojik karakterler kullanılarak teşhis edilmiş, rDNA ITS dizileri çoğaltılmış ve bu dizilere göre moleküler düzeyde identifikasyon yapılmıştır. ITS dizileri kullanılarak filogenetik soy ağaçları oluşturulmuştur.

1.2. Trüfler Hakkında Genel Bilgi

Trüfler, fruktifikasyon organları toprak altında gelişen, yumru şeklinde patatese benzeyen, bitkilerle simbiyotik ilişki içinde yaşayan mantarlardır. Trüf mantarı toprak üstünde fruktifikasyon veren mantarların aksine bütün gelişim safhalarını yeraltında tamamlar. Trüf mantarlarının sporları yeraltında olgunlaşmaya başlayınca topraktan çevreye bir koku yaymaya başlar. Yayılan koku mantarın olgunlaşmasıyla doğru orantılı olarak artar ve bu koku sayesinde hayvanları kendisine çeker. Ormanda özellikle nokturnal (geceleri aktif) olan bazı kemirgen hayvanların besin kaynakları sadece trüflerdir. Trüf sporları hayvanların dışkıları yoluyla geniş alanlara yayılır. Çevreye yayılan sporlar çimlenerek yeniden trüf kolonilerini oluşturur (Maser vd. 2008).

Trüfler genel olarak mantarlar âleminin iki büyük şubesi olan Basidiomycota ve Ascomycota şubelerine aittir. *Alpova*, *Melanogaster*, *Rhizopogon* gibi toprakaltı mantar cinsleri Basidiomycota şubesine, *Choiromyces*, *Terfezia*, *Tuber* cinsleri de Ascomycota şubesine aittir. Ancak ekonomik açıdan değerli olan ve trüf denince ilk akla gelen, Ascomycetes sınıfı, Tuberales ordosu ve *Tuber* cinsine ait türlerdir. Bu cins içerisinde 319 tür bulunmaktadır (Index Fungorum, 2018). Toplanması ve tüketimi çok eski tarihlere dayanan trüf türleri, genellikle sıcak iklimin hakim olduğu İtalya, İspanya, Portekiz ile Almanya’nın güneyi, Rusya’nın Avrupa da kalan bölgesinde, Kuzey Afrika ve Kaliforniya’da doğal olarak yetişmektedir (Alsheikh ve Trappe, 1983; Castellano vd.,2004; Wedén vd., 2009). *Tuber* türleri Fransa’da

Truffe, İtalya'da Tartufi, İspanya'da Trufa, İngiltere'de Trüf, Almanya'da Trüffel, İsveçte'de Tryffel olarak isimlendirilirler.

Türkiye'de toprak altından çıkarılan mantarların tamamı farklı bölgelerde farklı isimlerle adlandırılrsa da genel olarak dolaman veya keme mantarı olarak bilinmektedir. Avrupa'da, trüf mantarı denilince genellikle yeraltı mantarlarından sadece ekonomik değeri yüksek olan *Tuber* türleri kastedilir. Trüf mantarları, aroması ve besleyici özelliklerinden dolayı binlerce yıldır insanların tercih ettiği fonksiyonel bir besindir. Avrupa ülkelerinde trüf türleri çok yüksek fiyatlarda alıcı bulmakta, kokuları ve aromaları sebebiyle yemeklerde kullanılmaktadır (Hall vd. 2007).

Trüf mantarlarının besin değerleri diğer mantarlara göre daha zengindir. Trüfler %53-76 oranında su, %9 oranında protein, %7 oranında karbonhidrat ve %8 oranında mineral içermektedir. Trüfleri diğer mantarlardan ayıran aromayı veren anahtar bileşenler 2-metilpropanol, 3-metilbutanol ve dimetilsülfittir (Diaz vd. 2003). Ayrıca çeşitli *Tuber* türlerinin besin değerlerinin, özellikle bu mantarları değerli kılan aromalarının belirlenmesi amacıyla ülkemizde ve dünyada çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda mantarın sahip olduğu yağ asidi, fenolik ve uçucu bileşenleri, aminoasit ve şeker profilleri ortaya çıkarılmıştır (Bellina-Agostinone vd., 1987; Harki vd., 1997; Buzzini vd., 2005; Culleré vd., 2010; Liu vd., 2012; Kıvrak vd., 2014).

Trüf mantarları orman ekosistemlerinin devamı için hayati öneme sahip olmasının yanında yabani hayvanlar için de iyi bir besin kaynağıdır. Bazı yabani hayvanların sadece trüf mantarı yiyerek yaşamlarını sürdürdükleri bilinmektedir. Nokturnal kemirgen hayvanlar da D vitamini ihtiyaçlarını trüf türlerinden karşılamaktadır. Sadece trüf tüketen canlıların soylarının devam ettirilebilmesi için besin kaynakları olan trüf türlerinin korunması gerekmektedir. Trüflerle beslenen hayvanların trüf sporlarının yayılması ve bitkilerle mikoriza kurmasında aracı olmasının yanısıra orman ekosistemlerinin uzun vadeli verimlilikleri üzerine de katkıları bulunmaktadır (Maser vd. 2008).

Tuber türleri bazı ağaç ve çalıların kökleri ile mikoriza oluşturur ve simbiyotik (ortak) bir yaşam sürdürerek orman ekosistemine katkı sağlarlar. Doğal olarak çeşitli habitatlarda yetişmektedirler. *Tuber* türleri, *Populus*, *Ostrya*, *Salix*, *Cistus*, *Fagus*,

Quercus, *Corylus*, *Tilia*, *Carpinus*, *Castanea* ve *Pinus* türleri ile ektomikoriza yapmaktadır.

Mikoriza terimi Yunanca'da kelime olarak mantar ve kök anlamına gelen 'mykes ve rhiza' (Palta vd. 2010) kelimelerinden türetilmiş ve ilk olarak Albert Bernhard Frank (1885) isimli bir Alman orman patoloğu tarafından mantar-ağaç ortaklığını tanımlamada kullanılmıştır. Yeryüzündeki bitki türlerinin %95'inin karakteristik olarak mikoriza oluşturdıkları tahmin edilmektedir (Daniels, 1981; Bagyaraj, 1991; Ortas, 1997 ve Ortas vd. 1999). Dört yüz milyon yıl öncesine ait fosillerde dahi mikorizal yaşam tespit edilmiş ve günümüzde de dikkat çeken bu yaşam tarzı, eski çağlardan beri bitki-mantar arasında devam etmiştir (Dura, 2010). Simbiyotik yaşam gereği bitki mikorizaya enerji kaynağı olarak karbonhidrat sağlarken karşılığında mantar da bitkinin gereksinim duyduğu mineral ve su alımını sağlamaktadır (Ortas, 1996; Smith ve Read, 1997). Konukçu bitki ile mantar arasındaki bu simbiyotik ilişki ekosistemdeki besin döngüsünün ve bitki topluluklarının canlılığının devamını sağlamaktadır (Jeffries ve Dodd, 1991; Ortas, 1997). Çeşitli mikoriza tipleri bulunmakla beraber ektomikoriza, birliktelikler içerisinde en çeşitli olandır. Bu birliktelikte bazidyomiset, askomiset ve birkaç zigomiset dâhil yaklaşık 6000 mantar türü, Pinaceae, Cupressaceae, Fagaceae, Betulaceae, Salicaceae, Dipterocarpaceae ve Myrtaceae'leri içine alan ektomikorizal çalı ve ağaçların kökleri ile birlikte yaşamaktadır. Bu sınırlı sayıdaki ağaç grubu, ılıman kuşak ağaçlarının önemli bir kısmını oluşturduğu için ektomikorizal simbiyoz ekonomik açıdan da önemlidir (Malloch vd. 1980, Read, 1991).

Bitkiyle simbiyotik ilişkide ektomikorizal fungus bitkinin kök ucunu kın şeklinde sarar. Sonrasında mikorizanın hifleri hücre duvarlarını delerek geçer ve korteksteki hücreler arası boşlukları doldurur. Hartig net adı verilen bu ağ sayesinde besin bitki ve mantar hücreleri arasında besin ve mineral madde alış veriş sağlanmaktadır. Mikoriza oluşturmayan çıplak köklere göre mikorizal kökler topraktan çok daha fazla su ve bitkilerce alınımı yavaş olan başta P olmak üzere N, K, Zn, Cu, Mn, Fe ve Ca'un alımında önemli rol oynamaktadır. (Hall ve Yun, 2002; Pekşen ve Kibar, 2007). Ayrıca ektomikorizal mantarlar konakçı bitkileri parazitler, predatörler, nematodlar ve diğer toprak patojenlerinden korur. (Malloch vd. 1980 Jeffries ve Dodd, 1991).

Trüf türleri arasında ekonomik değeri çok yüksek olanlar *Tuber melanosporum* Vittad., *Tuber magnatum* Picco ve *Tuber aestivum* (Wulfen) Spreng'dir. *T.*

melanosporum ve *T. magnatum* türleri *Tuber aestivum*'a göre çok sınırlı bir coğrafik alanda yetişmekte ve askokarpları genellikle homozigot olduğu için çok sınırlı bir genetik çeşitlilik göstermektedir. *T. melanosporum* doğal olarak İspanya, Fransa ve İtalya'da yetişmektedir. *Tuber magnatum* yalnızca İtalya'da ve Balkan yarımadasında doğal olarak yetişmektedir. *Tuber aestivum* ise bütün Avrupa kıtasında, Portekiz'den doğu Avrupa ülkelerine, İsveç'ten Türkiye ve Afrikaya kadar geniş bir coğrafyada bulunabilmektedir (Castellano vd.,2004; Jeandroz vd., 2008). Trüf sporları ile aşılaman fidanlar kullanılarak yapay trüf bahçelerinin kurulması doğal yayılım gösterdiği ülkeler başta olmak üzere birçok ülkede etkin şekilde gerçekleştirilmektedir. Ekonomik değerinden dolayı başta Fransa, İtalya, İspanya ve İsveç gibi birçok ülkede trüf türleri üzerinde sistematik, genetik, moleküler ve kültivasyon çalışmaları yoğun olarak yapılmaktadır. Günümüzde trüflerin üretimi çeşitli bitkilerin köklerine aşılama yapılarak ve uygun koşullarda trüf aşılı fidanların dikilip büyütülmesiyle yapılmaktadır. Ülkemizde trüf türleri doğal olarak yetişmesine ve önemli zenginlik kaynaklarımız arasında yer almasına rağmen yeterince tanınmadığından faydalanma olanağı oldukça sınırlıdır. Dolayısıyla Türkiye'de bu mantarların üretimi, toplanması ve ekonomiye katkısı sahip olduğu potansiyelin oldukça altındadır.

Yunanistan, Romanya, Türkiye ve Macaristan'da toplam 350 hektarlık bir alanda trüfler doğal olarak yetişmekte ve bu alanın 150 hektarlık kısmı Yunanistan'da bulunmaktadır. Avustralya 600 hektarlık üretim sahasında yılda yaklaşık 20 ton trüf üretmektedir. Yeni Zelanda da 1987 yılında kurulan 5 fidanlıktaki 400 kilo trüf üretilirken, Güney Afrika'da 2014'te kurulan 5 fidanlıktan 15 kilo *T. melanosporum* elde edilmektedir. İngiltere de yazlık trüf olan *T. aestivum* yetiştiriciliği yapılmaktadır. İsveç ve Finlandiya'da İngiltere'de olduğu gibi *T. aestivum* yetiştiriciliği yapılmakta ve pazarı da gittikçe büyümektedir. Fransa'da 2000 hektarlık alanda 15 ila 80 ton *T. melanosporum* toplanmaktadır. İtalya'da ise 6000 hektarlık alandan elde edilen ürünün %80'i *T. melanosporum*, %15'i *T. aestivum* kalan %5'i ise *T. magnatum*'dur. İspanya, Fas, Arjantin, Şili, Meksika ve Amerika'da *T. melanosporum* üretimi yapılmaktadır. İsrail de doğal trüf yetişmemekle birlikte 2010 yılında kurulan bahçelerden henüz ürün alınamamıştır. Çin de her yıl 800 ton *T. indicum* Cooke ve Massee ihraç edilmektedir (Morcillo, 2018). Akdeniz ikliminin görüldüğü ülkelerde 1 hektarlık bir trüf bahçesi minimum 3.yılda 10 kg, 4. yıl da 20 kg, 5.yılda 40 kg ürün vermektedir. 5. yıldan itibaren

maksimum verime ulaşarak üretim devam etmektedir (Hall vd., 2003). 11 ila 14 yaşlarındaki 1 hektarlık bir trüf bahçesinden 150 kg trüf toplandığı da bildirilmiştir (Chevalier, 1998) (şekil 1.1.).



şekil 1.1. Tüm dünyada trüf yetişen ölkeler

1.3. Kaynak Özetleri

Ölkemizde bugüne kadar makrofunguslar üzerine birçok çalışma yapılmış olup, bu çalışmalar son yıllarda önemli bir ivme kazanarak artmaya devam etmektedir. Ölkemiz makromikotası ile ilgili ilk çalışma Rigler tarafından 1852 yılında yapılmış ve günümüze kadar yapılan çalışmalarda yaklaşık 2400 makrofungus türü tespit edilmiş olup bunlar kontrol listesi olarak yayınlanmıştır (Solak vd. 2007; Sesli ve Denchev 2008; Solak vd. 2015). Bu çalışmalar içinde toprakaltı türler de tespit edilmesine rağmen yalnızca trüfleri kapsayan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır (Türkoğlu, 2015). Trüf türlerinden üst düzeyde yararlanabilmek için öncelikle lokalitelerinin belirlenmesi gerekmektedir. şimdiye kadar tespit edilen trüf türlerinin sayısının ölkemizin biyoçeşitliliği dikkate alındığında çok az olduğu bir gerçektir. Ölkemizde şimdiye kadar *Tuber* türleri ile ilgili özel olarak taksonomik bir çalışma yapılmamıştır.

Toprakaltı mantarlar üzerinde yapılan ilk kritik gerçek çalışma 1831 yılında Vittadini tarafından gerçekleştirilmiştir. Monographia Tuberacearum isimli çalışmada on üç cins içinde dağılan yetmiş üç tür tarif edilmiştir (Gilkey, 1916). Günümüzde ise

dünyada 4.500 ila 5.500 arasında trüf türü olduğu tahmin edilmektedir (Mueller vd. 2007). Trüflerin taksonomisi hakkında Trappe tarafından 1979 yılında yayınlanan toprakaltı türlerin ordo, familya ve cins düzeyinde sınıflandırmalarını kapsayan çalışmaya kadar, tüm trüfler Tuberales ordosu altında değerlendirilmekteydi (Guevara vd., 2013). Son moleküler analizler, trüflerin Pezizales ordosu içinde en az 5 veya 6 bağımsız soy altında ve 55 cinsten temsil edildiğini göstermektedir, bunların 5'i Tuberaceae familyasına (*Tuber*, *Choiromyces*, *Dingleya*, *Labyrinthomyces* ve *Reddellomyces*) aittir (O'Donnell vd., 1997; Læssøe ve Hansen, 2007; Guevara vd., 2013).

Ülkemizde ise mevcut kaynaklara göre günümüze kadar yapılan taksonomik çalışmalar ile 31 tanesi Ascomycetes ve 52 tanesi Basidiomycetes sınıfına ait olan toplam 83 toprakaltı makrofungus kaydı bildirilmiştir. Türkiye'den ilk bildirilen trüf türleri Çekoslovakya hükümeti adına ülkemize gelen Albert Pilat'ın (1937) Çankırı ilindeki Ilgaz dağlarında yaptığı araştırmalarda bulduğu *Gautieria graveolens* Vittad., *Hydnangium virescens* Qué., *Leucogaster liosporus* R.Hesse, *L. luteomaculatus* Zeller ve C.W.Dodge, *L. nudus* (Hazsl.) Hollós ve *Rhizopogon luteolus* Fr. olmak üzere 6 taksondur. Alman bilim adamı Kurt Lohwag (1957) Belgrad ormanlarında arazi çalışmaları yapmış ve *Sarcosphaera coronaria* (Jacq.) J. Schröt türünü bildirmiştir. Gücin ve Öder (1982) Manisa ilinde yaptıkları çalışmada *Geopora arenicola* (Lév.) ve *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th.Fr. olmak üzere 2 toprakaltı mantar türü bulmuşlardır. Gücin (1984) Elazığ il sınırları içinde yaptığı çalışmalar sonucunda *Terfezia boudieri* Chatin türünü yeni kayıt olarak yayınlamıştır. Gücin vd. (1988) Eskişehir yöresindeki çalışmaları sonucunda *Geopora sumneriana* (Cooke) M.Torre türünü bildirmişlerdir. Öder (1988) Konya merkez ve bazı ilçelerinde yetişen yenen türler arasında *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe türünü belirlemiştir. Işıloğlu (1994), Türkiye mikotasına *Chlorophyllum agaricoides* (Czern.) Vellinga türünü yeni kayıt olarak vermiştir. Alsheikh 1994'te *Terfezia* cinsi üzerine yaptığı çalışmalarda Konya ve Gaziantep illerinden *Terfezia claveryi* Chatin türünü topladığını bildirmiştir. Demirel (1996) *Melanogaster broomeanus* Berk. türünü yeni kayıt olarak bildirmiştir. Öztürk vd. (1997) Ascomycetes sınıfından *Tuber brumale* Vittad. türünü, Solak vd. (2003) *Geopora cooperi* Harkn. türünü yeni kayıt olarak belirtmişlerdir. Kaşık vd. (2002) Kayseri Yeşilhisar yöresinde *Geopora arenosa* (Fuckel) S.Ahmad türünü bulmuşlardır. Ersel ve Solak (2004) İzmir ilinden *Tirmania pinoyi* (Maire) Malençon türünü yeni kayıt

olarak bildirmişlerdir. Doğan (2006) *Phalloogaster saccatus* Morgan türünü ve Yağız vd. (2006) Kastamonu ilinde yapmış olduğu çalışmalarda *Rhizopogon ochraceorubens* A.H.Sm türünü yeni kayıt olarak bildirmişlerdir. Solak vd. (2007), Türkiye makrofunguslarının checklistini yayınlamışlar *Choiromyces meandriiformis* Vittad. ve *Tuber aestivum* türlerini bildirmişlerdir.

Kaya (2009) Kahramanmaraş ilinde yaptığı çalışmalar sonucunda *T. borchii* Vittad., ve *Gautieria monticola* Harkn. olmak üzere 2 türü yeni kayıt olarak vermiştir. Sesli ve Castellano (2009) *Rhizopogon marchii* (Bres.) Zeller ve C.W.Dodge, Gücin vd. (2010) *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire türlerini yeni kayıt olarak bildirmişlerdir. Türkoğlu ve Yağız (2012) *Picoa juniperi* Vittad, Castellano ve Türkoğlu (2012) ise *Terfezia leptoderma* Tul., *Tuber mesentericum* Vittad., ve *T. nitidum* Vittad. türlerini yeni kayıt olarak bildirmiş ve Türkiye mikotasına katkıda bulunmuşlardır (Solak vd., 2007; Sesli ve Denchev, 2014). Türkoğlu ve Castellano (2013) *Gymnomyces xanthosporus* (Hawker) A.H.Sm., *Hymenogaster griseus* Vittad., *H. olivaceous* Vittad., *H. thwaitesii* Berk. ve Broome, *H. vulgaris* Tul. ve C.Tul. (Türkoğlu ve Castellano, 2014), *Genea klotzschii* Berk. ve Broome, *Genea verrucosa* Vittad., *Stephensia bombycina* (Vittad.) Tul. ve C.Tul., *Terfezia olbiensis* Tul. ve C.Tul., *Tuber excavatum* Vittad., *T. rufum* Pollini. türlerini yeni kayıt olarak bildirmiştir. Türkoğlu vd. (2015), *Alpova corsicus* P.-A. Moreau ve F. Rich., *Elaphomyces leucocarpus* Vittad., *E. muricatus* Fr., *Genea sphaerica* Tul. ve C. Tul., *Gautieria otthii* Trog, *G. retirugosa* Th. Fr., *G. trabutii* (Chatin) Pat., *Hymenogaster citrinus* Vittad., *H. hessei* Soehner, *H. luteus* Vittad., *H. lycoperdineus* Vittad., *Hysterangium clathroides* Vittad., *H. epiroticum* Pacioni, *H. fragile* Vittad., *H. nephriticum* Berk., *Leucogaster tozzianus* (Cavara ve Sacc.) Mattir. ex Zeller ve C.W. Dodge, *Octaviania asterosperma* Vittad., *Protoglossum aromaticum* (Velen.) J.M. Vidal olmak üzere 18 yeni trüf kaydı bildirmiştir. Sesli ve Moreau (2015) *Melanogaster variegatus* (Vittad.) Tul. ve C. Tul. türünü Trabzon'dan yeni kayıt olarak bildirmiştir. Doğan ve Akata (2015), *Gautieria morchelliformis* Vittad., *Hysterangium stoloniferum* Tul. ve C. Tul. and *Gymnomyces mistiformis* (Mattir.) T. Lebel ve Trappe olmak üzere 3 yeni toprakaltı fungus kaydı bildirmiştir. Ünal vd. (2016) *Descomyces albus* (Berk.) Bougher ve Castellano, *Hysterangium inflatum* Rodway, *Reddellomyces parvulosporus* (G.W. Beaton ve Malajczuk) Trappe, Castellano ve Malajczuk, *Reddellomyces westraliensis* (G.W. Beaton ve Malajczuk) Trappe, Castellano ve Malajczuk, *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar, *Chondrogaster*

pachysporus Maire, Bull. türleri üzerinde taksonomik çalışmalar yapmıştır. Elliott vd. (2016) *Hymenogaster rehsteineri* Bucholtz, *Hysterangium calcareum* R. Hesse, *Leucophleps aculeatispora* Fogel, *Melanogaster ambiguus* (Vittad.) Tul. ve C. Tul., *M. macrosporus* Velen, *Sclerogaster compactus* (Tul. ve C. Tul.) Sacc., *Sclerogaster hysterangioides* (Tul. ve C. Tul.) Zeller ve C.W. Dodge *Tuber ferrugineum* Vittad., *T. puberulum* Berk. ve Broome türlerini yeni trüf kaydı olarak bildirmiştir. Akata vd. (2016) Gümüşhane'den *R. obtectus* (Spreng.) R. Rauschert türünü toplamışlardır. Uzun vd. 2016 yılında Karaman'dan *Hymenogaster bulliardii* Vittad. ve *Terfezia albida* Ant. Rodr., Mohedano ve Bordallo türlerini yeni kayıt olarak bildirmiştir. Uzun ve Kaya (2017) Trabzon'da yaptıkları çalışmalar sonucunda *Lactarius stephensii* (Berk.) Verbeken ve Walley'n türünü yeni bir tür kaydı olarak bildirmişlerdir.

Ascomycetes sınıfı, Tuberales ordosuna dahil olan *Tuber* cinsine ait 319 takson bulunmaktadır (Index Fungorum, 2018). Ayrıca Bonito ve diğerleri (2010a) tarafından yapılan global meta-analiz ile 76 bağımsız çalışmadan elde edilen yaklaşık 2000 dizinin analizinin gerçekleştirildiği çalışmanın sonuçlarına göre yaklaşık 180 tür olduğu bildirilmiştir.

Ülkemizin önemli biyoçeşitlilik kaynaklarından olmasına rağmen şimdiye kadar Türkiye'de *Tuber* cinsine ait sadece dokuz takson bildirilmiştir. Bunlar; *Tuber aestivum*, *T. brumale*, *T. borchii*, *T. excavatum*, *T. mesentericum*, *T. nitidum*, *T. rufum*, *T. puberulum* ve *T. ferrugineum* türleridir. Ülkemizde *Tuber aestivum* ve *T. borchii* türleri doğal yayılım göstermektedir. Yetiştirme şartlarına uygun toprak, iklim, bitki örtüsü gibi habitat özelliklerine sahip bölgeler bulunmasına rağmen *T. melanosporum* ve *T. magnatum* türleri henüz kaydedilmemiştir. Dünyada çok aranan ve ekonomik değeri yüksek olan türler İtalya Alba'nın beyaz trüfı olarak adlandırılan Piedmont trüfı olarak da bilinen *Tuber magnatum*, Perigord trüfı olarak bilinen *Tuber melanosporum*, Burgundy trüfı olarak tanınan *Tuber aestivum* ve İtalyan beyazımtırak Bianchetto trüfı olarak bilinen *Tuber borchii*'dir. *Tuber magnatum* ortalama 3500 Euro/kg, *Tuber melanosporum* 1000 Euro/kg, *Tuber aestivum* 200 Euro/kg, *Tuber borchii* 300 Euro/kg fiyatındadır (Türkoğlu, 2015).

Tuber cinsi trüf türlerinin ekonomik ve gastronomik yönden çok değerli olması bilim adamlarının dikkatini çekmektedir. Tadı ve kokusu ile birçok gürmenin ilgisini çekmesi ve az miktarda toplanması, fiyatlarının türlere göre değişmekle birlikte çok yükseltmesine neden olmaktadır. Ekonomik değerinden dolayı başta Fransa, İtalya,

İspanya ve İsveç gibi birçok ülkede trüf türleri üzerinde sistematik, genetik, moleküler ve kültivasyon çalışmaları yoğun olarak yapılmaktadır (Murat vd. 2004; Wedén vd. 2005; Paolocci vd. 2006; Riccioni vd. 2008).

1.4. Moleküler Araştırmalar

Taksonomik çalışmalarda morfolojik belirteçler, protein ve DNA belirteçleri olmak üzere, 3 çeşit belirteç kullanılmaktadır (Liu, 1998). Moleküler belirteçler ise temel olarak ikiye ayrılır. Bunlar proteine ve DNA'ya dayalı belirteçlerdir. Protein tabanlı belirteçlerde sistematik çalışmalarda protein kullanılırken, DNA tabanlı belirteçler ise sistematik çalışmalarda DNA ve baz dizileri kullanılır.

Bir mantar, bitki ve hayvan popülasyonu içinde, bir türü, cinsi veya herhangi bir grubu diğer tür, cins veya gruplardan ayıran seçici özellikler, o genotipi ayıran bir belirteç (karakter) olarak değerlendirilir. Makrofunguslarda çok eski yıllardan beri renk, koku, büyüklük, mantarın şekli, sap uzunluğu, sap ve şapka oranları, spor büyüklüğü ve sporun sahip olduğu süslemeler, askus ve bazidyum yapıları, parafizler, sistidler, pileipellis yapısı, himenyum tipi, lameller ve sapa bağlanış şekilleri, şapka ve sap üzerinde bulunan örtü kalıntıları, mantarın yetiştiği ortam ve bunun gibi karakterler taksonları birbirinden ayırmak için kullanılır. Bu tip belirteçler, genetik olarak uzak akraba olarak kabul edilen makrofunguslar arasında etkili olarak kullanılabilmesine karşın, yakın akraba olan mantar grupları için her zaman çok kullanışlı belirteçler değildir.

Bununla birlikte, farklı ekolojilerde fenotipik belirteçlerin değişmeden kalabilmesi en önemli koşuldur. Ancak, bu her zaman mümkün olmamaktadır. Örneğin toprak altı mantarlarda genç bireylerde koku seviyesi oldukça düşükken, mantar olgunlaştıkça koku artmaktadır. Ayrıca sporların sahip olduğu süslemelerin oranı da mantar olgunlaştıkça daha belirginleşmektedir. Bazı topraküstü mantarların gelişim safhalarındaki farklı morfolojik özellikler farklı türler gibi algılanmasına yol açabilmektedir. Bu dezavantajlar nedeniyle fenotipe dayalı olarak yapılan sistematik çalışmalar zaman zaman çeşitli hatalara sebep olabilmektedir. Ayrıca morfolojik belirteçlerin gözlenebilmesi kolay olmasına rağmen allel sayısının az olmasından dolayı kullanımı kısıtlıdır (Liu, 1998).

Günümüzde mantarların sistematğinde kullanılan morfolojik ve anatomik karakterler ile biyokimyasal karakterlerin temel alındığı analizlerin (Celio vd., 2006) yanı sıra, moleküler filogenetik yaklaşımlar da hızlı bir şekilde yaygınlaşmaktadır. Bu çalışmalar filogenetik analiz metotları kullanılarak canlıların DNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla sistematğe katkı sağlamaktadır (Ro vd., 1997; Podoplelova ve Ryzhakov, 2005). Ayrıca morfolojik verilere dayanan sınıflandırmalar ile gelişen teknolojinin sağladığı DNA dizi çalışmaları, klasik sistematik çalışmalarla elde edilen verilerle yapılan sınıflandırma arasında zaman zaman çelişkiler olabilmektedir. Bu problemlerin çözülmesi için taksonomistler ekolojik faktörlerden kolaylıkla etkilenmeyen, DNA'ya dayalı belirteçlere yönelmeye başlamışlardır (Felsenstein, 1985). Günümüzde DNA dizilerinin karşılaştırılması canlıların coğrafik orijinlerinin bulunmasından filogenetik akrabalıklarını moleküler düzeyde ispatlamaya kadar birçok alanda kullanılmaktadır (Allan vd., 2004; Cohen ve Weydmann, 2005; Ogden ve Whiting, 2005). DNA baz dizilerinin karşılaştırılması yoluyla filogenetik değerlendirmelerin yapılması özellikle morfolojik karakterlerin yetersiz olduğu zamanlarda oldukça faydalı bulunmuştur (Yokoyama vd., 2000). Moleküler filogenetik çalışmalar mantarların orijinlerinin belirlenmesinde ve birbirleriyle akrabalık derecelerinin saptanmasında da başarıyla kullanılmıştır (Blackwell vd., 1988; James vd. 2006; Taylor ve Berbee 2006).

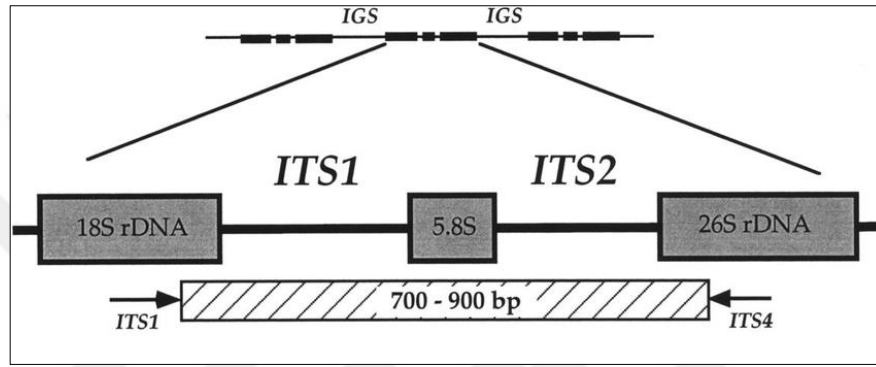
Morfolojik karakterler ile anatomik ve davranışsal karakterler türün bulunduğu ortam şartlarına göre belirli sınırlar içerisinde değişiklikler gösterebilmektedir. Ancak DNA'nın ortam şartlarına göre değişmesi gibi bir durum söz konusu değildir. Ayrıca DNA dizilerinin türe özgü olması sayesinde, her bir baz değişikliği türlerin sistematik kategorilerinin belirlenmesinde bilgi verici olabilmektedir. Ancak bütün canlı gruplarında olduğu gibi mantarlarda da henüz güvenle kullanılabilecek evrensel bir DNA dizisi mevcut olmayıp daha çok taksonomik gruplara özel DNA dizileri (belirteçler) ya da birden fazla DNA dizisi kullanılmaktadır. Mantarlarda yaygın olarak kullanılan moleküler belirteçler, nüklear ribozomal DNA'nın ITS (Internal Transcribed Spacer) bölgesi ayrıca rpb1, rpb2, tef1, EF-1 α , ATP6, β - tubulin genlerinin baz dizileri ve mitokondriyal DNA dizileri olmaktadır (Hibbett, 2006; Moncalvo vd.,2006; Sugiyama vd., 2006; Taylor ve Berbee, 2006). Ancak bununla beraber ITS dizilerinin kloroplast veya mitokondriyal DNA dizilerine göre, cins içinde veya yakın cinsler arasındaki filogeniyi araştırmada daha uygun olduğu tespit edilmiştir (Baldwin vd., 1995).

DNA’da meydana gelen kırılmalar, ters dönmeler, parça kopmaları hatta tek bir bazlık mutasyon dahi DNA’da polimorfizme sebep olmaktadır. DNA üzerinde meydana gelen bu mutasyonlar genlerin ifade ettikleri ürünleri, biyokimyasal aktiviteleri, gelişmeyi ve morfolojiyi etkileyebilmektedir. Dolayısıyla canlılarda fenotipik ve genotipik olarak farklılaşmanın temel sebebini teşkil etmektedir.

Bazı durumlarda tek bir nükleotidin yer değiştirmiş olması iki genotipi birbirinden ayırmada kullanılabilecek kadar bilgi verici olabilmektedir (Britten, 1986).

Protein sentezi oldukça eski ve tüm organizmalarda ortak bir özelliktir. Protein sentezinde görev alan ribozomların sentezinden sorumlu rDNA gen bölgelerinde meydana gelebilecek bir mutasyon protein sentezini engelleyecek ve muhtemelen ölümle sonuçlanacaktır. Ancak rDNA genleri arasındaki boşlukların (intronlar) dizileri rRNA sentezinden sorumlu olmadığı için türden türe çeşitli farklılıklar gösterebilmektedir. Bu durum organizmalar arasındaki evrimsel ilişkiyi ayırt edebilmek için rDNA dizilerini ve ara boşlukları üstün moleküler belirteç kılmalıdır. Ribozomal RNA fonksiyonel olarak sabit, evrensel olarak yayılış gösteren ve filogenetik farkı, ölçülü şekilde koruyabilen büyük bir moleküldür. Ayrıca moleküldeki polimorfizm sayısı oldukça fazladır ve iki ayrı türe ait diziler arasındaki benzerlikler filogenetik bir ilişkiyi işaret etmektedir. rRNA dizi analizlerinin sonuçları ve moleküler genetik çalışmalar organizmalar arasındaki doğru evrimsel ilişkileri yansıtacak şekilde filogenetik ağaçların elde edilmesini sağlamaktadır (Madigan vd., 2003). rRNA genlerinin kodlandığı DNA dizileri funguslarda taksonomik ilişkilerin ve genetik varyasyonun belirlenmesi çalışmalarında yaygın şekilde kullanılmaktadır. Funguslarda çekirdek rDNA bölgesi ardışık tekrarlanan birimler olarak organize olmuştur (Salazar vd., 2000). Ribozomal RNA gen kümesi hem çekirdek hem de mitokondrilerde bulunur ve oldukça korunmuş ve değişken bölgelerden meydana gelir (White vd., 1990; Çebi-Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). Fungal çekirdek rRNA genleri her genomda birkaç yüz kopyası olan, ardışık tekrarlanan yapılar olarak düzenlenmiştir. Her bir birimde 18S rRNA geni, 5.8S rRNA geni ve 28S rRNA geni olmak üzere üç rRNA gen bölgesi bulunmaktadır (Çebi-Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). Tüm canlılarda rDNA bölgesi, onu evrimsel çalışmalar için ideal bir aday yapan değişken bölgelerin serpiştirildiği oldukça korunmuş bölgelerden meydana gelmektedir (White vd., 1990). Korunmuş diziler büyük alt birimde (LSU) ve küçük alt birimde (SSU) bulunmaktadır. Bu alt birimler arasındaki ara bölgeler ITS (Internal Transcribed Spacer), genler arası bölge

IGS (Intergenic Spacer-) olarak adlandırılır (Şekil 1.2.). Bunlar alt birim dizilerinden daha değişkendir ve cins içindeki türler arası ya da tür içi populasyon çalışmalarında yoğun şekilde kullanılmaktadır. Funguslarda 18S rDNA bölgesi nisbeten yavaş bir şekilde evrim geçirir ve uzak akraba organizmaların kıyaslanmasında kullanışlıdır. Ancak protein kodlamayan bölge (ITS ve IGS) daha hızlı evrim geçirir ve bir tür içindeki suşların ya da bir cins içindeki fungal türlerin karşılaştırılması için kullanışlıdır. 28S rDNA'nın bazı bölgeleri de türler arasında değişkendir (Çebi-Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).



Şekil 1.2. ITS bölgesinin yapısı

Fungal türleri çalışmak için ITS bölgesi rutin olarak kullanılan belirteçdir. Günümüzde geniş ölçüde bir veritabanı mevcut olduğu için, bir tek mantarın dizisi varolan dizilerle karşılaştırıldığında, anlamlı taksonomik bilgi sağlamaktadır (Webster ve Weber, 2007). Nükleer rDNA dizilerinin karşılaştırılması, *Tuber* türlerinin tanımlanmasında hızlı ve basit bir yöntemdir. Yeni Zellanda'da bulunan *Tuber* türlerinin moleküler ve morfolojik düzeyde tanımının yapılması için cinsin morfolojik özellikleri ile beraber ribozomal DNA ITS dizileri de çıkarılmıştır (Bulman vd., 2010).

Fungal sistematikte kullanılan başlıca teknikler, DNA dizi analizini de içine alan PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temelli tekniklerdir. Polimeraz zincir reaksiyonuna dayalı teknikler, moleküler biyoloji, mikrobiyoloji, genetik alanında klinik laboratuvarlarda, çevre bilimlerinde, kalıtsal çalışmalarda ve daha birçok diğer uygulamalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Biyoinformatik, istatistik ve bilgisayar biliminin moleküler biyoloji alanına uygulanmasıdır. Fungal sistematikte başlıca kullanılan biyoinformatik araçlar, DNA dizileme, BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool) ve Sequence alignment (dizi hizalama) teknikleridir

(Autenrieth vd., 2005). DNA dizi analizi, bir DNA molekülündeki nükleotitlerin dizisinin belirlenmesidir. DNA dizileme işlemi, verilen bir organizmanın DNA'sını, araştırmacılar tarafından biyolojik işlemlerde, tıbbi araştırmalarda ve adli durumlarda kullanılabilen bir şekle dönüştürmektedir. DNA dizi analizi günümüzde otomatize olarak yapılabilmekte ve binlerce nükleotidlik dizi birkaç saat içerisinde belirlenebilmektedir. Günümüzde binlerce organizmanın DNA dizisi deşifre edilmiş ve çeşitli veritabanlarında depolanmaktadır. NCBI (National Center for Biotechnology Information) internet sitesi üzerinden kullanılabilen BLAST gibi bilgisayar programları, 190 milyar nükleotitten fazlasını içeren, 260000 organizmanın dizilerini araştırabilme ve karşılaştırabilme imkânı sunmaktadır. Bu programlar DNA dizisindeki mutasyonları (baz değiş-tokuş, baz silinmesi veya baz eklenmesi gibi) belirleme, aynı olmayan fakat akraba olan türlere ait dizilerin karşılaştırılmasına olanak sağlamaktadır (Mount, 2004). Filogenetik ağaç oluşturmada kullanılan yöntemler karakter temelli yöntem ve mesafe temelli yöntem olmak üzere iki ana başlık altında toplanmaktadır. Karakter temelli yöntemler, DNA dizilerinde bulunan polimorfik dizilerin belirlenmesine bağlıdır. Dizilerde oluşan ve evrimsel süreçte biriken mutasyonlar farklı karakterler olarak değerlendirilir. En eski metodlardan biri olan Maksimum Parsimony (MP), en sık kullanılan ve iyi sonuçlar alınabilen yöntemdir. Minimum evrimin olduğu, evrimin en kısa yolu izlediği, doğanın tutucu olduğu varsayımını kabul eder. Dolayısıyla bu methodda bir grubun filogenisi oluşturulurken oluşan ağaçlar içerisinde en az değişim gösteren ağacın en iyi ağaç olduğunu kabul eder. (Freeman ve Herron, 1999). Maximum Likelihood (ML), daha çok moleküler verilerin analizinde kullanılan bu yöntem Joseph Felsenstein (1973) ve Farris (1973) tarafından Maximum Parsimoniye alternatif olarak ortaya konulmuştur. Bu metoda göre her bir karakterin oluşmasının veya başka bir karaktere dönüşmesinin bir olasılığı vardır. Çok iyi temellendirilmiş istatistiğe dayandığından MP metodu ile karşılaştırıldığında matematiksel açıdan güçlüdür. Ancak matematiksel olarak daha zahmetli bir yöntem olduğu için, taksonların sayısı arttıkça yöntemin kullanılması zorlaşır. Bayesian Metodu ise birçok alanda kullanımı oldukça yaygın olan istatistik modeli olup filogenetik ağaç oluşturmada da en sık kullanılan yöntemdir. ML metoduna benzer, ancak önceki (prior) olasılık kullanımı ile bu yöntemden ayrılır. Bilinen gözlemlere dayanarak gözlenmeyen bir şey hakkında sonuç çıkarma temeline dayanır.

Mesafe temelli yöntemlerde ağaç oluşturulurken türler arasındaki polimorfik baz dizilerinden yararlanılır. Genetik uzaklıklar türler arasındaki mesafe matrisini oluşturmak için kullanılır. Bu matristeki uzaklık skorları kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulur. Kümelenme temelli olan algoritmalar, birbirine en benzer dizi çiftlerinden başlayan mesafe matrisini temel alarak filogenetik ağacı hesaplar. Bu algoritmalar, aritmetik ortalamayı kullanarak ağırlıklı olmayan çift grup yöntemi olan UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) yöntemini ya da komşu birleştirme yöntemini NJ (Neighbour joining) içerirler. En basit kümelenme metodu olan UPGMA ard arda kümelenme yoluyla filogenetik ağacı oluşturur. Bu yöntemin temel varsayımı, bütün türlerin sabit hızla değiştiği ve hepsinin kökten eşit uzaklıkta olduğudur. Ancak bu yöntemde tahmin edilen mesafeler ile gerçek genetik mesafeler tam olarak benzerlik göstermemektedir. NJ yöntemi Saitou ve Nei (1987) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde ağaç oluşturmak için birbirine en yakın türler kullanılır. Oldukça verimli bir metot olarak kabul edilir. Geniş veri kümelerini analiz edebilir. (Sevindik, 2014).

Dünyada *Tuber* türleriyle yapılan çalışmalarda bulunan örneklerin rDNA üzerindeki ITS bölgeleri dizilenmekte ve o ülkenin daha önce gönderilmiş dizisi yoksa GenBank'a gönderilmektedir ve bunlar *Tuber* türlerinin dünyada coğrafi ve genetik yayılışının araştırılmasını sağladığı gibi, populasyonların karşılaştırılmasını da sağlamaktadır. *Tuber* türleri üzerine moleküler çalışmalar morfolojik olarak birbirlerine çok benzeyen trüf türlerinin güvenilir olarak isimlendirilebilmesi amacıyla başlamıştır. Bunun ardından çalışmalar özellikle *Tuber magnatum* Pico ve *Tuber melanosporum* Vittad. gibi ekonomik değeri yüksek olan türlerin intraspesifik genetik çeşitliliği üzerine odaklanmıştır (Rubini vd., 2007). *Tuber* türlerinin yaşam döngüsünün karmaşıklığı, kültüre alınmasının zorluğu ve birbirine benzeyen türlerin ayırt etmede yaşanan sıkıntılar filogenetik ve moleküler çalışmaları teşvik etmiştir. Bu nedenle ekonomik olarak en önemli *Tuber* türleri için moleküler belirteçler geliştirilmiştir (Paolocci vd., 1995, 1997, 1999; Rubini vd., 2001). Bölgesel dağılımlar ve ekolojik ihtiyaçlar bu simbiyotik mantarlar için türe göre değişmektedir. Bazı türler çok geniş alanlara dağılmış ve morfolojik ve moleküler çeşitliliği de vurgulanabilirken (Rubini vd., 2001), bazıları daha sınırlı bir alanda kalmıştır ve gerek morfolojik gerek genetik olarak çok az türü çeşitlilik göstermektedir (Paolocci vd., 2000). *Tuber magnatum* sadece İtalya ve bazı Balkan ülkelerinde bulunmaktadır. *T. magnatum*'un genetik yapısı ve üreme biçimi üzerine

yapılan bir kaç çalışmada çok sınırlı türüçi allozim farklılıkları olduğu ve heterozigot bireylerin hiç olmadığı bulunmuştur (Frizzi vd., 2001). Kendini dölleyen ve birincil olarak dikaryotik hif veren askokarpa sahip *T. melanosporum* türlerinde ise örneklenen popülasyonlar arasında genetik farklılık ya hiç yoktur ya da çok azdır (Bertault vd., 1998, 2001; Murat vd., 2004). *Tuber aestivum* ile *T. uncinatum* örnekleri morfolojik olarak birbirine çok fazla benzemesine rağmen bu trüf örnekleri iki farklı ürün ve isim ile pazarlanmaktadır. *Tuber aestivum* ile spor süslerinin kanca şeklinde kıvrılmasından ismini alan *T. uncinatum*'un ITS dizilerinin karşılaştırıldığı moleküler çalışmalar sonucunda bu iki türün %100 aynı olduğu belirlenmiştir (Wedén vd., 2005). Dünya çapında *Tuber* türlerinin genetik çeşitliliği 76 bağımsız çalışmada yaklaşık 2000 dizi ile çalışılmış olup yaklaşık 180 tür bulunduğu bildirilmiştir (Bonito vd., 2010a). *Tuber* türlerinin dağılım motifleri henüz anlaşılmamış ancak birlikte yaşadığı bitkinin biyocoğrafik dağılımları ile trüflerin akrabalıklarının ilişkili olduğu bulunmuştur (Bertault vd., 1998, 2001; Martin vd., 2002; Moyersoen vd., 2003; Murat vd., 2004).

Trüflerin morfolojik olarak benzeyen türlerinin güvenilir olarak sınıflandırılabilmesi, aynı türe ait olan morfolojik olarak farklı örneklerin isimlendirilmesi, biyocoğrafik analizleri ve kültivasyon esnasında aşılana trüf türlerinin kökte gelişip gelişmediğini kontrol amacıyla da son yıllarda moleküler çalışmalar yapılmaya başlamıştır (Gardes vd., 1991; Horton ve Bruns, 2001; Murat vd., 2005; Wedén vd., 2005; Jeandroz vd., 2008). Bu bağlamda Bonito vd. (2010a) *Tuber* türlerinin ITS dizilerinden elde ettikleri bilgilere göre türlerin çeşitliliğini, dağılımını ve konakçı ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarda *Tuber* türlerinin ITS dizilerinin % 1-3 arasında tür içi polimorfizm gösterdiğini belirlemişlerdir. Türler arası ITS polimorfizm oranını ise %4'ten büyük olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca *Excavatum*, *Maculatum* ve *Rufum* gruplarının daha çok angiospermle simbiyotik ilişkiyi tercih ederken *Gibbosum* grubunun gymnospermle tercih ettiğini belirtmişlerdir. Murat vd. (2005) ektomikorizal bir trüf olan *Tuber magnatum*'un simbiyotik aşamada varlığının belirlenmesi için doğal trüf ormanlarında bulunan bitkilerin köklerinden mikoriza örnekleri almış ve bu örneklerden DNA izolasyonu yaparak ITS primerleri ile taramışlardır. Tarama sonucunda *T. magnatum* mikorizasının nadir bulunduğunu buna karşın sırasıyla Thelephoraceae, Tuberaceae ve Sebacinaceae türlerinin dominant olduğunu belirlemiştir. Yine Mello vd. (1999), trüf üretiminin artırılabilmesi için

mikorizal fidelerin belirlenmesi ve laboratuvar ortamında kontrol altında elde edilmesi ve doğal ortamda yetiştirilmesinin gerektiğini belirtmişlerdir. Bu fidelerin mikoriza durumlarının üretim programlarının en önemli aşaması olduğunu ve istenen *Tuber* türünün üretimi için sıkı bir şekilde mikoriza taraması yapılması gerektiğini vurgulamışlardır. Ayrıca beyaz trüflerin simbiyotik fazda ayırıldıklarının oldukça zor olduğunu, ancak moleküler yöntemlerle bunların belirlenebileceğini belirtmişlerdir. Bu amaç doğrultusunda beyaz trüfler olan *Tuber magnatum* ve *T. borchii* için türe özgü ITS primerleri dizayn etmişlerdir. Dizayn ettikleri primerleri aynı türün farklı örnekleri, farklı türler ve mikorizal kökler üzerinde doğrudan nested ve multiple PCR ile test etmişler ve ilk defa *T. magnatum* mikorizasının tespit edilmesine olanak sağlamışlardır. Paolocci vd. (1999), *Tuber* türlerinin, ektomikoriza örneklerinden moleküler yöntemlerle kolayca tespit edilmesi için geliştirdikleri protokolle türe özgü ITS primerleri tasarlamışlar ve multiple PCR yaparak morfolojik olarak oldukça benzer olan *Tuber melanosporum*, *Tuber indicum* ve *Tuber brumale* ektomikorizalarını amplifikasyon sonrasında dizi analizine gerek duymadan tespit etmişlerdir. Fidanlıkta inoküle edilen fidelerin mikoriza durumlarının, geliştirdikleri protokolle, şimdiye kadar kullanılan morfolojik karakterlere veya ITS/RFLP analizlerine göre, daha doğru ve güvenilir olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, geliştirdikleri bu protokolün, ticari dolandırıcılığın önüne geçeceğini belirtmişlerdir. Nükleer rDNA dizilerinin karşılaştırılmasının *Tuber* türlerinin tanımlanmasında hızlı ve basit bir yöntem olduğunu belirten Bulman vd., (2010) Yeni Zellanda’ da bulunan *Tuber* türlerini moleküler ve morfolojik düzeyde tanımlarken cinsin morfolojik özellikleri ile beraber ribozomal DNA ITS dizileri de çıkarılmıştır.

Halász vd. (2005), küçük ve beyaz Avrupa trüflerinin isimlendirilmesinde muhtemelen örneklerin askokarplarının morfolojik özelliklerine çok önem verilmesi sebebiyle taksonomik problemlerin ortaya çıktığını belirtmişlerdir. *Tuber rapaeodorum* Tul. ve C. Tul., *Tuber borchii* ve *Tuber puberulum* türlerinin ayrımının son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda kabul edilmediğini, hatta *T. rapaeodorum* türünün varlığının şüpheli olduğunu vurgulamışlardır. Bu amaçla bu türlerin 30 fungusum örneği üzerinde mikroskopik ve ITS dizilerine dayalı moleküler çalışmalar yapmışlardır. Peridyum yapısı, sporların yapısı ve boyutu, dermatosistidler ve her bir askusun spor sayıları gibi morfolojik özellikler kullanarak *T. borchii*, *T. foetidum* Vittad., *T. maculatum* Vittad., *Tuber puberulum* ve *T.*

rapaeodorum türlerini ayırdetmişlerdir. ITS dizilerinin, morfolojik olarak farklı olan gruplar arasında belirgin şekilde farklı olduğunu, Neighbour-joining ve parsimony analizleri ile elde edilen ağaçlarda bu dalların güçlü bir şekilde desteklendiğini ve bahsedilen türlerin kabul edilmesi gerektiği sonucuna ulaşmışlardır. Gandeboeuf vd (1997), ekonomik olarak değerli olan bazı *Tuber* türlerinin klasik morfolojik karakterlere göre isimlendirilmelerinin oldukça zor olduğunu belirtmiş ve *Tuber melanosporum* ve çin trüfö olan *Tuber indicum* türlerinin moleküler karakterizasyonlarını yapmışlardır. Bu amaç doğrultusunda ITS bölgelerinin restriksiyon analizlerini ve dizi analizlerini yapmışlar, ayrıca diziye özel belirteç belirlemişlerdir. Böylece bu iki tür arasında genetik varyasyon belirlenmiş ve bu iki tür karakterize edilmiştir.

Dünyada mantarların sınıflandırılmasında, özellikle tür düzeyinde isimlendirmede problemli olan cinsler üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış ve türlerin ayırdedilmesi konusunda önemli sonuçlar elde edilmiştir (Becerra vd., 2005; Buyck vd., 2007). Guevara vd. (2013a) *Tuber* cinsinin Meksika'daki revizyonu konusunda çalışmış ve bildirdiği yeni kayıtlar ile Meksika'daki tespit edilen tür sayısını ondan on üçe çıkarmıştır. Ayrıca Guevara vd. (2013b) Meksika'dan topladıkları ve ITS ile 28S rDNA bölgesini çalıştıkları yedi yeni tür bildirmişlerdir. Ülkemizde bitkiler üzerinde yapılmış çok sayıda moleküler filogenetik çalışma varken makrofunguslar üzerinde yapılan moleküler filogenetik çalışmalar oldukça azdır. Bunlar; Taşkın vd. (2010) ile Baş Sermenli'nin (2012) *Morchella* cinsi üzerinde, Kuyumcu'nun (2011) Denizli'de doğal olarak yetişen *Tuber aestivum* popülasyonu üzerinde, Yaratankul (2012) *Terfezia* ve *Amanita* türleri üzerinde yaptığı moleküler karakterizasyona yönelik çalışmalar, Güngör vd. (2015) *Gyromitra* cinsi üzerinde yaptığı çalışmalar ile Şen'in (2016) *Tricholoma* cinsi üzerinde yaptığı çalışmalar ile sınırlıdır.

Ülkemiz fitocoğrafik konumundan dolayı oldukça zengin mantar çeşitliliğine sahip olmasına ve makrofunguslar üzerine birçok çalışma yapılmasına rağmen toprak altında büyüyen mantarlar olarak bilinen trüföler üzerinde yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Literatür araştırmaları neticesinde de oldukça değerli mantarlar olan *Tuber* cinsi üzerine yapılmış ayrıntılı bir çalışma olmadığı tespit edilmiştir. Ülkemizde doğal olarak yetişmesine ve önemli zenginlik kaynaklarımız arasında yer almasına rağmen trüf türleri ülkemizde yeterince tanınmadığı için faydalanma olanağı oldukça sınırlı durumdadır.

1.5. Türkiye'nin İklim Özellikleri

Belirli bir bölgenin iklimini belirleyen en önemli etmenler enlem dereceleri, deniz ve okyanus gibi büyük su kütlelerine olan uzaklık ve yakınlığı, denize göre yükseltisi ve yeryüzü şekilleri, egemen olan rüzgârların yönü ve şiddetidir. Türkiye ılıman kuşak ile subtropikal kuşak arasında yer almaktadır. Türkiye'nin üç tarafının denizlerle çevrili olması, dağların denize uzanışı ve yeryüzü şekillerinin çeşitlilik göstermesi, farklı özellikte iklim tiplerinin doğmasına yol açmıştır. Yurdumuzun kıyı bölgelerinde denizlerin etkisiyle daha ılıman iklim özellikleri görülürken Kuzey Anadolu Dağları ve Toros sıradağları deniz etkilerinin iç kesimlere girmesini engellemesi nedeniyle iç kesimlerde karasal iklim özellikleri görülmektedir. Dünya ölçüsünde yapılan iklim sınıflandırmasında kullanılan ölçütlere göre ülkemizde Karasal İklim, Akdeniz İklimi, Marmara (geçiş) İklimi ve Karadeniz iklimi olmak üzere dört tip iklim görülmektedir (Atalay, İ., 1997; Şensoy vd. 2008). Çalışma yapılan bölgelerin iklim özellikleri yağış, sıcaklık, bitki örtüsü ve toprak yapısı başlıkları altına ele alınmıştır.

1.5.1. Yağış

Yağışlar bir bölgenin bitki örtüsünü belirleyen en önemli faktörlerinden biri olduğu için arazi çalışmaları yağışların düzenli olduğu bölgelerde yoğun olarak yürütülmüştür. Meteoroloji Genel Müdürlüğü Türkiye yıllık alansal yağış verilerine göre 1981-2015 yılları arasında, çalışma materyalimizi topladığımız iller ortalama 574 mm yağış almıştır. Karadeniz Bölgesinde ortalama yağış 670 mm olmakla birlikte bu değer, toplam yüz ölçümünün 2/3'sini oluşturan iç kısımlarda 250 mm'ye kadar düşmekte, Doğu Karadeniz kıyı şeridinde 2500 mm'ye yükselmektedir. En çok yağış alan bölgedir. Artvin'de genellikle fazla yağış Sinop'ta ise daha az yağış görülmektedir. Ortalama nispi nem %71'dir. Ege Bölgesinde ortalama yağış 631,4 mm'dir ve yağışların çoğu kış mevsimindedir. Muğla, Aydın, Denizli mevsim normalleri civarında yağış alırken nispeten Uşak ilinde daha az yağış görülmektedir. Ortalama nispi nem %73'dür. Akdeniz bölgesinin ortalama yağışı 725 mm'dir ve yağışların çoğu kış mevsimindedir. Bu yüzden bölgede yaz kuraklığı hâkimdir. Antalya ve Mersin en fazla yağış alan illerdir. Adana ve Osmaniye ise nispeten daha

az yağış almaktadır. Ortalama nispi nem %63,2' dir. Marmara bölgesi toplam yağışı 667,7 mm'dir ve yağışların çoğu kış, ilkbahar ve sonbahar mevsimindedir. En çok yağış alan 3. Bölgedir. Marmara Bölgesi'nde Kırklareli, Tekirdağ ve Edirne normal yağış alırken Bursa'da nispeten az yağış gözlenmektedir. Bölgede az da olsa yazın da yağış olur. Ortalama nispi nem %70'dir. Genel olarak Karadeniz kıyıları ile güney Ege ve batı Akdeniz kıyıları yoğun yağış almaktadır. Yarı kurak iklim özelliklerinin görüldüğü İç Anadolu bölgesi ise en az yağış almaktadır (Şekil 1.3.).

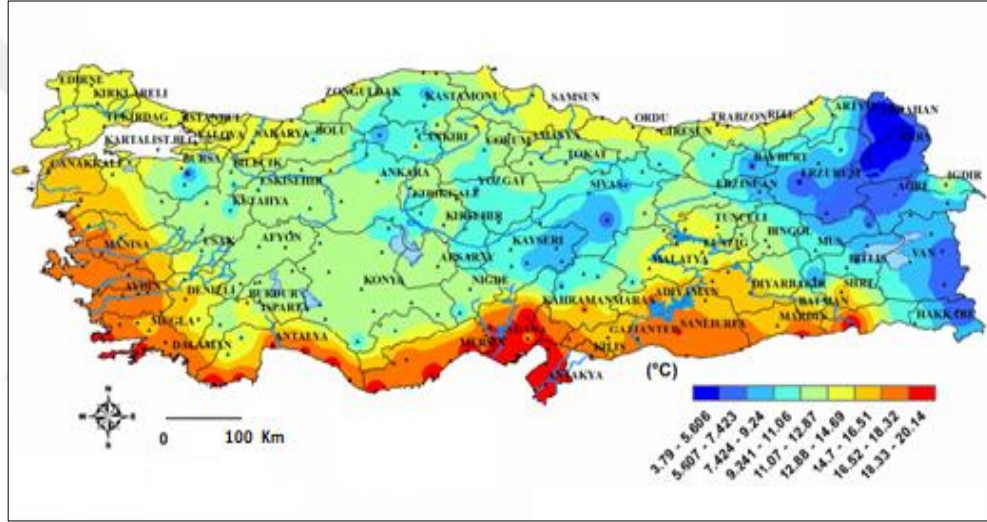


Şekil 1.3. Yıllık toplam alansal yağış normalleri haritası

1.5.2. Sıcaklık

Meteoroloji Genel Müdürlüğü verilerine göre örneklerin toplandığı 2007-2016 Yılları Arasında Türkiye Ortalama Sıcaklığı 13,9°C'dir. Ege ve Akdeniz bölgesinde bulunan Manisa, İzmir, Aydın, Muğla, Denizli, Burdur, Antalya, Kahramanmaraş, Osmaniye ve Hatay illerinde Akdeniz İklimi etkilidir. Yazları sıcak ve kurak, kışları ılık ve yağışlıdır. Kıyı kuşağında kar yağışı ve don olayları nadir olarak görülür. Yüksek kesimlerde kışlar karlı ve soğuk geçer. Soğuk ay olan Ocak ayı ortalama sıcaklığı 6,4°C, sıcak ay olan Temmuz ayı ortalama sıcaklığı 26,8°C, yıllık ortalama sıcaklık 16,3°C civarındadır. Marmara Bölgesinde bulunan Trakya Karasal İkliminin görüldüğü Edirne'de örnek bulunamamış olmasına rağmen aynı bölgede marmara geçiş ikliminin görüldüğü Tekirdağ ilinden örnek bulunmuştur. Yine aynı bölgede kıyı şeridinde Karadeniz İkliminin görüldüğü İstanbul ve Kırklareli'nden örnek

temin edilmiştir. Karadeniz bölgesinde yaz ile kış arasındaki sıcaklık farkı fazla değildir. Yazlar nispeten serin, kışlar ise kıyı kesiminde ılık, yüksek kesimlerde karlı ve soğuk geçer. Soğuk ay olan Ocak ayı ortalama sıcaklığı 4,2°C, sıcak ay olan Temmuz ayı ortalama sıcaklığı 22,1°C, yıllık ortalama sıcaklık 13°C dır. Karadeniz bölgesinde 7 ilden örnek temin edilmiştir. Karasal iklimin görüldüğü İç Anadolu Bölgesinin yazları biraz sıcak, kışları soğuktur ve soğuğun şiddeti Orta Anadolu'nun doğu kısmına doğru artmaktadır. Yıllık ortalama sıcaklık 11,8°C olduğu batı kesimlerde Afyon, Konya ve Bolu'da örnek bulunmuştur. Şekil 1.4.'de 1970-2016 Yılları Arasında Türkiye Ortalama Sıcaklık dağılımı görülmektedir.



Şekil 1.4. Türkiye ortalama sıcaklık dağılımı haritası

1.5.3. Bitki örtüsü

Türkiye, biyoçeşitliliği, coğrafi konumu, geniş yüzölçümü ve iklimsel çeşitliliği açısından önemli bir konumda bulunmaktadır. Türkiye, İran-Turan, Avrupa-Sibirya ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerin içinde konumlanmıştır (Davis, 1965-1988). Ülkemizin üç fitocoğrafik bölgenin birleşme noktasında konumlanması, dört farklı iklim tipine ve çeşitli toprak yapıları ile ana kayaç tiplerine sahip olması, birçok cinsin gen merkezi olması, Asya ile Avrupa kıtaları arasında köprü olması bitki çeşitliliği açısından zengin bir ülke olmasını sağlamaktadır. (Güllü, 2013).

Yağışlı bölgelerde özellikle Karadeniz kıyı şeridi boyunca doğal vejetasyon örtüsünü iğne yapraklı ağaçlar özellikle *Pinus*, *Picea*, *Abies* türleri ile yaprağını

döken ağaçlardan *Fagus*, *Carpinus*, *Quercus*, *Corylus*, *Juglans* ve *Erica* türleri ile çalılar oluşturur. Ayrıca, yağış seven tipik çayır-mera bitkileri, eğrelti otları da bulunur.

Yarı nemli ılıman Akdeniz iklim tipinin görüldüğü batı ve güney bölgelerde, iklim faktörleri ve topografyanın etkisi ile bu bölgeler için karakteristik bir doğal vejetasyon örtüsü oluşmuştur. Yabani zeytin, keçiboynuzu, meşe, diş budak, dut, çitlembik, günlük ağacı, fıstık çamı, sıcaklık ve ışık isteği yüksek ve kuraklığa dayanıklı olan kızılçam ile yüksek yerlerde ise karaçam, sedir ve köknar ormanlarının yanında maki örtüsü Akdeniz iklim bölgelerinin doğal bitki örtüsünü oluşturur. Akdeniz iklim tipi batıda denize dik olarak inen dağların oluşturduğu vadiler ile iç bölgelere, güneyde ise Güney Doğu Anadolu bölgesine kadar etkilerine devam ettirebildiğinden Akdeniz iklim bölgelerine özgü doğal vejetasyon iç bölgelere ve güney doğu sınırlarına kadar uzanmaktadır. Akdeniz havzası dünyanın en yüksek bitkilerinin yaklaşık yüzde 10'una denk gelen yaklaşık 25000 bitki türü ile zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir (Görk vd., 2009).

Karakteristik yarı kurak iklim özellikleri gösteren İç Anadolu Bölgesi'nin doğal bitki örtüsü yaz kuraklığından dolayı alçak kısımlarda bozkırlardan, yüksek kesimlerde ise kuru ormanlardan oluşur. Yüksek dağlık bölgeyi oluşturan Doğu Anadolu'da doğal bitki örtüsünü çayır ve mera oluştururken düşük rakımlı yerlerde ise bozkırlar yoğun olmak üzere bunların çevresindeki yüksek kesimlerde yer yer yaprak döken ağaç ve koniferlerin oluşturduğu geniş orman alanlarına da rastlanır.

1.5.4. Toprak yapısı

Türkiye topraklarının %72'si kireç bakımından zengindir. Karadeniz ve Marmara bölgeleri dışındaki bölgelerde yeterli ve yüksek miktarda kireç bulunmaktadır. Fazla yağış nedeniyle Karadeniz ve Marmara bölgelerinde topraktaki Kalsiyum ve Magnezyum mineralleri yıkanmakta ve asitliği artmaktadır. Özellikle Batı Akdeniz bölümünde olmak üzere Akdeniz ve Ege kıyılarında, Akdeniz ikliminin görüldüğü alanlarda demir oksit oranı fazla olan kırmızı renkli Akdeniz toprakları (Terra rossa) yaygındır. Akdeniz, Ege ve Marmara'da yaygın rendzina toprağı yumuşak kireçli ana kaya üzerinde oluşmuş, humusça zengin, koyu siyahımsı renkte, orta derecede kireç içerir. Doğu ve Kuzey orta Anadolu'da yaygın Kestane renkli toprakların ana

materyali yumuşak kireçtaşıdır. Orta düzeyde kireçli topraklardır ancak üst katmanda kireç bulunmaz. pH'sı 7-7,5 arasında hafif alkalidir. Doğu Anadolu ve çeşitli bölgelerde Kireçsiz Kahverengi Topraklar yaygındır. pH'sı 6,5-7,6 arasındadır. Yağışlı kıyı bölgelerde asit özellikle topraklar yaygındır. Ege, Marmara, Doğu Karadeniz bölgelerinde kıyı, geçiş bölgeleri ve yüksek yerlerde kireçsiz kahverengi asidik orman toprakları yaygındır. pH 6,5-6,8 arasındadır (Dinç vd. 2001; Doğan, 2012). Türkiye topraklarının büyük bölümü kurak ve yarı kurak iklim koşulları altında oluşmuş, kireçli, pH'sı yüksek olan topraklardır. Toprak pH'sı arttıkça topraktaki yararlı demir kapsamı azalmaktadır. Serbest halde bulunan fosfat anyonlarından bitkiler kolay yararlanmakla beraber, birçok toprakta fosfor anyonlarının serbest halde kalması güçtür. Özellikle kireçli ve pH'sı yüksek topraklarla, fazla derecede asit topraklarda bitkilerin fosfordan faydalanması zordur. Kurak ve yarı kurak bölgelerde oluşan topraklarda fazla miktarda kireç bulunması ve toprak pH'sının yüksek olması topraktaki demirin alınmasını zorlaştırmaktadır. Bu gibi durumlar bitkilerin topraktaki mineralleri almasını kolaylaştıracak mikorizal birliktelikler kurmasını teşvik etmektedir (Dinç vd. 2001). Örneklerin toplandığı lokalitelerin genel olarak toprak pH'sı 7,5-8,5 arasındadır. 10 cm toprak sıcaklıkları Ege ve Akdeniz bölgelerinde 17,5-22,5°C arasında değişmektedir. Batı ve Orta Karadeniz ile Marmara bölgelerinde sıcaklık 15,5-17,5°C arasında olup ülkenin doğusunda sıcaklıklar 13°C'nin altındadır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Arazi Çalışmaları

Bu çalışmada kullanılan örnekler 2012-2014 yılları arasında yürütülen “Türkiye’de Doğal Olarak Bulunan *Tuber* Türlerinin Genetik Çeşitliliğinin Tespiti ve Avrupa ve Asya Trüflerinin Göç Haritasının Araştırılması” isimli TÜBİTAK projesi kapsamında yapılan arazi çalışmalarından temin edilmiştir. Fungaryum materyaline dönüştürülen örnekler, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kriptogam Araştırma Laboratuvarı fungaryumunda saklanmaktadır. Ülke genelinde arazi çalışmalarının yapılacağı lokalitelerin belirlenmesinde *Tuber* türlerinin doğal olarak yetiştirme ihtimalinin fazla olduğu; mikoriza yaptığı *Pinus*, *Quercus*, *Corylus* cinsine ait bitki türlerinin varlığı, yıllık yağış oranı, enlem-boylam, yükselti (Hall vd., 2007) ve toprak yapısı (Atalay ve Mortan, 1995) gibi özelliklerin tamamı göz önüne alınarak seçilmiştir. Toprak yapıları, iklim verileri ve florası dikkate alınarak doğal olarak bulunması muhtemel trüf türlerinin ektomikorizal ilişkileri de değerlendirilerek ülke genelinde yapılan arazi çalışmaları iklim, yağış, sıcaklık gibi ekolojik etkilerin mantarların yetiştirme şartlarına uygun olduğu sonbahar, ilkbahar ve yaz aylarında, Ege, Akdeniz, Karadeniz ve Marmara bölgelerinde yoğunlaşmıştır.

Arazi çalışmaları sırasında trüf kokusuna eğitilmiş Alman Drahthaar ırkı köpekten yardım alınmıştır. Bazı örnekler toprağın üst yüzeyinde çatlaklar oluşturularak bazıları daha derinlerde bulunmuştur. Ağaçların dip örtüsünün yoğun olduğu nemli gevşek topraklarda küçük tırmık ile eşelenerek de bazı örnekler bulunmuştur. Toplanan örnekler kese kâğıtlarına ve kilitli poşetlere konarak taşınmıştır. Fotoğrafları çekilip numaralandırılmıştır. Bazı durumlarda aynı yerden toplanan örneklerin farklı türler çıkma ihtimaline karşı tek tek numaralandırma yapılmıştır. Sonrasında, morfolojik özellikleri (şekli, boyutları, rengi, varsa kokusu gibi), bulunduğu lokalitenin vejetasyonu, yüksekliği hakkında bilgiler kaydedilmiştir. Ayrıca örneklerin toplama tarihi ve koordinatları da not edilmiştir.

2.2. Laboratuvar Çalışmaları

Laboratuvar çalışmaları arazi çalışmaları takiben 2014-2016 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Araziden toplanan örnekler laboratuvara getirildikten sonra peridyumda dermatosistidya, siğil gibi yapıların varlığı stereomikroskop ile incelenip not edilmiştir. Ardından örneklerin üzerindeki toprak vs. kalıntıları peridyuma zarar vermeden dikkatli bir şekilde yumuşak bir diş fırçası yardımıyla temizlenerek ince dilimler halinde dilimlenmiş ve her örneğin bir miktarı morfolojik çalışmalar için 30-35°C’de mutfak tipi meyve kurutucusunda belli aralıklarla kontrol edilerek kurutulmuş ve etiketlenerek kilitli poşetlere konulmuştur. Bir kısmı ise moleküler filogenetik çalışmalarda kullanılmak üzere yine kilitli poşetlerde -85 °C’de saklanmıştır.

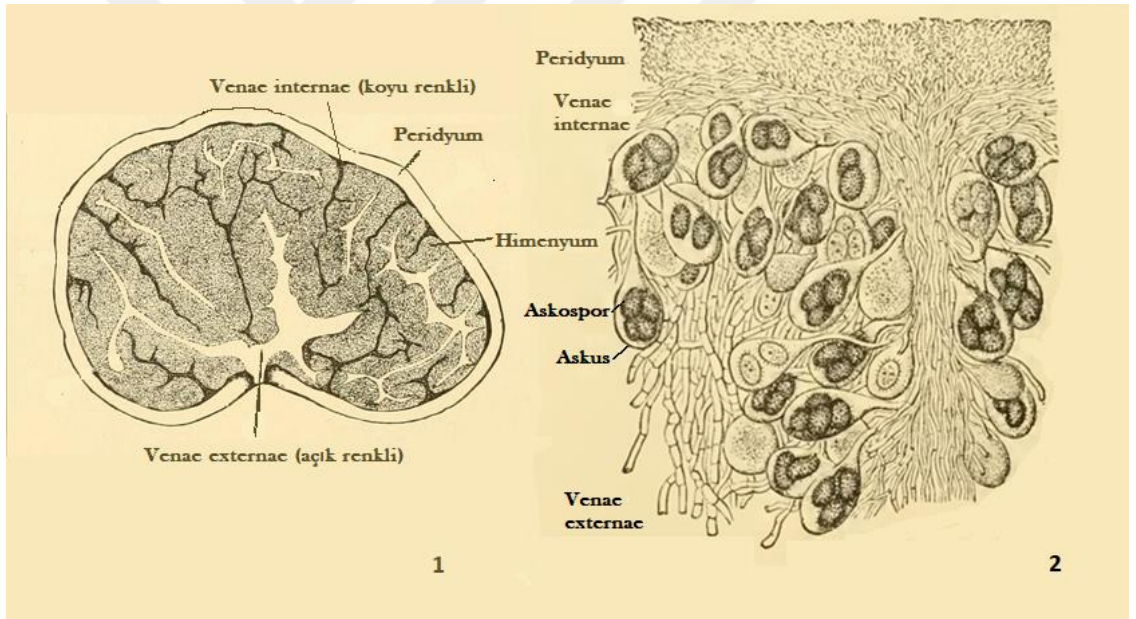
2.3. Morfolojik Çalışmalar

Tuber cinsi üyeleri genellikle yumru şeklindedir. Latince de yumru anlamına gelen *Tuber* ismini de buradan almaktadır (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Askokarp tipleri *T. aestivum*, *T. puberulum*, *T. excavatum*, *T. mesentericum*

Morfolojik olarak topraküstü mantarlardan farklı kısımlara sahiptir. Dış kısmı peridyum ile kaplı olan askokarpın iç kısmındaki etli kısma gleba adı verilir. Bu kısımda spor ve askusların geliştiği himenyum tabakası bulunur. Bu tabaka iç ve dış damarlar ile desteklenmektedir. Bu damarlar mermerimsi bir görünüm oluşturmaktadır. Venae internae (iç damarlanma) koyu renkli trama tabakası, kabuk altında uzanan doku kısmında ortaya çıkar, üst ve alt kısımlarda birleşir, üzerinde himeniyal tabakayı taşır. Venae externae (dış damarlar) beyaz, üreme yapısı bulundurmayan, hava boşluklarıdır. Parafizler tarafından işgal edilmiş, askokarpın alt veya üst kısmındaki açıklıklara doğru artar, verimli venae internae'nın iç kısmına nüfuz eder ve orada sonlanır. Genellikle daha açık renklidir. Başlangıçta daha gevşek olan, daha sonra parafizlerin gelişmesiyle ortaya çıkan psödoparankima dokuyu oluşturur. Şekil 2.2.'de Gaumann ve Dodge (1928) tarafından yapılan çizimlerde görülmektedir.



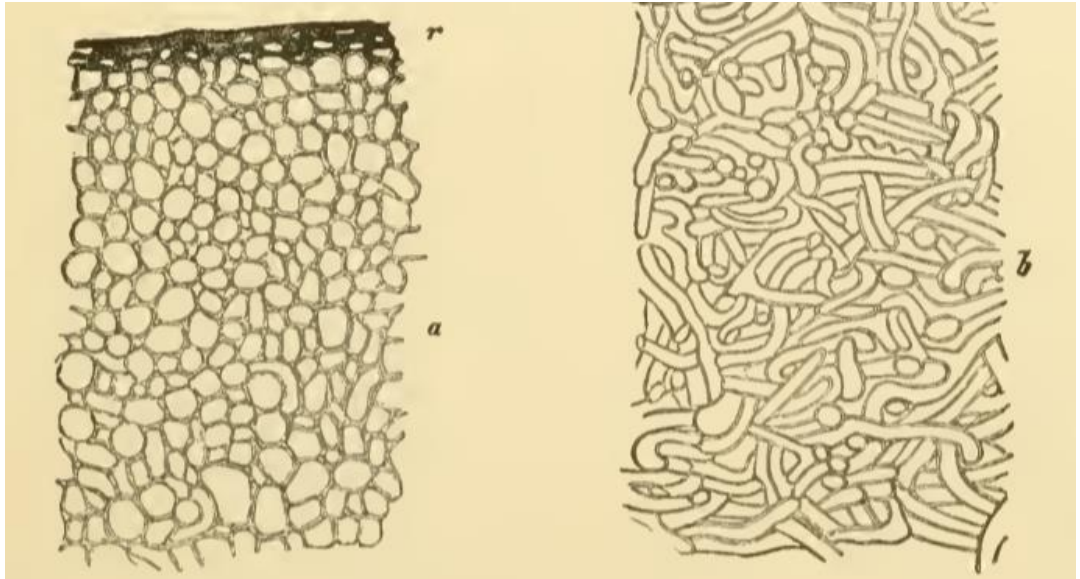
Şekil 2.2. Askokarp kesitinin 1) makroskobik ve 2) mikroskobik görünümü

Örneklerin isimlendirilmesinde önemli olan karakterler, makroskobik ve mikroskobik olmak üzere iki başlıkta incelenmiştir. Makroskobik karakterler açısından boyutları, şekli, peridyumun rengi, yüzey şekli, dermatosistidya adı verilen tüy benzeri hif uzantılarının varlığı hakkındaki bilgiler kaydedilmiştir.

Spor taşıyan askusların bulunduğu etli kısım olan glebanın rengi, damarlanma yapısı, kokusu gibi isimlendirmede önemli özellikleri belirlenmiştir. Mikroskobik

çalışmaların tamamı distile su ve %5'lik potasyum hidroksit çözeltisi ile yapılmıştır. Morfolojik isimlendirmede önemli olan tüm karakterler incelenmiştir. Mikroskobik yapılar Leica DM 750 marka mikroskop kullanılarak ölçülmüş ve fotoğraflanmıştır. İncelenen örneklerden 30-40 adet sporun boyutları ve askusların boyutları ölçülmüştür. Askusların içindeki spor sayısı 1'den 8'e kadar değişik sayılarda olabildiği için, ölçümler spor sayılarına göre gruplandırılarak ve rastgele olarak gerçekleştirilmiştir. Mikroskobik ölçümlerde askosporun eni, boyu, retikülat sporların ağ gözlerinin sayısı ve boyu, iğneli sporların iğnelerinin boyu, askus boyu, askus eni, askusların (varsa) sap yapılarının uzunluğu mikrometre cinsinden ölçülmüştür. Spor şekillerinin belirlenebilmesi için Q değeri (en/boy oranı) hesaplanmıştır. Buna göre spor şekilleri, Q değeri 1.0 - 1.05 arasında olanlar küre şeklinde, 1.05 - 1.15 olanlar küremsi, 1.15 - 1.30 olanlar geniş elips şeklinde, 1.30 - 1.60 elips şeklinde ve 1.60 - 2.0 olanlar uzun elips olarak adlandırılmıştır (Johnson ve Watling, 1977).

Peridyum enine kesitinde, hifler gerçek şekillerini kaybedip yanyana izodiyametrik hücreler şeklinde bulunuyorsa psödoparankimatik veya hifler uzun ince şeklini koruyorsa ve sadece hiflerden oluşuyorsa prozenkimatik olarak adlandırılmaktadır Şekil 2.3.'de Gaumann ve Dodge (1928) tarafından yapılan çizimlerde görülmektedir. Peridyum bu tabakalaşmalar açısından değerlendirilmiş ve boyutları ölçülmüştür. Glebanın hücre yapıları da incelenmiştir.



Şekil 2.3. Peridyum kesiti morfolojisi a) Psödoparankimatik b) Prozenkimatik

Türlerin isimlendirilmesi, Keys to the genera of truffles (Ascomycetes) (Trappe ve Castellano, 1991), British truffles: a revision of british hypogeous fungi (Pegler vd., 1993), Fungi Ipogei D'Europa (Montecchi ve Sarasini, 2000), Fungi of Switzerland. Cilt 1., Ascomycetes (Breitenbach ve Kränzlin, 2005), Field guide to North American truffles (Trappe vd., 2007), Truffe d'Europe et de Chine (Riousset vd., 2012) gibi toprakaltı mantar türlerinin verildiği kaynaklara göre yapılmıştır.

2.4. Moleküler Çalışmalar

Elde edilen tüm örneklerden DNA izolasyonu yapılmış, rDNA ITS bölgesi dizileri PZR tekniğiyle çoğaltılmıştır. Deneylerde kullanılan pipet uçları, tüpler, cam malzemeler, çözeltiler ve ısıya dayanıklı diğer malzemeler çalışmaya başlamadan önce otoklavlanarak steril edilmiştir. Isıya dayanıklı olmayan malzemeler kontaminasyonu önlemek amacıyla bir defa kullanılarak atılmıştır. Ayrıca yine kontaminasyonu engellemek amacıyla ve nükleazların aktivitesini ortadan kaldırmak için yapılan her deneyden önce çalışma masası ve pipetler % 70'lik etil alkol ile temizlenmiştir.

2.4.1. Genomik DNA izolasyonu

DNA izolasyonunda kullanılan tüm kimyasallar Amresco, Merck ve Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir. Bunlardan kimyasallardan izopropil alkol, tris, üre ve EDTA Amresco'dan; borik asit, fenol-kloroform ve etanol Merck'ten temin edilmiştir. DNA izolasyonunda kullanılan RNAaz A ve DNA izolasyon kiti Sigma Aldrich'ten ve Qiagen firmalarından satın alınmıştır.

Örneklerin bir kısmında genomik DNA izolasyonu, Fenol-Kloroform-İzoamilalkol yöntemi ile yapılırken bir kısmı ise DNA izolasyon kitleri ile yapılmıştır. Fenol-Kloroform-İzoamilalkol yöntemi ile yapılan DNA izolasyonu için kullanılan kimyasallar ve çözeltiler aşağıdaki Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. gDNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar

Çözelti	Kompozisyon
Ekstraksiyon tamponu (1L)	33,6 gr Üre
	0,5 M EDTA (pH: 8)
	1 M Tris-HCl (pH:8)
	5 M NaCl
	%10 SDS
Fenol/Kloroform/İzoamil alkol	25 : 24 : 1
NaAc	3 M pH : 5,2
İzopropanol	%100
TE (Tris – EDTA)	10 mM
RNase A	10 mg / mL
Etanol (EtOH)	%70'lik ve %100 lük

Fungal materyallerden fenol-kloroform izoamil alkol metodu kullanılarak ve biyoteknoloji firmalarından elde edilen DNA izolasyon kitleri ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon esnasında kullanılan protokoller aşağıda verilmiştir.

Manual genomik (gDNA) izolasyonu (fenol kloroform izoamil alkol yöntemi)

1. Askokarplardan 100 mg'lık parçalar alınarak sıvı azotla havan içerisinde toz haline gelinceye kadar ezildi ve eppendorf tüplere aktarıldı.
2. Toz halindeki örnekler üzerine 600 µl DNA izolasyon tamponu eklendi. Örnekler DNA izolasyon tamponu içerisinde çözüldü.
3. İçerisinde örnek olan tüpler 5 dk. vortekslenip alt-üst edildi.
4. Tekrardan üzerine 500 µl fenol/kloroform/ izoamil alkol eklenerek 5dk. alt üst edilip 12.000 rpm'de 5 dk. santrifüj yapıldı.
5. Üst kısımda toplanan ve genellikle şeffaf olan süpernatant yeni bir eppendorf tüpe alınarak süpernatant hacminin 1/10'u kadar NaAc eklendi ve tüpler alt üst edildi.
6. Süpernatant hacmi kadar izopropanol eklenip 1 dk. 12.000 rpm'de santrifüj yapıldı.
7. Tüm çözelti döküldü ve sadece pellet (çökelti) kaldı.
8. Pellet 500 µl TE'de çözülür ve üzerine 5 µl RNase A eklenerek alt üst edilip 37 °C'de 30 dk. inkübe edilip 50 µl NaAc eklenip, alt üst edildi.
9. % 90'lık 1ml etil alkol eklenen tüpler alt üst edildi.
10. - 80 °C'de 10 dk. bekletildi.

11. 13.000 rpm’de 10 dk. santrifüj yapıldı ve üzerinde biriken alkol dökülerek uzaklaştırıldı.
12. % 70’lik etil alkol 1ml etil alkol eklenir ve DNA’nın çözülmesi sağlandı.
13. 12.000 rpm’de 2 dk. santrifüj yapıldı.
14. Etil alkol uzaklaştırıldı ve DNA kurumaya bırakıldı.
15. DNA 200 µl saf su veya 50 µl TE ile çözülerek sonraki çalışmalar için -20 °C’de derin dondurucuda saklandı.

Qiagen kit ile yapılan DNA izolasyonunda üreticinin önerdiği protokol uygulanmıştır.

2.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) deneyleri

PZR deneylerinin tamamında ABI marka veriti 96 well modeli thermocycler kullanılmıştır. PZR deneylerinde kullanılan dNTP mix, 10X taq buffer, Taq DNA polimeraz ve MgCl₂ kimyasalları ise Fermantas firmasından alınmıştır. Etidyum bromür Applichem’den, yükleme boyası ve DNA büyüklük belirleyici ise Fermantas firmasından temin edilmiştir. Ribozomal çekirdek DNA sının fungal ITS1, 5.8S ve ITS2 bölgelerine özgü White vd. (1990) tarafından geliştirilen evrensel ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) ve ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gerçekleştirilmiştir. PZR deneylerinde kullanılan kimyasallar Tablo 2.2.’de verilmiştir. PZR, Tablo 2.3.’te verilen koşullar altında yürütülmüştür.

Tablo 2.2. PZR deneylerinde kullanılan kimyasallar

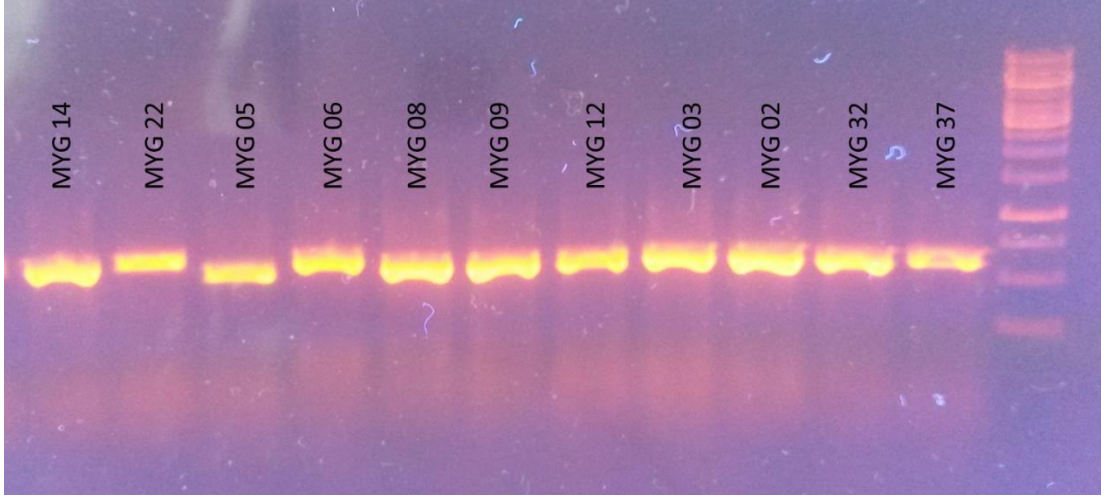
Kimyasal Adı	Miktarı	Konsantrasyon
Taq buffer	2.5 µl	10 X
DNA	0.5-2 µl	-----
MgCl ₂	1.5 µl	25 mM
Primer Forward	2.5 µl	10 µM
Primer Revers	2.5 µl	10 µM
dNTP	0.4 µl	10 mM
dH ₂ O	13-14.8 µl	-----
Taq DNA Polimeraz	0.3-0.6 µl	5 Ünite
TOPLAM	25 µl	

Tablo 2.3. Tüm örnekler için yürütülen PZR koşulları

Denaturasyon	Uzama (35 döngü)	Son uzama aşaması
95°C'de 5 dak.	94°C'de 45 sn 60°C'de 45 sn 72°C'de 2 dk.	72°C, 10 dk.

2.4.3. Agaroz jel elektroforezi

PZR ile çoğaltılmış DNA ürünleri ile izole edilmiş DNA'nın varlığı agaroz jelde yürütüldükten sonra UV ışık altında belirlenmektedir. Jel elektroforezinde DNA moleküler ağırlığına göre ayrılmaktadır. Moleküler ağırlıkları daha büyük olan DNA molekülleri agaroz jelde daha yavaş hareket ederken küçük olanlar daha hızlı hareket etmektedir. Hareket eden DNA'nın boyutu moleküler ağırlık standartlarıyla karşılaştırılarak büyüklüğü hakkında yorum yapılmaktadır. 0,5X TBE hazırlanırken; 54 gr Tris, 27,5 gr borik asit ve 7.44 gr EDTA saf su içerisinde çözündürülmüş, pH 8,3 olarak ayarlanmış ve 1 lt'ye tamamlanarak stok çözelti olan 10X TBE elde edilmiştir. Çalışmalarda daha çok 0.5X TBE kullanılmaktadır. Bu sebeple 10X TBE uygun oranlarda seyreltilerek 0.5X TBE elde edilmiştir. Hazırlanan 0.5X TBE agaroz jel hazırlanırken ve elektroforez esnasında tampon çözelti olarak kullanılmıştır. PZR amplifikasyon ürünleri ve DNA izolatları, %0,8'lik agaroz jelde elektroforetik olarak ayrılmıştır. Agaroz jel 50 ml 0.5x TBE tamponu içinde 0,4 gr agaroz eklenerek ve mikrodalga fırında eritilerek hazırlanmıştır. Ardından 50 °C kadar soğutulup içine 1 µl Etidyum bromid eklenmiş ve kalıba dökülüp katılaşması beklenmiştir. Moleküler ağırlık standardı olarak 100 bç DNA belirteci kullanılmıştır. Belirteç kuyucuklara yüklenirken 3 µl DNA belirteci, 1 µl yükleme boyası kullanılmıştır. Örnekler ise, 1 µl yükleme boyası ve 5 µl örnek DNA'sı karıştırılarak yüklenmiştir. Yüklenen örnekler elektroforez tankına yerleştirildikten sonra 0.5x TBE tamponu içerisinde ~90 voltta 45 dakika boyunca yürütülmüştür. Yürütülen örnekler görüntüleme sistemine yerleştirilerek UV ışık altında fotoğraflanmıştır (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. *Tuber* örneklerine ait PZR sonrası agaroz jel fotoğrafı

2.4.4. Dizi analizi ve BLAST

ITS bölgesinin uzunluğu türe göre değişebilmekle beraber genellikle ortalama 600-800 baz çifti arasında değişmektedir. Buna göre agaroz jel elektroforezinde bu aralıkta bant veren örnekler belirlenmiş dizi analizi için Labbiotek (İzmir) firmasına gönderilmiştir.

Dizi analizi işlemlerinden sonra gelen dizilerin işlenmesi, her bir türe ait olarak gelen ileri (forward) ve geri (reverse) dizilerden kontiglerin elde edilerek her tür için hatasız bir dizi elde edilmesi için BioEdit 7.0.4.1 (Hall, 1999) programı kullanılmıştır. Otomatik dizin belirleyicinin (Sequencher) yanlış okumuş olduğu bazı bazlar, kromatogramdaki (videogram) dalgaların güçlülüğüne ve temizliğine bakılarak el ile görsel olarak düzeltilmiştir.

Diziler BioEdit programından alınıp NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi - National Center of Biotechnology Information) internet sitesindeki homoloji araştırma programı olan nükleotid BLAST yoluyla Genbankası'ndaki dizilerle karşılaştırılmıştır. Genbankasına farklı araştırmacılar tarafından yüklenmiş dizilerle benzerlik ve kapsama alanı en yüksek oranda eşleşen örneklerle ait diziler Genbank formatında indirilmiştir. Aynı türlere ait Genbanktan alınan dizilerle elimizdeki örneklerle ait diziler birlikte Bioedit programında açılıp kontigleri elde edilmiştir. Eşleşmeyen uç kısımlar kesilip düzenlenmiştir. Sonrasında diziler burdan alınıp

Word dosyasına taşınmış örnek numarası ve ülkeleri düzenlenip filogenetik soy ağaçları oluşturmak için MEGA7 (Kumar vd., 2016) programına taşınmıştır.

2.4.5. Filogenetik analiz

Filogenetik ağaçları elde etmek, türler arasındaki akrabalık ilişkilerini belirlemek amacıyla MEGA 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Kumar vd., 2016) filogenetik analiz programı kullanılmıştır. Filogenetik ağaçlar Neighbor-Joining metodu kullanılarak oluşturulmuştur (Saitou ve Nei, 1987). 1000 tekrarlı gerçekleştirilen soy ağaçlarının her bir dalının istatistiksel olarak değerlendirildiği Bootstrap testinin yüzde değerleri (Felsenstein, 1985) bir araya getirilen ilgili takson dallarının yanında gösterilmektedir. Evrimsel mesafeler Maximum Composite Likelihood yöntemi (Tamura vd., 2004) kullanılarak hesaplanmıştır. Bootstrap değeri % 0 ile %100 arasındadır. Kress'in belirlediği bootstrap destek değerlerine göre her bir dalın aldığı değer, > %85 ise çok güçlü, %70-85 arası ise güçlü, %50-70 arası zayıf ve < %50 ise çok zayıf şeklindedir (Kress, 2005). Bootstrap değerinin % 70 ve daha büyük oluşu genellikle dalın güçlü olduğunu gösterir. Ayrıca mesafe (distance) temelli yöntemlerden UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) metodu ve ağaç üzerinde bulunan her taksonun evrimsel olarak önceliğini belirten NJ (Neighbor Joining) analizleri ile tüm türleri kapsayan toplu soyağaçları elde edilmiştir. Filogenetik analizlerde dış grup olarak kullanılmak üzere toprakaltı takson olan Basidiomycetes sınıfına ait *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr. türünün dizisi Genbanktan alınmıştır. Bu çalışmada incelenen örneklerin dizileri Genbank ile kıyaslandığında en yüksek benzerlik (%92-99) ve kapsama alanı (%96-100) oranına sahip türlerin dizileri indirilip her tür için ayrı ayrı veya aynı grupta olan türler için birarada soy ağaçları oluşturulmuştur. Gen bankasından alınan ITS dizilerine ait Genbank erişim numaraları Tablo 2.4.'te verilmiştir.

Tablo 2.4. Genbank dizilerine ait erişim numaraları ve bölge bilgileri

TÜR	ERİŞİM NO	BÖLGE	REFERANS
<i>Rhizopogon roseolus</i>	DQ179127	İsveç	Yayınlanmamış
<i>Tuber aestivum</i>	DQ388878	Fransa	Yongjin vd., 2006
	FM205620	İspanya	Yayınlanmamış
	AJ492216	İspanya	Mello vd., 2002
	HQ706003	Slovakya	Gryndler vd., 2011
	HQ285310	Slovakya	Gryndler vd., 2011
	AF516787	İtalya	Paolocci vd. 2004
	AF516781	İtalya	Paolocci vd. 2004
	AY226037	İtalya	Paolocci vd. 2004
	AF516789	İtalya	Paolocci vd. 2004
	HQ285292	Çek Cumhuriyeti	Gryndler vd., 2011
<i>Tuber mesentericum</i>	FM205536	İspanya	Yayınlanmamış
	FM205535	İspanya	Yayınlanmamış
<i>Tuber brumale</i>	JF926118	Almanya	Stobbe vd., 2012
	KM659875	Fransa	Roux vd., 2016
	FM205538	Hırvatistan	Yayınlanmamış
	AF106880	İtalya	Yayınlanmamış
	JF693893	Macaristan	Yayınlanmamış
	FM205660	Sırbistan	Marjanovic vd., 2010
	FM205551	Slovenya	Marjanovic vd., 2010
<i>Tuber indicum</i>	EU807976	İtalya	Yayınlanmamış
	AF106884	İtalya	Yayınlanmamış
<i>Tuber melanosporum</i>	AF106875	İtalya	Yayınlanmamış
	KM659870	Fransa	Roux vd., 2016
<i>Tuber borchii</i>	FJ554465	İtalya	Bonuso vd., 2010
	KT165330	İtalya	Belfiori vd., 2016
	AF250291	İtalya	Zeppa vd., 2000
	KT165350	İtalya	Belfiori vd., 2016
	KT165348	İtalya	Belfiori vd., 2016
<i>Tuber dryophilum</i>	HM485354	İtalya	Bonito vd., 2010a
	JQ925644	İtalya	Bonito vd., 2013
<i>Tuber excavatum</i>	HM152012	İtalya	Yayınlanmamış
	HM152013	İtalya	Yayınlanmamış
	FM205662	Sırbistan	Marjanovic vd., 2010
	FM205556	Slovenya	Yayınlanmamış
	FM205555	Slovenya	Yayınlanmamış
<i>Tuber fulgens</i>	HM151976	Avusturya	Yayınlanmamış
	FM205702	Sırbistan	Marjanovic vd., 2010
	HM152016	Macaristan	Yayınlanmamış
<i>Tuber badium</i>	NR155922	Çin	Wan vd., 2017
<i>Tuber neoexcavatum</i>	NR153211	Çin	Yayınlanmamış
<i>Tuber ferrugineum</i>	KX354297	Almanya	Schiebold vd., 2017
	AF132506	Fransa	Roux vd., 1999

Tablo 2.4. (devam)

TÜR	ERİŞİM NO	BÖLGE	REFERANS
<i>Tuber nitidum</i>	JX402092	Fas	Alvarado vd., 2012
	JX402090	İspanya	Alvarado vd., 2012
	JX402091	İspanya	Alvarado vd., 2012
<i>Tuber oligospermum</i>	KX354290	Almanya	Schiebold vd., 2017
	FM205683	Macaristan	Marjanovic vd., 2010
<i>Tuber rufum</i>	FM205603	İspanya	Yayınlanmamış
	EF362475	İtalya	Iotti vd., 2007
	KX438360	Polonya	Yayınlanmamış
	FM205682	Sırbistan	Yayınlanmamış
<i>Tuber puberulum</i>	JF908746	İtalya	Osmundson vd., 2013
	FM205643	Sırbistan	Marjanovic vd., 2010
	FM205695	Sırbistan	Marjanovic vd., 2010
	FN433156	Slovenya	Yayınlanmamış

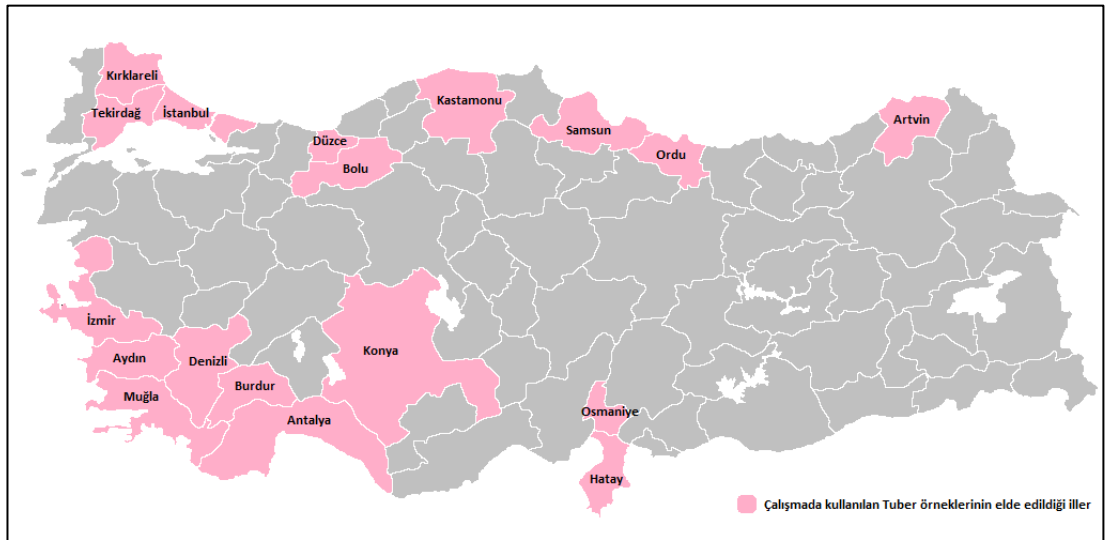
3. BULGULAR VE İRDELEME

Zengin biyoçeşitliliğe sahip, üç fitocoğrafik bölgeye konumlanmış ve çeşitli iklim tiplerinin görüldüğü Türkiye’de doğal olarak yetişen ve biyolojik zenginliklerimizden olan ekonomik değeri yüksek bazı *Tuber* türlerinin ülkemizdeki çeşitliliği morfolojik karakterler ve moleküler teknikler kullanılarak tespit edilmiştir.

3.1. Morfolojik Bulgular

Bu tez çalışması 18 il 29 lokaliteden elde edilen 50 adet *Tuber* örneği üzerinde yapılan morfolojik ve moleküler çalışmaları kapsamaktadır (Şekil 3.1.). İncelenen örneklerin toplandığı lokalitelere ait bilgiler Tablo 3.1.’de verilmiştir.

Örnekler morfolojik olarak incelendiğinde dokuz tür tespit edilmiştir. Bunlar; *Tuber aestivum*, *T. borchii*, *T. brumale*, *T. excavatum*, *T. ferrugineum*, *T. mesentericum*, *T. nitidum*, *T. puberulum* ve *T. rufum*’dur. Çalışmada kullanılan taksonların makroskobik ve mikroskobik özellikleri ile habitat ve lokalite bilgilerini içeren deskripsiyonları, resimleri ile desteklenerek alfabetik sıralı halde verilmiştir. Örneklerin taksonomik konumlarının verilisinde Kirk ve Cannon (2008) takip edilmiştir.



Tablo 3.1. Örneklere ait lokalite, koordinat ve yükselti bilgileri

No	Lokalite (il)	Lokalite (ilçe- Köy vs.), Koordinat, Rakım
1	Antalya	Akseki Orman İşletme Müdürlüğü, 37°02' K, 31°47' D 1080 m
2	Antalya	Korkuteli Yazır-Güzle köyü arası, 36°57' K, 30°18' D 1282 m
3	Artvin	Saçinka Acısu Mevkii 41°11' K, 41°53' D 1287 m
4	Aydın	Dilek yarımadası Aydınlık koyu, 37°42' K, 27°10' D 35 m
5	Aydın	Kuyucak İçdecik köyü, 37°58' K, 28°34' D 1173 m
6	Bolu	Mengen Elemen Köyü, 40°53' K 31°53' D 991 m
7	Burdur	Bucak Beşkonak köyü, 37°25' K 30°40' D 904 m
8	Denizli	Bozkurt İnceler köyü, 37°42' K 29°33' D 1248 m
9	Denizli	Buldan Süleymanlı buldan Asri Mezarlığı, 38°02' K 28°50' D 539 m
10	Denizli	Honaz yukarıdağdere köyü Saklıgöl, 37°46' K 29°23' D 1000 m
11	Denizli	Pamukkale Kurtluca köyü, 37°59' K 29°12' D 1270 m
12	Denizli	Serinhisar Yatağan beldesi, 37°37'28"K 29°23'04"D 1200 m
13	Denizli	Tavas Nikfer Şahman yaylası, 37°24' K 29°14' D 1433 m
14	Düzce	Cumayeri Yeni yaka mah. Sırtpınar köyü, 40°53' K 30°56' D 430 m
15	Hatay	İskenderun Arsuz köyü, 36°24' K 35°52' D 45 m
16	İstanbul	Çatalca İstiranca Dağları Kuzey Ormanları Binkılıç köyü, 41°29' K 28°14' D 138 m
17	İzmir	Urla Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü kampüsü, 38°21' K 26°49' D 70 m
18	Kastamonu	Küre Akyol Tünel mevkii 41°48' K 33°42' D 855 m
19	Kırklareli	Koçaz köyü, 41°56' K 27°11' D 660 m
20	Konya	Akşehir, 1190 m
21	Muğla	Dalaman Darıyeri Köyü, 36°50' K 29°04' D 1040 m
22	Muğla	Fethiye Çenger, 36°40' K 29°07' D 694 m
23	Muğla	Fethiye Gökben Köyü, 36°35' K 29°15' D 445 m
24	Muğla	Ula Çiçekli yolu üzeri MYO geçince, 37°06' K 28°26' D 678 m
25	Ordu	Fatsa Beyceli Mahallesi, 40°52' K 37°21' D 434 m
26	Osmaniye	Karatepe köyü, 37°15' K 36°13' D 300 m
27	Osmaniye	Zorkun yaylası Çiftmazı piknik alanı, 37°01' K 36°17' D 715 m
28	Samsun	Çarşamba Köklü köyü, 41°15' K 36°42' D 40 m
29	Tekirdağ	Saray Ergene merası, 41°21' K 27°06' D 55 m

3.1.1. *Tuber* türlerine ait isimlendirme anahtarı

1. Peridyum düzgün veya siğilli-tomurcuklu, piramit şeklinde siğiller yok, açık renklerde koyu sarı- kahverengi-kırmızı (**açık renkli trüfler**)..... 2
2. Fruktifikasyon organı dip kısmında geniş ve derin oyuklu *T. excavatum*
- 2.* Fruktifikasyon organında belirgin bir bazal oyuk yok. 4
- 4*.Sporlar sivri uçlu iğneli şekilde süslenmiş..... 5
5. Yüzeyi pürüzsüz, kirli beyaz soluk sarı renkte, spor spin uzunluğu $\leq 1,5 \mu\text{m}$, spinlerin dip kısımları arasında yer yer bağlantılar var *T. nitidum*
- 5*. Yüzeyi belirgin tomurcuklu ve biraz siğilli, sarımsı -kırmızımsı kahverengi6
7. Askokarp sarımsı kahverengi, spin uzunluğu $1,8-2,5 \mu\text{m}$ arasında*T. rufum*
- 7.* Askokarp kırmızımsı kahverengi, spin uzunluğu $2,5 -4 \mu\text{m}$ *T. ferrugineum*
- 4.' Sporlar ağsı şekilde süslenmiş..... 8
- 8.* Sporlar geniş elips şeklinde, peridyumda seyrek sistidya var *T. borchii*
8. Sporlar küremsi, Peridyumda yoğun sistidya var *T. puberulum*
- 1.* Peridyum piramit benzeri siğillerle kaplı, en az 1-2 mm genişliğinde, her zaman koyu kahverengi-kırmızıdan siyahımsı kahverengi-siyah renklerde (**siyah renkli trüfler**) 9
- 9.* Olgun gleba fındık kahverenginde, ince damarlı yapıda, retikülat sporlu10
9. Olgun gleba grimsi kahverengi, kalın damarlı yapıda, spinat sporlu *T. brumale*
- 10.*Fruktifikasyon organı az ya da çok belirgin bir bazal oyuklu *T. mesentericum*
10. Fruktifikasyon organında bazal oyuk yok*T. aestivum*

3.2. *Tuber* Cinsinin Sistematiği

Regnum: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clasis: Pezizomycetes

Ordo: Pezizales

Familia: Tuberaceae

Genus: *Tuber* P. Micheli ex F.H. Wigg.

3.2.1. *Tuber aestivum* (Wulfen) Spreng

Sinonim;

Hymenangium aestivum (Wulfen) Rabenh.

Lycoperdon aestivum Wulfen

Tuber aestivum Vittad.

Tuber blotii Eudes-Desl.

Makroskopik özellikler

Askokarpları küresimsi, yuvarlak şekildedir. 2-10 cm büyüklüğünde olup sıkı, sert ve sağlam yapılıdır. Yüzeyi tüysüzdür ve siyahımsı kahverenginde, bariz bir şekilde piramitlere benzeyen basık siğillerle kaplıdır. Bu siğiller çok köşelidir ve genelde 4-6 köşesi bulunur. 2-4 (-6) mm çapında 1-2 mm yüksekliğindedir. Siğillerin üzerindeki 3-5 adet dikey oluklar üstten bakıldığında merkezden yayılan yatay çizgilerle ayrılmış parçalar halinde görünmektedir. Kokusu olgunlaştıkça keskinleşen fenolik, maya benzeri hoş bir kokudur. Gleba oldukça sıkı, olgun olmayan örneklerde kirli beyaz, olgunlaştıkça koyu fındık kahverengiye döner ve kıvrımlanarak dallanmış sayısız ince beyaz damarlar ile mermerimsi görünüm almaktadır (Şekil 3.2.a).

Mikroskopik özellikler

Peridyum 2 tabakalı, dış tabaka 70-140 µm kalınlıkta ve yoğun yerlerde koyu kahverengindedir. Genişlemiş, köşeli psödoparankima hücreleri 5-12.5 µm boyutlarındadır ve 1.5-3 µm kalınlığında kahverengi duvarlıdır. Bu tabaka bir yerde hiyalin ve daha büyük hücrelere dönüşür ve bu kısım, hiyalin, ince duvarlı, 3-6 µm genişliğinde hiflerden oluşan 100-450 µm kalınlıktaki prozenkimatik iç tabaka ile kaynaşmaktadır (Şekil 3.2.b). Gleba ise 2.5-4 µm genişliğinde, yaklaşık 1 µm duvarlı içiçe geçmiş hiflerden oluşmaktadır. Askuslar 1-6 sporlu, elips ya da küresimsi şekillerde, 10-13 µm genişliğinde 12-19 µm uzunluğunda saplı, sap kısmı hariç 60-68 × 70-78 µm boyutlarındadır (Şekil 3.2.c). Askosporlar elips ya da geniş elips şeklinde, altın sarımsı kahverenginde, duvar kalınlığı 1-2 µm olan ağsı-peteksi süslere sahiptir. Sporun ekseni boyunca 3-5 düzensiz ağ gözü vardır. Ağ gözleri 5.4-12 µm boyutlarındadır. Ağ gözlerinin spor çevresinde oluşturduğu iğne şeklindeki yapıların uzunluğu (retiküler spin) 2.8-4.7 µm arasındadır. Spor boyutları (Ornamentasyon hariç) genel olarak (16-) 18.8-29.7 (-35) × 24.6-37.8 (-45) µm boyutlarındadır. 1 sporlu askus içinde bulunanlar 27.6-35 × 32-45 µm, 2 sporlu 22.5-29.8 × 28-32.8 µm, 3 sporlu 23-31 × 26.5-33.5 µm, 4 sporlu 21.6-25.6 × 24.6-32 µm,

5 sporlu 18.8-24 × 26.6-30 µm, 6 sporlu 18-20 × 23-27 µm boyutlarındadır (Şekil 3.2.d,e,f).

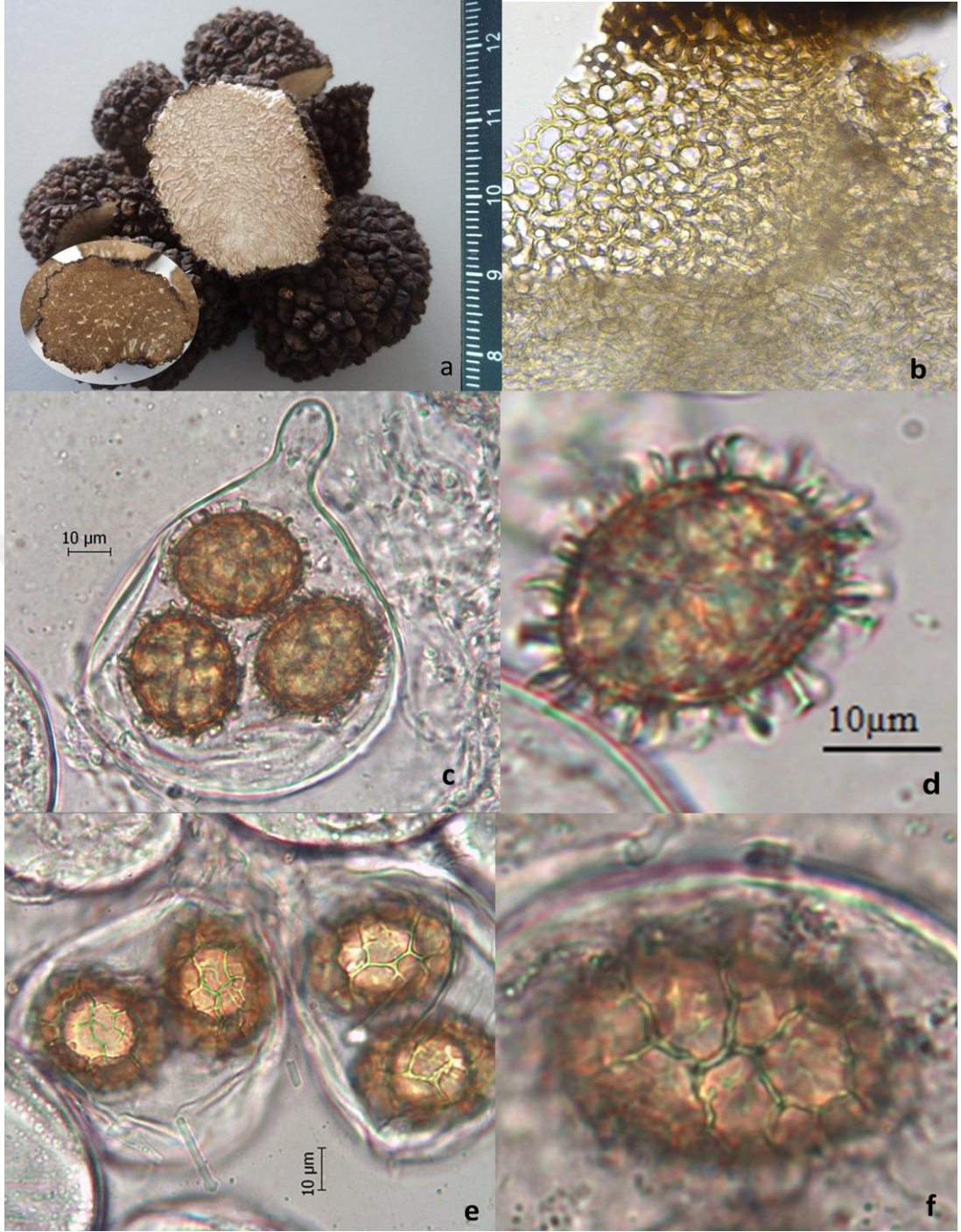
Habitatı: *Tuber aestivum* türleri yaygın olarak *Pinus*, *Quercus* ve *Corylus* türleriyle ektomikorizal ilişki kurmaktadır. *Fagus*, *Carpinus* türlerinin de bulunduğu karışık ormanlarda daha yaygın bulunmaktadır. Yazlık trüf olarak bilinen bu tür Nisan ayından Aralık ayına kadar bulunabilmektedir. En verimli aylar Nisan, Mayıs, Haziran ve Temmuz aylarıdır.

Çalışılan örnekler: Denizli, Pamukkale, Kurtluca köyü (Lokalite 11), *Pinus nigra* 14.05.2013, MYG 14; Hatay, İskenderun, Arsuz köyü (Lokalite 15), *Pinus brutia*, *Quercus coccifera*, 05.06.2013, Uğur Demirbilek, MYG 15, MYG 16; Burdur, Bucak, Beşkonak köyü, (Lokalite 7), *Pinus brutia*, *Quercus coccifera*, 20.06.2013, Mustafa Turunçoğlu, MYG 18, MYG 19; İstanbul, Çatalca, İstiranca dağları kuzey ormanları, Binkılıç köyü (Lokalite 16), *Corylus avellana*, *Pinus nigra*, *Quercus ithaburensis*, *Q. frainetto*, 28.08.2013, Kadir Ceryan, MYG 22; Kırklareli, Kofçaz köyü (Lokalite 19), *Quercus cerris*, *Pinus nigra*, *Carpinus* sp., 08.09.2013, Bahadır Çetinkaya, MYG 23; Ordu, Fatsa, Beyceli mahallesi, (Lokalite 25) *Corylus avellana*, 23.10.2013, Mehmet Yücel, MYG 24; Bolu, Mengen, Elemen köyü (Lokalite 6), *Pinus nigra*, *Quercus* spp., 01.11.2013, Tolga Keser, MYG 25; Artvin, Saçinka Acısu mevkii (Lokalite 3), *Picea orientalis*, *Fagus orientalis*, *Carpinus betulus*, 30.12.2013, MYG 29; Antalya, Akseki, Orman İşletme Müdürlüğü bahçesi (Lokalite 1), *Tilia rubra*, 31.05.2014, Esra Er, MYG 45; Muğla, Dalaman, Darıyeri Köyü (Lokalite 21), *Quercus cerris*, *Q. coccifera*, *Pinus brutia*, *Cedrus libani*, 31.05.2014, Süleyman Türkmen, MYG 46; Osmaniye, Karatepe köyü (Lokalite 26), *Pinus brutia*, *Quercus coccifera*, 03.06.2014, Kadir Bazlıca, MYG 47; Düzce, Cumayeri, Yeni yaka mahallesi, Sırtpınar köyü, (Lokalite 14), *Corylus avellana*, 04.06.2014, MYG 48. İzmir, Urla, Ege ormancılık Araştırma Enstitüsü kampüsü (Lokalite 17), *Pinus brutia*, 11.04.2013, Cemhan Bucak, MYG 07.

Ülkemizdeki yayılışı: *Tuber aestivum* türü ülkemizde Denizli (Gezer vd., 2014; Türkoğlu vd., 2015), Artvin, Bolu, Burdur, Antalya, Düzce, Hatay, İstanbul, İzmir, Kırklareli, Muğla, Ordu, Osmaniye (Türkoğlu vd., 2015) ve Konya (Alkan vd., 2018) illerinde yayılış göstermektedir.

Siyah trüflerden olan *Tuber aestivum* türüne ait askokarplar peridyumunun kaba piramit şeklinde siğillerle kaplı olması ve glebanın ince, koyu fındık kahverengi ve

kirli beyaz damarlı mermer görünümünden ayırt edilebilmektedir. Benzer morfolojiye sahip *T. mesentericum* türü ise topraktan çıktığında olgun ise yoğun tüp gazı benzeri kokusu ve dip kısmında bulunan derin oyuk ile *T. aestivum*dan ayırt edilebilmektedir. *T. aestivum* ve *T. mesentericum* sporları birbirine oldukça benzerdir sadece *T. mesentericum* sporları nispeten daha büyük ve düzensiz çokgen şekilde ağsı süslere sahiptir (Montecchi ve Sarasini 2000). Bir diğer siyah trüf olan ve benzer şekilde siğillerle kaplı *T. brumale* ise siğillerin nispeten küçük oluşu, glebanın grimsi ve daha koyu renkli olması ve geniş beyaz damarlı mermer görüntüsüne sahip olması nedeniyle ilk bakışta *T. aestivum*'dan ayırt edilmektedir. Mikroskopik açıdan ise *T. brumale* sporlarının spinat (iğne şeklinde spinler ile süslü) olması ile ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000, Trappe vd. 2007, Rioussset vd. 2001).



Şekil 3.2. *Tuber aestivum*. a. Askokarp, b. Peridyum, c-e. Askus, d-f. Askospor

3.2.2. *Tuber mesentericum* Vittad.

Sinonim;

Tuber aestivum var. *mesentericum* (Vittad.) E. Fisch.

Tuber culinare var. *mesentericum* (Vittad.) Zobel

Makroskobik Özellikler

Askokarp 2-4 cm büyüklüğünde, subgloboz veya düzensiz şekillerde olup oyuk bulunmaktadır. Yüzeyinde siyahımsı kahverengiden siyaha dönük renkte olup keskin piramit şeklinde siğiller bulunmaktadır. Siğiller 4-6 kenarlı, 2-4 mm genişliğindedir. Düzensiz çokgen şeklinde olup yüzeylerinde genellikle merkezden yayılan küçük oluklar bulunmaktadır. Gleba ilk başta kirli beyaz renkte sonrasında kahverengi olup kirli beyaz ve kahverengi damarlı mermer görünümü almaktadır (Şekil 3.3.a).

Mikroskobik Özellikler

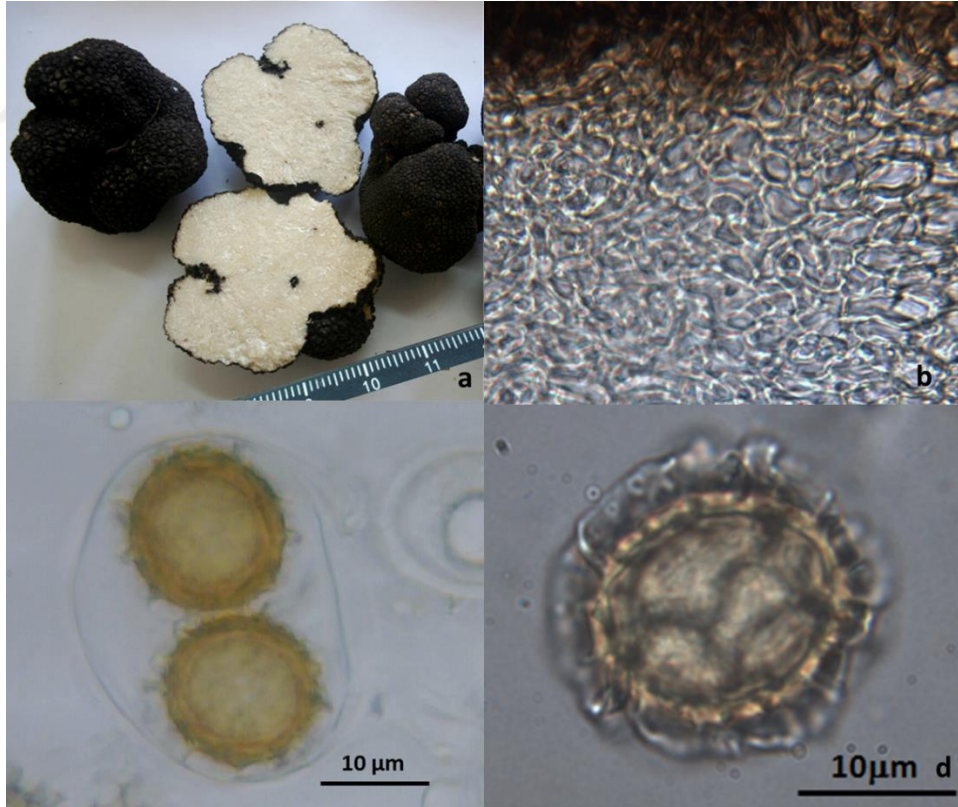
Peridyum 220-550 µm kalınlığında olup 2 tabakalıdır: Dış tabaka 50-150 µm kalınlığında, siyahımsı kahverengidir, genişlemiş hücreler hiyalin olup köşeli yapıdaki hücreler 10-20 × 5-10 µm boyutlarında, ± 2 µm kalınlığındaki hücre duvarına sahiptir; iç tabaka 150-400 µm kalınlığında, kirli beyaz renkte olup ± 2 µm kalınlığında hücre duvarlı, 3.5-6 µm genişliğinde, hiyalin hiflerin oluşturduğu iç içe dokunmuş yapıdadır (Şekil 3.3.b). Gleba 3.5 - 7 µm genişliğinde, ± 1 µm kalınlığında hücre duvarına sahip, hiyalin hiflerin oluşturduğu iç içe dokunmuş yapıdadır. Askuslar 55-75 × 40-60 µm boyutlarında, ± 2 µm kalınlığındaki hücre duvarıyla kısa saplı kese biçimindedir, 1-4 sporludur (Şekil 3.3.c). Askosporlar spor süsleri hariç (22) 26-35 (38) × 21-30 (36) µm aralığındadır. Askus içerisindeki sayılarına göre 1 sporlular (27) 30-33 (38) × (23) 27-36 µm, 2 sporlular 26-35 × 23-28 (36) µm, 3 sporlular (26) 28-33 × (23-) 26-30 µm, 4 sporlular 22-29 × 21-25 µm boyutlarındadır. Nadiren globoz şekildedir. Ancak genellikle elips veya genişçe elips şeklinde, sarımsı kahverengidir, uzunluğu 5.5 µm'ye çıkan, ağsı ve petekli yapılarla süslenmiş, spor eksenine boyunca 3-5 adet ağ gözü mevcuttur (Şekil 3.3.d).

Habitatı: Kireçli topraklarda, genellikle *Pinus* ve *Quercus* türlerinin karışık bulunduğu ormanlarda yayılış göstermektedir. Yaz aylarında ve sonbaharın başlangıcına kadar bulunabilmektedir.

Çalışılan örnekler: Denizli, Bozkurt, İnceler köyü (Lokalite 8), *Pinus nigra*, *Quercus coccifera*, *Q. cerris*, 15.06.2012, MYG 04.

Ülkemizdeki yayılışı: Castellano ve Türkoğlu (2012) *Tuber mesentericum* türünü Denizli ilinden yayılış gösterdiğini bildirmiştir.

Siyah trüflerden olan *Tuber mesentericum* türüne ait askokarplar derin bir oyuk bulundurmalarıyla diğer türlerden ayrılmaktadır. Peridyumunun kaba piramit şeklinde siğillerle kaplı olması ve glebanın fındık kahverengi olmasıyla *T. aestivum* türüne benzese de topraktan çıktığında olgun ise yoğun tüp gazı benzeri kokusu ile *T. aestivum*dan ayırt edilebilmektedir. Mikroskobik açıdan ise *T. mesentericum* sporları nispeten daha büyük ve düzensiz çokgen şekilde ağsı süslere sahiptir (Montecchi ve Sarasini 2000). Benzer şekilde siğillerle kaplı *T. brumale* ise glebanın grimsi ve daha koyu renkli olması ve geniş beyaz damarlı mermer görüntüsüne sahip olması nedeniyle makroskobik açıdan *T. mesentericum*'dan ayırt edilmektedir. Mikroskobik açıdan ise *T. brumale* sporlarının spinat, *T. mesentericum* sporlarının ise retikülat olması ile ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000, Trappe vd. 2007, Rioussset vd. 2001).



Şekil 3.3. *Tuber mesentericum*. a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor

3.2.3. *Tuber brumale* Vittad.

Sinonim:

Hyperrhiza moschata (Bull.) Kuntze

Oogaster brumalis (Vittad.) Corda

Tuber moschatum Bull.

Makroskobik Özellikler

Askokarplar 2-5 cm çapında, yuvarlak, genellikle hafif basık şekilde, yüzeyi siyah, siyahımsı kahverenginde köşeli, piramit ve çokgen genellikle altıgen, iri siğillerle kaplıdır. Siğiller 1-2.5 mm genişliğindedir. Merkezde hafifçe basık ve genellikle merkezden dışa doğru yayılan oluklar bulunmaktadır. Gleba ilk başta kirli beyaz olgunlaştığında koyu kahverengi verimli tabaka üzerinde krem renkli, geniş damarları bulunan mermerimsi bir görünümü almaktadır. Sarımsak aromalı bir kokuya sahiptir (Şekil 3.4.a).

Mikroskobik Özellikler

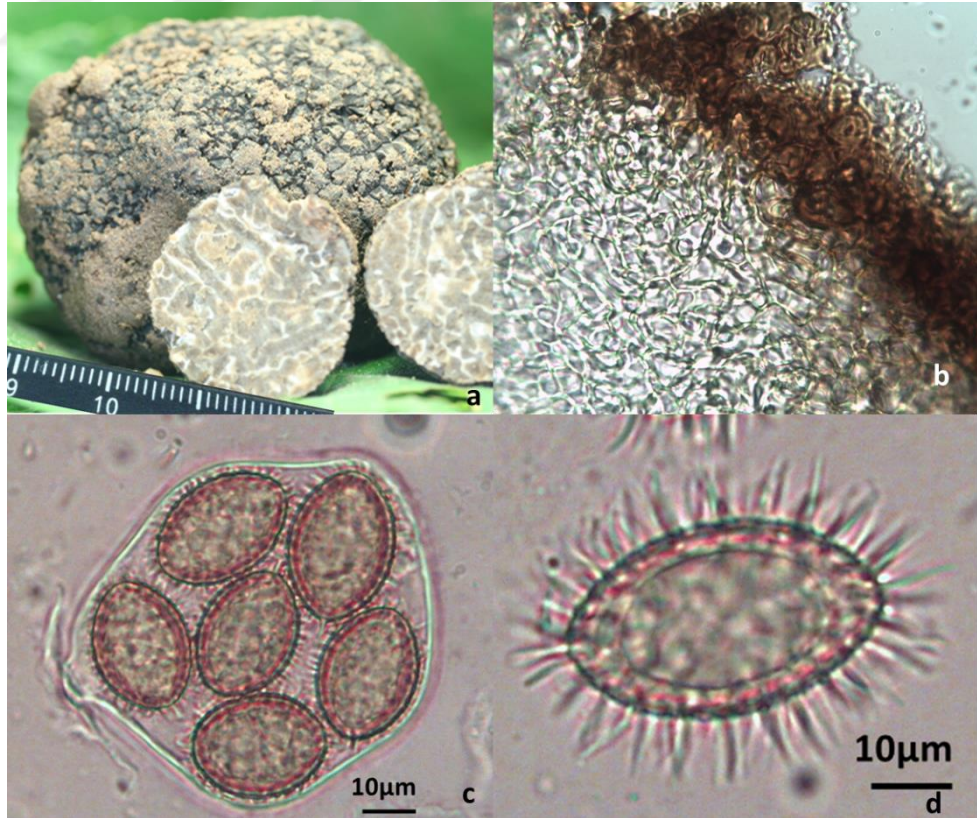
Peridyum 60-150 µm kalınlığında olup 3 tabakalıdır, dış tabaka 20-60 µm kalınlığındadır. Psödoparankimatik yapıda olan bu tabaka turuncu kahverengi duvarlı 10-15 × 25-30 µm boyutlarındaki hücrelerden oluşmuştur. Yaklaşık 2 µm kalınlığındaki duvarlar neredeyse hücreler içini doldurmuş gibi görünmektedir. Orta tabaka 40-90 µm kalınlığında, kirli beyaz veya sarımsı kahverengidir, hiyalin hücreler dış tabakaya nispeten daha küçük boyutlarda olup yaklaşık 2 µm kalınlığında hücre duvarına sahiptir. İç tabaka kirli beyaz veya sarımsı kahverengidir, prozenkimatik yapıda olup 3-6 µm genişliğinde, yaklaşık 1 µm kalınlığında hücre duvarına sahip iç içe geçmiş hiyalin hiflerden oluşmaktadır (Şekil 3.4.b). Gleba 4-8 µm genişliğinde, yaklaşık 1 µm kalınlığında hücre duvarına sahip iç içe geçmiş hiyalin hiflerden oluşmaktadır. 10-12 µm genişliğinde hücreler de bulunmaktadır. Askuslar 40-70 × 50-80 µm boyutlarında, küresel bazen geniş elips şeklinde, sapsız ya da çok kısa saplı, 2-3 µm kalınlığında hücre duvarına sahiptir. 1-6 sporludur (Şekil 3.4.c). Askosporlar elips şeklinde, altın kahverengi bazen koyu kahverenginde, ince ve esnek dikenlerle süslüdür. Spor süsleri hariç genel olarak 14-27 × (-20) 30-50 µm boyutlarındadır. Askus içindeki sayılarına göre 1 sporlular 20-27 × 32-47 (50) µm, 2 sporlular 19-27 × 29-41 µm, 3 sporlular 20-27 × 26-45 µm, 4 sporlular 16-23 × 23-36 µm, 5 sporlular 16-22 × 23-36 µm, 6 sporlular 14-21 × 20-30 µm boyutlarındadır. Dikenler 4-8 µm uzunluktaki, keskin sivri uçludur (Şekil 3.4.d).

Habitatı: Genellikle *Corylus* türlerinin bulunduğu ormanlarda olmak üzere *Pinus* türleriyle karışık ormanlarda yayılış göstermektedir. Eylül ayından Mart ayına kadar bulunabilmektedir.

Çalışılan örnekler: Osmaniye, Zorkun yaylası, Çiftmazı piknik alanı (Lokalite 27), *Pinus brutia*, 23.01.2013, MYG 05; Samsun, Çarşamba, Köklü köyü (Lokalite 28), *Corylus avellana*, 12.11.2012, MYG 06.

Ülkemizdeki yayılışı: Niğde (Öztürk vd. 1997), Denizli (Gezer vd., 2014), Osmaniye ve Samsun'da (Türkoğlu ve Castellano, 2014) yayılış göstermektedir.

Peridyumu siğillerle kaplı siyah trüflerden olan *T. brumale* siğillerin nispeten küçük oluşu, glebanın grimsi ve daha koyu renkli olması ve geniş beyaz damarlı mermer görüntüsüne sahip olması nedeniyle makroskobik olarak *T. aestivum* ve *T. mesentericum*'dan ayırt edilebilmektedir. Ayrıca askokarpta oyuk bulunmamaktadır. Bu özellik ile *T. mesentericum*'dan ayrılmaktadır. Mikroskobik açıdan ise *T. brumale* sporlarının spinat (iğne şeklinde spinler ile süslü) olması *T. aestivum* ve *T. mesentericum*'dan ayırt edilebilmektedir (Montecchi ve Sarasini 2000, Trappe vd. 2007, Rioussset vd. 2001).



Şekil 3.4. *Tuber brumale*. a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor

3.2.4. *Tuber borchii* Vittad.

Sinonim;

Rhizopogon borchii (Vittad.) Rabenh.

Tartufa albida (Picco) Kuntze

Tuber albidum Picco

Makroskobik Özellikler

Askokarp 2-4 (6) cm büyüklüğünde, patatese benzeyen yuvarlak şekilde olup yüzeyi hafif kadifemsidir. Stereomikroskop altında incelendiğinde özellikle boşluk ve çöküntü olan kısımlarda tüyler daha belirgindir. Olgunlaştıkça yüzeyinde çatlaklar oluşabilir. Genç örnekler daha açık renktedir fakat olgunlaştıkça koyulaşarak kahverengine döner. Genellikle sarımsı kahverengi veya koyu kırmızı noktalı kırmızımsı kahverengi gibi çeşitli renklerde olabilmektedir. Gleba ilk başta beyazımsı bej renkte, olgunlaştıkça koyu kırmızımsı kahverengidir. Birbirleriyle bağlantılı, dağınık dallanmış, geniş beyaz damarlar bulunmaktadır. Bu haliyle mermere benzemektedir. Olgun örneklerde askusların kümelenerek oluşturduğu küçük kahverengi küreler büyüteç ile görülebilmektedir. Kokusu yoğundur ve tatlımsıdır (Şekil 3.5.a).

Mikroskobik Özellikler

Peridyum hiyalin ve 2 tabakalıdır, dış tabaka 55-85 µm kalınlığında kırmızımsı kahverengi pigmentli geniş hücrelerden oluşmaktadır. Psödoparankimatik yapıda olan bu tabakanın hücrelerinin boyutları 9-19 × 12-21 µm arasında değişmekte olup duvar kalınlığı 1,8-3 µm arasındadır. Yer yer görülen dermatosistidya yapıları dip kısımdan uca kadar aynı genişliktedir fakat bazıları uca doğru incelmektedir. 50-80 µm boyunda ve 3-5 µm genişliğindedir. İç tabaka 100-150 µm kalınlığında, hiyalin, yaklaşık 1 µm kalınlığında duvarlı, geniş ve karışmış haldeki hiflerden oluşmaktadır. Hifler 4,5- 9 µm genişliğindedir ve çok sayıda bölmelidir (Şekil 3.5.b). Gleba 3-8 µm genişliğinde, yaklaşık 1 µm kalınlığında hücre duvarlı, iç içe geçmiş hiflerden oluşmuştur. Askuslar elips şeklinde yuvarlak sap kısmı hariç 65-83 × 73-86,5 µm boyutlarında, sap kısmı 33,5 µm'ye kadar uzunluktadır. 1,3-1,8 µm kalınlığında hücre duvarına sahiptir, glebal hiflerin arasında matriks içerisinde gömülüdür, genellikle 1-4 spordur nadiren 5-6 sporlu askuslarda bulunmaktadır (Şekil 3.5.c). Askosporlar geniş elips şeklinde, sarımsı kahverengi, kırmızımsı kahverengindedir. Sporların boyutları spor süsleri hariç genel olarak, 24,5 - 35 (-40,5) × (30-) 35-45 (-53) µm aralığındadır. Askus içindeki sayılarına göre boyutları değişmektedir.

Buna göre; 1 sporlularda $28.5-41 \times 36.5-53 \mu\text{m}$, 2 sporlularda $30.5-35.5 \times 36.5-44.5 \mu\text{m}$, 3 sporlularda $26-32 \times 34.5-42 \mu\text{m}$, 4 sporlularda $27-30 \times 36-45 \mu\text{m}$, 5 sporlularda $27.5-29 \times 36-45 \mu\text{m}$, 6 sporlularda $24.5-26 \times 29.5-30.5 \mu\text{m}$ boyutlarındadır. Sporlar ağsı-gözenekli süslere sahiptir. Bu gözenekler çokgen şeklindedir ve spor eksenine boyunca (4) 7-8 (10) adet gözenek bulunmaktadır. Gözeneklerin büyüklüğü $4.5-9.5 \mu\text{m}$ aralığındadır. Gözeneklerin spor çevresinde oluşturduğu retiküler spinlerin uzunlukları $3-8 \mu\text{m}$ arasında değişmektedir (Şekil 3.5.d).

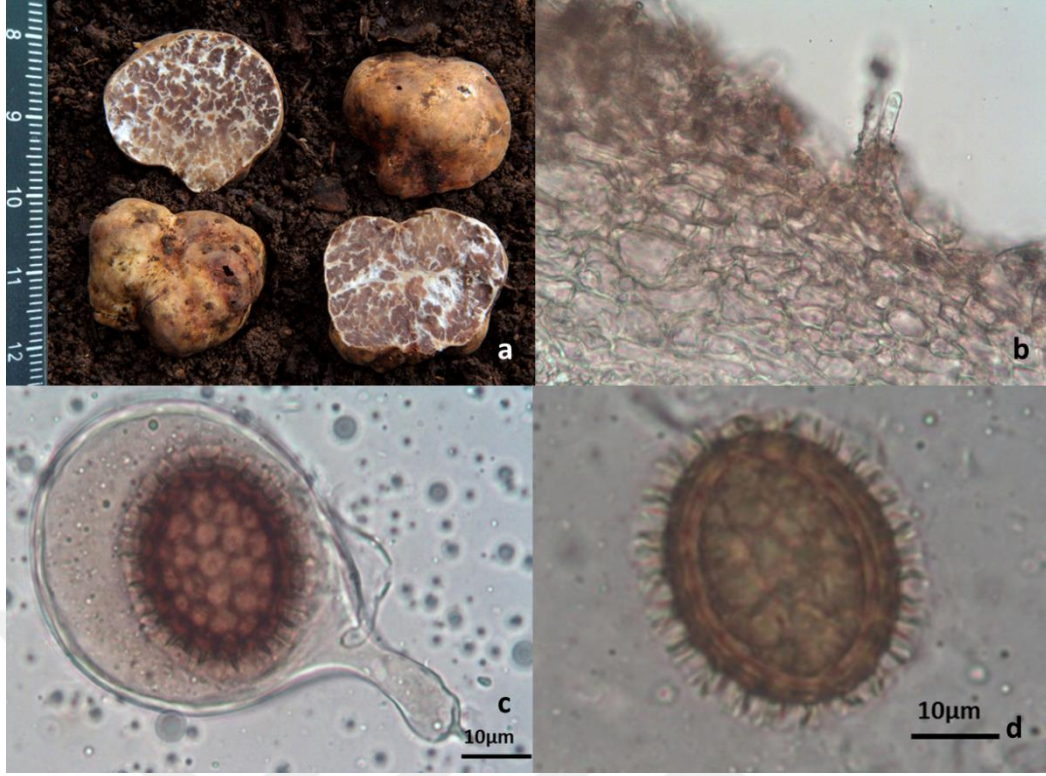
Habitatı: Genellikle *Pinus*, *Corylus*, *Carpinus* ve *Quercus* türlerinin karışık bulunduğu ormanlarda yayılış göstermektedir. Mart ayında olgun askokarplar bulunabilmekte olup Kasım ayından Mayıs ayına kadar örnek bulunabilmektedir.

Çalışılan örnekler: Tekirdağ, Saray, Ergene merası (Lokalite 29), *Pinus nigra*, *Carpinus betulus*, *Q.cerris*, *Q. robur*, 22.11.2013, MYG 27; Muğla Fethiye Çenger(Lokalite 22), *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Pinus brutia*, 9.03.2014, MYG 32; Aydın, Kuyucak, İğdecik köyü (Lokalite 5), *Quercus cerris*, *Q. ithaburensis*, 19.03.2014, MYG 37.

Ülkemizdeki yayılışı: Kahramanmaraş (Kaya, 2009), Denizli (Gezer vd., 2014), Aydın, Muğla, Samsun ve Tekirdağ (Elliot vd., 2016) illerinde yayılış göstermektedir.

Beyaz trüflerden olan *T. borchii* glebasının koyu kırmızımsı kahverenginde, beyaz damarlı mermer görünümünde olması ve sarımsağı andıran keskin kokusuyla diğer beyaz trüflerden ayrılmaktadır.

Peridyumun psödoparankimatik olması hem de yüzeyinde dermatosistidya bulunması ve retikülat sporlara sahip olması ile *Rufum* grubu örneklerinden ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000, Rioussset vd. 2001). *T. borchii*'nin yüzeyinde nadiren dermatosistidya bulunması ve sporlarının geniş elips şeklinde olması *T. puberulum* türünden ayıran önemli özelliklerdir (Montecchi ve Sarasini 2000). Ayrıca ticari değeri yüksek *T. magnatum* türü ile de makroskobik açıdan oldukça benzer olduğu için karıştırılmaktadır. Ancak *T. magnatum* glebasının et pembesi renkte olması, daha yoğun mayalı peyniri andıran kokuya sahip olması ve sporlarının küremsi ve ağ gözlerinin daha büyük ve az sayıda olmasıyla ayırt edilebilmektedir (Rioussset vd. 2001). Ayrıca yetiştirme dönemleride farklılık göstermektedir. *T. magnatum* sonbahar ve erken kış döneminde yetişirken *T. borchii* kış boyunca ve erken bahar döneminde yetişir (Trappe vd. 2007) .



Şekil 3.5. *Tuber borchii*. a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor

3.2.5. *Tuber puberulum* Berk. & Broome

Sinonim;

Tuber puberulum var. *albidum* Bucholtz,

Tuber puberulum var. *borchioides* G. Gross

Tuber puberulum var. *longisporum* Bucholtz

Tuber puberulum var. *michailowskjanum* Bucholtz

Makroskobik Özellikler

Askokarp 0.6-1.5 cm'ye kadar çıkabilen büyüklükte, globoz veya subgloboz şekilde, kirli beyazdan açık sarımsı, sarımsı kahverengiye dönük renkte, bazen açık pembemsi renkte olup yüzeyi kuru ve beyaz ince tüylerle kaplı kadifemsi yapıdadır. Gleba ilk başta gri renkte, olgunlaştığında koyu grimsi kahverengidir, peridyumdan başlayıp gleba içerisine yayılmış, 1 mm'ye kadar genişleyen düzensiz beyaz damarlar mermer görünümü vermektedir. Olgunlaştıkça askuslar büyüteç ile görülebilecek küçük kahverengi küreler oluşturur. Küreler glebanın verimli kısmına dağılmış halde bulunur (Şekil 3.6.a).

Mikroskopik Özellikler

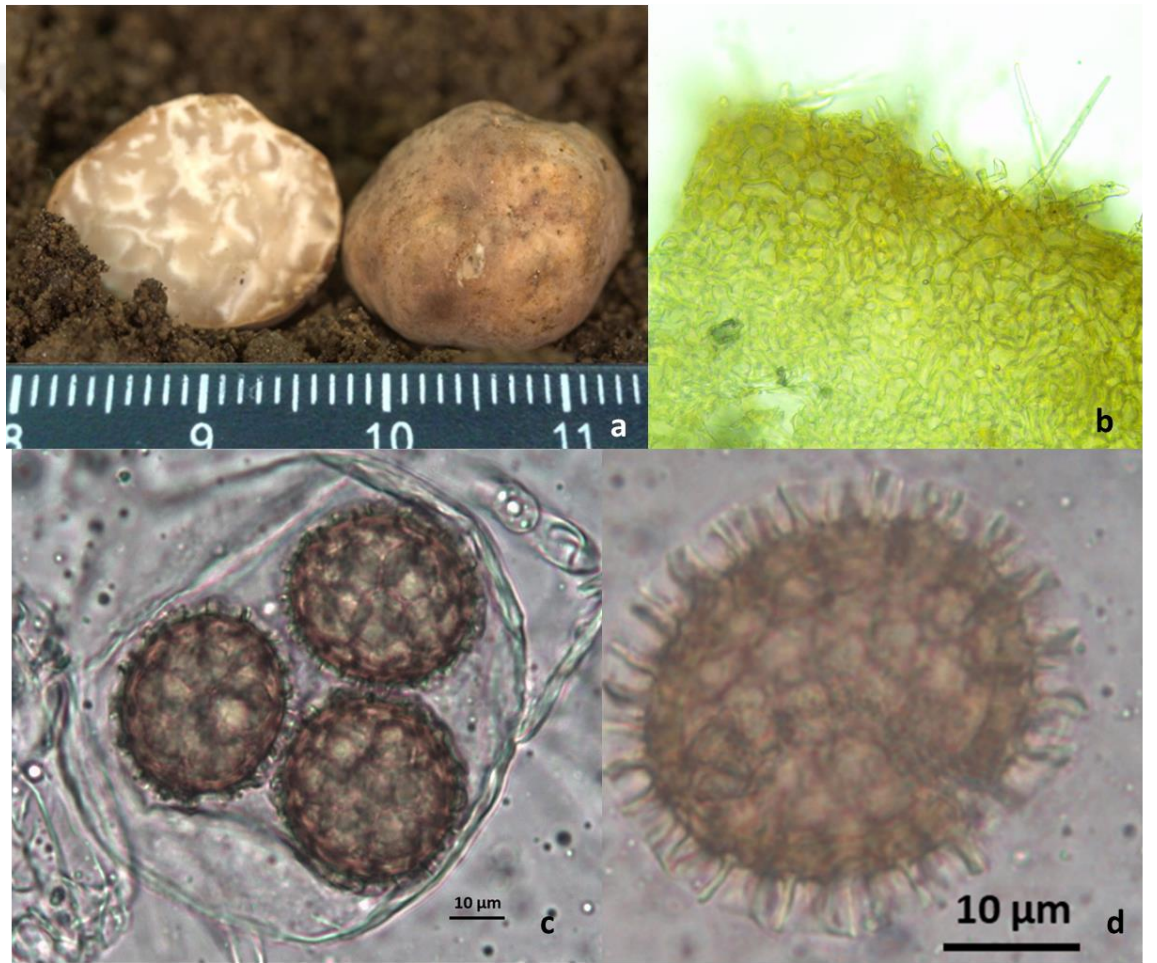
Peridyum 230-250 µm kalınlığında olup 2 tabakalıdır. 80-100 µm kalınlığındaki dış tabaka açık kırmızımsı renktedir. Psödoparankimatik yapıdadır. 1.4-2.2 µm kalınlığında hücre duvarına sahip 11.3-14.5 µm genişliğinde hücrelerden meydana gelmektedir. 90-150 µm kalınlığındaki iç tabaka gevşek iç içe dokunmuş hifli yapıdadır. Hifler ± 2 µm kalınlığında duvarlı 5-7 µm genişliğindedir. Dış yüzeyinde kalabalık halde dermosistidyalar bulunur. Dermosistidyalar ± 1 µm kalınlığında hücre duvarına sahip 5-8 µm genişliğinde 118 µm boyunda, uç kısmına doğru giderek incelen yapıdadır. Peridyal yüzeyden çıkan bu yapılar hifsel uçlara sahip belirgin tüysü yapıyı oluşturmaktadır (Şekil 3.6.b). Gleba 5-10 µm genişliğinde, ± 1 µm kalınlığında hücre duvarına sahip, peridyuma göre çok az daha genişlemiş, sıklıkla yağ damlacıkları bulunduran hiflerin oluşturduğu iç içe dokunmuş yapıdadır. Askuslar 65-80 × 65-90 µm boyutlarında, 2 µm kalınlığında hücre duvarına sahiptir. Subgloboz veya elips şeklinde, glebal hifler içerisinde gömülü halde olmak üzere tipik olarak sapsız ve 1-4 sporludur (Şekil 3.6.c). Askosporlar subgloboz veya elips şeklinde spor süsleri hariç 25-48 × 23-44 µm boyutlarında, sarımsı kahverengi görünümde olup askus içerisindeki sayılarına göre 1 sporlular 46-48 × 40-44 µm, 2 sporlular 34-50 × 29-41 µm, 3 sporlular 25-42 × 23-35 µm, 4 sporlular 26-35 × 24-29 µm boyutlarındadır, kırmızımsı kahverengi süsler ağısı petek görünümündedir. Çokgen şeklindeki ağ gözleri eksen boyunca 6-8 (11) adet bulunur ve 5-7 µm uzunluğundadır (Şekil 3.6.d).

Habitatı: Kireçli topraklarda, genellikle *Pinus* ve *Quercus* türlerinin karışık bulunduğu ormanlarda yayılış göstermektedir. İlkbahar aylarında bulunmaktadır.

Çalışılan örnekler: Osmaniye, Zorkun yaylası, Çiftmazı piknik alanı (Lokalite 27) *Quercus cerris*, *Quercus coccifera*, *Pinus brutia*, 12.04.2012, MYG 01; Denizli, Buldan, Süleymanlı Asri Mezarlığı (Lokalite 9), *Quercus ilex*, 22.12.2013, MYG 28; Muğla, Ula, Çiçekli yolu üzeri, MYO geçince (Lokalite 24), *Quercus coccifera* ve *Pinus brutia*, 06.02.2014, MYG 30, 03.03.2014, MYG 31; Muğla, Fethiye, Gökben Köyü (Lokalite 23) *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. coccifera*, 09.03.2014, MYG 33; Aydın, Kuyucak, İğdecik köyü (Lokalite 5), *Quercus cerris*, *Q. ithaburensis*, 19.03.2014, MYG 36; Denizli, Tavas, Nikfer, Şahman yaylası (Lokalite 13), *Pinus nigra*, *Juniperus excelsa*, *Juniperus oxycedrus*, 05.06.2014, MYG 50.

Ülkemizdeki yayılışı: Ülkemizde Aydın, Denizli, Muğla ve Osmaniye illerinde yayılış göstermektedir (Elliot vd., 2016).

Beyaz trüflerden olan *T. puberulum* glebasının grimsi kahverenginde ve yüzeyinin kadifemsi olması ile tanınmaktadır. Ancak diğer beyaz trüflerle oldukça benzer morfolojiye sahiptir. Bu nedenle mikroskobik morfolojiyle ayırım daha kesin olarak yapılmaktadır. *T. puberulum* türünün küremsi sporlara sahip olması ve peridyum yüzeyinin çok sayıda sistitlerle kaplı olması bu türü *T. borchii*'den ayıran önemli özelliklerdir. Sporları geniş elips şeklinde ve peridyumu tamamen prozenkimatik olan *T. maculatum* türünden de spor ve peridyum farkıyla ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000). Benzer makroskobik morfolojiye sahip *Tuber rapaeodorum* türü ise elips şeklinde sporlarıyla *T. puberulum*'dan ayrılmaktadır (Halász vd., 2005).



Şekil 3.6. *Tuber puberulum*. a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor

3.2.6. *Tuber excavatum* Vittad.

Sinonim;

Tuber excavatum f. *globispora* Vaček

Tuber excavatum var. *fulgens* G. Gross

Tuber lapideum Mattir.

Makroskopik Özellikler

Askokarplar 1-2 cm büyüklüğünde, küre şeklinde yuvarlak olup alt kısmında belirgin bir oyuk bulunur. Epitetini de buradan almaktadır. (cavity; oyuk). Yüzeyinde küçük tomurcuklar yer yer kaba siğiller mevcuttur. İlk başta soluk sarımsı kahverengi olgunlaştığında kırmızımsı kahverengidir. Gleba ilk başta kirli beyaz soluk sarı renkte, sonunda kırmızımsı kahverengi olur, oyuk dibinden başlayıp askokarp yüzeyine doğru dallanan kirli beyaz damarlar ile birlikte mermerimsi görünüm almaktadır (Şekil 3.7.a).

Mikroskopik Özellikler

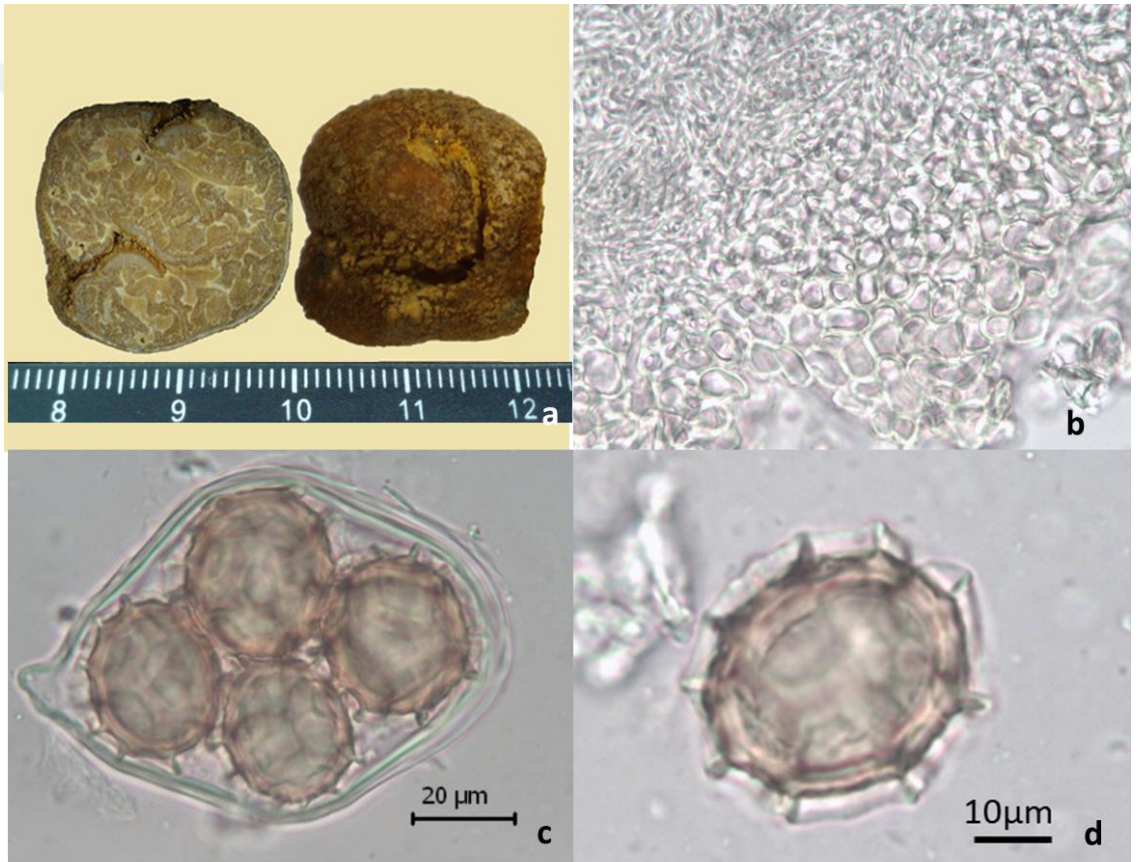
Peridyum 280-400 µm kalınlığındadır ve 2 tabakalıdır. Dış tabaka psödoparankimatik yapıda olup 95-200 µm kalınlığındadır. Genişlemiş hücreler 1,8-3,5 µm kalınlığında duvarlı, 6-10 × 7-16 µm boyutlarındadır. İç tabaka prozenkimatik yapıda olup 150-200 µm kalınlığındadır. Yaklaşık 2 µm kalınlığında duvarlı, 1,8-2,5 µm genişliğinde kısmen paralel dizilmiş, iç içe geçmiş hiyalin hiflerden oluşmaktadır (Şekil 3.7.b). Gleba yaklaşık 1 µm kalınlığında duvarlı, 3,5-4 µm genişliğinde, hiyalin iç içe geçmiş hifli yapıdadır. Askuslar küre veya elips şeklindedir. 38-55 × 57-92 µm boyutlarında, 2,5-5 µm kalınlığında hücre duvarına sahiptir. Sap 5-10 × 18-20 µm boyutlarındadır. 1-4 sporludur (Şekil 3.7.c). Askosporlar spor süsleri hariç genel olarak 24,5-34 × 26-37 µm boyutlarındadır. Sarımsı kahverengindeki sporlar askus içindeki sayılarına göre; 1 sporlular 23-30 × 26-32,5 µm, 2 sporlular 31,5-34 × 33,5-37 µm, 3 sporlular 25,5-28,5 × 29-33 (-37) µm, 4 sporlular 25-29 × 26,5-34 µm boyutlarındadır. Q değeri 1,1 dir. Küre şeklinde olup bazen geniş elips şeklindedir. Ağsı petekli süsler spor eksenini boyunca 2-3 adet bulunmaktadır. Ağ gözlerini boyutları 9-17 × 12-19 µm arasında değişmektedir. Retiküler spin uzunluğu 4,5-6 µm arasında değişmektedir (Şekil 3.7.d).

Habitatı: Kireçli topraklarda, genellikle *Pinus* ve *Quercus* türlerinin karışık bulunduğu ormanlarda yayılım göstermektedir. İlkbahar aylarında bulunmaktadır.

Çalışılan örnekler: Denizli, Bozkurt, İnceler köyü (Lokale 8), *Pinus nigra*, *Quercus coccifera*, *Q. cerris*, 15.06.2012, Niyazi Uluçoban, MYG 03.

Ülkemizdeki yayılışı: Denizli ilinde (Türkoğlu ve Castellano, 2014) yayılış göstermektedir.

Peridyum ve gleba rengi, askokarp büyüklükleri oldukça benzer olan beyaz trüflerde bazal oyuk bulunması önemli bir özelliktir (Bonito vd., 2010b). Makroskobik olarak ilk başta askokarpın dip kısmında belirgin bir oyuk bulunması *T. excavatum* türünün diğer türlerden ayrımını sağlamaktadır. (Montechii ve Sarasini, 2000; Rioussset vd., 2001).



Şekil 3.7. *Tuber excavatum*. a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor

3.2.7. *Tuber rufum* Pollini

Sinonim;

Tuber lucidum Vittad.

Tuber rufum var. *apiculatum* E. Fisch.

Tuber rufum var. *brevisporum* E. Fisch.

Tuber rufum var. *oblongisporum* E. Fisch.

Tuber rutilum R. Hesse

Makroskobik Özellikler

Askokarp 1-3 cm boyunda, subgloboz veya düzensiz şekilde olup yüzeyi ince tomurcuklu bazen siğillidir, sarımsı kahverengiden kırmızımsı kahverengiye dönük, bazen siyaha yakın benekli görünümündedir. Gleba ilk başta beyaz renkte, giderek soluk kırmızımsı kahverengiden koyu kırmızımsı kahverengine döner. Kırmızımsı kahverenginden kirli beyaza dönük renkteki geniş, belirgin damarlar mermer görünümü vermektedir (Şekil 3.8.a).

Mikroskobik Özellikler

Peridyum 340-380 µm kalınlığında olmak üzere 2 tabakalıdır: dış tabaka soluk sarıdan sarımsı kahverengiye dönük renkte, yaklaşık 1 µm kalınlığında hücre duvarına sahip ve 3-5 µm genişliğinde içiçe geçmiş sıkı hifli yapıdadır. İç tabaka kirli beyaz renktedir, 3.5-4.5 µm genişliğinde, ± 2 µm kalınlığında hücre duvarına sahip hiyalin, çoğunlukla iç içe dokunmuş bazen paralel hiflerden oluşmaktadır (Şekil 3.8.b). Gleba hiyalin, 3.5-7.0 µm genişliğinde, ± 2 µm kalınlığında hücre duvarıyla hiyalin hifler iç içe dokunmuş kısmen paralel yapıdadır. Askuslar sap kısmı hariç 50-90 $\times$ 40-50 µm boyutlarında, 2-3.5 µm kalınlığında hücre duvarına sahiptir. Çomak şeklinde olup sap kısmı 30 µm'ye kadar çıkabilen uzunluktadır. 1-5 sporludur (Şekil 3.8.c). Askosporlar spor süsleri hariç (13.5-) 15-21 (-27) $\times$ 17 (26)-30 (38) µm boyutlarında olup askus içerisindeki sayılarına göre 1 sporlular 17-27 $\times$ 26-38 µm, 2 sporlular 16-24.5 $\times$ 19-37.5 µm, 3 sporlular 13.5-21 $\times$ 19-28.5 µm, 4 sporlular 15-20 $\times$ 17-27 µm, 5 sporlular 15-18 $\times$ 17.5-27 µm boyutlarındadır, elips şeklinde, sarımsı kahverengidir, 1.8-2.5 µm uzunluğunda sivri uçlu iğne şeklindeki yapılarla süslenmiştir. Q değeri 1.3-1.6'dır (Şekil 3.8.d).

Habitatı: Oldukça geniş yayılışa sahiptir. Genellikle *Pinus* ve *Quercus* türlerinin karışık bulunduğu ormanlarda yayılış göstermektedir. İlkbahardan sonbaharın sonuna kadar bulunabilmektedir (Montechii ve Sarasini, 2000).

Çalışılan örnekler: Denizli, Honaz, yukarıdağdere köyü, Saklıgöl (Lokalite 10), *Pinus nigra*, *Quercus cerris*, 14.05.2013, MYG 12, MYG 13; Kastamonu, Küre-Akyol Tünel mevki (Lokalite 18), *Abies nordmanniana*, *Fagus orientalis*, 11.06.2013, Serkan Sevinç, MYG 17; Antalya, Korkuteli, Yazır-Güzle köyü arası (Lokalite 2), *Pinus brutia*, *Quercus cerris*, 20.06.2013, Mustafa Turunçoğlu, MYG 20; Burdur, Bucak, Beşkonak köyü (Lokalite 7), *Pinus brutia*, *Quercus coccifera*, 1.11.2013, Osman Çoban, MYG 26; Aydın, Dilek Yarım adası Aydınlık koyu (Lokalite 4) *P. brutia*, *Q. ilex*, *Ceratonia siliqua*, 19.03.2014, MYG 34; Osmaniye, Zorkun yaylası, Çiftmazı piknik alanı (Lokalite 27), *Pinus brutia*, *Quercus cerris*, *Q. coccifera*, *Pinus nigra*, *Acer planatus*, 5.04.2014, Fatih Kaya, MYG 40.

Ülkemizdeki yayılışı: Ülkemizde Burdur, Denizli, Muğla (Türkoğlu ve Castellano, 2014; Türkoğlu vd., 2015), Konya, Kastamonu, Antalya (Türkoğlu ve Castellano, 2014), Bolu, Aydın ve Osmaniye (Türkoğlu vd., 2015) illerinde yayılış göstermektedir.

Kaynaklarda *Rufum* grubu olarak geçen *T. ferrugineum*, *T. rufum* ve *T. nitidum* türleri sporlarının spinat olmasıyla diğer beyaz trüflerden ayrılmaktadır. Knapp (1950) grup içinde en erken tarif edilen tür *Tuber rufum* olduğu için bu gruba *rufum* grubu adını vermiştir (Zambonelli vd., 2016). Bu grupta spor boyutları ve şekillerinin çok benzer olması nedeniyle morfolojik verilerle ayırım oldukça zordur. Moleküler veriler ışığında elimizdeki örnekler ile kaynaklarda geçen tarifler değerlendirildiğinde *T. rufum* örneklerinin sarımsı kahverengi ve beyaz çatlaklı askokarpları ve sporlarının spin uzunluklarının (1.8-2.5 µm) farklı olmasıyla *T. ferrugineum* ve *T. nitidum* türlerinden ayrıldığı görülmektedir.



Şekil 3.8. *Tuber rufum*. a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor

3.2.8. *Tuber ferrugineum* Vittad.

Sinonim;

Tuber ferrugineum var. *balsamioides* Bucholtz

Tuber rufum f. *ferrugineum* (Vittad.) Montecchi & Lazzari

Makroskobik Özellikler

Askokarp büyüklüğü 2 cm'ye varmaktadır. Küremsi şekilde veya düzensiz şekillerde olup ilk başta daha açık renkte olgunlaştığında kırmızımsı kahverengiye dönmektedir. Yüzeyinde önemli derecede beyaz çatlaklar baskındır, ± 1 mm kalınlığında peridyumdan alınan kesitte dış tabakadaki yüzeye göre rengi daha açıktır. Gleba sıkı yapıda, beyaz veya açık gri renktedir, düzensiz beyaz damarlar ile birlikte mermer görünümünü almaktadır. Oldukça hoş kokuludur (Şekil 3.9.a).

Mikroskobik Özellikler

Peridyum 215-390 μ m kalınlığında, hiyalin olup 2 tabakalıdır: dış tabaka 15-50 μ m kalınlığındadır, kırmızımsı kahverengidir, yoğun iç içe geçmiş pigmentli hifler 1-4

μm genişliğinde, $\pm 1 \mu\text{m}$ kalınlığında hücre duvarına sahiptir. İç tabaka 200-350 μm kalınlığında, yoğun iç içe geçmiş yarı saydam hifler $\pm 1 \mu\text{m}$ kalınlığında duvarlı, 1-4 μm genişliğinde olup glebal ve peridyal hiflerin birleştiği yerde yoğunluk azalmaktadır.

Bunun yanı sıra *T. rufum* türünün aksine peridyumun hiçbir kısmında genişlemiş hücreler bulunmamaktadır (Şekil 3.9.b). Gleba hiyalin, hifler 3-5 μm genişliğinde olup iç içe dokunmuş yapıdadır, seyrek olarak bulunan yağ damlacıklı ve $\pm 1 \mu\text{m}$ kalınlığında hücre duvarına sahiptir. Askuslar elips veya yumru şeklinde, bazen iğsi yapıdadır, sap kısmı hariç 60-75 $\times$ 35-50 μm boyutlarında, sap kısmı 30 μm 'ye çıkabilen uzunlukta ve uç kısma doğru sivrilmiştir, $\pm 3 \mu\text{m}$ kalınlığında hücre duvarına sahip, glebal hifler matriks içerisinde gömülü halde, genel itibarıyla 1-4 sporludur nadiren 5 sporludur (Şekil 3.9.c). Askosporlar elips şeklinde, spor süsleri hariç 18-43 $\times$ 15-29 μm boyutlarında sarımsı kahverengidir, askus içindeki sayılarına göre 1 sporlular 29-43 $\times$ 21-29 μm , 2 sporlular 24-37 $\times$ 20-26 μm , 3 sporlular 19-24 $\times$ 15-19 μm , 4 sporlular 21-28 $\times$ 15-19 μm , 5 sporlular 18-23 $\times$ 16-19 μm boyutlarında, süsler iğne şekline benzer spinlerle süslüdür. Spin uzunluğu 2.5- 4.2 μm 'dir. Q değeri 1.3'tür (Şekil 3.9.d).

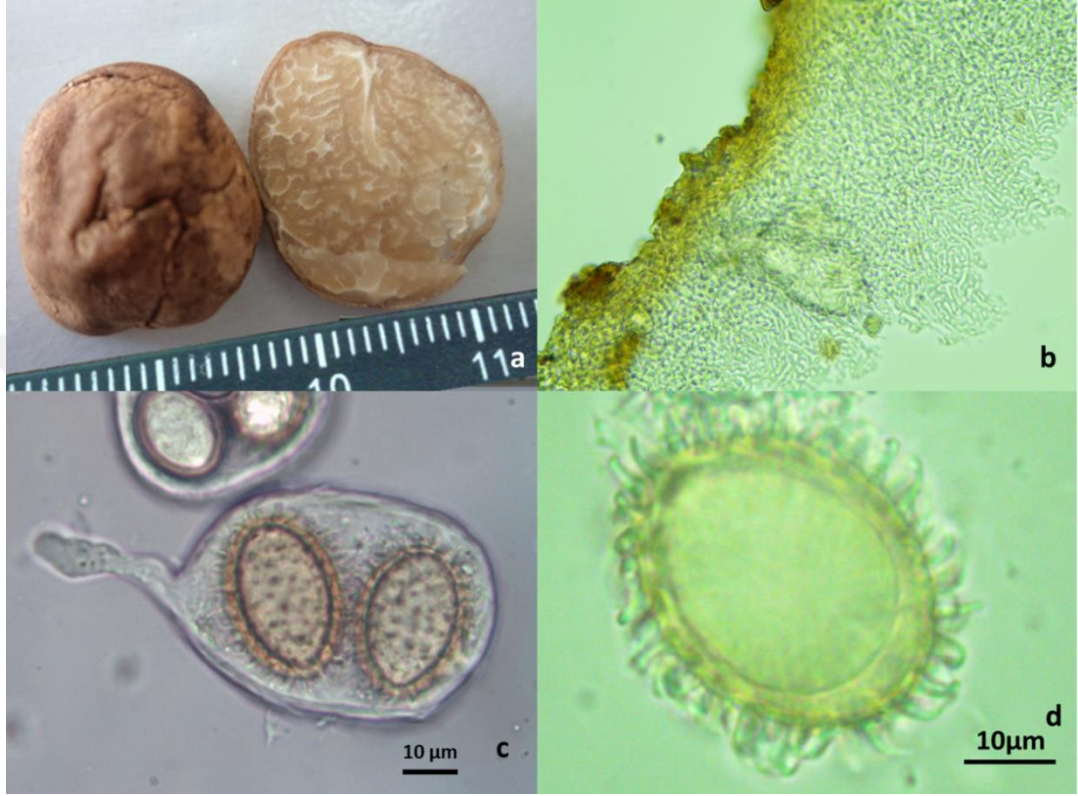
Habitatı: Oldukça geniş yayılışa sahiptir. Genellikle *Pinus* ve *Quercus* türlerinin karışık bulunduğu ormanlarda yayılış göstermektedir. İlkbahardan sonbaharın sonuna kadar bulunabilmektedir (Montechii ve Sarasini, 2000).

Çalışılan örnekler: Muğla, Fethiye, Gökben Köyü (Lokalite 23), *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. coccifera*, 19.04.2013, MYG 08, MYG 09; Konya, Akşehir (Lokalite 20), *Quercus spp.*, Mustafa Işıloğlu, 19.04.2013, MYG 10, MYG 11; Aydın, Dilek Yarım adası, Aydınlık koyu (Lokalite 4), *P. brutia*, *Q. ilex*, *Ceratonia siliqua*, 19.03.2014, MYG35; Denizli, Serinhisar, Yatağan beldesi (Lokalite 12), *Pinus brutia*, *Quercus coccifera*, *Q. ithaburensis*, 8 Mayıs 2014, MYG 41, MYG 42, MYG 43, MYG 44.

Ülkemizdeki yayılışı: Ülkemizde Antalya, Aydın, Denizli ve Muğla (Elliot vd., 2016) illerinde yayılış göstermektedir.

Rufum grubu üyelerinden olan *T. ferrugineum* türü grubun diğer üyeleri olan *T. rufum* ve *T. nitidum* türlerinden makroskobik açıdan kırmızımsı kahverengi-pas kahverengi askokarplara sahip olması ile ayırt edilebilmektedir. Demir ve pas anlamlarına gelen epitetini de burdan almaktadır. Ancak bu özellik değişkenlik göstermekte ve yanıltıcı olabilmektedir. Moleküler veriler ışığında morfolojik veriler

tekrar değerlendirildiğinde daha net ayrımın spor spin uzunlukları ile yapılabildiği görülmektedir. *T. ferrugineum* türünün spor spin uzunluğu 2.5-4.2 μm 'ye varmaktadır. *T. rufum* ve *T. nitidum* türlerinde ise spinler daha kısadır. Spin uzunlukları ile diğer türlerden ayrılmaktadır.



Şekil 3.9. *Tuber ferrugineum*. a. Askokarp, b. Peridyum, c. Askus, d. Askospor

3.2.9. *Tuber nitidum* Vittad.

Sinonim;

Tuber rufum f. *nitidum* (Vittad.) Montecchi & Lazzari

Tuber rufum var. *nitidum* (Vittad.) E. Fischer

Makroskobik Özellikler

Askokarp 1-3 cm büyüklüğünde globoz veya subgloboz şekilde, yüzeyi genellikle hatta olgunlaştığında bile tüysüz yapıda olup bazı yerlerde kabaca siğillidir, kirli beyaz, soluk sarı nadiren kırmızımsı sarı lekeler mevcuttur. Gleba ilk başta beyaz renkte olup daha sonra kirli beyazdan soluk sarıya dönük renktedir, belirgin, geniş beyaz damarlı mermer görünümündedir (Şekil 3.10.a).

Mikroskopik Özellikler

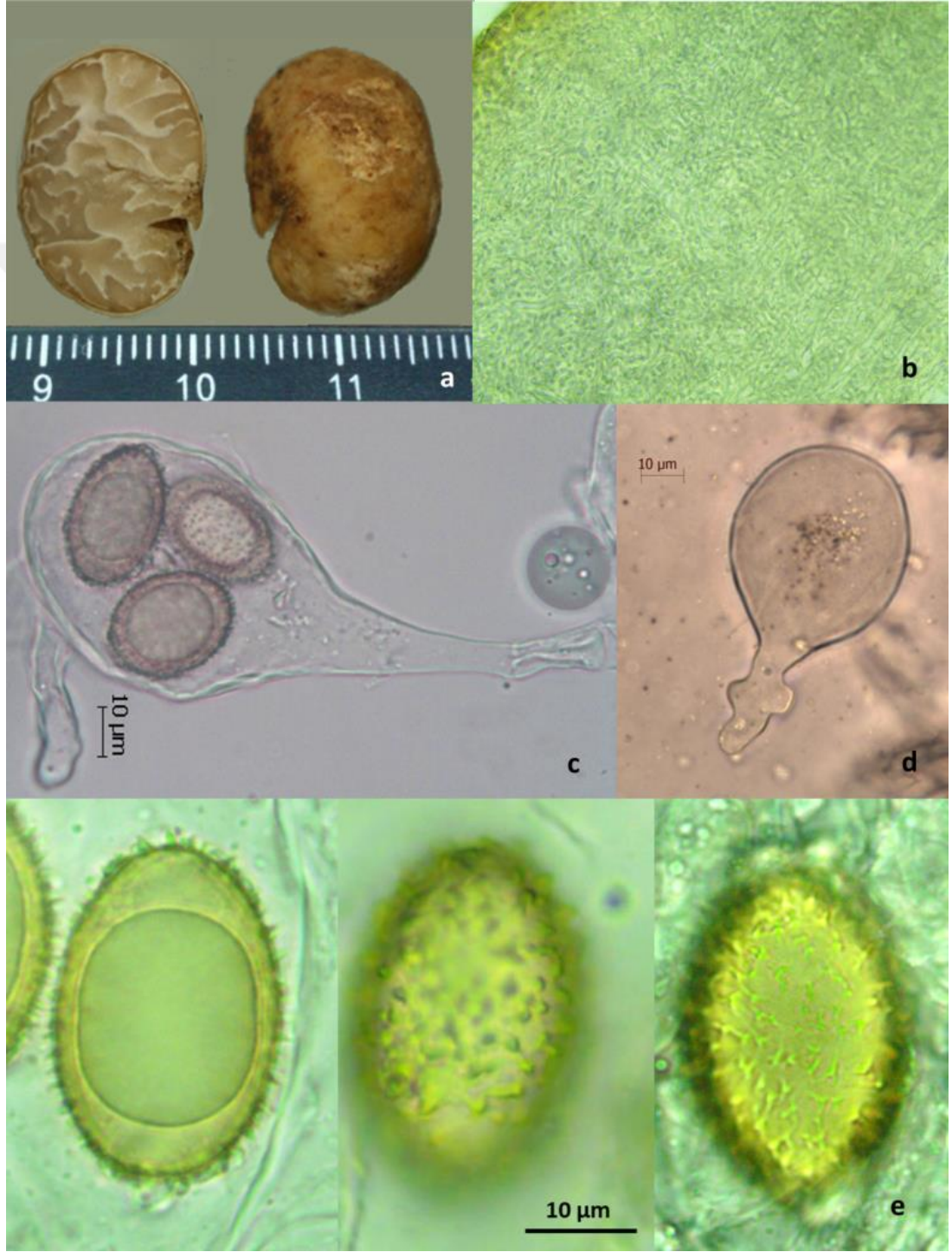
Peridyum 360-385 µm kalınlığındadır. Dış kısmı sarımsı renktedir, ± 2 µm kalınlığında hücre duvarlı, 2.8-3.2 µm genişliğinde, hiyalin, iç içe geçmiş kısmen paralel hiflerden oluşan yapıdadır (Şekil 3.10.b). Gleba hiyalin, 5.5-7 µm genişliğinde paralel hifli, $10-20 \times 5-10$ µm boyutlarında ± 1 µm kalınlığında hücre duvarlı genişlemiş hücreler bulunur. Askuslar sap kısmı hariç $70-100 \times 40-60$ µm boyutlarında, genişçe çomak yapıda olup sap kısmı 26 µm'ye kadar çıkabilen uzunluktadır, 2 µm kalınlığında hücre duvarına sahiptir, 1-4 sporludur (Şekil 3.10.c). Askosporlar spor süsleri hariç $(13-16-27(-29) \times 21-33 (-39)$ µm boyutlarında olup askus içerisindeki sayılarına göre 1 sporlular $30-39 \times 26-27$ µm, 2 sporlular $(26) 31-32 \times 18-22(-29)$ µm, 3 sporlular $21-27 \times 18-22$ µm, 4 sporlular $22-26 \times (13-) 16-18$ µm boyutlarındadır, elips şeklinde, sarımsı kahverengiden kırmızımsı kahverengiye dönük renktedir ve 3.5-4.5 µm uzunluğundaki sivri uçlu iğne şeklindeki dikenlerle süslenmiştir. Spin uzunluğu 1- 1.5 µm, spinlerin dip kısımları arasında bağlantılar oluşmuş ve bu nedenle kısmi retikülasyona benzemektedir. Q değeri 1.4'tür (Şekil 3.10.d.e).

Habitatı: Oldukça geniş yayılışa sahiptir. Genellikle *Pinus* ve *Quercus* türlerinin karışık bulunduğu ormanlarda yayılış göstermektedir. İlkbahardan sonbaharın sonuna kadar bulunabilmektedir (Montechii ve Sarasini, 2000).

Çalışılan örnekler: Osmaniye, Zorkun yaylası, Çiftmazı piknik alanı (Lokalite 27), *Pinus brutia*, *Quercus cerris*, *Q. coccifera*, *P. nigra*, 12.04.2012, MYG 02; Burdur, Bucak, Beşkonak köyü (Lokalite 7), *Pinus brutia*, *Quercus coccifera*, 22.07.2013, MYG 21; Aydın, Kuyucak, İğdecik köyü (Lokalite 5), *Quercus cerris*, *Q. ithaburensis*, 19.03.2014, MYG 38; Denizli, Serinhisar, Yatağan beldesi (Lokalite 12), *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Quercus coccifera*, *Q. ithaburensis*, 21.03.2014, Niyazi Uluçoban, MYG 39; Denizli, Tavas, Nikfer, Şahman yaylası (Lokalite 13), *Pinus nigra*, 05.06.2014, MYG 49.

Ülkemizdeki yayılışı: Ülkemizde Denizli (Castellano ve Türkoğlu, 2012; Türkoğlu vd., 2015), Osmaniye, Kastamonu (Türkoğlu ve Castellano, 2014) ve Burdur (Türkoğlu ve Castellano, 2014; Türkoğlu vd., 2015) illerinde yayılış göstermektedir. Rufum grubu üyelerinden olan *T. nitidum* türü grubun diğer üyeleri olan *T. rufum* ve *T. ferrugineum* türlerinden makroskopik açıdan açık tonlarda genellikle krem-kirli beyaz renklerdeki askokarplara sahip olması ile ayırt edilebilmektedir. *T. rufum* ve *T. ferrugineum* türlerinin askokarp renkleri birbirlerine daha yakınken *T. nitidum*

askokarp rengiyle daha kolay şekilde diğer türlerden ayrılabilir. Ayrıca sporların spin uzunluğu 1- 1.5 μm olup rufum grubu diğer türlerden daha kısadır. Spinlerin dip kısımları arasında oluşan bağlantılar kısmi retikülasyona benzemektedir (Zambonelli vd., 2016). Sporların spin uzunlukları ve spinlerin dip kısmındaki bağlantılar ile diğer türlerden ayrılmaktadır.



Şekil 3.10. *Tuber nitidum*. a. Askokarp, b. Peridyum, c-d. Askus, e. Askospor

3.3. Filogenetik Analizler

Bu çalışmada incelenen tüm örnekler üzerinde moleküler çalışmalar yapılmıştır. Ancak bazı örneklerden görünürde olmamasına rağmen küf dizisi elde edilmiş, bir kısmının da dizileme sonuçları problemli olmuştur. Sekiz türe ait 24 örnekten sağlam DNA izole edilebilmiş ve PZR ile çoğaltılmıştır. Diziler Bioedit programında hizalanarak kontigler elde edilmiş, eşleşmeyen uç kısımlar kesilip düzeltilerek soy ağaçları oluşturacak hale getirilmiştir. Örneklere ait veriler Tablo 3.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. ITS dizileri elde edilen örneklere ait bilgiler

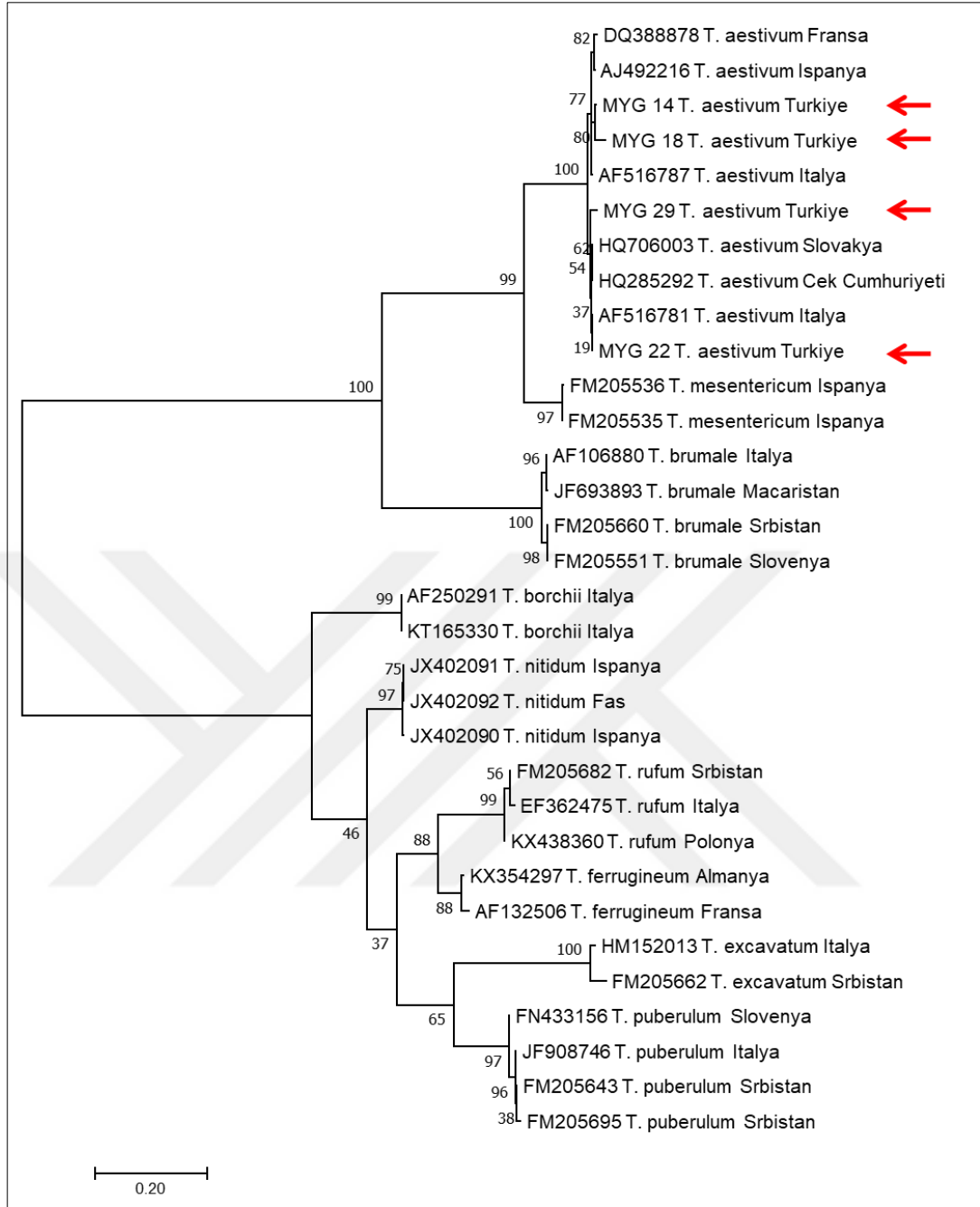
No	Örnek	Bölge	Morfolojik verilere dayalı tanımları	Dizi boyutu (bp)
1.	MYG 14	Denizli	<i>Tuber aestivum</i>	570
2.	MYG 18	Burdur	<i>Tuber aestivum</i>	570
3.	MYG 22	İstanbul	<i>Tuber aestivum</i>	570
4.	MYG 29	Artvin	<i>Tuber aestivum</i>	570
5.	MYG 05	Samsun	<i>Tuber brumale</i>	850
6.	MYG 06	Osmaniye	<i>Tuber brumale</i>	850
7.	MYG 27	Tekirdağ	<i>Tuber borchii</i>	570
8.	MYG 32	Muğla	<i>Tuber borchii</i>	570
9.	MYG 37	Aydın	<i>Tuber borchii</i>	570
10.	MYG 08	Muğla	<i>Tuber ferrugineum</i>	620
11.	MYG 09	Muğla	<i>Tuber ferrugineum</i>	620
12.	MYG 10	Konya	<i>Tuber ferrugineum</i>	620
13.	MYG 03	Denizli	<i>Tuber excavatum</i>	660
14.	MYG 02	Osmaniye	<i>Tuber nitidum</i>	570
15.	MYG 38	Aydın	<i>Tuber nitidum</i>	570
16.	MYG 01	Osmaniye	<i>Tuber puberulum</i>	550
17.	MYG 30	Muğla	<i>Tuber puberulum</i>	550
18.	MYG 31	Muğla	<i>Tuber puberulum</i>	550
19.	MYG 12	Denizli	<i>Tuber rufum</i>	590
20.	MYG 13	Denizli	<i>Tuber rufum</i>	590
21.	MYG 20	Antalya	<i>Tuber rufum</i>	590
22.	MYG 26	Burdur	<i>Tuber rufum</i>	590
23.	MYG 34	Aydın	<i>Tuber rufum</i>	590
24.	MYG 40	Osmaniye	<i>Tuber rufum</i>	590

Yapılan moleküler çalışmalar neticesinde örneklerin tamamından 550-850 baz çifti uzunluğunda diziler elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen 24 örneğe ait dizilerin yanısıra daha doğru ve güvenilir soy ağaçları elde edebilmek için bir tanesi dış grup olmak üzere toplam 56 adet dizi Genbanktan indirilerek kıyaslanmıştır.

Filogenetik ağaçları elde etmek, türler arasındaki akrabalık ilişkilerini belirlemek amacıyla MEGA 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Kumar vd., 2016) filogenetik analiz programı kullanılmıştır. Filogenetik ağaçlar Neighbor-Joining metodu kullanılarak oluşturulmuştur (Saitou ve Nei, 1987). 1000 tekrarlı gerçekleştirilen soy ağaçlarının her bir dalının istatistiksel olarak değerlendirildiği Bootstrap testinin yüzde değerleri (Felsenstein, 1985) bir araya getirilen ilgili takson dallarının yanında gösterilmektedir. Evrimsel mesafeler Maximum Composite Likelihood yöntemi (Tamura vd., 2004) kullanılarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.11.'de verilen *Tuber aestivum* türüne ait Neighbor-Joining ağacı 32 nükleotit sekansı içermektedir. Her bir dizi çifti için tüm belirsiz pozisyonlar kaldırılmıştır. Son analiz kümesinde toplamda 926 nükleotid bulunmaktadır. *Tuber aestivum* türlerine ait diziler Genbank ile kıyaslandığında %96-99 oranında benzerlik gösteren, kapsama alanı %94 ve üzerinde olan tüm diziler indirilerek bunlarla birlikte soyağaçları oluşturulmuştur (Şekil 3.11.). Türkiye *Tuber aestivum* türleri İtalya ve Slovakya başta olmak üzere İspanya, Fransa ve Çek Cumhuriyetinden örnekler ile %96-99 oranında yüksek benzerlik göstermektedir. Türkiye türleri bir arada toplanmayıp Avrupa türleriyle karışık kümелendiği Şekil 3.11.'de verilen 1000 tekrarlı Bootstrap analizi sonucu elde edilen ağaçta da görülmektedir.

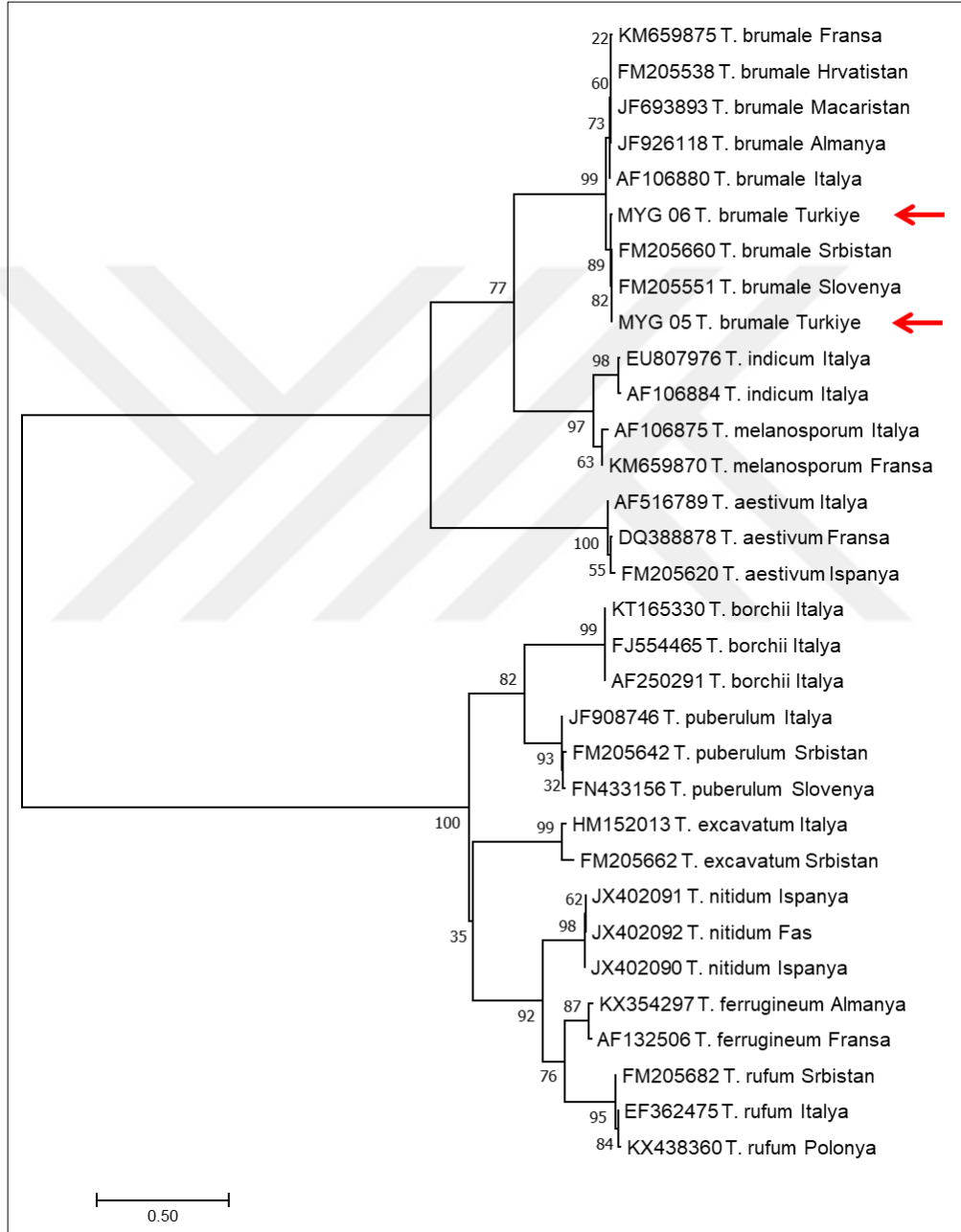
Ayrıca beyaz trüflerden ilk nodda ayrılarak siyah trüflerle birlikte kümelenmiş olması ve bu küme içinde de siyah trüfler olan *T. mesentericum* ve *T. brumale* türlerinden ayrılarak *T. aestivum* türleriyle birlikte kümelenmesi morfolojik teşhisin doğruluğunu göstermektedir.



Şekil 3.11. *Tuber aestivum* türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı

Şekil 3.12.'de verilen *Tuber brumale* türüne ait Neighbor-Joining ağacı 32 nükleotit sekansı içermektedir. Her bir dizi çifti için tüm belirsiz pozisyonlar kaldırılmıştır. Son analiz kümesinde toplamda 745 nükleotid bulunmaktadır. Bu çalışmadaki diğer siyah trüf olan *Tuber brumale* örnekleri Genbank ile kıyaslandığında %98-99 oranında benzerlik gösteren, kapsama alanı %99 ve üzerinde olan tüm diziler indirilerek bunlarla birlikte soyağaçları oluşturulmuştur. Ayrıca ticari değeri yüksek *Tuber melanosporum* ve Çin trüfö olarak bilinen *T. indicum* türleriyle de

kıyaslanmıştır (Şekil 3.12.). Beyaz trüflerden ilk nodda ayrılarak siyah trüflerle birlikte kümelenmiştir. Siyah askokarpları ve spinat sporlarıyla birbirlerine morfolojik açıdan oldukça benzer olan ve ticari değeri bakımından karıştırılması sakıncalı olan *Tuber melanosporum* ve *T. indicum* türlerinden ayrılarak *T. brumale* türleriyle birlikte kümelenmesi morfolojik teşhisin doğruluğunu göstermektedir.

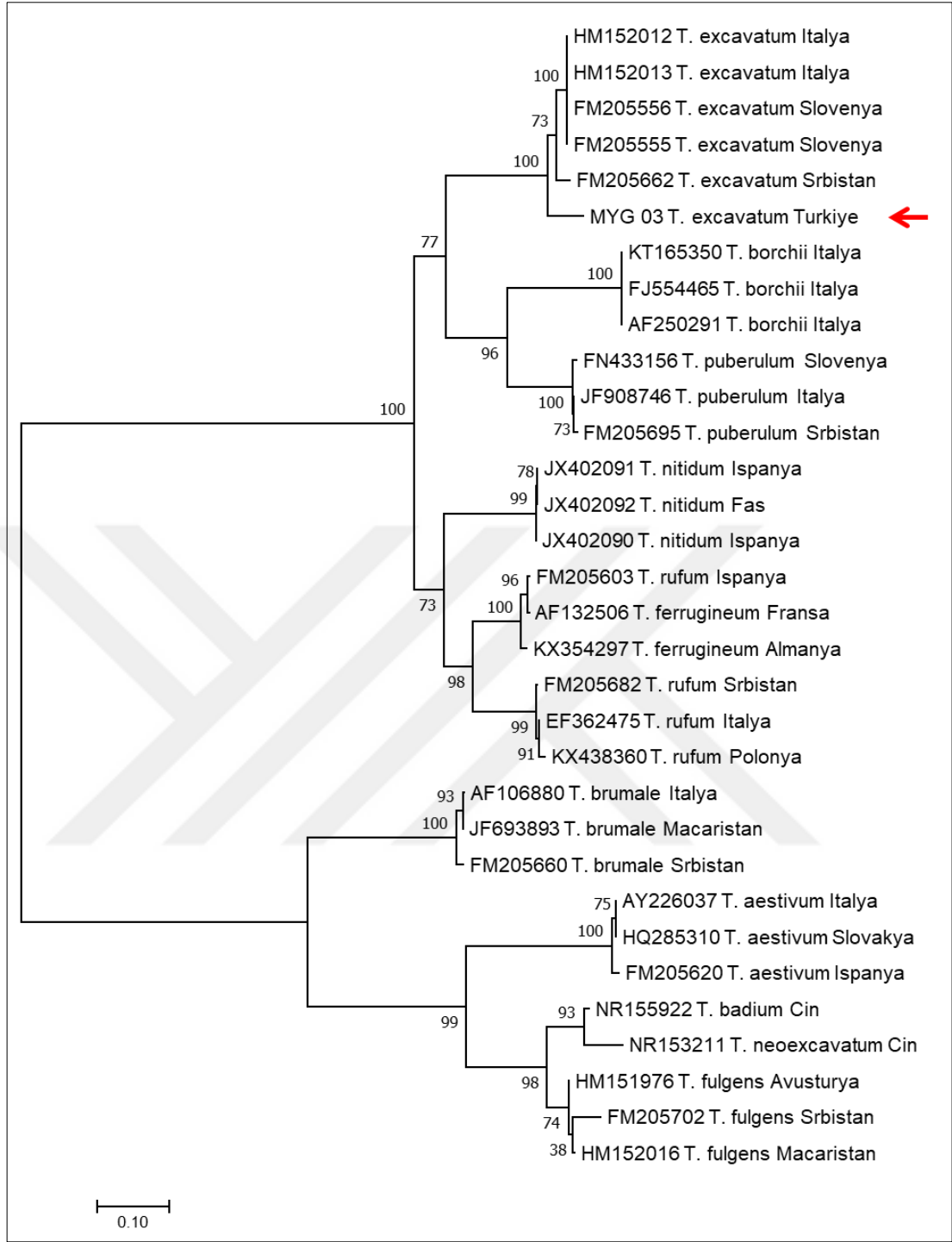


Şekil 3.12. *Tuber brumale* türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı

MYG 05 kodlu Samsun örneği FM205551 kodlu Slovenya ve FM205660 kodlu Sırbistan örnekleriyle %100 kapsama oranında %100 benzerlik, MYG 06 kodlu

Osmaniye örneği ise %99 benzerlik göstermiştir. Elimizdeki *T. brumale* türleri *T. melanosporum* türleriyle e-değeri sıfırdan farklı olmak üzere %80, *T. indicum* ile %88 benzerlik göstermiştir. Ayrıca *T. brumale* örneklerinin ITS bölgesi dizisi 850 bp uzunluk ile diğerlerinden dizilemeye gerek kalmadan ayrılmaktadır.

Şekil 3.13.'de verilen *Tuber excavatum* türüne ait Neighbor-Joining ağacı 32 nükleotit sekansı içermektedir. Her bir dizi çifti için tüm belirsiz pozisyonlar kaldırılmıştır. Son analiz kümesinde toplamda 644 nükleotid bulunmaktadır. Evrimsel analizler MEGA7'de gerçekleştirilmiştir (Kumar vd., 2016). Açık renkli olması ve bazal oyuk bulunması ile diğer beyaz trüflerden ayrılan *Tuber excavatum* türü elimizdeki örnek Genbank ile kıyaslandığında *Tuber excavatum* türleriyle en yüksek %92, en düşük %88 oranında benzerlik göstermiştir. *T. excavatum* türlerinin tür içi varyasyonunun %14,7'den küçük, türlerarası varyasyonu ise %9,2'den büyük olarak bildirilmiştir (Bonito vd., 2010a). Buna göre %8-12 oranında tür içi farklılık bulunması olağandır. Türkiye *T. excavatum* türü Almanya, İtalya Slovenya, Sırbistan ve İsviçre gibi Avrupa ülkelerine ait *T. excavatum* dizileriyle benzerlik göstermektedir. Türkiye *T. excavatum* türü %8-12 arasında farklılık göstermesine rağmen Avrupa kökenli *T. excavatum* türleriyle aynı dalda kümelenmiştir (Şekil 3.13.). Askokarp rengi koyu kırmızmsı kahverengi olmasıyla *T. excavatum*'dan ayrılan HM151976, FM205702 ve HM152016 kodlu *T. fulgens* örnekleriyle %87 benzerlik göstermektedir. Peridyumunun prozenkimatik olmasıyla ayrılan *T. excavatum*'dan ayrılan NR153211 kodlu tiptür olan *T. neoexcavatum* örneğiyle %87, glebasının sarımsı kahverengi olmasıyla ayrılan NR155922 kodlu tiptür olan *T. badium* örneğiyle %88 benzerlik göstermektedir (Wan vd., 2017). MYG 03 kodlu örneğin diğer türlerden ayrılarak *T. excavatum* türleriyle birlikte %100 Bootstrap değeriyle desteklenen bir dalda kümelenmesi morfolojik teşhisin doğruluğunu göstermektedir.

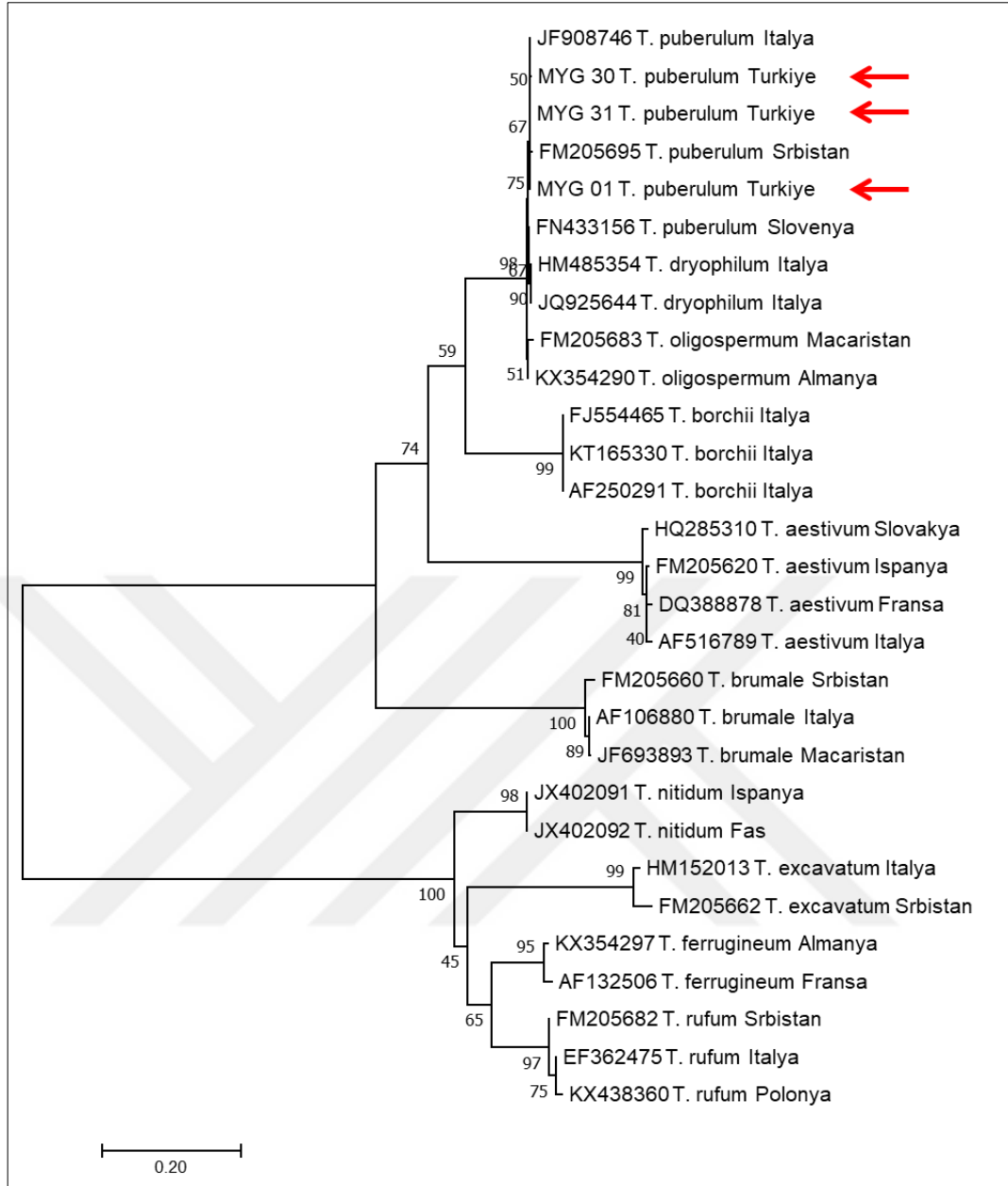


Şekil 3.13. *Tuber excavatum* türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı

Bu çalışmada incelenen askokarpta oyuk bulunmayan beyaz trüfler *T. borchii* ve *T. puberulum* örnekleridir. Bu iki tür retikülat sporlara sahiptir. Ayrıca her iki türünde yüzeyinde dermatosistidya bulunmaktadır. Ancak *T. puberulum* yüzeyinde daha yoğun sistidya bulunmakta ve kadifemsi görünmektedir. Puberulum epiteti 'kısa yumuşak tüylerle süslenmiş' anlamına gelen 'Puberulent' kelimesinden türetilmiştir

(Montecchi ve Sarasini 2000, Rioussat vd. 2001). *T. puberulum* türünün küremsi sporlara sahip olması ve peridyum yüzeyinin çok sayıda sistitlerle kaplı olması bu türü *T. borchii*'den ayıran önemli özellikleridir (Montecchi ve Sarasini 2000). Morfolojik ve moleküler karakterler açısından benzer oldukları için yapılan birçok çalışmada *T. puberulum*, *T. borchii*, *T. dryophilum* ve *T. oligospermum* türleri *Puberulum* grubu olarak ele alınmıştır (Jeandroz vd., 2008; Bonito vd., 2010a; Bonito vd., 2010b; Bulman vd., 2010; Alvarado vd., 2012a).

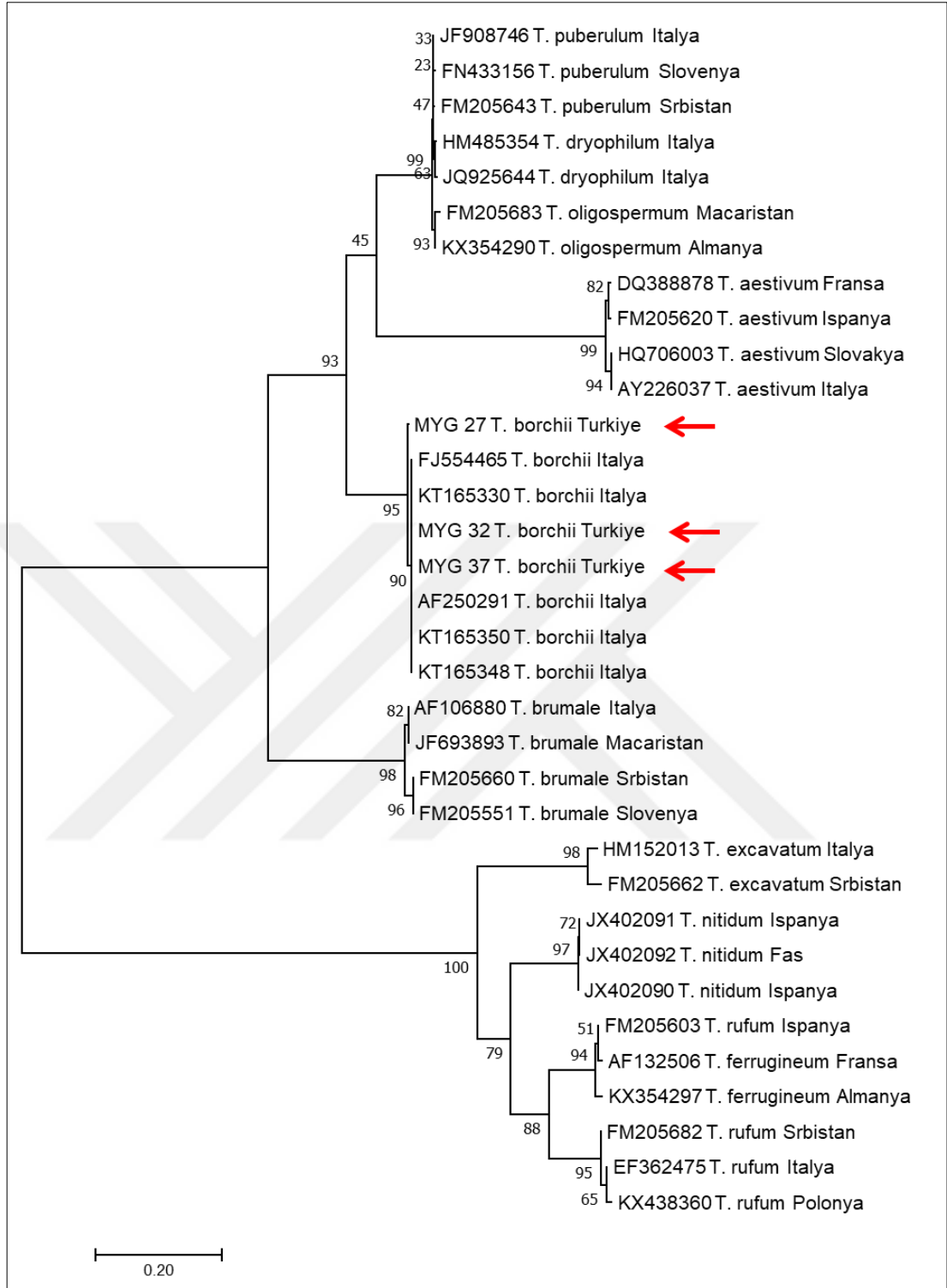
Şekil 3.14.'de verilen *Tuber puberulum* türüne ait Neighbor Joining ağacı 29 nükleotit sekansı içermektedir. Her bir dizi çifti için tüm belirsiz pozisyonlar kaldırılmıştır. Son analiz kümesinde toplamda 671 nükleotid bulunmaktadır. Türkiye *T. puberulum* örnekleri Genbank ile kıyaslandığında en yakın *T. puberulum*, *T. borchii*, *T. dryophilum* ve *T. oligospermum* türleri ile benzerlik göstermiştir. *T. borchii* ve *T. puberulum* türlerinin ayrımı konusunda Halász ve diğerlerinin 2005 yılında yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla benzer şekilde bu çalışmada da *T. borchii* ve *T. puberulum* örnekleri hem morfolojik karakterler hemde moleküler açıdan birbirlerinden ayrılmış ve ayrı dallarda çıkmıştır (Şekil 3.14.). Türkiye *T. borchii* örnekleri yalnızca İtalya *T. borchii* örnekleriyle yüksek benzerlik göstermiş ve diğer türlerden ayrı bir kümede toplanmıştır. Türkiye MYG 30 ve MYG 31 kodlu *T. puberulum* örnekleri sırasıyla %98 benzerlik %98 kapsama alanı ile KX354290 Almanya *T. oligospermum* örnekleriyle ve sırasıyla %98-99 benzerlik %96 kapsama alanı ile FM433156 Slovenya ve FM205695 Sırbistan *T. puberulum* örnekleriyle benzerlik göstermiştir. MYG 01 kodlu *T. puberulum* örneği ise %98 benzerlik ve %96 kapsama alanı ile FM205683 Macaristan *T. oligospermum* örnekleriyle benzerlik göstermiştir. *T. dryophilum* örnekleriyle ise %96 kapsama alanı ve %98 benzerlik göstermiştir. *T. oligospermum* türleri peridyumunun prozenkimatik olmasıyla, peridyumu psödoparankimatik olan *T. borchii* ve *T. puberulum* türlerinden ayrılmaktadır (Alvarado vd., 2012). Prozenkimatik yapıda peridyum, elips şeklinde sporlar ve geniş ağ gözlü retikülasyona sahip sporlar ile *T. dryophilum* örnekleri *T. borchii* ve *T. puberulum* türlerinden ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000).



Şekil 3.14. *Tuber puberulum* türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı

Şekil 3.15.'de verilen *Tuber borchii* türüne ait Neighbor Joining ağacı 34 nükleotit sekansı içermektedir. Her bir dizi çifti için tüm belirsiz pozisyonlar kaldırılmıştır. Son analiz kümesinde toplamda 656 nükleotid bulunmaktadır. Bu çalışmada da Türkiye *T. borchii* örneklerinin ITS dizileri en yüksek oranda (%99 benzerlik ve %96-99 kapsama alanı) İtalya örnekleriyle benzerlik göstermiştir.

MYG kodlu *T. borchii* örneklerinin diğer türlerden ayrılarak *T. borchii* türleriyle birlikte %95 Bootstrap değeriyle desteklenen bir dalda kümelenmesi morfolojik teşhisin doğruluğunu göstermektedir.



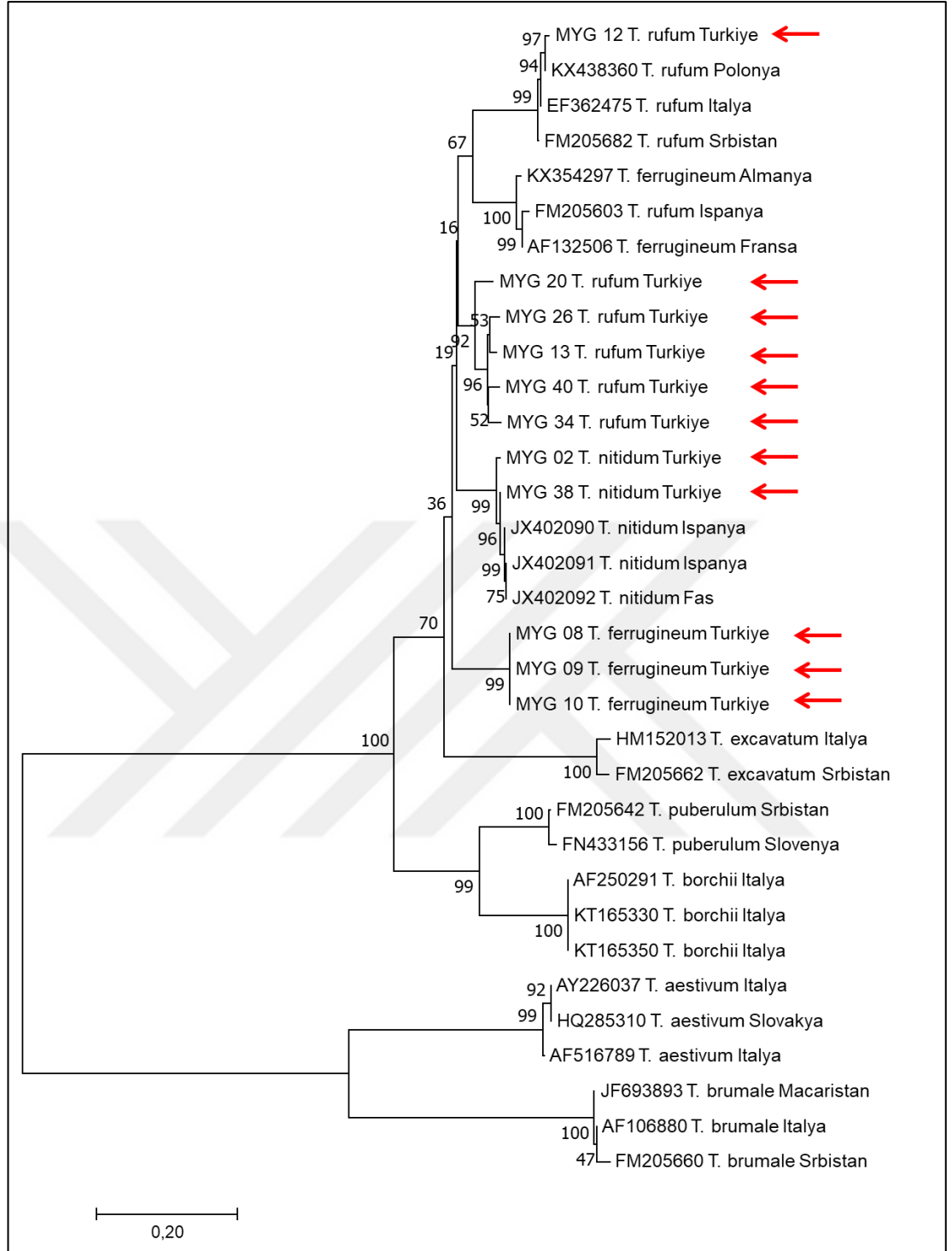
Şekil 3.15. *Tuber borchii* türünün neighbor joining filogenetik soy ağacı

Kaynaklarda rufum grubu olarak geçen türler sporlarının spinat olmasıyla diğer beyaz trüflerden ayrılmaktadır. Bu çalışmada rufum grubuna ait örneklerin tamamı morfolojik olarak teşhis edildiğinde *T. ferrugineum*, *T. rufum* ve *T. nitidum* türleri teşhis edilmiştir. Bu çalışmada başlangıçta teşhiste sorun yaşanan bazı rufum grubu

örnekleri moleküler analizler sonrasında tekrar incelenmiş ve tespit edilmesi zor olsa da kayda değer farklılıklar gözlenmiştir.

Şekil 3.16.'da verilen Rufum grubu türlere ait Neighbor-Joining ağacı 33 nükleotit sekansı içermektedir. Her bir dizi çifti için tüm belirsiz pozisyonlar kaldırılmıştır. Son analiz kümesinde toplamda 652 nükleotid ile gerçekleştirilmiştir. Evrimsel analizler MEGA7'de gerçekleştirilmiştir (Kumar vd., 2016). Türkiye *Tuber nitidum* örneklerinin ITS dizileri Genbank ile kıyaslandığında JX402090 ve JX402091 İspanya, JX402092 Fas örnekleri ile sırasıyla %98-99 benzerlik göstermiş ve ayrı bir dalda kümelenmiştir. Bu durum morfolojik teşhisin doğruluğunu göstermektedir. Genbanka yüklenmiş diğer tüm dizilerden %10-13 oranında farklıdır. Askokarp yüzeyinin beyaz ve krem renklerde olması, sporlarının elips şeklinde, spinat ve spin uzunluğunun 1- 1,5 µm şeklinde kısa olması, spinlerin dip kısımları arasında oluşan bağlantılar nedeniyle kısmi retikülasyona benzemesi *T. ferrugineum* ve *T. rufum* türlerinden ayrımını sağlamaktadır (Zambonelli vd., 2016).

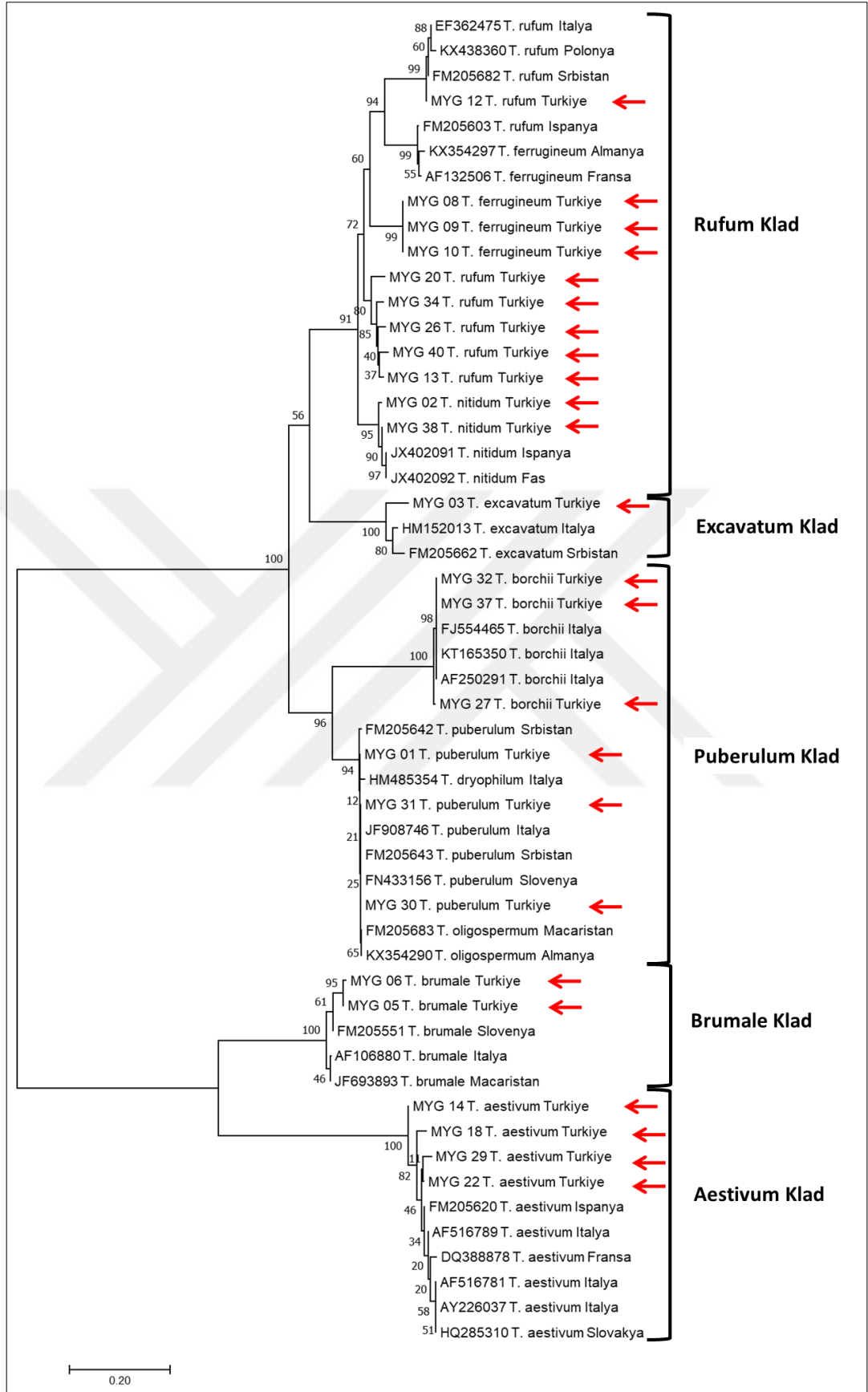
Türkiye *T. ferrugineum* örnekleri Genbank ile kıyaslandığında en yüksek *T. melosporum* örnekleriyle %100 kapsama alanı ve %90 oranında benzerlik göstermektedir. Ancak morfolojik açıdan *T. melosporum* ornamentasyon bulunmayan yüzeyi düz sporlara sahiptir (Alvarado vd., 2012b). Zaten %10 oranında bir fark ayrı türler olduğunu göstermektedir. *T. rufum* örnekleriyle benzerlik oranı e-değerleri (şans eseri benzeme olasılık değeri) sıfırdan farklı olmak üzere %88'dir. *T. ferrugineum* türüne ait genbanka yüklenmiş AF132506 kodlu Fransa ve KX354297 kodlu Almanya örnekleri olmak üzere sadece iki tane veri girişi bulunmaktadır. Elimizdeki örneklerin bu diziler ile benzerlik oranı e-değerleri sıfırdan farklı olmak üzere sırasıyla %83-87'dir. Mikoriza örneklerinden DNA izolasyonu yapıldığı belirtilen bu diziler tekrar Genbank ile kıyaslandığında FM205603 kodlu *T. rufum* örneğiyle %99 benzerlik göstermektedir. Türkiye *Tuber ferrugineum* örnekleri %100 bootstrap değeriyle desteklenen bir dala ayrılmıştır. MYG 08, MYG 09 ve MYG 10 kodlu *Tuber ferrugineum* örneklerinin sporları elips şeklinde, spinat, spin uzunluğu 2,5- 4,2 µm, Q değeri 1,3. Spin uzunluklarının yüksekliği ile *T. rufum* ve *T. nitidum* türlerinden ayrılmış ve *Tuber ferrugineum* olarak isimlendirilmiştir (Trappe vd., 2007).



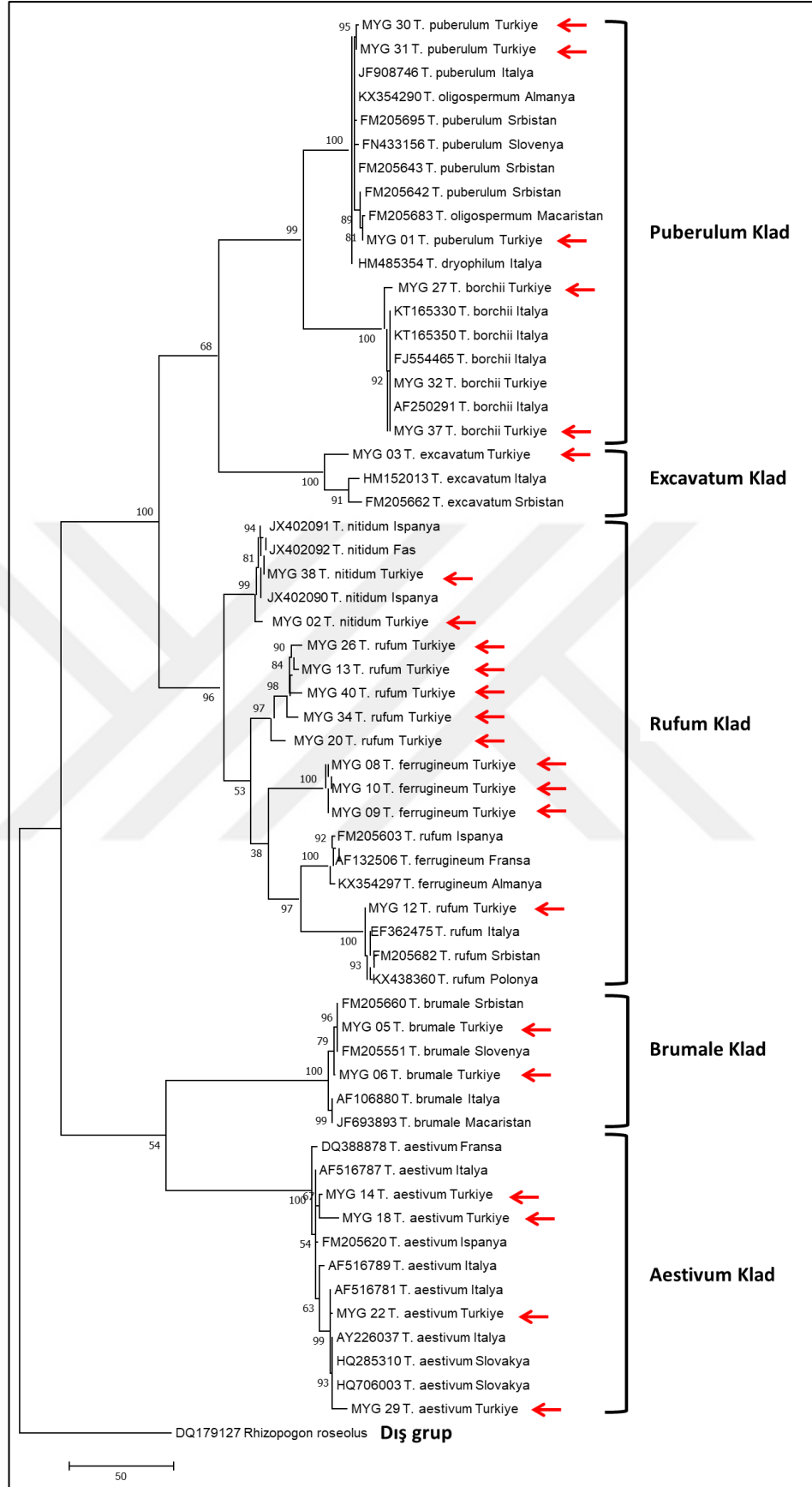
Şekil 3.16. Rufum grubu türlerinin neighbor joining filogenetik soy ağacı

Tuber rufum olarak isimlendirilmiş örneklerin ITS dizileri Genbank ile kıyaslandığında EF362475 İtalya, FM205682 Sırbistan ve KX438360 Polonya *T. rufum* örnekleriyle en yüksek %92 benzerlik göstermektedir. Genbanktaki diğer türler ile %90'ın altında benzerlik göstermektedir. Türkiye örnekleri sporlarının elips şeklinde, spinat, spin uzunluğu 1,8- 2,5 µm arasında olması gibi morfolojik karakterler ile *T. rufum* deskripsiyonuna uymaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000; Rioussset vd. 2012). MYG 12 kodlu *T. rufum* örneği ise sporlarının uzun elips şeklinde (Q değeri 1,6) ve spin uzunluğu 1,8- 3,2 µm olması ile morfolojik farklılık göstermektedir. Eriteti nedeniyle benzer olabileceği tahmin edilen *Tuber rufum* var. *oblongisporum* ise günümüzde *T. rufum* olarak kabul edilmektedir (Rioussset vd., 2012). Bu örnek EF362475 İtalya, FM205682 Sırbistan ve KX438360 Polonya *T. rufum* örnekleriyle en yüksek %99 benzerlik göstermektedir. Wang vd., (2007) yaptıkları çalışmada ITS bölgesi dizilerine dayalı verilerle elde ettikleri soy ağaçlarında *T. rufum* türleri %100 bootstrap değeriyle desteklenen farklı dallarda çıkmışlardır. Iotti vd. (2007) *T. rufum* türlerinin teşhisi için primer tasarladıkları çalışmada rDNA ITS bölgesinin soyağaçlarını oluşturmuşlardır. Buna göre *T. rufum*'un yüksek intraspesifik genetik değişkenliğe sahip olduğunu ve beş grubun yüksek destekle çözüldüğünü bildirmişlerdir. *T. rufum*'un yakından ilişkili türlerden oluşan bir kompleks olduğu anlaşılmakta ancak bu türler için morfolojik, ekolojik ve coğrafi ayrımlar henüz belirlenememiştir (Iotti vd., 2007). Bu gibi nedenler, MYG kodlu *T. rufum* örneklerinin (MYG 12 hariç) Genbank örnekleriyle uyumlu bir şekilde aynı dalda kümelenmediğini açıklamaktadır. MYG 12 kodlu örneğin haricinde diğer MYG kodlu *T. rufum* örneklerinin dizileri ilk defa dizilenmiş olma olasılığının yanısıra *T. rufum*'un yakından ilişkili türlerden oluşan bir komplekse ait farklı bir tür olma olasılığı da bulunmaktadır.

Şekil 3.17.'de verilen tez çalışması kapsamında dizisi elde edilen tüm türlere ait Neighbor-Joining ağacı 53 nükleotit sekansı içermektedir. Her bir dizi çifti için tüm belirsiz pozisyonlar kaldırılmıştır. Son analiz kümesinde toplamda 790 nükleotid bulunmaktadır.



Şekil 3.17. Türkiye’de yayılış gösteren *Tuber* türlerinin neighbor joining filogenetik soy ağacı



Şekil 3.18. Türkiye’de yayılış gösteren *Tuber* türlerinin bootstrap filogenetik soy ağacı

Şekil 3.18.'teki filogenetik ağaç elde edilirken MEGA7 programının karakter temelli yöntemlerinden biri olan maksimum parsimoni seçilip SPR (Subtree Pruning Grafting) metodu kullanılmıştır. Parsimoni kriteri ile 1000 tekrarlı bootstrap analizi yapıp soy ağaçlarının her bir dalının istatistiksel olarak değerlendirildiği ve en güvenilir olan dallarının tespit edildiği ağaç kaydedilmiştir.

Bu tez çalışmasında incelenen örneklerin tamamı ile oluşturulan Neighbor Joining ve Bootstrap soyağaçlarında %96-100 Bootstrap değeriyle desteklenen 5 klad elde edilmiştir. Bunlar Puberulum, Excavatum, Rufum, Brumale ve Aestivum kladlarıdır. Beyaz trüfleri kapsayan Puberulum, Excavatum, Rufum kladlarını bulduğu dal, siyah trüfleri kapsayan Brumale ve Aestivum kladlarının bulunduğu daldan %100 Bootstrap değeriyle ayrılmıştır. Siyah trüflerin bulunduğu dal ise %100 Bootstrap değeriyle desteklenen Brumale ve Aestivum kladlarına ayrılmıştır. Beyaz trüflerin bulunduğu daldan ilk önce spinat sporlu Rufum kladı, retikülat sporlu Excavatum ve Puberulum kladlarından, %96 Bootstrap değeriyle desteklenen bir dala ayrılmıştır. Sonrasında bazal oyuk bulunduran Excavatum kladı %68 Bootstrap değeriyle Puberulum kladından ayrılmıştır. Morfolojik veriler kladlar bazında moleküler verilerle desteklenmektedir. Puberulum kladı içinde Türkiye *T. borchii* örnekleri ile İtalya *T. borchii* örnekleri %100 Bootstrap değeriyle desteklenerek ayrı kümelenmiştir. Türkiye *T. puberulum* örnekleri ise Avrupa kökenli *T. oligospermum*, *T. dryophilum* ve *T. puberulum* örnekleriyle kümelenmiştir. Rufum kladında *T. nitidum* örnekleri %96 Bootstrap değeriyle desteklenerek *T. rufum* ve *T. ferrugineum* türlerinden ayrı kümelenmiştir. *T. rufum* ve *T. ferrugineum* türleri moleküler verilerle net olarak ayrılmıştır. Ancak elde edilen ağaçlarda rufum grubu türlerin ayrımının bazı noktalarda net olmaması bizi, Iotti vd. (2007) bildirdiği gibi Rufum grubunun yakından ilişkili türlerden oluşan bir kompleks olduğu sonucuna ulaştırmaktadır.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma 2012-2014 yılları arasında yapılan arazi çalışmaları sonucunda elde edilen örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında 18 il 29 lokaliteden elde edilen 50 adet *Tuber* örneği üzerinde morfolojik ve moleküler çalışmalar yürütülmüş sonuçta dokuz tür tespit edilmiştir. Bunlar; *Tuber aestivum*, *T. borchii*, *T. brumale*, *T. excavatum*, *T. ferrugineum*, *T. mesentericum*, *T. nitidum*, *T. puberulum* ve *T. rufum*'dur. Ayrıca her türü temsil edecek şekilde olmak üzere farklı lokalitelerden seçilmiş örneklerin rDNA ITS bölgesinin dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler ile filogenetik soy ağaçları oluşturulmuştur.

Tuber türleri subtropikal, ılıman ve kıraç ormanlar ile taşkın alanları, ağaç fidanlıkları, restorasyon bölgeleri ve Akdeniz ormanlık alanları gibi çeşitli habitatlarda çeşitli gymnosperm ve angiosperm bitkiler ile ektomikoriza oluştururlar. (Ceruti vd. 2003; Bidartondo vd. 2004; Izzo vd. 2005; Menkis vd. 2005; Bergemann ve Garbelotto 2006; Ishida vd. 2007; Hryniewicz vd. 2008; Southworth vd. 2009; Bulman vd. 2010). Ülkemizde de yaygın olarak sırasıyla *Quercus cerris*, *Q. coccifera*, *Q. pubescens*, *Q. ilex*, *Pinus brutia*, *P. nigra*, *Picea orientalis*, *Fagus orientalis*, *Carpinus betulus*, *Corylus avellana*, *Abies nordmanniana*, *Tilia rubra*, *Ceratonia siliqua*, *Ostrya* spp., *Populus* türlerinin yetiştiği ormanlarda doğal olarak bulunduğu gözlenmiştir. *Tuber* türlerinin bu bitkiler ile mikorizal ilişki kurabildiği ve bu şekilde yaşamını sürdürebildiği bilinmektedir. Bu çalışma kapsamındaki *Tuber* örneklerinin, Türkiye'de bol yağış alan ve ılıman iklim koşullarının görüldüğü dolayısıyla mikorizal ortakları olan yüksek bitkilerin doğal ve etkin bir yayılışa sahip olduğu bölgelerde daha fazla yayılım gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen örnekler tür çeşitliliği en fazla Ege bölgesinde, en az İç Anadolu bölgesinde görülmüştür.

Tuber için dünya çapındaki tür çeşitliliğini tahmin etmek sayısız sinonim ve yanlış isimlendirmeler nedeniyle oldukça zordur. Index Fungorum, 319 tanımlanmış *Tuber* türü (sinonimler ve varyeteler dahil olmak üzere) listelemesine ve Dictionary of the

Fungi de 86 tür bildirilmesine rağmen (Kirk vd. 2008) 70–75 türün geçerli olduğuna inanılmaktadır (Ceruti vd. 2003; Jeandroz vd. 2008). 76 bağımsız çalışmadan elde edilmiş 2000 den fazla rDNA ITS bölgesi dizilerinin meta analizi ile %96 dizi benzerliği gösteren 123 filotip (fenetik özellikleri benzer olan örnekler) ayırt edilmiştir. Sonuçta ise dünyada 180 tür olduğu belirtilmiştir (Bonito vd. 2010a). Ülkemizde ise günümüzde mevcut literatürde *Tuber* cinsine ait dokuz tür bildirilmiştir.

Tuber aestivum tüm Avrupa’da, Kuzey Afrika’dan Gotland’a hatta Gürcistan ve Azerbaycan’a kadar belirli bir yükselti seçmeden çok sıcak yazların geçtiği yerlerde bulunabildiği gibi, kışın dondurucu soğuk olan bölgelerde bile bulunabilmektedir. Dünya’da olduğu gibi Türkiye’de de en fazla yayılış *T. aestivum* türünde görülmüştür. Toprağın pH’sının nötr veya alkali olduğu lokalitelerde doğal olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında peridyumu daha kalın ve piramit şeklinde siğillerle kaplı olan siyah trüflerin (*T. aestivum* hariç) peridyumu ince ve siğılsiz olan beyaz trüflerden daha az yayılış gösterdiği görülmüştür. Ekonomik öneme sahip türler *T. aestivum*, *T. borchii* ve *T. brumale*’dir. Uygun iklim ve toprak yapısı bulunmasına rağmen yapılan çalışmalarda ekonomik değeri oldukça yüksek olan *T. magnatum* ve *T. melanosporum* bulunamamıştır. Yetiştirilmesi için gerekli şartların oluşmaması, yapılan arazi çalışmalarında denk gelip bulunmaması vs. gibi nedenlerden dolayı bulunamamış olma olasılığı yüksektir. Ancak buna karşın, iklim şartları oldukça benzer olan Avrupa’da bulunuyor olması ileride yapılacak kapsamlı çalışmalarda bulunma olasılığının yüksek olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada 50 adet *Tuber* cinsi trüf örneğinin morfolojik ve moleküler analizler ile incelenmesi sonucunda 3 adet siyah trüf türü ile 6 adet beyaz trüf türü tespit edilmiştir. Siyah trüflerden olan *Tuber aestivum* türüne ait askokarplar peridyumunun kaba piramit şeklinde siğillerle kaplı olması ve glebanın ince, koyu fındık kahverengi ve kirli beyaz damarlı mermer görünümünden ayırt edilebilmektedir. Benzer morfolojiye sahip *T. mesentericum* türü topraktan çıktığında olgun ise yoğun tüp gazı benzeri kokusu ve dip kısmında bulunan derin oyuk ile *T. aestivum*dan ayırt edilebilmektedir. *T. aestivum* ve *T. mesentericum* sporları birbirine oldukça benzerdir sadece *T. mesentericum* sporları nispeten daha büyük ve düzensiz çokgen şekilde ağsı süslere sahiptir (Montecchi ve Sarasini 2000). Bir diğer siyah

trüf olan ve benzer şekilde siğillerle kaplı *T. brumale* ise siğillerin nispeten küçük oluşu, glebanın grimsi ve daha koyu renkli olması ve geniş beyaz damarlı mermer görüntüsüne sahip olması nedeniyle ilk bakışta *T. aestivum* ve *T. mesentericum*dan ayırt edilmektedir. Mikroskopik açıdan ise *T. brumale* sporlarının spinat (iğne şeklinde spinler ile süslü) olması ile diğer üç türden ilk anda ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000, Trappe vd. 2007, Rioussset vd. 2001).

Elimizdeki *Tuber aestivum* örneklerinin, mantarlar için DNA barkodu olarak görülen (Nilsson vd. 2008) rDNA ITS bölgesine ait dizileri Genbank verileriyle kıyaslandığında *Tuber aestivum* türleriyle %99 benzerlik göstermiştir. Elimizdeki örnekler kendi içinde kıyaslandığında ise tür içinde %3 farklılık (%97 benzerlik) gösterdiği saptanmıştır. Benzer şekilde Bonito vd. (2010a) yaptığı çalışmalarda en yüksek tür içi ITS varyasyonun %3,7'den küçük olduğu görülmüştür. Ayrıca Mello vd. (2002) ve Wedén vd. (2005) yaptıkları çalışmalar sonucunda *T. aestivum* için tür içi varyasyonun %3 ten fazla olduğunu belirtmiştir. Ancak genel olarak çoğu *Tuber* türü için tür içi ITS varyasyonu % 1-3 arasında, türler arası varyasyonun ise % 4 ten fazla olduğu görülmüştür (Bonito vd. 2010a). *T. brumale* türünün ITS bölgesi yaklaşık 900 bp uzunluğundadır ve göstermiş olduğu bu uzunluk polimorfizmi ile ticari değeri yüksek *T. melanosporum* ve ticari değeri düşük olan *T. indicum* türlerinden sekans analizine gerek kalmadan ayrılabilir (Rubini vd. 1998). Elimizdeki *T. brumale* türlerine ait 850 bp uzunluğunda diziler elde edilmiştir. Çalışmadaki diğer türlerden hem morfolojik karakterler açısından hem de DNA dizisi uzunluk polimorfizmi açısından Rubini ve diğerlerinin çalışmasında olduğu gibi sekans analizine gerek kalmadan ayrılabilir. Ülkemize ait *T. brumale* ITS dizilerinin saptanması amacıyla tüm örneklerin sekans analizi yapılmış elde edilen diziler Genbank verileriyle kıyaslandığında %99-100 benzerlik gösterdiği, tür içinde ise %1 farklılık (%99 benzerlik) gösterdiği belirlenmiştir. Oluşturulan soy ağaçlarında Genbank dizileriyle uyumlu olarak diğer türlerden ayrılmış ve %100 bootstrap değeriyle farklı bir dalda toplanmıştır. Morfolojik isimlendirme moleküler verilerle desteklenmiştir. Bir diğer siyah trüf olan *T. mesentericum* örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış ancak küf dizisi elimize geçmiştir. Bu nedenle bu çalışmada *T. mesentericum* örneğine ait moleküler veri bulunmamaktadır. Ancak Castellano ve Türkoğlu (2012) *T. mesentericum* türünü yeni kayıt olarak bildirdiği çalışmada türün morfolojik isimlendirmesinin moleküler verilerle desteklendiğini

bildirmiştir. Ayrıca *T. mesentericum* türü morfolojik olarak belirgin bazal bir oyuğa ve daha yoğun bir tüp gazı benzeri kokuya sahip olması gibi karakterler ile *T. aestivum* türünden ayrılmaktadır (Montechii ve Sarasini, 2000). Çalışılan *T. mesentericum* örnekleri de kaynaklarda geçen morfolojik tanımlara uymaktadır.

Makroskobik karakterlere dayalı ayırım, beyaz trüflerde siyah trüflerde olduğu kadar kolay değildir. Peridyum ve gleba rengi, askokarp büyüklükleri oldukça benzerdir. Makroskobik olarak ilk başta askokarpın dip kısmında belirgin bir oyuk bulunması Bonito vd. (2010b) bildirdiği gibi *T. excavatum*'un diğer türlerden ayrımını sağlamaktadır. (Montechii ve Sarasini, 2000; Rioussset vd., 2001). Elimizdeki *T. excavatum* dizileri Genbanktaki *T. excavatum* dizileriyle kıyaslandığında %91-92 oranında benzerlik göstermektedir. Ayrıca *T. excavatum* dizileri FM205702, HM151976 ve HM152016 kodlu *T. fulgens* dizileriyle %87 benzerlik göstermektedir. Peridyumunun prozenkimatik olmasıyla *T. excavatum*'dan ayrılan NR153211 kodlu tiptür olan *T. neoexcavatum* örneğiyle %87, glebasının sarımsı kahverengi olmasıyla ayrılan NR155922 kodlu tiptür olan *T. badium* örneğiyle %88 benzerlik göstermektedir (Wan vd., 2017). Bonito vd. (2010a) yaptıkları çalışma da *T. excavatum* türlerinin tür içi varyasyonunun %14,7'den küçük, türlerarası varyasyonu ise %9,2'den büyük olarak bildirmiştir. Buna göre *T. fulgens*, *T. badium*, *T. neoexcavatum* gibi tür içi farklılık oranı %8-13 arasında olan türlerin ayrı türler olarak kabul edilmemesi gerekmektedir. Morfolojik farklılıklar makroskobik düzeyde olup teşhis esnasında kolay ayırt edilemeyen özelliklerdir. Ayrıca bu özellikler çevresel faktörlerden etkilenmekte ve gelişim safhalarında farklılık göstermektedir. Tür ayırımında kabul edilip edilmemesi de ayrı bir tartışma konusudur.

Askokarpta oyuk bulunmayan beyaz trüflerin makroskobik ayrımı olgun örneklerde peridyum rengine ve yüzey özelliklerine göre yapılabilen ancak bu yanıltıcı olmaktadır. Bunların ayrımı sadece mikroskobik karakterler kullanılarak yapılabilir. Sporların ornamentasyon şekilleri ayırmada kullanılan en temel karakterdir.

Askokarpta oyuk bulunmaması, peridyumunun psödoparankimatik olması ve yüzeyinde dermatosistidya bulunması nedeniyle *T. borchii* ve *T. puberulum* örnekleri diğer türlerden ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000, Rioussset vd. 2001). Ancak *T. puberulum* yüzeyinde daha yoğun sistidya bulunmakta ve kadifemsi görünmektedir. Puberulum epiteti 'kısa yumuşak tüylerle süslenmiş' anlamına gelen

‘Puberulent’ kelimesinden türetilmiştir (Montecchi ve Sarasini 2000, Rioussat vd. 2001). *T. puberulum* türünün küremsi sporlara sahip olması ve peridyum yüzeyinin çok sayıda sistitlerle kaplı olması bu türü *T. borchii*’den ayıran önemli özellikleridir (Montecchi ve Sarasini 2000). Morfolojik ve moleküler karakterler açısından benzer oldukları için yapılan birçok çalışmada *T. puberulum*, *T. borchii*, *T. dryophilum* ve *T. oligospermum* türleri *Puberulum* grubu olarak ele alınmıştır (Jeandroz vd., 2008; Bonito vd., 2010a; Bonito vd., 2010b; Bulman vd., 2010; Alvarado vd., 2012a). Bu çalışmada da Türkiye *T. borchii* örneklerinin ITS dizileri en yüksek oranda (%99 benzerlik ve %96-99 kapsama alanı) İtalya örnekleriyle benzerlik göstermiştir. Türkiye *T. puberulum* örnekleri Genbank ile kıyaslandığında en yakın *T. puberulum*, *T. borchii*, *T. dryophilum* ve *T. oligospermum* türleri ile benzerlik göstermiştir. Bu nedenle grup olarak ele alınıp değerlendirilmiştir. *T. borchii* ve *T. puberulum* türlerinin ayrımı konusunda Halász ve diğerlerinin 2005 yılında yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla benzer şekilde bu çalışmada da *T. borchii* ve *T. puberulum* örnekleri hem morfolojik karakterler hemde moleküler açıdan birbirlerinden ayrılmış ve ayrı dallarda çıkmıştır. Türkiye *T. borchii* örnekleri yalnızca İtalya *T. borchii* örnekleriyle yüksek benzerlik göstermiş ve diğer türlerden ayrı bir kümede toplanmıştır. Türkiye *T. puberulum* örnekleri *T. oligospermum* örnekleriyle %98 ve *T. puberulum* örnekleriyle %98-99 benzerlik göstermiştir. *T. dryophilum* örnekleriyle ise %96 kapsama alanı ve %98 benzerlik göstermiştir. *T. oligospermum* türleri peridyumunun prozenkimatik olmasıyla, peridyumu psodoparankimatik olan *T. borchii* ve *T. puberulum* türlerinden ayrılmaktadır (Alvarado vd., 2012). Prozenkimatik yapıda peridyum, elips şeklinde sporlar ve geniş ağ gözlü retikülasyona sahip sporlar ile *T. dryophilum* örnekleri *T. borchii* ve *T. puberulum* türlerinden ayrılmaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000).

Kaynaklarda rufum grubu olarak geçen *T. ferrugineum*, *T. rufum* ve *T. nitidum* türleri sporlarının spinat olmasıyla diğer beyaz trüflerden ayrılmaktadır. Fischer (1923) yılında *Tuber rufum* türünü *T. rutilum* ve *T. rufum* olarak ayırmış ve *apiculatum*, *brevisporum* ve *oblongisporum* olmak üzere üç varyete tanımlamıştır. Montecchi ve lazzari (1987) yılında *T. ferrugineum* ve *T. nitidum* türlerini *T. rufum*’un formları olarak bildirmişlerdir. Knapp (1950) grup içinde en erken tarif edilen tür *Tuber rufum* olduğu için bu gruba rufum grubu adını vermiştir (Zambonelli vd., 2016). Rufum grubu üyelerinde yüzeyi çatlaklı veya hafif siğilli, dikenli askospor sahip

türler bulunmaktadır. Rioussset ve diğerleri (2001), bu gruba *T. nitidum*, *T. panniferum* Tul., *T. requienii* Tul. dahil etmiştir. (Rioussset vd, 2001). Ceruti ve diğerleri *Tuber ferrugineum* türünü ise *T. requienii* türünün sinonimi veya *T. rufum* Pico, var. *ferrugineum* Vittad. olarak kabul etmiştir. (Ceruti vd., 2003). Benzer şekilde *T. requienii*'nin *T. nitidum* ile sinonim olduğunu düşünmektedir (Ceruti vd. 2003). Bonito vd. (2010a) ITS dizilerine dayalı yaptıkları çalışma ile bu gruba *T. lucidum* H. Bonnet, *T. lyonii* Butters, *Tuber malacodermum* E. Fisch. *T. nitidum* ve *Tuber texense* Heimsch türleri ile 25 tanımlanmamış tür ilave etmiştir. Tanımlanmamış türler grubu ile %96 benzerlik göstermektedir. Ayrıca Bonito vd. (2010a, 2013) *T. ferrugineum* ve *T. nitidum* türlerinin geçerliliğini desteklemektedir.

Türkiye’de rufum grubuna ait örneklerin tamamı morfolojik olarak teşhis edildiğinde *T. ferrugineum*, *T. rufum* ve *T. nitidum* türleri teşhis edilmiştir. Wang vd., (2007) yaptıkları çalışmada ITS bölgesi dizilerine dayalı verilerle elde ettikleri soy ağaçlarında rufum grubu üyeleri aynı kladda toplanmasına rağmen türler kendi içinde aynı gruplarda toplanmamıştır. Bunun nedeni olarak bazı türlerin yanlış isimlendirilmiş olabileceği vurgulanmıştır. Bu çalışmada başlangıçta isimlendirme de kararsız kalınan bazı rufum grubu örnekleri moleküler analizler sonrasında tekrar incelenmiş ve tespit edilmesi zor olsa da kayda değer farklılıklar gözlenmiştir. Oluşturulan soyağaçlarında Rufum grubu %96 gibi yüksek bir bootstrap değeriyle desteklenen ayrı bir dalda toplanmıştır.

Tuber nitidum ITS dizileri genbank ile kıyaslandığında *Tuber nitidum* ile %99 benzerlik göstermektedir. Örneklerin peridyumları iç içe geçmiş sıkı hifli yapıda tek tabakadır. Askuslar 1-5 sporlu, sporlar elips şeklinde, spinat, spin uzunluğu 1- 1,5 µm, spinlerin dip kısımları arasında bağlantılar oluşmuş ve bu nedenle kısmi retikülasyona benzemektedir (Zambonelli vd., 2016). Sporların spin uzunlukları ve spinlerin dip kısmındaki bağlantılar ile diğer türlerden ayrılmaktadır. Türkiye *T. ferrugineum* örnekleri Genbank ile kıyaslandığında en yüksek *T. melosporum* örnekleriyle benzerlik göstermektedir. Ancak morfolojik açıdan *T. melosporum* ornamentasyon bulunmayan yüzeyi düz sporlara sahiptir (Alvarado vd., 2012b). *T. rufum* örneklerinden %12 farklılık göstermektedir. *T. ferrugineum* türüne ait genbanka yüklenmiş iki tane veri bulunmaktadır. Elimizdeki örneklerin bu diziler ile benzerlik oranı e-değerleri sıfırdan farklı olmak üzere %83-87’dir. Mikoriza örneklerinden DNA izolasyonu yapıldığı belirtilen bu diziler tekrar Genbank ile

kıyaslandığında *T. rufum* örnekleriyle %99 benzerlik göstermektedir. Bu durum AF132506 kodlu Fransa ve KX354297 kodlu Almanya *T. ferrugineum* örneklerinin teşhisinin doğruluğu konusunda şüphe uyandırmaktadır. Türkiye *Tuber ferrugineum* örnekleri %100 bootstrap değeriyle desteklenen bir dala ayrılmıştır. Türkiye *Tuber ferrugineum* örneklerinin sporları elips şeklinde, spinat, spin uzunluğu 2,5- 4,2 µm, Q değeri 1,3. Spin uzunluklarının yüksekliği ile *T. rufum* ve *T. nitidum* türlerinden ayrılmış ve *Tuber ferrugineum* olarak isimlendirilmiştir (Trappe vd., 2007).

Tuber rufum olarak isimlendirilmiş örneklerin ITS dizileri Genbank ile kıyaslandığında EF362475 İtalya, FM205682 Sırbistan ve KX438360 Polonya *T. rufum* örnekleriyle en yüksek %92 benzerlik göstermektedir. Genbanktaki diğer türler ile %90'ın altında benzerlik göstermektedir. Türkiye örnekleri sporlarının elips şeklinde, spinat, spin uzunluğu 1,8- 2,5 µm arasında olması gibi morfolojik karakterler ile *T. rufum* deskripsiyonuna uymaktadır (Montecchi ve Sarasini 2000; Rioussset vd. 2012). MYG 12 kodlu *T. rufum* örneği ise sporlarının uzun elips şeklinde (Q değeri 1,6) ve spin uzunluğu 1,8- 3,2 µm olması ile morfolojik farklılık göstermektedir. Epiteti nedeniyle benzer olabileceği tahmin edilen *Tuber rufum* var. *oblongisporum* ise günümüzde *T. rufum* olarak kabul edilmektedir (Rioussset vd., 2012). Bu örnek EF362475 İtalya, FM205682 Sırbistan ve KX438360 Polonya *T. rufum* örnekleriyle en yüksek %99 benzerlik göstermektedir. Wang vd., (2007) yaptıkları çalışmada ITS bölgesi dizilerine dayalı verilerle elde ettikleri soy ağaçlarında *T. rufum* türleri %100 bootstrap değeriyle desteklenen farklı dallarda çıkmışlardır. Iotti vd. (2007) *T. rufum* türlerinin teşhisi için primer tasarladıkları çalışmada rDNA ITS bölgesinin soyağaçlarını oluşturmuşlardır. Buna göre *T. rufum*'un yüksek intraspesifik genetik değişkenliğe sahip olduğunu ve beş grubun yüksek destekle çözüldüğünü bildirmişlerdir. *T. rufum*'un yakından ilişkili türlerden oluşan bir kompleks olduğu anlaşılmakta ancak bu türler için morfolojik, ekolojik ve coğrafi ayrımlar henüz belirlenememiştir (Iotti vd., 2007). Elde edilen ağaçlarda Rufum grubu türlerin ayrımının bazı noktalarda net olmaması bizi, Iotti vd. (2007) bildirdiği gibi Rufum grubunun yakından ilişkili türlerden oluşan bir kompleks olduğu sonucuna ulaştırmaktadır.

Genel anlamda elde edilen filogenetik soy ağaçları değerlendirildiğinde tür seviyesinde morfolojik değerlendirmeler moleküler verilerle desteklenmiştir. Dış grup en başta farklı bir klada ayrılmıştır (Şekil 3.18.). Bu da ağaçların

güvenilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. %96-100 Bootstrap değeriyle desteklenen 5 klad elde edilmiştir. Bunlar Puberulum, Excavatum, Rufum, Brumale ve Aestivum kladlarıdır. Beyaz trüfleri kapsayan Puberulum, Excavatum, Rufum kladlarını bulduğu dal, siyah trüfleri kapsayan Brumale ve Aestivum kladlarının bulunduğu daldan %100 Bootstrap değeriyle ayrılmıştır. Siyah trüflerin bulunduğu dal ise %100 Bootstrap değeriyle desteklenen Brumale ve Aestivum kladlarına ayrılmıştır. Beyaz trüflerin bulunduğu daldan ilk önce spinat sporlu Rufum kladı, retikülat sporlu Excavatum ve Puberulum kladlarından, %96 Bootstrap değeriyle desteklenen bir dala ayrılmıştır. Sonrasında bazal oyuk bulunduran Excavatum kladı %68 Bootstrap değeriyle Puberulum kladından ayrılmıştır. Morfolojik veriler kladlar bazında moleküler verilerle desteklenmektedir. Puberulum kladı içinde Türkiye *T. borchii* örnekleri ile İtalya *T. borchii* örnekleri %100 Bootstrap değeriyle desteklenerek ayrı kümelenmiştir. Türkiye *T. puberulum* örnekleri ise Avrupa kökenli *T. oligospermum*, *T. dryophilum* ve *T. puberulum* örnekleriyle kümelenmiştir. Rufum kladında *T. nitidum* örnekleri %96 Bootstrap değeriyle desteklenerek *T. rufum* ve *T. ferrugineum* türlerinden ayrı kümelenmiştir. *T. rufum* ve *T. ferrugineum* türleri moleküler verilerle net olarak ayrılmamıştır. Tüm dalların %68-100 oranında Bootstrap değeriyle destekleniyor olması bu dalların çok güçlü olduğunu göstermektedir (Kress, 2005).

Trüf türlerinin farklı araştırmacılar tarafından yapılan çok fazla sayıda deskripsiyonları vardır. Araştırmacılar tarafından verilen bu deskripsiyonlarda zaman zaman türlerin makroskobik ve mikroskobik özellikleri farklılık gösterebilmektedir. Özellikle mikroskobik karakterler olan spor boyutları, retikülat sporların ağ gözlerinin sayısı ve boyu, iğneli sporların iğnelerinin boyu, askus boyutları, askusların (varsa) sap yapılarının uzunluğu, peridyum ve glebanın hücre yapıları ve tabakalarının kalınlıkları her bir tür için farklı araştırmacılar tarafından genelde farklı olarak verilmiştir. Bu sebeple teşhis edilecek bir örneğin türünün belirlenmesi özellikle bazı türler için oldukça zordur. Morfolojik çalışmalarda olduğu gibi moleküler çalışmalarda da zaman zaman problemler olabilmektedir. ITS dizileri mantarların teşhisinde kullanılan güvenilir bir belirteç olsa da özellikle trüf türlerinin Genbankasından blast yapılması suretiyle teşhis edilmesi zordur. Çünkü genbankasına dizisi yüklenen türlerin yanlış teşhis edilmiş olma olasılığı oldukça yüksektir (Bonito vd., 2010a; Halász vd., 2005; Iotti vd., 2007).

Genbankasında ‘tam olarak teşhis edilememiş’ başlığı altında çok sayıda *Tuber* türünün dizisi yüklenmiştir. Bu türlerin büyük bir kısmı konspesifikken büyük bir kısmı da yeni türlerdir (Bonito vd., 2010a).

Bu tez çalışmasının konusu olan, besin değeri, taşıdığı tıbbi özellikler ile ticari öneme sahip ve aromatik özelliklerinden dolayı dünya genelinde yüksek fiyatlarla marketlerde alıcı bulan bu ektomikorizal mantar türlerinin yetiştiriciliği konusunda birçok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Pekşen ve Kibar, 2007). Bu taleplerden dolayı son iki yüzyıldır ticari amaçlı olarak *Tuber* türlerinin kültürü üzerinde çok çalışma yapılmıştır. *Tuber aestivum*’un yüksek bitkilerle mikorizal ilişki içinde olduğunun keşfedilmesinden sonra Maleçon (1938) trüf ile mikorizalı olan fidanların dikimi fikrini ortaya atmıştır. 1960’lı yılların sonunda sera ortamında yapılan denemelerde, trüf mikorizasının inokulasyonu başarılı bir şekilde üretimi gerçekleştirilmiştir (Chevalier ve Grente, 1979). Doğal alanlardan toplanan trüf türlerinin artan talebi karşılamaması, marketteki fiyatının yüksekliği, aşılınmış fidanların dikilmesiyle yapay trüf alanları oluşturulmasını teşvik etmiştir. Bu sayede ticari talep doğal olarak toplanan trüf mantarların yerine bu yapay trüf bahçelerine ilgiyi arttırmıştır (Hall vd., 2007).

Türkiye’de yayılış gösteren *Tuber* türlerinin tespit edildiği bu çalışma da 11 türün ülkemizde doğal olarak yayılış gösterdiği belirlenmiştir. Bu türlerden *T. aestivum* Kg/200 Euro, *T. borchii* Kg/200 Euro ve *T. brumale* Kg/180 Euro gibi fiyatlarda alıcı bulabilmektedir. Ancak ülkemizde trüf mantarı bulmak için bilinçsizce yapılan aramalar mikorizal yapıya ve doğaya çok büyük zararlar vermektedir. Özellikle tam olgunlaşmadan toplanacak trüf örnekleri yeterli aromatik özelliği henüz kazanmadığı için hem fiyat bakımından çok ucuza alıcı bulmakta hem de mikorizal yapıyı bozarak doğaya zarar vermektedir. Toplumun bu konuda bilinçlendirilmesi ve yapay trüf ormanlar kurularak trüf üretiminin yönetilmesi gerekmektedir. Türkiye ile Fransa, İtalya ve İspanya’nın coğrafi ve iklim yapısının benzerlik göstermesi, ülkemizin muhtemel trüf potansiyeli hakkında bilgi vermektedir. Dünyada çok geniş bir coğrafyada kurulan yapay trüf bahçelerinde iklim şartlarına göre genelde 5. yıldan itibaren ürün alınabilmektedir. 10 yıldan sonra ise trüf bahçelerinde verim maksimum seviyeye ulaşmaktadır (Chevalier, 1998). Trüf üretimi için toprak yapısı, iklim ve yıllık yağış miktarı en önemli üç kriterdir. Akdeniz iklimi ve kireçli

topraklar trüf üretimi için uygun şartları taşımaktadır. Ülkemizde toprak parametrelerinin uygun olması halinde her bölgemizde üretim yapılabilecek trüf türleri mevcut olduğu bu tez çalışması kapsamında da görülmüştür. Ülkemizde 2012 yılında Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi tarafından desteklenen projeler ile trüf aşılı mikorizal fidan üretimi yapılmaya başlanmış ve 12 deneysel Trüf bahçesi (trüferi) kurulmuştur. Çalışmalar MSKÜ TRÜFMER (Trüf Araştırma ve Uygulama Merkezi) bünyesinde devam etmektedir.

Ülkemizin biyolojik zenginliklerinden olan, ülkemize dünya çapında ticari rekabet gücü sağlayabilecek değerli trüf mantarlarının ülkemizdeki doğal yayılışının belirlenmesi bu yönde kültivasyon çalışmalarının şekillenmesi açısından büyük öneme sahiptir. Ülkemizde trüf mantarının doğal olarak yetişiyor olması, kültivasyon için en uygun şartlara sahip olduğumuzun göstergesidir. Bu tez çalışmasının Türkiye’de ileride yapılacak yapay trüf bahçesi kurulumu çalışmalarına ışık tutacağı inancındayız.

Bu tez çalışması ile bazı *Tuber* türlerinin Türkiye’deki yayılışı hakkında tespitlerde bulunulmuştur. Tespit edilen tüm taksonların morfolojik ve moleküler sistematik analizi yapılmıştır. Trüf türleri isimlendirilerek tür çeşitliliğinin ortaya çıkarılması ve moleküler olarak tiplendirilmesi ile ülkemiz Mantar veritabanı çalışmalarına katkı sağlanmıştır. Cinsin teşhis anahtarı oluşturulmuştur. Toplanan mantarlar herbaryum materyali haline getirilerek ileride yapılacak çalışmalar için kaynak haline getirilmiştir. Filogenetik analizler yardımıyla Türkiye türleri ile Avrupa türleri kıyaslanmış genetik akrabalıkları arasındaki ilişkiler tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Akata, I., Uzun, Y. ve Kaya, A. (2016) Macrofungal Diversity of Zigana Mountain (Gümüşhane/Turkey). *Biodicon*, 9/2: 57 – 69.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C.W. ve Blackwell, M. (1996) *Introductory Mycology*, 4. baskı John Wiley ve Sons, New York.
- Alkan, S., Aktaş, S. ve Kaşık, G. (2018) Türkiye’deki Tuber Türleri ve Tuber aestivum İçin Yeni Bir Lokalite. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 44(1), 25-29.
- Allan, G.J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Boerner, E. ve Zimmer, E.A. (2004) Molecular Phylogenetic Evidence for the Geographic Origin and Classification of Canary Island Lotus (Fabaceae:Loteae), *Mol Phyl and Evol.*, 32, (1): 123-138s.
- Allı, H., Işıloğlu, M. ve Solak, M.H. (2007) Macrofungi of Aydın Province, Turkey, *Mycotaxon*, 99, 163–165.
- Alsheikh, A.M. (1994) *Taxonomy and mycorrhizal ecology of the desert truffles in the genus Terfezia*. Doktora Tezi, Oregon State University, Oregon, USA, 239s.
- Alsheikh, A.M. ve Trappe, J.M. (1983). Taxonomy of Phaeangium lefebvrei, a desert truffle eaten by birds. *Can. J. Bot.* 61: 1919-1925.
- Alvarado, P., Moreno, G. ve Manjón, J. L. (2012a). Comparison between Tuber gennadii and T. oligospermum lineages reveals the existence of the new species T. cistophilum (Tuberaceae, Pezizales). *Mycologia*, 104(4), 894-910.
- Alvarado, P., Moreno, G., & Manjón, J. L. (2012b). A new Tuber without spore ornamentation. Tuber melosporum comb. nov. *Bol. Soc. Micol. Madrid*, 36(23), e28.
- Atalay, İ. (1997) *Türkiye Coğrafyası*, Ege Üniversitesi yayınları.
- Atalay, İ. ve Mortan, K. (1995) *Türkiye Bölgesel Coğrafyası (Resimli ve Haritalı)*. İnkılap Kitabevi, İstanbul.
- Autenrieth, F., Isralewitz, B., Luthey-Schulten, Z., Sethi, A. ve Pogorelov, T. (2005) Bioinformatics and Sequence Alignment. University of Illinois at Urbana-Champaign, 42-47 s.

- Bagyaraj, D. J. (1991) *Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae*. In .Handbook of Applied Mycology, Soil and Plants, vol. 1, (Eds.) by D.K. Arora., B. R., K.G. Mukerji., ve G. R. Knudsen. Marcel Dekker. USA.
- Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., Porter, J.M., Wojciechowski, M.F. ve Donoghue, M.J. (1995) The Its Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny, *Annu Mol Bot Gard*. 82: 247–277s.
- Baş Sermenli, H. (2012) *Morchella Cinsinin Revizyonu*, Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 175s.
- Beccera, A., Beenken, L., Pritsch, K., Daniele, G., Schlöter, M. ve Agerer, R. (2005) Anatomical and Molecular Characterization of *Lactarius aff. omphaliformis*, *Russula alnijorullensis* and *Cortinarius tucumanensis* Ectomycorrhiza on *Alnus acuminata*, *Mycologia*, 97 (5): 1047-1057.
- Belfiori, B., Riccioni, C., Paolocci, F., ve Rubini, A. (2016). Characterization of the reproductive mode and life cycle of the whitish truffle *T. borchii*. *Mycorrhiza*, 26(6), 515-527.
- Bellina-Agostinone, C., D'Antonio, M. ve Pacioni, G. (1987) Odour composition of the summer truffle, *Tuber aestivum*, *Trans. of the British Mycol. Society*, 88, 568-569.
- Bergemann, S.E. ve Garbelotto, M. (2006) High diversity of fungi recovered from the roots of mature tanoak (*Lithocarpus densiflorus*) in northern California. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, 84, 1380–1394.
- Bertault, G., Raymond, M., Berthomieu, A., Callot, G. ve Fernandez, D. (1998) Trifling variation in truffles, *Nature*, 394:374.
- Bertault, G., Rousset, F., Fernandez, D., Berthomieu, A., Hochberg, Me., Callot, G. ve Raymond, M. (2001) Population genetics and dynamics of the black trüf in a man-made trüf field, *Heredity*, 86, 451–458.
- Bidartondo, M.I., Burghardt, B., Gebauer, G., Bruns, T.D. ve Read, D.J. (2004) Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 271, 1799–1806.
- Blackwell, W.H. (1988) *Poisonous and Medicinal Plants*. Prentice Hall, New Jersey, 157s.
- Bonito, G., Smith, M.E., Nowak, M., Healy, R.A., Guevara, G., Cázares, E., Kinoshita, A., Nouhra, E.R., Domínguez, L.S., Tedersoo, L. Murat, C., Wang, Y., Moreno, B.A., Pfister, D.H., Nara, K., Zambonelli, A., Trappe J.M. ve Vilgalys, R. (2013) Historical biogeography and diversification of truffles in the Tuberaceae and their newly identified southern hemisphere sister lineage. *PloS one*, 8(1), e52765.

- Bonito, G., Trappe, J.M., Rawlinson, P. ve Vilgalys, R. (2010b). Improved resolution of major clades within *Tuber* and taxonomy of species within the *Tuber gibbosum* complex. *Mycologia*, 102(5), 1042-1057.
- Bonito, G.M., Gryganskyi, A.P., Trappe, J.M. ve Vilgalys, R. (2010a) A global meta-analysis of *Tuber* ITS rDNA sequences: species diversity, host associations and long-distance dispersal, *Molecular Ecology*, 19(22), 4994-5008.
- Bonuso, E., Zambonelli, A., Bergemann, S. E., Iotti, M. ve Garbelotto, M. (2010). Multilocus phylogenetic and coalescent analyses identify two cryptic species in the Italian bianchetto truffle, *Tuber borchii* Vittad. *Conservation genetics*, 11(4), 1453-1466.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (2005) *Fungi of Switzerland*. Volume 1., Ascomycetes, Verlag Mykologia, Switzerland, 310p.
- Britten, R.J. (1986) Rates of DNA Sequence Evolution Differ between Taxonomic Groups, *Science*, 23: 1393-1398s.
- Brock, P. M., Döring, H. ve Bidartondo, M. I. (2009) How to know unknown fungi: the role of a herbarium, *New Phytol*, 181(3), 719-724.
- Bulman, S.R., Visnovsky, S.B., Hall, I.R., Guerin-Laguette, A. ve Wang, Y. (2010) Molecular and morphological identification of truffle-producing *Tuber* species in New Zealand, *Mycol Progress*, 9: 205–214s.
- Buyck, B., Verbeken, A. ve Eberhardt, U. (2007) The Genus *Lactarius* in Madagascar, *Mycol Res*, 3: 787-798.
- Buzzini, P., Gasparetti, C., Turchetti, B., Cramarossa, M.R., Vaughan-Martini, A., Martini, A., Pagnoni U.M. ve Forti, L. (2005). Production of volatile organic compounds (VOCs) by yeasts isolated from the ascocarps of black (*Tuber melanosporum* Vitt.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles. *Archives of microbiology*, 184(3), 187-193.
- Castellano, M. A. ve Türkoğlu, A. (2012). New records of truffle taxa in *Tuber* and *Terfezia* from Turkey. *Turk. J. Bot.*, 36(3), 295-298.
- Castellano, M.A., Trappe, J.M. ve Luoma, D.L. (2004) *Sequestrate fungi*. In: G.M. Mueller, G.F. Bills ve M.S. Foster (eds.). *Biodiversity of Fungi: inventory ve monitoring methods*, Elsevier, Burlington, pp. 197-213.
- Celio, G.J., Padamsee, M., Dentinger, B.T.M., Bauer, R. ve McLaughlin, D.J. (2006) Assembling the Fungal Tree of life: Constructing the Structural and Biochemical Database, *Mycologia*, 98, (6): 850-859s.
- Ceruti, A., Fontana, A. ve Nosenzo, C. (2003) *Le specie europee del genere Tuber—Una Revisione Storica*, Museo Regionale de Scienze Naturali, Torino.
- Chevalier, G. (1998) The truffle cultivation in France: assessment of the situation after 25 years of intensive use of mycorrhizal seedlings. In *Proceedings of the First International Meeting on Ecology, Physiology and Cultivation of Edible*

Mycorrhizal Mushrooms. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden (pp. 3-4).

- Chevalier, G. ve Grente, J. (1979) Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne: production à grande échelle de plants mycorhizés par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.). *Mushroom Science*. 483-505.
- Cohen, B.L. ve Weydmann, A. (2005) Molecular Evidence That Phoronids are a Subtaxon of Brachiopods (Brachiopoda: Phoronata) and That Genetic Divergence of Metazoan Phyla Began Long before the Early Cambrian, *Org Divers and Evol.*, 5, (4): 253-273s.
- Culleré, L., Ferreira, V., Chevret, B., Venturini, M. E., Sánchez-Gimeno, A. C. ve Blanco, D. (2010) Characterization of aroma active compounds in black truffles (*Tuber melanosporum*) and summer truffles (*Tuber aestivum*) by gas chromatography olfactometry. *Food Chemistry*, 122 300–306.
- Çebi-Kılıçoğlu, M. ve Özkoç, İ. (2008) Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler. *OMÜ Zir Fak. Dergisi* 23, (1): 65-72s.
- Daniels, B.A., Mccool, P.M. ve Menge, J.A. (1981) Comparative inoculum potential of spores of six vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *New Phytol* 89. 385-391.
- Davis, P.H.H. (1965-1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 1-9.
- Demirel, K. (1996) Two new records of Gasteromycetes for Turkey, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, *Journal of Faculty of Education*, 1: 136-139
- Diaz, P., Ibáñez, E., Senorans, F. J. Ve Reglero, G. (2003) Truffle aroma characterization by headspace solid-phase microextraction, *Journal of Chromatography, A*, 1017(1), 207-214.
- Dinç, U., Şenol, S., Kapur, S., Cangir, C. Ve Atalay, İ. (2001) Türkiye Toprakları. *ÇÜ Ziraat Fakültesi Genel Yayın*, (51).
- Doğan H.H. ve Akata I. (2015) New Additions to Turkish Gasteroid Fungi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 15 (2): 329-333. 25.
- Doğan, H.H. (2006) The first locality of *Phallogaster saccatus* (Hysterangiaceae) in Turkey, *Mikologia i Fitopatologia*, 40(1): 22-24.
- Doğan, O. (2012) *Türkiye Toprak Haritalama Çalışmaları*. Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü. Ankara
- Dura, S. (2010) *Mikoriza Ve Bitki İlişkilerinin Tarıma Yansıması*, Antalya, <http://Bit.Ly/1pdeout> [Ziyaret Tarihi: 19 Ekim 2010].
- Elliott, T. F., Türkoğlu, A., Trappe, J. M. ve Yaratankul-Güngör, M. (2016). Turkish truffles 2: eight new records from Anatolia. *Mycotaxon*, 131(2), 439-453.

- Falandysz, J. ve Borovička, J. (2013) Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: health benefits and risks, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(2), 477-501.
- Farris, J. S. (1973) A probability model for inferring evolutionary trees, *Syst Zool*, 22: 250-256.
- Felsenstein, J. (1973) Maximum likelihood and minimum-steps methods for estimating evolutionary trees from data on discrete characters, *Syst Zool*, 22: 240-249.
- Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap, *Evolution*, 39: 783-791.
- Frank, B. (1885). On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with below ground fungi (an English translation of AB Frank's classic paper of 1885). *Mycorrhiza*, 15(4), 267-275.
- Freeman S. ve Herron, J.C. (1999) *Evrimsel Analiz*, Çıplak, B., Basıbüyük. H. H., Karaytuğ. S. ve Gündüz. İ. (editörler), Palme Yayıncılık, Ankara, 856s.
- Frizzi, G., Lalli, G., Miranda, M. ve Pacioni, G. (2001) Intraspecific isozyme variability in Italian populations of the white trüf *Tuber magnatum*, *Mycological Research*, 105, 365–369.
- Gandeboeuf, D., Dupré, C., Chevalier, G., Nicolas, P. ve Roeckel-Drevet, P. (1997) Typing *Tuber* ectomycorrhizae by polymerase chain amplification of the internal transcribed spacer of rDNA and the sequence characterized amplified region markers, *Canadian journal of microbiology*, 43(8), 723-728.
- Gardes, M., White, T.J., Fortin, J.A., Bruns, T.D. ve Taylor, J.W. (1991) Identification of Indigenous and Introduced Symbiotic Fungi in Ectomycorrhizae by Amplification of Nuclear and Mitochondrial Ribosomal DNA. *Canadian Journal of Botany*-, 69, 180–190.
- Gaumann, E. ve Dodge, C. W. (1928). *Comparative morphology of fungi. Comparative morphology of fungi*. New York [etc.] McGraw-Hill Book Company, Inc. 730 s.
- Gezer K, Kaygusuz O, Çelik A, Işıloğlu M (2014). Ecological characteristics of truffles growing in Denizli Province. Turkey, *Journal of Food, Agriculture & Environment* 12(2): 1105–1109.
- Gilkey, H. M. (1916) A revision of the Tuberales of California. *University of California Publications in Botany*, 6:275-356.
- Görk, G., Ozturk, M. ve Sakçalı, S. (2009) *Biomonitoring of Desertification in the Mediterranean Using Carob (Ceratonia siliqua L.)*. Turkey (TUBITAK) and Greece (NAGREF) Bilateral Project Report , pp:30.
- Grebenc, T., Martin, M.P., Piltaver, A., Ratosa, I. ve Kraigher, H. (2009). *Molecular diversity of hypogeous fungi (genus Tuber) from Balkan Peninsula*, Sydowia.

- Gryndler, M., Hršelová, H., Soukupová, L., Streiblová, E., Valda, S., Borovička, J., Gryndlerova, H., Gazo, J. ve Miko, M. (2011) Detection of summer truffle (*Tuber aestivum* Vittad.) in ectomycorrhizae and in soil using specific primers, *FEMS microbiology letters*, 318(1), 84-91.
- Guevara, G., Bonito, G. ve Cázares, E. (2013a). Revisión del género *Tuber* (Tuberaceae: Pezizales) de México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 84, S39-S49.
- Guevara, G., Bonito, G., Trappe, J. M., Cázares, E., Williams, G., Healy, R. A., Schadt, C. ve Vilgalys, R. (2013b). New North American truffles (*Tuber* spp.) and their ectomycorrhizal associations, *Mycologia*, 105(1), 194-209.
- Gücin, F. (1984) Elazığ yöresinde yenebilen doğa mantarları ve yurdumuz makrofungus filorası için yeni kayıt olanlar, *Türkiye III. Yemeklik Mantar Kongresi*, Yalova, 10-12 Ekim 1984.
- Gücin, F. ve Öner, M. (1982) Manisa ili dahilinde yetişen makrofunguslar, *Doğa Bilim Dergisi*, 6(3): 91-96.
- Gücin, F., Gezer, K. ve Tamer, A.Ü. (1988) Eskişehir yöresinden bazı makrofunguslar, *IX. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 21-23 eylül 1988. Cumhuriyet Üniversitesi Sivas, p. 445-502.
- Gücin, F., Kaya, A., Soylu, M.K. ve Uzun, Y. (2010) *Picoa Vittad.*, a new truffle genus record for Turkey, *Biodicon*, 3(3): 23-25.
- Güllü, İ. B. (2013) *Elmalı dağı (Kayseri) ve çevresinin florası*, Erciyes Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 173 s.
- Güngör, H., Sevindik, E., Yaratankul Güngör, M., Coşkun, F. ve Işıloğlu, M. (2015) Morphological Variation, ITS and EF-1 α Gene Nucleotide Polymorphism in *Gyromitra esculenta* (Discinaceae), *JABS*, 9 (1): 57-60.
- Halász, K., Bratek, Z., Szegő, D., Rudnóy, S., Rácz, I., Lászity, D. ve Trappe, J. M. (2005). Tests of species concepts of the small, white, European group of *Tuber* spp. based on morphology and rDNA ITS sequences with special reference to *Tuber rapaeodorum*. *Mycological Progress*, 4(4), 281-290.
- Hall, I. R., Brown, G. T. ve Zambonelli, A. (2007). *Taming the truffle*. Timber press. ISBN-10: 0881928607.
- Hall, I. ve Wang, Y. (2002). Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies: *Tuber melanosporum*. In Edible mycorrhizal mushrooms and their cultivation. *Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms* [CDROM]. Christchurch: New Zealand Institute for Crop ve Food Research.
- Hall, I.R., Buchanan, P.K., Cole, A.L., Yun, W. ve Stephenson, S. (2003). Edible and poisonous mushrooms of the world (Vol. 103). Portland: Timber Press.

- Hall, T.A. (1999) Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analyses program for Windows 95/98/NT, *Nucleic acids symposium*, 41, 95-98.
- Harki, E., Talou, T. ve Dargent, R. (1997). Purification, characterisation and analysis of melanin extracted from *Tuber melanosporum* Vitt. *Food Chemistry*, 58(1), 69-73.
- Hibbett, D.S. (2006) A Phylogenetic Overview of the Agaricomycotina, *Mycologia*, 98, (6): 917-925s.
- Horton, T.R. ve Bruns, T.D. (2001) The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology*, 10, 1855–1871.
- Hryniewicz, K., Haug, I. ve Baum, C. (2008) Ectomycorrhizal community structure under willows at former ore mining sites. *European Journal of Soil Biology*, 44, 37–44.
- Iotti, M., Amicucci, A. ve Bonito, G. (2007) Selection of a set of specific primers for the identification of *Tuber rufum*: a truffle species with high genetic variability. *FEMS Microbiology Letters*, 277, 223–231.
- Ishida, T.A., Nara, K. ve Hogetsu, T. (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. *New Phytol*, 174, 430–440.
- İşiloğlu, M. (1994) A new record for the fungus flora of Turkey, *Turk. J. Bot.*, 18: 451-452.
- Izzo, A., Agbowo, J. ve Bruns, T.D. (2005) Detection of plot-level changes in ectomycorrhizal communities across years in an old-growth mixed-conifer forest. *New Phytol*, 166, 619–630.
- James, T.Y., Letcher, P.M., Longcore, J.E., Mozley-Standridge, S.E., Powell, M.J., Griffith, G.W. ve Vilgalys, R. (2006) A molecular Phylogeny of the Flagellated Fungi (Chytridiomycota) Description of a New Phylum (Blastocladiomycota), *Mycologia*, 98, (6): 860-871s.
- Jeandroz, S., Murat, C., Wang, Y., Bonfante, P. ve Tacon, F. L. (2008). Molecular phylogeny and historical biogeography of the genus *Tuber*, the ‘true truffles. *Journal of Biogeography*, 35(5), 815-829.
- Jeffries, P. ve Dott, J. C. (1991) *The use of mycorrhizal inoculants in forestry and agriculture* In: D. K. Arora Et Al. (Eds.) *Handbook Of Applied Mycology. Soil and Plants. Vol. 1.* Marcel Dekker. USA. 155-185.
- Johnson, D. ve Watling, R. (1977). *How to identify mushrooms to genus III: microscopic features.* Eureka, California: Mad River Press.
- Kaşık, G., Öztürk, C., Türkoğlu, A. ve Doğan, H.H. (2002) Macrofungi flora of Yeşilhisar District (Kayseri), *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 9(2): 123-134.

- Kaya, A. (2009). Macromycetes of Kahramanmaraş province (Turkey), *Mycotaxon*, 108 [2009]: 31-34.
- Kaya, A., ve Uzun, Y. (2017) Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Bir Toprakaltı *Lactarius* Türü. *Mantar Dergisi*, 8(2), 163-167.
- Kıvrak, İ., Kıvrak, Ş. ve Harmandar, M. (2014). *Amino acid, fatty acid, phenolic, sugar and volatile compounds of Tuber aestivum Vittad. from southwestern Turkey: nutritional value with antioxidant properties*. *Mitt Klosterneuburg*, 64(4), 216-237.
- Kirk, P. ve Cooper, J. (2010). *Index fungorum*. CABI Bioscience database. Wallingford: CABI. <http://www.indexfungorum.org>.18.04.2018
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. ve Stalpers, J.A. (2008) *Ainsworth ve Bisby's Dictionary of the Fungi*, 10th edn. CABI, UK.
- Knapp, A. (1951) Die europäischen Hypogäen-Gattungen und ihre Gattungstypen. *Schweizerische Zeitschrift für Pilzkunde* 29 (Suppl. 7): 65–92.
- Kress, W.J. (2005) The Molecular Phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): A Complex and Polyphyletic Genus of Gingers, *Am J Bot*, 92 (1): 167-178.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Kuyumcu, S. (2011) *Denizli ilinde doğal olarak yetişen Tuber aestivum türüne ait örneklerin genetik karakterizasyonu ve rDNA ITS bölge dizileriyle filogenetik analizi*, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir Üniversitesi, Nevşehir, 130s.
- Læssoe, T. ve Hansen, K. (2007) Truffle trouble: what happened to the Tuberales. *Mycological Research* 111:1075-1099.
- Liu, B.H. (1998) *Statistical genomics. Linkage, mapping, and QTL analysis*, CRC Press LLC, Boca Raton, New York, 140s.
- Liu, P., Li, H.M. Ve Tang, Y.J. (2012) Comparison of free amino acids and 5'-nucleotides between *Tuber* fermentation mycelia and natural fruiting bodies, *Food Chemistry*, 132, 1413–1419.
- Lohwag, K. (1957) Türkiye'nin mantar florası hakkında araştırma, *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 7(1): 129-137.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. ve Parker. J. (2003). *Brock Biology of Microorganisms*. tenth edition, Pirentice Hall, Pearson Educatin International.
- Malençon, M.G. (1938) Les truffes européennes: historique, morphogénie, organographie, classification, culture. Laboratoire de Cryptogamie du Museum National d'Histoire Naturelle.

- Malloch, D. W., Pirozynski, K. A., ve Raven, P. H. (1980). Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (a review). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(4), 2113-2118.
- Marjanovic, Z., Grebenc, T., Markovic, M., Glisic, A. ve Milenkovic, M. (2010). Ecological specificity and molecular diversity of truffles (genus *Tuber*) originating from mid-west of the Balkan Peninsula. *Sydowia*, 62(1), 67-87.
- Martin, F., Diez, J., Dell, B. ve Delaruelle, C. (2002) Phylogeography of the ectomycorrhizal *Pisolithus* species as inferred from nuclear ribosomal DNA ITS sequences, *New Phytol*, 153:345–357.
- Maser, C., Claridge, A. W. ve Trappe, J. M. (2008). *Trees, truffles, and beasts: how forests function*. Rutgers University Press.
- Mattirolo, O. (1904-1905). Prima contribuzione alla flora ipogea del portogallo. Bol. Soc. Broter. 21:86-105.
http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/P0023_21/P0023_21_095.pdf
- Mello, A., Cantisani, A., Vizzini, A., ve Bonfante, P. (2002). Genetic variability of *Tuber uncinatum* and its relatedness to other black truffles. *Environmental Microbiology*, 4(10), 584-594.
- Mello, A., Garnero, L. ve Bonfante, P. (1999). Specific PCR-primers as a reliable tool for the detection of white truffles in mycorrhizal roots. *New Phytol*, 141(3), 511-516.
- Menkis, A., Vasiliauskas, R., Taylor, A.F.S., Stenlid, J. ve Finlay, R. (2005) Fungal communities in mycorrhizal roots of conifer seedlings in forest nurseries under different cultivation systems, assessed by morphotyping, direct sequencing and mycelial isolation, *Mycorrhiza*, 16, 33–41.
- Moncalvo, J.M., Nilsson, R.H., Koster, B., Dunham, S.M., Bernauer, T., Matheny, P.B., Porter, T.M., Margaritescu, S., Wei, M., Danel, E., Langer, G.-E. ve Larsson, E.-K.H. (2006) The Cantharelloid Clade: Dealing with Incongruent Gene Trees and Phylogenetic Reconstruction Methods, *Mycologia*, 98, (6): 937-948s.
- Montecchi, A. ve Lazzari, G. (1987). Un nuovo tartufo di montagna: *Tuber regianum* sp. nov. *Rivista di Micologia* 30: 3-11.
- Montecchi, A. ve Sarasini, M. (2000), *Fungi Ipogei D'Europa*, A. M. B., Bresadola, Via A. Volta, 46-38100, Trento.
- Morcillo, M.S. (2018) <https://trufflefarming.wordpress.com/2018/01/01/truffle-growing-all-over-the-world-in-2017/>
- Mount, D.M. (2004) *Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. ISBN 0-87969-608-7.

- Moyersoen, B., Beever, R.E. ve Martin, F. (2003) Genetic diversity of *Pisolithus* in New Zealand indicates multiple long-distance dispersal from Australia, *New Phytol.*, 160:569–579.
- Mueller, G. M., Schmit, J. P., Leacock, P. R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D. E., ve Lodge, D. J. (2007). Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 37-48.
- Murat, C., Díez, J., Luis, P., Delaruelle, C., Dupré, C., Chevalier, G., Bonfante, P. ve Martin F. (2004) Polymorphism at the ribosomal DNA ITS and its relation to postglacial re-colonization routes of the Périgord trüf *Tuber melanosporum*, *New Phytol* 164, 401–411.
- Murat, C., Vizzini, A., Bonfante, P. ve Mello, A. (2005). Morphological and molecular typing of the below-ground fungal community in a natural *Tuber magnatum* truffle-ground. *FEMS Microbiology Letters*, 245(2), 307-313.
- O'Donnell, K. O., E. Cigelnik, N. S. Weber ve J. M. Trappe. (1997) Phylogenetic relationship among ascomycetous truffles and the true and false morels inferred from 18S and 28 S ribosomal DNA sequences analysis. *Mycologia* 89:48- 65.
- Ogden, T. H., Whiting, M. F. (2005) Phylogeny of Ephemeroptera (Mayflies) Based on Molecular Evidence. *Mol Phyl and Evol.*, 37, (3): 625-643s.
- Ortas, I. (1996) The İnfluence Of Use Of Different Rates Of Mycorrhizal İnoculum On Root İnfection, Plant Growth, And Phosphorus Uptake. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 27(18-20):2935-2946.
- Ortas, İ. (1997). Mikoriza Nedir?. *TÜBİTAK Dergisi*. Subat 1997, Sayı 351. Ankara.
- Ortas, İ., Ergün, B., Ortakçı, D., Ercan, S. ve Köse, Ö. (1999) Mikoriza Sporlarının Üretilmesi Ve Tarımda Kullanım Olanaklarının İrdelenmesi. *Doga Dergisi*, Sayı 4: 959-968.
- Osmundson, T. W., Robert, V. A., Schoch, C. L., Baker, L. J., Smith, A., Robich, G., Mizzan, L. ve Garbelotto, M. M. (2013). Filling gaps in biodiversity knowledge for macrofungi: contributions and assessment of an herbarium collection DNA barcode sequencing project. *PLoS one*, 8(4), e62419.
- Öder, N. (1988) Konya merkez ve bazı ilçelerinde yetişen önemli yenen ve zehirli mantarlar üzerinde taksonomik araştırmalar, *Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Dergisi*, 8: 237-257.
- Öztürk, C., Kaşık., G. ve Toprak, E. (1997) Ascomycetes makrofunguslarından Türkiye için iki yeni kayıt, *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 4(1): 53-56.
- Palta, Ş., Demir, S., Şengönül, K., Kara, Ö., Şensoy, H. (2010) Arbüsküler Mikorizal Funguslar (Amf), Bitki Ve Toprakla İlişkileri, Mera İslahındaki Önemleri, *Bofd*, 12(18): 87-98.

- Paolocci, F., Angelini, P., Cristofari, E., Granetti, B. ve Arcioni, S. (1995) Identification of Tuber spp. and corresponding ectomycorrhizae through molecular markers, *J. Sci. Food Agric.*, 69, 511–517.
- Paolocci, F., Rubini, A., Granetti, B. ve Arcioni, S. (1997) Typing Tuber melanosporum and Chinese black trüf species by molecular markers, *FEMS Microbiol. Lett.* 153, 255–260.
- Paolocci, F., Rubini, A., Granetti, B., ve Arcioni, S. (1999) Rapid molecular approach for a reliable identification of Tuber spp. ectomycorrhizae. *FEMS Microbiology Ecology*, 28(1), 23-30.
- Paolocci, F., Rubini, A., Riccioni, C., Granetti, B. ve Arcioni, S. (2000) Cloning and characterization of two repeated sequences in the symbiotic fungus Tuber melanosporum Vitt., *FEMS Microbiol. Ecol.*, 34,139–146.
- Paolocci, F., Rubini, A., Riccioni, C., Topini, F. ve Arcioni, S. (2004). Tuber aestivum and Tuber uncinatum: two morphotypes or two species?. *FEMS Microbiology Letters*, 235(1), 109-115.
- Paolocci, F., Rubini, A., Riccioni, C. ve Arcioni, S. (2006) Reevaluation of the life cycle of Tuber magnatum. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 2390–2393.
- Pegler, D. N., Spooner, B. M. ve Young, T. W. (1993). *British truffles: a revision of british hypogeous fungi*. Kew Royal Botanic Gardens.
- Pekşen, A. ve Kibar. B. (2007) Yenilebilir ektomikorizal mantarların yetiştiriciliği ve bu konuda yapılan çalışmalar, *OMU. Zir. Fak. Der.*, 22 (2): 239-247.
- Percudani, R., Trevisi, A., Zambonelli, A. ve Ottonello, S. (1999). Molecular phylogeny of truffles (Pezizales: Terfeziaceae, Tuberaceae) derived from nuclear rDNA sequence analysis. *Molecular phylogenetics and evolution*, 13(1), 169-180.
- Pilát, A.A. (1937) Additamenta ad floram Asiae Minoris hymenomycetum et gasteromycetum, *Bulletin Trimestriel Society Mycologie*, 53: 253-264.
- Podoplelova, Y. ve Ryzhakov, G. (2005) Phylogenetic Analysis of the Order Nymphaeales Based on the Nucleotide Sequences of the Chloroplast ITS 2-4 Region, *Plant Sci*, 169, (3): 606-611s.
- Read, D. J. (1991). Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, 47(4), 376-391.
- Riccioni, C., Belfiori, B. ve Rubini, A. (2008) Tuber melanosporum outcrosses: analysis of the genetic diversity within and among its natural populations under this new scenario. *New Phytol*, 180, 466–478.
- Rigler, L. (1852) Die Turkei und Deren Bewohne, *Bd:I: Wien*, 111-113.
- Riousset, G., Riousset, L., Chevalier, G. ve Bardet, M.C. (2001) *Truffe d'Europe et de Chine*. INRA Paris, 2001.

- Ro, K. E., Keener, C. S. ve McPherson, B. A. (1997) Molecular Phylogenetic Study of the Ranunculaceae: Utility of the Nuclear 26s Ribosomal DNA in Inferring Intrafamilial Relationships, *Mol Phyl and Evol.*, 8, (2): 117-127s.
- Roux, C., Séjalon-Delmas, N., Martins, M., Parguey-Leduc, A., Dargent, R., ve Bécard, G. (1999). Phylogenetic relationships between European and Chinese truffles based on parsimony and distance analysis of ITS sequences. *FEMS Microbiology Letters*, 180(2), 147-155.
- Roux, C., Tournier, E., Lies, A., Sanguin, H., Chevalier, G., Duponnois, R. ve Prin, Y. (2016). Bacteria of the genus *Rhodopseudomonas* (Bradyrhizobiaceae): obligate symbionts in mycelial cultures of the black truffles *Tuber melanosporum* and *Tuber brumale*. *SpringerPlus*, 5(1), 1085.
- Rubini, A., Paolocci, F., Granetti, B. ve Arcioni, S. (1998). Single step molecular characterization of morphologically similar black truffle species. *FEMS Microbiology Letters*, 164(1), 7-12.
- Rubini, A., Paolocci, F., Granetti, B. ve Arcioni, S., (2001) Morphological characterization of molecular-typed *Tuber magnatum* ectomycorrhiza, *Mycorrhiza*, 11, 179–185.
- Rubini, A., Riccioni, C., Arcioni, S. ve Paolocci, F. (2007) Troubles with trüfs: unveiling more of their biology, *New Phytol*, 174, 256–259.
- Saitou, N. ve Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, 4 (4): 406-25.
- Salazar, O., Julian, M.C. ve Rubia, V. (2000) Primers based on specific rDNA-ITS sequences for PCR detection of *Rhizoctonia solani*, *R. solani* AG 2 subgroups and ecological types, and binucleate *Rhizoctonia*, *Mycol Res.*, 104: 281-285s.
- Schiebold, J. M. I., Bidartondo, M. I., Karasch, P., Gravendeel, B., ve Gebauer, G. (2017). You are what you get from your fungi: nitrogen stable isotope patterns in *Epipactis* species. *Annals of botany*, 119(7), 1085-1095.
- Sensoy, S., Demircan, M., Ulupınar, U. ve Balta, I. (2008). *Türkiye iklimi*. Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü (DMİ), Ankara.
- Sesli, E. ve Castellano, M.A. (2009) *Rhizopogon marchii* (Basidiomycota, Rhizopogonaceae), a new record from Turkey, *The Herb Journal of Systematic Botany*, 16(1): 155-158.
- Sesli, E. ve Denchev, C.M. (2008) Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey. *Mycotaxon*, 106: 65–67. + [complete version, 1–145, new version uploaded in January 2014].
- Sesli, E. ve Moreau, P. A. (2015). Taxonomic studies on some new fungal records from Trabzon, Turkey. *Turk. J. Bot.*, 39(5), 857-866.
- Sevindik, E. (2014) *Türkiye’de Yetişen Inula L. (Asteraceae) Türlerinin Moleküler Sistematik Analizi ve Ekolojisi*, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, 180s.

- Smith, E.S. ve Read J.D. (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*. (Ed) By A. D. Robson. Kluwer Academic Publishers. London.
- Solak, M.H, Gücin, F., Işıloğlu, M. ve Pacioni, G. (2003) A New Record of *Geopora cooperi* f. *cooperi* from West Asia. *Pakistan J. Bot.*, 35 (No.4): 473-475.
- Solak, M.H., Işıloğlu, M., Kalmış, E. ve Allı, H. (2007) Macrofungi of Turkey, Checklist, Volume 1. Üniversiteler Ofset, İzmir.
- Solak, M.H., Işıloğlu, M., Kalmış, E. ve Allı, H. (2015) Macrofungi of Turkey, Checklist, Volume 2. Üniversiteler Ofset, İzmir.
- Southworth, D., Carrington, E.M. ve Frank, J.L. (2009) Mycorrhizas on nursery and field seedlings of *Quercus garryana*. *Mycorrhiza*, 19, 149–158.
- Stobbe, U., Buntgen, U., Sproll, L., Tegel, W., Egli, S., ve Fink, S. (2012). Spatial distribution and ecological variation of re-discovered German truffle habitats. *Fungal ecology*, 5(5), 591-599.
- Sugiyama, J., Hosaka, K. ve Suh, S-Q. (2006) Early Diverging Ascomycota: Phylogenetic Divergence and Related Evolutionary Enigmas, *Mycologia*, 98, (6): 996-1005s.
- Swofford, D.L. (2001) *PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods)*, Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland.
- Şen, İ., (2016). *Ege bölgesinde yetişen Tricholoma (Fr.) staude türlerinin belirlenmesi*. Doktora Tezi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 191 s.
- Tamura K., Nei M., ve Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101:11030-11035.
- Taşkın, H., Büyükalaca, S., Doğan, H.H., Rehner S.A. ve O'Donnell K. (2010) A Multigene Molecular Phylogenetic Assessment of True Morels (*Morchella*) in Turkey, *Fungal Genet Biol*, 47 (8): 672-82.
- Taylor J.W. ve Berbee, M. (2006) Dating Divergences in the Fungal Tree of Life: Review and New Analyses, *Mycologia*, 98,(6): 838-849s.
- Trappe, J. M. (1979) The orders, families and genera of hypogaeous Ascomycotina (truffles and their relatives). *Mycotaxon* 9:297-340.
- Trappe, J. M., & Castellano, M. A. (1991). Keys to the genera of truffles (Ascomycetes). *McIlvanea*, 10, 47-65.
- Trappe, M., Evans, F. ve Trappe, J. M. (2007). *Field guide to North American truffles*. Ten Speed, Berkeley, CA, 136p.
- Tulasne, L.R. ve Tulasne, C. (1851) *Fungi hypogaei, histoire et monographie des champignons hypogés*. Paris: Klincksieck F, ed. 176 p. <https://books.google.com.tr/books?hl=en&lr=veid=vWQmAZJKdKsCveoi=f>

ndvepg=PA1vedq=Fungi+hypogaei,+histoire+et+monographie+des+champignons+hypog%C3%A9sveots=_Vdu0NusCLvesig=EVK5ICbsdQF4oU0Diq4Z86PgW3Yveredir_esc=y#v=onepageveq=terfeziavef=false

- Türkoğlu A. (2015) *Yeraltındaki Gizli Hazine: Trüf Mantarları*. T.C. Orman Ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü. 174s.
- Türkoğlu, A. ve Castellano, M. A. (2013). New records of truffle fungi (Basidiomycetes) from Turkey. *Turk. J. Bot.*, 37(5), 970-976.
- Türkoğlu, A. ve Castellano, M. A. (2014). New records of some Ascomycete truffle fungi from Turkey. *Turk. J. Bot.*, 38(2), 406-416.
- Türkoğlu, A. ve Yağız, D. (2012) Contributions to the macrofungal diversity of Uşak Province, *Turk. J. Bot.*, 36: 580-589.
- Türkoğlu, A., Castellano, M. A., Trappe, J. M., ve Yaratankul Güngör, M. (2015). Turkish truffles I: 18 new records for Turkey. *Turk. J. Bot.*, 39(2), 359-376.
- Uzun Y., Çetinkaya A. ve Kaya A. (2016) Two New Hypogeous Species Records for Turkish Macromycota from Ayrancı and Yeşildere (Karaman) Districts, *4th International Symposium On Development Of Kop Region Karaman - Turkey*
- Ünal, G., Türkoğlu, A., ve Yaratankul Güngör, M. (2016). Muğla Yöresindeki Eucalyptus Ormanlarında Yetişen Makrofunguslar Üzerine Taksonomik Çalışmalar. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(3), 244-247.
- Vittadini, C. (1831). *Monographia Tuberacearum*. Mediolani, Milan. 88 p.
- Wan, S., Xu, W., Tan, N., Wang, Y., Zheng, Y., & Yu, F. (2017). Three Excavatum species *Tuber badium*, *T. depressum* and *T. verrucosivolvum* from Sichuan Province, China. *Phytotaxa*, 296(3), 228-238.
- Wang, Y. J., Tan, Z. M., Murat, C., Jeandroz, S. ve Le Tacon, F. (2007). Molecular taxonomy of Chinese truffles belonging to the *Tuber rufum* and *Tuber puberulum* groups. *Fungal Divers*, 24, 301-328.
- Webster, J. ve Weber, R. (2007) *Introduction to Fungi*. Cambridge University Press, New York.
- Wedén, C., Danell, E. ve Tibell, L. (2005) Species recognition in the truffles genus *Tuber*: the synonyms *Tuber aestivum* *Tuber uncinatum*, *Environ Microbiol*, 7, 1535-1546.
- Wedén, C., Petterson, L. ve Danell, E. (2009) Trüf cultivation in Sweden: Results from *Quercus robur* and *Coryllus avellana* field trials aon the island of Gotland, *Scandinavian Journal of Forest Researh*, 24, 38-54.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. ve Taylor. J. (1990) *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. Acad Press, 315-322s.

- Whittaker R.H. (1969) New concepts of kingdoms of organisms, *Science*, 163: 150–160.
- Yağız, D., Afyon, A., Konuk, M. ve Helfer, S. (2006) Contributions to the macrofungi of Kastamonu Province, Turkey, *Mycotaxon*, 98:177-180.
- Yaratanakul, M. (2012) *Yenen ve zehirli mantarların moleküler tanımlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 145s.
- Yılmaz Ersel, F. ve Solak, M.H. (2004) Contributions to the macrofungi of İzmir Province, *Turk. J. Bot.*, 28: 487-490.
- Yokoyama, J., Suzuki, M., Iwatsuki, K. ve Hasebe, M. (2000) Molecular Phylogeny of Coriaria, with Special Emphasis on the Disjunct Distribution. *Mol Phyl and Evol.*, 14, (1): 11-19s.
- Yongjin, W. A. N. G., Tan, Z. M., Murat, C., Jeandroz, S., ve Le Tacon, F. (2006). Phylogenetic and populational study of the Tuber indicum complex. *Mycological research*, 110(9), 1034-1045.
- Zambonelli, A., Iotti, M., ve Murat, C. (Eds.). (2016). *True truffle (Tuber spp.) in the world: soil ecology, systematics and biochemistry* (Vol. 47). Springer.
- Zeppa, S., Vallorani, L., Potenza, L., Bernardini, F., Pieretti, B., Guescini, M. ve Stocchi, V. (2000). Estimation of fungal biomass and transcript levels in Tilia platyphyllos-Tuber borchii ectomycorrhizae. *FEMS microbiology letters*, 188(2), 119-124.
- <https://www.mgm.gov.tr/FILES/resmi-istatistikler/parametreAnalizi/Turkiye-Yagis.pdf>
- <https://www.mgm.gov.tr/FILES/resmi-istatistikler/parametreAnalizi/Turkiye-10cm-Toprak-Sicakliklari.pdf>
- <https://www.mgm.gov.tr/FILES/resmi-istatistikler/parametreAnalizi/Turkiye-Ortalama-Sicaklik.pdf>
- <https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/yillik-toplam-yagis-verileri.aspx>

EKLER

EK A. Tez çalışması kapsamında incelenen örneklerle ait ITS bölgesi dizileri

>MYG 01 *Tuber puberulum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCTCTCTTATTTAGACTAAATGGGGGTCCAGAGACTCAGATTCCAACCTG
GCTAAGACTAGTTTAGTATATTTAAACACTCTGAGAGTCTACTACCATGG
TTCACCTTTTCTGGCCTATTCATTTTCAGTAGAGTAGGACAAGGTGCTCTTAG
CACTACCCACTTCTACCAATACCACATTATATGTGAGGCGGTTTTAGTGA
CGCTCGAACAGGCATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTT
CAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATT
TCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGT
TTTAATATATTTTTTAAATTTGCGGCGGATGGCCTTCTCAGACAACTGATT
TGTTCAAAAGTTTGATATTGAACCTTCCCCAGACACCTCAACCCGAAAT
GCCAGGAAGGGCAGGGCTGGCAGCAGTGGCCACTGATCTGGGGAAGCAA
CATGGGAGTGTACACATGGATGTGTTTTGCTTGGGAGCCCCATTGGACAT
CCCGAACATATGTAATGATCCTTCCGCAGGTTCA

>MYG 02 *Tuber nitidum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCCAGATTTTCATGTCGGATGGAGGTCCGTGGAGGCCAGAACAGAACCGA
GCGACGGACTGGTTTATGTCTTCGTAACATTTACTAAGTCCCTTGCGGAG
GTTTATTGTCTCCTGCCTATGCATTTTCGACGGGGTGACCGAGGTGCATTGTA
GCCCTGAGTTCACATCCATCAATACCATAATACATATGAGCGGGTTTGCA
GTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCAAGGGGCGCAATGTG
CGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCG
CATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA
AAGTTTTAACTTATTCAAAGAAGACGGCGCTGGGCCGACTCAGACTGCTG
ATTCAATGATTCGCTTTTGATGGGTCTTTCCCAGGGGCGAGCCACCTGG
GAAAGCAACATGGAAAGGTACGCAGAGAGGGTTTGGGTCAGGGAACACT
TGAGTGTCCCGTATATTCATAATGATCCTTCCGCAGGTTACACCTACGGA
A

>MYG 03 *Tuber excavatum*

TTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATGCCTACCTGATCC
GAGGTCAACCGAGATCACACCAGATGCGGAGGGGGTCTGGATGTGGCGC
AAGACAATGCCTAGCTGCTGACTGCTCCGCGTCTTCACACGACACTTACT
AAGTCACTTGCTGAGGCCCAATTGTCCCGCTTATGCATTTTCAGCAGAGCT
GTGATGCGGCCACGTAGGACCACGGCGAGCTTCCACCAATACCACGGAA
TTCCGTGAGGAGGTTTCTAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCTAAGGAAT
GCCAAAGGGCGCAATATGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTG
CAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGC
CAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTTGTTCAATATGCCGGGGCACTT
GGCCCACTCAGACAGTATGTATGCACCAGAGTTTCTGTTTTGGCCCTTCC
CCAGGCACCTCCATCCCACGACCATGCATGGTCGGCGACAGGTAGCAAT

Ek A. (devam)

GGCTGCTGGCCTGGGAAAGCAACGTGGATGGGTACTCAGAGAGGTTTGA
GATCGGGGACCAGATATGGGGCTCCCCACGCTGTTTACTAATGATCCTTC
CGCAGGTTACCTACGGAAG

>MYG 05 *Tuber brumale*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCTTACGATTCGAGGTCAACC
CATAATTTATTCAAGATGGGGATCCATGATAGCAGTATCAGATATACTAA
ACAACATAATTTCGTATCCTGGAGACATTTATAAAGTCTGTTATTTTATACCC
GATATCCACCTGATGAATTTTAGCAGAGTATCTCGTAAGCATATGTACTA
AATATACCCACAATCTACAGCAACCAAGACCACAATATTTGTGAGGAAG
TTAGCAGTGACGCTCGAACAGGTATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCGC
TATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTA
CTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCG
TTGTTGAAAGTTTTCAAATATCAATAAATCTGGCACTTGGCCATATCAGA
CTACATGCTCATACAATTCGTTAAGGTGAAGACCTTCCACAGGAGCCTAC
ATAGCTCTAACAATATAATAGCTAAACGTTTGCGGTATTAATGACAGAAC
AAATAGAATGTAATGACCAACTACCTGTCAACCTGCCCAATTTGTAGCAA
GACACCGATACAGTCTAACGATCGATACCATAGCAAGTAGAACTACTAG
CTGGCAGCTGGCCAGCAGTATTCAATAGCTTAGATTATCAAAGGAAGGA
TATATCAGCAATGTGTAGCAACTGGAGACAGGTAGTACAAGATAGCAAT
AGTGGAAGCATTAGATCGGCTCTGACATTGTGTACCACTGACGAGTAG
GAAATAACACTTAGCCTGTGAAAGCAACATGGATTGGTACACAGAGAGA
TTGAAGATCAGG

>MYG 06 *Tuber brumale*

TATGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCTTACCTGATTCGAGGTCAACC
CATAATTTATTCAAGATGGGGATCCATGATAGCAGTATCAGATATACTAA
ACAACATAATTCATATCCTGGAGACATTTATAAAGTCTGTTATTTTATACCT
GATATCCACCTGATGAATTTTAGCAGAGTATCTCGTAAGCATATGTACTA
AATATGCCCACAATCTACAGCAACCAAGACCACAATATTTGTGAGGAAG
TTAGCAGTGACGCTCGAACAGGTATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCGC
TATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTA
CTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCG
TTGTTGAAAGTTTTCAAATATCAATAAATCTGGCACTTGGCCATATCAGA
CTACATGCTCATACAATTCGTTAAGGTGAAGACCTTCCACAGGAGCCTAC
ATAGCTCTAACAATATAATAGCTAAACGTTTGCGGTATTAATGACAGAAC
AAATAGAATGTAATGACCAACTACCTGTCAACCTGCCCAATTTGTAGCAA
GACACCGATACAGTCTAACGATCGATACCATAGCAAGTAGAACTACTAG
CTGGCAGCTGGCCAGCAGTATTCAATAGCTTAGATTATCAAAGGAAGGA
TATATCAGCAATGTGTAGCAACTGGAGACAGGTAGTACAAGATAGCAAT
AGTGGAAGCATTAGATCGGCTCTGACATTGTGTACCACTGACGAGTAG
GAAATAACACTTAGCCTGTGAAAGCAACATGGATTGGTACACAGAGAGA
TTGAAGATCAGG

>MYG 08 *Tuber ferrugineum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACcTGATCCGAGGTCAAC
CCAGAGTTTGTCTTGGATGGAGGTCCGTGGAGGCCAGGCCACAACCCCG
CAAGGGACTGGCTCATGTCTTCAAAACAGTTACTAAGTCCGTTGCCAAGA

Ek A. (devam)

TTGATTGTCCTGCCCCGTGAATTTCAATGGGATGACCCTGGCACCATTGGC
AGCCTTAGATCACTTCCATCAGTACCATAATATTTATGAGCGGGTTTTGC
AGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCGAGGGGCGCAATGT
GCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATC
GCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTG
AAAGTTTTAACTTGTTCAAAGAATATGGCACTTGGCCAACTCAGACAGGA
GATTGAATTATTCGCTTTGGGTAGGGTCTTTCCCAGGAGCCCGAGGGCAA
CATTGGATGGCTGCTGAGGCCAACCGCCTGGGAAAGCAACATGGACTAG
TACGCGGAGAGGGTTTGGGTGCGGAAACACTGTGGTATCCCATGTATGC
ATAATGATCCTTCCGCAGGTTCA

>MYG 09 *Tuber ferrugineum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCCAGAGTTTGTCTTGGATGGAGGTCCGTGGAGGCCAGGCCACAACCCC
GCAAGGGACTGGCTCATGTCTTCAAACAGTTACTAAGTCCGTTGCCAAG
ATTGATTGTCCTGCCCCGTGAATTTCAATGGGATGACCCTGGCACCATTGG
CAGCCTTAGATCACTTCCATCAGTACCATAATATTTATGAGCGGGTTTTG
CAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCGAGGGGCGCAATG
TGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTAT
CGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTT
GAAAGTTTTAACTTGTTCAAAGAATATGGCACTTGGCCAACTCAGACAGG
AGATTGAATTATTCGCTTTGGGTAGGGTCTTTCCCAGGAGCCCGAGGGCA
ACATTGGATGGCTGCTGAGGCCAACCGCCTGGGAAAGCAACATGGACTA
GTACGCGGAGAGGGTTTGGGTGCGGAAACACTGTGGTATCCCATGTATG
CATAATGATCCTTCCGCAGGTTCA

>MYG 10 *Tuber ferrugineum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCCAGAGTTTGTCTTGGATGGAGGTCCGTGGAGGCCAGGCCACAACCCC
GCAAGGGACTGGCTCATGTCTTCAAACAGTTACTAAGTCCGTTGCCAAG
ATTGATTGTCCTGCCCCGTGAATTTCAATGGGATGACCCTGGCACCATTGG
CAGCCTTAGATCACTTCCATCAGTACCATAATATTTATGAGCGGGTTTTG
CAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCGAGGGGCGCAATG
TGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTAT
CGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTT
GAAAGTTTTAACTTGTTCAAAGAATATGGCACTTGGCCAACTCAGACAGG
AGATTGAATTATTCGCTTTGGGTAGGGTCTTTCCCAGGAGCCCGAGGGCA
ACATTGGATGGCTGCTGAGGCCAACCGCCTGGGAAAGCAACATGGACTA
GTACGCGGAGAGGGTTTGGGTGCGGAAACACTGTGGTATCCCATGTATG
CATAATGATCCTTCCGCAGGTTCA

>MYG 12 *Tuber rufum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCCAAAATTTGTTTTTAATGGAGATCCATAGAAGTCAGTCCAAGTCCTAG
CAAGAACTAATATATGTCTTCAAACAGTTACTAAGTCCTTTGCTAAAG
ATAATTGTCCTGCCTATATATTTCAATGGGGTGACTGAGGCATATTAGTA
GCCTCTCTTCACATCCACCATTACCATAATAGTTATGAGTGGGTTTGCAGT
GACGCTCGAACAGGCATGCCTCAAGGAATACCAAGAGGCGCAATGTGCG

Ek A. (devam)

TTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCA
TTTCGCTGCGTTCTTCATCGATACGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAA
GTTTTAATTCATTCAAAAAAATATGGCACTGGGCCAACTCAGACTGCTGA
TTCAATAGTTTGCTTTGAACAGGCCCTCTCCCAGGAGCCTACATAGTAAA
GTAAATTCAACTAGCAGGAAGGGTTAAACAAC TAGTAAAACCAACCACC
TGGGAAAGCAACATGGATCAGTACACAGAGAGGTTTTTGAGTCAGGAAAC
ACTTATATGTTCCATATATGAATAATGATCCTTCCGCAGGTTCCACCCTACG
GAA

>MYG 13 *Tuber rufum*

TTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCC
GAGGTCAACCCAGATTTTATATTGGATGGAGGTCCGTAGAGGCCAGGCC
AGCACCAAGCAAGAGACTGGTTTTTGTCTTCAAAACAGTTACTAAGTCTA
TTGCGGAGGTTGATCGTCCTGCCTATGCATTTTCGATGGGGTGAGCCGGGC
ATACTGCTAGACTCAGTTCACATCCATCAATACCATAATATATATGAGCG
GGTTTGCAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCAAGGGGC
GCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACAT
TACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATC
CGTTGTTGAAAGTTTTAACTTATTTAAAGAATACGGCACAGGGGCCAGT
TCAGACAGCTGATTCAATGATTGCTTTGGATGTGCCCTTTCCCGGGAGC
GAGCCACCCGGGAAAGCAACGTGGATTGGTACACAGGGAGGGGTTTGAG
TCATGGAACACTTGCGTGTCCCAGATATGTATAATGATCCTTCCGCAGGT
TCACCCTACGGAA

>MYG 14 *Tuber aestivum*

TGACGAGATGCCCCGGAGAtgcCCGccACGGGCTCGAGGCGGgAGGGACAG
CAATGGCCCCGCGACTGCTTCACGcTAACCACAGCGTCTACcAAGtCGGGT
CCGCCAATGcGtTGttGcTCCCCATACATtTCAgcGgggTGgGGAGGGCCTggCC
GCCATCGCGGCcCGGTcGACACCACCTCCGCCAGCACACGTGTTCCGT
GAGGTGGTTTGC ACTGACGCTCGGACAGGCATGCCCTGAGGAATGCCCC
AGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAGTTCTGCAATT
CACATTACCTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAG
AGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTTGTCAAGTTTCTGGCGGCCCAATGT
GGCCCAGGTCAGACAGTCCATCCATGCTCCCGACGTTTTAGTTCTCGAGG
GGCGGGAGCCCCACCCCCGGGCGCCTCCGCGCAGCGATCCACGCCAGTG
TCTCGCCGACGGGCGGCGACGGCCGCTGGCCCCGGGAAGCAACATGGCA
TTGTACGCAGCTGTGGTTTGGTGCTCTGGGTGGCCGCCCCACTGGCGTCA
CCCGGCTTGTTTAATGAT

>MYG 18 *Tuber aestivum*

ATCGAGGTCAAACCTGACGAGATGCCCCGGAGATGCCCCGCCACGGGCTC
GAGGCGGGAGGGACAGCAATGGCCCCGCGACTGCTTCACGCTAACCACA
GCGTCTACCAAGTCGGGTCCGCCAATGCGTGTTGCTCCCCATACATTTCA
GCGGGGTGGGGAGGACCTGGCCGCCATCGCGGCCCGGTCCGACACCACG
CCCGCCAGCACACGTGTTCCGTGAGGTGGTTTGC ACTGACGCTCGGACA
GGCATGCCCTGAGGAATGCCCCAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCG
ATGATTCACTGAGTTCTGCAATTCACATTACCTATCGCATTTTCGCTGCGTT
CTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTTGT

CAAGTTTCTGGCGGCCCAATGTGGCCCAGGTCAGACAGTCCGTGCTCCCG
ACGTTTTGGTTCTCGAGGGGCGGGAGCCCCACCCCCGGGCGCCTCCGCGC
AGCGATCCACGCCTGTGTCTCGCCGACGGCCGGTGACGGCCGCTGGCCCCG
ATGAAGCAACATGCAATTGTAC

>MYG 20 *Tuber rufum*

CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATACATATCCGGGGGGCACC
CAAGTGTTCCCTGACCCAAACCCTCTCTGTGTACCAATCCTCGTTGCTTTT
CCGGGTGGCTCGCTCCCCCGGGAAAGGGCCTATCCAAAGCGAATCATT
GAATCAGCTGTCTGAATTGGCCCAGCGCCATATTCTTTGAATAAGTTTAA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
TGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCTTGGGGCATGCCTGTTTCGAGC
GTCACTGCAAACCCGCTCATATATATTATGGTATTGATGGATGTGACCTG
AGGCTAGCAGTATGCCCGGATCACCTGTGCGAAATGCATAGGCAGGAAA
ATCAACCTCGGCAAAGGACTTAGTAAGTGTCTTGAAGACAAAAACCAGT
CTCTTGCTAGGTGCTGGCCTGGCCTCCATGGACCTCCATCCAATGTGAAA
TCTGGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CAATAAGCGGAGGA

>MYG 22 *Tuber aestivum*

TTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTTACGCGGGTACCCCTACCTGATCC
GAGGTCAAACCTGACGAGATGCCCCGAGATGCCGCCACGGGCTCGAGG
CGGGAGGGACAGCAATGGCCCCGCGACTGCTCCACGCTAACCACAGCGT
CTACCAAGTCGGGTCCGCCAATGCGTGTGCTCCCCATACATTTTCGGCGG
GGTGGGGAGGACCGGGCCGCCATAGCGGCCCGATCAGACACCACACCTC
CGCCAGCACACGCTGTTTCCGTGAGGTGGTTTGCCTGACGCTCGGACAG
GCATGCCCTGAGGAATGCCCCAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCTGA
TGATTCACTGAGTTCTGCAATTCACATTACCTATCGCATTTTCGCTGCGTTC
TTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTTGTC
AAGTTTTTCGGCGGCCCAATGTGGCCCAGGTCAGACAGTCCAATGCTCCCG
ACGTTTTAGTTTTCGAGGGGCGGGAGCCCCACCCCCGGGCGCCTCCGCGCG
GCGATCCACGCCTGTGTCTCGCCGACGGGCGGCGACGGCCGCTGGCCCCG
GGGAAGCAACATGGCATTGTACGCAGCTGTGGTTTGGTGCTCTGGGTGGC
CGCCCCACTGGCGTCACCCGGCTTGTCTAATGATCCTTCCGCA

>MYG 26 *Tuber rufum*

CGAGGTCAACCCAGATTTTATATTGGATGGAGGTCCGTTCGAGGCCAGGCC
AGCACCACGCAAGAGACTGGTTTTTGTCTACAAAACAGTTACTAAGTCTA
TTGCAGAGGTTGATCGTCCTGCCTATGCATTTTCGATGGGGTGATCCGGGC
ATACTGCTAGCCTCAGTTCACATCCATCAATACCATAATATGTATGAGCG
GGTTTGCAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCAAGGGGC
GCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACAT
TACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATC
CGTTGTTGAAAGTTTTAACTTATTTAAAGAATAACGGCACTGGGCCGTT
CAGACAGCTGATTCAATGATTCGCTTTGGATGGGCCCTTTCCCGGGAGCG
AGGCACCCGGGAAAGCAACATGGATTGGTACACGGGGAGGGTTTGAGTC

ATGGAACACTTGCGTGTCCCAGATATGTATAATGATCCTTCCGCAGGTTC
A

>MYG 27 *Tuber borchii*

TTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCC
GAGGTCAACCTCTCTAGTTTGGACTAAATGGGGGGTCCGATAGCTCAGAA
CATGACTTGGAGAAGACTAATTTAGCGTTTTTAAACACTCCTGGAGTCTA
TTACCACGGTCAACTTCCCTGGCCTATTCATTTTCAGTAGAGTCAGACAAA
GTAGTGTTAGTACTATCCACTTCTACCAATACCACATTATCTGTGAGGGG
GTTTTTAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCG
CAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCATCTGAATTCTGCAATTCACATT
ACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCC
GTTGTTGAAAGTTTTAACATGTTTTAAATTTTATGGCACATGGCCTTCTCAG
ACTACTAATTGGTTCAAAAGTTTTAAAGGGAGAGAGTACACAGGAAGGTG
TTTTGCTTAGGAGCCCGATAGGGCATCCCATACATTTTGTAATGATCCTTC
CGCAGGTTCACCTACGGAA

>MYG 29 *Tuber aestivum*

CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAGACAAGCCGGGTGACGC
CAGTGGGGCGGCCACCCAGAGCACCAAACACACGTGCGTACAATGCCA
TGTTGCTTCCCCGGGCCAGCGGCTGTCGCCGCCGGTCCGGCGAGACACAGG
AGTGGATCGCCGCGCGGAGGCTCCCGGGGGTGGGGCTCCCGCCCCCTCAA
AACTAAAACGTCGGGAGCATTGGACTGTATGACCTGGGCCACATTGGGC
CGCCGAAAACCTTGACAAGTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCT
CGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAGGTAATGTGAATTGCAG
AACTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTGGGGCATT
CCTCAGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCAGTGCAAACCACCTCACGGAAAC
ACGTGGTGCTGGCGGAGGTGTGGTGTCTGATGGGGCCACGATGGCGGCC
CGGTCCTCCCCACCCCGCCGAAATGTATGGGGAGCAACACGCATTGGCG
GACCCGACTTGGTAGACGCTGTGGTTAGCGTGGAGCAGTCGCGGGGCCA
TTGCTGTCCCTCCCGCCTCGAGCCCGTGGCGGCATCTCCGGGGCATCTCG
TCAGGTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGGTACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CAATAAGCGGAGGAA

>MYG 30 *Tuber puberulum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCTCTCTTATTTAGACTAAATGGGGGTCCGGGAACCTCAGATTCCAACCTG
GCTAAGACTAGTTTAGTATATTTAAACACTCTGAGAGTCTACTACCATGG
TTCATATTCTGGCCTATTCATTTTCAGTAGAGTAGGACAAGGTGCTTTTAG
CACTACCCACTTCTACCAATACCACATTATATGTGAGGCGGTTTTAGTGA
CGCTCGAACAGGCATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTT
CAAAGATTCGATGATTCATCTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATT
TCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGT
TTTGATATATTTTTTAAATTTGCGGCGGATGGCCTTCTCAGACAACCTGATT
TGTTCAAAAGTTTGATATTGGACCCTTCCCAGACACCTCAACCCGAAAT
GCCATGAAGGGCAGGGCTGGCAGCAGTGGCCACTGATCTGGGGAAGCAA
CATGGGAGTGTACACATGGATGTGTTTTGCTTGGGAGCCCCATTGGACAT
CCCGGACATATGTAATGATCCTTCCGCAGGTTCA

>MYG 31 *Tuber puberulum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCTCTCTTATTTAGACTAAATGGGGGTCCGGGAACCTCAGATTCCAACCTG
GCTAAGACTAGTTTAGTATATTTAAACACTCTGAGAGTCTACTACCATGG
TTCACCTTTTCTGGCCTATTCATTTTCAGTAGAGTAGGACAAGGTGCTTTTAG
CACTACCCACTTCTACCAATACCACATTATATGTGAGGCGGTTTTAGTGA
CGCTCGAACAGGCATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTT
CAAAGATTCGATGATTCAGTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATT
TCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGT
TTTGATATATTTTTAAATTTGCGGCGGATGGCCTTCTCAGACAACCTGATT
TGTTCAAAAGTTTGATATTGGACCCTTCCCCAGACACCTCAACCCAAAAT
GCCATGAAGGGCAGGGCTGGCAGCAGTGGCCACTGATCTGGGGAAGCAA
CATGGGAGTGTACACATGGATGTGTTTTGCTTGGGAGCCCCATTGGACAT
CCCGGACATATGTAATGATCCTTCCGCAGGTTCA

>MYG 32 *Tuber borchii*

TTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCC
GAGGTCAACCTCTCTAGTTTGGACTAAATGGGGGTCCGGTAGCTCAGAA
CATGACTTGGAGAAGACTAATTTAGCATTTTTAAACACTCCTGGAGTCTA
TTACCACGGTCAACTTCTCTGGCCTATTCATTTTCAGTAGAGTCAGACAAA
GTAGTGTTAGTACCATCCACTTCTACCAATACCACATTATCTGTGAGGGG
GTTTTTAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCG
CAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCAGTGAATTCTGCAATTCACATT
ACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCC
GTTGTTGAAAGTTTTAACATGTTTAAATTTTACGGCACATGGCCTTCTCAG
ACTACTAATTGGTTCAAAAGTTTAAATGGGGGAGAGTACACAGGAATGTG
TTTTGCTTGGGAGTCCGATAGGGCATCCCATACATTTTGTAAATGATCCTTC
CGCAGGTTACCTACGGAA

>MYG 34 *Tuber rufum*

TTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCC
GAGGTCAACCCAGATTTTCATATTGGATGGAGGTCCGTAGAGGCCAGGGC
AGCACCAAGCAAGAGACTGGTTTTTGTCTTCAAAACAGTTACTAAGTCTA
CTGCAGAGGTTGATTGTCCTGCCTATGCATTTTCGATGGGGTGATCCGGGC
ATACTGCTAGCCCCAGTTCACATCCATCAATACCATAATATATATGAGCG
GGTTTGCAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCAAGGGGC
GCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCAGTGAATTCTGCAATTCACAT
TACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATC
CGTTGTTGAAAGTTTTAAACTGATTTAAAGAATACGGCACCGGGGCCAGTT
CAGACAACCTGATTCAATGATTCGCTATGGATAGGCCCTTTCCCGGGAGCG
AGCCACCCGGGAAAGCAACATGGATTGGTACACAGGGAGGGTTTGAGTA
ATGGAACACTTACGTGTCCAGATATGTATAATGATCCTTCCGCAGGTTTC
ACCTACGGAAG

>MYG 37 *Tuber borchii*

TTCCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCC
GAGGTCAACCTCTCTAGTTTGGACTAAATGGGGGGTCCGGTAGCTCAGAA
CATGACTTGGAGAAGACTAATTTAGCATTTTAAAACACTCCTGGAGTCTA
TTACCACGGTCAACTTCTCTGGCCTATTCATTTTCAGTAGAGTCAGACAAA
GTAGTGTTAGTACCATCCACTTCTACCAATACCACATTATCTGTGAGGGG
GTTTTTAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCTAAGGAATACCAAAGGGCG
CAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATT
ACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCC
GTTGTTGAAAGTTTTAACATGTTTAAATTTTACGGCACATGGCCTTCTCAG
ACTACTAATTGGTTCAAAAAGTTTAAATGGGGGAGAGTACACAGGAATGTG
TTTTGCTTGGGAGTCCGATAGGGCATCCCATACATTTTGTAATGATCCTTC
CGCAGGTTACCTACGGAA

>MYG 38 *Tuber nitidum*

TGAACCTGCGGAAGGATCATTATGAATATACGGGACACTCAAGTGTTCCC
TGACCCAAACCCTCTCTCTGCGTACCTTTTCCATGTTGCTTTCCCAGGTGG
CTCGCCCCTGGGAAAGGACCCATCAAAAGCGAATCATTGAATCAGCAGT
CTGAGTTGGCCCAGTGCCGTCTTCTTTGAATAAGTTAAACTTTCAACAA
CGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACAT
TGCGCCCCTTGGTATTCCTTGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCACTGCAAA
CCCCCTCATATGTATTATGGTATTGATGGATGTGAACCTCAGGCCTACAAT
GCACCTCAGTCACCCCGTCGAAATGCATAGGCAGGACAATAAACCTCCG
CAAGGGACTTAGTAAATGTTATGAAGACATAAACCAGTCCGTCGCTCGGT
TCTGTTCTGGCCTCCACGGACCTCCATCCGACATGAAATCTGGGTTGACC
TCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAACCGGA
GGA

>MYG 40 *Tuber rufum*

TTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAA
CCCAGATTTACATTGGATGGAGGTCCGTAGAGGCCAGGCCAGCACCAA
GCAAGAGACTGGTTTTTGTCTTCAAAACAGTTACTAAGTCTGTTGCAGAG
GTTGATCGTCCTGCCTATGCATTTTCGATGGGGTGATCCGGGCATACTGCT
AGGCTCAGTTCACATCCATCAACACCATAATATATATGAGCGGGTTTGCT
GTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCAAGGAATACCAAGGGGCGCAATGTG
CGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCG
CATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGA
AAGTTTTAACTTATTTAAAGAATACGGCACTGGGCCAGTTCAGACAGCT
GATTCAATGAGTCGCTTTGGATAGGCCCTTTCCCGGGAGCAAGCCACCCG
GGAAAGCAACGTGGATTGGTACACAGGGAGGGTTTGAGTAATCGAACAC
TTGCGTGTCCAGATATGTATAATGATCCTTCCGCAGGTTCA

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : Mehrican YARATANAKUL GÜNGÖR
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : 20/12/1986
Medeni Hali : Evli
E-posta : mehricanyungor@mu.edu.tr

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	İstanbul Eyüp Lisesi (YDA)	2005
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2009
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2012

İş Tecrübesi

2011- Araştırma Görevlisi- Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Bilimsel Faaliyetler

SCI/SCI Exp. Veri Tabanlarında Aranan Yayınlar

1. Elliott, T. F., Türkoğlu, A., Trappe, J. M. ve Yaratankul-Güngör, M. (2016). Turkish truffles 2: eight new records from Anatolia. *Mycotaxon*, 131(2), 439-453.
2. Türkoğlu A., Castellano M.A. Trappe J.M, Yaratankul-Güngör M. Turkish Truffles 1: 18 New Records for Turkey. *Turk J Bot.*39, 359-376. (2015).

Uluslararası Hakemli Yayınlar

3. Güngör, H., Çolak, Ö.F., Yaratankul Güngör, M., Solak, M.H. "New Ascomycete (Geoglossum umbratile, Peziza lobulata) records for Turkey", 2015, Biodicon, 8/2 1-3.
4. Güngör, H., Sevindik, E., Yaratankul Güngör, M., Coşkun, F., Işıloğlu, M., "Morphological Variation, ITS and EF-1 α Gene Nucleotide Polymorphism in Gyromitra esculenta (Discinaceae) ", 2015, Journal of Applied Biological Sciences 9 (1): 57-60.
5. Yaratankul Güngör, M., Güngör, H., Solak, M.H., "New Crepidotus (Fr.) Staude record for Turkish mycota", 2014, Biodicon, 7/2 127-128.

6. Güngör, H., Yaratankul Güngör, M., Solak, M.H., "Ascodesmidaceae J. Schröt. a new family (Ascomycota) record for the Turkish mycota", 2014, Biodicon, 7/2 115-116.

Ulusal Hakemli Yayınlar

1. Ünal, G., Türkoğlu, A., ve Yaratankul Güngör, M. (2016). Muğla Yöresindeki Eucalyptus Ormanlarında Yetişen Makrofunguslar Üzerine Taksonomik Çalışmalar. *Türk Tarım–Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(3), 244-247.
2. Güngör, H., Işıloğlu, M., Coşkun, F., Yaratankul Güngör, M., "Türkiye Mikotası için Üç Yeni Makrofungus Kaydı", 2013, The Journal of Fungus 4(1)7-10.

Uluslararası Bildiriler

1. Türkoğlu, A., Yaratankul Güngör, M. (2016). Ecology of *Tuber aestivum* in Turkey. *The eighth international workshop on edible mycorrhizal mushrooms, IWEMM8*, 10-17 Ekim, Cahors, Fransa.
2. Türkoğlu, A., Korkmaz, C., Çaka, Ş., Yaratankul Güngör, M. (2016). New Hypogeous Fungi Records for Turkey. *The eighth international workshop on edible mycorrhizal mushrooms, IWEMM8*, 10-17 Ekim, Cahors, Fransa.
3. Yaratankul Güngör, M. ve Türkoğlu, A. (2016). Phylogenetic Analysis of Genus *Tuber* in Turkey Based on ITS nrDNA. *The eighth international workshop on edible mycorrhizal mushrooms, IWEMM8*, 10-17 Ekim, Cahors, Fransa.
4. Türkoğlu, A., Castellano, M.A., Trappe, J.M. and Güngör, M.Y., (2015) Turkey's diverse geography and climates foster a rich hypogeous mycota'. Eighth International Conference on Mycorrhiza Flagstaff , Arizona, USA, 3 – 7 August , , PS 4-53.
5. Ünal, G., Tel-Çayan, G., Duru, M. E., Türkoğlu A., ve Güngör, M. Y. (2015) Evaluation of nutritional properties of truffles associated with eucalyptus in Turkey. 6th Nordic Natural Products Conference, Visby, Gotland, Sweden, 15 - 16 June, p.32.
6. Türkoğlu, A, Castellano, M,A, Trappe, J.M. ve Y.Güngör, M. (2014) Truffle Species Newly Discovered in Turkey. Second Symposium on Hypogeous Fungi in Mediterranean basin (HYPOGES2) and Fifth Congress *Tuber aestivum/uncinatum* European Scientific Group (TAUESG5). Rabat/Morocco 09-13 April, p.21.
7. Türkoğlu, A, Castellano, M,A, Trappe, J.M. ve Y.Güngör, M. (2014) New Records Of Truffles Mycorrhizal With Eucalyptus From Asia. Second Symposium on Hypogeous Fungi in Mediterranean basin (HYPOGES2) and Fifth Congress *Tuber aestivum/uncinatum* European Scientific Group (TAUESG5). Rabat/Morocco. 09-13 April, p.32.
8. Güngör, H., Çolak, Ö.F., Yaratankul Güngör, M. ve Solak, M.H. (2013) Ascodesmidaceae J. Schröt., A New Family (Ascomycota) Record for Turkish Mycota. Third International Congress on Fungal Conservation, Gökova Bay-Muğla/Turkey, 11-15 November, p.39-40.
9. Güngör, H., Şen, İ., Yaratankul Güngör M., Allı, H. ve Solak, M.H. (2013) New Ascomycete Records For Turkish Mycota. Third International Congress on Fungal Conservation, Gökova Bay-Muğla/Turkey, 11-15 November, p.40.

10. Güngör, H., Çolak, Ö.F., Yaratankul Güngör, M. ve Solak, M.H. (2013) Two New Ascomycete Records For Turkey. Third International Congress on Fungal Conservation, Gökova Bay-Muğla/Turkey, 11-15 November, p.38.
11. Güngör, H., Çolak, Ö.F., Yaratankul Güngör, M. ve Solak, M.H. (2013) New *Crepidotus* spp. Records For Turkey. Third International Congress on Fungal Conservation, Gökova Bay-Muğla/Turkey, 11-15 November, p.39.
12. Akbaş, F., Aydın, Z., Yaratankul, M., Bunyard, B. ve Gücin F. (2010) Identification Of Nuclear 18s rDNA Region of *Amanita canescens*, *Amanita cokeri* and *Amanita jacksonii* by DNA Sequencing". IMC9: The Biology of Fungi. Edinburg/Scotland. 1-6 August, p.1.134.

Ulusal Bildiriler

1. Yaratankul Güngör M., Gücin F., Aydın Sinirlioğlu, Z. ve Akbaş, F. (2013) *Terfezia clavaryi* Chatin. (Keme Mantarı) Üzerinde Moleküler SistematiK Çalışmalar, Biyoçeşitlilik Sempozyumu, Muğla.
2. Yaratankul Güngör, M. ve Türkoğlu, A. (2015) Türkiye'deki Tuber türlerinin moleküler karakterizasyonu ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi' X. Türkiye Yemeklik mantar kongresi. Adana 20-23 Ekim.
3. Türkoğlu, A., Yaratankul Güngör, M. Çaka Ş. ve Korkmaz C. (2015) Türkiye' de Doğal Olarak Yetişen Tuber Türleri ve Ekolojisi'. X. Türkiye Yemeklik mantar kongresi. Adana 20-23 Ekim.
4. Ünal, G., Türkoğlu, A. ve Yaratankul Güngör, M. (2015) Muğla Yöresindeki Okaliptüs Ormanlarında Yetişen Makrofunguslar Üzerine Taksonomik Çalışmalar. X. Türkiye Yemeklik mantar kongresi. Adana 20-23 Ekim.
5. Keleş E., Yaratankul Güngör, M. ve Türkoğlu, A. (2014) Yatağan (Muğla) Yöresi Makrofungusları Üzerine Taksonomik Çalışmalar'. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Eskişehir 23-27 Haziran.p.54.
6. Güngör, H., Yaratankul Güngör, M., Işıloğlu, M., Solak, M.H. (2014) *Gyromitra* Cinsi Üzerine Taksonomik Notlar. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi Eskişehir 23-27 Haziran. p.1475
7. Güngör, H., Işıloğlu, M., Coşkun, F. ve Yaratankul, M. (2012) Muğla ilinden üç yeni *Gyromitra* (Discinaceae, Ascomycetes) takson kaydı. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir. 3-7 Eylül. s.1227-1228.
8. Alkan, N., Çolak,Ö.F., Yaratankul, M., Güngör, H., Solak, M.H. (2012). Muğla İlinden Türkiye İçin Dört Makrofungus Tür Kaydı. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir. 3-7 Eylül, s.1197.
9. Yaratankul, M., Güngör, H., Alkan, N., Çolak, Ö.F. ve Solak, M.H. (2012). Muğla İlindenDört Yeni *Cortinarius* (Cortinariaceae,Basidiomycetes) Türü Kaydı. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir. 3-7 Eylül. s.1309.